

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



Université Mohamed Seddik BenYahia- Jijel
Faculté des Sciences Exactes et Informatique
Département de chimie

MEMOIRE

Présenté en vue l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : *Chimie Pharmaceutique*

Thème

**Synthèse et étude de l'activité biologique de quelques
hydazones et semicarbazones**

Réalisé par :

LEHATEM Ramzi & MESRANE Aymene

Soutenu le 07/07/2022 devant le jury composé de :

Président	DOUARA Bachir	MCB	Université de Jijel
Encadreur	YEKHLEF Mohammed	Prof	Université de Jijel
Co-Encadreur	BOUTAOUI Nassima	MCB	Université de Jijel
Examinatrice	MECHOUCHE Nadia	MAA	Université de Jijel

Année Universitaire 2021/2022

Remerciement

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant, le créateur de l'univers qui nous'a donné la santé, la chance et le courage pour réaliser ce travail.

Nous tenons à adresser notre sincères remerciements à notre promoteur de mémoire **YEKHELEF Mohamed**, professeur à l'université de Jijel, qui nous a guidés dans notre travail, Merci pour nous avoir accordé votre temps, Merci d'avoir été très patient avec nous, merci d'avoir mis votre expérience à notre profit.

Ce travail est réalisé ainsi sous la direction du Docteur **BOUTAOUI Nassima**, Maitre de conférences à l'Université de Jijel. Nous tenons à lui exprimer toute notre reconnaissance et notre profonde gratitude pour tous ses efforts et ses encouragements et pour le soutien qu'elle nous 'a témoigné tout au long de cette étude placée sous sa direction.

Ce travail de recherche est effectué dans le laboratoire de recherche : Phytochimie et Pharmacologie, sous la direction du professeur **BELGHOBSSI Mabrouk**. Nous tenons vivement à le remercier de nous avoir accueillie dans son laboratoire, de la confiance qu'il nous 'a accordé et aussi pour son encadrement exemplaire, sa sympathie, sa rigueur scientifique, ses conseils et ses encouragements.

Nos vifs remerciements vont également à Docteur **DOUARA Bachir**, Maitre de conférence à l'université de Jijel, pour l'honneur qu'il nous 'a fait en acceptant de présider le jury de ce travail.

Nous aimerons également remercier vivement Madame **MECHOUCHE Nadia**, Maitre-assistante à l'université de Jijel, pour avoir accepté de faire partie du jury de ce travail.

Nous remercions sincèrement Docteur **HARROUCHE Kamel**, Maitre de conférences à l'université de Jijel et chef de département de chimie, pour sa disponibilité et ses précieux conseils.

Nous exprimons nos sincères remerciements au Docteur **BOUKEROUCHE Oussama**, directeur de laboratoire d'analyse à Jijel, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire, pour leur aide et disponibilité en nous permettant la réalisation de l'activité antimicrobienne.

Un merci tout particulier à mes collègues qui m'ont apporté tout au long de ce travail, joie et sérénité. Je cite en particulier : **Asma, Wiame, Rania, Bessma et Asma**. Merci à vous tous. Enfin je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, et avec un vaste cœur plein de joie, je tiens à dédier ce modeste travail :

*À mes très chers parents **Ahcene et Djamila**, qui m'ont soutenue et encouragée durant toute la période de mes études et à qui je souhaite une longue et heureuse vie.*

À mes chers frères : Oussama, Anis.

À ma famille.

A mon amie : Djalale.

A tous ceux qui m'aiment.

A tous ceux que j'aime.

Aymene

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, et avec un vaste cœur plein de joie, je tiens à dédier ce modeste travail :

*À mes très chers parents **Houcine et Nadia**, qui m'ont soutenue et encouragée durant toute la période de mes études et à qui je souhaite une longue et heureuse vie.*

À mes chers frères : Aymene, Chouaib.

À ma famille.

A mes amis : Djalale, Abdelaziz, Hilal

A tous ceux qui m'aiment.

A tous ceux que j'aime.

Ramzi

Sommaire

Introduction générale	01
Références bibliographique	02

Chapitre I

Généralités sur les hydrazones et les semicarbazones

I.1. Les hydrazones	03
I.1.1. Squelette de base	03
I.1.2. Réactivité d'hydrazones.....	04
I.1.2.1. Tautomérie azo/hydrazone	04
I.1.2.2. Comportement électrophile	05
I.1.2.3. Comportement nucléophile	06
I.1.3. Synthèse des hydrazones	06
I.1.3.1. Condensation d'un carbonyle avec une hydrazine	07
I.1.3.2. Synthèse de Japp-Klingemann	09
I.1.3.3. Synthèse d'un hydrazone à partir des oléfines aliphatiques avec les hydrazines	09
I.1.4. Effet thérapeutique des hydrazones	10
I.2. Les semicarbazones	12
I.2.1. Squelette de base	12
I.2.2. Tautomérie de semicarbazone	12
I.2.3. Synthèse de semicarbazones	13
I.2.3.1. Synthèse de semicarbazone de β -naphtylméthylcétone.....	14
I.2.3.2. Synthèse de semicarbazone du carvone	14
I.2.3.3. Synthèse de semicarbazone du 4-propargyloxy benzaldéhyde	14
I.2.3.4. Synthèse de semicarbazone de 3-chloro-2-methylaniline	15
I.2.3.5. Synthèse de dérivés de semicarbazone d'indole-3-carbaldéhyde	15
I.2.4. Effet thérapeutique	16
Références bibliographiques	18

Chapitre II : Effet Pharmacologique

II.1. Activité antioxydante	20
II.1.1. Radical libre	20
II.1.2. Principe	20
II.1.3. Références utilisées	20
II.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	21

II.1.4.1. Pouvoir antiradicalaire par le test ABTS	21
II.1.4.2. Pouvoir réducteur ferrique (FRAP)	22
II.2. Effet anti-inflammatoire	22
II.2.1. Généralités sur la réaction inflammatoire	22
II.2.1.1. Définition	22
II.2.1.2. Types d'inflammation	22
II.2.1.3. Médiateurs de l'inflammation	23
II.2.1.4. Type des anti-inflammatoires	24
II.3. Activité antimicrobienne	25
II.3.1. Culture des bactéries	25
II.3.2. Antibiotiques	25
II.3.2.1. Cibles bactériennes des antibiotiques	25
II.3.2.2. Notion du bactériostatique et du bactéricide	26
II.4. Activité photoprotectrice	26
II.4.1. Détermination de l'efficacité des produits solaires	27
Référence bibliographique	28

Chapitre III : Description des travaux personnels

III.1. Introduction	30
III.2. Synthèse des dérivés d'hydrazones et des semicarbazones	30
III.2.2.1. Synthèse de carboéthoxyhydrazone de 5-bromo-2-hydroxyacétophénone	30
III.2.3.1. Synthèse de semicarbazone de 2-hydroxyacétophénone	31
III.2.3.2. Synthèse de semicarbazone de 2-hydroxy-5-méthylacétophénone	32
III.3. Etude pharmacologique des dérivées d'hydrazones et des semicarbazones	32
III.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante	34
III.3.1.1 Test de réduction du radical ABTS	34
III.3.1.2 Détermination du pouvoir réducteur ferrique (FRAP)	35
III.3.2 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	35
III.3.2.1 Modèle de l'œdème de la patte des rats	35
III.3.2.1.1. Prétraitement par les produits testés	35
III.3.2.1.2. Induction de l'inflammation	36
III.3.2.1.3. Injection de la carragénine	37
III.3.2.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges humains	38

III.3.2.2.1. Préparation des réactifs	38
III.3.2.2.2. Préparation de la suspension des globules rouges humains (HRBC)	39
III.3.3. Activité photoprotectrice (Détermination du facteur de protection solaire <i>in vitro</i>)	40
III.3.4. Détermination de l'activité antimicrobienne	41
III.3.4.1 Méthode de l'étude microbiologique	41
III.3.4.2. Identification biochimique	41
III.3.4.3. Définition de l'antibiogramme	41
III.3.4.4. Méthode	42
III.4. Analyse statistique	44
Référence bibliographique	45

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Stratégie de synthèse des dérivés des hydrazones et des semicarbazones	46
IV.2. Mécanisme de synthèse du carboéthoxyhydrazone de 5-bromo-2-hydroxyacétophénone	46
IV.3. Mécanisme de synthèse du semicarbazone de 2-hydroxyacétophénone	47
IV.4. Evaluation de l'activité pharmacologique des dérivés des hydrazones et des semicarbazones ...	47
IV.4.1. Dérivés de la série 1	48
IV.4.1.1. Evaluation de l'activité antioxydante	49
IV.4.1.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>In vivo</i>	52
IV.4.1.3. Stabilisation de la membrane des globules rouges humains	56
IV.4.1.4. Evaluation de l'activité photo protectrice	56
IV.4.2. Dérivés de la Série 2	57
IV.4.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante	58
IV.4.2.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>In vivo</i>	61
IV.4.2.3. Stabilisation de la membrane des globules rouges humains	63
IV.4.2.4. Evaluation de l'activité photoprotectrice	64
IV.4.3. Dérivés de la Série 3	65
IV.4.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante	65
IV.4.3.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>In vivo</i>	68
IV.4.3.3. Stabilisation de la membrane des globules rouges humains	70
IV.4.3.4. Evaluation de l'activité photoprotectrice	71
IV.5. Activité antimicrobienne des produits.....	72
VI.5.1. Activité antibactérienne.....	72

VI.5.2. Activité antifongique.....	75
Référence bibliographiques	76
Conclusion	77
ملخص	
Abstract	
Résumé	

Liste des abréviations

Unités

°C	Degré Celsius
g/mol	Grammes par mole
g/cm³	Grammes par centimètre cube
g	Gramme
h	Heure
ml	Millilitre
mm	Millimètre
min	Minute
mg	Milligramme
nm	Nanomètre
µg	Microgramme
Tr/min	Tour par minute

Autres abréviations

Abs	Absorbance
ABTS^{•+}	Radical cation 2,2'-azinobis-(3-Acide éthylbenzothiazolin-6-sulfonique)
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AIS	Anti-inflammatoires stéroïdiens
AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
ARN	Acide ribonucléique
ATB	Antibiotique
COX	Cyclo-Oxygénase
DO	Densité
DPPH[•]	Radical 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazil
FRAP	Ferric reducing antioxidant potential
K₃Fe(CN)₆	Ferricyanure de potassium
NAPHOS	Diphosphine 2,2'-bis(diphénylphosphinométhyl)-1,1'-binaphtyle)
PGE₂	Prostaglandine E ₂
PGI₂	Prostacycline

RAMP	(R)-1-amino-2- Méthoxyméthylpyrrolidine
Rdt	Rendement
Rf	Rapport frontal
SPF	Facteur de protection solaire
SAMP	(S)-1-amino-2-Méthoxyméthylpyrrolidine
Tf	Température de fusion
UV/VIS	Ultra-Violet/Visible
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine

Solvants, réactifs et substituant

AcONa	Acétate de sodium
Ar	Aromatique
CH₃COOH	Acide acétique
CO/H₂	Gaz de synthèse
EtOH	Ethanol
i-PrOH	Isopropanol
Me	Méthyle
n(C₂H₅)₃	Triéthylamine
Ph	Phényle

Listes des tableaux

N° de tableau	Titre	Page
Chapitre I : Généralités sur les hydrazones et les semicarbazones		
I.1	Effet thérapeutique des hydrazones	10
I.2	Effet thérapeutique des semicarbazones	16
Chapitre II : Effet pharmacologiques		
II.1	Quelque médiateur de l'inflammation	23
II.2	Radiations ultraviolettes et effets sur la peau humaine	26
Chapitre III : Description des travaux personnels		
III.1	Réactifs et solvants utilisés	32
III.2	Matériels utilisés	32
III.3	Caractéristiques du carboéthoxyhydrazone de 5-bromo-2-hydroxyacétophénone.	34
III.4	Caractéristiques du semicarbazone de 2-hydroxyacétophénone	35
III.5	Caractéristiques du semicarbazone de 2-hydroxy-5-méthylacétophénone	35
III.6	Dérivés d'hydrazones et des semicarbazones testée	36
III.7	Valeurs du produit $EE(\lambda) I(\lambda)$	44
Chapitre IV : Discussion des résultats		
IV.1	Produits de la série 01	48
IV.2	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS des produits de la série 1	49
IV.3	Résultats du test FRAP de la série 01	50
IV.4	Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des rats traités par les produits de la série 1	52
IV.5	Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des rats traités par les produits de la série 1	53
IV.6	Pourcentage de protection des globules rouge des produits de la série 01	55
IV.7	Facteur de protection solaire des produits de la série 01	57
IV.8	Produits de la série 02	58

IV.9	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS des produits de la série 2	59
IV.10	Test FRAP : Variations de l'absorbance à 700 nm des produits de la série 2	60
IV.11	Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des rats traités par les produits de la série 2	62
IV.12	Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des rats traité par les produits de la série 2	63
IV.13	Pourcentage de protection des globules rouge des produits de la série 02	64
IV.14	Facteur de protection solaire des produits de la série 02	65
IV.15	Produits de la série 03	66
IV.16	Résultats du test ABTS de la série 03 (moyenne \pm écart type)	66
IV.17	Test FRAP : variations de l'absorbance à 700 nm en fonction de la concentration des produits de la série 3	68
IV.18	Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des rats traités par les produits de la série 3	69
IV.19	Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des rats traités par les produits de la série 3	70
IV.20	Pourcentage de protection des globules rouge des produits de la série 03	71
IV.21	Facteur de protection solaire des produits de la série 03	72
IV.22	Test antibactérien des dérivés d'hydrazones et de semicarbazones	73

Listes des figures

N° de figure	Titre	Page
Chapitre I : Généralités sur les hydrazones et les semicarbazones		
I.1	Exemples de sources naturelles d'hydrazones	3
I.2	Squelette de base d'hydrazones	4
I.3	Centres de réactivité des hydrazones	4

I.4	Squelette de base des semicarbazones	12
Chapitre II : Effet pharmacologiques		
II.1	Liste des références utilisées	20
II.2	Pénétration des rayonnements solaires en fonction de la longueur d'onde	26
Chapitre III : Description des travaux personnels		
III.1	Prétraitement par les dérivés d'hydrazones et des semicarbazones	36
III.2	Injection de la carragénine	37
III.3	Mesure du diamètre de la patte des rats	38
III.4	Solutions d'essai	40
III.5	Incubation des mélanges d'essai	40
III.6	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	43
III.7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43
III.8	<i>Staphylococcus aureus + Proteus mirabilis</i>	43
III.9	<i>Candida Albicans</i>	44
Chapitre IV : Discussion des résultats		
IV.1	Pourcentages d'inhibition du radical ABTS.+ en fonction de la concentration des produits de la série 1	49
IV.2	Test FRAP : variation de l'absorbance des produits de la série 1 en fonction de la concentration	51
IV.3	Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des rats traités par les produits de la série 1 pendant 3h	53
IV.4	Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'oedème de la patte des rats traités par les produits de la série 1 pendant 3h	54
IV.5	Pourcentage de protection des globules rouge des produits de la série 01	55
IV.6	Inhibition de l'hémolyse des globules rouges par les dérivés testés	56
IV.7	Facteur de protection solaire des produits de la série 01	57

IV.8	Activité de piégeage du radical ABTS par les produits de la série 2	59
IV.9	Test FRAP : variations de l'absorbance à 700 nm en fonction de la concentration des produits de la série 2.	59
IV.10	Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des rats traités par les produits de la série 2 pendant 3h	61
IV.11	Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'oedème de la patte des rats traités par les produits de la série 2 pendant 3h.	62
IV.12	Pourcentage de protection des globules rouge en fonction de la concentration des produits de la série 02	63
IV.13	Facteur de protection solaire des produits de la série 02	64
IV.14	Activité de piégeage du radical ABTS en fonction de la concentration des produits de la série 3	66
IV.15	Test FRAP : variations de l'absorbance à 700 nm en fonction de la concentration des produits de la série 3	67
IV.16	Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des rats traités par les produits de la série 1 pendant 3h	68
IV.17	Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'oedème de la patte des rats traités par les produits de la série 3 pendant 3 h	69
IV.18	Pourcentage de protection des globules rouge des produits de la série 03	70
IV.19	Facteur de protection solaire des produits de la série 3	71
IV.20	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	73
IV.21	<i>Staphylococcus aureus</i>	74
IV.22	<i>Proteus mirabilis</i>	74
IV.23	<i>klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>	74
IV.24	Les résultats de l'activité antifongique	75

Liste des schémas

N° de tableau	Titre	Page
Chapitre I : Généralités sur les hydrazones et les semicarbazones		
I.1	Tautomères de l'arhydrazone	5
I.2	Caractère électrophile et nucléophile d'hydrazones	5
I.3	Synthèse d'amines chirales	5
I.4	Mécanisme synthèse d'amines chirales	6
I.5	N-acylation des hydrazones par l'action d'anhydrides d'acide ou de chlorures d'acyle	6
I.6	Mécanisme de N-acylation d'hydrazones par l'action d'anhydrides d'acide ou de chlorures d'acyle	6
I.7	Synthèse des hydrazones par condensation de carboalkylhydrazine et le groupe carbonyle (aldéhyde ou cétone)	7
I.8	Mécanisme de la synthèse des hydrazones par condensation	7
I.9	Synthèse de benzothiazol-2-yl hydrazones	8
I.10	Structure de N-acylhydrazones obtenue par réactions sous micro-ondes	8
I.11	Synthèse de la N-quinolin-2-yl benzile hydrazone	9
I.12	Couplage de Japp-Klingemann	9
I.13	Synthèse d'hydrazone à partir d'une oléfine aliphatique et de la phénylhydrazine	10
I.14	Équilibre tautomérique des semicarbazones	12
I.15	Semicarbazone du <i>p</i> -diméthylaminobenzaldéhyde en configuration <i>trans</i>	13
I.16	Synthèse de semicarbaazones par condensation des cétones ou aldéhydes avec les dérivés de semicarbazide	13
I.17	Mécanisme de synthèse des semicarbazones par condensation des cétones ou aldéhydes avec les dérivés de semicarbazide	13
I.18	Synthèse de la semicarbazone de β -naphtylméthylcétone	14
I.19	Synthèse de semicarbazone de la carvone	14

I.20	Synthèse de semicarbazone du 4-propargyloxybenzaldéhyde	15
I.21	Synthèse de semicarbazones 3-chloro-2-methyl phenyle	15
I.22	Synthèse de dérivé de semicarbazone d'indole-3-carbaldéhyde	16
Chapitre II : Effet pharmacologiques		
II.1	Piégeage du radical ABTS par un antioxydant donneur de H [•]	21
II.2	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanure de potassium et un antioxydant (AH)	22
Chapitre IV : Discussion des résultats		
IV.1	Rétrosynthèse des hydrazones	46
IV.2	Rétrosynthèse des semicarbazones	46
IV.3	Mécanisme de la synthèse de carboéthoxyhydrazone de 5-bromo-2 hydroxyacétophénone	47

Introduction
Générale

La chimie des composés azotés est la source privilégiée de nombreux sujets d'étude au laboratoire. L'atome d'azote est présent dans de nombreuses molécules naturelles d'intérêt pharmacologique et de très nombreuses méthodes ont été mises au point pour accéder aux composés azotés, notamment hétérocycliques. Quelques-unes d'entre elles ont été explorées au laboratoire, à travers la chimie des hydrazones et celle des semicarbazones [1].

Les molécules comportant la fonction imine $C=N$ dans l'enchaînement $R-C=N-R'$ ont été beaucoup étudiées à cause des nombreuses propriétés de ce motif fonctionnel tant sur le plan des propriétés acido-basiques qu'oxydo-réduction, voire même photochimiques [2].

Les hydrazones et les semicarbazones sont une classe de composés possédant un large spectre d'applications biologiques ou thérapeutiques. Les hydrazones et les semicarbazones ont été étudiées pour leurs propriétés antitumorales, antivirales (y compris contre le VIH), antibactériennes, antipaludiques, antifongiques, anti-inflammatoires [3-8]. La littérature compte plusieurs études sur les hydrazones et les semicarbazones qui ont reçu beaucoup d'intérêts ces dernières années, à cause de leurs activités biologiques diverses [9-13].

Les travaux de recherche présentés dans ce manuscrit se focalisent sur la synthèse, et les propriétés pharmacologiques de certains dérivés d'hydrazones et semicarbazone.

Dans ce contexte nous avons réalisé un travail comprenant trois parties :

- ❖ La première partie aborde une étude bibliographique qui regroupe deux chapitres dont :
 - Le premier chapitre illustre les méthodes de synthèse des hydrazones et des semicarbazones et leurs activités biologiques.
 - Le deuxième chapitre comporte les effets pharmacologiques étudiés dans ce travail.
- ❖ La deuxième partie résume les travaux personnels réalisés qui porte sur :
 - La synthèse et l'analyse physico-chimiques de quelques dérivés des hydrazones et des semicarbazones préparés au laboratoire.
 - Une étude de l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne, et photoprotectrice de ces composés ainsi que d'autres dérivés synthétisés auparavant.
- ❖ Enfin, une troisième partie est consacrée à la présentation, l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus.

Le manuscrit se termine par une conclusion générale.

Références

- [1] HADROT Simon; Développements méthodologiques dans la chimie des hydrazones et des isonitriles. Doc. Chimie organique, école polytechnique; (2006).
- [2] M. Z. Al-Noaimi, H. Saadeh, S. F. Haddad, M. I. El-Barghouthi, M. El-Khateeb, R. J. Crutchley; *Polyhedron*; (2007), 26, p. 3675-3685.
- [3] I. H. Hall, S. Y. Chen, K. G. Rajendran, D. X. West; *App. Organomet. Chem*; (1996), 10, p. 485-493.
- [4] T. R. Bal, B. I. Anand, P. Yogeeswari, D. Sriram; *Bioorg; Med. Chem. Lett*; (2005), 15, p. 4451-4455.
- [5] D. X. West, A. K. El-Sawaf, G. A. Bain; *Transition Met. Chem*; (1996), 23, p. 1-6.
- [6] H. A. Tang, L. F. Wang, R. D. Yang; *Transition Met. Chem*; (2003), 28, p. 395-398.
- [7] R. A. Finch, M. C. Liu, S. P. Grill, W. C. Rose, R. Loomis, K. M. Vasquez, Y. C. Cheng, A. C. Sartorelli; *Biochem. Pharmacol*; (2000), 59, p. 983-991.
- [8] Z. Afrasiabi, E. Sinn, J. Chen, Y. Ma, A. L. Rheingold, L. N. Zakharov, N. Rath, S. Padhye; *Inorg. Chim Acta*; (2004), 357, p. 271-278.
- [9] D. Kovala-Demertzi, M. A. Demertzis, J. R. Miller, C. Papadopoulou, C. Dodorou, G. Filousis; *J. Inorg. Biochem*; (2001), 86, p. 555.
- [10] H. Cerecetto, M. González; *Curr. Topic. Med. Chem*; (2002), 2, p. 1185.
- [11] S. K Sridhar, S. N. Pandeya, J. P Stables, A. Ramesh; *Eur.J. Med. Chem*; (2002), 129.
- [12] A. Kolocouris, K. Dimas, C. Pannecouque, M. Witvrouw, G. B Boscolos, G. Stamatiou, G. Fytas, G. Zoidis, N. Kolocouros, G. Andrei, R. Snoeck, E. DeClerq; *Bioorg. Med. Chem. Letters*; (2002), 12, p. 723-727.
- [13] G. Domagk, R. Behnish, F. Mietzch, H. Schmidt; *Naturwissenschaften*; (1946), 33, p. 315.

Chapitre I
Généralités sur
Les hydrazones et
Les semicarbazones

I.1. Les hydrazones

Les hydrazones sont des composés organiques renfermant l'élément azote et sont utilisées dans de nombreux domaines scientifiques en tant qu'intermédiaires importants [1]. Elles sont représentées par la structure $R_1R_2C=N-NHR_3$ [2]. Elles permettent de participer à un grand nombre de réactions en synthèse organique notamment en synthèse hétérocyclique et sont également très utiles pour l'inter conversion de groupes fonctionnels [3-4].

Les hydrazones sont largement présent dans la nature. Deux exemples sont présentés :

- La gyromitrine (acétaldéhyde méthylformylhydrazone) est une toxine et un cancérigène présent dans plusieurs membres du genre fongique (*Gyromitra*). Ce composé est instable et facilement hydrolysé en monométhylhydrazine. Cette molécule est produite par la fausse morille (une espèce de champignon toxique) [5].
- les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique contenant une fonction hydrazone ont été isolés d'une éponge marine [6].



Fausse morille



Eponge marine

Figure.I.1 : Exemples de sources naturelles d'hydrazones.

I.1.1. Squelette de base

Les hydrazones représentent une famille de composés organiques comportant une structure de type : $(R_1R_2C=N-NH-R_3)$.

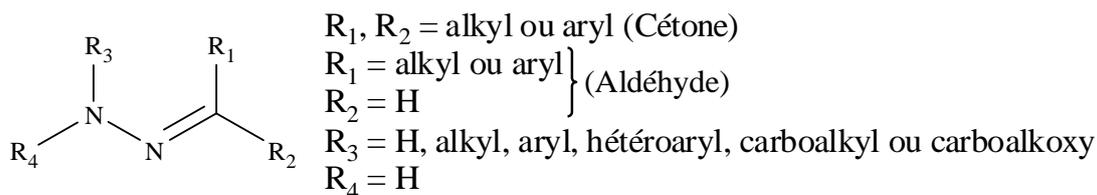


Figure.I.2 : Squelette de base des hydrazones.

I.1.2. Réactivité d'hydrazones

Les hydrazones contiennent deux atomes d'azote liés de façon différente, dont une liaison et une double liaison $C=N$ qui est conjuguée avec la paire d'électrons de l'atome d'azote terminal. Ces fragments structuraux sont principalement responsables des propriétés physiques et chimiques des hydrazones. Les deux atomes d'azote du groupe hydrazone sont nucléophiles, bien que l'azote de type amino soit plus réactif. L'atome de carbone du groupe hydrazone joue à la fois le rôle d'un électrophile et d'un nucléophile [7].

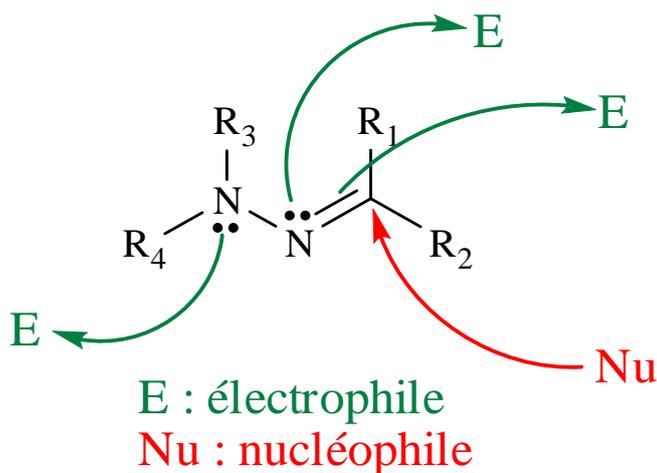


Figure.I.3 : Centres de réactivité des hydrazones.

I.1.2.1. Tautomérie azo / hydrazone

La tautomérie azo / hydrazone a été découverte en 1884 par Zincke et Coll. L'étude a été réalisée par la condensations du chlorure de phényldiazonium avec le α -naphthol qui a donné deux tautomères (l'un de couleur jaune et l'autre de couleur orange). Pour déterminer la structure du deuxième tautomère de couleur orange, ils ont synthétisé ce dernier par condensations de dérivés de la phénylhydrazine avec la 1,4-naphtoquinone (**schéma.I.1**) [8].

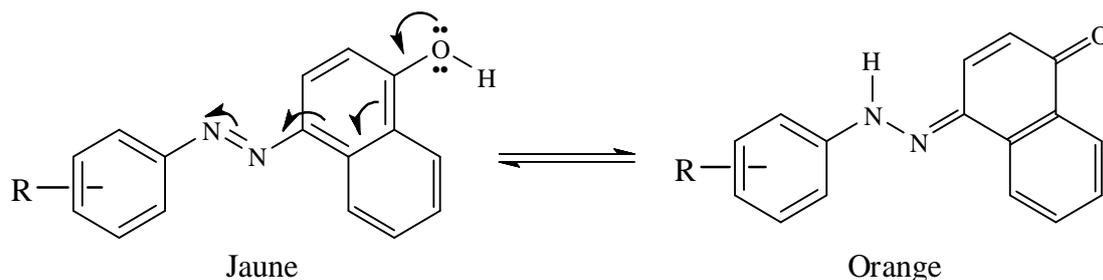


Schéma.I.1 : Tautomères de l'arylhydrazone.

La présence du groupement $>C=N-NR_1R_2$ dans la structure d'une hydrazone, confère à l'atome de carbone azométhine (carboimine), à la fois un caractère électrophile dû à la polarisation de la double liaison $C=N$, et nucléophile dû à la conjugaison du doublet non liant de l'azote terminal comme représenté dans la **Schéma.I.2** [9]. Cette propriété ambivalente qui confère à la fois un caractère électrophile et nucléophile au carbone azométhine, permet d'envisager une multitude de réactions électrophiles et nucléophiles.

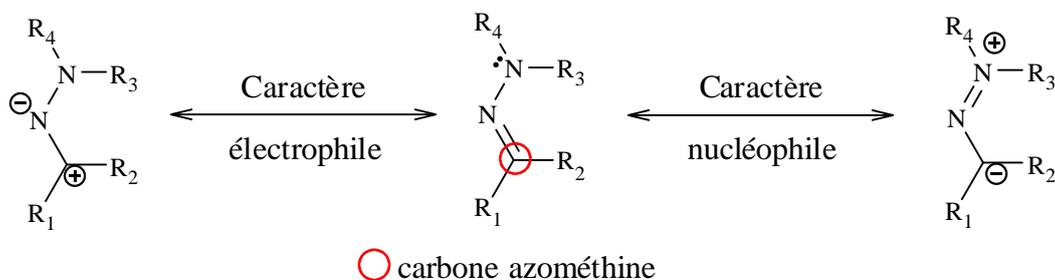


Schéma.I.2 : Caractère électrophile et nucléophile d'hydrazones.

I.1.2.2. Comportement électrophile

La réactivité électrophile des hydrazones est la mieux connue et la plus développée. L'une des applications récentes les plus intéressante, met en jeu des N,N dialkylhydrazones chirales de type SAMP et RAMP – nommées ainsi car elles sont dérivées de la (S)-1-amino-2-méthoxyméthylpyrrolidine ou de son énantiomère (R). Ces hydrazones subissent des additions stéréosélectives de divers composés organométalliques. Le clivage réducteur de la liaison N-N des hydrazines permet d'obtenir des amines fonctionnalisées avec un très bon contrôle de la diastéro- et de l'énantiosélectivité (**Schéma.I.3**) [10].

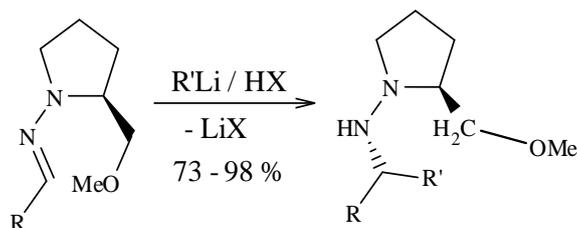


Schéma.I.3 : Synthèse d'amines chirales.

❖ Mécanisme :

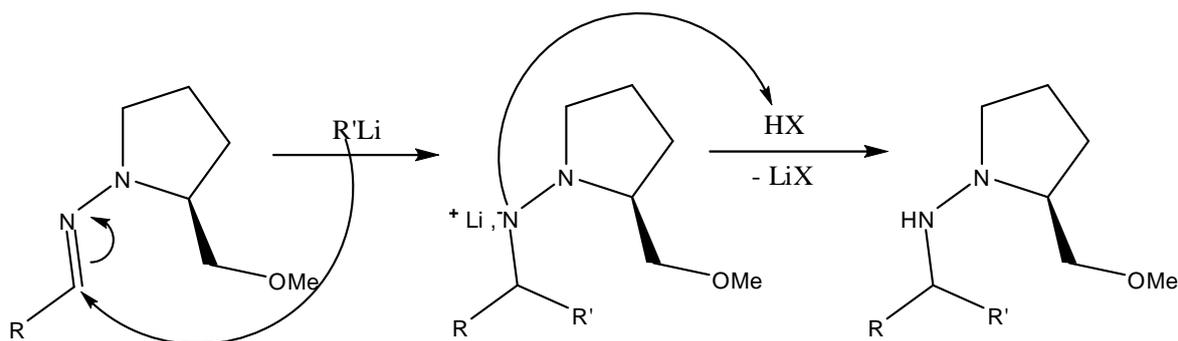


Schéma.I.4 : Mécanisme synthèse d'amines chirales

I.1.2.3. Comportement nucléophile

Les hydrazones *N*-monosubstituées réagissent avec divers électrophiles au niveau de l'atome d'azote terminal, dont le proton peut être facilement déplacé. Il est notamment facile de réaliser la *N*-acylation des hydrazones par l'action d'anhydrides d'acide ou de chlorures d'acyle [11].

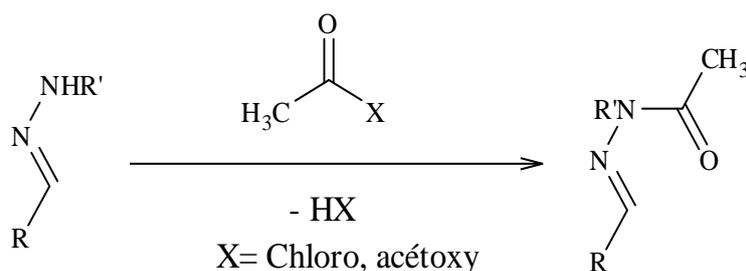


Schéma.I.5 : *N*-acylation des hydrazones par l'action d'anhydrides d'acide ou de chlorures d'acyle.

❖ Mécanisme :

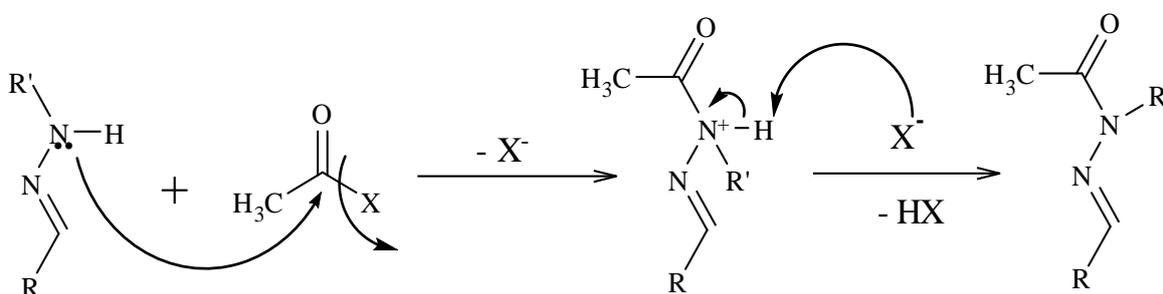


Schéma.I.6 : Mécanisme de *N*-acylation d'hydrazone par l'action d'anhydrides d'acide ou de chlorure d'acyle.

I.1.3. Synthèse des hydrazones

Nous citons dans ce qui suit, quelques méthodes de synthèse des hydrazones

I.1.3.1. Condensation d'un carbonyle avec une hydrazine

La méthode de synthèse la plus simple et la plus utilisée pour former une hydrazone consiste à condenser une hydrazine sur un aldéhyde ou une cétone (**Schéma I.7**). L'hydrazine peut subir une double condensation du composé carbonylé. L'utilisation d'hydrazines mono- ou *N,N*-disubstituées permet d'éviter cette double condensation et de synthétiser facilement les hydrazones correspondantes[12].

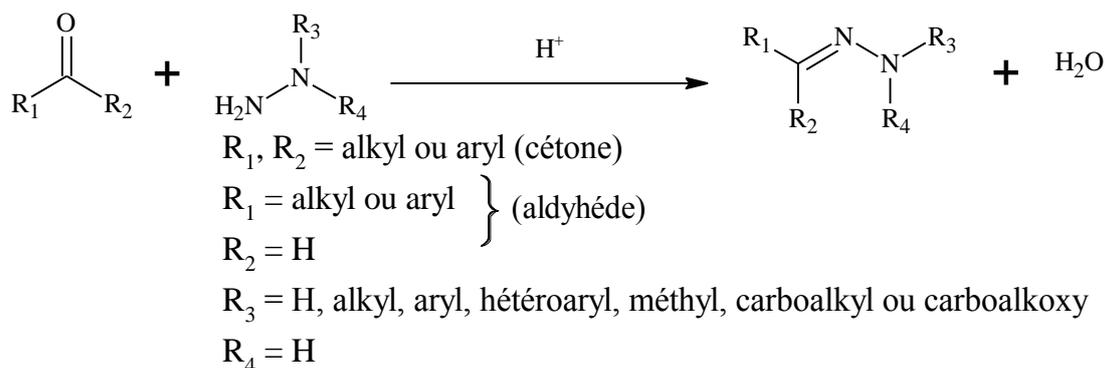


Schéma.I.7 : Synthèse des hydrazones par condensation de carboalkylhydrazine avec un dérivé carbonyle (aldéhyde ou cétone).

❖ Mécanisme :

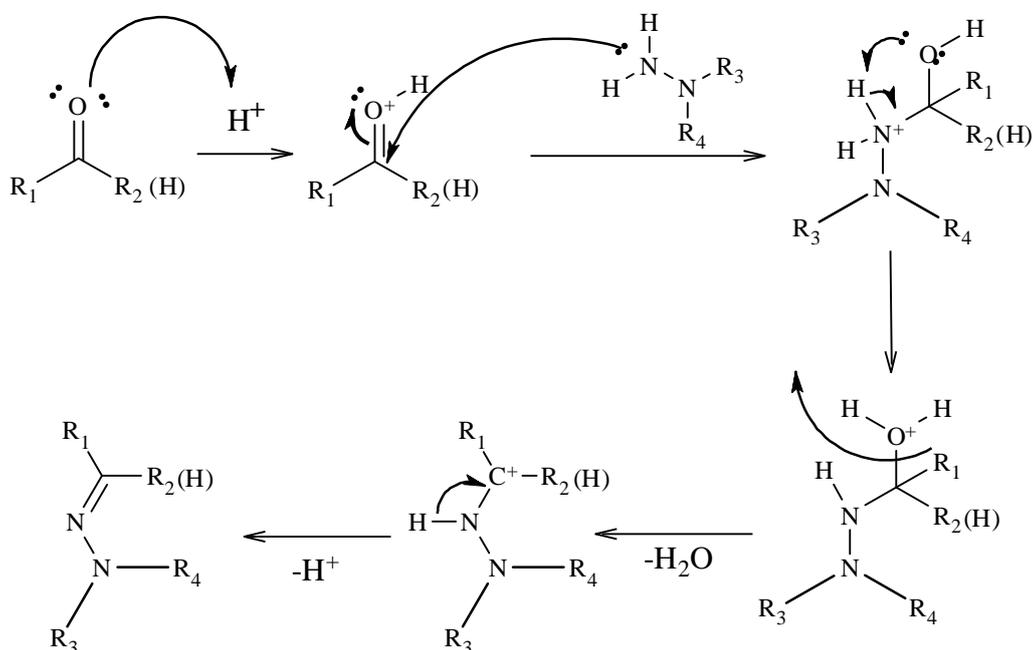


Schéma.I.8 : Mécanisme de la synthèse des hydrazones par condensation.

Calinescu et Coll. ont préparé le benzothiazol-2-yl hydrazones par la réaction de condensation d'aldéhyde salicylique avec 2-hydrazinobenzothiazole, en quantités

équimolaires, dans le méthanol, à reflux pendant 3h. Le 2-hydrazinobenzothiazole a été obtenu à partir du 2-mercaptobenzothiazole avec l'hydrazine hydratée dans le méthanol sous radiation micro-onde pendant 1min [13] (Schéma I.9).

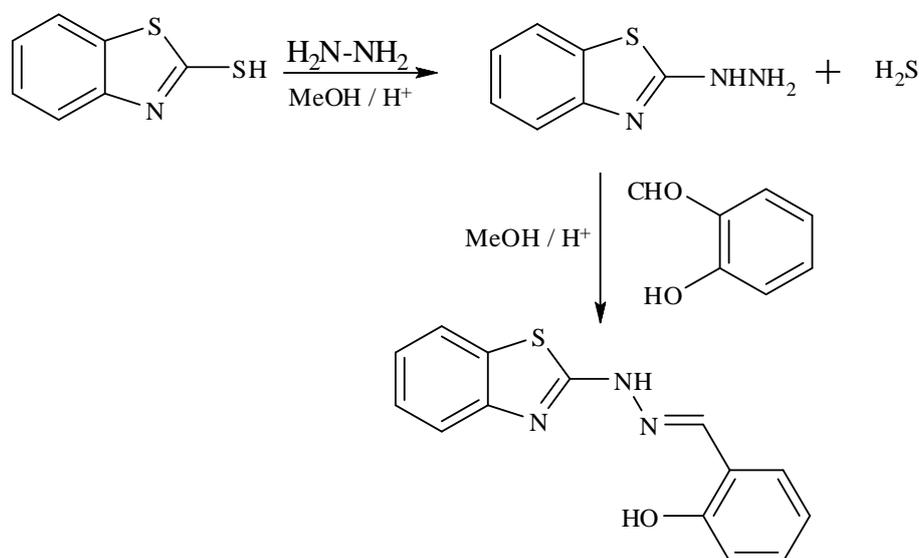


Schéma.I.9 : Synthèse de benzothiazol-2-yl hydrazones.

Plus récemment, Andrade et Coll. [14] ont rapporté la synthèse de *N*-acylhydrazones par réaction de condensation sous micro-ondes. Les auteurs ont effectué la synthèse en absence de solvant, en faisant réagir une hydrazine en présence d'un équivalent de cétone ou d'aldéhyde sous irradiation micro-ondes. Ils obtiennent avec de très bons rendements les hydrazones correspondantes (85-98%) (Schéma I.10).

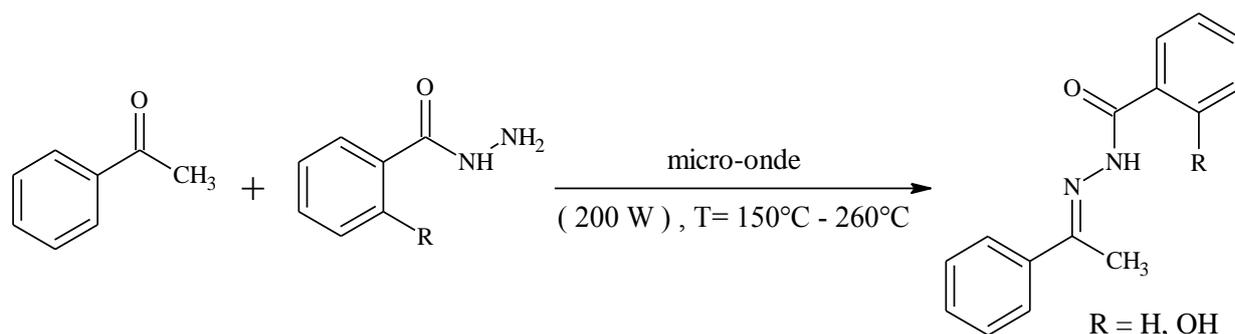


Schéma.I.10 : Structure de *N*-acylhydrazones obtenue par réactions sous micro-ondes.

Plusieurs travaux relatifs à la grande diversité des bases de Schiff (type hydrazone) sont rapportés dans la littérature indiquant les différentes stratégies de synthèses retenues pour leurs préparations à partir de différents composés carbonylés. Berger et coll ont synthétisé de nouveaux ligands dérivés d'hydrazones en faisant réagir en quantité équimolaire le benzile et

la quinolin-2-yl-hydrazine dans l'éthanol en présence d'acide acétique comme représenté sur le **Schéma.I.11**[15].

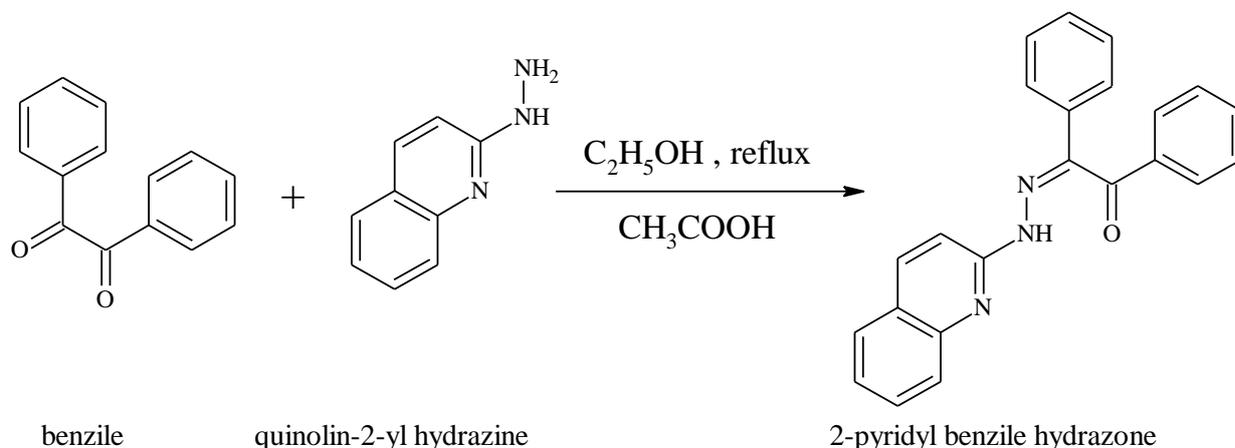


Schéma.I.11 : Synthèse de la N-quinolin-2-yl benzile hydrazone.

I.1.3.2. Synthèse de Japp-Klingemann

Cette méthode est particulièrement adaptée à la synthèse des α -cétohydrazones, pour lesquelles les rendements sont moins importants par la voie classique, du fait de la compétition entre les deux groupes carbonyles lors de la condensation de l'hydrazine [16].

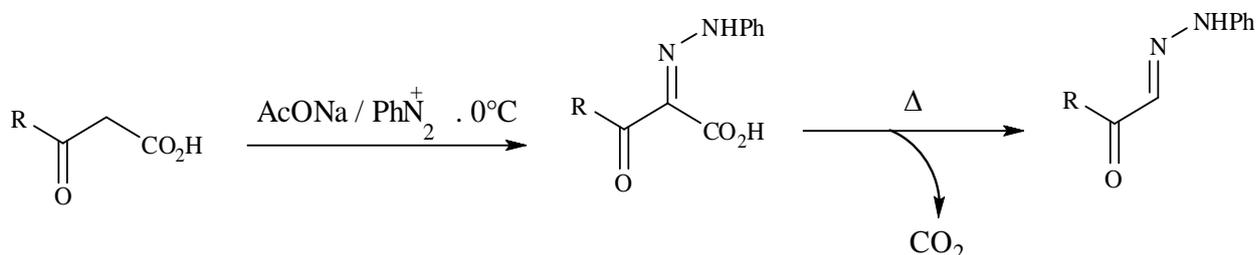
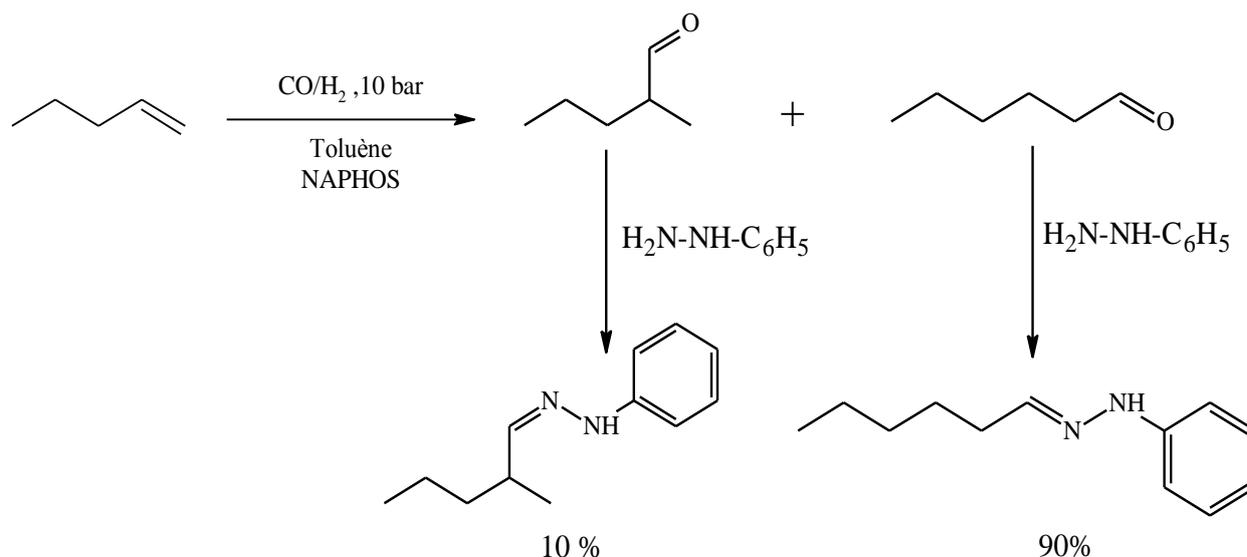


Schéma.I.12 : Couplage de Japp-Klingemann.

I.1.3.3. Synthèse d'un hydrazone à partir des oléfines aliphatiques avec les hydrazines (Méthode industrielle)

La réaction des oléfines aliphatiques avec les hydrazines, en utilisant les gaz de synthèse (CO/H₂) et en présence de NAPHOS Diphosphine (2,2' bis(diphénylphosphinométhyl)-1,1'-binaphthyle) comme catalyseur, mènent directement aux hydrazones correspondantes avec de bons rendements. Parmi les solvants testés (toluène, méthanol, tétrahydrofurane), le toluène a donné les meilleurs résultats (**Schéma I.13**) [17].



Schém I.13 : Synthèse d'hydrazone à partir d'une oléfine aliphatique et de la phénylhydrazine.

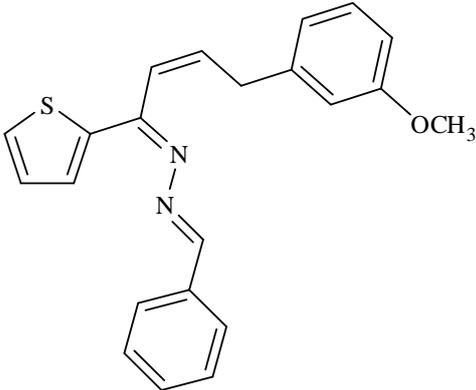
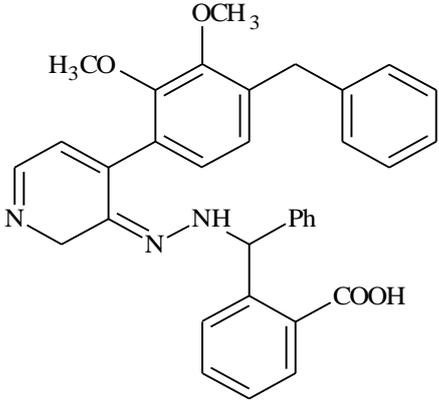
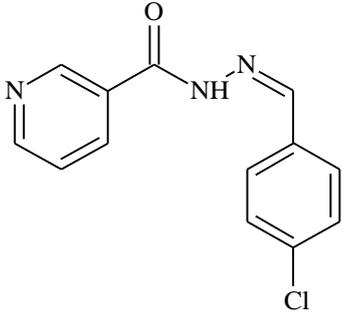
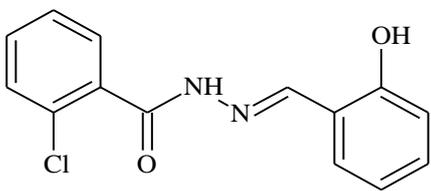
I.1.4. Effet thérapeutique des hydrazones

Les hydrazones sont largement utilisées dans la synthèse organique. Elles sont utilisées dans la découverte et la détermination quantitative de plusieurs métaux, pour la préparation des composés avec des diverses structures, et l'identification et l'isolement des composés carbonylés dans la chimie analytique. Les hydrazones sont connues par leur effets : Anti-inflammatoires, analgésiques, antituberculeux, anti tumeurs, anti-HIV et antimicrobiens et dans le domaine des colorants[18].

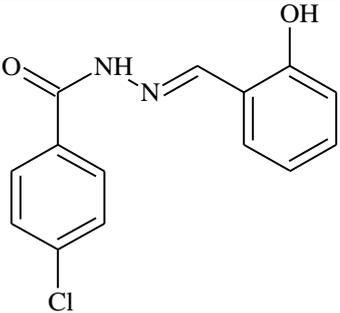
Tableau.I.1 : l'effet thérapeutique des hydrazones.

Activité	Structure	Nomenclature	Références
Antioxydante		1-benzylidene-2-(4-(3-nitrophenyl)-1-(thiophen-2-yl)but-2-enylidene)hydrazine	[19]

Suite tableau.I.1

Antioxydante		1-benzylidene-2-(4-(3-methoxyphenyl)-1-(thiophen-2-yl)but-2-enylidene)hydrazine		
Anti microbienne		acid de 2-((2-(4-(4-benzyl-2,3-dimethoxyphenyl)pyridin-3(2H)-ylidene)hydrazinyl)(phenyl)methyl)benzoïque	[19]	
Anticonvulsante		N'-(4-chlorobenzylidene)Nicotinohydrazide		
Analgésique et anti- Inflammatoire		(E)-2-chloro-N'-(2-hydroxybenzylidene)benzohydrazide		

Suite tableau.I.1

Analgésique et anti- Inflammatoire		(E)-4-chloro-N'-(2-hydroxybenzylidene)benzohydrazide	[19]
--	---	--	------

I.2. Les semicarbazones

Les semicarbazones ($RR'C=N-NH-C(O)-NH_2$) et leurs dérivés sont les principaux sous-groupes d'hydrazones ($-C=N-N-$). Ce sont des composés qui s'obtiennent habituellement par la condensation d'une cétone ou d'un aldéhyde avec les semicarbazides [20].

I.2.1. Squelette de base

Le squelette de base des semicarbazones est le suivant :

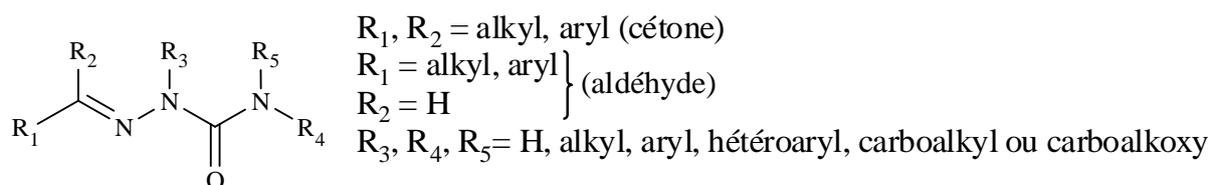


Figure.I.4 : Squelette de base des semicarbazones.

I.2.2. Tautomérie des semicarbazones

Les semicarbazones peuvent présenter sous deux formes tautomères : cétone (1) et éinol (2) (schéma I.14) [21].

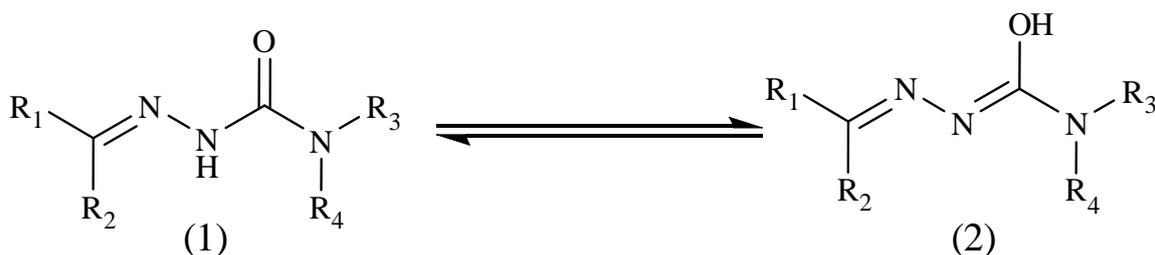


Schéma.1.14 : Équilibre tautomérique des semicarbazones.

Le groupement semicarbazone peut former des liaisons hydrogène intra et intermoléculaires. Ces liaisons hydrogène font que les semicarbazones se présentent le plus souvent selon une configuration *trans*. Ainsi, par exemple, grâce à la liaison hydrogène intramoléculaire entre l'atome d'azote de l'imine et un atome d'hydrogène de l'amide, la semicarbazone du *para*-diméthylaminobenzaldéhyde présente une configuration *trans* (schéma.15) [22].

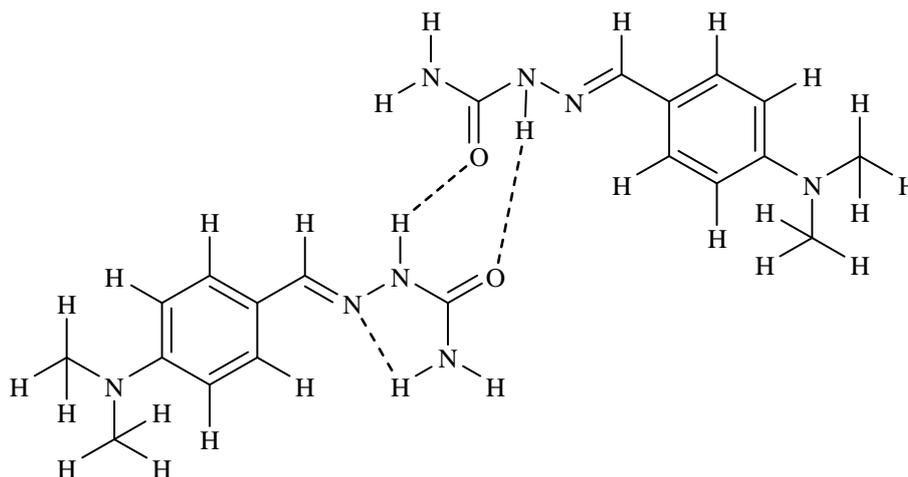


Schéma.1.15 : Semicarbazone du *p*-diméthylaminobenzaldéhyde en configuration *trans*.

I.2.3. Synthèse des semicarbazones

Les semicarbazones sont formées par condensation des aldéhydes ou les cétones avec les dérivés de semicarbazide [23].

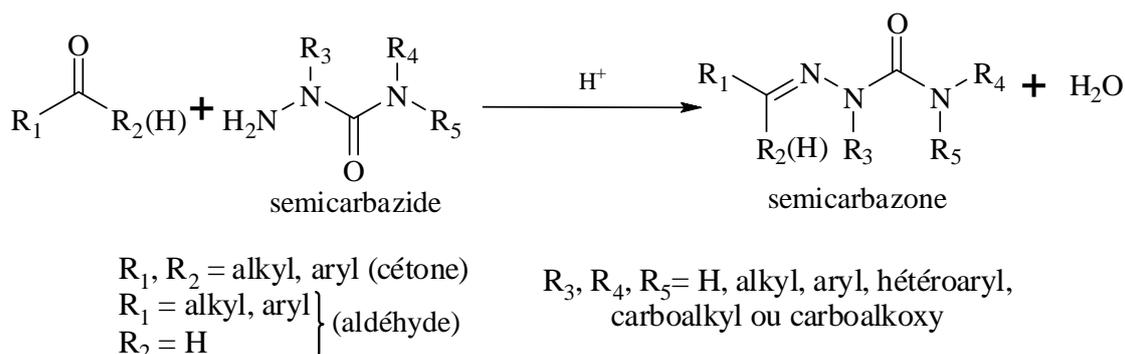


Schéma.I.16 : Synthèse de semicarbazones par condensation des cétones ou aldéhydes avec les dérivés de semicarbazide.

❖ Mécanisme :

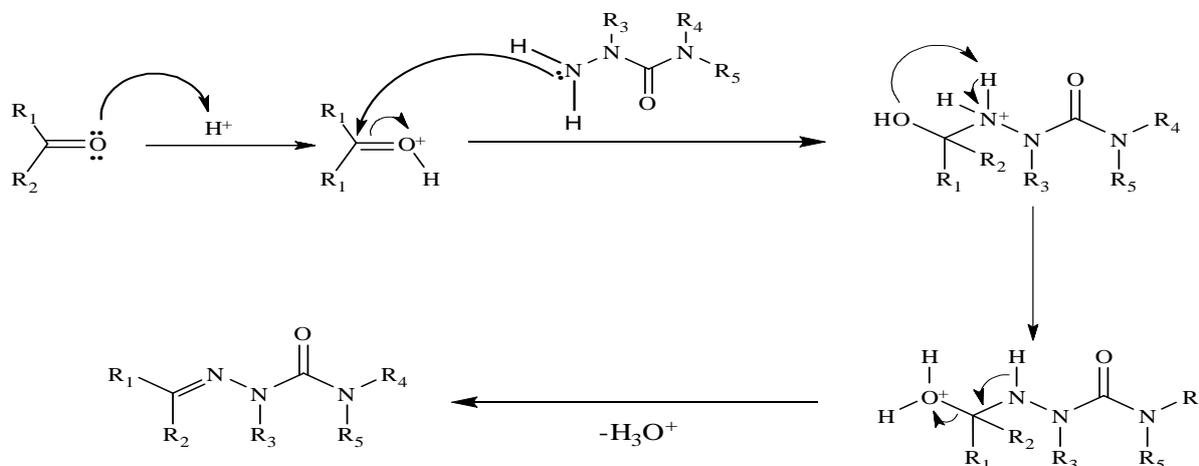


Schéma.I.17 : Mécanisme de synthèse des semicarbazones par condensation des cétones ou aldéhydes avec les dérivés de semicarbazide.

Nous citons quelques exemples de synthèse des dérivés de semicarbazone.

I.2.3.1. Synthèse de semicarbazone de β -naphtylméthylcétone

M. Yekhlef et al. ont réalisé la synthèse de semicarbazone de β -naphtylméthylcétone (2-naphtyléthanone) par condensation de semicarbazide chlorhydrique avec 2-naphtylméthylcétone en présence d'isopropanol et acétate de sodium (**Schéma I.18**) [24].

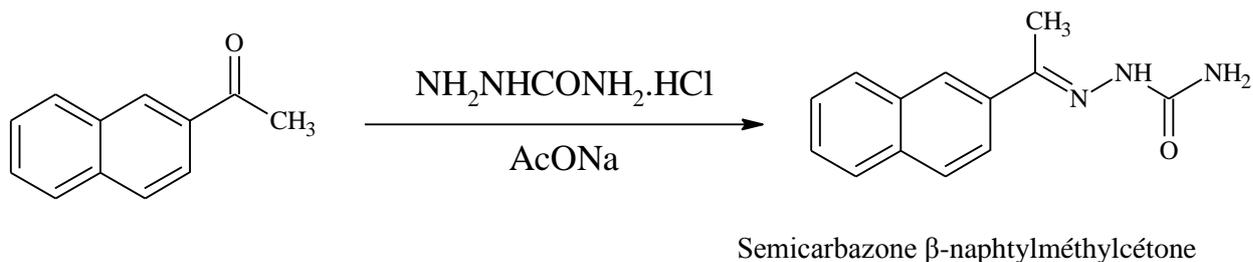


Schéma.I.18 : Synthèse de la semicarbazone de β -naphtylméthylcétone.

I.2.3.2. Synthèse de semicarbazone du carvone

H. R. Fatondji et al. ont été décrit une méthode de synthèse de semicarbazone du carvone par condensation de chlorhydrate de semicarbazide avec le carvone dans l'éthanol [25].

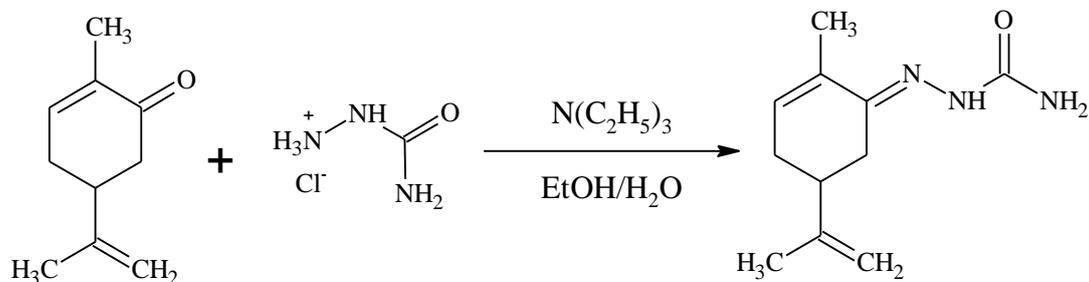


Schéma.I.19 : Synthèse de semicarbazone de la carvone.

I.2.3.3. Synthèse de semicarbazone du 4-propargyloxybenzaldéhyde

P. Yadav et al. ont donné la synthèse de semicarbazone du 4-propargyloxybenzaldéhyde par condensation de ce dernier avec le semicarbazide chlorhydrique dans l'éthanol à reflux pendant 4h [26].

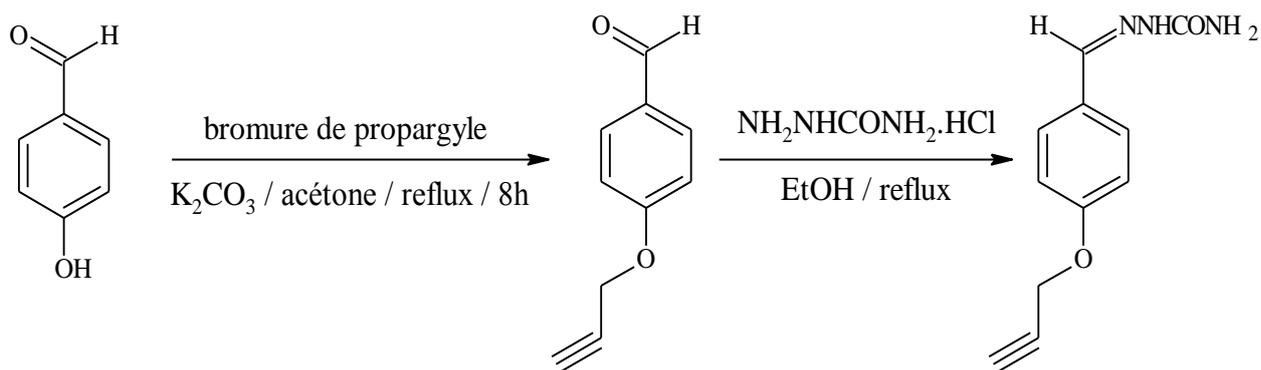


Schéma.I.20 : Synthèse de semicarbazone du 4-propargyloxybenzaldéhyde.

I.2.3.4. Synthèse de semicarbazone de 3-chloro-2-methylaniline

P. Yogeeswari et al. ont réalisé la synthèse de 3-chloro-2-méthylphénylsemicarbazones (**3**) par condensation de 3-chloro-2-méthylphényl urée (**1**), qui est préparé par le traitement de 3 chloro-2-méthylaniline avec le cyanate de sodium dans d'acide acétique glacial. avec l'hydrazine hydratée dans l'éthanol en présence d'acide chlorhydrique donnat le semicarbazide (**2**). Suivi d'une réaction avec l'aldéhyde ou cétone en présence d'acétate de sodium (Schéma.I.21) [27].

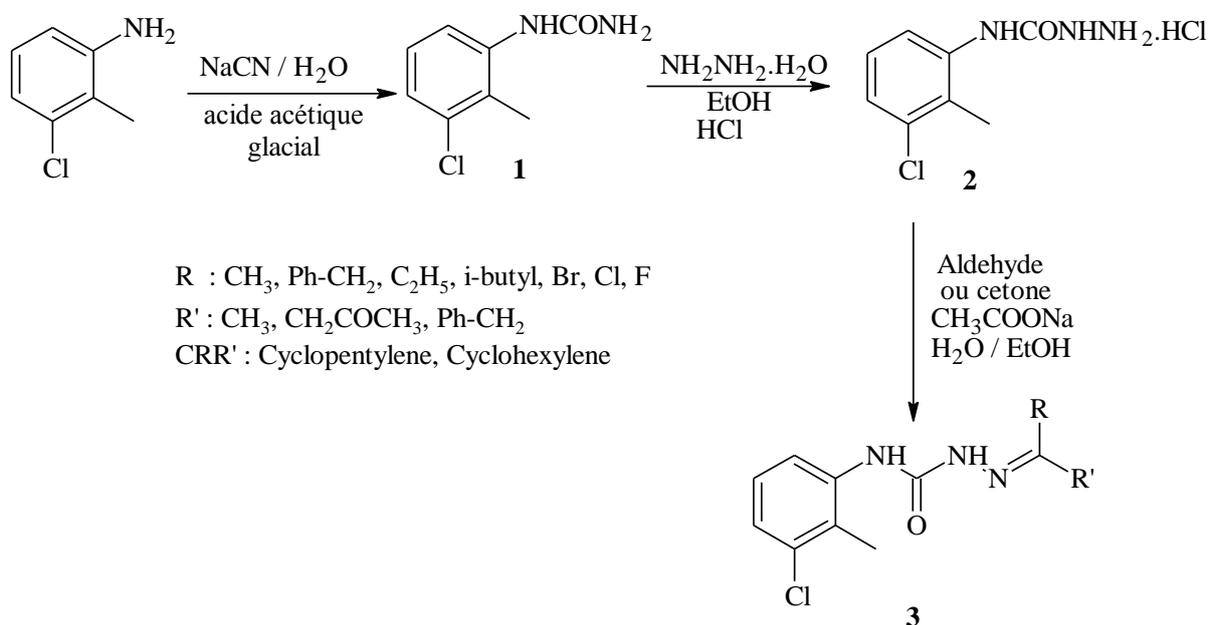


Schéma.I.21 : Synthèse de semicarbazones 3-chloro-2-methyl phenyle.

I.2.3.5. Synthèse de dérivés de semicarbazone d'indole-3-carbaldéhyde

F. carrasco, W Hernandez et al. ont synthétisé des dérivés d'indole-3-carbaldéhyde par condensation de l'indole-3-carbaldéhyde avec le semcarbazide chlorhydrique[28].

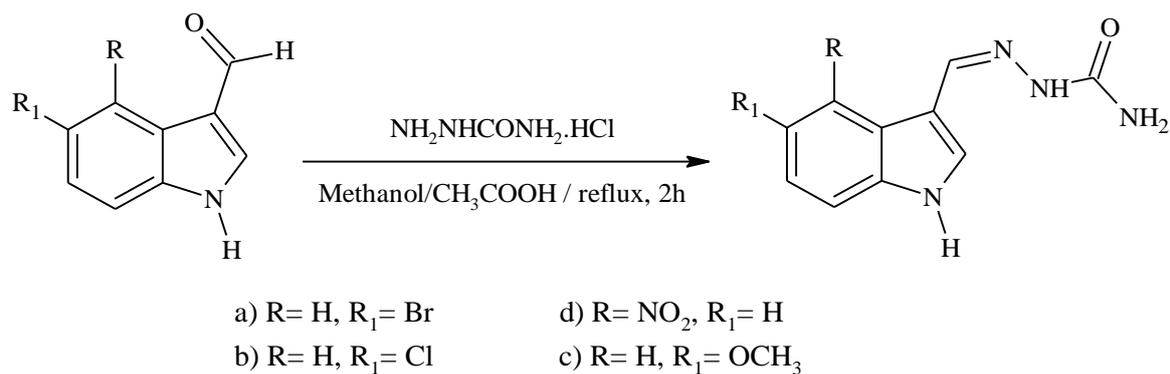


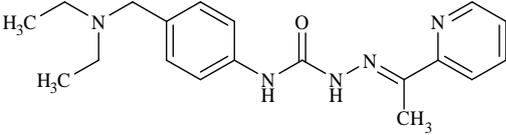
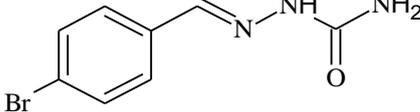
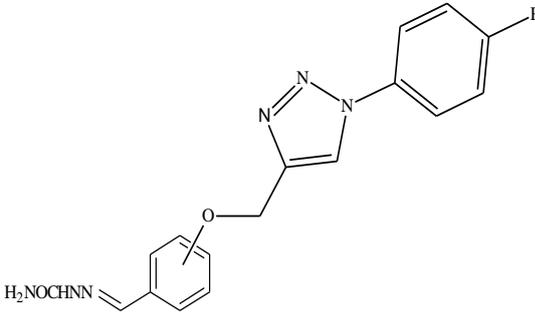
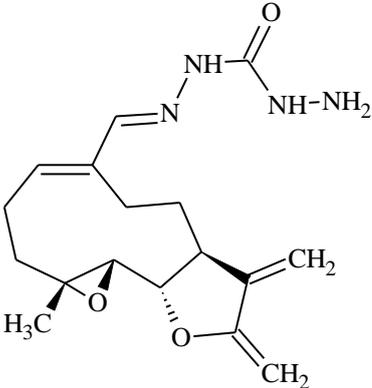
Schéma.I.22 : Synthèse de dérivé de semicarbazone d'indole-3-carbaldéhyde.

I.2.4. Effet thérapeutique

Le tableau suivant présente les effets thérapeutiques de quelques dérivés de semicarbazones.

Tableau.I.2 : Effet thérapeutique des semicarbazones.

Activité	Structure	Nomenclature	Références
Antioxydante		Semicarbazone de-4-(2-phenylethyl)-1-(5-nitrofurfurilidene)	[29]
Anticancereuse		2-(2-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)éthylidène)hydrazinecarboxamide	[30]
		E)-N-(4-((diméthylamino)méthyl)phényl)-2-(pyridine-2-ylméthylène)hydrazine-1-carboxamide	[31]

Anticancereuse		(E)-N-(4-((diethylamino)methyl)phenyl)-2-(1-(pyridine-2yl)ethylidene)hydrazine-1-carboxamide	[31]
Anticonvulsante		4-Bromobenzaldehyde Semicarbazone	[32]
Antibactérienne		1,4-Disubstituted-1,2,3-triazole-semicarbazone hybrids	[33]
Antitumoral		Parthénolide semicarbazone	[34]

Référence bibliographique

- [1] D. Kolmel, E. Kool. *Chem Rev.* 15; (2017), 117.
- [2] G. Verma, A. Marella, M. Shaquiquzaman, M. Akhtar, R. Ali, M. Alam, J. *Pharm. Bioallied Sci.*6; (2014), 69.
- [3] A. S Pedrares, N. Camina, J. Romero, M. L. Duran, J. G. Vazquez, A. Sousa, *Poly*; (2008), 27, p. 3391.
- [4] S. G. Teoh, G. Y. Yeap, C. C. Loah, L. W. Foong, *Poly*; (1997), 16, p. 2213.
- [5] D. Michelot, *J. Toxicol. Clin, Exp*, (1989), Vol. 9, p. 83-99.
- [6] H. Shimogawa, S. Kuribayashi, T. Teruya, K. Suenaga, H. Kigoshi; *Tetrahedron Lett*, (2006), 47, p. 1409-1411.
- [7] P. B. Nataliya, W. Dehaen et A. V. Bakulev ; *Arkivoc* ; (2010), p. 275-332.
- [8] P. F. Gordon et P. Gregory, *Organic Chemistry in Colour*; Springer-Verlag; Berlin; (1983), p. 96-115.
- [9] R. Lazny, A. Nodzevska; *Chemical Reviews*; (2010), 110(3), p. 1386–1434.
- [10] S. E. Denmark, T. Weber et D. W. Piotrowski; *J. Am. Chem. Soc*; (1987), 109, p. 2224-2225.
- [11] H. El Khadem, Z. M. El-Shafei et M. M. Mohammed-Ali; *J. Org. Chem*; (1964), 29, p. 1565.
- [12] J. S. Clark; *Comprehensive Organic Functional Group Transformations*; (1995), p. 443–490.
- [13] W. A. Boggust, W. Cocker, *J. Chem. Soc*; (1949), 355.
- [14] M. M. Andrade, T.B. Maria, *J. Comb. Chem.*, (2010), 12, p. 245-247.
- [15] S. A. Berger; *Mikrochim Acta*; (1979), 71, p. 311-316.
- [16] R. R. Phillips, *Organic Reactions*, ed. R. Adams, John Wiley & Sons; (1959), 10, p. 144-178.
- [17] A. Mobaligh, R. Jackstell, A. M. Seayad, B. Matthias, H. Klein; *Tetra. Lett*, (2004), 45, p. 869-873.
- [18] S. Rollas, S. G. Küçükgülzel, *Molecules*, (2007).
- [19] N. Singh, R. Ranjana, M. Kumari, B. kumar; *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*; (2016), 8(3), p. 162-166.
- [20] J. W. Smith, S. Patai. New York : Interscience Publishers, (1970).
- [21] K. Alomar; Université d'Angers. Français; (2012).
- [22] A. Trzesowska; *J. Mol. Struct*; (2009); 917, p. 125–132.

- [23] L. Kenneth; Williamson; *Macroscale and Microscale Organic Experiments*; 3rd ed, Boston, Houghton-Mifflin, (1999), 3ed, 799, p. 426–7.
- [24] M. Yekhlef, M. L. Petrov, L. M. Pevzner et A. I. Ponyaev; *Russian Journal of General Chemistry*; (2018), Vol. 88, p. 151–153.
- [25] H. R. Fatondji, F. Gbaguidi, S. Kpoviessi et autres; *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*; (2010), 30, p. 11 – 17.
- [26] N. R. K. Tittal, P. Yadav, K. Lal, G. V. Dasharath et A. Kumar; *New Journal of Chemistry*; (2019).
- [27] P. Yogeeswari et al; *European Journal of Medicinal Chemistry*; (2004), 39, p. 729–734.
- [28] F. Carrasco, W. Hernández et al; *Journal of Chemistry*; (2020), p. 1–9.
- [29] M. Vega Tejjido, I. Caracelli, J. Zukerman-Schpector; *J Mol Graph Model*; (2006), 24, p. 349–355.
- [30] M. M Ali, M Jesmin, SMS Shahriar et al; *Asian Coord Group Chem Res Commun*; (2009), 23, p. 13-22.
- [31] Ma. junjie, Ni. Xin, Y Gao, K. Huang, et al; *Med Chem Comm*; (2019).
- [32] J. R. Dimmock, G.B. Baker; *Epilepsia, United States*; (1995), 35 (3), p. 648–655.
- [33] H. C. Kolb, K. B. Sharpless; *Drug Discovery Today*; (2003), 8, p. 1128-1137.
- [34] X. Jia, Q. Liu, S. Wang et al; *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, (2020).

Chapitre II
Effet
pharmacologique

II.1. Activité antioxydante

II.1.1. Radical libre

Un radical libre peut être défini comme une molécule ou des fragments moléculaires contenant un ou plusieurs électrons non appariés dans son orbite atomique ou moléculaire la plus externe et sont capables d'exister de manière indépendante [1].

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène [2]. L'appellation « dérivés réactifs de l'oxygène » n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 .

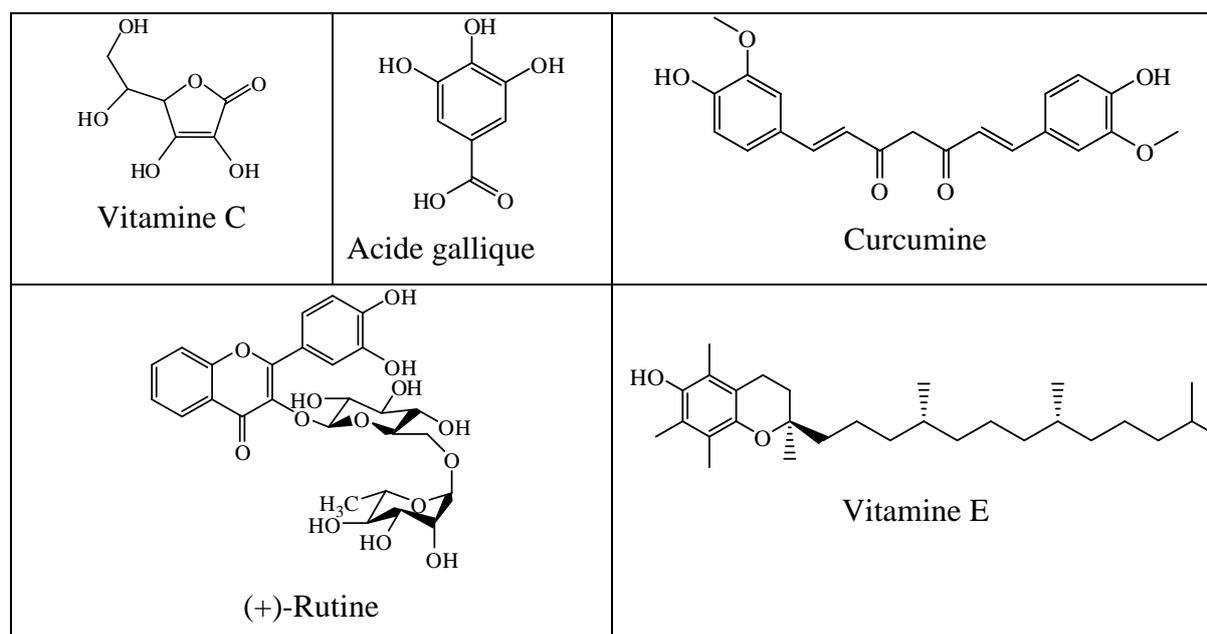
Les non-radicaux sont également appelés oxydants et sont capables de provoquer facilement des réactions radicalaires dans les organismes vivants [3].

II.1.2. Principe

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité de neutraliser l'oxydation. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH^\bullet) et superoxydes (O_2^\bullet) [3].

II.1.3. Références utilisées

Un ensemble de molécules de référence sont utilisés dans les études de l'activité antioxydante (**Figure.II.1**) Certains de ces références sont disponibles commercialement (vitamine C, vitamine E, trolox, curcumine et d'autres) [4].



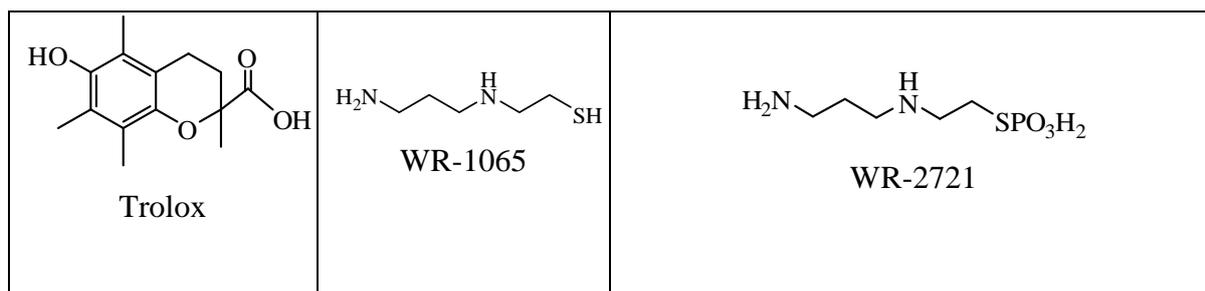


Figure.II.1 : Liste des références utilisées.

II.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante

Pour mesurer l'effet antioxydant d'une molécule, différentes techniques analytiques ont réalisés, tels que test ABTS et FRAP. Ces deux techniques suivent de différent principes.

II.1.4.1. Pouvoir antiradicalaire par le test ABTS

Le radical $ABTS^{+\cdot}$ est un radical libre stable. Il est utilisé pour évaluer les propriétés antioxydantes des fluides biologiques, des mélanges complexes et même des produits purs. La particularité de ce radical libre est qu'il peut non seulement réagir avec les antioxydants classiques de type polyphénol ou thiol, mais également avec tout autre composé donneur d'hydrogène ou d'électrons. Dans nos recherches, les radicaux libres $ABTS^{+\cdot}$ sont formés par le dioxyde de manganèse (schéma.II.1). D'autres oxydants peuvent également être utilisés, comme le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$). La bande d'absorption résultante à 734 nm présente une caractéristique de coloration vert - bleu [5, 6].

Dans des conditions stables, la capacité antioxydante de l'échantillon est inversement proportionnelle avec les valeurs d'absorbance [8].

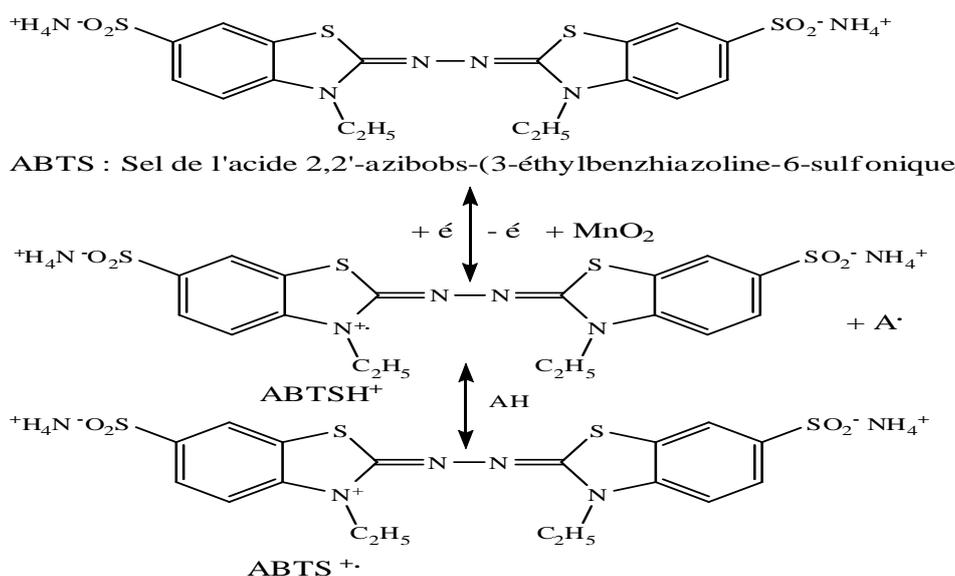


schéma.II.1 : Piégeage du radical ABTS par un antioxydant donneur de H' [7]

❖ Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est définie comme une réponse tissulaire pouvant survenir dans les premières heures suivant la blessure, peut être déclenchée par la présence d'agents infectieux tels que la bactérie [11].

- ✓ Phase vasculaire : immédiate, de l'ordre de la minute, caractérisée par des modifications de la microcirculation locale.
- ✓ Phase cellulaire : successive à la mobilisation de plusieurs cellules, cette mobilisation va faciliter l'élimination des micro organismes pathogènes et des tissus lésés.
- ✓ Phase de résolution : qui en quelques jours, verra la restauration des tissus [6].

❖ Inflammation chronique

L'inflammation chronique correspond à une inflammation n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée et qui évolue en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années.

On peut distinguer deux types de circonstances de survenue des inflammations chroniques :

- Les inflammations aiguës évoluent en inflammations prolongées subaiguës et chroniques lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus, ou lorsqu'une inflammation aiguë récidive de façon répétée dans le même organe en entraînant à chaque épisode des destructions tissulaires de moins en moins bien réparées ;
- Les inflammations peuvent parfois se manifester d'emblée sous une forme apparemment chronique. C'est souvent le cas de maladies auto-immunes et d'affections pour lesquelles les mécanismes immunitaires sont prépondérants (ex : hépatite auto-immune) [8].

II.2.1.3. Médiateurs de l'inflammation

Un médiateur inflammatoire est une substance chimique qui intervient activement dans le déclenchement et le déroulement de la réaction inflammatoire. Il est d'origine cellulaire ou plasmatique [12].

Tableau.II.1 : Quelques médiateurs de l'inflammation [13].

Médiateurs	Description
Histamine	La libération d'histamine des mastocytes lors des réactions anticorps antigène est bien connue, tout comme son implication dans la réponse inflammatoire aux lésions cutanées. De plus, un nombre accru de mastocytes sont présents dans la synoviale rhumatoïde et

Suite tableau.II.1

	dans le poumon asthmatique, corrélés avec des niveaux élevés d'histamine.
Bradykinine	De petites quantités de bradykinine provoquent des douleurs, une vasodilatation et un œdème, contribuant toutes à l'inflammation. Une immunité réactive de type bradykinine a été détectée chez les exsudats inflammatoires pleuraux de rat. Les kinines sont aussi présentes dans les sécrétions nasales après provocation immunologique, et une kininogénase est libérée du poumon humain par les mastocytes.
Prostaglandines	Une partie des érythrocytes non nucléés, toutes les cellules sont capables de synthétiser les PG, qui sont libérés dans la réponse à de nombreux types de traumatismes ou de perturbations de la membrane cellulaire.

II.2.1.4. Type des anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont répartis en deux grands groupes :

❖ Anti-inflammatoires stéroïdiens

Les glucocorticoïdes sont la thérapie la plus efficace contre à long terme des cellules inflammatoires et immunitaires dans les voies respiratoires, en particulier dans l'asthme, ils sont capables d'inhiber toutes les phases de la réaction inflammatoire [14].

❖ Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétique et antalgiques. Actuellement, il y a plus de 50 différents AINS qui sont sur le marché mondial.

Le mécanisme d'action des AINS est précisé par les travaux de Vane en 1971. Il repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclooxygénase, enzyme qui permet la production de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique. Cette caractéristique commune à tous les AINS conduit à une diminution de la production des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2), importants médiateurs de l'inflammation. Même si d'autres modes d'action existent, cette activité explique largement les propriétés pharmacologiques et thérapeutiques des AINS, mais aussi une partie de leurs effets secondaires en raison du rôle ubiquitaire et des fonctions physiologiques des prostaglandines [15]. Ainsi, la production

exagérée de prostaglandines en situation pathologique participe à l'inflammation (vasodilatation, augmentation de la perméabilité capillaire) et à la douleur (sensibilisation des nocicepteurs) alors que sa production basale permet l'homéostasie tissulaire (production de mucus, de bicarbonates et maintien du flux sanguin sous muqueux gastrique, maintien de l'hémodynamique rénale en cas d'hypoperfusion en particulier). L'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS s'accompagne donc d'effets favorables et délétères [16].

II.3. Activité antimicrobienne

Ces dernières années, il y a eu un grand intérêt pour la découverte de nouveaux agents antimicrobiens, due à une augmentation alarmante du taux des infections avec les microorganismes résistant aux antibiotiques. Une des approches courantes pour la recherche des substances biologiquement actives est le criblage systématique des micro-organismes [17].

II.3.1. Culture des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides.

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie [18].

II.3.2. Antibiotiques

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs [19].

II.3.2.1. Cibles bactériennes des antibiotiques

Les cibles des antibiotiques sont impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques de la bactérie. Les antibiotiques peuvent inhiber la biosynthèse des acides nucléiques (ADN et ARN), mais leurs cibles principales sont la paroi cellulaire et les ribosomes bactériens [20].

II.3.2.2. Notion du bactériostatique et du bactéricide

Quand l'ATB inhibe seulement la croissance des bactéries, on parle ici de l'effet bactériostatique, mais lorsque l'ATB provoque la mort des bactéries on parle de l'effet bactéricide [21].

II.4. Activité photoprotectrice

Quels sont les effets des radiations UV sur la peau ?

Les UV provoquent une grande variété de dommages cutanés. Les effets exercés sur la peau par les radiations solaires dépendent de plusieurs facteurs :

- la quantité d'énergie absorbée ;
- la profondeur de la pénétration, qui est proportionnelle à la longueur d'onde. Les IR pénètrent au-delà de l'hypoderme, les UVA jusqu'au milieu du derme et les UVB jusqu'à la jonction dermo-épidermique (**Figure.II.2**)

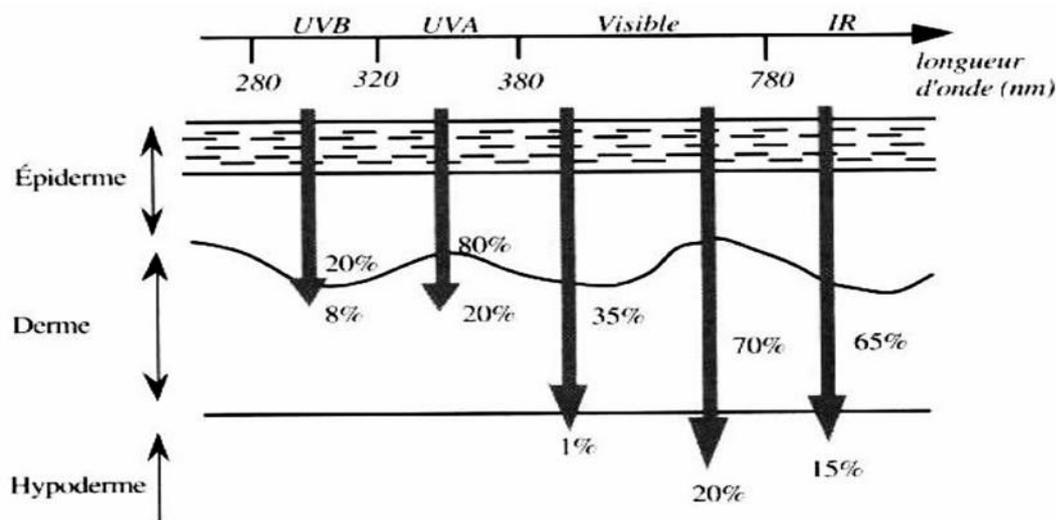


Figure.II.2 : Pénétration des rayonnements solaires en fonction de la longueur d'onde [22].

Les effets des radiations sur la peau s'exercent à court, moyen et long termes. Ils résultent de l'absorption des photons qui excitent les molécules biologiques.

Le Tableau.II.2 rappelle les principaux effets des radiations UV sur la peau humaine.

Tableau.II.2 : Radiations ultraviolettes et effets sur la peau humaine [23].

Radiations ultraviolettes	Effets aigus	Effets chroniques
<i>UVB : 280-320 nm</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Erythèmes - Œdèmes - Bronzage - Epaissement de l'épiderme - Synthèse de vitamine D - Photoimmunosuppression 	<ul style="list-style-type: none"> - Photocarcinogénèse Photovieillissement
<i>UVA : 320-380 nm</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Assombrissement immédiat de la peau (disparaît en 2h) : hâle d'usoir - Photoimmunosuppression 	<ul style="list-style-type: none"> - Photovieillissement Photocarcinogénèse

II.5.1. Détermination de l'efficacité des produits solaires

❖ Notion SPF

Appelé encore Facteur de Protection Solaire (FPS) ou Indice de Protection (IP), le Sun Protection Factor (SPF) est proportionnel à l'effet photoprotecteur d'un produit vis-à-vis des UVB. Depuis quelques années, on dispose aussi de méthodes de détermination de l'indice de protection vis-à-vis des UV.

Le SPF est un indicateur de l'efficacité d'un produit solaire. Ce facteur est déterminé en contrôlant la sensibilité individuelle aux érythèmes solaires par des radiations UV, avec ou sans produit solaire [24].

❖ Les filtres organiques

Les filtres organiques sont des ingrédients actifs capables d'absorber les radiations UV. Les radiations UV activent les électrons de la molécule qui passe d'un état fondamental à un état excité. Lors du retour à un état stable, il y a émission d'énergie sous forme d'une faible quantité de chaleur ou de radiations fluorescentes. Pour être efficace, le filtre doit être photochimiquement stable, se dissoudre ou se disperser aisément dans l'excipient et doit rester à la surface de la peau lors d'un contact avec l'eau (transpiration ou nage par exemple). Enfin, les filtres ne doivent pas être toxiques, ni causer d'irritation ou d'allergie de contact.

Référence

- [1] G. Vansant; *Symposium « Antioxydant et alimentation »*; (2004).
- [2] A. Favier; *L'actualité Clinique*; (2003), p. 108-115.
- [3] S. P. Mahantesh, A.K. Gangawane and C.S. Patil; *world research journal of medicinal & aromatic plants*; (2012), Vol. 1, P. 6-10.
- [4] D. Cressier; *Thèse de doctorat* ; Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier; (2010), P. 98.
- [5] C. Henriquez, C. Aliaga and E. Lissi; *International journal of chemical kinetics*; (2002), Vol. 34, N° .12, P. 659-665.
- [6] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C Rice-Evans; *Free Radic. Biol. Med*; (1999), Vol. 26, N°. 9/10, P. 1231-1237.
- [7] E. J. Lien, S. Ren, H-H. Bui and R. Wang; *Free Radic Biol Med*; (1999) ; Vol. 26, P. 285-294.
- [8] C. Rice-Evans and N.J. Miller; *Methods enzymology*; (1994), Vol. 234, P. 279-293.
- [9] D. Thomas; Université de Limoes; (2016), P. 54.
- [10] Y. landy, *CIES J-P*;, *Dunod* ; (2003), p. 140-141.
- [11] N. S. Charles, A. W. Peter et Derek W G; *Fundamentals of Inflammation*.Cambridge University Press; (2010), p. 2-3.
- [12] L. Gary Larsen and Peter M Henson; *mediators of inflammation*.Annu;Rev; (1983), *Immunol. 1*; p. 335-359.
- [13] J. Vane, et R. Botting; *The Faseb Journa*, (1987).
- [14] PJ. BARNES; *molecular mechanisms. Clinical Science*; (1998), 94, p. 557-572.
- [15] J-F. Nicolas, F. Cousin, J. Thivolet; *John Libbey Eurotext*,(2001), p. 55-58.
- [16] H. Blain, J. Jouzeau, P. Netter et C. Jeandel; *La Revue de Médecine Interne*, (2000), 21(11), p. 978–988.
- [17] O. Sagdic, A. Kuscü, M. Özcan, S. Özcelik; *Food Microbiology*; (2002), 19, p. 473-480.
- [18] C. Nauciel, J. L. Vildé; *Bactériologie médicale*; 2èmeEd; Masson; Paris; (2005), 5, p. 10.
- [19] E. Bergogne-Berezin, P. Dellamonica. *Ed Masson; Paris*; (1995), p. 486.
- [20] SB. Singh et JF. Barrett; *Biochem; Pharmacol.* (2006), 71, p. 1006-1015.
- [21] F. Haddouchi, H. Lazouni, KA. Ahammer, CF. Carson; Riley TV; *J.Appl. Microbiol*; (1999), 86, p. 985-990.
- [22] M. C. Martini . *Tec&Doc*, (2003).
- [23] S. Lautenschlager, H.C. Wulf, M.R. Pittelkow; *Photoprotection, Lancet*; (2007), 370, p. 528-537.

[24] F. Urbach; *J Photochem Photobiol B*; (2001), 64, p. 99-104.

Chapitre III
Description des
travaux personnels

III.1. Introduction

Ce chapitre est divisé en deux parties :

- ❖ La première comporte la description de nos travaux de synthèse de quelques dérivés des semicarbazones et hydrazones ;
- ❖ La deuxième partie renferme l'étude pharmacologique des différents produits obtenus.

III.2. Synthèse des dérivés d'hydrazones et des semicarbazones

A) Notes techniques

L'identification et la confirmation des structures des composés synthétisés est réalisée par l'utilisation des méthodes physico-chimiques d'analyse suivantes : chromatographie sur couche mince (CCM), chromatographie sur colonne et mesure du point de fusion.

❖ Chromatographie sur couche mince (CCM)

Cette méthode d'identification nous a permis de tester la pureté relative des produits préparés,

de suivre le déroulement de la réaction du point de vue cinétique et de déterminer les rapports frontaux (R_f). Elle est réalisée sur des plaques CCM dont la phase stationnaire est constituée par le gel de silice (60-F₂₅₄) sur plaque d'aluminium. La révélation des taches est réalisée par la lampe UV (254 nm- 365 nm).

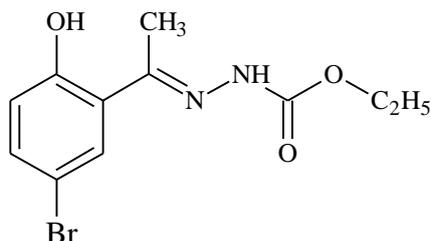
❖ Chromatographie sur colonne

Cette méthode est basée sur le même principe que la chromatographie sur couche mince. Cette technique est très utilisée dans la purification en chimie organique. La séparation des composés est provoquée par l'écoulement continu d'un éluant passant dans la colonne par gravité ou sous l'effet d'une faible pression. Les composés sont entraînés par l'éluant à des vitesses différentes en fonction de leurs affinités vis-à-vis la silice et de l'éluant. Ce procédé permet de séparer les différents composants d'un mélange mais aussi de purifier le produit d'une réaction.

❖ Température de fusion

Les points de fusion sont mesurés dans des tubes capillaires à l'aide d'un appareil électro-thermal [Buchi-Melting Point B-540] et sont donnés en degré celsius (°C).

III.2.1. Synthèse de carboéthoxyhydrazone de 5-bromo-2-hydroxyacétophénone

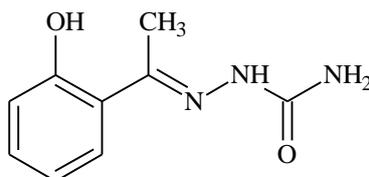


Un mélange de 5-bromo-2-hydroxyacétophénone 1g (5.832 mmol) et 0.607g (5.832 mmol) de carboéthoxyhydrazine (carbazate d'éthyle) dissous dans 6.24 ml l'éthanol est agité a reflux pendant 4h, (l'évaluation de la réaction est suivie par CCM). Après la fin de la réaction, le mélange est refroidit dans un bain de glace et le précipité qui se forme est séparé par filtration et recristallisation.

Tableau.III.3 : Caractéristiques du carboéthoxyhydrazone de 5-bromo-2-hydroxyacétophénone.

Aspect	Cristaux jaunes claire
Rf	0.35
Eluant	Cyclohexane / Acétate d'éthyle :2/1
Rdt	82,51 %
Tf	185 C°

III.2.2. Synthèse de semicarbazone de 2-hydroxyacétophénone

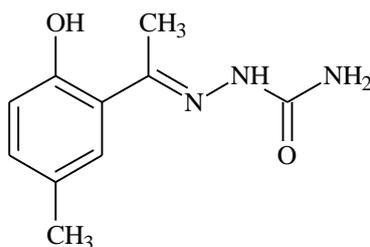


2-hydroxyacétophénone 6.7g (49.26 mmol) dissous dans 48 ml d'isopropanol est ajouté à semicarbazide chlorhydrate 9.74g (87.35 mmol) et AcONa 9.84g (120.01 mmol) dans 48 ml d'eau. Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 3h, (l'avancement de la réaction est suivi par CCM). Après la fin de la réaction, le mélange est refroidit dans un bain de glace et le précipité formé est séparé par filtration puis recristallisation.

Tableau.III.4 : Caractéristiques du semicarbazone de 2-hydroxyacétophénone.

Aspect	Poudre jaune claire
Rf	0.40
Eluant	hexane /acétate d'éthyl : 7/3
Rdt	65 %
Tf	217C°

III.2.3. Synthèse de semicarbazone de 2-hydroxy-5-méthylacétophénone



2-hydroxy-5-méthylacétophénone 2g (13.24 mmol) dissous dans 13.12 ml d'isopropanol est ajouté 2.61g semicarbazide chlorhydrate (23.47 mmol) et 2.64g AcONa (32.25 mmol) dans 13.12 ml d'eau. Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 3h, (l'avancement de la réaction est suivi par CCM). Après la fin de la réaction, le mélange est refroidit dans un bain de glace et le précipité formé est séparé par filtration puis recristallisation.

Tableau.III.5 : Caractéristiques du semicarbazone de 2-hydroxy-5-méthylacétophénone.

Aspect	Poudre jaune
Rf	0.38
Eluant	Acétone/chloroforme : 1 / 1
Rdt	67%
Tf	249 C°

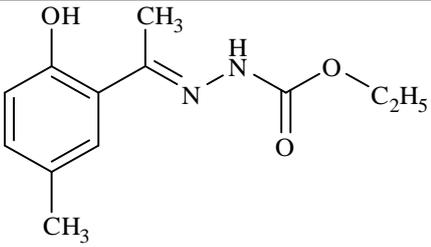
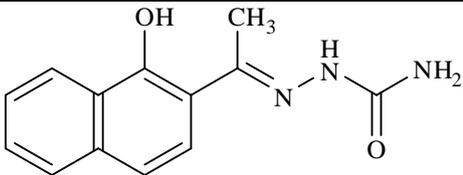
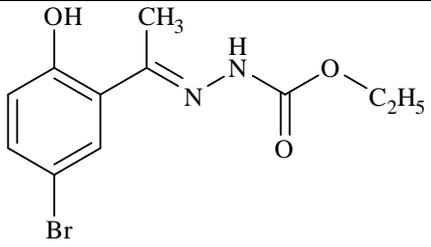
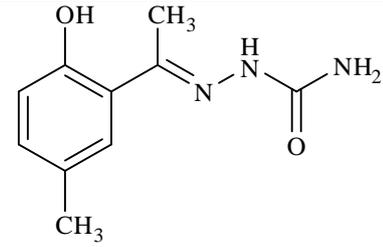
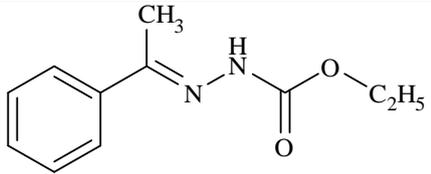
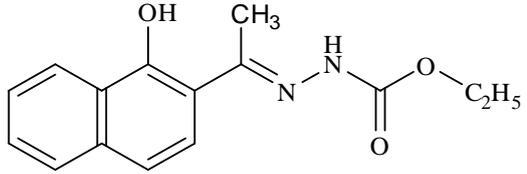
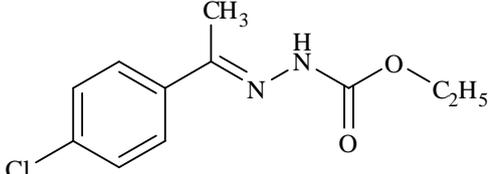
III.3. Etude pharmacologique des dérivés d'hydrazones et les semicarbazones

- **Produits testés :** Les dérivés des hydrazones et semicarbazones testés sont regroupés dans le tableau suivant :

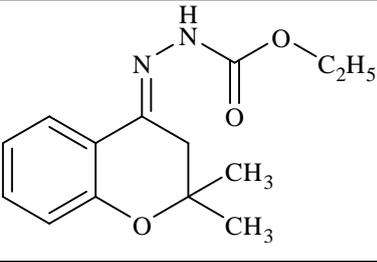
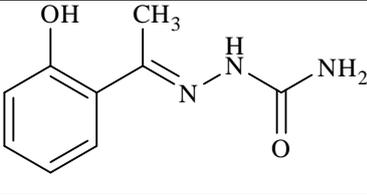
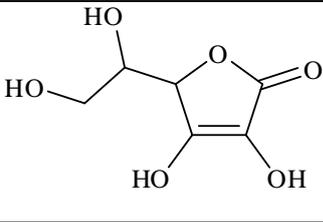
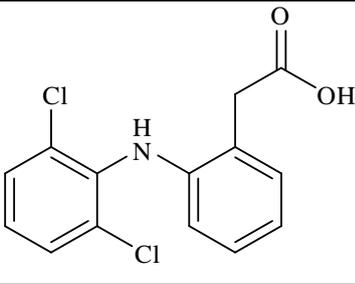
Tableau.III.6 : Dérivés d'hydrazones et des semicarbazones testée.

Numéro	Structures	Nomenclatures
1		Semicarbazone d'acétophénone
2		Carboéthoxyhydrazone de 2-hydroxyacétophénone

Suite tableau.III.6

3		Carboéthoxyhydrazone de 2-hydroxy-5-méthylacétophénone
4		Semicarbazone de 2-hydroxyacétonaphtone
5		Carboéthoxyhydrazone de 5-bromo-2-hydroxyacétophénone
6		Semicarbazone de 2-hydroxy-5-méthylacétophénone
7		Carboéthoxyhydrazone d'acétophénone
8		Carboéthoxyhydrazone de 2-hydroxyacétonaphtone
9		Carboéthoxyhydrazone de 4-chloroacétophénone

Suite tableau.III.6

10		Carboéthoxyhydrazone de 2,2-diméthyl-chromen-4-one
11		Semicarbazone de 2-hydroxyacétophénone
12		<u>Acide ascorbique</u> 5-(1,2-dihydroxyéthyl) -3,4-dihydroxyfurane-2-one
13		<u>Diclofénac</u> (Acide 2-[2,6-dichlorophenyl] aminophényl] éthanoïque

III.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante

III.3.1.1. Test de réduction du radical ABTS

L'activité antiradicalaire est évaluée par le test de décoloration du radical cation ABTS^{•+} selon la technique utilisée par Khan et al. (2012). L'ABTS est dissous dans l'eau distillée à une concentration de 7 mM. La solution du radical cation ABTS^{•+} est obtenue en incubant pendant 12 à 16 h à l'obscurité et à la température ambiante un mélange à volumes égaux de la solution mère d'ABTS avec une solution de persulfate de potassium à 2,45 mM. La solution ABTS^{•+} est diluée avec de l'éthanol jusqu'à une absorbance de 0.700 ± 0.02 à 734 nm avant l'utilisation. Ensuite, 0,9 ml de la solution d'ABTS^{•+} est mélangé avec 100 µl des produits testés ou de la référence (acide ascorbique) à différentes concentrations (1000 ; 500 ; 250 ; 125 ; 62.5 ; 31.25 ; 15.62 ; 7.81 µg/ml).

Les absorbances sont mesurées à 734 nm après une incubation de 10 minutes à l'obscurité et à température ambiante. Trois essais sont effectués pour chaque concentration de produit testé et les résultats exprimés en Pourcentage d'Inhibition [1].

L'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité anti-radicalaire en pourcentage suivant la relation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Absblanc} - \text{Abséchantillon})}{\text{Absblanc}} \times 100$$

III.3.1.2. Détermination du pouvoir réducteur ferrique (FRAP)

La détermination du pouvoir réducteur des produits est réalisée selon la méthode décrite par Chew et al (2009). Ce test est basé sur la réduction des ions ferriques (Fe^{+3}) qui sont présents dans le composé $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en ions ferreux (Fe^{+2}) en présence d'un antioxydant qui possède le pouvoir de céder des électrons.

Pour cela, une gamme de concentrations des produits testés ou de la vitamine C est réalisée (1000; 500; 250; 125; 62.5; 31.25; 15.62; 7.81 $\mu\text{g}/\text{ml}$) à chaque concentration est ajouté 2.5 ml du tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium à 1 %. Après agitation le milieu réactionnel est incubé à 50 °C.

Après incubation 2.5 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10% sont ajoutés au milieu réactionnel précédent, 2.5 ml du surnageant de chaque dilution est mélangé avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de chlorure ferrique à 1 %. L'acide ascorbique est utilisé comme standard. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 700 nm [2].

III.3.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

III.3.2.1. Modèle de l'œdème de la patte des rats

❖ Les animaux

Les expériences de notre étude pharmacologique, sont réalisées sur les rats albinos de la souche Wistar femelles pesants 140-150 grammes. Les rats sont divisés en plusieurs groupes, dans des cages en plastique opaques.

III.3.2.1.1. Prétraitement par les produits testés

Nous avons administré pour chaque rat une dose qui correspond à son poids corporel. Les solutions à administrer (**Figure.III.1**), à chaque rat, sont préparées juste avant l'administration, en solubilisant la quantité du produit à tester dans l'eau physiologique.

Une demi-heure avant l'injection de la carragénine, un effectif de 29 rats pesant 140-150g est divisé selon les produits testés en plusieurs groupes, le diamètre de la patte arrière (droite

ou gauche) est mesuré avant l'injection de la carragénine. Chaque groupe reçoit par voie orale les solutions expérimentales comme suit :

- ✓ Groupe témoin (n=3) : injecté seulement par la carragénine (non traité) pour suivre l'inflammation.
- ✓ Groupe standards (n=3) : Diclofénac (50mg/kg) dissout dans l'eau physiologique.
- ✓ Groupes des produits (n= 3) : les produits testés à la dose de 50 mg/Kg dissous dans l'eau physiologique.



Figure.III.1 : Prétraitement par les dérivés d'hydrazones et des semicarbazones.

III.3.2.1.2. Induction de l'inflammation

Pour mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire des produits testés, un modèle expérimental d'inflammation aigue de la patte du rat induit par la carragénine est sélectionné. Des œdèmes au niveau des pattes des rats sont induits après injection sub-plantaire (intra articulaire) d'une solution de carragénine au niveau de la patte arrière des rats. L'inflammation causée sera diminuée en présence des produits ayant une activité anti-inflammatoire [10]. Les

rats utilisés sont privées de nourriture et d'eau pendant 12 heures avant la période d'expérimentation.

III.3.2.1.3. Injection de la carragénine

Une demi-heure après l'administration des traitements, chaque animal reçoit par injection subplantaire dans la patte arrière droite 0,1 ml d'une suspension de carragénine à 1% dissous dans l'eau physiologique. **(Figure.III.2).**



Figure.III.2 : Injection de la carragénine.

Le diamètre de la patte est mesuré, à l'aide d'un micromètre digital avant et après induction de l'œdème à des intervalles d'une demi-heure pendant trois heures. L'évolution de l'œdème de la patte est déterminée chaque demi-heure jusqu'à 3 heures **(Figure III.3).**



Figure.III.3 : Mesure du diamètre de la patte des rats.

❖ **Calcul du pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG)**

Le pourcentage d'augmentation (%AUG) de l'œdème est calculé pour chaque groupe de rats. Il est donné par la formule suivante :

$$\%AUG = \frac{(D_n - D_0)}{D_0} \times 100$$

D_n : diamètre de la patte chaque 30 min après l'injection de la carragénine.

D_0 : diamètre de la patte avant l'injection de la carragénine.

❖ **Calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (% INH)**

Le pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème est calculé pour chaque groupe de rats traités par rapport au lot témoin. Il est obtenu par la formule suivante :

$$\%INH = \frac{\%AUG \text{ témoin} - \%AUG \text{ traité}}{\%AUG \text{ témoin}} \times 100$$

III.3.2.2. Stabilisation de la membrane des globules rouges humains

L'activité anti inflammatoire (*in vitro*) les produits testés est effectuée selon la méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humains [5] .

III.3.2.2.1. Préparation des réactifs

❖ **Alsevers solution**

2 g dextrose, 0,8 g citrate de sodium, 0,05 g d'acide citrique et 0,42 g chlorure de sodium sont dissous dans l'eau distillée. Le volume final est préparé jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée.

❖ Saline hypotonique

0,36 g chlorure de sodium dissous dans 100 ml d'eau distillée.

❖ Saline isotonique

0,85 g chlorure de sodium dissous dans 100 ml d'eau distillée.

❖ Tampon phosphate (pH 7,4 ; 0,15 M)

2,38 g d'hydrogène phosphate di sodium, 0,19 g de dihydrogène phosphate de potassium et 8 g chlorure de sodium sont dissous dans 100 ml d'eau distillée.

III.3.2.2.2. Préparation de la suspension des globules rouges humains (HRBC)

Le sang est recueilli auprès d'un volontaire humain qui n'avait pas pris des anti-inflammatoires pendant 2 semaines avant l'expérience et est mélangé avec un volume égal de la solution Alsevers stérilisée. Cette solution de sang est centrifugée à 3000 tr / min à 10 min et les cellules emballées sont séparées. Les cellules emballées sont lavées avec une solution d'iso saline et une suspension à 10% v/v est préparée avec de l'iso saline [6].

Les solutions suivantes sont utilisées :

- **Solution d'essai** : composée de 1 ml tampon phosphate, 2 ml solution saline hypotonique, 0,5 ml des produits testés avec une concentration de 1000 µg/ml et 0,5 ml des globules rouge humains à 10% v/v cellules.
- **Solution contrôle** : composée de 1 ml de tampon phosphate et 2 ml d'eau et 0,5 ml de globules rouges humains 10% v/v dans une solution saline isotonique.
- **Solution standard** : composée de 1 ml de tampon phosphate, 2 ml de solution salée hypotonique, 0,5 ml diclofénac avec une concentration de 1000 µg/ml et 0,5 ml des globules rouge humains à 10% v/v cellules.

Tous les mélanges d'essai sont incubés à 37 ° C pendant 30 min. puis centrifugé à 3000 tr / min pendant 20 min. Le liquide surnageant est séparé et la teneur en hémoglobine est estimée par un spectrophotomètre à 560nm. Le pourcentage d'hémolyse est estimé en supposant que l'hémolyse produite dans le contrôle était 100% [6]. Le pourcentage de stabilisation ou de protection de la membrane HRBC est calculé en utilisant la formule suivante

$$\text{Pourcentage de protection} = [100 - (A_{\text{solution d'essai}} / A_{\text{solution Contrôle}}) \times 100]$$



Figure.III.4 : Solutions d'essai.



Figure.III.5 : Incubation des mélanges d'essai.

III.3.3. Activité photoprotectrice (Détermination du facteur de protection solaire *in vitro*)

Les produits testés sont dilués dans du méthanol absolu à une concentration de 2 mg/mL. Les solutions préparées sont analysés à l'aide d'un spectrophotomètre UV/VIS entre 290 et 320 nm à des intervalles de 5 nm, en prenant le méthanol comme blanc. La valeur SPF sont calculée à l'aide de l'équation proposée par Mansur, et coll. [3] :

$$SPF = CF \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

- $EE(\lambda)$ est le spectre d'effet ;

- $I(\lambda)$ est l'intensité solaire ;
- $Abs(\lambda)$ est l'absorbance ;
- $CF = 10$ est le facteur de correction.

Le produit $EE(\lambda) I(\lambda)$ est constant, et ses valeurs sont déterminées selon Sayre, et Al. [4] dans le tableau suivant :

Tableau.III.7 : Valeurs du produit $EE(\lambda) I(\lambda)$.

Longueur d'ondes	$EE(\lambda) I(\lambda)$
290	0.0 150
295	0.08 17
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
315	0.0839
320	0.0 180
	= 1

III.3.4. Détermination de l'activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antibactérienne des composés testés est effectuée au laboratoire de microbiologie de BOUKROUCHE Oussama de Jijel, sur les souches microbiennes suivantes : *Esherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Candida Albicans*.

III.3.4.1. Méthode de l'étude microbiologique

III.3.4.2. Identification biochimique

Les souches testées sont identifiées au niveau de laboratoire BOUKROUCHE Oussama. Cette étude est réalisée par diffusion sur milieu gélosé (Méthode des disques).

III.3.4.3. Définition de l'antibiogramme

L'antibiogramme est un examen de laboratoire permettant d'apprécier la sensibilité d'une bactérie prélevée chez un malade vis-à-vis de divers antibiotiques [7].

Les conditions techniques suivantes doivent être respectées :

❖ Milieu

- Le milieu standard utilisé est le Mueller-Hinton. L'épaisseur de la gélose doit être strictement de 4mm répartie uniformément.
- Les boites sont pré-séchées avant l'emploi.

❖ Préparation des disques

Nous avons utilisé le papier Whatman N° 3 coupé en disques de 6 mm. Ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer.

Les disques, une fois préparés, sont placés dans un tube à essai contenant 10ml d'eau distillée et autoclavé pendant 20 min à 120° C [8].

III.3.4.4. Méthode

• Ensemencement

- On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- On l'essore en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- On frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Dans le cas où on ensemence plusieurs boites de pétri, on recharge l'écouvillon à chaque fois.
- On préparer les produits utilisés pour l'antibiogramme.
- On applique immédiatement les disques [9].

• Pré-incubation

Les boites sont laissées pendant 15 min à température ambiante (sur la paillasse) [9].

• Incubation

- L'incubation à l'étuve pendant 18 à 24 heures à 37° C [9].

• Lecture

- Pour chaque disque, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle.
- Les diamètres ainsi mesuré sont comparés à des diagrammes de référence.
- On classe les souches bactériennes ou fongiques dans l'une des catégories : sensibles et résistantes.



Figure.III.6 : *Klebsiella pneumoniae*.



Figure.III.7 : *Pseudomonas aeruginosa*.



Figure.III.8 : *Staphylococcus aureus* + *Proteus mirabilis*.



Figure.III.9 : Champignon *Candida Albicans*.

III.4. Analyse statistique

Les résultats des tests pharmacologiques effectués (trois essais pour chaque échantillon) sont exprimés en Moyenne \pm SD. Tous les calculs et les courbes tracées sont réalisés à l'aide du logiciel d'analyse et de traitement statistique "Excel" et "Graph Pad. Prism. V 7.03".

Références bibliographiques

- [1] K. Harrouche, A. Lahouel, M. Belghobsi, B. Pirotte, S. Khelili; *Can. J. Chem*; (2019), P. 1-47.
- [2] Y. L. Chew, J. K. Goh et Y. Y. Lim; *Food chemistry*; (2009), Vol. 116, P. 13-18.
- [3] J. S. Mansur, M. N. R. Breder, M. C. A. Mansur, et al., *An. Bras. Dermatol. Rio De Janeiro* ; (1986), 61, p. 121 - 124.
- [4] R. M. Sayre, P. P. Agin, G. J. Levee et al., *Photochem. Photobiol.*, (1979), 29, 559 - 566.
- [5] R. Habibur, M. E. Chinna, A. M. Dutta; *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci*; (2015), 15(1), p. 115-121.
- [6] H. Rahman, C. M. Eswaraiah, K. Vakati and P. Madhavi; *International Journal of Phytopharmacy* ; (2012), 2(3), p. 81-85.
- [7] H. Dabena; *Infectiologie de A à Z. Ed. Arnette, France* ; (1997), p. 500-502.
- [8] L. Le minor, M. Veron, *Bactériologie médicale. 2^{ème} édition. Ed. Flammarion. Paris*; (1989).
- [9] H. M. Ericsson, J. C. Sherris, *Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. B. Suppl*; (1971), p.217, 1-90.
- [10] A. C. Winter, EA. Ristey, G. W. Nuss; *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*; (1992), 111, p. 544–547.

Chapitre IV
Discussion des
résultats

Les hydrazones et les semicarbazones sont largement utilisés dans la synthèse organique pour la préparation des différents dérivés possédant une activité biologique importante. Ces composés sont souvent obtenus par des réactions de condensation des dérivés d'acétophénone avec carboéthoxyhydrazine (éthylcarbazate) et semicarbazide.

Dans ce chapitre, l'analyse rétrosynthétique ainsi que les mécanismes des réactions réalisées sont illustrés. La discussion des différents effets pharmacologique de certains dérivés d'hydrazones et semicarbazones synthétisés auparavant est présenté ci-après.

IV.1. Stratège de synthèse des dérivés des hydrazones et des semicarbazones

L'analyse rétrosynthétique d'hydrazones montre que les déconnexions se fait au niveau de la liaison C=N de l'imine.

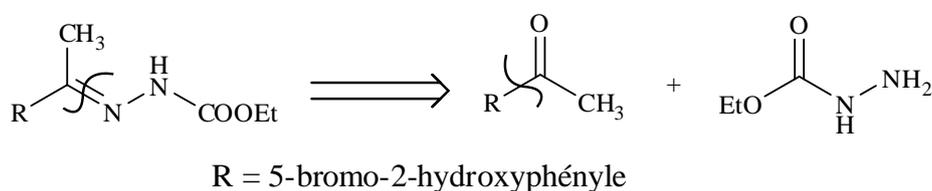


Schéma.IV.22 : Rétrosynthèse des hydrazones.

L'analyse rétrosynthétique des semicarbazones montre que la coupure se fait au niveau de la liaison C=N de l'imine.

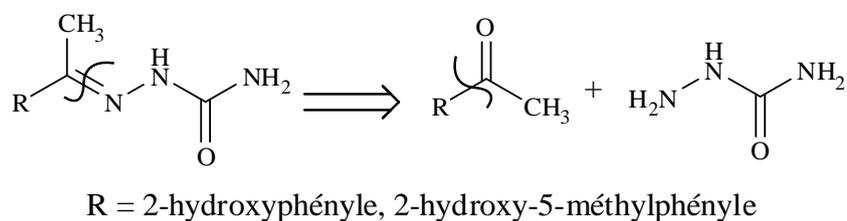


Schéma.IV.23: Rétrosynthèse des semicarbazones.

IV.2. Mécanisme de synthèse du carboéthoxyhydrazone de 5-bromo-2-hydroxyacétophénone

La condensation de carboéthoxyhydrazine avec le 5-bromo-2-hydroxyacétophénone en milieu acide a conduit au carboéthoxyhydrazone de 5-bromo-2- hydroxyacétophénone.

❖ Le mécanisme proposé de cette réaction est le suivant :

La première étape est la protonation du groupe carbonyle, l' électronégativité de l'oxygène et supérieur de celle du carbone, cela attire le doublet qui provoque la formation du carbocation. Après l'attaque des doublet d'azote terminal de carboéthoxyhydrazine va donner

le sel d'ammonium qui se réarrange en amine par la libération du proton, ensuite la formation d'un carbocation par la sortie d'eau et enfin l'obtention de l'imine.

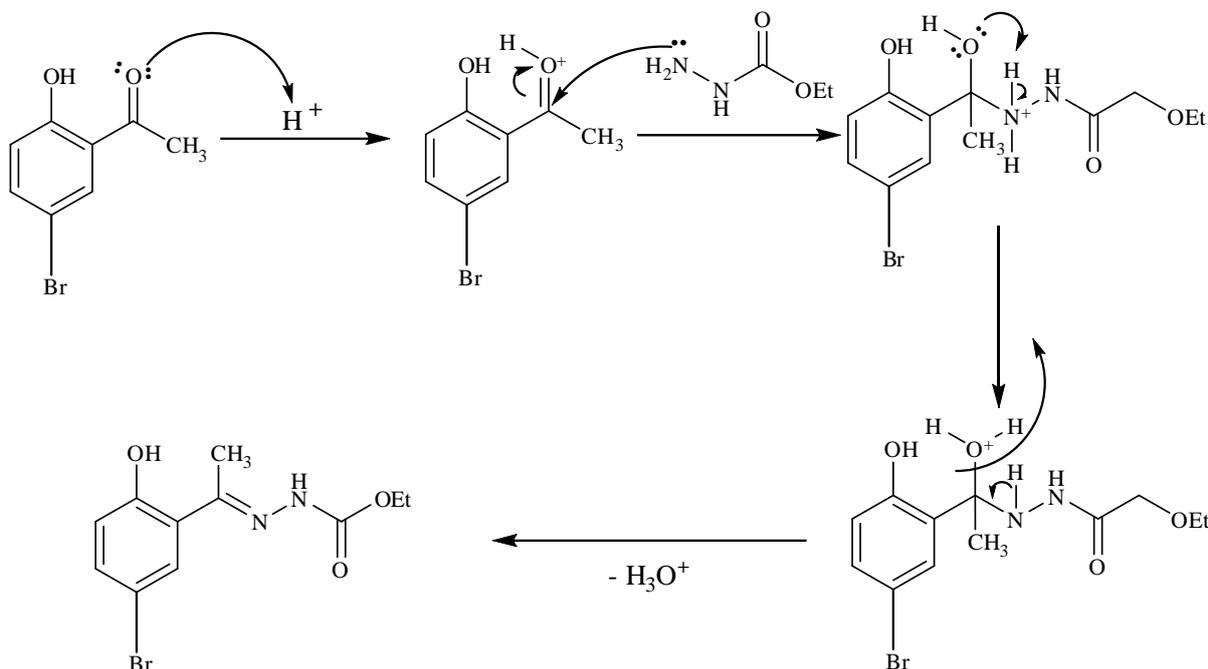


Schéma.IV.24 : Mécanisme de synthèse du carboéthoxyhydrazone de 5-bromo-2-hydroxyacétophénone.

IV.3. Mécanisme de synthèse du semicarbazone de 2-hydroxyacétophénone

La réaction commence par libération de semicarbazide par l'attaque de l'acétate de sodium sur le chlorhydrate de semicarbazide. En suite, l'attaque de l'azote le plus nucléophile du semicarbazide sur la fonction carbonyle du composé (2-hydroxyacétophénone), suivi d'une élimination d'une molécule d'eau.

❖ Le mécanisme proposé de cette réaction est le suivant :

Les mêmes étapes de synthèse du produit précédant sont appliquées dans la synthèse de ce produit

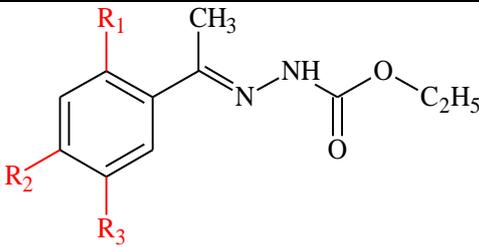
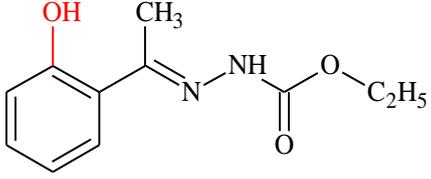
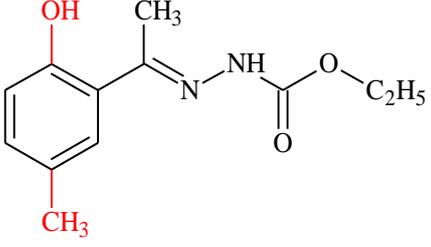
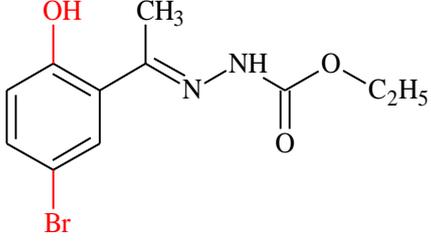
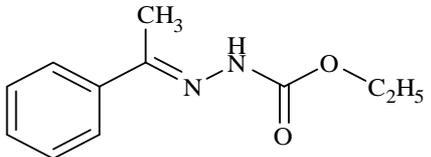
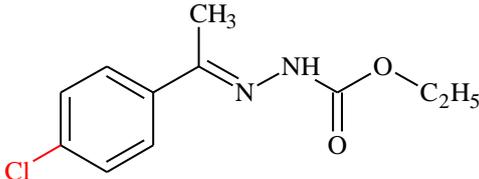
IV.4. Evaluation de l'activité pharmacologique des dérivés des hydrazones et des semicarbazones

Tout d'abord, les produits sont divisés selon leur squelette en séries, nous avons réalisé des courbes comparatives des composé testés. Le but de cette étude est d'identifier l'efficacité des dérivés testés par rapport au standard.

IV.4.1. Dérivés de la série 1

Les composés de la série 1 sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau IV.1 : Produits de la série 01.

Squelette de base	
2	
3	
5	
7	
9	

IV.4.1.1. Evaluation de l'activité antioxydante

Cette partie aborde également l'effet antioxydant de certains dérivés des hydrazones de la série 1.

❖ Test ABTS

Dans ce test, l'ABTS est oxydé par le persulfate de potassium à son radical $ABTS^{\bullet+}$, qui a une couleur intense. La neutralisation de ce dernier, pour l'évaluation de l'activité anti radicalaire, se traduit par la décoloration de la solution, qui est considérée comme étant la capacité des composés à diminuer directement la couleur du radical ABTS [1].

Tableau IV.2 : Pourcentage d'inhibition du radical ABTS des produits de la série 1.

Concentrations µg/ml	%INH (ABTS)					
	Produit 2	Produit 3	Produit 5	Produit 7	Produit 9	Vitamine C
7.81	69.56± 2.15	73.22±3.37	50.28±1.77	44.28±0.65	45.59±1.02	13.85±0.064
15.62	76.49±2.34	79.96±4.49	54.30±1.49	46.72±0.46	49.43±0.74	26.65±5.08
31,25	82.20± 2.80	81.46 ±1.68	58.33 ±1.77	50.93± 1.12	52.34±1.02	32.70±9.70
62,5	88.20 ±0.56	85.46 ±1.31	61.98± 1.68	53.65 ±0.46	58.33±1.21	38.20±5.52
125	91.29 ±0.46	86.89 ±3.18	67.32 ±2.90	56.74± 0.56	64.51±0.09	63.98±20.58
250	93.53± 0.09	91.38 ±1.31	72.84± 0.74	63.48 ±2.24	67.13±1.02	72.40±13.56
500	93.91 ±0.09	91.10± 0.46	79.21± 0.74	69.66± 0	70.30±0.28	77.15±9.62
1000	94.85± 0.28	93.53± 0.09	84.17± 0.28	76.49± 0.09	78.27±2.80	89.01±0.10

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

La capacité de piéger le radical d'ABTS des produits testés est représentée dans la figure suivante :

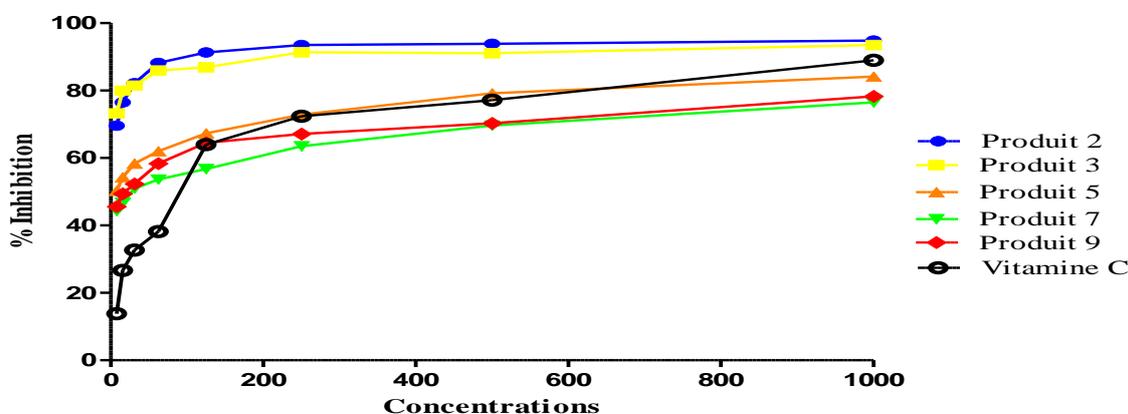


Figure IV.1 : Pourcentages d'inhibition du radical $ABTS^{\bullet+}$ en fonction de la concentration des produits de la série 1.

D'après les résultats obtenus, le pourcentage d'inhibition est proportionnel avec l'augmentation de la concentration pour l'acide ascorbique ainsi que pour les produits de la série 01.

Pour une concentration de 1000 µg/ml, l'acide ascorbique a révélé un pourcentage d'inhibition de $89.01\% \pm 0.10$.

On observe que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les produits 2, 3 est supérieur à celui du standard pour toutes les concentrations utilisées, et atteint $94.85\% \pm 0.28$ et $93.53\% \pm 0.09$ respectivement. Contrairement aux produits 7 et 9, le pourcentage d'inhibition est moins important ($76.49\% \pm 0.09$ et $78.27\% \pm 2.80$ respectivement), ce pourcentage est accompagné par un changement de couleur.

Le produit 3 a présenté un effet important que la vitamine C à faible concentration et atteint 93.53 ± 0.28 à 1000µg/ml. C'est le pourcentage correspond à l'inhibition de la transformation de l'ABTS^{•+} au ABTS-H⁺ (bleu →transparent).

L'effet prononcé des produits 2, 3 et 5 est du la présence du groupement OH sur leurs squelettes.

❖ Test FRAP

La détermination du pouvoir réducteur des produits de la série 01 est réalisée selon la méthode de CHEW et al (2009). Elle consiste en la mesure de l'augmentation de la DO de la couleur bleu verte issue de la réduction du complexe Fe³⁺ dans le milieu réactionnel à 700 nm [2].

Tableau IV.3 : Résultats du test FRAP de la série 01.

Concentrations µg/ml	Absorbances					
	Produit 2	Produit 3	Produit 5	Produit 7	Produit 9	Vitamine C
7.81	0.18 ± 0.0045	0.11± 0.0045	0.14 ± 0.0035	0.15 ± 0.0100	0.18 ± 0.003	0.31 ±0.004
15.62	0.19 ± 0.0010	0.13 ± 0.0080	0.17 ± 0.0010	0.17 ± 0.0020	0.20 ± 0.009	0.40 ± 0.010
31,25	0.20 ± 0.0040	0.14 ± 0.0050	0.19 ± 0.0080	0.18 ± 0.0040	0.23 ± 0.008	0.49 ± 0.010
62,5	0.22 ± 0.0020	0.15 ± 0.0020	0.23 ± 0.0060	0.19 ± 0.0050	0.25 ± 0.009	0.55 ± 0.010

Suite Tableau IV.3

125	0.24 ± 0.0015	0.16 ± 0.0030	0.25 ± 0.0015	0.27 ± 0.0030	0.30 ± 0.007	0.74 ± 0.010
250	0.26 ± 0.0040	0.19 ± 0.0040	0.28 ± 0.0080	0.35 ± 0.0140	0.52 ± 0.003	0.97 ± 0.090
500	0.27 ± 0.0030	0.26 ± 0.0050	0.31 ± 0.0050	0.39 ± 0.0140	0.74 ± 0.007	1.27 ± 0.100
1000	0.30 ± 0.0035	0.30 ± 0.0075	0.37 ± 0.0080	0.42 ± 0.0190	0.97 ± 0.001	1.84 ± 0.010

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

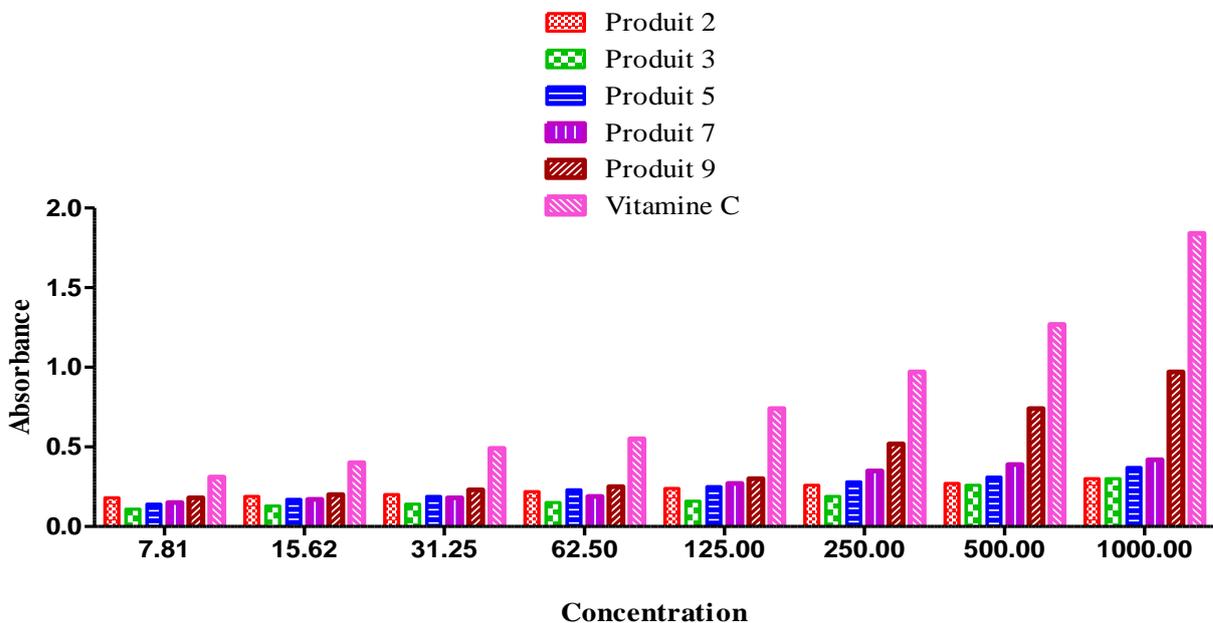


Figure IV.2 : Test FRAP : variation de l'absorbance des produits de la série 1 en fonction de la concentration. .

A partir de cet histogramme (Figure IV.2), le pouvoir réducteur corrèle directement avec l'augmentation de la concentration.

D'après ces résultats, la capacité de réduire le fer des produits de la série 01 est largement inférieure à celle de l'acide ascorbique.

A la concentration 1000ug/ml, le pouvoir réducteur est plus grand pour le produit 9 (DO= 0.97 ± 0.001) par rapport aux produit 2, 3, 5 et 7 (DO= 0.30 ± 0.0035, 0.30 ± 0.0075, 0.37 ± 0.0080 et 0.42 ± 0.0190 respectivement).

IV.4.1.2. Modèle de l'œdème de la patte des rats

L'injection de la carragénine dans la patte du rat provoque une douleur locale et une réaction inflammatoire, qui est une méthode appropriée pour évaluer les agents anti-inflammatoires.

Cette technique est sélectionnée en raison de sa simplicité d'exécution, de sa rapidité d'induction des symptômes caractéristiques de l'inflammation (développement de l'œdème dans l'heure qui suit l'injection), et également en raison de sa reproductibilité [3].

Cette étude est réalisée en mesurant le diamètre de la patte des rats chaque 30 min pendant 3h après l'injection de la carragénine.

❖ Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG)

• Groupe témoin

L'injection de la carragénine entraîne une augmentation du volume des pattes des rats témoins à partir de 30 min de l'expérimentation.

• Groupe standard

Les résultats obtenus montrent que l'administration du diclofénac provoque une diminution du volume de la patte des rats.

En effet, cette réduction est observée à partir de 30min et continue jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Après 150 min, le pourcentage de l'augmentation du volume des pattes des rats du standard est 3 fois moins important que celui de la première demi-heure.

Tableau IV.4 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des rats traités par les produits de la série 1.

Temps (min)	%AUG						
	Produit 2	Produit 3	Produit 5	Produit 7	Produit 9	Diclofénac	Témoin
30 min	29.640 ± 0.79	30.95 ± 3.28	31.88 ± 1.51	30.24 ± 3.01	30.48 ± 0.41	39.76 ± 4.30	37.25 ± 2.47
60 min	24.213 ± 0.78	26.56 ± 2.53	25.22 ± 0.38	20.53 ± 2.97	22.50 ± 1.31	30.94 ± 2.43	46.12 ± 4.37
90 min	14.115 ± 0.88	24.74 ± 0.40	16.11 ± 1.18	16.22 ± 2.08	16.85 ± 0.36	21.94 ± 0.90	41.68 ± 5.82
120 min	8.577 ± 1.20	16.24 ± 1.20	9.00 ± 1.64	10.59 ± 2.49	14.96 ± 0.39	15.01 ± 2.22	39.02 ± 5.57

Suite Tableau IV.4

150 min	4.994 ± 1.30	11.96 ± 2.11	5.88 ± 0.54	4.08 ± 1.98	3.99 ± 1.53	11.54 ± 2.86	33.03 ± 5.23
---------	-----------------	-----------------	----------------	----------------	----------------	-----------------	-----------------

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

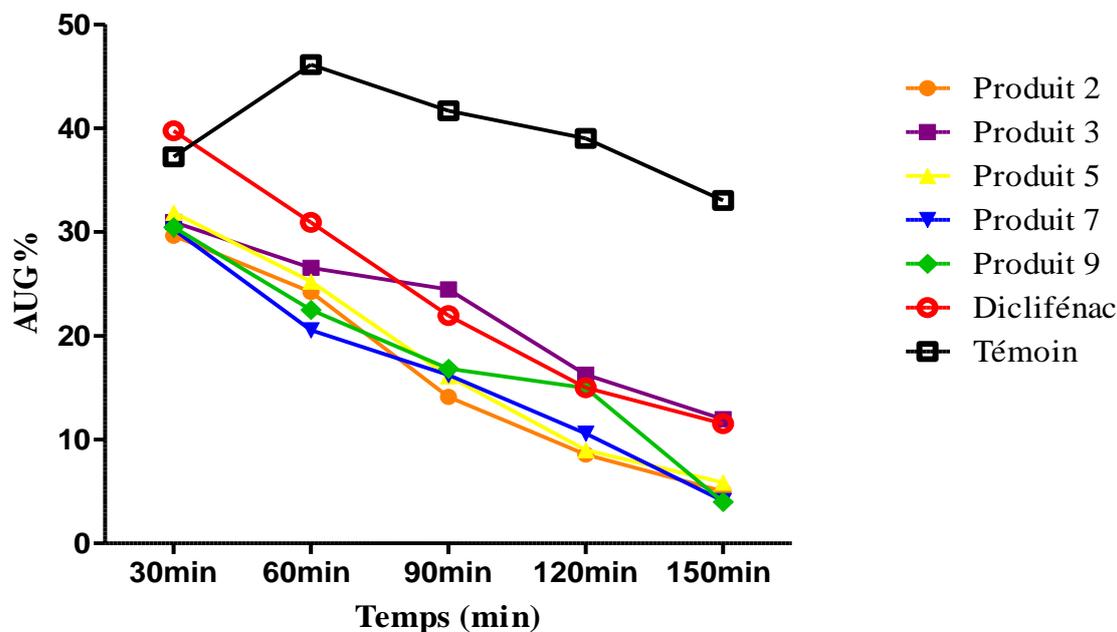


Figure IV.3 : Pourcentage de l’augmentation du volume de la patte (%AUG) des rats traités par les produits de la série 1 pendant 3h.

- **Groupe produits**

Les rats traités par les produits de la série 1 présentent une diminution satisfaisante du pourcentage d’augmentation. Ce dernier diminue très rapidement par rapport au standard après 150 min comme est-il montré dans la courbe (**Figure IV.3**).

Le pourcentage d’inhibition (%INH)

Tableau IV.5 : Pourcentage d’inhibition (% INH) de l’œdème de la patte des rats traités par les produits de la série 1.

Temps (min)	%Inhibition					
	Produit 2	Produit 3	Produit 5	Produit 7	Produit 9	Diclofénac
30 min	20.42 ± 3.36	16.90 ± 3.36	14.39 ± 1.86	18.01 ± 2.77	18.15 ± 6.78	6.32 ± 3.91

Suite du tableau IV.5

60 min	47.49 ± 3.83	39.64 ± 1.60	45.31 ± 4.93	55.48 ± 2.58	50.65 ± 2.37	29.52 ±3.99
90 min	66.14 ± 3.4	41.27 ± 8.71	61.35 ± 9.45	58.86± 1.80	59.57 ± 7.63	45.24 ±6.92
120 min	76.40 ± 1.04	57.81 ± 4.01	76.93 ± 8.57	72.84 ± 2.84	61.64 ± 5.55	56.21 ± 5.06
150 min	84.89± 1.70	61.42± 1.69	82.17 ± 5.21	87.63 ± 4.37	87.91 ± 7.43	67.71 ± 5.72

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

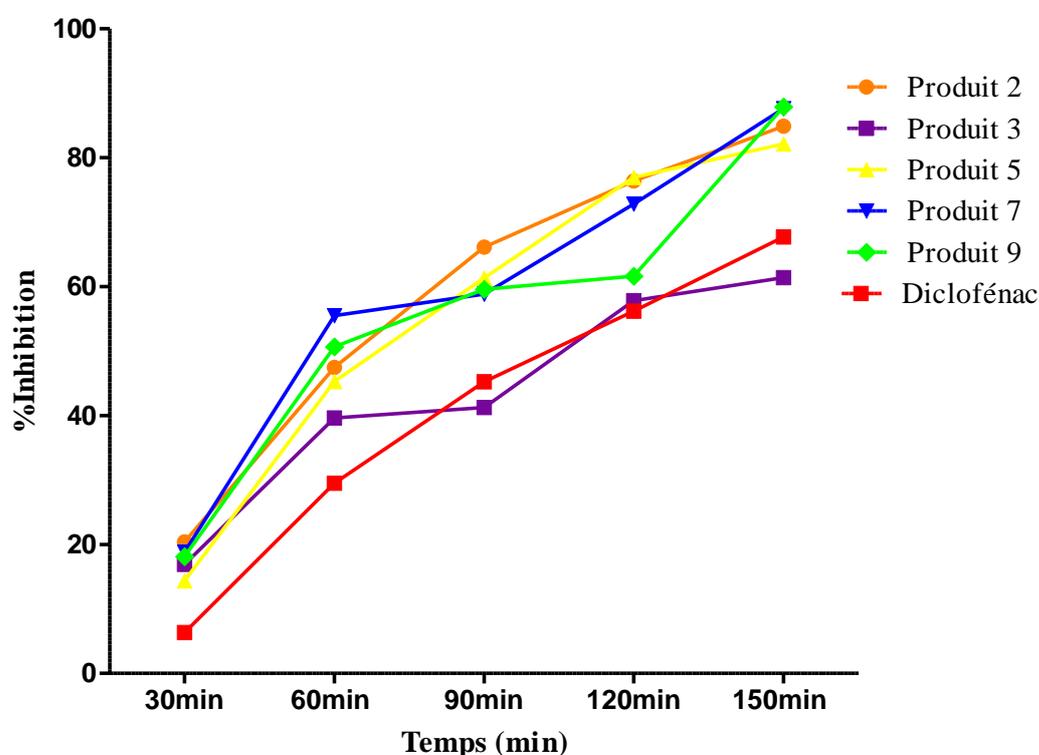


Figure IV.4 : Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des rats traités par les produits de la série 1 pendant 3h.

La courbe ci-dessus montre une corrélation directe entre les pourcentages d'inhibition des produits de la série 1 avec le temps.

D'après ces résultats obtenus, un effet important est observé après 30min jusqu'à 150min après l'injection de la carragénine. Cet effet est supérieur à celui du standard, et atteint des valeurs maximales après 150 min des produits 2, 3, 5, 7, 9 (84.89% ; 61.42% ; 82.17% ; 87.63% ; 87.91%) respectivement.

IV.4.1.3. Stabilisation de la membrane des globules rouges humains

Nous avons réalisé des histogrammes comparatifs des pourcentages de protections des lots traités par les composés testés (diclofénac et produits testés).

Nous avons sélectionné une seule concentration de 1000 µg/ml.

Tableau IV.6 : Pourcentage de protection des globules rouge des produits de la série 01.

Concentration µg/ml	Pourcentage de protection					
	Produit 2	Produit 3	Produit 5	Produit 7	Produit 9	Diclofénac
1000	94.85 ± 0.07	94.88 ± 0.03	94.92 ± 0.07	94.88 ± 0.03	95.03 ± 0.03	95.00 ± 0.07

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire par la méthode de stabilisation membranaire HRBC des dérivés est réalisée par comparaison avec diclofenac, médicament de référence. Ce dernier présente un pourcentage de protection de **95 %**.

Selon les résultats illustrés dans (Figure IV.5), on remarque que les composés de la série 1 ont montré une activité protectrice semblable au diclofenac. Le produit 9 présente un effet maximal avec un pourcentage de **95.03 %** à 1000 µg/ml, comparativement à celui du standard et d'autres produits de la série 1.

Les produits 2, 3, 5 et 7 ont un pourcentage d'inhibition de **94 %**.

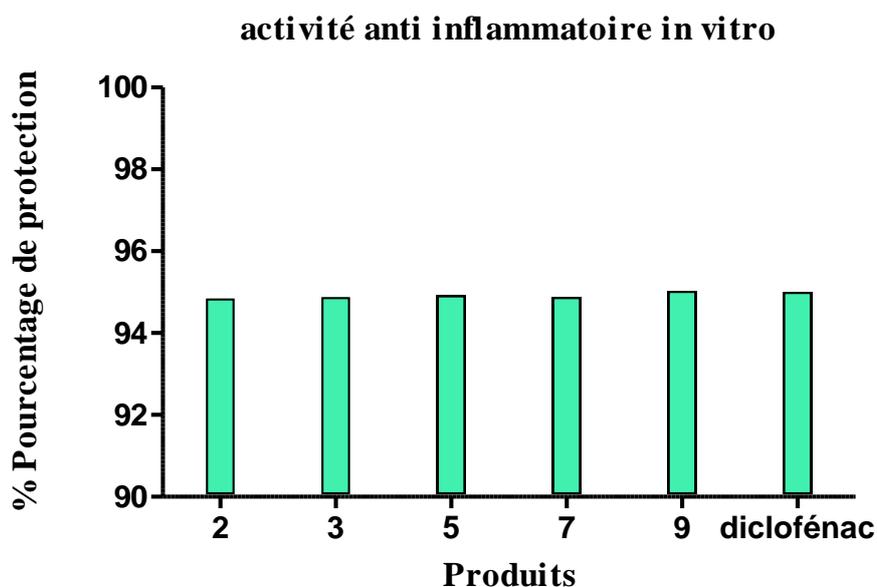


Figure IV.5 : Pourcentage de protection des globules rouge des produits de la série 01.

D'après les résultats obtenus pour ces 5 produits, on constate que :

L'efficacité : 9 > diclofénac > 5 > 7 > 3 > 2

La stabilisation des membranes des globules rouges enregistré par les produits testés semble être due à la capacité de stabiliser les membranes lysosomales et l'inhibition de la libération de leurs constituants. Ces résultats indiquent que **les hydrazones** (2, 3, 5, 7, 9) possèdent une activité anti-inflammatoire par l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges.



Figure IV.6 : Inhibition de l'hémolyse des globules rouges par les dérivés testés.

IV.4.1.4. Evaluation de l'activité photoprotectrice

L'activité photoprotectrice traduit la capacité des produits à filtrer efficacement les radiations UV, l'évaluation de cette activité est basée sur un facteur Universel de la performance photo protectrice des écrans solaire contre les rayons UV désigné par SPF. Il est rapporté que, dans cette notation d'activité, SPF les valeurs de 2 – 12, 12 – 30, 30 – 50 et >50 sont considérées comme correspondant à minimum, modéré, élevé et maximum activité de protection solaire, respectivement [4].

Tableau IV.7 : Facteur de protection solaire des produits de la série 01.

Concentration µg/ml	Facteur de protection solaire (SPF)				
	Produit 2	Produit 3	Produit 5	Produit 7	Produit 9
2000	34.65 ± 5.34	37.80 ± 0.84	35.16 ± 1.15	34.35 ± 0.33	36.21 ± 0.09
Activité	Élevée	Élevée	Élevée	Élevée	Élevée

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

La figure ci-dessous présente l'effet protecteur des produits de la première série étudiée.

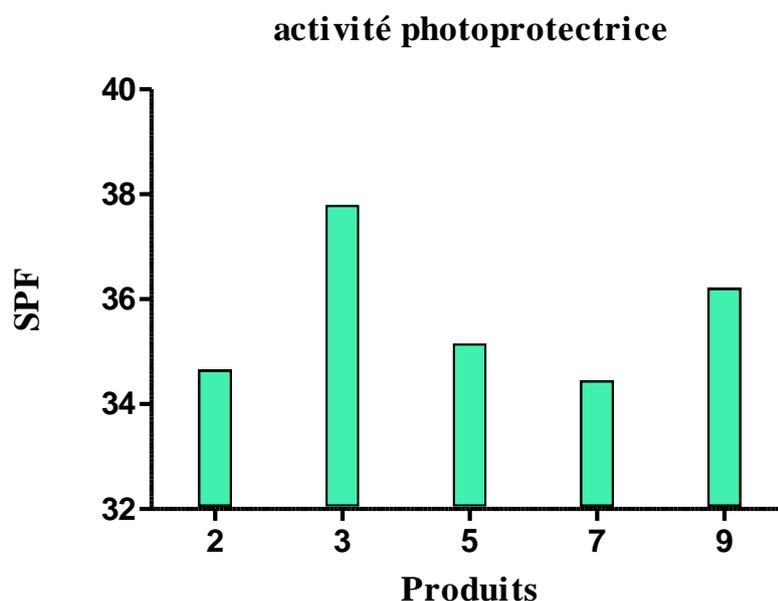


Figure IV.7 : Facteur de protection solaire des produits de la série 01.

Les propriétés de photoprotection des produits 2, 3, 5, 7, 9 sont évaluées en déterminant le spectre d'absorption en (290 à 320nm). Les résultats obtenus montrent que ces produits ont une haute capacité d'absorption et d'après les normes citées précédemment, on peut dire que nos produits ayant un effet très important. Les facteurs de protection solaire *in vitro* ont atteint les valeurs suivantes : $(34.65 \pm 5.34, 37.80 \pm 0.84, 35.16 \pm 1.15, 34.45 \pm 0.33, 36.21 \pm 0.09)$ pour les produits 2, 3, 5, 7, 9 respectivement. L'ensemble de ces résultats ont montré une différence négligeable. Ces résultats indiquent que **les hydrazones** ont une activité photoprotectrice prononcée et peuvent être utilisées dans des formulations d'écrans solaires pour protéger la peau des coups de soleil.

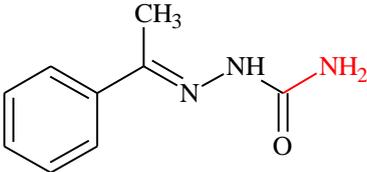
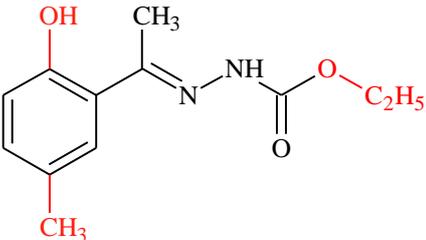
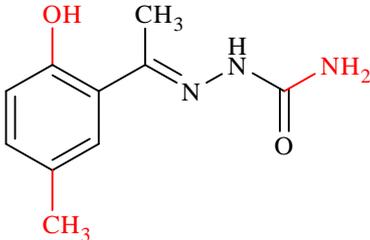
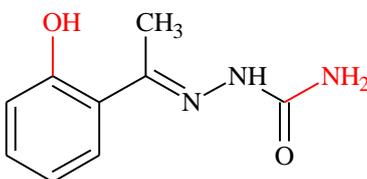
IV.4.2. Dérivés de la série 2

Les composés de la série 1 sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau IV.8 : Produits de la série 02.

Squelette de base	
--------------------------	--

Suite tableau IV.8

1	
3	
6	
11	

IV.4.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante

❖ Test ABTS

Tableau IV.9 : Pourcentage d'inhibition du radical ABTS des produits de la série 2.

Concentrations µg/ml	% INH (ABTS)				Vitamine C
	Produit 1	Produit 3	Produit 6	Produit 11	
7.81	52.99 ± 0.93	73.22 ± 3.37	78.93 ± 0.65	52.15 ± 1.02	13.85±0.064
15.62	57.02 ± 0.65	79.96 ± 4.49	82.77 ± 0.93	57.95 ± 1.21	26.65±5.08
31,25	61.42 ± 0.74	81.46 ± 1.68	86.32 ± 0.56	65.26 ± 1.21	32.70±9.70
62,5	69.10 ± 0.18	85.95 ± 1.31	88.01 ± 0.74	67.41 ± 1.12	38.20±5.52
125	77.34 ± 0.56	86.89 ± 3.18	89.10 ± 0.74	70.97 ± 1.49	63.98±20.58
250	87.17 ± 3.08	91.38 ± 1.31	92.88 ± 0.17	78.55 ± 0.84	72.40±13.56

Suite tableau IV.9

500	88.57 ± 2.24	91.10 ± 0.46	93.72 ± 0.28	84.73 ± 1.40	77.15 ± 9.62
1000	89.60 ± 0.28	93.53 ± 0.09	95.31 ± 0.37	94.00 ± 0.18	89.01 ± 0.10

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type.

La figure suivante présente le pourcentage d'inhibition de la réduction du radical ABTS des composés de la série 02.

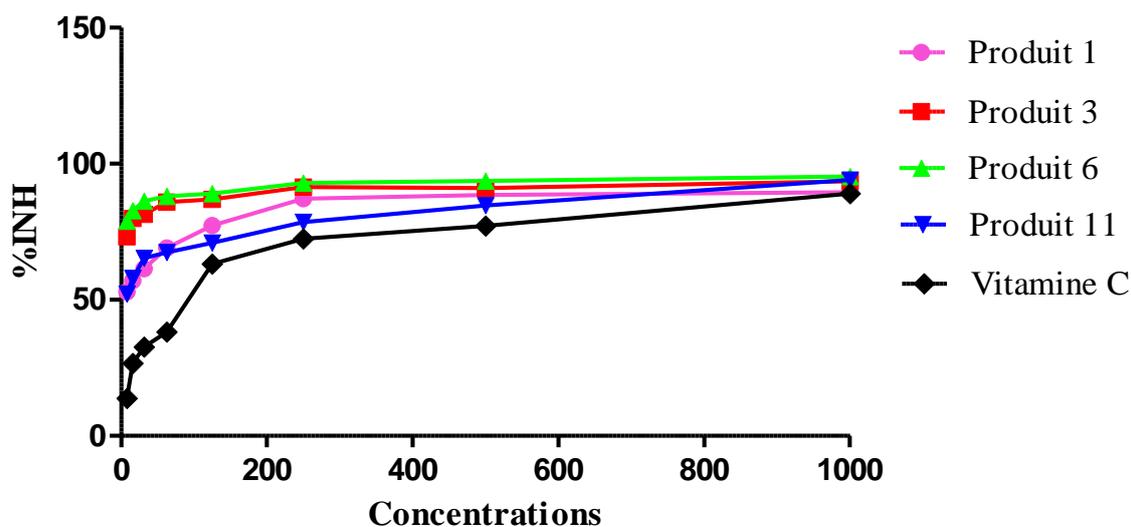


Figure IV.8 : Activité de piégeage du radical ABTS par les produits de la série 2.

D'après la courbe, on a remarqué que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les produits 1, 3, 6, 11 est supérieur à celui du standard à toutes les concentrations utilisées. Ils ont atteint des valeurs maximales de $89.60\% \pm 0.28$ et $93.53\% \pm 0.09$ et $95.31\% \pm 0.37$ et $94.00\% \pm 0.18$ respectivement.

A la concentration 1000ug/ml, la capacité de réduire le radical $ABTS^{\cdot+}$ du produit 11 est plus importante que celle du produit 1, Ce résultat est dû à la présence du groupe hydroxyle sur le squelette du produit 11.

D'après ces résultats, il semble que la variation du groupe R sur le squelette de base des produits 3 et 6 n'a aucune influence sur l'effet antiradicalaire obtenu.

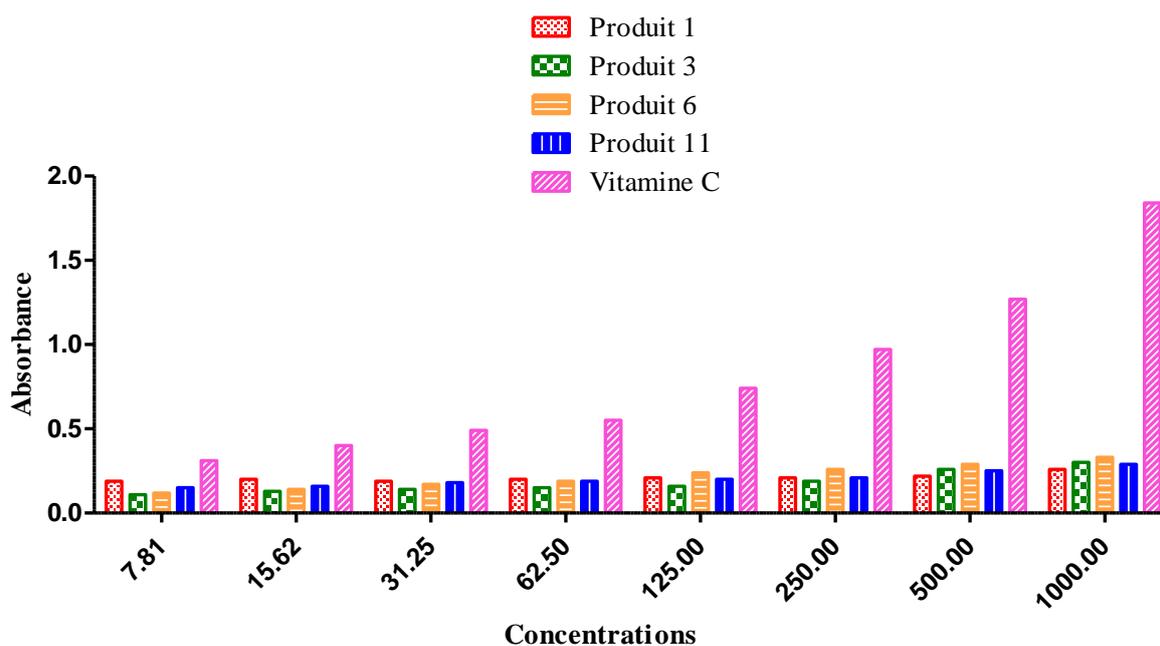
❖ Test de FRAP

Les résultats obtenus illustrés dans la Figure IV.9 montrent que le pouvoir réducteur a présenté une augmentation proportionnelle à la concentration des produits de la série 2.

Tableau IV.10 : Test FRAP : variations de l'absorbance à 700 nm des produits de la série 2.

Concentrations µg/ml	Absorbance				
	Produit 1	Produit 3	Produit 6	Produit 11	Vitamine C
7.81	0.19 ± 0.005	0.11 ± 0.0045	0.12 ± 0.009	0.15 ± 0.001	0.31 ± 0.004
15.62	0.20 ± 0.004	0.13 ± 0.0080	0.14 ± 0.004	0.16 ± 0.008	0.40 ± 0.010
31,25	0.19 ± 0.006	0.14 ± 0.0050	0.17 ± 0.006	0.18 ± 0.004	0.49 ± 0.010
62,5	0.20 ± 0.000	0.15 ± 0.0020	0.19 ± 0.001	0.19 ± 0.004	0.55 ± 0.010
125	0.21 ± 0.009	0.16 ± 0.0030	0.24 ± 0.003	0.20 ± 0.017	0.74 ± 0.010
250	0.21 ± 0.002	0.19 ± 0.0040	0.26 ± 0.010	0.21 ± 0.017	0.97 ± 0.090
500	0.22 ± 0.001	0.26 ± 0.0050	0.29 ± 0.007	0.25 ± 0.002	1.27 ± 0.100
1000	0.26 ± 0.012	0.30 ± 0.0075	0.33 ± 0.006	0.29 ± 0.002	1.84 ± 0.010

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

**Figure IV.9** : Test FRAP : variations de l'absorbance à 700 nm en fonction de la concentration des produits de la série 2.

Les résultats obtenus montrent que la capacité des semicarbazones de réduire le fer est largement inférieure à celle de l'acide ascorbique.

A la concentration de 1000 µg/ml, le pouvoir réducteur est considéré faible pour tous les produits 1, 3, 6 et 11 ($DO = 0.26 \pm 0.012$, 0.30 ± 0.0075 , 0.33 ± 0.006 et 0.29 ± 0.002) respectivement.

IV.4.2.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*

❖ Pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG)

Le pourcentage de l'augmentation des diamètres de la patte des rats traités par les semicarbazones de la série 02 en les comparants par le témoin et le standard sont présentés dans la figure ci-après.

Tableau IV.11 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des rats traités par les produits de la série 2.

Temps (min)	%AUG					
	Produit 1	Produit 3	Produit 6	Produit 11	Diclofénac	Témoin
30 min	37.44 ± 2.04	30.95 ± 3.28	27.90 ± 1.00	32.52 ± 0.14	39.76 ± 4.30	37.25 ± 2.47
60 min	29.69 ± 2.50	26.56 ± 2.53	20.41 ± 1.10	29.09 ± 0.93	30.94 ± 2.43	46.12 ± 4.37
90 min	21.83 ± 2.42	24.74 ± 0.40	13.46 ± 1.10	23.67 ± 1.15	21.94 ± 0.90	41.68 ± 5.82
120 min	14.84 ± 2.34	16.24 ± 1.20	5.10 ± 0.32	15.81 ± 1.47	15.01 ± 2.22	39.02 ± 5.57
150 min	9.17 ± 0.97	11.96 ± 2.11	3.47 ± 0.87	3.76 ± 1.11	11.54 ± 2.86	33.03 ± 5.23

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

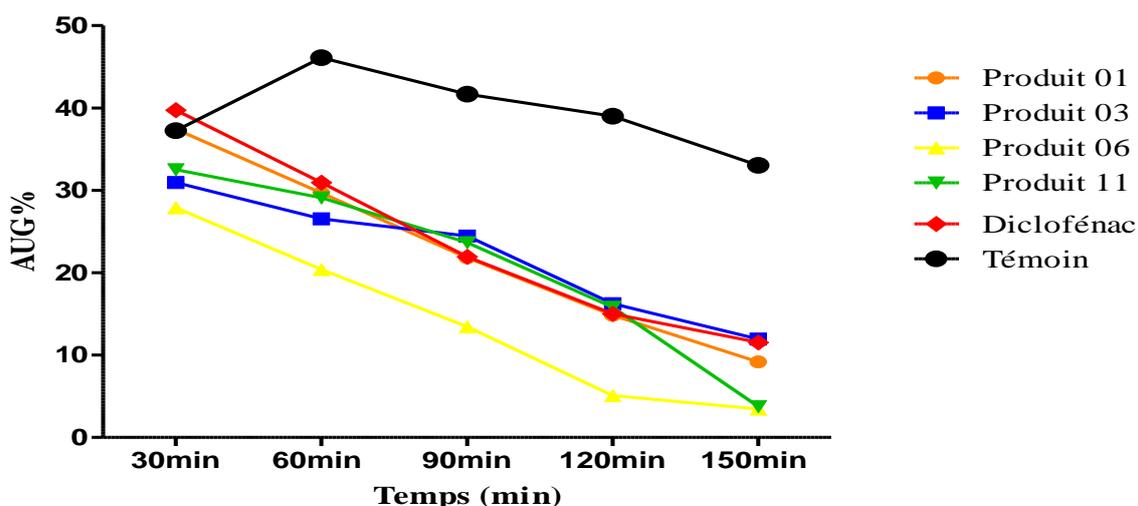


Figure IV.10 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des rats traités par les produits de la série 2 pendant 3h.

A partir des résultats obtenus (Figure IV.14) tous les semicarbazones de la série 2 ont provoqué une diminution des pourcentages d'augmentation.

Le taux d'augmentation des rats administrés par les semicarbazones 1 et 3 a diminué progressivement et régulièrement durant toute l'expérimentation. L'administration des produit 6 et 11 a provoqué un pourcentage d'AUG moins important ($3.47\% \pm 0.87$) et (3.76 ± 1.11) que le standard ($11.54\% \pm 2.86$), ce qui confirme la présence d'un effet anti inflammatoire.

❖ Pourcentage d'inhibition (%INH)

Tableau IV.12 : Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des rats traité par les produits de la série 2.

Temps (min)	% Inhibition				
	Produit 1	Produit 3	Produit 6	Produit 11	Diclofénac
30 min	11.43 ± 2.60	16.90 ± 3.36	25.09 ± 7.91	12.69 ± 5.62	6.32 ± 3.91
60 min	31.41 ± 17.30	39.64 ± 1.60	55.74 ± 7.17	36.91 ± 4.64	29.52 ± 3.99
90 min	41.88 ± 20.62	41.27 ± 8.71	67.70 ± 8.18	43.21 ± 12.38	45.24 ± 6.92
120 min	57.42 ± 17.48	57.81 ± 4.01	86.91 ± 1.40	59.46 ± 11.10	56.21 ± 5.06
150 min	68.73 ± 11.77	61.42 ± 1.69	89.48 ± 4.92	88.61 ± 5.90	67.71 ± 5.72

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

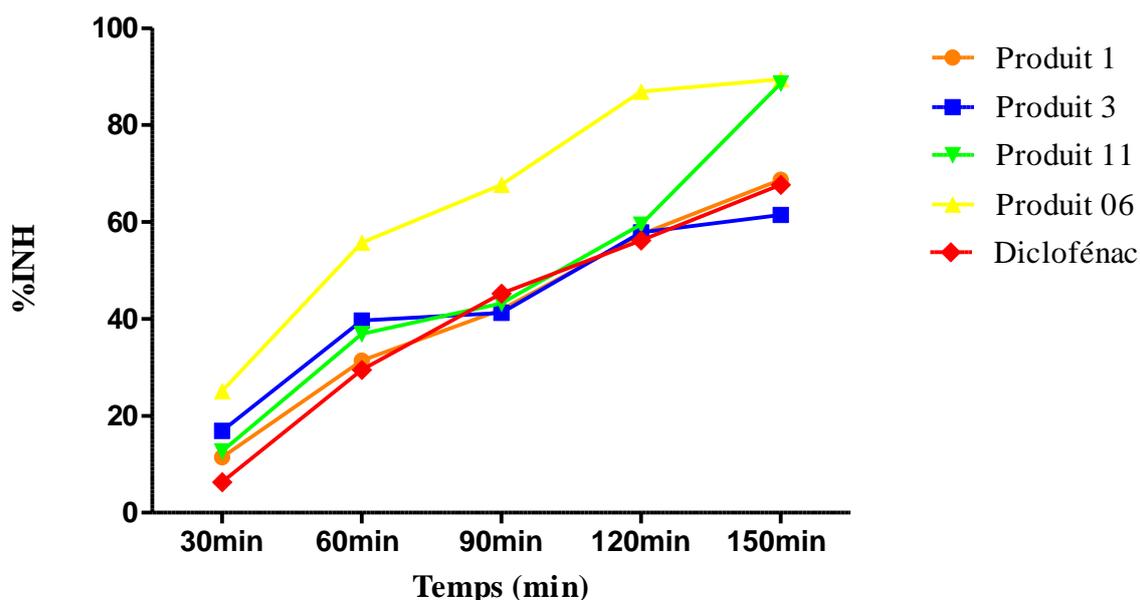


Figure IV.11 : Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des rats traité par les produits de la série 2 pendant 3h.

L'administration des rats par le produit 6 a présenté une efficacité inhibitrice (% INH) plus importante que le standard, et atteint une valeur maximale de (89.48%±4.92) comparativement avec le standard (67.71%±5.72).

Les produits 1, 3, 11, ont révélé un effet très similaire après 120 min de l'injection de la carragénine. A partir de 120 min, le produits 11 a présenté un pourcentage d'inhibition accélérée et atteint approximativement l'effet du produit 06 à 150 min.

D'après ces résultats, tous les produits de la série 02 ont présenté une activité anti-inflammatoire très intéressante.

IV.4.2.3. Stabilisation de la membrane des globules rouges humain

Les résultats représentés dans l'histogramme (Figure IV.12) montrent que le pourcentage de la stabilisation de la membrane des globules rouges des composés 1, 3, 6 et 11 est similaire à celui du diclofénac, avec un pourcentage d'inhibition de **94.77%**, **94.88%**, **94.96%**, **94.77%** respectivement à la concentration de 1000 µg/ml. Ces résultats indiquent que **les semicarbazones** (1, 3, 6, 11) possèdent une activité anti-inflammatoire par l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges.

Tableau IV.13 : Pourcentage de protection des globules rouge des produits de la série 02.

Concentrations µg/ml	Pourcentage de protection				
	Produit 1	Produit 3	Produit 6	Produit 11	Diclofénac
1000	94.77 ± 0.07	94.88 ± 0.03	94.96 ± 0.11	94.77 ± 0.14	95.00 ± 0.07

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

D'après les résultats obtenus, on constate que :

L'efficacité : Diclofénac > 6 > 3 > 11 > 1

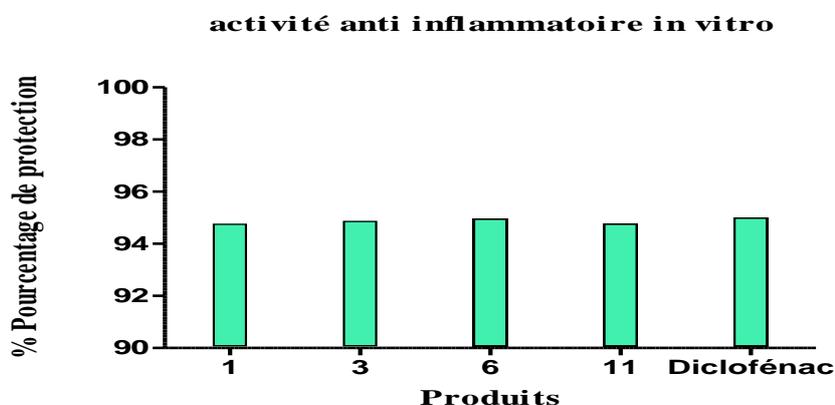


Figure IV.12 : Pourcentage de protection des globules rouge en fonction de la concentration des produits de la série 02.

IV.4.2.4. Evaluation de l'activité photoprotectrice

Tableau IV.14: Facteur de protection solaire des produits de la série 02.

Concentrations $\mu\text{g/ml}$	Pourcentage de protection			
	Produit 1	Produit 3	Produit 6	Produit 11
2000	35.30 ± 0.10	37.80 ± 0.84	39.39 ± 1.51	42.14 ± 0.04
Activité	Élevée	Élevée	Élevée	Élevée

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type.

La figure ci-dessous présente l'effet protecteur des produits de la deuxième série étudiée.

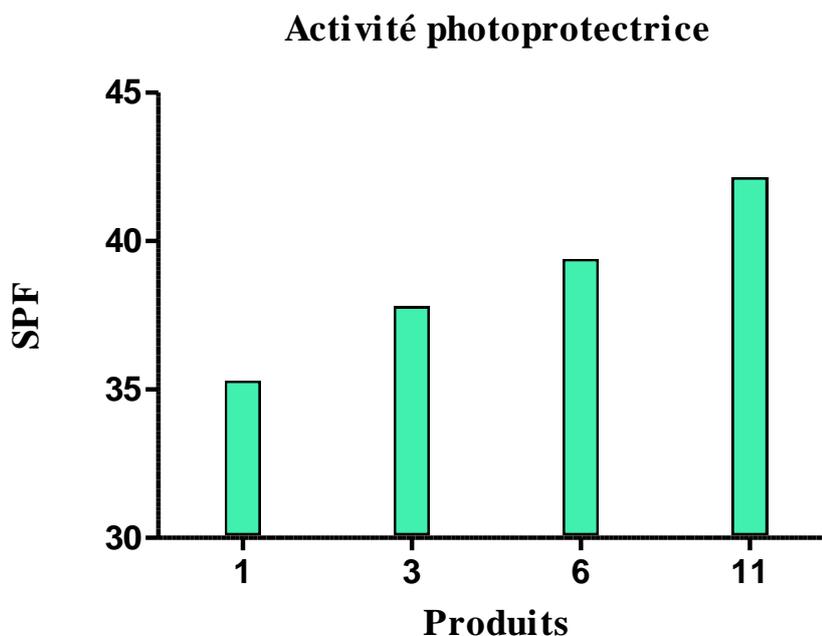


Figure IV.13 : Facteur de protection solaire des produits de la série 02.

Les résultats obtenus montrent que les produits ayant une activité photoprotectrice très importante. Les facteurs de protection solaire ont atteint les valeurs suivantes : 35.30 ± 0.10 , 37.80 ± 0.84 , 39.39 ± 1.51 et 42.14 ± 0.04 des produits 1, 3, 6 respectivement. Le produit 11 présente un effet maximal avec un facteur SPF égal à 42.14 ± 0.04 . Ces résultats indiquent que les **semicarbazones** ont une activité photoprotectrice prononcée.

IV.4.3. Dérivés de la série 3

Les composés de la série 3 sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau IV.15 : Produits de la série 03.

4	
8	
10	

IV.4.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante

❖ Test ABTS

Tableau IV.16 : Pourcentage d'inhibition du radical ABTS des produits de la série 3.

Concentrations µg/ml	ABTS			
	Produit 4	Produit 8	Produit 10	Vitamine C
7.81	70.88 ± 0.46	75.28 ± 0.37	43.82 ± 0.18	13.85 ± 0.64
15.62	74.90 ± 0.37	79.86 ± 0.46	48.50 ± 1.31	26.65 ± 5.08
31,25	79.40 ± 0.74	83.05 ± 0.28	52.90 ± 2.71	32.70 ± 9.31
62,5	83.33 ± 1.87	85.48 ± 0.65	57.67 ± 0.37	38.20 ± 5.52
125	90.07 ± 0.74	89.79 ± 0.84	61.42 ± 0.74	63.98 ± 20.58
250	91.66 ± 0.46	91.19 ± 0.56	69.66 ± 4.49	72.40 ± 13.56
500	93.07 ± 0.37	92.88 ± 0.37	78.55 ± 2.90	77.15 ± 9.62
1000	94.66 ± 0.28	93.91 ± 0.28	90.07 ± 1.49	89.01 ± 0.10

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

La figure suivante présente le pourcentage d'inhibition de la réduction du radical ABTS des composés du groupe 03.

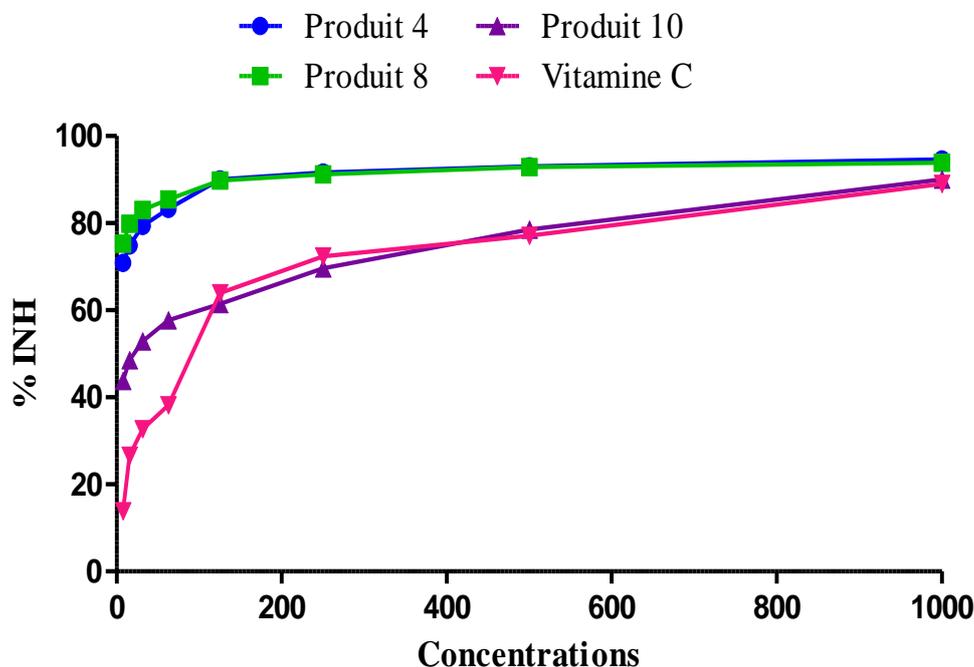


Figure IV.14 : Activité de piégeage du radical ABTS en fonction de la concentration des produits de la série 3.

A partir des résultats, le pourcentage d'inhibition des produits ainsi que du standard corrèle directement avec la concentration.

L'activité antiradicalaire des produits de la série 3 est plus importante que l'acide ascorbique dans toutes les concentrations utilisées. Les produits 4, 8 ont révélé un pouvoir de réduire le radical ABTS avec des pourcentages égales à 94.66 ± 0.28 et 93.91 ± 0.28 respectivement comparativement avec le standard (89.01 ± 0.10).

Le pouvoir antiradicalaire du produit 10 est supérieur à celui du standard jusqu'à la concentration 125 ug/ml et atteint sa valeur maximale à 1000 ug/ml avec un pourcentage de 90.07 ± 1.49 comparativement avec l'acide ascorbique 89.01 ± 0.10 . Ce produit a révélé un effet antiradicalaire semblable aux autres produits étudiés.

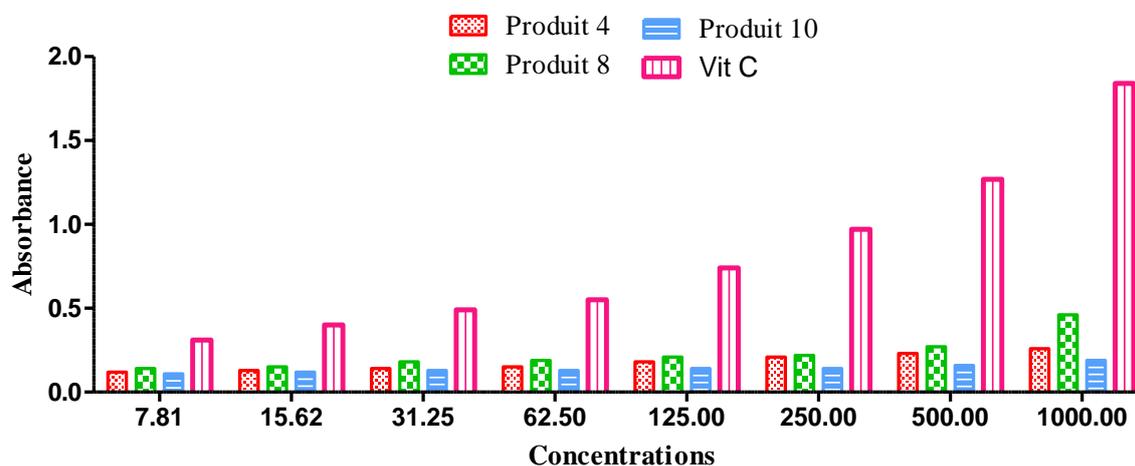
❖ Test de FRAP

Tableau IV.17 : Test FRAP : variations de l'absorbance à 700 nm en fonction de la concentration des produits de la série 3.

Concentrations µg/ml	Absorbances			
	Produit 4	Produit 8	Produit 10	Vitamine C
7.81	0.12 ± 0.0035	0.14 ± 0.0045	0.11 ± 0.0070	0.31 ± 0.004
15.62	0.13 ± 0.0035	0.15 ± 0.0110	0.12 ± 0.0025	0.40 ± 0.010
31,25	0.14 ± 0.0015	0.18 ± 0.0065	0.13 ± 0.0010	0.49 ± 0.010
62,5	0.15 ± 0.0055	0.19 ± 0.0025	0.13 ± 0.0005	0.55 ± 0.010
125	0.18 ± 0.0055	0.21 ± 0.0025	0.14 ± 0.0060	0.74 ± 0.010
250	0.21 ± 0.0030	0.22 ± 0.0110	0.14 ± 0.0015	0.97 ± 0.090
500	0.23 ± 0.0060	0.27 ± 0.0060	0.16 ± 0.0015	1.27 ± 0.100
1000	0.26 ± 0.0060	0.46 ± 0.0240	0.19 ± 0.0060	1.84 ± 0.010

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

Les résultats de la Figure IV.15 montrent que le pouvoir réducteur a présenté une augmentation proportionnelle à la concentration des produits de la série 3.

**Figure IV.15** : Test FRAP : variations de l'absorbance à 700 nm en fonction de la concentration des produits de la série 3.

Les résultats obtenus montrent que la capacité des produits à réduire le fer est largement inférieure à celle de l'acide ascorbique. A la concentration de 1000 µg/ml, le pouvoir réducteur

du produit 8 est plus important ($DO = 0.46 \pm 0.0240$) par rapport au produit 4 ($DO = 0.26 \pm 0.0060$).

la capacité du produit 10 de réduire le fer est largement inférieure à celle de l'acide ascorbique. A la concentration de $1000 \mu\text{g/ml}$, le pouvoir réducteur est beaucoup plus important pour l'acide ascorbique ($DO = 1.84 \pm 0.010$) par rapport au produit 10 ($DO = 0.19 \pm 0.0060$).

IV.4.3.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*

❖ Pourcentage d'augmentation du volume de la patte (%AUG)

Le pourcentage de l'augmentation des rats traités par les produits de la série 3 ainsi que pour le standard est représenté dans la courbe ci-dessous.

Tableau IV.18 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des rats traités par les produits de la série 3.

Temps (min)	AUG%				
	Produit 4	Produit 8	Produit 10	Diclofénac	Témoin
30	25.31 ± 1.49	31.99 ± 0.50	34.09 ± 0.77	39.76 ± 4.30	37.25 ± 2.47
60	21.59 ± 2.81	22.29 ± 0.84	29.17 ± 2.41	30.94 ± 2.43	46.12 ± 4.37
90	17.23 ± 1.78	14.82 ± 0.51	19.68 ± 1.23	21.94 ± 0.90	41.68 ± 5.82
120	8.04 ± 0.67	5.12 ± 1.27	13.27 ± 0.44	15.01 ± 2.22	39.02 ± 5.57
150	1.91 ± 1.52	3.59 ± 0.04	5.37 ± 1.11	11.54 ± 2.86	33.03 ± 5.23

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type.

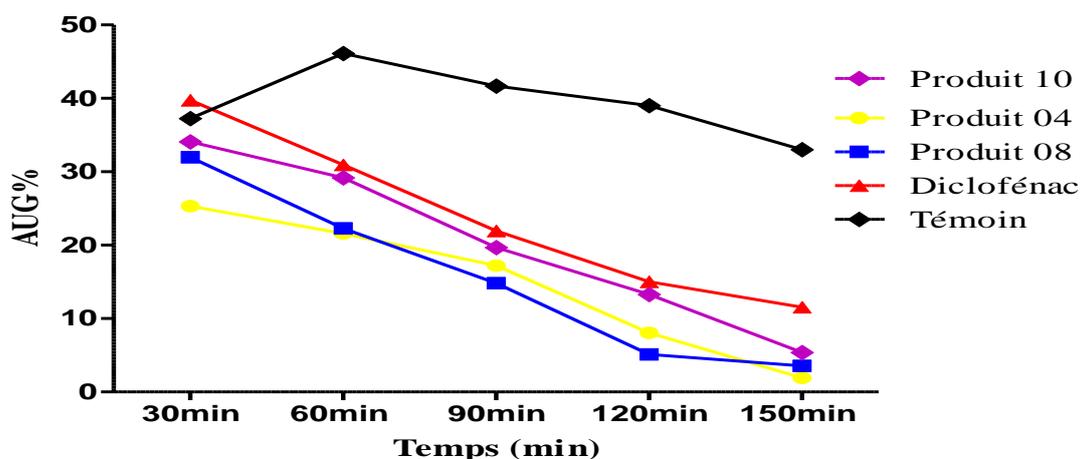


Figure IV.16 : Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte (%AUG) des rats traités par les produits de la série 3 pendant 3h.

Les taux d'AUG ont diminué après l'administration des deux produits 4 et 8 à partir de 30 min après l'injection de la carragénine (25.31% et 31.99% respectivement) jusqu'à 150 min (1.91% et 3.56%). Les pourcentages d'AUG de ces deux produits sont plus importants que les valeurs du témoin et du standard ce qui indique la présence d'un effet anti inflammatoire.

Les taux d'AUG diminuent après l'administration du produit 10 à partir de 30 min après l'injection de la carragénine de 34.09% à 5.37% durant l'expérimentation. Les pourcentages d'AUG de ce produit sont plus satisfaisant que celles du standard ce qui indique la présence d'un effet anti-inflammatoire.

❖ Pourcentage d'inhibition (%INH)

Tableau IV.19 : Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des rats traités par les produits de la série 3.

Temps (min)	INH%			
	Produit 4	Produit 8	Produit 10	Diclofénac
30	32.03 ± 8.77	14.10 ± 4.56	8.46 ± 5.37	6.32 ± 3.91
60	53.17 ± 11.34	51.65 ± 6.99	36.73 ± 10.01	29.52 ± 3.99
90	58.65 ± 11.47	64.43 ± 4.59	52.79 ± 9.12	45.24 ± 6.92
120	76.93 ± 8.58	86.85 ± 5.83	65.99 ± 5.93	56.21 ± 5.06
150	94.20 ± 6.23	89.20 ± 1.93	83.72 ± 5.65	67.71 ± 5.72

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

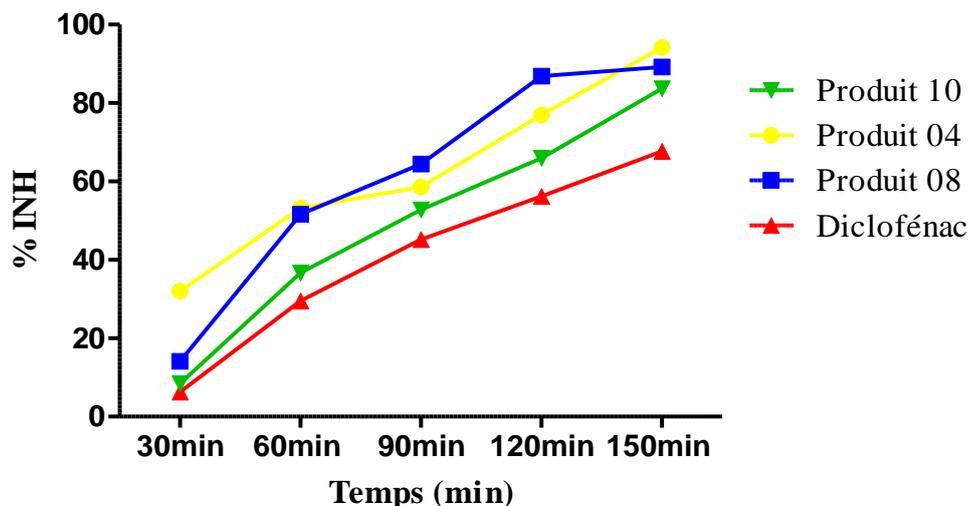


Figure IV.17 : Pourcentage d'inhibition (% INH) de l'œdème de la patte des rats traités par les produits de la série 3 pendant 3 h.

D'après les résultats de la figure IV.17, on observe une augmentation progressive des valeurs d'inhibition des lots traités par les produits 4 et 8 jusqu'à l'obtention d'une efficacité maximale de **94,20%** et **89.20%** à 150 min. Ces deux produits présentent un effet très intéressant que le groupe traité par le standard.

On observe une augmentation progressive des valeurs du pourcentage d'inhibition du lot traité par ce produit jusqu'à l'obtention d'une efficacité maximale de 83.72%.

Les rats traités par le produit 10 ont présenté un effet très important que le groupe traité par le diclofénac (67.71%).

IV.4.3.3. Stabilisation de la membrane des globules rouges humains

Tableau IV.20 : Pourcentage de protection des globules rouge des produits de la série 03.

Concentration µg/ml	Pourcentage de protection			
	Produit 4	Produit 8	Produit 10	Diclofenac
1000	94.85 ± 0.00	94.70 ± 0.07	95.55 ± 0.00	95.00 ± 0.07

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

Les résultats représentés dans l'histogramme IV.18, montrent que les deux composés de cette série (4 ,8) possèdent un pourcentage de stabilisation de la membrane des globules rouges semblable à l'effet de diclofénac avec un pourcentage d'inhibition atteint environ **95%** à 1000 µg/ml. Ces résultats indiquent que **le semicarbazones et l'hydrazone de (2-hydroxynaphthyl)** possèdent une activité anti-inflammatoire par l'inhibition de l'hémolyse des globules rouges.

L'histogramme présenté dans la figure IV.28 montre que le produit 10 possède une activité anti inflammatoire avec un pourcentage d'inhibition similaire (**94.55 %**) à celui du diclofénac.

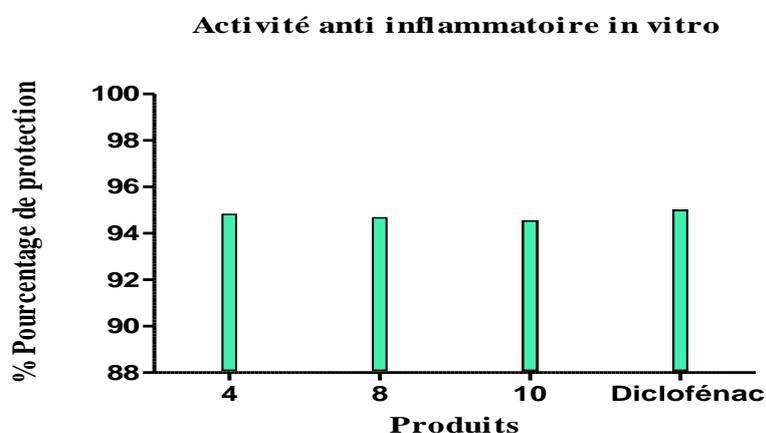


Figure IV.18 : Pourcentage de protection des globules rouge des produits de la série 03.

D'après les résultats obtenus, on constate que :

L'efficacité : 10 > Diclofenac > 4 > 8

IV.4.3.4. Evaluation de l'activité photoprotectrice

Tableau IV.21 : Facteur de protection solaire des produits de la série 03.

Concentration µg/ml	SPF		
	Produit 4	Produit 8	Produit 10
2000	43.17 ± 0.29	41.17 ± 1.77	38.61 ± 0.53
Activité	Élevée	Élevée	Élevée

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart type.

La figure ci-dessous présente l'effet protecteur des produits de la troisième série étudiée.

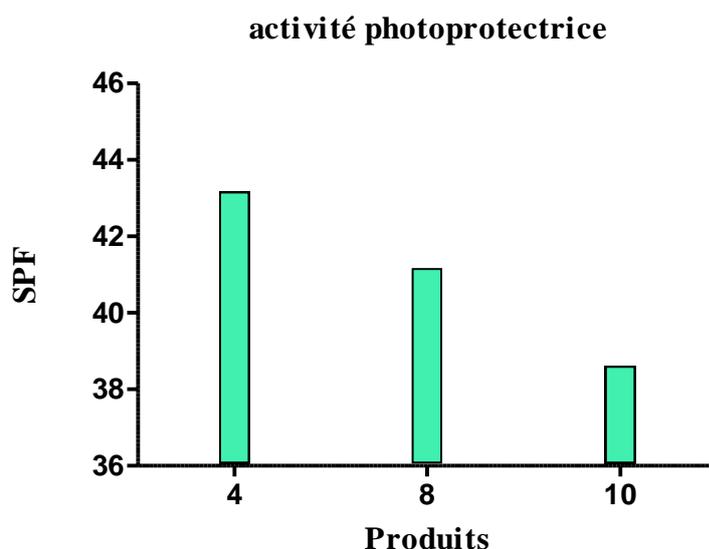


Figure IV.19 : Facteur de protection solaire des produits de la série 3.

Les résultats obtenus montrent que les produits de cette série présente un effet protecteur plus important que celui enregistré avec les produits des séries précédentes. Les facteurs de protection solaire des produits 4 et 8 atteint 43.17±0.29 et 41.17±1.77 respectivement.

Le résultat obtenu montre que le produit 10 a une grande capacité d'absorption. Le facteur de protection solaire de ce produit est de 38.61±0.53.

Ces deux produits présentent une différence négligeable entre leurs effets de protection. Ces résultats indiquent que **le semicarbazone et carboéthoxyhydrazone de 2-hydroxyacétonaphtone** possèdent un très bon effet photo protecteur.

IV.5. Activité antimicrobienne des produits

VI.5.1. Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne des produits contre les microorganismes analysés dans cette étude est évaluée en fonction de la présence ou l'absence de zones d'inhibition.

La méthode des disques de diffusion est une technique permettant d'avoir une idée préliminaire sur la capacité d'un produit à inhiber la croissance microbienne.

La lecture des résultats est réalisée par la mesure des zones d'inhibition, qui sont représentés par une zone claire formée autour de chaque disque. L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par (*ponce et al. ,2003*) [5] qui a classé les diamètres de zones d'inhibition (ZI) en 4 classes :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre moins de 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre plus de 20 mm.

Les résultats reportés dans le tableau (Tableau IV.28) indiquent les zones d'inhibition exprimées en mm des produits testée sur les différentes souches bactérienne.

Tableau IV.29 : Test antibactérien des dérivés d'hydrazone et de semicarbazone.

Produites	Zone d'inhibition (mm)			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>	<i>pseudomonas aeruginosa</i>	<i>proteus mirabilis</i>
01	-	-	30mm +++	-
02	-	-	+	-
03	-	-	+	-
04	-	-	+	-
05	-	-	12mm +	-
06	-	-	30mm +++	-

Suite tableau IV.29

07	-	-	16mm ++	-
08	-	19.6mm +++	+	-
09	20mm +++	-	+	-
10	-	-	+	-
11	-	-	+	-

Les résultats montrent que seulement quelques produits (1, 5, 6, 7, 8, et 9) présentent une activité antibactérienne.

Le résultat obtenu montre que la souche *Staphylococcus aureus* est extrêmement sensible au composé 9 avec une zone d'inhibition de 20 mm, Une sensibilité sémi-laire est enregistrée pour la souche *klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* au composé 8 avec une zone d'inhibition de 19.6 mm.

Parallèlement, aucune sensibilité n'est enregistrée pour la souche *proteus mirabilis* (Figure IV.22).

En ce qui concerne la souche *pseudomonas aeruginosa*, tous les produits présente une sensibilité variable. Les produits 1, 5, 6 et 7 présentent des zones d'inhibition de 30 mm, 12 mm, 30 mm et 16 mm respectivement. Cela confirme que cette bactérie est extrêmement sensible à ces produits.



Figure IV. 20 : *Pseudomonas aeruginosa*.



Figure IV.21 : *Staphylococcus aureus*.



Figure IV.22 : *Proteus Mirabilis*.



Figure IV.23 : *Klebsiella pneumoniae*.

VI.5.2. Activité antifongique

En ce qui concerne l'activité antifongique, tous les dérivés d'hydrazones et de semicarbazones testés n'avaient aucune activité antifongique sur le champignon étudié (*Candida albicans*), comme la montre la figure IV.24 Aucune zone d'inhibition n'est observée après incubation.



Figure IV.24 : Les résultats de l'activité antifongique.

Références bibliographiques

- [1] M. M. Vuolo, V. S. Lima, M. R. M. Junior. *In Bioactive compounds*; (2019), p.33-50.
- [2] B. Ou, D. Huang, M. Hampsch-Woodill, J. A. Flanagan, E. K. Deemer. *Journal of agricultural and food chemistry*; (2002), Vol. 50, p. 3122-3128.
- [3] A. C. Winter, EA. Ristey, G. W. Nuss; *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*; (1992), 111, p. 544–547.
- [4] L. Meunier. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture* ; (2009), 22(1), p. 19–22.
- [5] A. G. Ponce, R. Fritz, C. Del Valle, S. I. Roura. *LWT-Food Science and Technology*; (2003), 36(7), p. 679-684.

Conclusion
Et
Perspectives

Conclusion et perspective

Ce mémoire a pour objectif de synthétiser des molécules bioactives. Le déroulement de cette étude est envisagé selon deux axes. Dans un premier temps, nous nous sommes basés sur la synthèse et dans le second, sur l'activité pharmacologique de quelques dérivés des hydrazones et des semicarbazones. Ces intermédiaires occupent une place importante dans la synthèse organique.

Pour aboutir à ces composés : semicarbazone de 2-hydroxyacétophénone, semicarbazone de 2-hydroxy-5-méthylacétophénone et carboéthoxyhydrazone de 5-bromo-2-hydroxyacétophénone, nous avons utilisé les produits de départ à savoir : 2-hydroxyacétophénone, 2-hydroxy-5-méthylacétophénone et 5-bromo-2-hydroxyacétophénone respectivement.

Les composés organiques synthétisés sont analysés par les méthodes physico-chimiques (T_f , CCM).

L'évaluation de l'activité antioxydante (par la méthode de réduction de radical libre ABTS et pouvoir réducteur) de ces dérivés nous montre que ces produits possèdent une activité radicalaire intéressante.

L'activité anti-inflammatoire de ces dérivés est évaluée chez les rats model de la patte inflammatoire. Ces rats sont réparties en plusieurs lots, chaque lot reçoit respectivement par voie orale la dose de 50 ml/Kg, soit d'une solution de NaCl (0,9%) (groupe témoin), soit de diclofinac 50 mg/Kg (groupe standard), soit les dérivés d'hydrazone et semicarbazone testés.

Une demi-heure après les rats de tous les groupes reçoivent une injection de carragénine à 1%. L'œdème est évalué par la mesure du diamètre (mm) de la patte avant et à des intervalles d'une demi-heure, pendant 3 heures après injection de la carragénine. Le traitement par les dérivés testés à la dose de 50 mg/Kg, exerce une action anti-inflammatoire très satisfaisante durant toute l'expérimentation.

Les dérivés d'hydrazone et de semicarbazone ont montré un effet d'inhibition de l'hémolyse des membranes des globules rouges très proche et très important.

Par ailleurs, l'évaluation de l'activité photoprotectrice des dérivés testés a également donné des résultats très satisfaisants. Les résultats obtenus grâce à la spectrophotométrie UV

ont montré la possibilité d'utiliser ces produits comme des filtres organiques dans des formules de protection solaire.

L'activité antimicrobienne est analysée sur 4 souches bactériennes et un champignon selon la méthode de diffusion sur disque.

Le résultat obtenu montre que la souche *pseudomonas aeruginosa* est extrêmement sensible aux dérivés testés. Parallèlement, aucune sensibilité est enregistré pour la souche *proteus mirabilis* ainsi que pour le champignon utilisé.

La multitude d'effets pharmacologiques établis dans le cadre de ce travail, ouvrent des portes pour un usage thérapeutique industriel, et sert de base à d'autres études pour examiner les mécanismes d'action et de synergie en toxicité et en pharmacologie.

الملخص

الهدف من هذا العمل، تصنيع بعض مشتقات الهيدرازون و سميكاربازون. بسبب الأهمية البيولوجية لهذه المشتقات، قمنا بتقييم النشاط المضاد للأوكسدة لبعض المركبات المصنعة من قبل (اختبار ABTS و FRAP)، النشاط المضاد للالتهاب (*in vivo et in vitro*)، النشاط الواقي من اشعة الشمس، ونشاط مضاد للميكروبات.

تختلف نتائج الفعالية اعتمادًا على طبيعة الهيكل الاساسي لهذه المشتقات .

أظهرت دراسة بعض هذه المشتقات من الهيدرازون و سميكاربازون أن لديهم نشاطًا جيدًا كمضاد للأوكسدة.

أظهر النشاط المضاد للالتهابات *in vivo* تأثيرًا مثبطًا كبيرًا على زيادة الوذمة الناجمة عن الكاراجينين. سمحت لنا دراسة أخرى لفعالية

مضادة للالتهاب ان جميع المركبات بتركيز 1000 µg/ml لها تأثير وقائي واضح جدًا لكريات الدم الحمراء مقارنة بالمعيار المستخدم.

يمكن اعتبار مشتقات الهيدرازون و سميكاربازون التي تمت دراستها كمنتجات للحماية من أشعة الشمس، لأنها تحمي بشكل فعال من الآثار

الضارة للشمس. يلاحظ هذا في النتائج التي تم الحصول عليها من خلال الاختبار الواقي من اشعة الشمس الذي تم إجراؤه.

اظهرت نتائج اختبارات المضادة للبكتيريا أنشطة مختلفة، اعتمادا على سلالة وطبيعة المركب. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للفطريات، لم يكن

لجميع المشتقات التي تم اختبارها أي نشاط مضاد للفطريات على الفطر المدروس.

تظهر كل هذه النتائج أن ، مشتقات الهيدرازون و سميكاربازون لهم تأثيرات دائية مهمة للعناية.

الكلمات المفتاحية : الهيدرازون، سميكاربازون، الفعالية المضادة للأوكسدة، نشاط مضاد للالتهابات، النشاط الواقي من اشعة الشمس، النشاط المضاد

للميكروبات.

Abstract

The objective of this work is to synthesize some derivatives of hydrazones and semicarbazones. Due to the biological importance of these derivatives, we evaluated the antioxidant activity of some synthetic products previously (by two ABTS and FRAP tests), anti-inflammatory (*in vivo* and *in vitro*), photoprotective and activity antimicrobial.

The antioxidant activity revealed that the derivatives studied have a good anti-radical power. The anti-inflammatory activity *in vivo* showed a considerable inhibitory effect on the increase of edema caused by carrageenan. Additional work using other *in vitro* approaches, the anti-inflammatory potential of these derivatives can be examined. At a concentration of 1000 µg/ml all the products have a very pronounced protective effect of red blood cells compared to the standard used.

The hydrazone and semicarbazone derivatives studied can be considered as sun protection products, as they effectively protect against the harmful effects of the sun. This is observed in the results obtained by the photoprotective test performed.

The results of antibacterial tests showed different activities, depending on the strain and the nature of the compound.

With respect to antifungal activity, all of the derivatives tested had no antifungal activity on the fungus studied.

All these results show that the drift of hydrazones and semicarbazones exert very important pharmacological effects.

Keywords: Hydrazones, semicarbazones, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, photoprotective activity, antimicrobial activity.

Résumé

L'objectif de ce travail est de synthétiser quelques dérivés d'hydrazones et des semicarbazones. En raison de l'importance biologique de ces dérivés, nous avons évalué l'activité antioxydante de certains produits synthétiques auparavant (par deux test ABTS et FRAP), anti-inflammatoire (*in vivo* et *in vitro*), photo protectrice et l'activité antimicrobienne.

L'activité antioxydante a révélé que les dérivés étudiés possèdent un bon pouvoir anti radicalaire.

L'activité anti-inflammatoire *in vivo* a mis en évidence un effet inhibiteur considérable sur l'augmentation de l'œdème provoqué par la carragénine. Des travaux supplémentaires utilisant d'autres approches *in vitro*, permettent d'examiner en profondeur le potentiel anti-inflammatoire de ces dérivés. Les produits à une concentration de 1000 µg/ml, présentent un effet protecteur des globules rouge très prononcé par rapport au standard utilisé.

Les dérivés d'hydrazones et des semicarbazones étudiés peuvent être considérés comme des produits de protection solaire, car ils protègent efficacement contre les effets nocifs du soleil. Cela est observé lors des résultats obtenu par test photoprotecteur réalisé.

Les tests antibactériens ont montré des activités différentes, selon la souche et la nature du composé. En ce qui concerne l'activité antifongique, tous les dérivés testés n'avaient aucune activité antifongique sur le champignon étudié.

L'ensemble de ces résultats montre que les dérivés d'hydrazones et des semicarbazones exercent des effets pharmacologiques très important.

Mots clés : Hydrazones, semicarbazones, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, activité photoprotectrice, activité antimicrobienne.