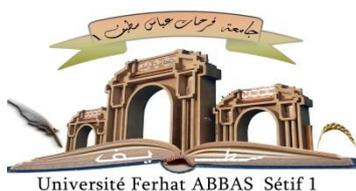


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS - SETIF1

FACULTÉ DE TECHNOLOGIE

THÈSE

Présentée au Département de Génie des Procédés

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT

Domaine : Sciences et Technologie

Filière: Génie des Procédés

Option: Génie Pharmaceutique

Par

M^{me}ADJISSI Lilia

THÈME

Synthèse, caractérisation étude DFT et évaluation des propriétés biologiques d'une série de dérivés hydrazones

Soutenue le 12/02/2024 devant le Jury:

BENGUERBA Yacine	Professeur	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Président
CHAFAI Nadjib	MCA	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Directeur de thèse
AMAMRA Samra	MCA	Univ. Mohamed El Bachir El Ibrahimi - Borj Bouaririj	Examinatrice
KERKOUR Rachida	MCA	Univ. Abdelhafid Boussouf - Mila	Examinatrice
ELKOLLI Hayet	MCA	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Examinatrice

Remerciements

الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ

Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé au sein du Laboratoire d'Electrochimie des Matériaux Moléculaires et Complexes (LEMMC) de l'Université FERHAT Abbas Sétif 1.

Je remercie ALLAH le tout puissant, pour nous avoir accordé la santé, la force et la volonté de compléter ce travail.

Je tiens à remercier mon directeur de thèse le Dr **CHAFAI Nadjib**, Maître de conférences A à l'Université Ferhat ABBAS SETIF-1, de m'avoir accueilli dans son laboratoire (LEMMC). J'ai un profond respect et une grande considération pour lui. Je tiens à le remercier chaleureusement encore pour la confiance qu'il m'a témoignée en me présentant ce sujet de recherche et pour toute la liberté d'action qu'il m'a laissée tout au long. Une mention spéciale a été faite pour ses qualités humanistes et sa perspicacité éclairée, qui m'ont permis d'élargir ma pensée scientifique.

Par la même occasion, je remercie chaleureusement Monsieur **BENGUERBA Yacine**, Professeur à l'Université Ferhat Abbas Sétif 1 qui m'a honoré en acceptant de présider le jury de cette thèse.

Je tiens à remercier les membres de jury : Dr. **S. AMAMRA**, le Dr. **R. KERKOUR** et le Dr. **H. ELKOLLI** pour avoir accepté de lire ce manuscrit et de m'avoir apporté leur point de vue concernant mon travail. J'accepterai leurs remarques avec ouverture d'esprit et objectivité

Je présente mes remerciements les plus sincères à tous les membres du Laboratoire d'Électrochimie des Matériaux Moléculaires et Complexes (LEMMC) de l'Université Ferhat ABBAS SETIF-1, avec qui j'ai pu agréablement travailler et échanger des connaissances riches pendant ces années que Messieurs-dames : **HALLEL Abdelkader**, **MOUMENI Ouahiba**, **MEHRI Mouna**, **KERKOUR Rachida** et tous ceux que j'ai manqué de citer par oubli sachent que je pars vraiment avec d'inoubliables souvenirs. Sans oublier d'évoquer les grands efforts et la patience des ingénieurs de laboratoire mesdames **Souad** et **Fouzia**. Merci mes amis pour l'ambiance très agréable au labo, aussi pour votre soutien et vos encouragements.

Je tiens à remercier particulièrement le docteur **BENSOUICI Chawki** du centre de recherche et de biotechnologie Constantine (CRBT) pour son soutien et ses précieux conseils, Sans son inconditionnelle aide, la partie biologique du travail n'aurait pas été accomplie.

J'adresse mes remerciements particuliers à **Mme ELKOLLI Meriem** maitre de conférences A à l'Université Ferhat ABBAS SETIF-1 et **Mme ELKOLLI Hayet** maitre de conférences A à l'Université Ferhat ABBAS SETIF-1 pour m'avoir aidé dans ce travail. Merci pour vos encouragements et votre soutien quotidien, je ne peux oublier les qualités de vos conseils aussi bien sur le plan scientifique que moral.

Je tiens à remercier le professeur **ZOUAOUI Ahmed** et son équipe de m'avoir aidé et de m'avoir ouvert son laboratoire.

Je remercie plus particulièrement les membres des laboratoires de la faculté des **Sciences de nature et de la vie** pour la richesse de nos échanges.

Je tiens également à remercier aussi l'ensemble des **professeurs** qui m'ont enseigné et transmis le savoir tout au long de mon parcours universitaire.

Mes remerciements les plus cordiaux s'adressent à tous mes collègues ainsi qu'aux staffs technique et administratif qui m'ont prêté main forte tout au long de la réalisation du présent travail mené dans une ambiance marquée de sympathie et dynamisme. Les années que nous avons vécues ensemble ont assurément forgé une amitié durable et sincère

Je ne saurai oublier dans mes remerciements **ma famille** qui m'a soutenu dans mes choix et qui a toujours été présente à chaque fois que cela était nécessaire ; je citerai mon père **RABI Yerahmo**, ma mère, mes sœurs, mes frères et notamment **mon mari** pour sa sympathie chaleureuse, son appui inestimable, son soutien illimité et le sourire dans les moments difficiles.

Merci à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à tous.

ADJISSI Lilia

DEDICACE

Dédicaces

♥Je dédie ce travail à : ♥

La mémoire de mon père Belkacem ADJISSI,

Que son âme repose en paix ♥Rabi Yarahmo

Ma chère Mama, je te remercie du fond du cœur pour ton amour et ton
soutien indéfectible ♥

Mon mari K. Charaf eddine et ma 2^{eme} famille♥

Chers (Mama Chahra et baba Kamel) ♥

Mes très chers frères et sœurs pour leurs encouragements ♥

Mes amies (Chaima et Nabila) ♥

Mes oncles et mes tantes ♥

Mes cousins et cousines ♥

Ma tutrice ELKOLLI Hayet pour sa générosité ♥

Ma famille ♥

Mes enseignants, mes amis, ainsi que tous mes collègues♥

Tous ceux qui mon aidé de loin ou de prés♥

Liste des figures

Liste des figures :

Figure I.1: Structure de base des hydrazones	04
Figure I.2. Exemples de sources naturelles d'hydrazones.	05
Figure I.3. Exemples d'hydrazones synthétisés.	05
Figure I.4 : Synthèse des hydrazones par condensation sur un carbonyle.	06
Figure I.5 : Synthèse de Japp-Klingemann.	07
Figure I.6 : Application de la synthèse de Japp-Klingemann.	07
Figure I.7 : Synthèse d'hydrazones avec addition de butyllithium sur α -diazo ester.	08
Figure I.8. Classification des centres de réactivité.	08
Figure I.9. Caractères électroniques des hydrazones.	09
Figure I.10. Tautomérisation de la benzil isonicotinoyl hydrazone.	09
Figure I.11. Auto-oxydation de l'hydrazone.	10
Figure I.12. Isomères configurationnels d'une N-arylhydrazone.	10
Figure I.13. Exemples d'hydrazones synthétisés utilisés dans la lutte contre la corrosion.	11
Figure I.14 : Structures chimiques de 3-nitro-benzylidène-hydrazino-acétylthéophylline	13
Figure 1.15 : Structures tridimensionnelles des hydrazones utilisés comme antioxydants.	14
Schéma I.16: Structures de l'AChE et le BChE.	15
Figure 1.17 : Structures tridimensionnelles de certain hydrazones utilisés comme inhibiteurs de l'AChE et la BChE.	16
Figure 1.18 : Structure tridimensionnelle de l' α -amylase.	16
Figure I.19 : Structures tridimensionnelles de certain hydrazones utilisés comme inhibiteurs de l'alpha-amylase.	18
Figure 1.20 : Structure tridimensionnelle de l'uréase.	18
Figure I.21 : Structures tridimensionnelles de certain hydrazones utilisés comme inhibiteurs de l'uréase.	19

Liste des figures

Figure I.22: Représentation de la gamme dynamique de concentrations des protéines dans le plasma humain.	19
Figure I.23 : Structures tridimensionnelles de certain hydrazones utilisés comme agents anti-inflammatoires.	20
Figure I.24 : Structures tridimensionnelles d'hydrazones utilisés comme agents	21
Figure I.25 : Structures tridimensionnelles de certain hydrazones utilisés comme agents antibactériennes.	21
Figure I.26 : Structure du coronavirus.	22
Figure I.27 : Structures tridimensionnelles de certain hydrazones utilisés comme inhibiteurs de COVID-19.	23
Figure II.1: Schéma de la microplaque 96 puits pour l'activité α -amylase.	31
Figure II.2 : Représentation photographique de l'expérience de l'activité antibactérienne	37
Figure III.1 : Réaction de condensation de Wolff-Kishner.	39
Figure III.2: Synthèse des dérivés d'hydrazones HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3.	40
Figure III.3 : Synthèse des dérivés hydrazones HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6.	41
Figure III.4 : Mécanisme réactionnel proposé.	42
Figure III.5 : Représentation photographique de l'aspect des produits synthétisés.	44
Figure III.6 : Spectres UV-Vis de R1, R2, S1, S2 et S3 enregistrés dans le méthanol.	47
Figure III.7 : Spectres UV-Vis de HYDZ-1, HYDZ-2 ; HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6 enregistrés dans le méthanol.	48
Figure III.8: Spectres IR expérimentaux et calculés de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3.	50
Figure III.9: Spectres IR expérimentaux et calculés de HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6.	51
Figure III.10: Diagrammes de corrélation entre les nombres d'onde théoriques et expérimentaux de HYDZ-1, HYDZ-2, HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6.	57
Figure III.9: Spectres RMN H^1 expérimentaux de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3.	58
Figure III.12: Spectres RMN H^1 expérimentaux de HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6.	59
Figure III.13: Spectres RMN C^{13} expérimentaux de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3.	61

Liste des figures

- Figure III.14:** Spectres RMN C^{13} expérimentaux de HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6. 62
- Figure IV.1 :** Réduction du radical DPPH' par A-H, où (AH) est un composé capable de céder un H au radical DPPH. 66
- Figure IV.2 :** Présentation graphique du pourcentage d'inhibition du radical DPPH des molécules étudiées et des standards BHT et BHA. 66
- Figure IV.3:** Présentation des concentrations inhibitrices IC_{50} du radical DPPH exprimées en $\mu M/ml$, (valeur moyenne \pm S.D pour $n=3$) entre les molécules concernées et les standards BHT et BHA. 67
- Figure IV.4:** Représentation photographique de la réduction du radical ABTS. 68
- Figure IV.5:** Représentation graphique du pourcentage d'inhibition du radical ABTS des molécules synthétisées et des standards BHT et BHA. 68
- Figure IV.6 :** Représentation des concentrations inhibitrices IC_{50} d'ABTS exprimées en $\mu M/ml$, (valeur moyenne \pm S.D pour $n=3$) entre les molécules concernées et les standards BHT et BHA 69
- Figure IV.7:** Représentation photographique de la réduction du radical CUPRAC. 70
- Figure IV.8:** Représentation graphique de la capacité de réduction du cuivre (CUPRAC) par les molécules étudiées et les standards BHT et BHA. 70
- Figure IV.9 :** Représentation des concentrations inhibitrices IC_{50} du CUPRAC exprimées en Mm/ml , (valeur moyenne \pm S.D pour $n=3$) entre les molécules concernées et les standards BHT et BHA 72
- Figure IV.10 :** Représentation photographique de la réduction du radical FRAP. 72
- Figure IV.11 :** Représentation graphique de la capacité de réduction du FRAP par les molécules synthétisées et le standard acide ascorbique 72
- Figure IV.12 :** Représentation des concentrations inhibitrices IC_{50} du FRAP exprimées en Mm/ml , (valeur moyenne \pm S.D pour $n=3$) entre les molécules concernées et le standard acide ascorbique. 73
- Figure IV.13:** Représentation graphique du protocole de réduction du phenanthroline 74
- Figure IV.14 :** Représentation graphique de la capacité de réduction du phénantroline. 74

Liste des figures

- Figure IV.15 :** Représentation des concentrations inhibitrices IC_{50} du phénanthroline exprimées en Mm/ml, (valeur moyenne \pm S.D pour $n=3$) entre les molécules concernées et les standards BHA et BHT. 75
- Figure IV.16 :** Pourcentages d'inhibition de l'activité d'acétylcholinestérase par les hydrazones synthétisés et le standard Galantamine. 78
- Figure IV.17 :** Pourcentages d'inhibition de l'activité du butyrylcholinestérase par les hydrazones synthétisés et le standard Galantamine. 79
- Figure IV.18** Valeurs IC_{50} (μ M/ml) des dérivés d'hydrazones de l'activité Anti-Alzheimer 80
- Figure IV.19 :** Inhibition de α -amylase (activité antidiabétique) par les hydrazones synthétisés et le standard acarbose 81
- Figure IV.20 :** Valeurs de l' IC_{50} (μ M/ml) des dérivés d'hydrazones contre l'enzyme d'alpha amylase. 81
- Figure IV.21:**Inhibition de l'uréase par les hydrazones synthétisés et le standard Thiourée 82
- Figure IV.22:** Valeurs de l' IC_{50} (μ M/ml) des dérivés d'hydrazones contre l'uréase. 83
- Figure IV.23 :** Histogrammes du pourcentage de l'activité anti-inflammatoire des hydrazones synthétisés et diclofénac sodique en fonction de la concentration C à T= 72 °C. 84
- Figure IV.24 :** IC_{50} d'inhibition de l'activité anti-inflammatoire des hydrazones et le standard diclofénac sodique. 85
- Figure IV.25 :** Valeurs du facteur de protection solaire (FPS) des hydrazones synthétisés. 86
- Figure IV.26:** Représentation photographique de l'expérience de cytotoxicité des larves d'arthimias. 90
- Figure IV.27 :** Test de létalité des larves d'artimias des dérivés d'hydrazones synthétisés. 91
- Figure V.1 :** Structures moléculaires optimisées de HYDZ-1, HYDZ-2, HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6. 93
- Figure V.2 :** Distributions de la densité des orbitales moléculaires frontières pour les dérivés hydrazones synthétisés. 95
- Figure V.3 :** Cartes du potentiel électrostatique moléculaire des dérivés hydrazones 100
- Figure V.4:** Structure cristalline de la protéase principale du SARS-CoV-2. 108

Liste des figures

Figure V.5 : Visualisation des meilleures configurations de fixation des ligands étudiés au sein du site actif de la protéase principale du SRAS-CoV-2. 110

Figure V.6: Diagrammes d'interaction 3D et 2D de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5, HYDZ-6, chloroquine et hydroxychloroquine avec la protéase principale du SRAS-CoV-2. 113

Figure V.7: Interaction des ligands étudiés avec leurs cartes de surface moléculaire à l'intérieur du site actif. 116

Liste des tableaux

Tableau II.1 : Catégories de protection affichées sur les produits solaires en fonction des facteurs de protection mesurés, selon la Recommandation de la Commission Européenne 2006.	34
Tableau II.2 : Fonction normale du produit utilisé dans le calcul de la SPF [26].	35
Tableau III.1 : Propriétés physicochimiques des réactifs utilisés.	38
Tableau III.2 : Rapports frontaux des produits de départ et des composés synthétisés analysés par CCM.	43
Tableau III.3 : L'aspect, couleurs et rendements des composés synthétisés.	44
Tableau III.4 : Tests de solubilité des hydrazones synthétisés dans quelques solvants.	45
Tableau III.5 : Températures de fusion des produits de départ et des produits synthétisés.	46
Tableau III.6 : Fréquences vibrationnelles théoriques et expérimentales sélectionnées de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3.	52
Tableau III.7 : Fréquences vibrationnelles théoriques et expérimentales de vibrations sélectionnées de HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6.	53
Tableau IV.1 : Détermination de l'activité antioxydante des composés synthétisés par DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP et Phenanthroline essai.	77
Tableau IV.2 : Comparaison du facteur de protection solaire (FPS) obtenus des dérivés hydrazones synthétisés.	87
Tableau IV.3 : Les diamètres d'inhibition antibactérienne en mm.	88
Tableau V.1 : Descripteurs de réactivité chimique globale pour les dérivés hydrazones calculés par la méthode DFT à B3LYP/6-311 ++ G(d,p).	96
Tableau V.2 : Charges atomiques NBO de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3 calculées par la méthode DFT à B3LYP/6-311++G(d,p).	101
Tableau V.3 : Charges atomiques NBO de HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6 calculées par la méthode DFT à B3LYP/6-311++G(d,p).	103
Tableau V.4 : Paramètres physico-chimiques et pharmacocinétiques importants pour une bonne biodisponibilité orale des composés synthétisés (ADME-T).	107
Tableau V.5 : Répartition énergétique des hydrazones étudiées entre les forces de van der Waals, les liaisons hydrogènes et les interactions électrostatiques.	117

Listes des Acronymes et Symboles

Liste des acronymes et symboles

A : Affinité électronique.

Å : Angström.

A_{0.5} : La concentration du produit testé correspondante à une absorbance égale de 0,5.

Abs : L'absorbance du produit testé.

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).

ACAR : Acarbose.

AChE : L'enzyme d'acétylcholinestirase.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AD : Antidiabétiques

AINS : Antiinflammatoires non stéroïdiens.

AIS : Antiinflammatoires stéroïdiens.

ATCC : American Type Culture Collection.

ADME-T : Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination et Toxicité.

B3LYP : Becke Three Paramaters Lee-Yang-Parr.

BChE : L'enzyme de butyrylcholinestérase.

BHA : 3-tertiobutyl-4- hydroxyanisole.

BHT : 3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène.

BSA : Albumine du sérum bovin.

C : Concentration.

CAT : Capacité antioxydante totale.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

ChEs : Les cholinestérases.

CRBT : Centre de Recherche en Biotechnologie.

CUPRAC : Cupric Reducing Antioxidant Capacity.

Listes des Acronymes et Symboles

d : doublet.

Da : Dalton.

d_e : distances externes

DFT : Density Functional Theory ou La théorie de la fonctionnelle de la densité électronique.

d_i : distances internes.

DL: Drug-likeness.

DL50 : dose létale 50.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DMSO-*d*₆:dimethyl sulfoxide-d₆.

DO: Densité optique.

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil.

DTNB : 5,5'-Disulfanediylobis(2-nitrobenzoic acid)..

EtOH : Ethanol.

MeOH : Methanol

FMO : orbitales moléculaires frontières.

FRAP : Pouvoir Antioxydant Réducteur Ferrique (Ferric Reducing Antioxidant Power).

GALANT : galantamine.

GENT : Gentamycine.

GI : Absorption gastro-intestinale.

HYDZ-1 :Acide [4-{(2E)-2-[(thiophène-2-yl)méthylidène]hydrazinyl}] benzoïque

HYDZ-2 :Acide [4-{(2E)-2-[(thiophène-3-yl)méthylidène]hydrazinyl}] benzoïque

HYDZ-3 :Acide [4-{(2E)-2-[(furan-2-yl)méthylidène]hydrazinyl}] benzoïque

HZ-1= HYDZ-4 :(2E)-1-(4-méthylphényl)-2-[(thiophène-2-yl)méthylidène]hydrazine

HZ-2= HYDZ-5 :(2E)-1-(4-méthylphényl)-2-[(thiophène-3-yl)méthylidène]hydrazine

HZ-3= HYDZ-6 :(1E)-1-[(furan-2-yl)méthylidène]-2-(4-méthylphényl)hydrazine

Listes des Acronymes et Symboles

H. pylori : la bactérie de *Helicobacter pylori*.

HAT : Hydrogen Atom Transfert.

HBA : Nombre d'accepteurs de liaison hydrogène.

HBD : Nombre de donneurs de liaisons hydrogène .

HOMO : Orbitale Moléculaire Haute Occupée.

A.C : acide ascorbique

Hz : Hertz.

I : Energie d'ionisation.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50.

IR : La spectroscopie infrarouge.

IRRI : Irritant.

J : constantes de couplage.

KI : Inhibiteur de l'enzyme Kinase.

LEMMC : le Laboratoire d'Electrochimie des Matériaux Moléculaires et Complexes.

Log P : Logarithme de la partition composée.

Log-S : Coefficient de solubilité.

LUMO : Orbitale Moléculaire Basse Occupée.

m : multiplet.

MeOH : méthanol.

MEP : Surfaces du potentiel électrostatique moléculaire.

MH : Gélose Mueller-Hinton.

MUT : Mutgénique.

MV : Volume moléculaire.

MM : Masse moléculaire.

N.atom : le nombre d'atome.

Listes des Acronymes et Symboles

NBO charge : Natural Bond Orbital

nrot : Nombre de liaisons rotatives.

NV : Nombre de violation.

OMS : Organisation mondiale de la Santé.

PDB : La banque de données sur les protéines.

phenanthroline : Benzo[b][1,10]phenanthroline-7-ol.

PI : Inhibiteur des enzymes Protéases.

ppm : partie par million.

q : quadruplet.

QSAR: Quantitative structure – activity relationship.

Rf : Le rapport frontal.

RMN (1D et 2D) : Résonance Magnétique Nucléaire (mono- et bidimensionnelle).

R1 :4-Hydrazinobenzoic acid

R2 :4- methylphenyl) hydrazine

S1 :2-thiophénecarboxaldehyde

S2 :3-thiophénecarboxaldehyde

S3 :2-Furaldehyde

S : Douceur moléculaire.

s : singulet.

SD : Erreur standard (ou erreur type).

SPF : facteur de protection solaire ou (Sun Protection Factor).

t : triplet.

Tf : Températures de fusion.

TMS : tétraméthylsilane.

TPSA : Superficie topologique de la surface polaire.

Listes des Acronymes et Symboles

Trp: Tryptophane.

TUMO : tumorigenique.

UV-Vis : La spectrophotométrie d'absorption ultra-violette visible.

VHB : le virus de l'hépatite B.

VIH : le virus de l'immunodéficience humaine.

δ : Les déplacements chimiques.

ΔE_{GAP} : Gap énergétique.

ΔG° : Energie libre de Gibbs.

η : Dureté moléculaire.

μ : Potentiel chimique électronique.

χ : Electronegativité.

ω : Indice d'électrophilie.

Sommaire

Sommaire

Remerciement.....	i
Dédicace.....	iv
Liste des figures.....	v
Liste des tableaux.....	x
Liste d'acronymes et symboles.....	xiii
Introduction générale	1
CHAPITRE I : GENERALITE SUR LS HYDRAZONESET LEURS APPLICATIONS	
I.1. Introduction.....	4
I.2. Définition.....	4
I.3. Origine	5
I.3.1. Naturel	5
I.3.2. Synthétique	5
I.4. Méthodes de synthèse	6
I.4.1. Condensation d'un carbonyle et d'une hydrazine.....	6
I.4.2. Réaction de Japp-Klingemann	6
I.4.3. Addition nucléophile sur un sel de diazonium.....	7
I.5. La réactivité générale des hydrazones	8
I.5.1. Comportement électrophile.....	8
I.5.2. Comportement nucléophile.....	9
I.5.3. Tautomérie	9
I.5.4. L'auto-oxydation	9
I.5.5. L'isomérisation géométrique.....	10
I.6. Applications des hydrazones	10
I.6.1. En corrosion.....	11
I.6.2. En Industrie.....	11
I.6.3. En biologie.....	12
I.6.3.1. L'activité antioxydante	12

Sommaire

I.6.3.2. Activité anticholinestérase	14
I.6.3.3. Activités inhibitrice d'alpha-amylase	16
I.6.3.4. Activité inhibitrice d'uréase	18
I.6.3.5. Activité dénaturation de l'albumine (anti-inflammatoire).....	19
I.6.3.6. Activité antisolaire : Facteur de protection solaire (SPF).....	20
I.6.3.7. L'activité antibactérienne	21
I.6.3.8. L'activité antivirale : anti-covid-19	22
I.7. Conclusion	23

CHAPITRE II: méthodes expérimentales

II.1. Introduction	24
II.2. Méthodes de caractérisation physicochimiques et spectrales.....	24
II.2.1. Chromatographie sur couche mince CCM	24
II.2.2. Point de fusion.....	24
II.2.3. Caractérisation spectroscopie	24
II.2.3.1. Spectroscopie UV-Vis	24
II.2.3.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR).....	24
II.2.3.3. Résonance magnétique nucléaire (RMN).....	25
II.3. Méthodes d'évaluation des activités biologiques	25
II.3.1. L'activité antioxydante.....	25
II.3.1.1. Réactifs et matériels	26
II.3.1.2. DPPH.....	26
II.3.1.3. Pouvoir de piégeage du radical ABTS : ABTS scavenging	27
II.3.1.4. Capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC).....	27
II.3.1.5. Capacité de réduire l'ion ferrique (Pouvoir réducteur ou FRAP)	28
II.3.1.6. Phenanthroline	28
II.3.2. Activité anti-enzymatiques.....	29

Sommaire

II.3.2.1. Réactifs et matériels	29
II.3.2.2. Activité anticholinestérase.....	30
II.3.2.3. Activité inhibitrice de l' α - amylase	31
II.3.2.4. Inhibition de l'uréase.....	32
II.3.3. Activité anti-inflammatoire in vitro (Test de la dénaturation thermique des protéines)	32
II.3.3.1. Réactifs et matériels	33
II.3.3.2. Mode opératoire.....	33
II.3.4. L'activité de protection solaire (SPF).....	34
II.3.5. Activités Antimicrobiennes	35
II.3.5.1. Réactifs et matériels	35
II.3.5.2. Mode opératoire.....	36
II.4. Conclusion.....	37

CHAPITRE III: Synthèse et caractérisation

III.1. Introduction.....	38
III.2. Réactifs utilisés	38
III.3. Synthèse organiques des molécules	39
III.3.1. Synthèse de Acide [4-{(2E) -2-[(thiophène -2- yl) méthylidène]hydrazinyl}] benzoïque (HYDZ-1)	39
III.3.2. Synthèse de Acide [4-{(2E) -2-[(thiophène -3 yl) méthylidène]hydrazinyl}] benzoïque (HYDZ-2)	39
III.3.3. Synthèse de l'Acide [4-{(2E) -2-[(furan -2- yl) méthylidène]hydrazinyl}] benzoïque (HYDZ-3).....	40
III.3.4. Synthèse de (2E) -1-(4-méthylphényl-2-[(thiophén -2- yl) méthylidène] hydrazine (HYDZ-4).....	40
III.3.5. Synthèse de (2E) -1-(4-méthylphényl) -2-[(thiophène -3 yl) méthylidène]hydrazine (HYDZ-5).....	41
III.3.6. Synthèse de (1E) -1[(furan -2- yl) méthylidène] -2-(4 méthylphényl) hydrazine (HYDZ-6).....	41

Sommaire

III.3.7. Mécanisme réactionnel.....	42
III.4. Caractérisation des produits synthétisés.....	42
III.4.1. Propriétés physiques des produits synthétisés.....	42
III.4.1.1. Analyse chromatographique par CCM.....	42
III.4.1.2. Aspect , couleur et rendement.....	43
III.4.1.3. Solubilité.....	44
III.4.1.4. Point de fusion.....	46
III.4.2. Propriétés spectroscopiques des produits synthétisés.....	46
III.4.2.1. Caractérisations par spectroscopie UV-Vis.....	46
III.4.2.2. Caractérisations par spectroscopie infrarouge (FT-IR).....	49
III.4.2.3. Analyse par la spectrométrie de résonance magnétique RMN.....	57
III.5. Conclusion.....	64

CHAPITRE IV: ACTIVITE BIOLOGIQUES DES PRODUITS SYNTHETISES

IV.1. Introduction.....	65
IV.2. Evaluation in vitro de l'activité antioxydante.....	65
IV.2.1. Activité de piégeage de radical DPPH.....	65
IV.2.2. Test de piégeage des radicaux ABTS.....	67
IV.2.3. Test de l'activité réductrice de l'ion cuprique (CUPRAC).....	69
IV.2.4. Capacité des molécules synthétisées à réduire l'ion ferrique FRAP.....	72
IV.2.5. Activité antioxydante basée sur l'effet de la phénanthroline.....	73
IV.3. Activité anti-enzymatiques.....	77
IV.3.1. Activité anticholinestérase.....	77
IV.3.2. Activité inhibitrice de l' α - amylase.....	80
IV.3.3. Evaluation de l'activité anti-uréase.....	82
IV.3.4. Évaluation de l'activité antiinflammatoire.....	83
IV.3.5. L'activité de protection solaire SPF.....	85
IV.3.6. Evaluation des propriétés antimicrobiennes.....	87

Sommaire

IV.3.7. Evaluation la cytotoxicités des molécules par les larves (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>)	89
IV.4. Conclusion	91
CHAPITRE V: DFT ET MOLELISATION MOLECULAIRE	
V.1. Introduction	92
V.2. Calculs de chimie quantique par la méthode DFT	92
V.2.1. Résultats des calculs de chimie quantique	93
V.2.1.1. Propriétés structurelles et électroniques	93
V.2.2. Analyse des orbitales moléculaires frontières (FMO)	94
V.2.3. Surfaces de potentiel électrostatique moléculaire (MEP)	98
V.2.4. NBO charge	100
V.3. Etude qualitative de système ADME/T	104
V.3.1. Introduction	104
V.3.2. Analyse des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et Drug-like	104
V.3.2.1. Poids moléculaire	104
V.3.2.2. Coefficient de partage (octanol-water) log P	105
V.3.2.3. Superficie topologique de la surface polaire (TPSA)	105
V.3.2.4. Nombre de donneurs de liaisons hydrogène (HBD)	105
V.3.2.5. Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (HBA)	105
V.3.2.6. Solubilité Log S	105
V.3.3. Résultats des propriétés physicochimiques (drug-likeness)	105
V.4. Docking moléculaire	108
V.4.1. Logiciel et protocole utilisées	108
V.4.2. Résultats de dokcing moléculaire	110
V.5. Conclusion	118
CONCLUSIONS GENERALES	119
Résumé	

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction générale

Les hydrazones sont des composés facilement disponibles et très utiles en synthèse organique. Ils peuvent participer à un grand nombre de réactions, y compris des réactions d'addition radicalaires, nucléophiles ou électrophiles. Ils ont des rôles importants en tant que précurseurs de nombreux hétérocycles azotés dans la synthèse d'hétérocycles (La synthèse Fischer-indole) [1].

Depuis la première synthèse des dérivés hydrazones, plusieurs méthodes de synthèse de ces composés ont été développées. Dans ce contexte, trois voies principales ont été adaptées et développées :

- ✓ Réduction de Wolff-Kishner : Le groupe carbonyle est condensé avec une hydrazine pour former une hydrazone [2];
- ✓ Réaction de Japp-Klingemann : Réaction entre β -cétoesters ou β -cétoacides permettant la formation des sels de méthylène et de diazonium [2] ;
- ✓ Addition nucléophile sur un sel de diazonium : Le groupe de Takamura a décrit la réaction d'un α -diazo ester et d'une base permettant la formation d'une alkylhydrazone [3].

Les hydrazones sont une classe importante de composés qui ont reçus un intérêt thérapeutique depuis des années, pour le développement de nouveaux médicaments [4,5]. Leurs structures chimiques contiennent deux atomes d'azote liés de nature différente et une double liaison C=N dérivant de cétones ou d'aldéhydes, conjuguée avec une seule paire d'électrons d'azote terminal [6]. Ces fragments structuraux sont principalement responsables à des propriétés chimiques et physiques des hydrazones [7]. Ces dérivés ont également suscité d'un grand intérêt dans le domaine de la synthèse organique surtout les produits finis ou intermédiaires [8].

En vu de l'importance des hétérocycles et leurs analogues d'une part et des dérivés hydrazones d'autre part, nous avons synthétisé et caractérisé une série de six (06) dérivés hydrazones hétérocycliques. Ensuite, avant d'effectuer les différentes applications biologiques sur leurs aspects pharmacologiques principaux, on a introduit le calcul ADME-T (adsorption, distribution, métabolisme, excrétion et la toxicité) qui est important pour estimer la pharmacocinétique des composés synthétisés et permet d'étudier la conception de nouveaux composés médicamenteux sans aucune toxicité.

Introduction générale

En outre, on a effectué une étude théorique sur les propriétés structurales et électroniques des composés synthétisés par la Théorie de la Fonctionnelle de la Densité (DFT). En plus, nous avons réalisé une étude *in silico* (docking moléculaire) de l'évaluation de l'activité inhibitrice des composés synthétisés vis-à-vis la protéase principale du SARS-CoV-2 en déterminant les différents types d'interactions formées entre les ligands testés et l'enzyme ciblée.

Par conséquent, notre manuscrit est subdivisé en cinq chapitres:

- Dans le premier chapitre, nous présentons des notions générales sur les hydrazones, leurs dérivées, leurs méthodes de synthèse et leurs domaines d'applications, notamment leurs activités antioxydante, anti-enzymatique, anti-inflammatoire et antibiotique...etc.

- Le deuxième chapitre présente les procédures expérimentales appliquées à la synthèse et les méthodes d'analyse physico-chimiques et structurales utilisées pour caractériser les molécules synthétisées, ainsi que les principes des différentes méthodes analytiques utilisées pour évaluer l'activité antioxydante, anti-Alzheimer, anti-diabétique, anti-ulcère, solaire, anti-inflammatoire, cytotoxicité et activité antibactérienne des molécules synthétisées *in vitro*.

- Le troisième chapitre regroupe les résultats de la synthèse et la caractérisation des dérivés hydrazones préparés selon la réaction de condensation.

- Dans le quatrième chapitre nous avons exposé les résultats et discussion de l'étude des propriétés biologiques des hydrazones synthétisées.

- Le cinquième chapitre regroupe les résultats et discussion de la modélisation moléculaire effectuée sur les hydrazones synthétisés, notamment les calculs de la chimie quantique par la théorie de la fonctionnelle de la densité(DFT), les calculs du docking moléculaire et le calcul ADME-T.

On terminera ce travail de thèse par une conclusion générale donnant un récapitulatif sur les principaux résultats obtenus au cours de ce travail, ainsi que les perspectives qui feront l'objectif d'ultérieurs travaux.

CHAPITRE I :

GENERALITES SUR LES

HYDRAZONES ET LEURS

APPLICATIONS

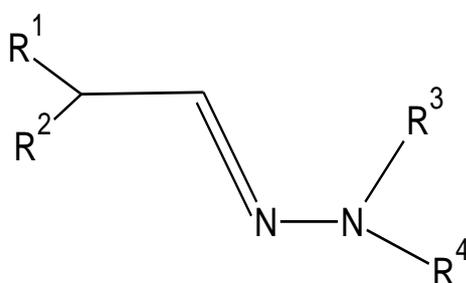
1.1. Introduction

Les dérivés de l'hydrazone sont une classe de molécules organiques peuvent être utilisés comme éléments de base précieux pour la synthèse des produits et des matériaux bioactifs. A cet effet, les molécules à base d'hydrazone montrent un large éventail de propriétés biologiques tel que : agents anticancéreux [1], antalgique [2], anti convulsant [3], anti-inflammatoires [4], anti-Alzheimer [5]... etc.

1.2. Définition

Les hydrazones sont une classe spéciale de la famille des bases de Schiff (imines).Elles Sont des composés polyvalents ayant une structure de base ($R^1R^2C=N-NR^3R^4$) [6]. Ces hydrazones sont des composés organiques très faciles en synthèse organique, obtenues par la condensation d'une hydrazine ou dérivés d'hydrazine avec une cétone ou un aldéhyde dans lesquels l'oxygène a été remplacé par le groupe $=N-NH_2$ [7].

Les hydrazones contiennent donc deux atomes d'azote connexes de nature différente et une double liaison $C=N$, qui est conjuguée avec une paire d'électrons célibataires de l'atome d'azote terminal. Les centres actifs de l'hydrazone, (carbone et l'azote), sont principalement responsables des propriétés physiques et chimiques des hydrazones (Figure I.1).



FigureI.1: Structure de base des hydrazones [8].

Les deux atomes d'azote du groupe hydrazone sont nucléophiles, bien que l'azote amino soit plus réactif. L'atome de carbone de l'hydrazone a quant à lui à la fois un caractère électrophile et nucléophile[9]. Elles permettent et peuvent participer à un grand nombre de réactions en synthèse organique notamment en synthèse hétérocyclique. Elles sont également très utiles pour l'interconversion des groupes fonctionnels et trouvent aussi une application en biologie et en pharmacie. Elles constituent aussi une famille de composés intéressants dans la conception des médicaments en qualité d'agents anticancéreux, antiviraux, antibactériens et antifongiques.

I.3. Origine

I.3.1. Naturels

Les hydrazones sont largement présentes dans le règne végétal. Deux exemples sont présentés :

- **La toxine hémolytique** : Gyromitrine qui est produite par une espèce de champignon toxique (la fausse morille) [10].
- **Les alcaloïdes** : sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes qui contiennent au moins une fonction hydrazone qui peuvent être aussi isolés à partir d'une éponge marine [11] (Figure I.2).



Fausse morille



Eponge marine

Figure I.2. Exemples de sources naturelles d'hydrazones.

I.3.2. Synthétiques

Les travaux de recherche relatifs à la synthèse des hydrazones sont diversifiés, et l'obtention d'une fonction hydrazone ciblée est possible en choisissant des conditions de réaction appropriées qui s'effectuent au laboratoire [12-14].

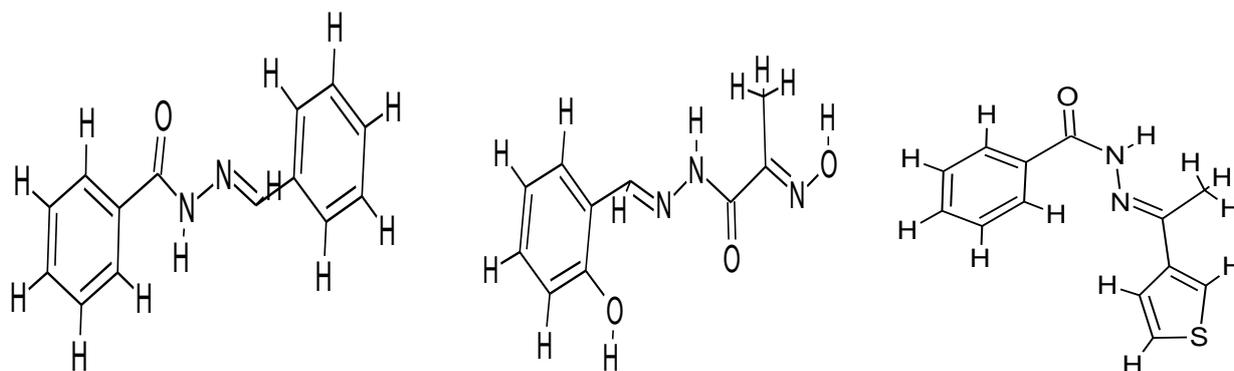


Figure I.3. Exemples d'hydrazones synthétisés.

1.4. Méthodes de synthèse

1.4.1. Condensation d'un carbonyle et d'une hydrazine

La méthode la plus connue pour synthétiser une hydrazone est la condensation d'une hydrazine avec un carbonyle, un aldéhyde ou une cétone.

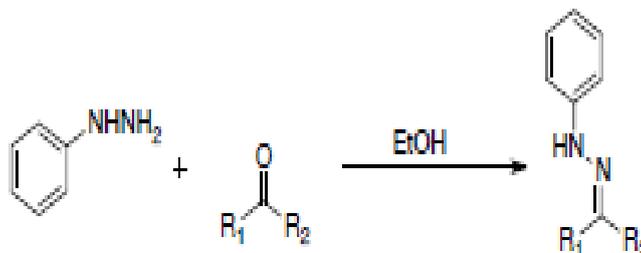


Figure I.4 : Synthèse d'hydrazone par condensation sur un carbonyle.

Dans ce contexte ,plusieurs dérivés hydrazone sont été synthétiséen se basant sur cette méthode tel que :*Calinescu et al.* ont préparé le benzothiazol-2-yl hydrazone conformément à la méthode de Katz[15], par la réaction de condensation de l'aldéhyde salicylique avec 2-hydrazinobenzothiazole. *Bessy Raj et al.* [16], ont synthétisé une série de nouveaux Arylehydrazones. Ces produits sont obtenus par condensation du 2-hydroxy-4-methoxy acétophénone avec le 4-nitro benzoyl hydrazine en présence du DMF. *Shang shan et al.*[17], ont synthétisé la Benzil-4-Nitrophényl hydrazone, en utilisant le 1.2-dicétone(benzile) avec le 4-Nitrophenylhydrazine.

1.4.2. Réaction de Japp-Klingemann

La synthèse de Japp-Klingemann est très utile pour la préparation de ces composés [2]. Il s'agit d'une réaction entre les β -cétoesters ou les β -cétoacides qui permet la formation des sels de méthylène et de diazonium activés. Cette addition est suivie d'une décarboxylation ou d'une perte des groupes acides carboxyliques(Figure I.5).

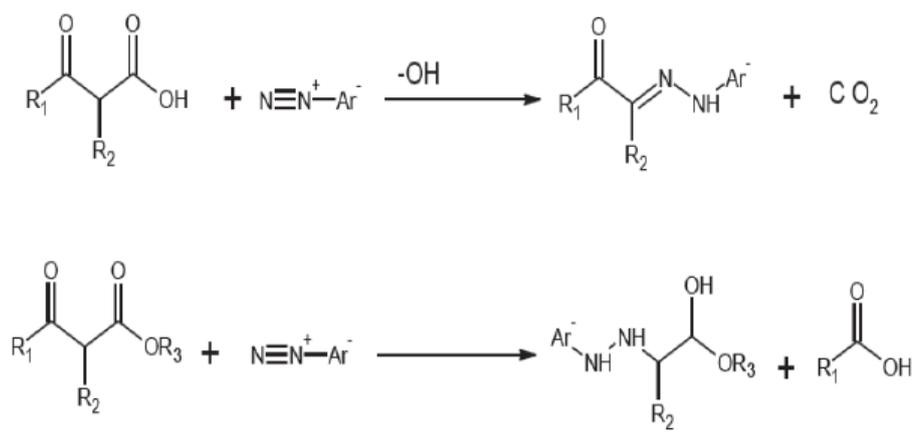


Figure I.5 : Synthèse de Japp-Klingemann.

Cependant, cette réaction nécessite des β -cétoesters comme réactifs. Cette synthèse a été retenue car elle permet de nombreuses applications synthétiques. Par exemple, le groupe de Pete a utilisé cette réaction pour la coupler avec la cyclisation de Fischer pour obtenir de l'indole [18]. Une hydrazone peut se former si le β -cétoesters est mis en présence d'un sel de diazonium.

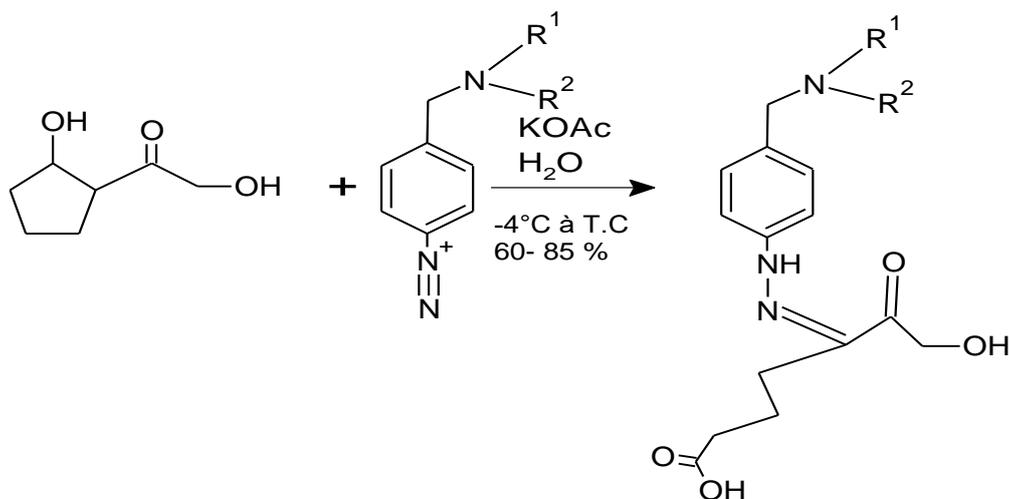


Figure I.6 :Exemple de la synthèse de Japp-Klingemann.

Comme le montre cet exemple, cette réaction est très utile et tolère les réactifs de fonctionnalisation. Cependant, une voie alternative à la synthèse d'hydrazone a été développée en ajoutant des nucléophiles aux composés de diazonium.

I.4.3. Addition nucléophile sur un sel de diazonium

En 1973, le groupe de Takamura a décrit la réaction d'un α -diazo ester comme une base permettant la formation d'un alkyldiazone [19]. Dans cet exemple, le butyllithium se comporte comme un nucléophile et s'additionne sur le diazo. De titre exemple : *Keil et*

Ried[20], ont publié les premiers résultats des hydrazones qui peuvent utilisées comme nucléophiles dans la réaction de Mannich.

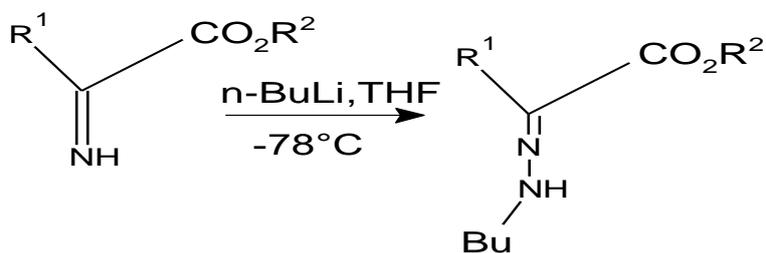


Figure I.7 : Synthèse des hydrazones par addition de butyllithium sur α -diazo ester.

I.5. La réactivité générale des hydrazones

Les hydrazones contiennent deux atomes d'azote liés de nature différente 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 à 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 est à la fois électrophile et nucléophile (Figure I.8) [21].

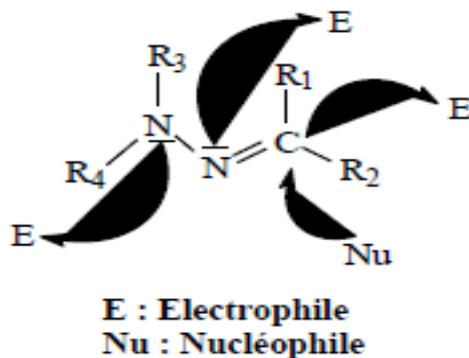


Figure I.8. Classification des centres de réactivité

I.5.1. Comportement électrophile

La réactivité électrophile des hydrazones est la plus connue et la plus développée. Cette propriété électronique permet la préparation de composés optiquement actifs. La présence du groupe C=N-NR₁R₂ dans la structure de l'hydrazone rend les atomes de carbone de l'azométhine électrophiles en raison de la polarisation de la double liaison C=N et nucléophiles en raison de la conjugaison du doublet non lié à l'azote terminal [22].

I.5.2. Comportement nucléophile

La nature nucléophile de l'hydrazone est présentée par l'atome d'azote terminal. Les hydrazones N-monosubstituées réagissent avec divers dérivés acides tels que les halogénures d'acyle par l'intermédiaire d'atomes d'azote libres, et leurs protons sont facilement remplacés pour former des hydrazones N-acyle. La N-acylation des hydrazones est particulièrement aisée sous l'action d'anhydrides d'acides ou de chlorures d'acides [23].

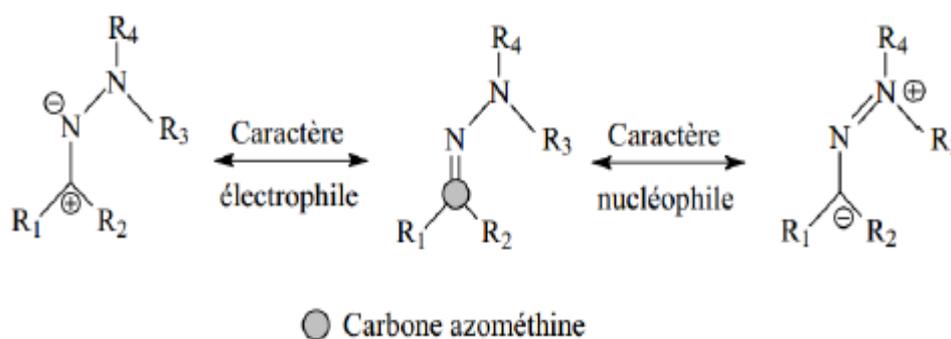


Figure I.9. Caractères électroniques des hydrazone

I.5.3. Tautomérie

D'après *Sunita et al.* [24], le benzil isonicotinamide hydrazone (BINH) a été synthétisé à partir d'une réaction entre des quantités équimolaires de benzil et d'isoniazide en présence de l'éthanol comme solvant et de quelques gouttes d'acide acétique glacial comme catalyseur. Les hydrazones résultantes sont sous des formes d'équilibre céto-énol (tautomères) (forme céto et forme énol) (Figure I.10).

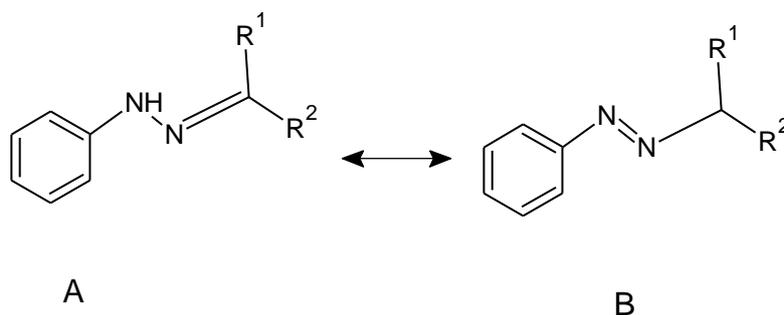


Figure I.10. Tautomérisation de la benzil isonicotinoyl hydrazone.

I.5.4. L'auto-oxydation

Le processus de transformation du groupement "azométhine" en "azo" correspond à un processus radicalaire, suite à une exposition à la lumière [25]. Ce phénomène explique la

sensibilité des hydrazones envers l'oxygène, et elles seront oxydées en peroxydes comme indiqué sur le Figure I.11 ci-dessous.

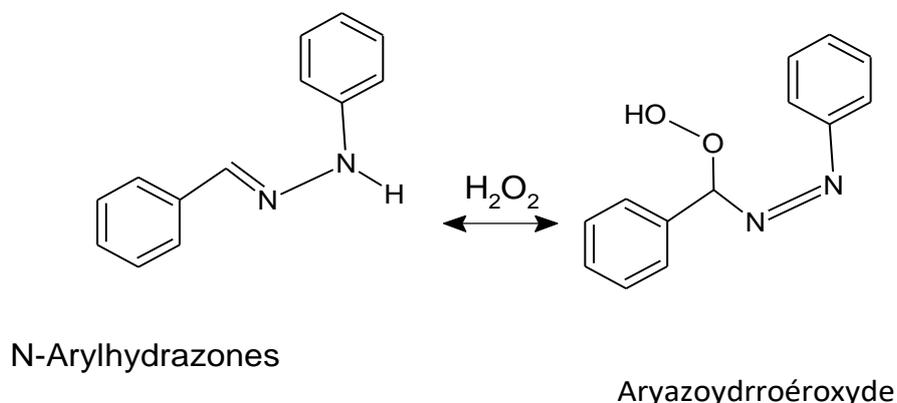


Figure I.11. Auto-oxydation de l'hydrazone.

I.5.5. L'isomérisation géométrique

L'exposition des hydrazones à la lumière entraîne un clivage homolytique de la liaison π C=N. La possibilité d'isomérisation géométrique existe dans les formes radicalaires intermédiaires générées par irradiation. La spectroscopie RMN peut être utilisée pour distinguer ces deux configurations. La structure de la N-arylhydrazone sur la figure illustre cette transition. (Figure I.12) [26].

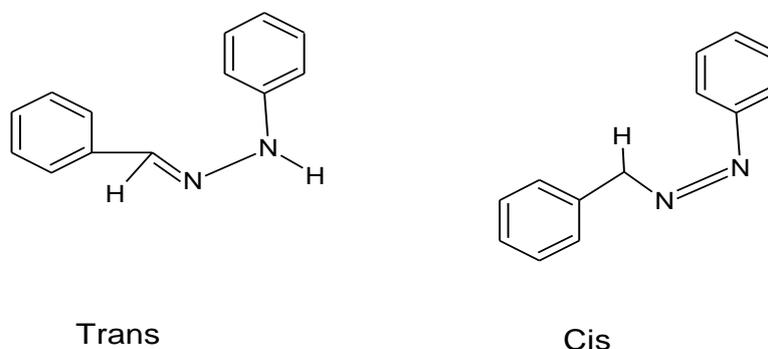


Figure I.12. Isomères configurationnels d'une N-arylhydrazone.

I.6. Applications des hydrazones

Les hydrazones sont utilisées dans de nombreux domaines, affectant presque tous les aspects de la vie quotidienne. Leur activité est liée à l'inertie relative de la liaison C=N, mais aussi à la similarité physique entre les groupements acides carboxyliques. Par contre, les applications utilisant des hydrazones synthétiques sont nombreuses. Nous présentons quelques domaines d'application ainsi que des travaux antérieurs cités dans la littérature.

I.6.1. En corrosion

L'utilisation d'inhibiteurs de corrosion est l'un des moyens les plus pratiques de prévenir la corrosion. Les hydrazones sont largement utilisées dans le développement de nouveaux agents anticorrosifs.

Chafai *et al.* ont synthétisé un dérivé d'hydrazone aromatique, la (E)-1-(3- nitrobenzylidène)-2-(p-tolyl)hydrazine (ENBPTH) et l'activité anticorrosive de l'hydrazone synthétisée a été évaluée en milieu acide sulfurique [27].

Lgaz *et al.* [28], ont synthétisé une série de nouveaux composés hydrazones, révèlent des activités d'inhibition élevées vis-à-vis la corrosion de l'acier N80 en milieu 15% HCl.

Khamaysa *et al.* ont synthétisé deux nouveaux inhibiteurs hydrazoniques, et ont étudié leurs propriétés d'inhibition de la corrosion sur l'acier de carbone API en milieu HCl [29].

Dafali *et al.* ont étudiés l'effet inhibiteur de trois dérivés de l'hydrazone, à savoir la 1,2-bis(pyrrol-2-ylidèneméthyl)hydrazine (HZ1), la 1,2-bis(thiophén-2-ylidèneméthyl)hydrazine (HZ2) et la 1,2-Bis(furyl-2-ylidèneméthyl)hydrazine (HZ3) pour la corrosion de l'acier doux en solution d'acide phosphorique par perte de poids [30].

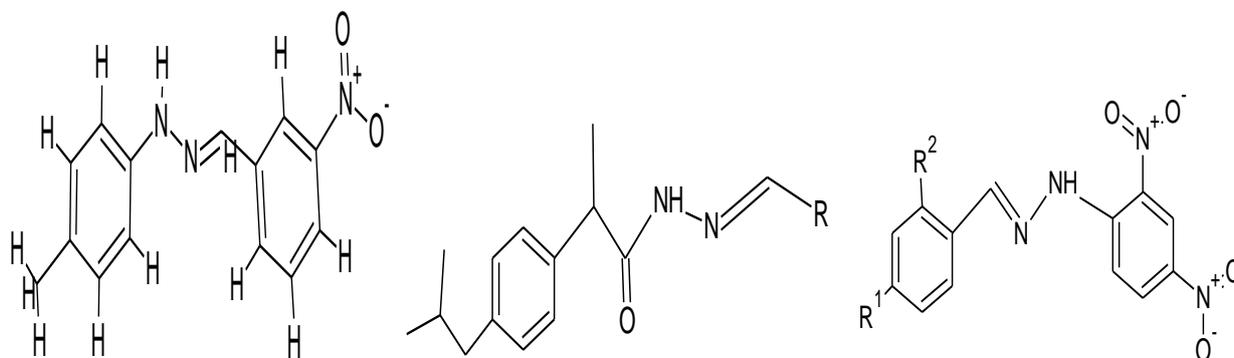


Figure I.13. Exemples de quelques hydrazones utilisées comme inhibiteurs de corrosion.

I.6.2. En Industrie

➤ **Comme agent potentiel dans le domaine de l'apoptose :**

Wall *et* ses collaborateurs ont synthétisé le dansylhydrazone pour développer un traceur à base de petites molécules pour l'imagerie de l'apoptose[31].

Elle est aussi utilisée pour l'imagerie apoptose *in vivo* qui est un outil potentiellement puissant pour le diagnostic des accidents vasculaires cérébraux, infarctus du myocarde et une gamme de troubles neurodégénératifs[32][33].

- **agents chélateurs et colorants** : Les hydrazones peuvent également être utilisées comme agents chélateurs pour réduire effets toxiques causés par des métaux tels que le fer et le cobalt [34-36].

I.6.3. En biologie

Les hydrazones sont présentes dans de nombreux composés biologiquement actifs et présentent un grand intérêt en raison de leurs diverses applications pharmacologiques. Cela a suscité l'intérêt des chercheurs pour la synthèse de divers dérivés d'hydrazone pour différentes activités biologiques, médicales et industrielles. Il a été démontré que les hydrazones possédaient, entre autres, des propriétés antimicrobiennes, Anti-mycobactériennes, antidépressives, anti-convulsivantes, anticancéreuse, vasodilatatrices, ...etc [37].

I.6.3.1. L'activité antioxydante

I.6.3.1.1 Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme le résultat d'un déséquilibre entre les espèces oxydantes et les systèmes de défense (antioxydants), soit une augmentation de la production d'oxydants et/ou une diminution des défenses antioxydantes. Ce déséquilibre peut avoir plusieurs sources. L'une des principales fonctions déclenchées par le stress oxydatif est la mort cellulaire programmée ou l'apoptose. En conséquence, des dommages irréversibles ont tendance à se produire et ses cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines, les lipides et l'ADN [38][39].

I.6.3.1.2 Antioxydants

Un antioxydant est une molécule naturelle ou synthétique capable d'inhiber l'oxydation d'autres molécules en intervenant à différentes étapes du processus d'oxydation. Cette définition fonctionnelle s'applique à un large éventail de substances, y compris les enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques qui empêchent les effets néfastes des radicaux libres dans les tissus, et sont donc censées de protéger contre le cancer, les maladies cardiaques et plusieurs autres maladies métaboliques [40]. Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine [41].

Il existe de nombreux antioxydants synthétiques, dont le squelette est généralement dérivé d'antioxydants naturels pour une utilisation pratique, et les antioxydants doivent répondre aux conditions suivantes : Ils ne doivent pas être toxiques, ils doivent être hautement actifs à des faibles concentrations (0.01-0.02%) et doivent être présents à la surface ou dans la

phase grasse de l'aliment. on peut citer à titre d'exemple : 3-nitrobenzylidène- hydrazino- acétyl-théophylline, son effet antioxydant étant très prononcé à des concentrations plus élevées [50].

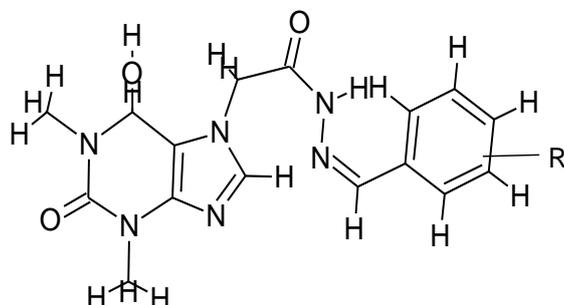
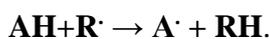


Figure I.14 : Structure chimique de 3-nitro-benzylidène-hydrazino-acétylthéophylline[42].

1.6.3.1.3 Mécanisme antioxydant

➤ *Transfert d'atome d'hydrogène*

L'antioxydant agit avec le radical libre par transfert d'un atome d'hydrogène via la rupture homolytique de la liaison



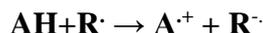
Les produits de cette réaction sont la forme réduite (RH) du radical néfaste, et le radical A• (forme oxydée de l'antioxydant). Bien que cette réaction donne naissance à un autre radical libre, celui-ci est généralement stabilisé par plusieurs facteurs tels que les effets de résonance, la conjugaison, et des liaisons hydrogènes [43]. Parmi ces activités qui réagit sure ce principe : le 1,1-diphénylpicrylhydrazyl (DPPH) et l'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS).

Mhaida et al. ont synthétisé des nouveaux hydrazones et évaluer leurs activités antioxydantes par DPPH et ABTS, on trouve qu'elles avoir des capacités antioxydantes supérieur aux celles des standards BHA et BHT pour quelque dérivés et comparables pour les autres dérivés [44].

Moussa et al. ont évalué l'activités antioxydante d'une série de dérivés hydrazones par des méthodes : DPPH et ABTS et ils concluent que toutes dérivés testés ont une capacité antioxydante supérieur aux standards BHA et BHT[45].

➤ *Transfert mono-électronique d'électron*

Dans ce mécanisme, un électron est transféré au radical libre R•. L'anion R⁻ et le cation radical A⁺ ainsi formé sont généralement des entités stables.



Le potentiel d'ionisation est le facteur déterminant du pouvoir piègeur d'électrons. Un potentiel bas implique un arrachement facile d'électron et en conséquence une réaction avec le radical libre [46]. Parmi ces activités qui réagit sue ce principe :FRAP (Ferric reducing-antioxidant power), CUPRAC (cupric reducing antioxidant capacity)et phénanthroline essais.

Demurtas *et al.* Ont évalué l'activités antioxydante des hydrazones par FRAP, on trouve qu'elles avoir des meilleurs capacités antioxydantes [47].

Khodja *et al.* ont synthétisé des nouveaux dérivés d'hydrazones et évalué leurs activités antioxydantes par CUPRAC, ils ont trouvé que les drivées testés ont une capacité antioxydante supérieur au standards BHA et comparable avec BHT [48]

➤ *Chélation des métaux de transition*

Le dommage oxydatif est un processus multiphasique impliquant des étapes d'initiation et de propagation de la chaîne radicalaire. Un mécanisme important de l'action antioxydante est la chélation des métaux de transition, empêchant ainsi la catalyse de la décomposition du peroxyde d'hydrogène via la réaction de type Fenton [54].

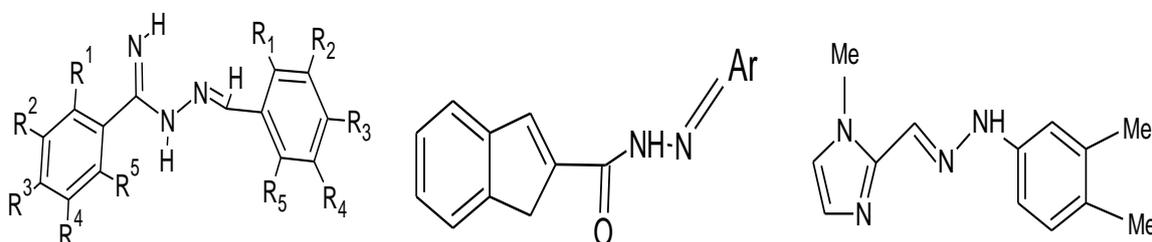


Figure 1.15 : Structures chimiques des hydrazones utilisés comme antioxydants.

I.6.3.2. Activité anticholinestérase

I.6.3.2.1 Définition de la maladie d'Alzheimer

La Maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative (perte innovative de neurones) dont le facteur de risque majeur est l'âge. Elle s'agit d'une atteinte neurodégénérative du système nerveux critique, caractérisée par une atteinte cognitive et comportementale d'installation et d'aggravation innovative.

La MA, connue pour être associée à la perte révolution de mémoire, est caractérisée par une faible concentration d'acétylcholine dans le cadre de l'hippocampe et le cortex du cerveau. Elle représente en résulte initialement une réduction significative de l'acétylcholine dans

l'hippocampe, puis dans les cortex frontaux, temporaux et pariétaux (régions fortement associées à la mémoire et aux fonctions cognitives) [49].

I.6.3.2.2 Traitement de la maladie d'Alzheimer

L'inhibition de l'acétylcholinestérase a été utilisée avec succès comme une cible thérapeutique pour traiter la MA, mais la résistance aux médicaments montre que la butyrylcholinestérase reste un sujet de préprofessionnel dans le traitement de la MA.

L'hypothèse cholinergique de la maladie d'Alzheimer a conduit à une thérapeutique courante et majeure. Cette approche est basée sur les tentatives de correction du déclin cognitif par une manipulation de la neurotransmission cholinergique. Dans les possibles stratégies pour augmenter l'activité cholinergique cérébrale, l'inhibition des cholinestérases est celle qui est la plus utilisée de la MA [50].

Les ChEs ont été classés en deux sorts, l'acétylcholinestérase (AChE) et la Butyrylcholinestérase (BChE), sur la base des spécificités de substrat et de l'inhibiteur des sensibilités distinctes.

L'acétylcholinestérase (AChE), est une protéine exprimée dans le système nerveux et sanguin des eucaryotes supérieurs, si au sein du système circulatoire, sa fonction principale au sein du système nerveux est parfaitement caractérisée. L'AChE est particulièrement importante au niveau des jonctions neuromusculaires.

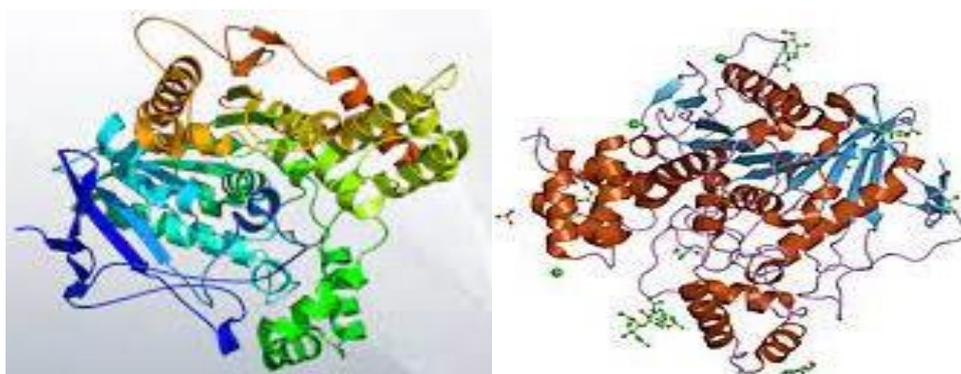


Figure I.16: Structures cristallines de l'AChE et la BChE.

La BChE, qui est également connue sous le nom de cholinestérase plasmatique ou pseudocholinestérase. La BChE pourrait, donc avoir des fonctions dans le système nerveux normal et pourrait aussi participer aux processus pathologiques dans les maladies neurodégénératives [51].

L'inhibition de ces enzymes va engendrer une diminution du turnover de l'acétylcholine et donc augmenter les effets cholinergiques et diminuer les symptômes de la maladie d'Alzheimer. Parmi ces inhibiteurs : dérivés de sulfonylhydrazone [52] et des dérivés d'isonicotinoyl hydrazone [53].

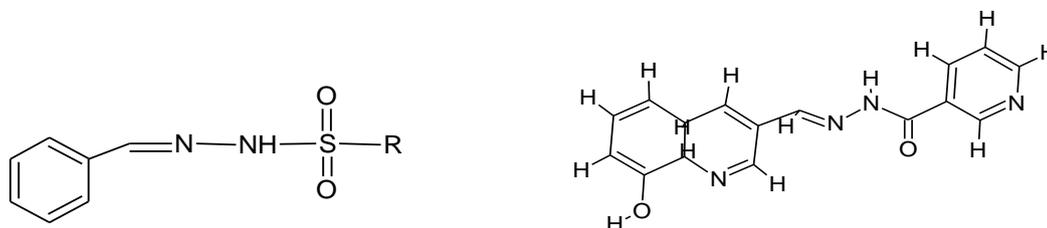


Figure 1.17 : Structures bidimensionnelles de certains hydrazones utilisées comme inhibiteurs d'AChE et de BChE.

I.6.3.3. Activités inhibitrice d'alpha-amylase

I.6.3.3.1 Définition

Comme toutes les enzymes, l'alpha-amylase est une macromolécule et une protéine globulaire [54]. C'est une enzyme ubiquitaire synthétisée dans tous les organismes et tous les êtres vivants [55]. C'est une endo-enzyme qui hydrolyse au hasard les liaisons osidiques de l'amylose, de l'amylopectine, de l'amidon et du glycogène à l'exclusion des liaisons terminales de ces chaînes. Elle provoque la libération du glucose, du maltose et surtout d' α -dextrines [56]entraînant une augmentation du pourcentage de sucre dans le sang, conduisant ainsi au diabète 2 (diabète non insulino-dépendant).

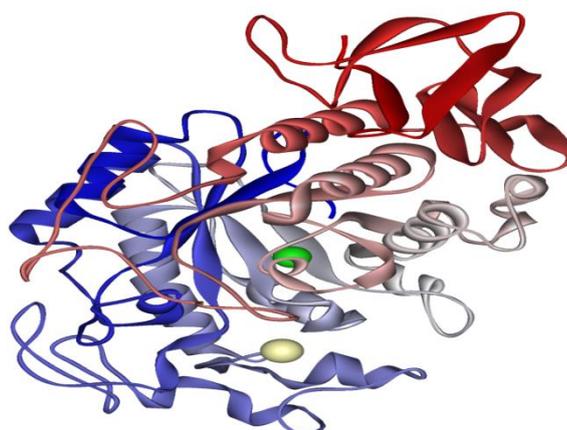


Figure 1.18 : Structure cristalline de l' α -amylase.

I.6.3.3.2 Différentes origines

Les α -amylases sont abondantes dans tous les règnes, elles ont été isolées par extraction à partir des tissus végétaux et animaux ou par fermentation par des cellules microbiennes.

- **Origine animale** : l' α -amylase animale est généralement extraite de la salive humaine et du pancréas des mammifères tels que les porcs et les veaux [57].
- **Origine végétale** : L'alpha-amylase joue un rôle important dans le métabolisme des glucides chez les plantes. Cette enzyme végétale est généralement extraite des céréales, notamment du blé, de l'orge, du son ou du riz [58]. Elle est souvent formée au cours de la germination des grains [59].
- **Origine microbienne** : on distingue les α -amylases fongiques et bactériennes. Les α -amylases fongiques diffèrent des amylases bactériennes par une inactivation par la température, un pouvoir élevé de saccharification et un pH optimal faible [60].

I.6.3.3.3 Mode d'action

En général, les alpha-amylases peuvent agir selon différents modes d'action. Selon les conditions (température, pH, taille et structure du substrat), l'enzyme peut utiliser l'un ou l'autre mécanisme et même une combinaison entre plusieurs mécanismes :

- **Attaque aléatoire** : n'importe quelle liaison α -(1-4) peut être hydrolysée à partir de l'extrémité réductrice. Elle provoque la formation de glucose, maltose et surtout du D-dextrine [61].
- **Attaque préférée** : l' α -amylase montre une préférence pour certaines liaisons glucosidiques dans le substrat [62].
- **Attaque multiple ou répétitive** : elle implique le déplacement de l'enzyme tout au long de la chaîne du substrat et l'enzyme hydrolyse les liaisons glucosidiques sans se dissocier du substrat [63].

Les inhibiteurs des α -amylase (acarbose, miglitol) : ralentissent l'absorption digestive des glucides complexes.

Meenakshi et al. ont synthétisé des nouveaux dérivés hydrazones et évalué leurs activité inhibitrice *in vitro* de l' α -amylase. Les molécules synthétisées présentent une activité inhibitrice d' α -amylase mieux que les standards[64].

Muhammad *et al.* Ont évalué l'activité inhibitrice de l' α -amylase par le *N*'-[(*E*)-(2,4 dihydroxyphenyl)methylidene]-3-méthyl-1-benzofuran-2-carbohydrazide [65].

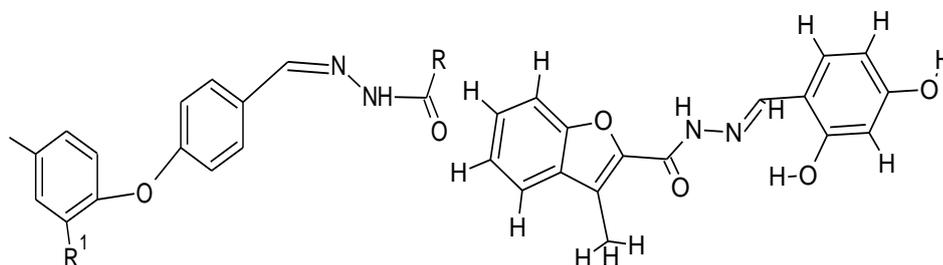


Figure I.19 : Structures bidimensionnelle deux dérivés hydrazones utilisés comme inhibiteurs d' α -amylase.

I.6.3.4. Activité inhibitrice d'uréase

I.6.3.4.1 Définition

L'uréase est une enzyme clé dont bénéficie la bactérie *Helicobacter pylori* en rendant possible sa persistance dans l'environnement acide de l'estomac, lors de l'infestation, elle est très active et accélère la transformation de l'urée en dioxyde de carbone et en ammoniac dans l'estomac. Cet ammoniac neutralise le micro-environnement de la bactérie, ce qui rendra le milieu plus accueillant à cette bactérie [66].

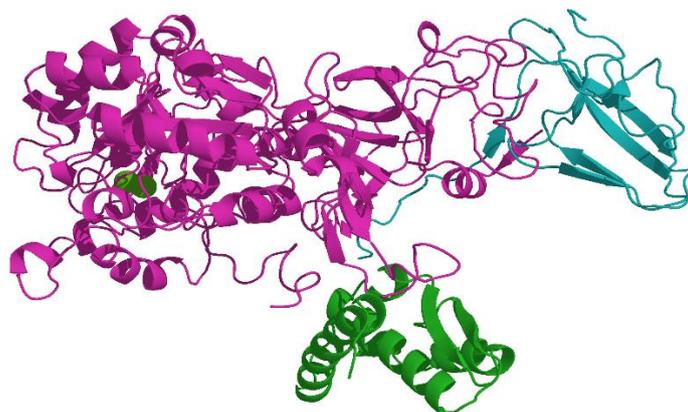


Figure 1.20 : Structure cristalline de l'uréase.

I.6.3.4.2 Inhibition de l'uréase

L'inhibition de l'activité de l'uréase avec des petites molécules présente un grand potentiel pour le traitement des maladies infectieuses. Les inhibiteurs d'uréase sont généralement obtenus à partir des diverses sources naturelles ou synthétisés en laboratoire [67,68].

L'utilisation des composés synthétiques comme inhibiteurs d'uréase est plus prometteuse car elle fournit une gamme d'analogues différents. Par exemple, il a été rapporté que les dérivés soufrés sont des inhibiteurs compétitifs de l'uréase. Tandis que les composés thiols contenant un groupe carboxyle anionique, par exemple :les dérivés phénolique hydrazonés [69].

Jana Abdullah *et al.* Ont synthétisé des nouveaux inhibiteurs d'uréase à base d'hydrazone et évalué leurs activité *in vitro* et *in silico*. Les résultats obtenus pour ces dérivés d'hydrazone montrent qu'elles possèdent une activité inhibitrice supérieure à celle du Thio-urées [70].

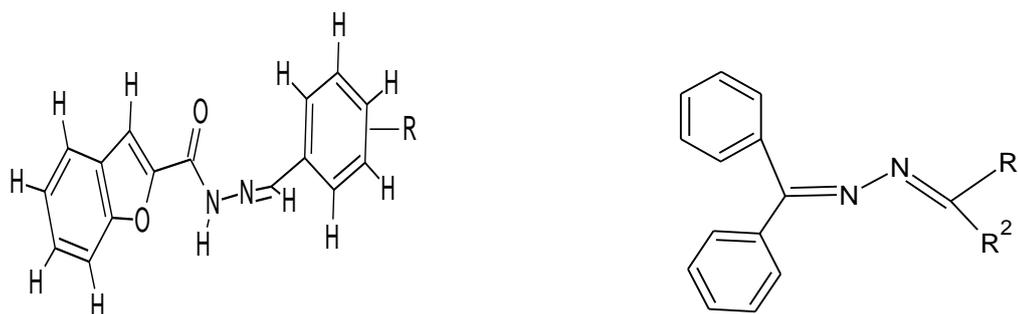


Figure I.21 : Structure bidimensionnelle de deux dérivés hydrazones utilisés comme inhibiteurs d'uréase.

I.6.3.5. Activité de dénaturation de l'albumine (anti-inflammatoire)

L'albumine représente à elle seule plus de la moitié de toutes les protéines plasmatiques, tandis que les 10 principales protéines représentent 90 % de toutes les protéines plasmatiques. Si l'on considère toutes les protéines majeures et intermédiaires, on finit par montrer que 22 protéines correspondent à 99% de la masse totale des protéines plasmatiques comme illustré sur la **figure I.21**.

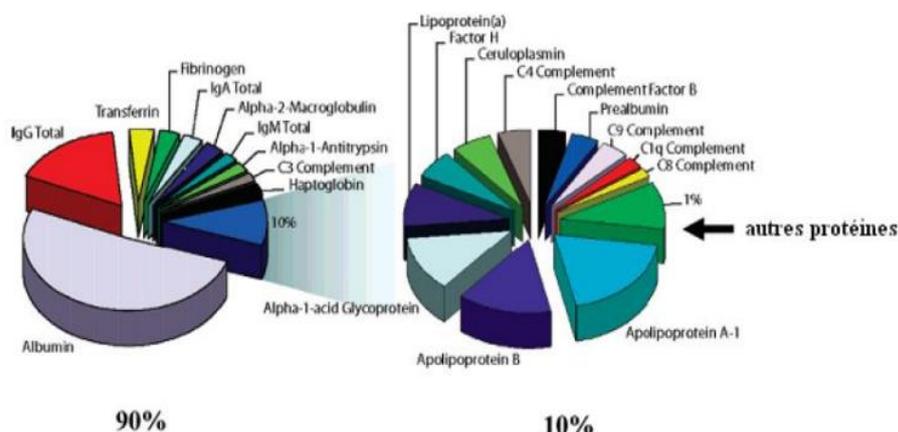


Figure I. 22: Représentation de la gamme dynamique de concentrations des protéines dans le plasma humain.

Une inflammation prolongée peut également entraîner une diminution de certaines protéines (albumine, transferrine). L'hypoalbuminémie est un marqueur pronostique puissant dans la population générale ainsi que dans de nombreuses conditions pathologiques, et l'hypoalbuminémie peut agir comme un facteur de risque inconnu et modifiable pour l'apparition et l'exacerbation des maladies cardiovasculaires, principalement par l'exacerbation de l'inflammation [71]. Plus important dérivé anti-inflammatoire, la 2-(2-formyl furyl) pyridylhydrazone, a présenté 79 % d'inhibition de la pleurésie à une dose de 80,1 $\mu\text{mol/kg}$ [72].

Une série de nouveaux composés antinociceptifs appartenant à la classe des Nacylaryl hydrazones :[(4'-N,NDiméthylaminobenzylidène-3-(3',4' méthylène dioxyphenyl) propionylhydrazine] ont été synthétisés à partir de safrôle naturel et utilisés comme médicaments anti-inflammatoires/analgésiques standards [73].

Duarte et al. ont décrit la N'-(3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxybenzylidène)-6-nitro-1,3 benzodioxole-5-carbohydrazine comme un nouveau composé anti-inflammatoire [74].

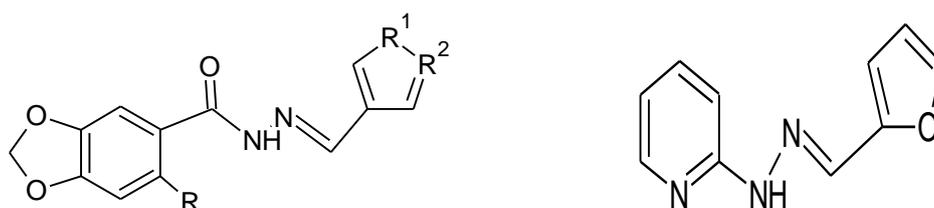


Figure I.23 : Structures chimiques bidimensionnelles de certains hydrazones utilisés comme agents anti-inflammatoires.

I.6.3.6. *Activité antisolaire* :Facteur de protection solaire (SPF)

La fusion nucléaire du soleil libère une énorme quantité d'énergie qui nous parvient huit minutes plus tard sous forme d'ondes électromagnétiques, également appelées rayonnement solaire. Le rayonnement solaire est vital pour la vie mais extrêmement dangereux pour la santé humaine. Une exposition prolongée au soleil peut provoquer de nombreuses réactions cutanées différentes telles que : photosensibilisation, cancer, coup de soleil, coup de chaleur, vieillissement prématuré de la peau, mélanome, diminution des défenses immunitaires [75].

La photoprotection correspond à tous les moyens naturels et/ou artificiels capables de résister aux effets néfastes du soleil. La photoprotection cosmétique est définie comme : les substances incorporées dans des excipients permettant de les obtenir sous forme liquide (eau, huile), pâteuse (lait, crème, gel) et solide (stick).

Anna et al. ont synthétisé une série d'hydrazones qui peut protéger la peau du rayonnement solaire [76] [77].

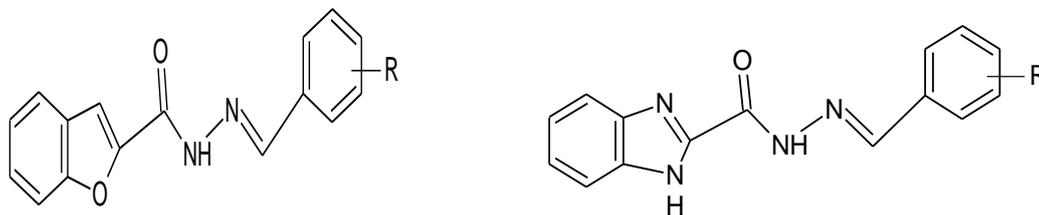


Figure I.24 : Structures chimiques de quelques hydrazones utilisés comme agents antisolaires.

I.6.3.7. L'activité antibactérienne

Les bactéries sont divisées en deux grandes familles en fonction de leurs parois cellulaires. A l'aide d'une coloration appelée coloration de Gram, nous avons réussi à différencier ces bactéries, qui seraient alors soit Gram-positives, soit Gram-négatives. Structuellement, ce qui permet cette classification est l'épaisseur du peptidoglycane : si le peptidoglycane est épais et abondant, c'est un gramme+ bactéries, s'il est fin et majoritairement composé de lipides, on est un gramme - [78].

Malhotra et al. ont préparé une série d'hydrazones par condensation de 2-éthoxybenzaldéhyde avec de l'isoniazide. L'aminométhylation de ces hydrazones avec du formaldéhyde et des amines secondaires substituées a formé de nouvelles hydrazones, dont l'activité antimicrobienne a été testée. Les résultats ont montré que ces composés ont de bons effets sur des souches bactériennes telles que *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* [79].

Lukasz et al. ont synthétisé des dérivés d'hydrazide-hydrazone et évalué leur activité antibactérienne. Les résultats montrent que les composés synthétisés ont d'excellents effets sur les souches bactériennes Gram + et -. [80].

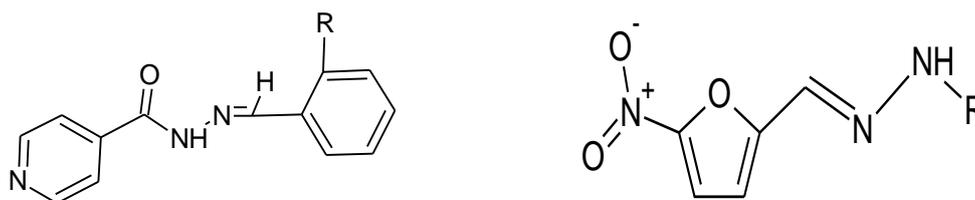


Figure I.25 : Structures chimiques de certains hydrazones utilisés comme agents antibactériens.

I.6.3.8. L'activité antivirale : anti-COVID-19

En Chine, la pandémie de COVID-19 s'est propagée à presque tous les pays du monde depuis décembre 2019. En 2022, une variété de nouvelles variantes de virus mutés apparaîtront. À cette cause, nous mettons en évidence la protéase principale (Mpro) du SRAS-CoV-2, comme une cible thérapeutique qui ne possède aucune mutation dans les variantes espèces de COVID-19. La Mpro pourrait donc fournir une efficacité transvariante qui est soutenue par des études structurales et possède des expériences d'évaluation biologique facilement disponibles.

I.6.3.8.1 Définition

COVID-19 fait référence à la "maladie à coronavirus 2019", la maladie causée par la famille des virus coronavirus SARS-CoV-2. La maladie infectieuse, une maladie zoonotique dont l'origine est encore controversée, est apparue à Wuhan, dans la province du Hubei, en Chine, en décembre 2019. Il s'est propagé rapidement, d'abord à travers la Chine, puis à l'étranger, provoquant une épidémie mondiale.

Le COVID-19 est une maladie respiratoire qui peut être mortelle pour les patients affaiblis par l'âge ou d'autres maladies chroniques. Il se propage par contact étroit avec une personne infectée. La maladie peut également être propagée par des patients asymptomatiques, mais les données scientifiques manquent pour le confirmer avec certitude [81].

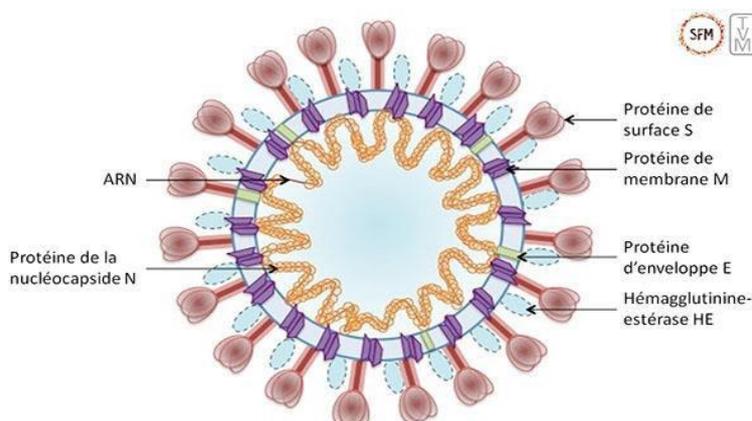


Figure I.26 : Structure du coronavirus.

I.6.3.8.2 Mode d'action

Les protéases virales sont essentielles à la production de virions par les cellules infectées car elles participent à l'étape de maturation en clivant les multimères viraux. Ils sont spécifiques d'un virus donné et agissent sur les protéines virales ainsi que sur certaines

protéines de la cellule hôte pour favoriser la réplication virale [82]. C'est pour cela qu'elles suscitent un grand intérêt pour stopper la propagation des épidémies virales.

La figure I.10 illustre le mécanisme d'action des protéases bloquantes moléculaires. Les inhibiteurs de protéase 3CLpro de coronavirus connus ont été testés pour leur capacité à inhiber le SRAS-CoV-2. Une molécule de la famille des α -cétoamides a été sélectionnée pour sa capacité à s'insérer efficacement dans le site catalytique d'une protéase, bloquant ainsi son activité et réduisant significativement la production de virus dans les cellules pulmonaires humaines infectées par le SARS-CoV-2 [83].

Tabbich et al. ont synthétisé un dérivé d'hydrazone capable d'inhiber l'enzyme Mpro responsable de la reproduction eucaryote [84].

Topal et al. ont synthétisé des composés hydrazone-pyridine et testé leur activité inhibitrice du SRAS-CoV-2, et ils ont conclu que ces composés étaient plus efficaces que les produits standards (chloroquine et hydroxychloroquine) [85].

Said et al. ont synthétisé une série des composés hydrazones et les testés comme inhibiteurs de SARS-CoV-2, en ciblant les deux enzymes Mpro et RdRp [86].

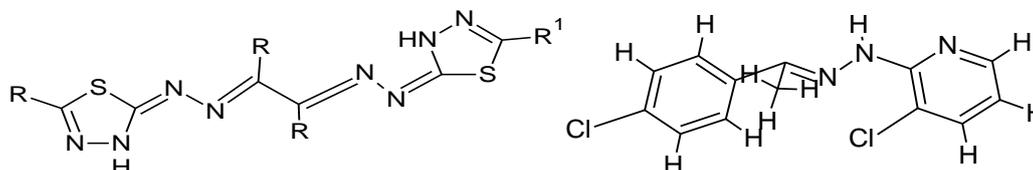


Figure I.27 : Structures chimiques de certain hydrazones utilisés comme inhibiteurs du COVID-19.

I.7. Conclusion

A partir de cette étude bibliographique qu'on a effectuée sur les hydrazones et leurs dérivés, notamment leurs procédures de synthèse et leurs applications prometteuses, on peut dire que cette famille de composés montre une importance primordiale dans les différents domaines. Les hydrazones sont utilisées pour la synthèse de composés organiques tels que les composés hétérocycliques avec une variété des activités biologiques tel que : agents antioxydants, agents anti-inflammatoires, agents antimicrobiennes, agents antidiabétiques, agents anti-uréases, agents anti-alzaymer, agents antibactériennes, agents antisolaire et agent anti COVID-19.

CHAPITRE II

METHODES

EXPERIMENTALES

II.1. Introduction

Ce chapitre rassemble le matériel, les réactifs et toutes les méthodes analytiques, physico-chimiques et spectroscopiques utilisées dans la synthèse, la caractérisation et l'évaluation de la bioactivité d'une série de nouveaux dérivés hydrazones.

II.2. Méthodes de caractérisation physicochimiques et spectrales

II.2.1. Chromatographie sur coche mince CCM

Les chromatographies analytiques (CCM) ont été effectuées sur des plaques Merck en aluminium recouvertes de gel de silice 60 F 254 (épaisseur 0,2 mm) et révélées par une lampe UV réglée sur 254 nm. La solubilité dans la phase mobile est caractérisée par un rapport frontal R_f défini par la formule suivante :

$$R_f = d_{\text{substance}} / d_{\text{solvant}} \text{(II.1)}$$

Avec : $d_{\text{substance}}$ est la distance parcouru par la substance et d_{solvant} est la distance parcouru par le solvant.

II.2.2. Point de fusion

La détermination du point de fusion est une donnée physique importante d'une substance. Le point de fusion est la température à laquelle un objet passe de l'état solide à l'état liquide. Plus l'attraction entre les particules est forte, plus il faut d'énergie pour les surmonter. Les points de fusion des produits préparés et de départ ont été déterminés en capillaire à l'aide d'un appareil à point de fusion BÜCHI B-540.

II.2.3. Caractérisation spectroscopique

II.2.3.1. Spectroscopie UV-Vis

Les propriétés optiques des produits synthétisés ont été déterminées par spectrophotométrie UV-Vis. Les spectres d'absorption UV-Vis ont été enregistrés dans notre laboratoire "LEMMC" à l'aide d'un spectrophotomètre JASCO V-650 à température ambiante dans la région 200-800 nm. Les spectres UV-Vis des produits synthétisés ont été enregistrés sur une cellule en quartz de 1 cm de trajet optique et en milieu méthanol.

II.2.3.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

L'analyse est effectuée dans notre laboratoire par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR). Les spectres infrarouges des molécules étudiées ont été

enregistrés dans la région 4000-600 cm^{-1} à l'aide d'un spectromètre JASCO FT/IR-4200 en mode de réflectance totale atténuée (ATR) avec une résolution de 4 cm^{-1} . Les transmissions rapportées sont exprimées en nombres d'onde (cm^{-1}) entre 4000 et 500 cm^{-1} .

II.2.3.3. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Des analyses de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) ont été réalisées au Centre de Recherche en Sciences et Technologies Analytiques Physicochimiques (CRAPC). Les spectres RMN du proton ^1H et du carbone ^{13}C ont été enregistrés sur un appareil Bruker 400MHz en utilisant le DMSO- d_6 comme solvant et le tetraméthyle silane (TMS) comme référence, les déplacements chimiques en partie par million (ppm), la multiplicité des signaux a été rapportée par des abréviations comme : (s) singulet, (d) doublet, (t) triplet, (q) quadruplet, (m) multiplet. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel Mester Nova.

II.3. Méthodes d'évaluation des activités biologiques

Cette étude a été réalisée au niveau du centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) de Constantine.

II.3.1. L'activité antioxydante

Le terme antioxydant fait référence à toute substance qui a une concentration inférieure à celle d'un substrat d'oxygène, retarde ou inhibe de manière significative l'oxydation de ce substrat [1]. Les radicaux libres comme les espèces réactives oxygénées (ROS) et les espèces réactives azotées (RNS) sont responsables sur le dommage de biomolécules cellulaires qui résulte des maladies dégénératives [2]. Les antioxydants prévenir le dommage oxydative provoqué par les ROS et donne une résistance contre le stress oxydative par l'inhibition des radicaux libres [3].

L'ensemble des méthodes permettant d'évaluer le pouvoir antioxydant *in vitro* peuvent être divisées en 2 groupes :

- Les méthodes basées sur le transfert d'un atome d'hydrogène ou (Hydrogen Atom Transfert) pour le DPPH et ABTS [4,5].
- Les méthodes basées sur le transfert d'un électron « Single Electron Transfert pour le CUPRAC,FRAP et phénanthroline [6].

Les résultats présentés dans ce travail ont été établis en utilisant les cinq techniques suivantes : DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP et phénanthroline. Ces méthodes ont été choisies pour leur simplicité et leur rapidité. Ils sont également moins chers et plus fiables.

II.3.1.1. *Réactifs et matériels*➤ **Réactifs**

- DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl);
- ABTS (acide 2,2'-Azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-acide sulfonique)) ;
- Acetate d'ammonium
- chlorure de cuivre(II) $\left\{ \begin{array}{c} \text{CU} \\ \text{PR} \\ \text{AC} \end{array} \right\}$
- Neocupronin
- Hydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4)
- Hydrogénophosphate disodique (Na_2HPO_4)
- Acide trichloroacétique (TCA)
- Ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $\left\{ \begin{array}{c} \\ \text{FRAP} \\ \end{array} \right\}$
- FeCl_3 (Chlorure de fer) ;
- Phenanthroline (Benzo[b][1,10]phenanthroline-7-ol) ;
- Eau distillé

➤ **Standars**

- BHA (Hydroxyanisole butylé) ;
- BHT (Hydroxytoluène butylé) ;
- Acide ascorbique (Vit C).

➤ **Instrument utilisé**

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 μl pour chaque puits (EnSpire Multimode Plate Reader perkin, USA).

II.3.1.2. **DPPH**

La méthode DPPH est une méthode ancienne et très populaire de mesure de l'activité antioxydante des composés. Le DPPH est un radical libre à température ambiante, il accepte un électron et devient une molécule diamagnétique stable. Cette méthode consiste à mesurer le degré de réduction du DPPH par un antioxydant [7]. Les solutions méthanoliques de DPPH sont caractérisées par un maximum d'absorbance à 517 nm dans le spectre UV [8].

Les dosages spectrophotométriques ont été réalisés dans des microplaques à 96 puits en utilisant le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH) comme réactif. 40 μl de différentes concentrations des produits synthétisés ont été ajoutés à 160 μl de solution de DPPH dans le MeOH. Après 30 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, la

diminution d'absorbance par rapport à un blanc (méthanol) a été mesurée à 517 nm [9].

Le DPPH est instable à la lumière, c'est pourquoi les tests réalisés devaient être réalisés dans l'obscurité [10]. Le pourcentage d'inhibition des différentes molécules testées a été calculé selon l'équation suivante :

$$I\% = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{échan}})/A_{\text{blanc}}] \times 100 \quad (\text{II.2})$$

Avec I% c'est le pourcentage de l'activité antioxydante des molécules, A_{blanc} est l'absorbance du control négatif (contient toute les réactifs sauf la molécule testée) et $A_{\text{échan}}$ est l'absorbance de l'échantillon contenant la molécule testée. Les valeurs de 50 % d'inhibition de la concentration (IC_{50}) ont été calculées en utilisant la régression linéaire des spectres de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations. Le BHA et le BHT ont été utilisés comme témoins positifs.

II.3.1.3. Pouvoir de piégeage du radicale ABTS (ABTS scavenging)

Les radicaux ABTS préformés sont générés par oxydation de molécules ABTS stables avec du persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$). Cette formation se traduit par une couleur bleu-vert intense [11]. L'introduction d'antioxydants provoque une décoloration du mélange. Ce changement radical de couleur est mesuré par spectrophotométrie à 734 nm.

Les radicaux $ABTS^+$ ont été préparés comme suit : Préparer un mélange de 19,2 mg (7 mM) d'ABTS et 3,3 mg de $K_2S_2O_8$ (2,45 mM) dans l'éthanol. Après avoir stocké le mélange dans l'obscurité à température ambiante pendant 12 à 16 heures avant utilisation, diluer la solution avec de l'éthanol pour avoir une absorbance de $0,700 \pm 0,020$ à 734 nm. Ajouter 160 μ l d'une solution d'ABTS à différentes concentrations des molécules à tester et d'étalons et mesurer l'absorbance à 734 nm après 10 minutes.

Les pourcentages d'inhibition ont été calculés pour chaque concentration par rapport à l'absorbance du blanc. La capacité de piégeage de l'ABTSa été calculée, ce calcul est similaire à la formule du DPPH (II.1). Le BHT et le BHA sont utilisés comme témoins positifs.

II.3.1.4. Capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

Le dosage de CUPRAC est économique, rapide, stable et hautement sélectif, et il convient à divers antioxydants. Ce test est basé sur les modifications des propriétés d'absorption des complexes néocuproïne (Nc) et de cuivre (II), Lorsque ce complexe est réduit

par un antioxydant, le potentiel de réduction de l'échantillon convertit efficacement Cu^{+2} en Cu^{+1} (Transfert d'électron).

Sur une microplaque de 96 unités, ajouter les solutions : 60 μl de la solution S1 (S1 : 1,927 g d'acétate d'ammonium (ACNH_4) + 25 ml (HO)) et 50 μl de la solution S3 (S3 : 0,039 g de produits de synthèse dans 25 ml (MeOH)) et 50 μl de la solution S2 (S2 : 0,042625 g (CuCl_2 , H_2O_2 dans 25 ml H_2O)) et 40 μl à différentes concentrations. Après une heure, enregistrer l'absorbance à 450 nm contre le blanc (MeOH) à l'aide d'un lecteur de microplaques. Le BHA et le BHT sont utilisés comme antioxydants de référence [12]. Les résultats ont été exprimés en ($A_{0.5}$), concentration du produit correspondant à une absorbance égale à 0.5.

II.3.1.5. Capacité de réduire l'ion ferrique (Pouvoir réducteur ou FRAP)

La méthode FRAP est basée sur la réduction des ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}). La présence d'un agent réducteur (AH) entraîne la réduction du complexe Fe^{3+} /ferricyanure à la forme ferreuse. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité du bleu cyan dans le milieu réactionnel à 700 nm [13].

Cette méthode consiste à mélanger 10 μl des produits synthétisés à différentes concentrations avec 40 μl du tampon phosphate 0.2 M à pH 6.6 et 50 μl d'une solution de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1% (m/v). Le mélange obtenu a été incubé à 50°C pendant 20 minutes, puis 50 ml d'acide trichloroacétique 10% (CCl_3COOH) ont été ajoutés pour terminer la réaction. Ajouter 40 μl d'eau distillée et 10 μl de chlorure ferrique à 0,1% (FeCl_3). La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm. Les résultats permettent de calculer la concentration efficace ($A_{0.5}$), la concentration du produit correspondant à une absorbance égale à 0.5 est obtenue par la courbe de régression linéaire. L'activité des produits est comparée avec l'acide ascorbique (antioxydant témoin positif).

II.3.1.6. Phénanthroline

La méthode à la phénanthroline est une méthode utilisée pour déterminer la capacité antioxydante totale des antioxydants. La méthode est basée sur la réduction de Fe^{3+} par des antioxydants en ions Fe^{2+} , qui sont ensuite mis à réagir avec la phénanthroline pour former un complexe rouge orangé qui absorbe à 510 nm.

L'activité antioxydante des produits synthétisés a été déterminée par le dosage de la phénanthroline selon le protocole de Szydłowska-Czerniaka *et al.* [14].

Cette méthode consiste à mélanger 50 ml de 0,2% de FeCl_3 (0,02g de FeCl_3 dans 10 ml de H_2O) avec 30 ml de 0,5% de Phénanthroline (0,05g de 1,10-Phénanthroline dans 10 ml de MeOH) plus 110 ml de méthanol et 10 ml des différentes concentrations des échantillons. Le mélange final est incubé à l'obscurité pendant 20 min à 30 °C et l'absorbance a été mesurée à 510 nm. L'activité de la phénanthroline et l'activité du pouvoir réducteur (FRAP) s'appuient sur le même principe car la méthode de phénanthroline est un cas particulier de la méthode de FRAP, donc les résultats s'expriment en fonction de l'A0.5.

II.3.2. Activité inhibitrice des enzymes

II.3.2.1. Réactifs et matériels

➤ Réactifs :

- ACI (Acetylthiocholine iodide)
 - tBuCI (S-Butyryl thiocholine iodide)
 - 5,5'-Disulfanediylbis(2- nitrobenzoic acid) (DTNB)
 - Sodium bicarbonate
 - Galantamine
 - Amidon
 - Iodure de potassium
 - Iodine
 - Acide chloridrique
 - Acarbose
- } Anticholinestérase
- } Alpha amylase
- Urée
 - Hydroxyde de sodium
 - Hypochlorite de sodium
 - Sodium nitroprusside dihydrate
 - Phénol
 - Thiourea(Thiocarbamide)
 - Tampon de phosphate (Sodium phosphate dibasic dihydrate + Sodium phosphate monobasic dihydrate)
- } Uréase

➤ Instrument utilisé :

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 µl pour chaque puits (EnSpire Multimode Plate Reader perkin, USA).

II.3.2.2. Activité anticholinestérase

Les substances anticholinestérasiques sont des inhibiteurs d'une enzyme cholinestérase responsable de la dégradation de l'acétylcholine (esters de choline) en choline et en acétate. Par conséquent, leur action favorise une augmentation de la concentration d'acétylcholine dans le cerveau. Les médicaments anticholinergiques, au contraire, inhibent (réduisent) l'action de l'acétylcholine.

L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase a été mesurée à partir de la méthode spectrophotométrique développée par Ellman *et al.* [15]. Les enzymes AChE de l'anguille électrique et BChE de sérum de cheval ont été utilisés, tandis que l'iodure d'acétylthiocholine et le chlorure butyrylthiocholine ont été utilisés comme substrats de la réaction (AChE et BChE respectivement). Les hydrolyses de ces substrats ont été contrôlées par analyse spectrophotométrique résultant de la réaction du DTNB (l'acide 5,5'-dithio-bis 2- nitrobenzoïque) avec la thiocholine libérée par l'hydrolyse enzymatique de l'iodure d'acétylthiocholine ou du chlorure de butyrylthiocholine à une longueur d'onde de 412 nm, en utilisant un lecteur de microplaque de 96 puits.

Le volume est de : 130 µL de tampon phosphate de sodium (100 mM, pH = 8), 10 µL de dérivés synthétiques à différentes concentrations, 20 µL d'enzyme AChE ou BChE, incubé à 25°C pendant 15 min, puis ajouter 20 µL de DTNB (0,5 mM). La réaction est ensuite initiée en ajoutant 20 µL d'iodure d'acétylthiocholine ou de chlorure de butyrylthiocholine. La couleur jaune formée par la réaction du DTNB avec la thiocholine est libérée par hydrolyse enzymatique de l'iodure d'acétylthiocholine ou du chlorure de butyrylthiocholine, et l'hydrolyse de ces substrats est contrôlée par spectrophotométrie. La Galantamine a été utilisé comme témoin positif.

Le pourcentage d'inhibition de l'AChE ou BChE a été déterminé par la formule suivante :

$$I\% = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{écha}}}{A_{\text{contrôle}}} * 100 \text{ (II.3)}$$

Où : $A_{\text{contrôle}}$ est l'activité de l'enzyme sans échantillon d'essai et $A_{\text{écha}}$ est l'activité de l'enzyme avec l'échantillon de test.

II.3.2.3. Activité inhibitrice de l' α -amylase

L' α -amylase représente l'enzyme amylolytique la plus connue. Il provoque l'hydrolyse de l'amidon et de l'absorption consécutive de glucose par l' α -glucosidase intestinale qui induit une augmentation inattendue des niveaux de glucose dans le sang et provoque une hyperglycémie chez les patients atteints le diabète de type 2 [16].

L' α -amylase dégrade l'amidon en composés moins complexes qui ne peuvent pas réagir avec l'iode. L'inhibition de l' α -amylase par un inhibiteur entraîne l'accumulation de l'amidon qui réagit par la suite avec l'iode pour donner un complexe bleu-noir dont l'absorbance est mesurée à 630 nm. Selon la méthode décrite par (*Zengin G et al.*) [17], un volume de 25 μ l des produits synthétisés ont été mélangés avec 50 μ l du tampon phosphate de sodium 0,02 M (pH = 6,9) contenant de l' α -amylase (solution d' α -amylase 1 U/ml) et incubés pendant 10 min à 37 °C. Ensuite, 50 ml d'amidon à 0,1 % ont été ajoutés au mélange réactionnel. Incuber le mélange à 37°C pendant 10 min. Après incubation, on a ajouté 25 μ l d'HCl (1M) et 100 μ l d'IKI. L'absorbance a été mesurée à 630 nm. L'acarbose a été utilisé comme témoin positif. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition et calculés en utilisant l'équation (II.4) :

$$\%INH = 1 - \left[\frac{(A_c - A_e) - (A_s - A_b)}{(A_c - A_e)} \right] \times 100 \text{ (II.4)}$$

Où : A_c : Absorbance des blancs extrait (tous les réactifs sans la solution enzymatique)

A_e : Absorbance du contrôle négatif sans inhibiteur (tous les réactifs sans extrait)

A_s : Absorbance de la réaction contenant tous les réactifs

A_b : Absorbance [produit+IKI+125 μ l de tampon].

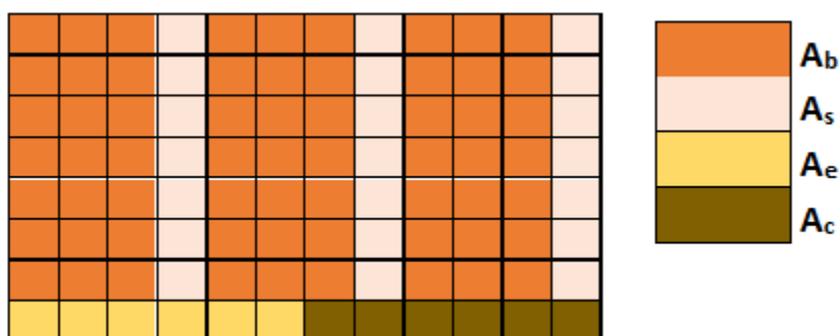


Figure II 1: Schéma de la microplaque à 96 puits pour l'activité inhibitrice de l' α -amylase.

II.3.2.4. *Inhibition de l'uréase*

Helicobacter pylori (*H. pylori*) est un type de bacille responsable d'une infection chronique courante dans le monde. Il se retrouvera dans un lac d'estomac extrêmement acide. Pour se protéger de cette acidité gastrique, *H. pylori* produit une enzyme appelée uréase, une enzyme responsable de l'hydrolyse rapide de l'urée en ammoniac. Cet ammoniac neutralise le microenvironnement des bactéries, le rendant plus accueillant pour les bactéries, et ainsi, provoque des troubles digestifs, notamment des ulcères et des cancers de l'estomac. La recherche d'inhibiteurs de ces enzymes est donc cruciale pour le traitement de ces infections [18–20].

La capacité des produits synthétisés à inhiber l'uréase est évaluée par la méthode décrite par *Muhammad, et al.* [21]. Un volume de 10 µl des produits est mélangé avec 25 µl de l'uréase (1 mg/ml dans le tampon phosphate, pH 8,2) et 50 µl urée (0,2553 g d'Urée dans 25 ml du tampon (PH=8,2)). Le mélange est incubé pendant 15 min à 37 °C et la quantité de l'ammoniac produite est déterminé par l'ajout de 45 µl du réactif phénol (2 g de Phénol (C₆H₅OH) dans 25 ml d'H₂O + 25 mg de Na₂[Fe(CN)₅NO], H₂O₂ dans 25 ml d'H₂O) et 70 µl du réactif basique (0,7125 g de NaOH dans 25 ml d'H₂O + 1,175 ml de NaOCl (Liq) dans 25 ml d'H₂O), attendre 50 mn et incubation à 30 °C à l'étuve dont l'absorbance est mesurée à 630 nm.

Les pourcentages d'inhibition de l'uréase sont déterminés par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(AC-AE)}{AC} * 100 \text{ (II.5)}$$

Où : AC : est l'absorbance du contrôle négatif (sans produit) AE : est l'absorbance de la réaction en présence de produit.

II.3.3. **Activité anti-inflammatoire *in vitro* (Test de la dénaturation thermique des protéines)**

L'évaluation du pouvoir anti-inflammatoire *in vitro* se fait par des méthodes colorimétriques portant sur la dénaturation du sérum albumine bovine (BSA). Lorsque la BSA est chauffée et subit une dénaturation, elle exprime des antigènes associés à une réaction hypersensible expliquant qu'ils sont liés à plusieurs des maladies inflammatoires. Le test proposé devrait ainsi être applicable à la découverte des médicaments pour traiter ces maladies.

II.3.3.1. Réactifs et matériels

➤ Réactifs

- 1- Tampon Tris-HCl 0.05M pH 6,6
- 2- BSA (bovine sérum albumine)
- 3- Diclofénac sodique (Standard)

➤ Préparations des solutions

- **Préparation du Tris-HCl 0.05 M pH :**

6,61g est dissous dans 200 ml de l'eau distillée. Le pH est par la suite ajusté à 6,6 avec l'HCl.

- **Préparation des blancs**

Pour chaque concentration du produit à tester un blanc est préparé dans le quel 0,1ml du produit testé est ajouté à 1 ml de Tris-HCl (Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait des résultats obtenus).

Un blanc BSA contenant 1 ml de la solution de BSA ajouté à 1 ml du solvant utilisé pour les produits à tester (le résultat obtenu correspond à la dénaturation totale du BSA en absence de substance inhibitrice).

- **Préparation de la solution BSA 0,2%**

0,2 g de BSA est dissoute dans 100 ml de tampon Tris-HCl.

- **Préparation des produits**

Préparer une solution mère de 10 mg/ml de chaque produit.

- **Préparation du standard**

Préparer une solution mère de 0,5 mg/ml de Diclofénac sodique.

➤ Instrument utilisé

Spectrophotomètre à cuve HELIOS EPSILON (Thermo scientifique).

II.3.3.2. Mode opératoire

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des dérivés d'hydrazones synthétisés a été étudiée en utilisant la technique d'inhibition de la dénaturation de l'albumine selon la méthode de **Kandikattu et al.** [22]. 1 ml de chaque concentration du composé à tester ou du standard a été ajouté à 1 ml de solution de BSA 0.2 % préparé dans le Tris HCl pH : 6,6. Le

mélange est ensuite incubé à 37 °C pendant 15 min. Puis dans un bain marie à 72 °C pendant 5 min. À la fin de l'incubation, le mélange est refroidi rapidement, puis son absorbance est mesurée à 660 nm dans un spectrophotomètre à cuve. Dans ce test, le Diclofénac sodique a été utilisé comme un anti-inflammatoire de référence.

Les pourcentages d'inhibition sont déterminés par la formule suivante :

$$I \% = \frac{T_{\text{test}} - T_{\text{contrôle}}}{T_{\text{test}}} \times 100 \quad (\text{II.6})$$

$T_{\text{contrôle}}$: la transmittance de contrôle et T_{test} : la transmittance de l'échantillon testé.

II.3.4. L'activité de protection solaire (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 UVA et UVB. Le SPF est un indicateur de l'efficacité d'un produit solaire. Le facteur de protection solaire est un indice qui permet de classer les produits de protection solaire en quatre catégories (Tableau II .1). Ainsi, plus l'indice SPF est élevé plus la protection solaire contre le coup de soleil est importante [23].

Tableau II.1 : Catégories de protection affichées sur les produits solaires en fonction des facteurs de protection mesurés, selon la Recommandation de la Commission Européenne 2006[24].

Catégorie indiquée	Facteur de protection indiqué	Facteur de protection solaire mesuré	Facteur de protection UVA minimal recommandé	Longueur d'onde critique minimale recommandée
« Faible protection »	6	6 - 9,9	1/3 du facteur de protection solaire indiqué sur l'étiquette	370 nm
	10	10 - 14,9		
« Protection moyenne »	15	15 - 19,9		
	20	20 - 24,9		
	25	25 - 29,9		
« Haute » « protection »	30	30 - 49,9		
	50	50 - 59,9		
« Très haute protection »	50+	60 ≤		

Le facteur SPF a été déterminé *in vitro* selon les méthodes décrites par Mansur *et al.* [25]. Le produit de synthèse a été dilué dans du méthanol pour obtenir une concentration de 2 mg/ml. L'absorbance a été réalisée à des longueurs d'onde comprises entre 290 et 320 nm avec une distance de 5 nm et la valeur de la SPF a été calculée en appliquant l'équation suivante:

$$\text{SPF}_{\text{spectrophotometric}} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda) \quad (\text{II.7})$$

Où :

EE : spectre de l'effet erythemal ;

I : spectre d'intensité solaire ;

Abs : l'absorbance du produit ;

CF : facteur de correction (= 10).

Les valeurs de (EE(λ) x I(λ)) sont des constantes déterminées dans le (Tableau II.2).

Tableau II.2 Fonction normale de produit utilisée dans le calcul de la SPF [26].

Longueur d'onde λ (nm)	EE (λ)x I(λ) (Normes)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0837
320	0,0180
Total	1

II.3.5. Activités Antimicrobiennes

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 ou des plantes, qui sont des sources de beaucoup d'agents thérapeutiques utiles. Cette étude a été réalisée au niveau du bloc de recherche de microbiologie de l'université de Sétif 1. Le test de sensibilité des bactéries est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé, appelée encore la méthode de diffusion en puits (analyse qualitative). Test de sensibilité antibiogramme est avant tout un outil de décision thérapeutique en classant les bactéries : sensibles, intermédiaires ou résistantes. C'est une méthode de mesure qualitative permettant de tester l'existence du pouvoir antimicrobien.

II.3.5.1. Réactifs et matériels

➤ Réactifs

- Le bouillon nutritif est utilisé pour la vérification de la vitalité des bactéries.
- La gélose nutritive est utilisée pour la conservation des souches, c'est un milieu adéquat pour la majorité des bactéries.
- La gélose Mueller Hinton est utilisée dans les tests de sensibilité des bactéries à différentes molécules synthétisées.
- Les produits synthétisés et le standard la gentamycine (gent10).

➤ **Germes bactérienne**

L'activité antibactérienne a été déterminé contre 4 souches bactériennes de références issues de la collection ATCC (American Type Culture Collection) dont deux bactéries a Gram-positive (*Bacillus subtilis* (ATCC-6633) et *Staphylococcus aureus* (ATCC- 6538P)),et deux a Gram-négative(*Escherichia coli* (ATCC-8739) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-9027)).

Les quantités des composés à tester ont été dissous dans du DMSO dans trois flacons différents pour obtenir des solutions ayant des concentrations de 4, 2, 1 et 0.5 mg/ml. Le DMSO est utilisé tout seul comme contrôle négatif.

➤ **Préparation des pré-cultures**

Les souches à tester ont été suspendues dans du bouillon nutritif puis incubées à 37°C afin de vérifier leur viabilité. Après 24h, des gouttelettes de la suspension ont étéensemencées sur gélose nutritive puis incubées pendant 18 à 24h à 37°C.

➤ **Préparation de l'inoculum**

Après incubation, des colonies bien isolées sont mises en suspension dans l'eau physiologique jusqu'à une densité optique de 0,08 à 0,1 à 625nm soit environ 108 CFU/ml [27].

II.3.5.2. Mode opératoire

A partir de la technique de diffusion en milieu gélosé [28, 29]. On prépare la gélose de Mueller-Hinton (MH) qui doit être séchée (absence complète de l'eau à sa surface), puis on procède à un ensemencement par la technique d'écouvillonnage qui consiste à tremper d'abord un écouvillon stérile dans la suspension et à ensemenecer par la suite la gélose par cette dernière. On laisse sécher de 3 à 5 min, puis on pratique des puits à l'aide d'une pipette pasteur stérile (il faut éloigner les puits de 1 cm minimum du bord de la boîte de Pétri). Le fond des puits est obturé par une goutte de gélose Mueller Hinton pour limiter la diffusion des

solutions des produits sous la gélose. Ensuite, on injecte 20 µl du produit à tester et le DMSO (témoins négatifs) dans les puits. Ensuite, un disque de l'antibiotique gentamicine est utilisé comme control positif. Après diffusion (20 min), les cultures sont incubées dans des étuves à la température de 37°C pendant 24 h, et les auréoles d'inhibition sont mesurées à l'échelle millimétrique à l'aide d'une règle. Le diamètre du puits (5 mm) est inclus dans les tableaux des résultats.



Figure II.2 : Représentation photographique de l'expérience d'évaluation de l'activité antibactérienne.

II.4. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté les différentes méthodes de caractérisation physicochimique et spectrale que nous avons utilisées pour caractériser les produits synthétisés, ainsi que les techniques qu'on a utilisées pour évaluer la bioactivité de dérivés hydrazones synthétisées dans cette étude.

CHAPITRE III

SYNTHESE ET

CARACTERISATION

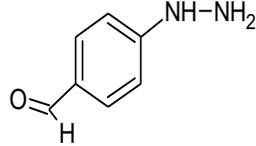
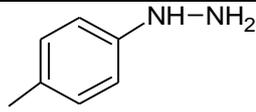
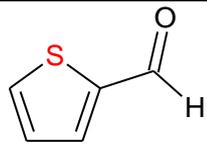
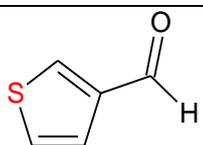
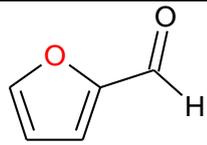
III.1. Introduction

Ce chapitre présente d'une part la procédure de synthèse d'une série de nouveaux dérivés hydrazones en utilisant la réaction de **Wolff-Kishner** (HYDZ-1, HYDZ-2, HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6), et d'autre part la discussion des résultats de la caractérisation des molécules obtenues par les différentes méthodes physicochimiques d'analyse et par les méthodes spectroscopiques, telles que l'UV-vis, FT-IR, RMN H^1 et l'RMN C^{13} .

III.2. Réactifs utilisés

Tous les produits chimiques utilisés dans ce travail étaient disponibles et commercialisés chez **Sigma Aldrich** ou **Fluka**, et ils ont été utilisés sans traitement préalable.

Tableau III.1 : Propriétés physicochimiques des réactifs utilisés.

Réactifs	Pureté	Formule brute	M (g/mol)	Densité	Structure chimique
acide 4-Hydrazinobenzoïque (R1)	97%	$C_7H_8N_2O$	152.15	/	
4-méthylphényl) hydrazine (R2)	98%	$C_7H_{10}N_2$	158.63	/	
2-thiophénecarboxaldehyde (S1)	98%	C_5H_4OS	112.15	1.20	
3-thiophénecarboxaldehyde (S2)	98%	C_5H_4OS	112.15	1.28	
2-Furaldehyde (S3)	99%	$C_5H_4O_2$	96.09	1,15	

III.3. Synthèse organiques des molécules ciblées

Dans cette étape on a synthétisées une série de six (6) dérivés hydrazones : HYDZ-1, HYDZ-2, HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6.

Ces molécules sont synthétisées suivant la réaction de condensation de **Wolff-Kishner**, qui consiste à condenser un groupement carbonyle avec de l'hydrazine permet la formation d'une hydrazone [1-3].

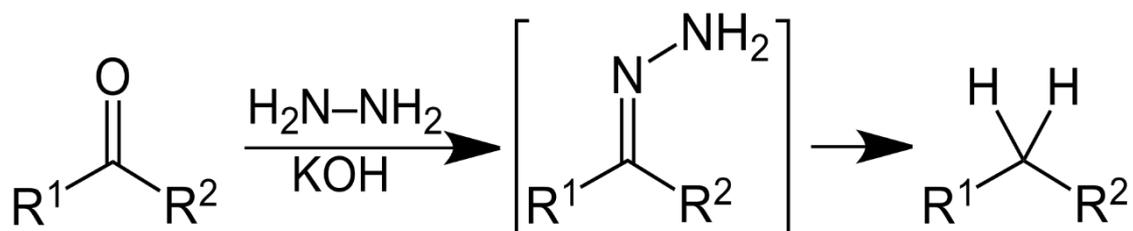


Figure III.1 : Réaction de condensation de Wolff-Kishner.

III.3.1. Synthèse de Acide [4-{(2E) -2-[(thiophène -2-yl) méthylidène]hydrazinyl}] benzoïque (HYDZ-1)

Selon la **Figure III.2**, 1,0 mmol (0.1568 g) de l'acide 4-Hydrazinobenzoïque (97 %) et 1,0 mmol (0.11443g) du thiophène-2-carbaldéhyde (98 %) sont dissous dans de l'éthanol. Le mélange a été chauffé à reflux à une température de 78°C pendant 10 h. La solution brute résultante a été refroidie à température ambiante et maintenue limpide jusqu'à ce qu'un précipité solide se forme. Le produit résultant a été purifié par recristallisation au méthanol et enfin l'hydrazone solide jaune est produit.

III.3.2. Synthèse de Acide [4-{(2E) -2-[(thiophène -3 yl) méthylidène]hydrazinyl}] benzoïque (HYDZ-2)

HYDZ-2 est préparé en dissolvant 1,0 mmol (0.1568 g) de l'acide 4-Hydrazinobenzoïque (97 %) et 1,0 mmol (0.11443g) du thiophène-3-carbaldéhyde (98 %) dans l'éthanol. Le mélange a été chauffé à reflux pendant 12 h à une température de 78°C (**Figure III.2**). La solution brute obtenue a été refroidie à température ambiante et elle est restée limpide jusqu'à la formation d'un précipité solide. Le solide résultant est purifié par recristallisation à l'aide du méthanol et l'hydrazone solide d'une couleur jaune est produit.

III.3.3. Synthèse de l'Acide [4-{(2E) -2-[(furan -2- yl) méthylidène]hydrazinyl}] benzoïque (HYDZ-3)

La synthèse a été effectuée selon la même procédure que précédemment (**Figure III.2**), dans laquelle nous avons dissous 1,0 mmol (0.1568 g) de l'acide 4-Hydrazinobenzoïque(97 %) et 1,0 mmol (0.09706g) du 2-furaldéhyde (99 %) dans l'éthanol. Le mélange a été chauffé à reflux à une température de 78 °C pendant 4 h. Le précipité brut résultant a été purifié par recristallisation dans le méthanol et l'hydrazone solide jaune est obtenue.

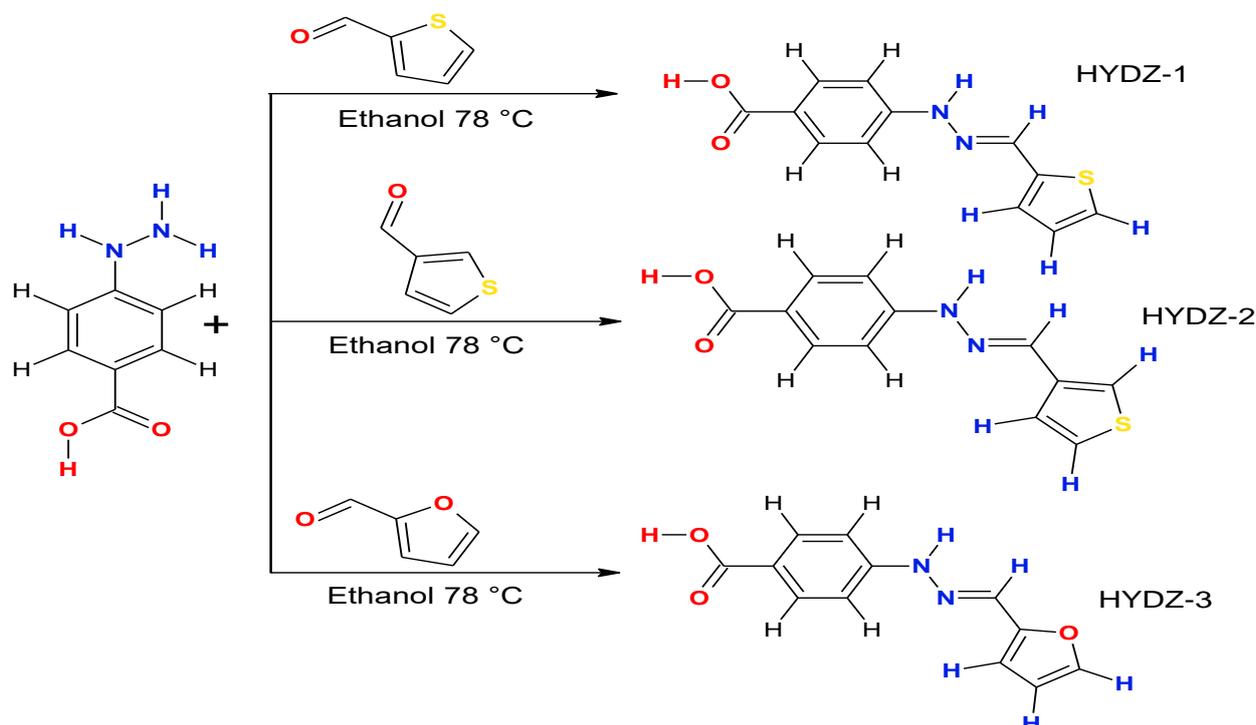


Figure III.2: Schéma réactionnel de synthèse des hydrazones HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3.

III.3.4. Synthèse de (2E) -1-(4-méthylphényl)-2-[(thiophén -2- yl) méthylidène] hydrazine (HYDZ-4)

Selon la **figure III.3**, nous avons dissous de la (4- methylphenyl) hydrazine (1 mmol, 0,1618 g) dans l'éthanol et ensuite (1 mmol, 0,1144 g) du 2-thiophène-carboxaldéhyde est ajouté à cette solution. Le mélange est chauffé à reflux à une température de 78°C pendant 16 h. Enfin, la solution est laissée à température ambiante jusqu'à séché. Le solide brun pur est formé après la recristallisation par le méthanol.

III.3.5. Synthèse de (2E) -1-(4-méthylphényl) -2-[(thiophène -3 yl) méthylidène]hydrazine (HYDZ-5)

HYDZ-5 est préparé de la même façon, en mélangeant la (4- méthylphényl) hydrazine (1 mmol, 0,1618 g) et du 3-thiophèncarboxaldéhyde (1 mmol, 0,1144 g) dans l'éthanol. Le mélange est chauffé à reflux pendant 33 h à une température de 78 °C. Enfin, la solution obtenue est refroidie à température ambiante et le solide brun résultant est lavé et purifié par du méthanol.

III.3.6. Synthèse de (1E) -1[(furan -2- yl) méthylidène] -2-(4 méthylphényl) hydrazine (HYDZ-6)

Selon le même mode opératoire que précédemment (**Figure III.3**), on dissout la (4- méthylphényl) hydrazine et le Furfural (1 mmol, 0,09706 g) dans l'éthanol. Le mélange obtenu est chauffé à reflux à une température de 78°C pendant 13 h. Enfin, le solide brun produit est purifié et recristallisé avec du méthanol.

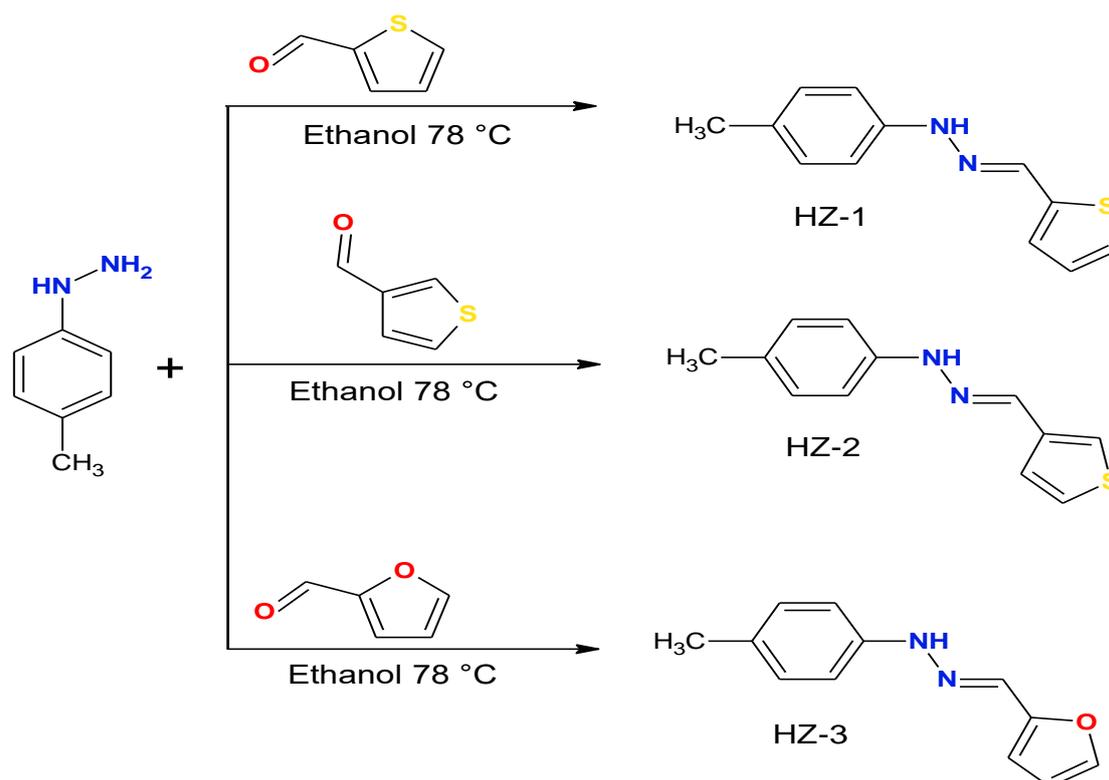


Figure III.3 : Schéma réactionnel de synthèse des hydrazones HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3.

III.3.7. Mécanisme réactionnel proposé

La **figure III.4** montre le mécanisme réactionnel proposé de nos réactions de synthèse :

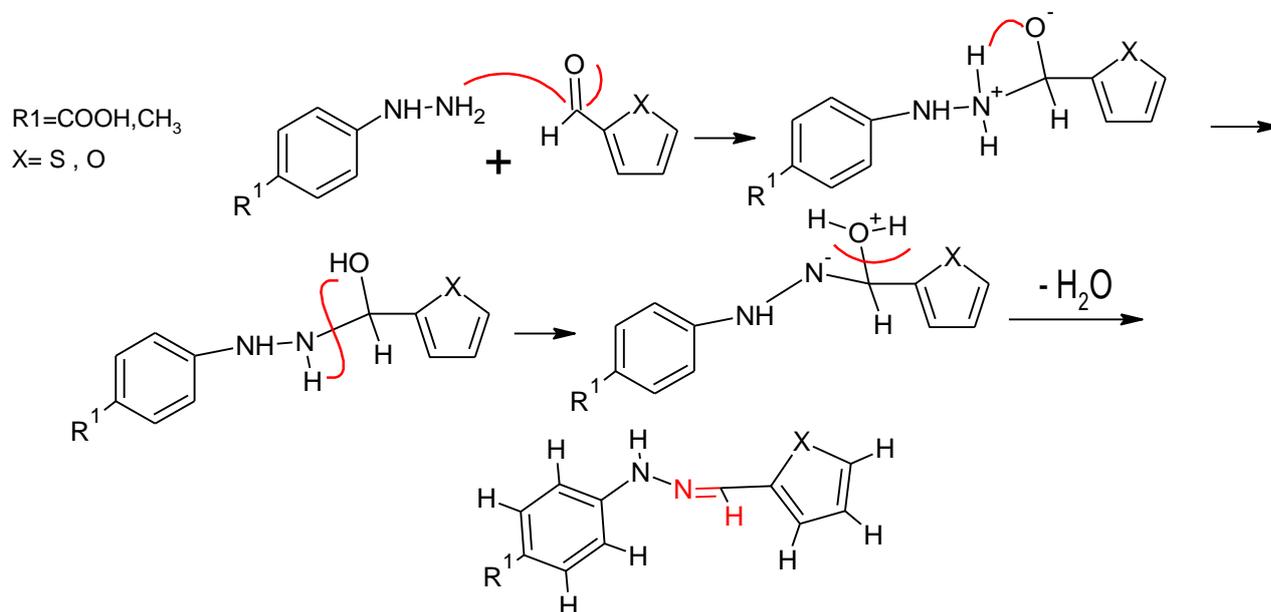


Figure III.4 : Mécanisme réactionnel proposé.

III.4. Caractérisation des produits synthétisés

III.4.1. Propriétés physiques des produits synthétisés

III.4.1.1. Analyse chromatographique par CCM

L'avancement des réactions de synthèse a été suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaques de gel de silice 60 F254 (Merck) (40-63 μm) en utilisant un mélange de dichlorométhane/d'acétate d'éthyle (4.5/0.5 ml) comme éluant pour les produits (HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3) et l'éther de pétrole/chloroforme (3/2 ml) comme éluant pour les autres produits. L'analyse des plaques sous une lampe UV permet de confirmer si les produits obtenus sont purs ou non. L'apparition d'une seule tache pour chaque produit synthétisé différente du produit de départ constitue le critère pour confirmer qu'un nouveau produit a été obtenu, tandis que la disparition d'un des produits de départ confirme que la réaction est irréversible, qu'elle est complète. Les rapports frontaux des produits de départ et des composés synthétisés calculés après la révélation des plaques CCM sont regroupés dans le Tableau III.2.

Tableau III 2: Rapports frontaux des produits de départ et les composés synthétisés analysés par CCM.

Produits	Rf	
	Série 1	Série 2
Acide 4-Hydrazinobenzoïque (R1)	0.3	
4- methylphenyl) hydrazine (R2)	0.28	
2-thiophénecarboxaldehyde (S1)	0.81	0.77
3-thiophénecarboxaldehyde (S2)	0.88	0.83
2-Furaldehyde (S3)	0.89	0.85
HYDZ-1	0.61	
HYDZ-2	0.50	
HYDZ-3	0.55	
HYDZ-4	0.62	
HYDZ-5	0.52	
HYDZ-6	0.59	

Les résultats présentés dans le tableau III.2, indiquent que les composés séparés sont différents entre eux-mêmes et avec ceux des produits de départ, les valeurs de Rf bien différentes révèlent la différence de polarité de ces composés, et indiquent que les produits synthétisés sont moins polaires que les réactifs de départ (aldéhydes), ils sont purs et faciles à séparer, leur polarité suit l'ordre croissant suivant :

$$\text{HYDZ-4 (0.62)} < \text{HYDZ-1(0.61)} < \text{HYDZ-6(0.59)} < \text{HYDZ-3(0.55)} < \text{HYDZ-5 (0.52)} < \text{HYDZ-2(0.50)}$$

III.4.1.2. Aspect, couleur et rendement

L'aspect les couleurs et les rendements des molécules synthétisées sont représentés dans la **figure III.1** et décrit dans le **tableau III. 3**.

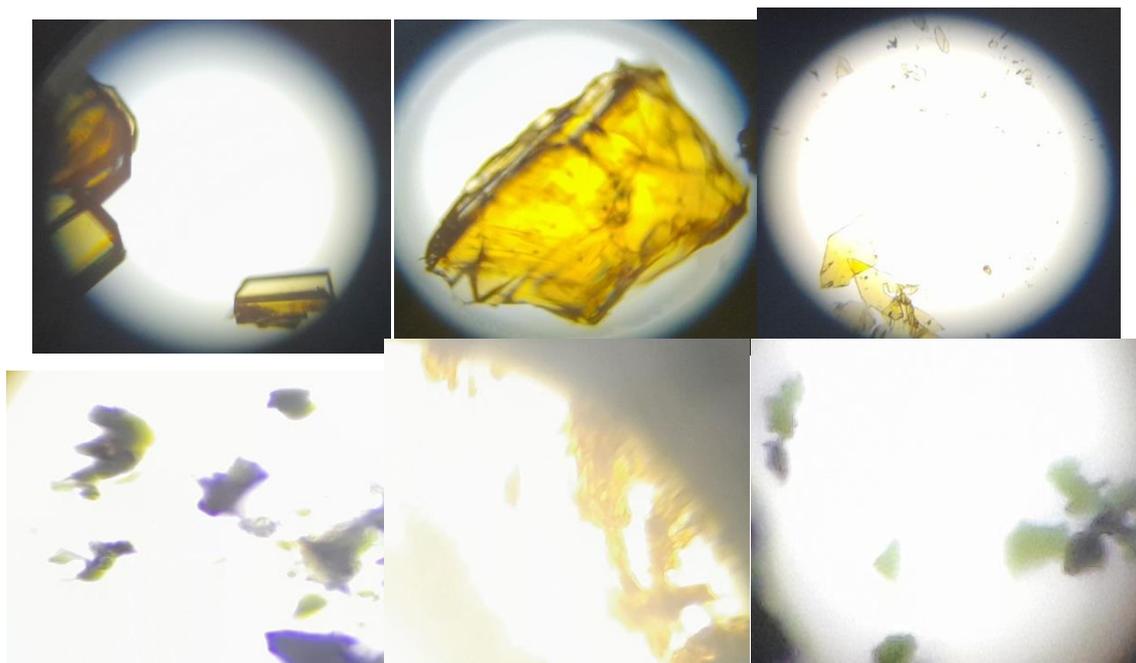


Figure III.5 : Représentation photographique de l'aspect des produits synthétisés.

Tableau III.3 : L'aspect, couleurs et rendements des composés synthétisés.

Produits	Aspects	Rendement
HYDZ-1	Cristaux jaunes	79%
HYDZ-2	Cristaux jaunes	77%
HYDZ-3	Cristaux jaune-marron	77%
HYDZ-4	Poudre cristalline noir brillante	80%
HYDZ-5	Poudre cristalline noir brillante	75%
HYDZ-63	Poudre cristalline noir brillante	88%

Les résultats obtenus montrent que l'HYDZ-1, l'HYDZ-2 et l'HYDZ-3 sont des solides cristallins de couleur jaune et marron clair alors que l'HYDZ-4, l'HYDZ-5 et l'HYDZ-6 sont des poudres cristallines noires (figure III 3), avec un bon rendement, allant de 75 à 88%.

III.4.1.3. Solubilité

La solubilité est une propriété importante qui donne une idée sur les solvants appropriés pour dissoudre nos produits afin de les utiliser facilement pour la caractérisation spectroscopique

(UV-Vis et RMN) et les applications biologiques. Le **tableau III.4** résume les résultats des tests de solubilité effectués.

Tableau III.4 : Tests de solubilité des hydrazones synthétisés dans quelques solvants.

Solvants Réactifs	Eau	Hexane	Ether de pétrole	Dichloro- méthane	Acétate d'éthyle	Chlorof- orme	EtOH	MeOH	DMSO
R1	Ins	Ins	Ins	Ins	solu	solu	Très solu	Très solu	Très solu
R2	Ins	Ins	Ins	Ins	solu	solu	Très solu	Très solu	Très solu
S1	Ins	Ins	solu	solu	solu	solu	Très solu	Très solu	Très solu
S2	Ins	Ins	Peu solu	solu	solu	solu	Très solu	Très solu	Très solu
S3	Ins	Ins	peu solu	solu	solu	solu	Très solu	Très solu	Très solu
HYDZ-1	Ins	Ins	Peu solu	Peu solu	Très solu	solu	Très solu	Très solu	Très solu
HYDZ-2	Ins	Ins	Peu solu	Peu solu	Très solu	solu	Très solu	Très solu	Très solu
HYDZ-3	Ins	Ins	Peu solu	Peu solu	Très solu	solu	Très solu	Très solu	Très solu
HYDZ-4	Ins	Ins	Ins	Peu solu	solu	solu	solu	Solu	solu
HYDZ-5	Ins	Ins	Ins	Peu solu	solu	solu	solu	Solu	solu
HYDZ-6	Ins	Ins	Ins	Peu solu	solu	solu	solu	Solu	solu

Ins : insoluble, **Peu solu** : peu soluble, **Très solu**: très soluble.

D'après ces résultats, les tests de solubilité révèlent que les produits synthétisés sont très solubles dans les solvants organiques polaires comme : l'éthanol, le méthanol, le DMSO,...etc. Mais ils sont insolubles dans les solvants apolaire comme : l'hexane, l'éther de pétrole... et que les produits obtenus sous forme de cristaux sont facilement solubles par

rapport aux produits obtenus sous forme de poudres cristallines et les six molécules synthétisées ne sont pas solubles dans l'eau.

III.4.1.4. Point de fusion

Les points de fusion des produits synthétisés et celles des produits de départ sont représentés dans le **Tableau III.5**.

Tableau III.5 : Températures de fusion des produits de départ et des produits synthétisés.

Produits de départ	T _f (°C)	Produits synthétisé	T _f (°C)
Acide 4-Hydrazinobenzoïque	216	HYDZ-1	240,01
4- methylphenyl hydrazine	/	HYDZ-2	252,1
2-thiophénecarboxaldehyde	10	HYDZ-3	187,9
		HYDZ-4	125,02
3-Thiophénecarboxaldehyde	-30,0	HYDZ-5	135,03
2-Furaldehyde	-39	HYDZ-6	197,7

On observe que les points de fusion (T_f) des produits synthétisés sont différents aux celles des produits de départ. Ces résultats révèlent l'obtention des nouveaux produits.

III.4.2. Propriétés spectroscopiques des produits synthétisés

III.4.2.1. Caractérisations par spectroscopie UV-Vis

Les spectres d'absorption UV-Vis des molécules synthétisées sont enregistrés dans le méthanol à température ambiante et dans le domaine allant de 100 à 700 nm. Dans ce contexte, les spectres UV-Vis obtenus des hydrazones synthétisées et leurs amines de départs sont présentés par les figures III.4 et Figure III.5. Nous avons comparé les spectres UV-Vis expérimentaux avec les spectres théoriques de nos molécules pour confirmer que la réaction est irréversible et qu'elle est complète.

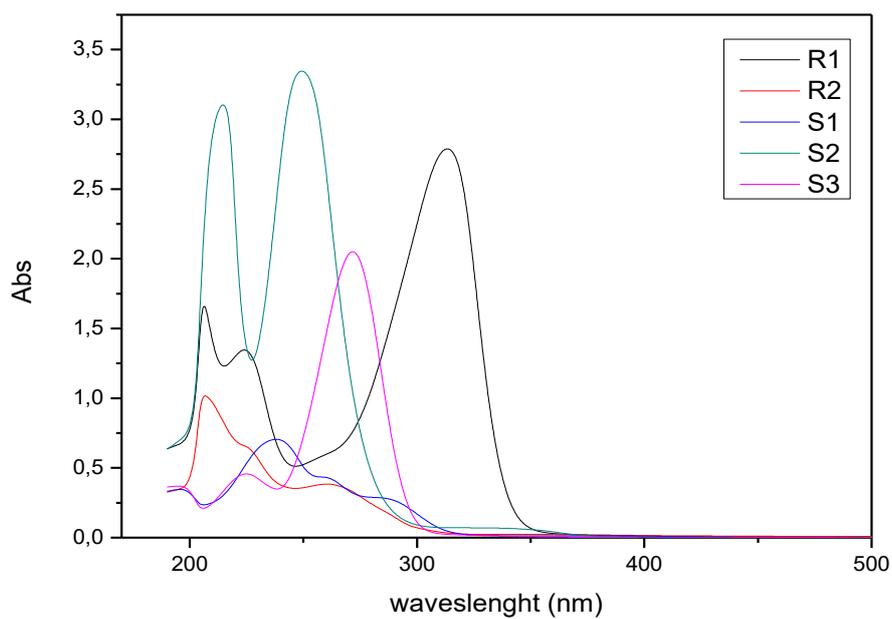
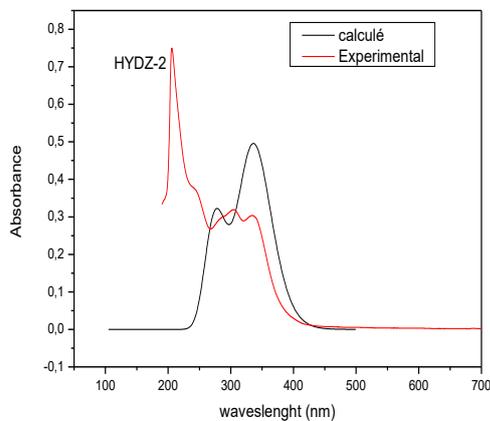
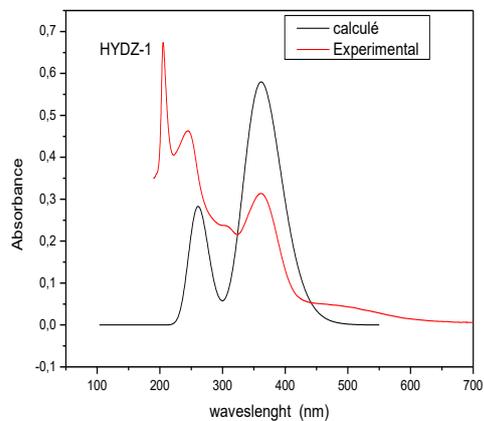


Figure III.6 : Spectres UV-Vis de R1, R2, S1,S2 et S3 enregistrés dans le méthanol.



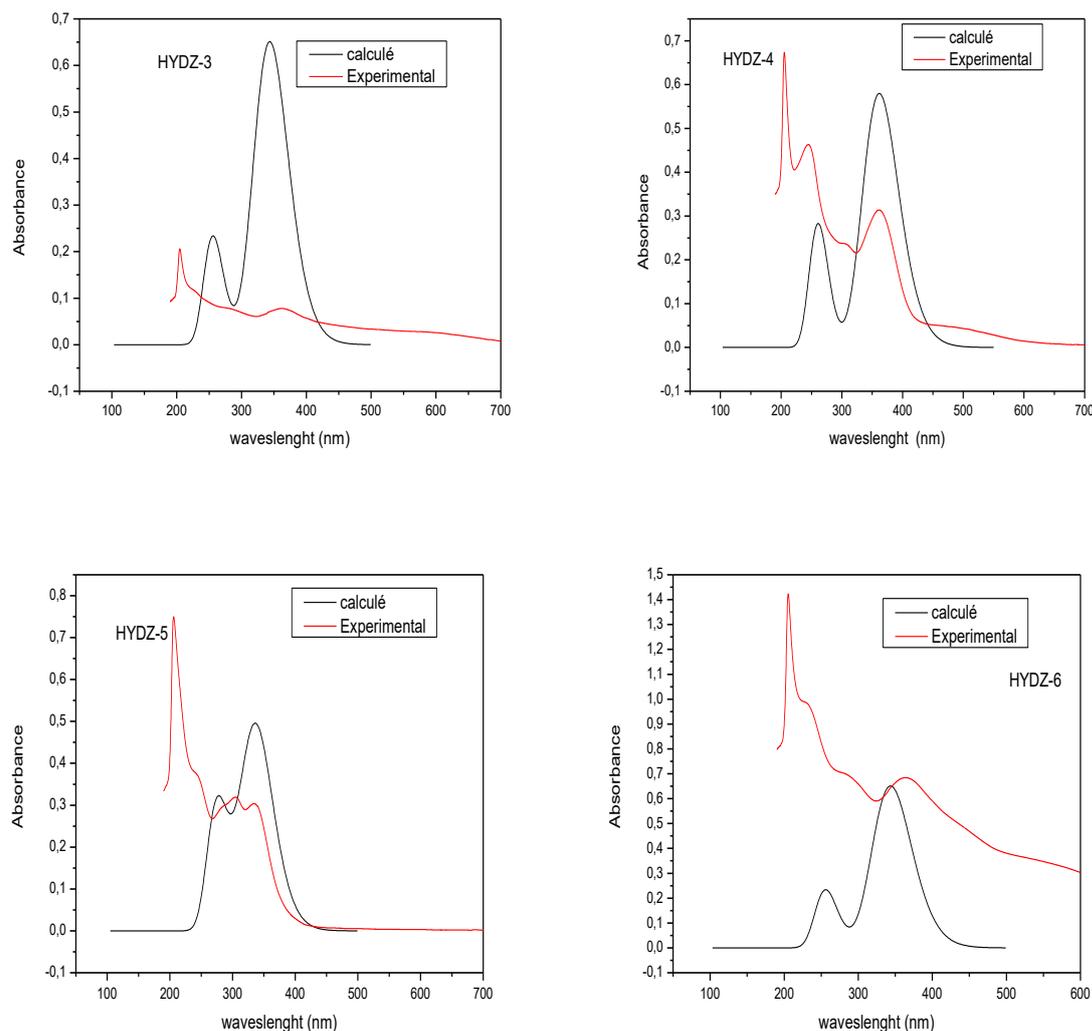


Figure III.7: Spectres UV-Vis de HYDZ-1, HYDZ-2, HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6 enregistrés dans le méthanol.

Selon les résultats présentés dans les figures III.6 et III.7 on observe que :

- Les spectres UV-Vis des produits de départ indiquent des bandes autour de 210-390 nm correspond à la transition électronique $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$ due à une conjugaison dans un système insaturé et à la présence des hétéroatomes (O, S et N) ;
- Les spectres expérimentaux de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3 illustrent des bandes à 202 nm, 204 nm et 204 nm, respectivement, correspondant aux transitions $n \rightarrow \pi^*$ produites par le groupe acide carboxylique (-COOH), où les électrons sautent de n orbitales non liantes à des orbitales π anti-liantes. De plus, les épaulements observés à 225 nm, 228 nm et 237 nm, respectivement, correspondent aux transitions $n \rightarrow \sigma^*$ créées par les groupes oxole et thiole [4]. D'autre part, les bandes apparues à 269 nm,

276 nm et 269 nm, respectivement, sont liées aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ du groupe C = C du cycle aromatique. Les épaulements obtenus à 300 nm, 302 nm et 303 nm, respectivement, représentent les transitions $n \rightarrow \pi^*$ associées au groupe (N–NH). Enfin, les spectres UV–Vis des trois hydrazones révèlent une large bande à 363 nm, 346 nm et 354 nm, respectivement, qui sont liées aux transitions $n \rightarrow \pi^*$ produites par le groupement imine (C=N) [5].

- Le spectre expérimental de HYDZ-4 montre qu'une bande à 204 nm correspond à la transition $n \rightarrow \pi^*$, dans laquelle l'orbitale électronique passe de l'orbitale non liante n à l'orbitale anti-liante π , puis un petit pic avec les transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ détectées à 245 nm correspondent au groupe C=C du cycle aromatique [5]. La bande affichée à 362 nm est attribuée à la transition $n \rightarrow \pi^*$ produite par le groupe imine (C=N) de l'hydrazone synthétique [6].
- Les spectres de HYDZ-5 et HYDZ-6 ont la même interprétation, et la bande affichée à 204 nm indique la transition $n \rightarrow \pi^*$ correspondant à l'orbitale de l'électron. De plus, les pics apparaissant à 304 nm et 286 nm correspondent au groupe C=C du cycle aromatique avec la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ [5]. Les bandes observées à 338 et 362 nm, respectivement, sont attribuées à la transition $n \rightarrow \pi^*$ produite par le groupe imine [6].
- Les spectres théoriques UV–Vis représentent un petit pic à 245, 279 et 276 nm, respectivement, qui est lié à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ du groupe C=C du cycle aromatique. Les bandes caractéristiques du groupement imine (C=N) pour les dérivés hydrazones étudiés sont apparues à 362 nm, 340 nm et 344 nm, respectivement. Nous concluons que les résultats théoriques d'UV–Vis des hydrazones étudiées sont en bon accord avec les résultats expérimentaux.

III.4.2.2. Caractérisations par spectroscopie infrarouge (FT-IR)

Nous avons analysé les produits synthétisés afin de pouvoir comparer les différents spectres caractéristiques des composés impliqués dans la synthèse correspondante. Les figuresci-dessous illustrent les spectres expérimentaux et théoriques d'IR-TF des hydrazones synthétisés.

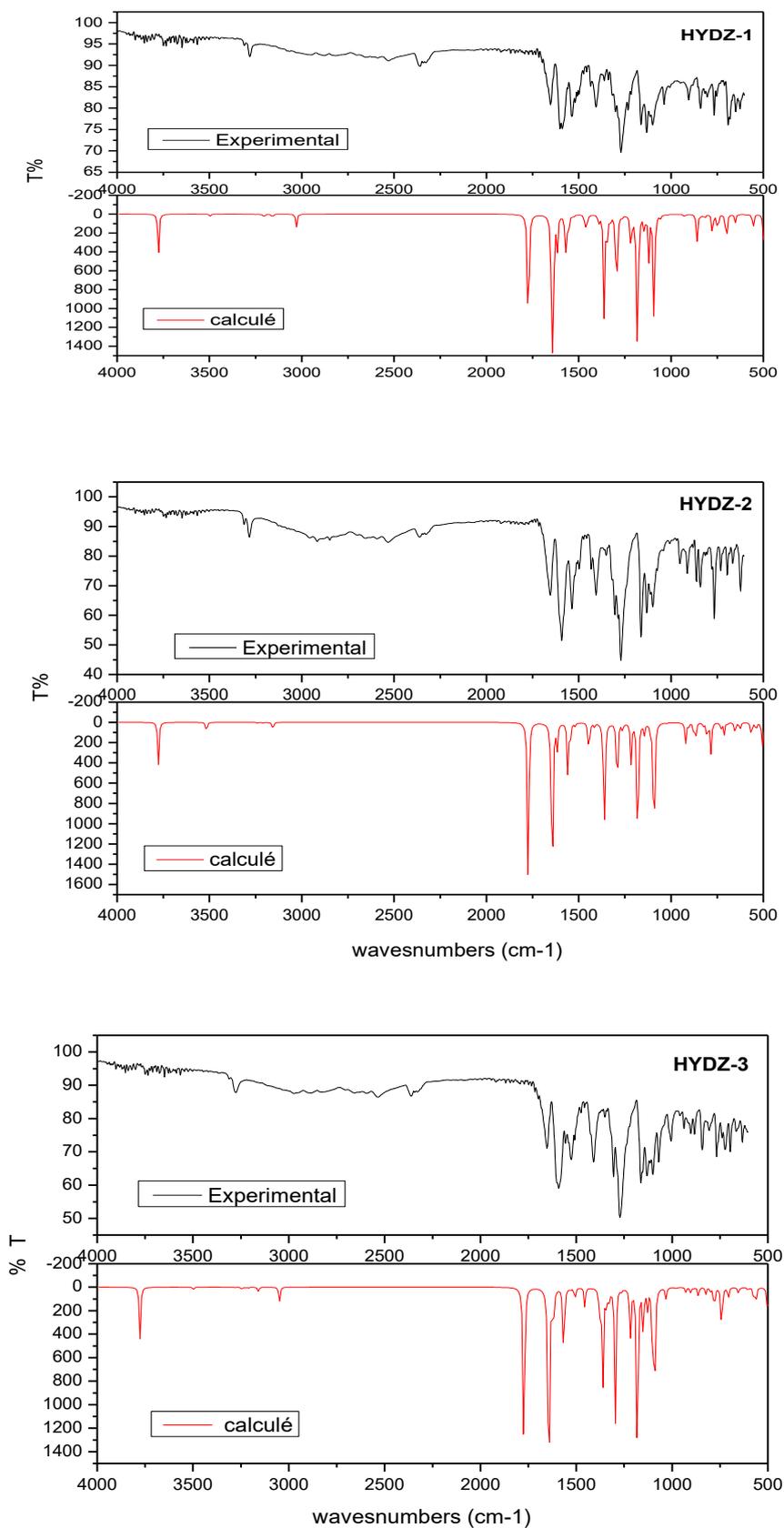


Figure. III.8: Spectres IR expérimentaux et calculés de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3.

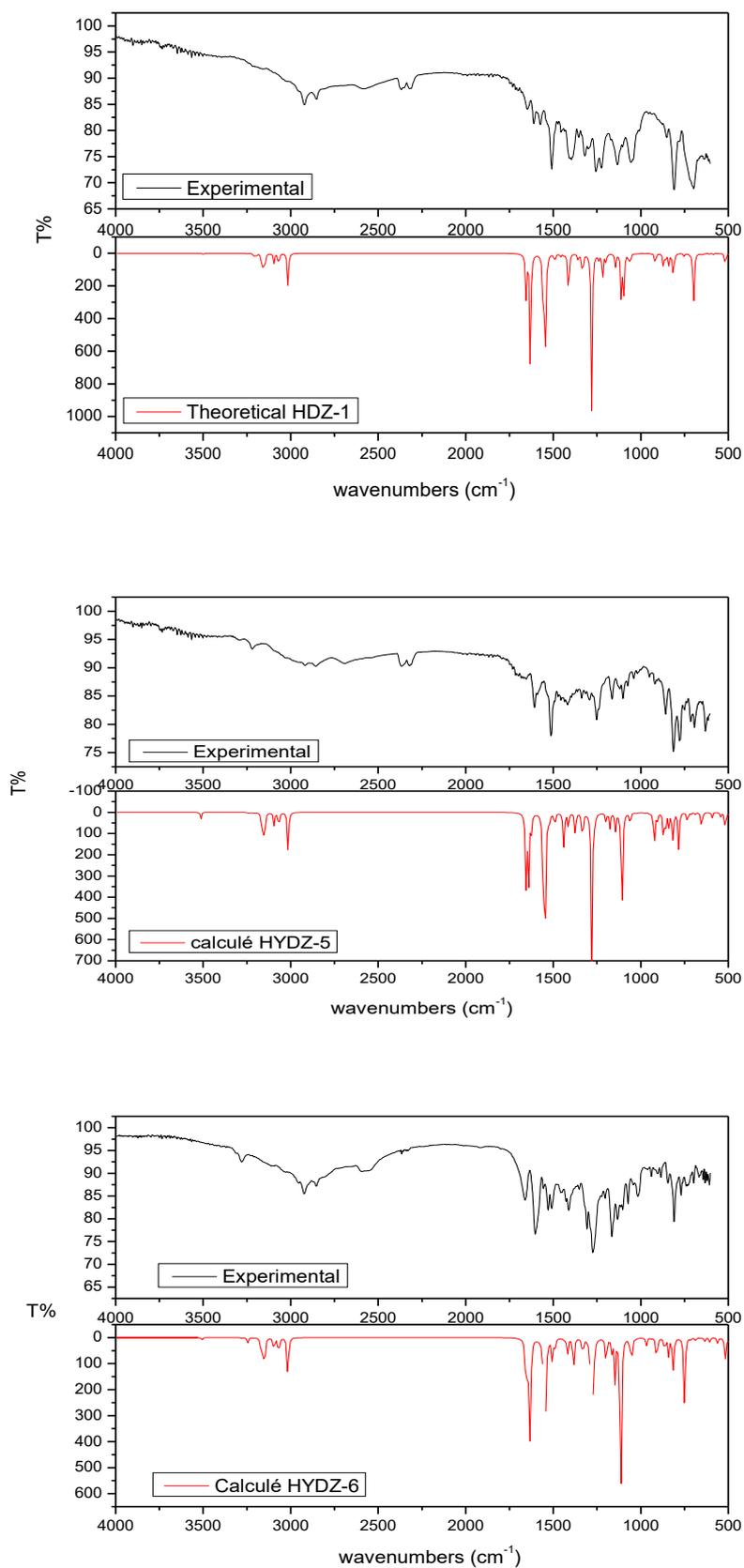


Figure. III.9: Spectres IR expérimentaux et calculés de HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6.

Les spectres IR expérimentaux et calculés de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6 sont présentés par les **Figures III.8** et **III.9**. De plus, les fréquences vibratoires obtenues et leurs groupes d'affectations de modes vibratoires sont présentés dans les **tableaux III.6** et **III.7**. D'autre part, un facteur d'échelle de 0,9614 a été utilisé pour mettre à l'échelle des fréquences calculées [7]. L'examen des résultats de ces tableaux montre que les fréquences théoriques mises à l'échelle sont en bon accord avec les fréquences expérimentales.

L'étude des spectres expérimentaux des hydrazones synthétisées montre l'existence des modes vibrationnels suivants :

Tableau III.6 : Fréquences théoriques et expérimentales de vibrations sélectionnées de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3.

Composés	HYDZ-1			HYDZ-2			HYDZ-3			
	Attribution	Fréquences Expérimentales (cm ⁻¹)	Fréquences Théoriques (cm ⁻¹)		Fréquences Expérimentales (cm ⁻¹)	Fréquences Théoriques (cm ⁻¹)		Fréquences Expérimentales (cm ⁻¹)	Fréquences Théoriques (cm ⁻¹)	
			Non ajustés	Ajustés		Non ajustés	Ajustés		Non ajustés	Ajustés
(N-H)	3311	3497	3362	3313	3516	3380	3312	3498	3362	
$\nu_{(C-H)Ar}$	3276	3248	3314	3282	3238	3113	3277	3244	3118	
$\nu_{(C-H)Alph}$	2930	3029	2912	2954	3153	3031	2975	3049	2931	
$\nu_{(C=O)}$	1661	1773	1704	1654	1774	1705	1650	1773	1704	
$\nu_{(C=N)}$	1593	1646	1582	1593	1651	1587	1590	1643	1579	
$\nu_{(C-N)}$	1273	1295	1245	1268	1291	1241	1272	1296	1245	
(N-N)	1138	1193	1146	1150	1097	1054	1162	1218	1170	
$\nu_{(C-O)}$	1090	1091	1048	1091	1090	1047	1095	1102	1059	
$\nu_{(C-S)}$	852	858	824	852	823	791	-	-	-	
$\rho_{out(C-H)}$	762	701	673	771	652	626	734	743	714	
$\rho_{out(N-H)}$	685	642	617	627	442	424	674	500	480	

ν : élongation, ρ_{out} : flexion hors plane.

Tableau III.7: Fréquences théoriques et expérimentales de vibrations sélectionnées de HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6.

Composés	HYDZ-4			HYDZ-5			HYDZ-6			
	Attribution	Fréquences Expérimentales (cm ⁻¹)	Fréquences Théoriques (cm ⁻¹)		Fréquences Expérimentales (cm ⁻¹)	Fréquences Théoriques (cm ⁻¹)		Fréquences Expérimentales (cm ⁻¹)	Fréquences Théoriques (cm ⁻¹)	
			Non ajustés	Ajustés		Non ajustés	Ajustés		Non ajustés	Ajustés
(N-H)	3206	3499	3363	3297	3512	3376	3282	3507	3371	
$\nu_{(C-H)Ar}$	2920	3148	2919	2922	3146	3024	2924	3156	3034	
$\nu_{(C-H)Alph}$	2852	3015	2898	2859	3014	2897	2840	3016	2899	
$\nu_{(C=N)}$	1611	1630	1567	1607	1641	1577	1665	1635	1571	
$\nu_{(C=C)}$	1508	1556	1495	1512	1546	1486	1597	1592	1530	
$\nu_{(CH_3)}$	1398	1489	1431	1416	1488	1430	1415	1493	1435	
(C-N)	1331	1280	1230	1252	1279	1229	1303	1280	1230	
$\nu_{(C-O)}$	/	/	/	/	/	/	1276	1197	1150	
$\nu_{(N-N)}$	1147	1110	1067	1163	1144	1099	1154	1111	1068	
$\nu_{(C-C)}$	1041	1071	1029	1074	1027	987	1013	1028	988	
$\nu_{(C-S)}$	809	859	825	814	870	836	/	/	/	
$\rho_{out(N-H)}$	485	484	465	490	434	417	592	459	441	

ν : élongation, ρ_{out} : flexion hors plane.

➤ **Acide 4-((2E)-2-[(thiophène-2-yl)méthylidène]hydrazinyl)benzoïque**

Des petits pics à 3502 et 3311 cm⁻¹ sont attribués aux vibrations d'élongation O–H et N–H, respectivement. Un faible pic apparu à 3276 cm⁻¹ peut être référé à la vibration d'élongation des groupes C–H aromatiques. Les vibrations d'élongation des groupements aliphatiques C–H correspondent au pic le moins intense apparu à 2930 cm⁻¹. La présence de pics dans la zone de 1600–2000 cm⁻¹ est principalement due à la vibration de flexion des groupes C=N ou C=C aromatiques. Le pic caractéristique de HYDZ-1 est observé comme un pic très intense à 1593 cm⁻¹ qui est attribué à la vibration d'élongation du groupe imine (C=N). De plus, les pics d'intensité moyenne obtenus dans la région 1200–1273 cm⁻¹ peuvent expliquer la vibration des groupes C–N. Les pics détectés dans la région 1100–1138 cm⁻¹ pourraient être attribués à la présence du groupe fonctionnel N–N. Le pic mince intense situé à 685 cm⁻¹ peut être dû à la vibration de flexion N–H [6, 8].

➤ **Acide 4-((2E)-2-[(thiophén-3-yl)méthylidène]hydrazinyl)benzoïque**

Des petits pics situés à 3524 et 3313 cm⁻¹ pourraient être attribués respectivement aux vibrations d'étirement O–H et N–H. Un petit pic apparu à 3282 cm⁻¹ peut être présent la

vibration des groupements C–H aromatiques. Les vibrations d'étirement des groupes C–H aliphatiques correspondent au pic moins intense apparu à 2954 cm^{-1} . La présence de pics dans la zone de 1600 à 2000 cm^{-1} est principalement due à la vibration de flexion des groupes fonctionnels C=N ou C=C aromatiques. Le pic caractéristique de HYDZ-2 est observé comme un pic très intense à 1593 cm^{-1} qui est attribué à la vibration d'étirement du groupe hydrazone (C=N–N). De plus, les pics d'intensité moyenne obtenus dans la région 1200 – 1268 cm^{-1} peuvent expliquer la vibration du groupe C–N. Les pics observés dans la région 1100 – 1150 cm^{-1} présentent la vibration du groupe fonctionnel N–N. La vibration de flexion N–H est observée sous la forme d'un pic mince intense à 627 cm^{-1} .

➤ **Acide 4-((2E)-2-((furan-2-yl)méthylidène)hydrazinyl)benzoïque**

Les petits pics situés à 3564 et 3312 cm^{-1} sont respectivement attribués aux vibrations d'étirement des groupes O–H et N–H. De plus, les vibrations d'étirement des groupes aromatiques C–H apparaissent sous la forme d'un faible pic à 3277 cm^{-1} . D'autre part, les vibrations d'étirement des groupes C–H aliphatiques sont observées comme un pic moins intense à 2975 cm^{-1} . Généralement, les vibrations de flexion des groupes C=N et C=C aromatiques sont obtenues dans la plage de 1600 – 2000 cm^{-1} . Le pic très intense situé à 1590 cm^{-1} représente le pic caractéristique de l'HYDZ-3, qui fait référence à la vibration d'étirement du groupe imine (C=N). De plus, les vibrations d'étirement du groupe C–N apparaissent sous forme de pics moyens dans la région de 1200 – 1272 cm^{-1} . Généralement, les pics caractéristiques des vibrations du groupe N–N se situent entre 1100 et 1162 cm^{-1} . Enfin, le pic mince intense situé à 674 cm^{-1} peut être associé à la vibration de flexion N–H.

➤ **(2E)-1-(4-méthylphényl)-2-((thiophen-2-yl)méthylidène)hydrazine (HYDZ-4)**

Le mode vibrationnel du groupement amine apparaît comme un pic faible à 3206 cm^{-1} . De plus, les pics détectés à 2920 cm^{-1} et 2852 cm^{-1} peuvent être référés à la vibration du groupe C–H aliphatique. L'existence de pics dans la région de 1600 – 2000 cm^{-1} est principalement due à la vibration de flexion des liaisons C=N ou C=C aromatiques. Le pic caractéristique de l'hydrazone synthétique est observé à 1611 cm^{-1} , ce qui est dû à la vibration d'étirement du groupe imine (C=N). Le pic observé à 1508 cm^{-1} est lié à la vibration d'étirement du groupe C=C aromatique. De plus, le pic modéré obtenu à 1398 cm^{-1} peut expliquer la vibration du groupe CH_3 . Les pics détectés dans la région de 1147 – 1090 cm^{-1} peuvent être attribués à la présence du groupe N–N. Le fort pic mince situé à 485 cm^{-1} peut être dû à la vibration du groupe N–H [6].

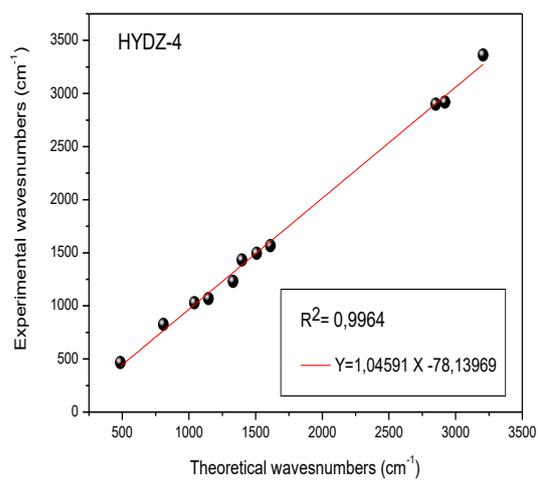
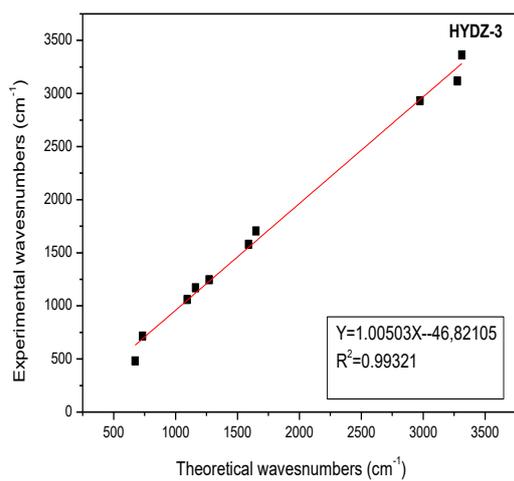
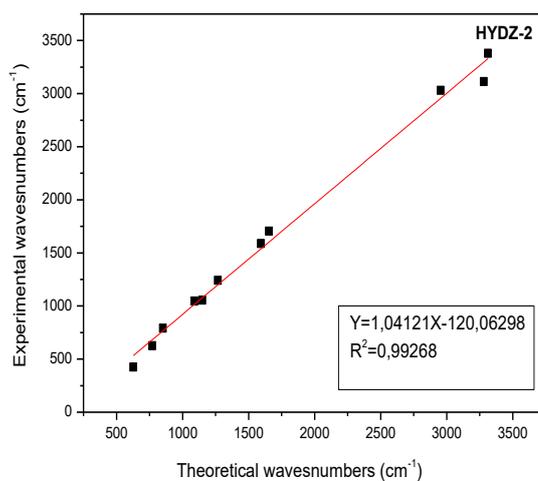
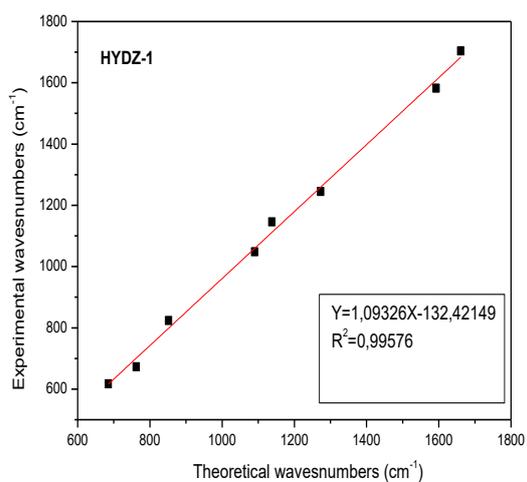
➤ **(2E) -1-(4-méthylphényl) -2-[(thiophén -3 yl) méthylidène]hydrazine (HYDZ-5)**

Le pic situé à 3297 cm^{-1} peut être attribué à la vibration N–H. Un petit pic apparu à 2922 cm^{-1} , peut être attribué aux vibrations d'étirement du groupe C–H aromatique. Le pic caractéristique du groupe C–H aliphatique apparaît sous la forme d'un petit pic à 2859 cm^{-1} . Les pics obtenus dans la région de $1600\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$ sont principalement dus à la vibration de flexion des groupes C=N ou C=C aromatiques. Le pic intense observé à 1607 cm^{-1} est attribué aux vibrations d'étirement du groupe imine (C=N), tandis que le pic apparu à 1512 cm^{-1} est dû aux vibrations du groupe C=C aromatique. De plus, un pic observé à 1416 cm^{-1} peut expliquer la vibration du groupe CH₃. Les pics détectés dans la région de $1252\text{--}1163\text{ cm}^{-1}$ montrent la vibration des groupes C–N et N–N. Le pic fin situé à 490 cm^{-1} peut être dû à la vibration du groupe N–H [6].

➤ **(1E) -1[(furan -2- yl) méthylidène] -2-(4 méthylphényl) hydrazine (HYDZ-6).**

Le petit pic situé à 3282 cm^{-1} est dû à la vibration d'étirement N–H. Nous avons l'existence de vibrations d'étirement des C–H aromatiques et aliphatiques à 2924 cm^{-1} et 2840 cm^{-1} , respectivement. Les pics situés à 1665 cm^{-1} et 1597 cm^{-1} sont principalement dus à la vibration de flexion du groupe caractéristique de l'hydrazone C=N et des groupes C=C aromatiques, respectivement. La vibration d'étirement du groupe CH₃ est attribuée au pic à 1415 cm^{-1} . Les pics apparus à 1303 et 1276 cm^{-1} sont associés aux groupes C–N et C–O. La vibration d'étirement caractéristique du groupe N–N peut s'expliquer par le pic apparu à 1154 cm^{-1} . Le petit pic marqué à 592 cm^{-1} peut être dû à la vibration du groupe N–H [6].

La **figure III.10** montre l'ajustement linéaire de la variation des fréquences théoriques de mise à l'échelle par rapport aux résultats expérimentaux. Généralement, des lignes droites ont été obtenues entre les fréquences théoriques et expérimentales avec des coefficients de corrélation de $R^2 = 0,9957$, $R^2 = 0,9926$, $R^2 = 0,9932$, $R^2 = 0,9964$, $R^2 = 0,9985$ et $R^2 = 0,9975$, respectivement, de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6. Nous observons que les valeurs obtenues de R^2 sont approximativement égales à 1, indiquant que les fréquences théoriques de mise à l'échelle sont en bon accord avec les fréquences expérimentales.



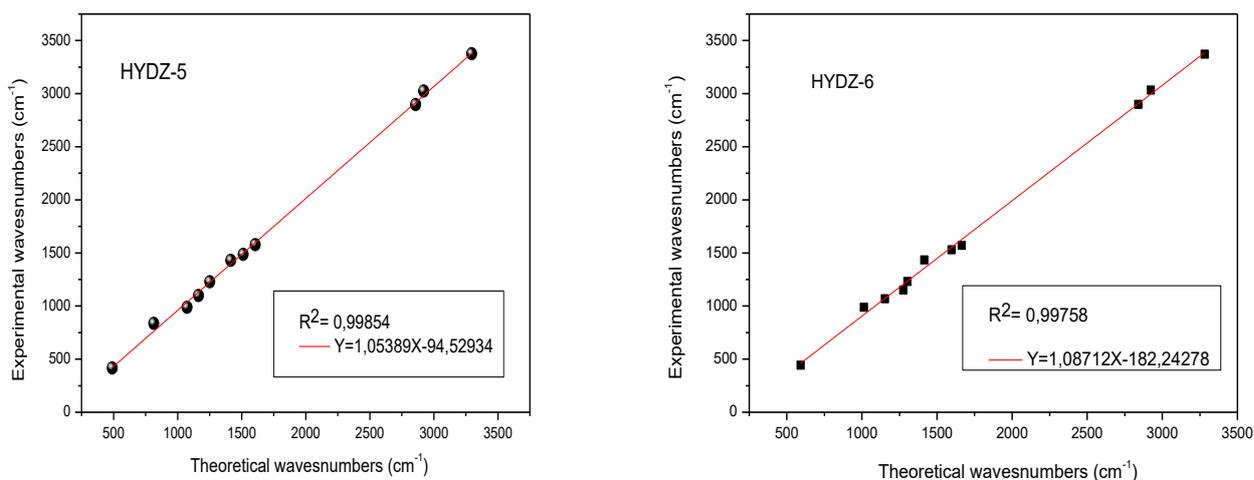


Figure III.10: Diagrammes de corrélation entre les nombres d'onde théoriques et expérimentaux de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6.

III.4.2.3. Analyse par la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire RMN

Les structures chimiques des composés synthétisés ont été déterminées sur la base de leurs données spectrales RMN. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm. La grande solubilité des produits synthétisés dans le DMSO explique notre choix d'utiliser le DMSO déterré (DMSO-*d*₆) comme solvant.

Les spectres RMN des molécules étudiées présentent une superposition de résonance de seconde ordre [9-11] due ou présence de deux aryles (phénol et thiophène).

Les deux figures III.11 et III.12 représentent les spectres RMN ¹H des produits de synthèses. Le solvant utilisé est le DMSO-*d*₆, qui indique un pic très long apparu aux environs 2.5 ppm (multiplet) dans l'RMN ¹H et 40 ppm (multiplet) dans l'RMN ¹³C.

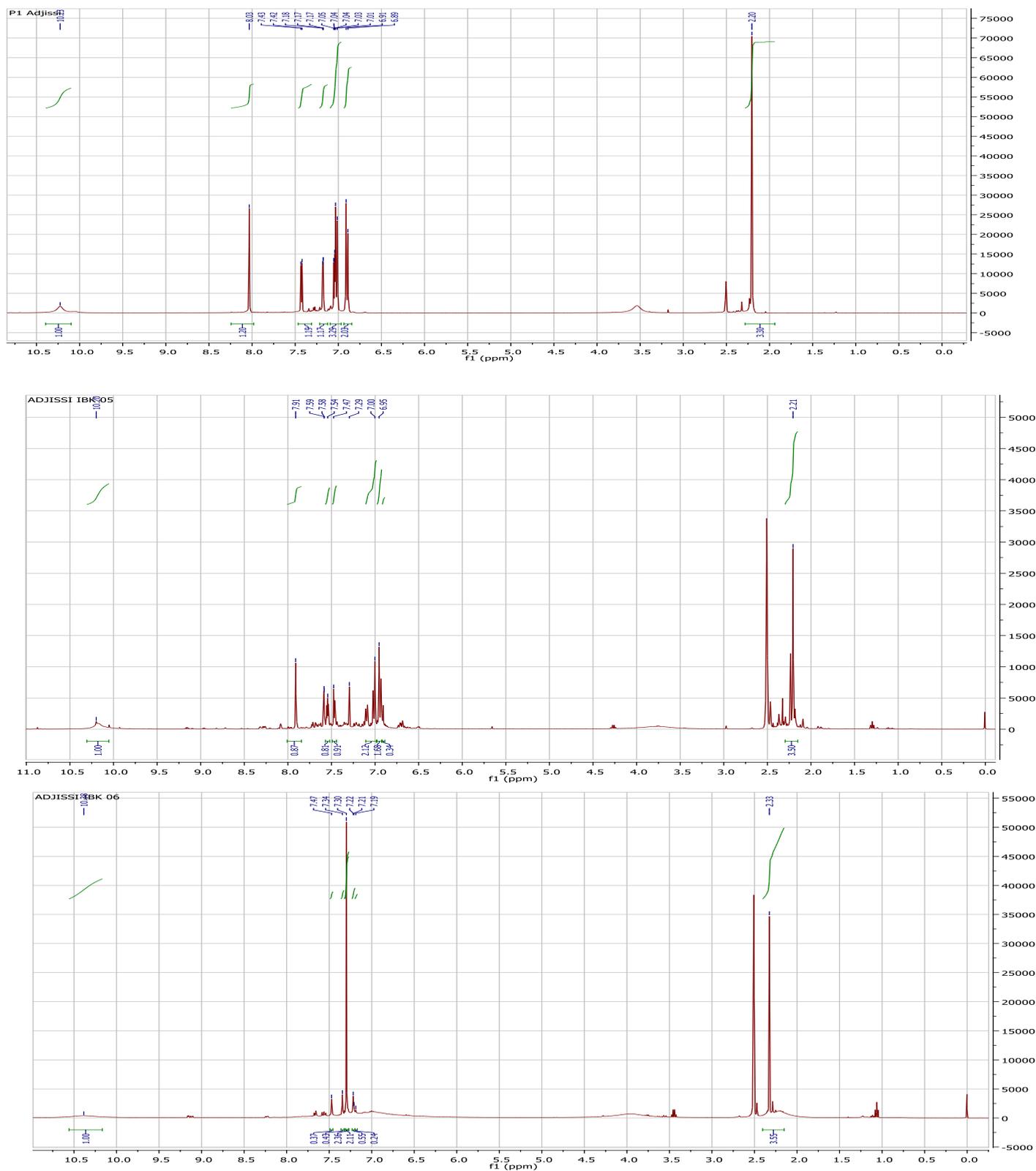


Figure III.12: Spectres expérimentaux d'RMN H¹ de HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6.

➤ **Pour HYDZ-1**

RMN H^1 (400 MHz, DMSO, δ (ppm)): 7.01 (s, 1H, -CHAr5), 7.10 (s, 1H, CHAr3), 7.30 (d, 2H, CHAr8, -CHAr9), 7.55 (s, 1H, CHAr4 -S), 7.83 (d, 2H, CHAr10, -CHAr11), 8.15 (s, 1H, CH=N), 10.75 (s, 1H, -NH-N), 12.23 (s, 1H, O-H) ;

➤ **Pour HYDZ-2**

RMN H^1 (400 MHz, DMSO, δ (ppm)): 7.09 (s, 1H, -CHAr15), 7.53 (s, 1H, -CHAr11-S), 7.58 (d, 2H, CHAr2, -CHAr3), 7.73 (s, 1H, CHAr4 -S), 7.82 (d, 2H, CHAr4, -CHAr5), 8.01 (s, 1H, CH=NH), 10.64 (s, 1H, -NH-N), 11.91 (s, 1H, O-H).

➤ **Pour HYDZ-3**

RMN H^1 (400 MHz, DMSO, δ (ppm)): 6.58 (s, 1H, -CHAr13), 6.74 (s, 1H, CHAr11), 7.06 (d, 2H, CHAr2, -CHAr3), 7.75 (s, 1H, CHAr12-O), 7.83 (d, 2H, CHAr4, -CHAr5), 7.85 (s, 1H, CH=N-), 10.75 (s, 1H, -NH-N), 12.23 (s, 1H, O-H) ;

➤ **Pour HYDZ-4**

RMN H^1 (400 MHz, DMSO, δ (ppm)): 2.23 (t, 3H , -CH₃), 6.90 (s, 1H , -CHAr3), 7.03 (d, 2H , CHAr8, -CHAr9), 7.19 (s, 1H , CHAr5), 7.29 (d, 2H , CHAr10, -CHAr11), 7.30 (s, 1H , CHAr4 -S), 8.05 (s, 1H , CH= N), 10.38 (s, 1H , -NH-N).

➤ **Pour HYDZ-5**

RMN H^1 (400 MHz, DMSO, δ (ppm)): 2.21 (t, 3H , -CH₃), 6.90 (s, 1H , -CHAr514), 6.95 (d, 2H , CHAr2, -C H AR3), 7.11 (d, 2H , CHAr4, -CHAr5), 7.47 (s, 1H , CHAr10), 7.54 (s, 1H , CHAr13), 7.91 (s, 1H , CH=N), 10.20 (s, 1H , -NH-N).

➤ **Pour HYDZ-6**

RMN H^1 (400 MHz, DMSO, δ (ppm)): 2.33 (t, 3H , -CH₃), 7.19 (s, 1H , -CHAr11), 7.20 (s, 1H, CHAr13), 7.22 (d, 2H , CHAr2, -CHAr3), 7.30 (d, 2H , CHAr4, -CHAr5), 7.34 (s, 1H , CHAr12 -O), 7.47 (s, 1H , CH=N), 10.38 (s, 1H , -NH-N).

Les déplacements chimiques observés d'après l'analyse des spectres RMN C^{13} des molécules synthétisées sont présentés dans les figures III.13 et III.14:

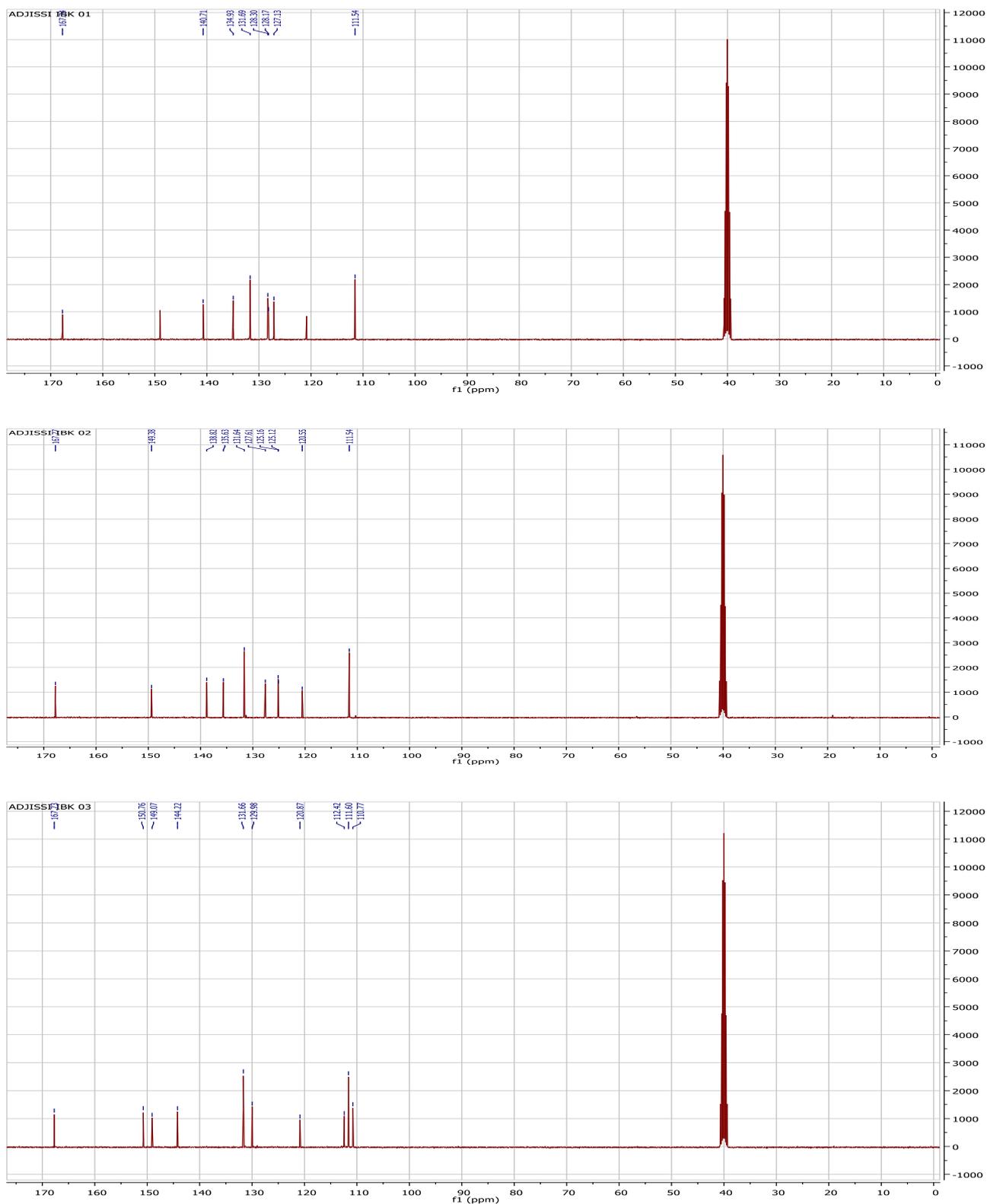


Figure III.13: Spectres expérimentaux d'RMN C¹³ de l'HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3.

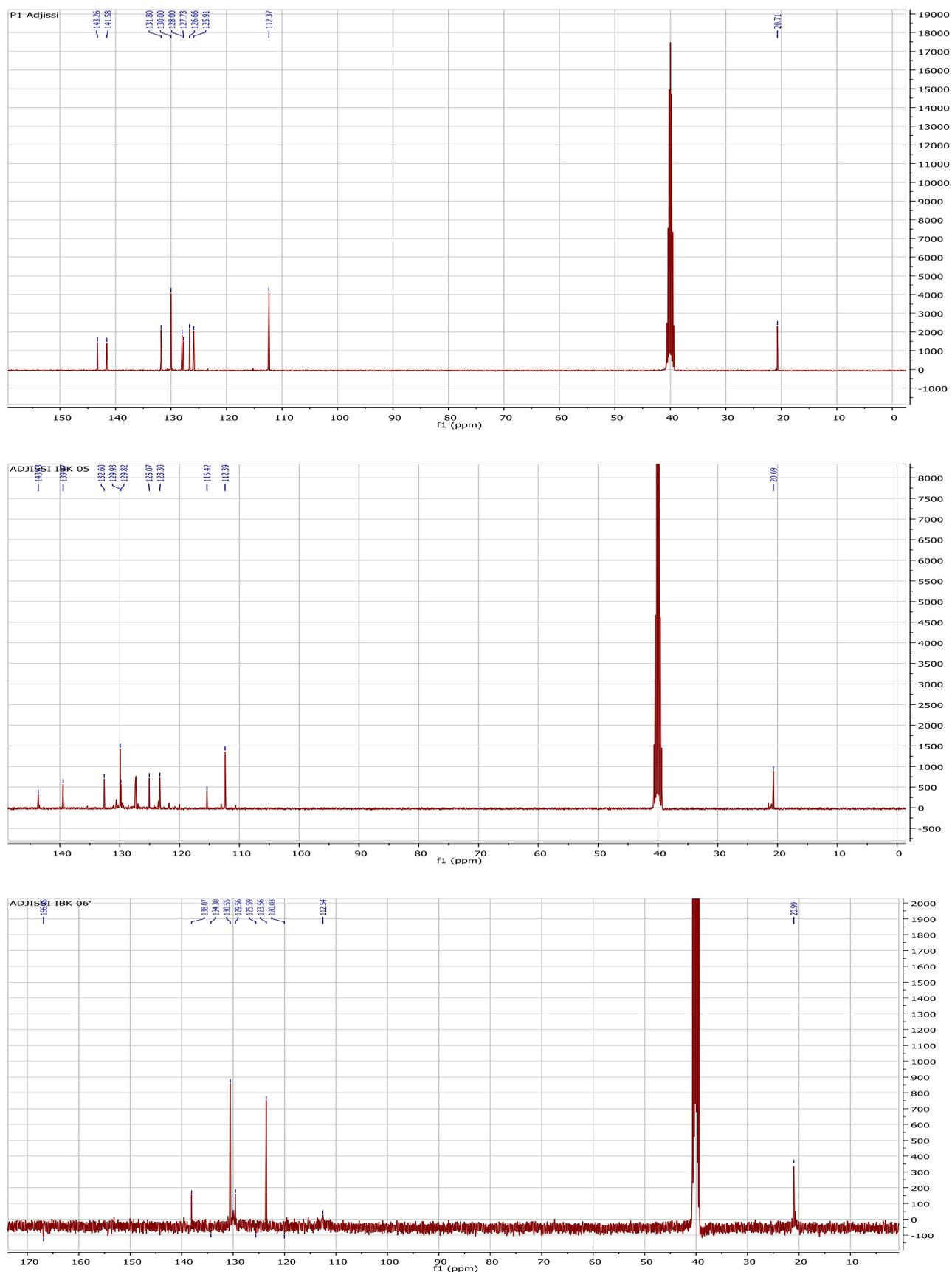


Figure III.14: Spectres expérimentaux d'RMN C¹³ de l'HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6.

➤ **Pour HYDZ-1**

RMN C^{13} : (75 MHz, DMSO, δ (ppm)): 111.54 (d, 2C, CHAr10, -CHAr11), 120.84 (s, 1C, CAr12), 127.13 (s, 1C, CHAr5), 128.17 (s, 1C, -CH=N-N-), 128.30 (s, 1C, CHAr4-S), 131.69 (d, 2C, CAr10, -CAr11), 134.93 (s, 1C, CHAr3), 140.71 (s, 1C, CAr1-S), 148.99 (s, 1C, CAr7-NH), 167.74 (s, 1C, COOH).

➤ **Pour HYDZ-2**

RMN C^{13} (75 MHz, DMSO, δ (ppm)): 111.54 (d, 2C, CHAr2, -CHAr3), 120.55 (s, 1C, CAr6), 125.12 (s, 1C, CHAr11-S), 125.16 (s, 1C, CHAr13), 127.61 (s, 1C, CHAr14-S), 131.64 (d, 2C, CAr4, -CAr5), 135.63 (s, 1C, CHAr15), 138.82 (s, 1C, C16=N-), 149.38 (s, 1C, CAr1-NH), 167.77 (s, 1C, COOH).

➤ **Pour HYDZ-3**

RMN C^{13} (75 MHz, DMSO, δ (ppm)): 110.77 (s, 1C, CHAr11), 111.60 (d, 2C, CHAr2, -CHAr3), 112.42 (s, 1C, CHAr13), 120.87 (s, 1C, CAr6), 129.98 (s, 1C, CHAr12-O), 131.66 (d, 2C, CAr4, -CAr5), 144.22 (s, 1C, CAr14=N-), 149.07 (s, 1C, CAr9-O), 150.76 (s, 1C, CAr1-NH), 167.73 (s, 1C, COOH).

➤ **Pour HYDZ-4**

RMN H^{13} (75 MHz, DMSO, δ (ppm)): 20.77 (s, 1C, CH₃), 112.38 (d, 2C, CHAr8, -CHAr9), 123.59 (s, 1C, -CH=N-N-), 125.89 (s, 1C, CHAr3), 128.00 (s, 1C, -CHAr1-S), 129.62 (d, 2C, CAr10, -CAr11), 130.56 (s, 1C, CAr5), 131.81 (s, 1C, CHAr12, -CH₃), 141.60 (s, 1C, CH-NH), 143.25 (s, 1C, CAr4-S).

➤ **Pour HYDZ-5**

RMN H^{13} (75 MHz, DMSO, δ (ppm)): 20.69 (s, 1C, CH₃), 112.39 (d, 2C, CHAr2, -CHAr3), 115.42 (s, 1C, CAr14-S), 123.30 (s, 1C, CAr10-S), 125.67 (s, 1C, -CHAr13), 129.82 (s, 1C, CAr12), 129.93 (d, 2C, CAr4, -CAr5), 132.60 (s, 1C, CHAr6, -CH₃), 139.40 (s, 1C, CH-NH), 143.05 (s, 1C, -CH=N-N).

➤ **Pour HYDZ-6**

RMN H^{13} (75 MHz, DMSO, δ (ppm)): 20.09 (s, 1C, CAr12), 112.38 (s, 1C, -CH=N-N-), 120.03 (d, 2C, CHAr10, -CHAr11), 123.5 (s, 1C, CHAr5), 125.59 (s, 1C, -CH), 139.56 (d, 2C, CAr10, -CAr11), 130.55 (s, 1C, CAr1), 134.30 (s, 1C, CH-CH₃), 138.07 (s, 1C, CH-NH), 166.6 (s, 1C, CAr1-S).

III.5. Conclusion

Les structures chimiques des molécules synthétisées ont été confirmées par différentes méthodes physicochimiques et spectroscopiques. Des études expérimentales ont été menées sur six produits de synthèse pour évaluer leurs activités biologiques.

CHAPITRE IV

ACTIVITE

BIOLOGIQUES DES

PRODUITS

SYNTHETISES

IV.1. Introduction

Ce chapitre est consacré aux résultats de l'évaluation *in vitro* des activités biologiques des dérivés hydrazones synthétisés. En premier temps on a évalué l'activité antioxydante par différentes méthodes (DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP et phenantroline). Nous avons également étudié leur capacité anti-enzymatique notamment, leur activité anti Alzheimer (ACH et BCH), antidiabétique (alpha amylase) et antiulcéreuse (Uréase) ainsi que leur activité anti-inflammatoire, SPF et antimicrobienne.

IV.2. Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

Un antioxydant est une molécule qui ralentit ou empêche l'oxydation d'une autre substance chimique et transforme les radicaux en composés plus stables.

La capacité antioxydante des molécules synthétisées a été évaluée par plusieurs méthodes complémentaires. Ces tests sont basés sur la différence de mécanisme d'action. Il est important d'utiliser plusieurs méthodes pour prouver l'efficacité d'un produit et son mécanisme d'action comme la capacité réductrice et le piégeage des radicaux libres...etc.

Dans ce contexte, on a fait les testes suivants avec une concentration de (**4mM = 1mg**): la capacité de piégeage des radicaux (DPPH et ABTS), la capacité réductrice des ions cuivriques (CUPRAC) et ferriques (FRAP et PHENANTHROLINE).

IV.2.1. Activité de piégeage de radical DPPH

Le test DPPH (2,2 diphényl-1-picryl hydrazyl) est basé sur la capacité des substances antioxydants à donner un électron ou un atome d'hydrogène au radicale synthétique DPPH comme indique la figure IV.1. En effet, la réduction du DPPH est facilement mesurée par spectrophotométrie à une bande d'absorption à 517 nm (λ_{\max} du DPPH) [1,2]. Cette réduction se traduit par le changement de la couleur violette de la solution méthanolique du DPPH vers une couleur jaunâtre [3,4]. Les valeurs des absorbances mesurées nous ont permis de calculer les pourcentages d'inhibition selon l'équation (IV .1):

$$I_{DPPH} \% = [(A_{DPPH} - A_{\text{échantillon}}) / A_{DPPH}] \times 100 \quad (IV .1)$$

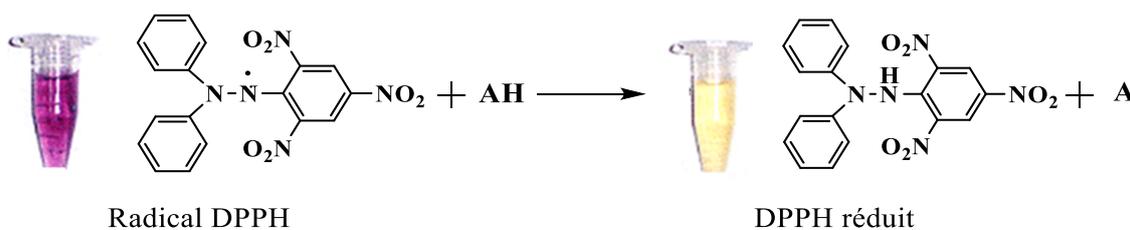


Figure IV. 1 : Réduction du radical DPPH[•] par A-H, où (A-H) est un composé capable de céder un H au radical DPPH.

Les résultats obtenus, ont permis de tracer les courbes de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des molécules étudiées $I\% = f(C)$ pour trouver IC₅₀ des molécules et comparer avec les standards (BHT et BHA) (Figure IV.2). Ce paramètre est défini comme étant la concentration du substrat nécessaire à diminuer de 50 % l'absorbance de la solution initiale du DPPH.

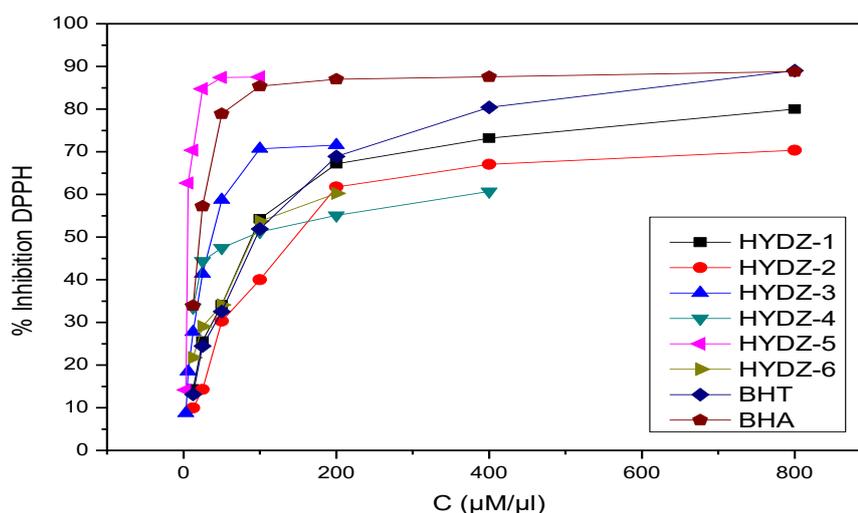


Figure IV.2 : Présentation graphique du pourcentage d'inhibition du radical DPPH des molécules synthétisées et des standards BHT et BHA.

Les résultats montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH[•] est proportionnel à la concentration des hydrazones synthétisés et des standards BHA et BHT utilisés. Quand la concentration des composés étudiés augmente dans le milieu réactionnel, le pourcentage d'inhibition augmente jusqu'à arriver à un plateau qui correspond à l'inhibition presque totale du DPPH[•] présent dans ce milieu.

Les molécules HYDZ-3 et HYDZ-5 possèdent un pouvoir de piégeage du radical DPPH[•] très important avec un pourcentage d'inhibition élevé à des faibles concentrations par rapport

aux autres molécules et comparable avec les standards surtout dans les faibles concentrations (3.125 $\mu\text{M/ml}$). Pour mieux évaluer la capacité antioxydante de nos composés vis-à-vis du DPPH•, les résultats ont été exprimés en IC₅₀ (figure IV.3).

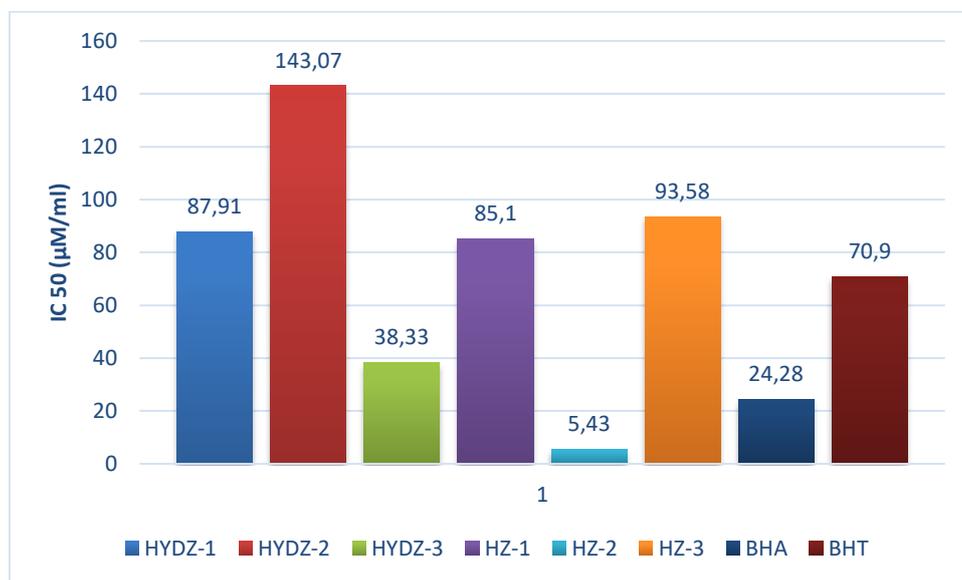


Figure IV 3: Présentation des concentrations inhibitrices IC₅₀ du radical DPPH exprimées en $\mu\text{M/ml}$, (valeur moyenne \pm S.D pour n=3) entre les molécules concernées et les standards BHT et BHA.

Remarque : HYDZ-4= HZ-1. HYDZ-5= HZ-2, HYDZ-6= HZ-3

En général, les valeurs de l'IC₅₀ le plus élevé, correspondre à la capacité antioxydante la plus faible. Donc, l'activité antioxydante des composés étudiés peut être classée dans l'ordre décroissant suivant : HYDZ-5>BHA>HYDZ-3>BHT>HYDZ-4>HYDZ-1>HYDZ-6>HYDZ-2.

Donc, on peut conclure que : le cycle furane avec le motif CH₃ dans le cycle aromatique de benzène augmente l'activité antioxydante mieux que les standards par la méthode de DPPH.

IV.2.2. Test de piégeage des radicaux ABTS

Le radicale ABTS (2,2'-Azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-acide sulfonique) est utilisé pour mesurer l'activité anti-radicalaire des hydrazones synthétisés selon le protocole de Re et al [5]. L'activité anti-radicalaire est observée par le changement de la coloration bleu-vert vers le jaune ou l'incolore (Figure IV.4).

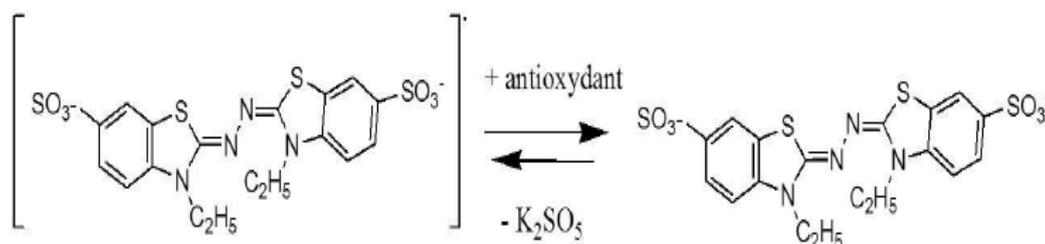


Figure IV.4: Représentation photographique de la réduction de radical ABTS.

La Figure IV.5 représente la variation de l'absorbance du radical ABTS mesurée à 734 nm en fonction de la concentration. Le pourcentage d'inhibition des hydrazones synthétisés et celle des standards (BHT et BHA) est calculé selon l'équation IV.1 précédente.

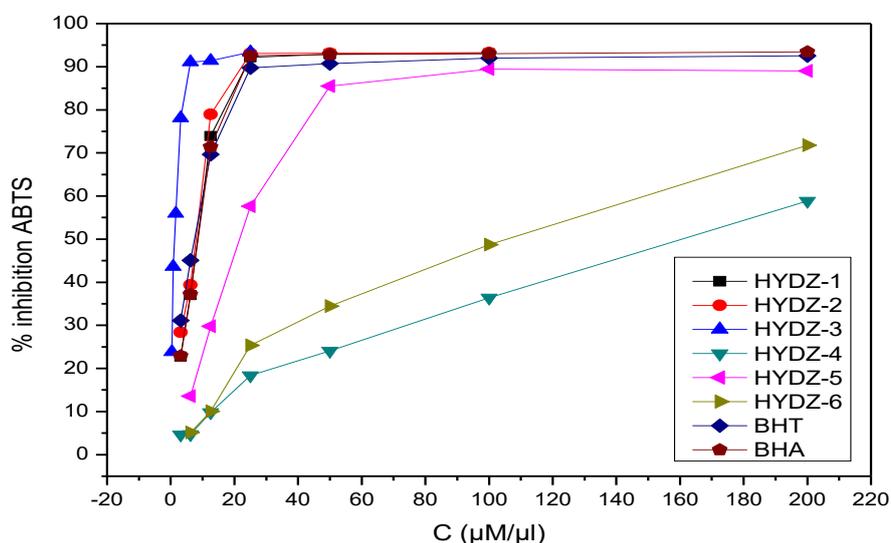


Figure IV.5: Présentation graphique du pourcentage d'inhibition du radical ABTS des molécules et des standards BHT et BHA.

Selon cette figure, on peut observer que le pourcentage d'inhibition du radical libre ABTS est proportionnel avec la concentration des molécules testées c'est-à-dire le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration des molécules synthétisées. On peut observer aussi que tous les composés ayant une activités importante d'inhibition du radical ABTS à des faibles concentration par rapport les standards (BHA et BHT), pour HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3 on trouve que % d'inhibition est similaire aux standards, il est presque totale a des fortes concentrations (200 μM/ml) et a des faibles concentrations (3,125 μM/ml) on trouve que les standards ayant respectivement une activité

de 31.12 ± 0.34 et 22.92 ± 0.33 , par contre le HYDZ-3 ayant une activité de $78,06 \pm 3,82$ ce qui fait que HYDZ-3 ayant un effet inhibiteur plus important a une concentration de $0,39062 \mu\text{M/ml}$ de $23,83 \pm 1,45\%$ que les standards a cette concentration qui ne sont pas active (N.A).

La figure IV.6 montre la capacité antioxydante de nos composés vis-à-vis de l'ABTS dont les résultats sont exprimés en IC₅₀.

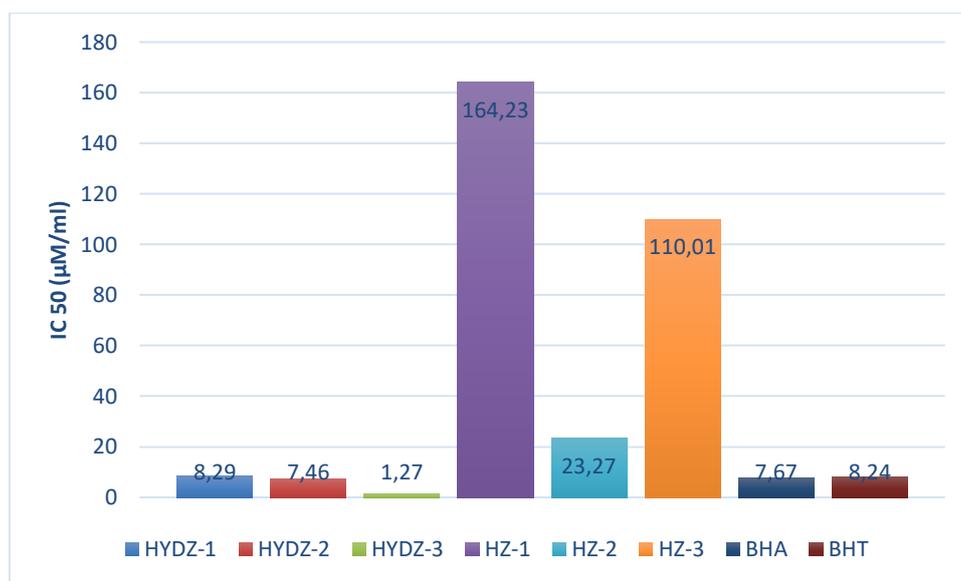


Figure IV.6 : Présentation des concentrations inhibitrices IC₅₀ de l'ABTS exprimées en $\mu\text{M/ml}$, (valeur moyenne \pm S.D pour $n=3$) entre les molécules concernées et les standards BHT et BHA.

L'IC₅₀ de l'activité antioxydante des composés étudiés peut être classée dans l'ordre décroissant suivant : HYDZ-3 > HYDZ-2 > BHA > BHT > HYDZ-1 > HYDZ-5 > HYDZ-6 > HYDZ-4.

On observe que l'HYDZ-3 et l'HYDZ-2 ayant une activité inhibitrice mieux que les standards BHA et BHT. Ainsi, on observe que l'HYDZ-1, l'HYDZ-2 et l'HYDZ-3 ont des activités supérieurs aux autres composés donc, on peut conclure que : la fonction acide qui présent dans le cycle benzénique est le motif responsable à augmenter l'activité antioxydante par ABTS.

IV.2.3. Test de l'activité réductrice de l'ion cuprique (CUPRAC)

Le test de CUPRAC (CUPric Reducing Antioxydant Capacity) est basé sur la mesure de l'absorbance du chélate de Cu(I)-Néocuproïne(Nc) formé à la suite de la réaction

d'oxydoréduction des antioxydants en clivant la chaîne Cu(II)-Nc [6]. En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre-neocuproène est réduit et cette réaction est quantifiée spectrophotométrique à une longueur d'onde de 450 nm [7].

La réduction du cuivre (CUPRAC) par les produits synthétisés a été déterminée par la méthode décrite par Apak et al [8].

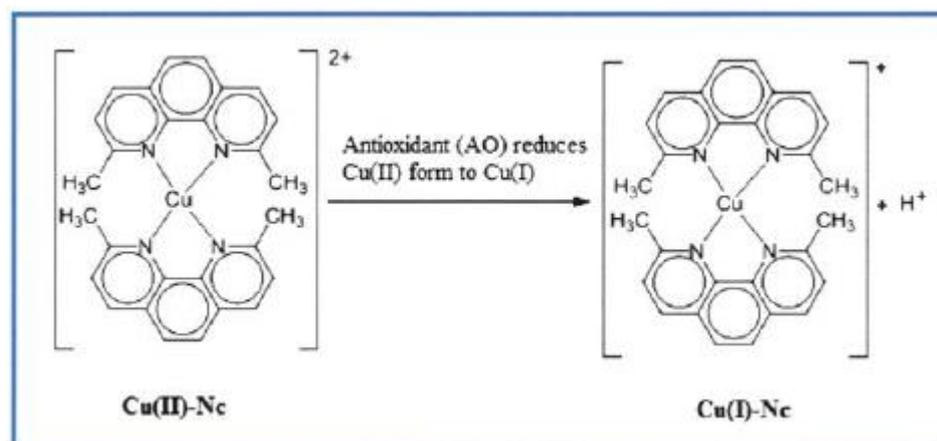


Figure IV.7: Représentation photographique de la réduction du radical CUPRAC.

La capacité réductrice des molécules et des standards BHT et BHA est exprimée par la variation de l'absorbance avec la concentration et l'ensemble des valeurs obtenues est reporté dans la figure IV 8.

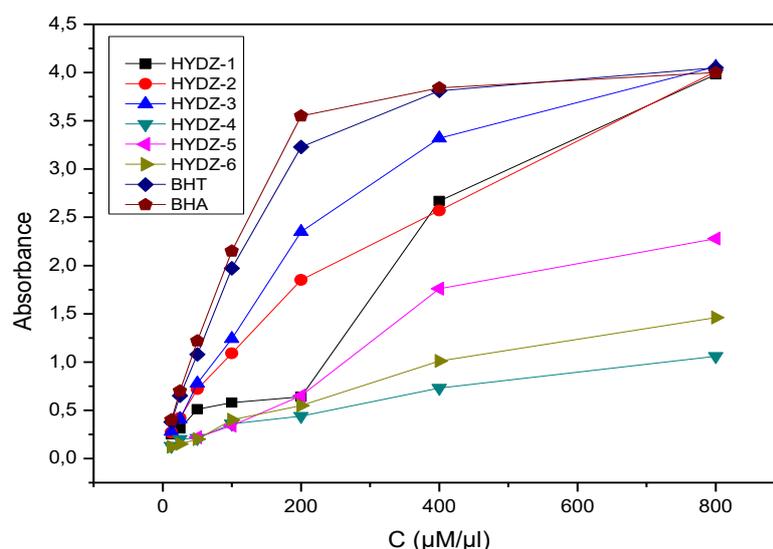


Figure IV.8: Présentation graphique de la capacité de réduction du cuivre (CUPRAC) par les molécules étudiées et les standards BHT et BHA.

On peut observer aussi que tous les composés ont une activité inhibitrice importante du CUPRAC aux faibles concentrations et cette activité est comparable aux celles des standards (BHA et BHT). Pour l'HYDZ-1, l'HYDZ-2 et l'HYDZ-3 on trouve que les absorbances mesurées sont similaires aux celles des standards par rapport aux autres composés. Les résultats obtenus dans la figure IV.9 nous ont permis de déterminer la concentration efficace qui correspond à une absorbance de 0.5 (A0.5). Nous rappelons que la concentration A0.5 est la concentration de l'échantillon qui correspond à une absorbance égale à 0,5.

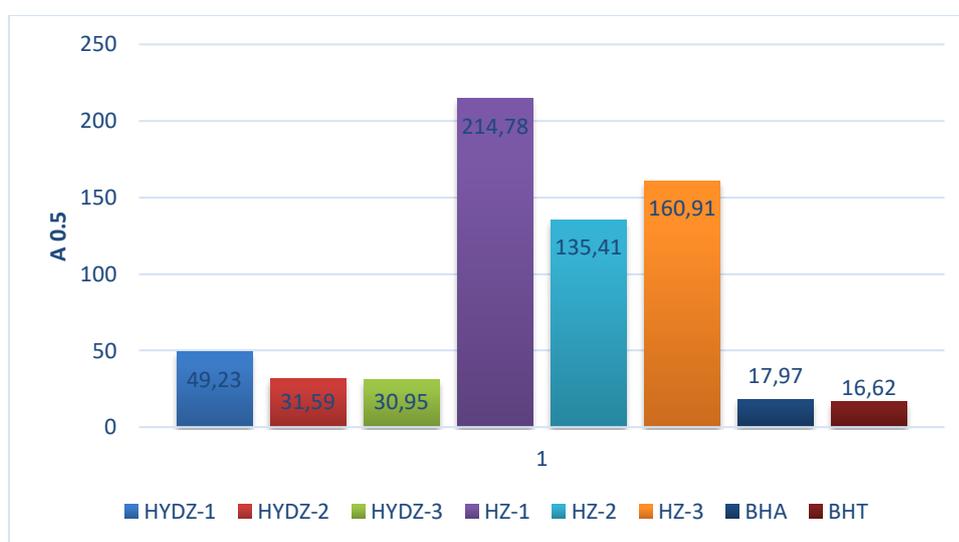


Figure IV.9 : Présentation des concentrations inhibitrices IC50 du CUPRAC exprimées en Mm/ml, (valeur moyenne \pm S.D pour n=3) entre les molécules concernées et les standards BHT et BHA.

L'A_{0.5} de l'activité antioxydante des composés étudiés est classée dans l'ordre décroissant suivant : BHT>BHA>HYDZ-3>HYDZ-2>HYDZ-1>HYDZ-5>HYDZ-6>HYDZ-4.

On observe que l'HYDZ-3 et l'HYDZ-2 ont une activité inhibitrice mieux que les standards BHA et BHT. Ainsi, on observe que l'HYDZ-1, l'HYDZ-2 et l'HYDZ-3 ont des activités supérieures aux autres composés donc, on peut conclure que : la fonction acide qui présente dans le cycle benzénique est le motif responsable à augmenter l'activité antioxydante par CUPRAC.

IV.2.4. Capacité des molécules synthétisées à réduire l'ion ferrique FRAP

L'activité réductrice du fer de nos produits est déterminée selon la méthode décrite par Oyaizu [9]. Cette méthode est appelée FRAP, elle est basée sur la capacité des antioxydants donneurs d'électron à réduire le fer ferrique Fe^{3+} de ferricyanure de potassium en fer ferreux Fe^{2+} [19]. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évaluée en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu vert apparaître dans le milieu réactionnel à 700 nm.

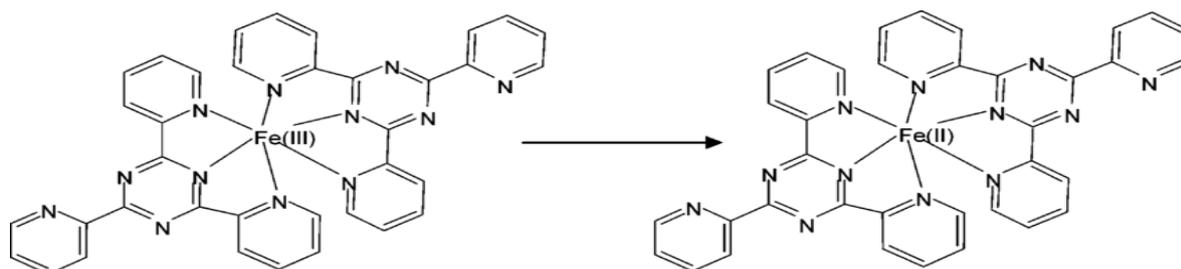


Figure IV.10 : Représentation photographique de la réduction du radical FRAP.

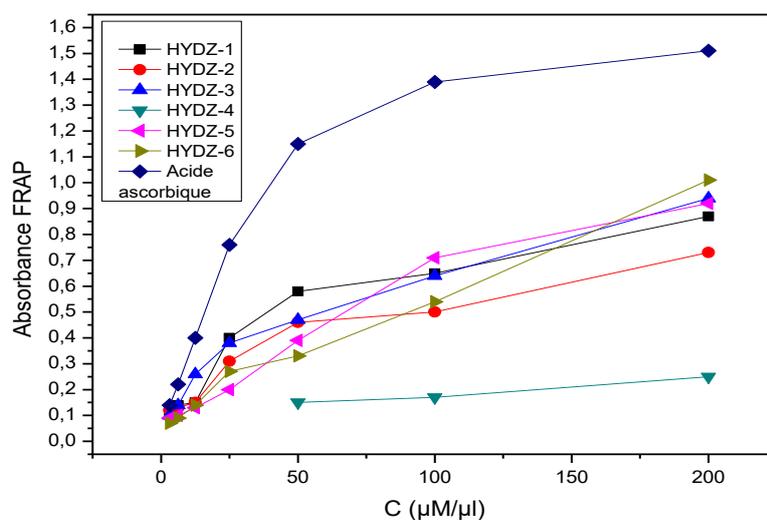


Figure IV.11 : Présentation graphique de la capacité de réduction du FRAP par les molécules synthétisées et le standard acide ascorbique.

Il est bien connu que plus la valeur d' $A_{0.5}$ est faible, plus le composé est plus antioxydant. Nous remarquons que le HYDZ-2 et le HYDZ-4 à manifester une activité a une concentration de 200 $\mu\text{M}/\text{ml}$ avec une $A_{0.5}$ inferieur aux autres composés. Tandis que le HYDZ-4 a montré une faible capacité à réduire le cuivre ($>200 \mu\text{M}$). Toutefois, les résultats d'antioxydants son supérieurs à celle du standard acide ascorbique.

L'acide ascorbique a manifesté des capacités de réduction plus intéressantes par rapport aux nos produits. Les résultats obtenus pour cette activité sont en accord avec les observations.

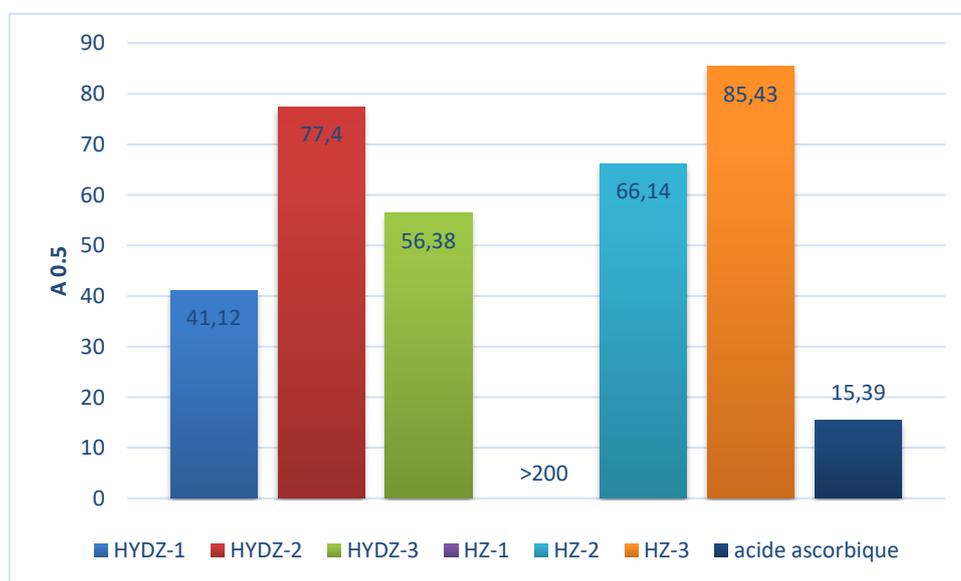


Figure IV.12 : Présentation des concentrations inhibitrices $A_{0.5}$ du FRAP exprimées en Mm/ml, (valeur moyenne \pm S.D pour $n=3$) entre les molécules concernées et le standard acide ascorbique.

Les résultats du test FRAP de nos dérivés hydrazones montrent une activité antioxydante comparable ($A_{0.5}$ entre $41,12 \pm 0,40$ et $85,43 \pm 0,30$ mM) à celle de l'acide ascorbique utilisé comme standard ($15,39 \pm 1,10$ mM).

L' $A_{0.5}$ de l'activité antioxydante des composés étudiés était classée dans l'ordre suivant : acide ascorbique (A.AS)>HYDZ-1>HYDZ-3>HYDZ-5>HYDZ-2>HYDZ-6>HYDZ-4.

On observe que le HYDZ-1 a une activité inhibitrice comparable au standard A.AS. Ainsi, on observe que l'HYDZ-1, l'HYDZ-2 et l'HYDZ-3 ont des activités supérieures aux autres composés, ceci est lié à la présence de la fonction acide dans le cycle benzénique.

IV.2.5. Activité antioxydante basée sur l'effet de la phénanthroline

La méthode colorimétrique de phénanthroline développée par Szydlowska Czerniaka et al [10] a été utilisée pour doser le Fe(II). Cette méthode est basée sur la réduction de l'ion Fe^{3+} de ferre ferrique ($FeCl_3$) en fer ferreux (Fe^{2+}) en présence d'un composé antioxydant

donneur d'électrons. L'ion Fe^{2+} formé réagit ensuite avec l'orthophénanthroline pour donner un complexe rouge-orangé, appelé complexe «ferroïne» et il se prête bien à l'analyse colorimétrique à une longueur d'onde de 510 nm.

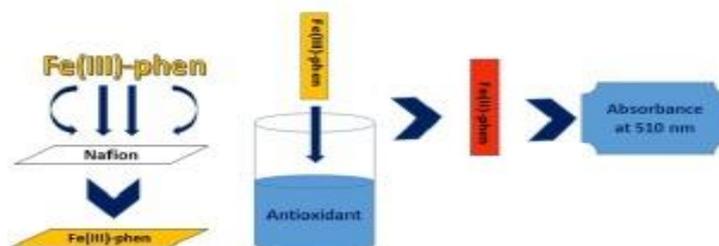


Figure IV.13: Protocole Expérimental de l'essai de réduction du phénanthroline.

Le changement de la couleur du milieu réactionnel du jaune au rouge-orangé, indique la formation des complexes ferroïnes, ceci et donc un autre résultat qui confirme la capacité de nos produits à donner des électrons pour réduire le fer ferrique. Donc, les hydrazones synthétisés ont montré une bonne activité réductrice.

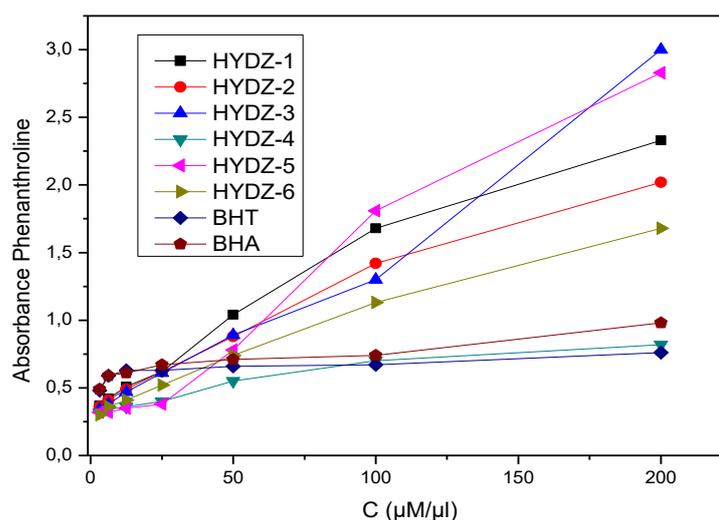


Figure IV.14 : Présentation graphique des résultats du test de mesure de la capacité de réduction du phénanthroline.

Selon cette figure, on peut observer que l'absorbance d'inhibition du phénanthroline est proportionnel avec la concentration des molécules testées c'est-à-dire l'absorbance augmente avec l'augmentation de la concentration des molécules synthétisées. On peut observer aussi que tous les composés ont une activité antioxydante importante. On trouve que les absorbances des composés testés sont supérieures aux celles des standards utilisés, il est presque totale a des fortes concentrations (200 $\mu\text{M}/\text{ml}$) par rapport aux standards.

La **figure IV.15** montre la capacité antioxydante de nos composés vis-à-vis du phénanthroline, les résultats ont été exprimés en $A_{0.5}$.

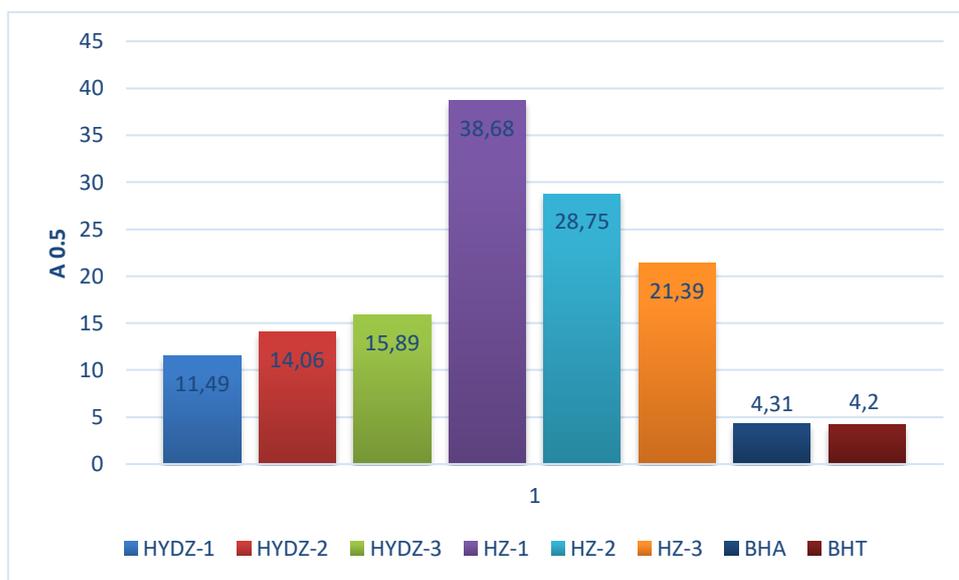


Figure IV.15 : Présentation des concentrations inhibitrices $A_{0.5}$ du phénanthroline exprimées en Mm/ml , (valeur moyenne \pm S.D pour $n=3$) entre les molécules concernées et les standards BHA et BHT.

D'après la **figure IV.15**, en ce qui concerne le dosage de la phénanthroline, l'activité antioxydante a été observée pour le HYDZ-1 avec une meilleure valeur de l' $A_{0.50}$ de $11,49 \pm 1,45 \mu\text{M}/\text{ml}$, ce qui montre qu'il a une bonne activité antioxydante par rapport aux autres composés et comparable à celle des standards BHA et BHT ($4,31 \pm 0,03$ et $4,20 \pm 0,06 \mu\text{M}$, respectivement).

L' $A_{0.5}$ de l'activité antioxydante des composés étudiés était classée dans l'ordre suivant : acide ascorbique BHA>BHT > HYDZ-1>HYDZ-2>HYDZ-3>HYDZ-6>HYDZ-5>HYDZ-4.

On observe que le HYDZ-1, le HYDZ-2 et le HYDZ-3 ont une activité supérieure aux autres composés et cette activité élevée est due à la présence d'une fonction acide carboxylique dans leurs structures moléculaires.

En bref, à partir des résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des hydrazones synthétisés par les dosages DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP et Phénanthroline (Tableau IV.1), les observations suivantes peuvent être tirées :

- Les études réalisées mesurant l'activité antioxydante n'étaient pas corrélées entre elles. Ce résultat peut s'expliquer par les différents mécanismes d'action.
- Les dérivés hydrazones synthétisés ont présenté une activité antioxydante élevée par les cinq méthodes.
- Dans les tests DPPH et ABTS, le composé HYDZ-3 a montré une activité antioxydante supérieure à celle des standards BHA et BHT, en raison de la présence du groupe furane dans les composés hydrazones qui exerçaient un effet inhibiteur abondant contre divers radicaux libres.
- Dans les dosages FRAP et Phénanthroline, le HYDZ-1 a été considéré comme le meilleur antioxydant avec une valeur comparable aux normes BHA et BHT, ce qui signifie qu'il est susceptible de réagir davantage, et le mécanisme de ces dosages il consiste en un transfert d'électrons qui explique la réactivité de ce composé.
- Le composé HYDZ-5 a montré une activité antioxydante plus élevée que les standards BHA et le BHT dans les dosages DPPH et ABTS en raison de la présence d'un cycle thiophène.
- Le mécanisme de DPPH et ABTS est basé sur le transfert de H^+ (IC_{50}) tandis que les mécanismes du CUPRAC, du FRAP et du phénanthroline sont basé sur le transfert d'électrons ($A_{0,5}$).

Tableau IV.1 : Détermination de l'activité antioxydante des composés étudiés par DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP et Phenanthroline.

Composés	DPPH	ABTS	CUPRAC	FRAP	Phenanthroline
	IC₅₀ (Mm)	IC₅₀ (mM)	A_{0.50} (mM)	A_{0.50} (mM)	A_{0.50} (mM)
HYDZ-1	87.91±3.34	8.29±0.32	49.23±1.2	41.12±0.40	11.49±1.45
HYDZ-2	143.07±1.30	7.46±0.39	31.59±0.30	77.40±0.30	14.06±0.87
HYDZ-3	38.33±0.81	1.27±0.10	30.95±1.05	56.38±0.49	15.89±1.12
HYDZ-4	85.10±0.34	164.23±2.0	214.78±0.19	>200	38.68±1.88
HYDZ-5	5.43±0.12	23.27±1.36	135.41±5.2	66.14±0.37	28.75±1.94
HYDZ-6	93.58±1.02	110.01±3.1	160.91±2.55	85.43±0.14	21.39±1.65
BHA	24.28±1.28	7.67±0.40	17.97±0.66	N.T	4.31±0.03
BHT	70.9±6.6	8.24±0.13	16.62±0.79	N.T	4.20±0.06
acide ascorbique	N.T	N.T	N.T	15.39±1.10	N.T

IV.3. Activité inhibitrice des enzymatiques

IV.3.1. Activité anticholinestérase

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative chronique qui détruit les cellules cérébrales, ce qui provoque, avec le temps, une détérioration de la mémoire et des capacités de réflexion.

Actuellement, le seul traitement de cette maladie est l'utilisation des inhibiteurs de la cholinestérase (ChE) (acétylbutyrylcholinestérase) [11], mais il n'existe pas de médicaments efficaces prouvés pour arrêter la maladie, et le traitement reste en grande partie un traitement symptomatique.

De plus, plusieurs études ont montré que le stress oxydatif est fortement associé aux maladies neurodégénératives liées à l'âge. En effet, ces études ont examiné les avantages des antioxydants dans la réduction ou la prévention de la mort neuronale qui se produit dans la physiopathologie de ces maladies.

Dans cette étude, l'activité inhibitrice des enzymes de nos produits a été déterminée par le dosage de la disparition de la couleur jaune formée après la réaction de la thiocholine avec les ions dithiobisnitrobenzoates [12]. Une diminution de la couleur jaune indique la capacité de l'échantillon à tester à être un inhibiteur de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase. Les résultats ont été exprimés en valeur d'IC₅₀ (μM) correspondant à la concentration inhibitrice mesurée à 50%. Les résultats obtenus sont illustrés dans les Figures IV.16 et IV.17 avec une concentration de **4mM (1mg)**.

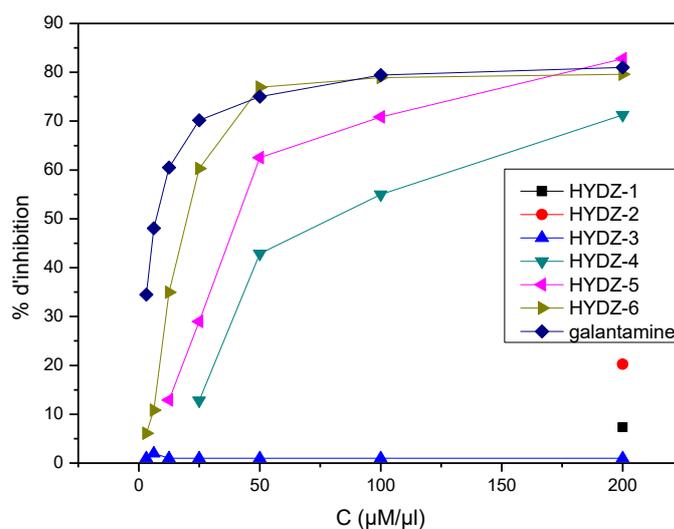


Figure IV.16 : Pourcentages d'inhibition de l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase par les hydrazones synthétisés et le standard Galantamine.

D'après la **figure IV.16**, on peut voir que le HYDZ-1, le HYDZ-2 et le HYDZ-3 n'ont montré aucun effet d'inhibition. D'autre part, on observe que les molécules HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6 ont un effet d'inhibition comparable au composé utilisé comme standard (Galantamine).

Dans ce contexte, on peut conclure que le groupement acide carboxylique substitué en position para sur le noyau benzénique des hydrazones HYDZ-1, HYDZ-2, HYDZ-3 pourrait être diminué l'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase.

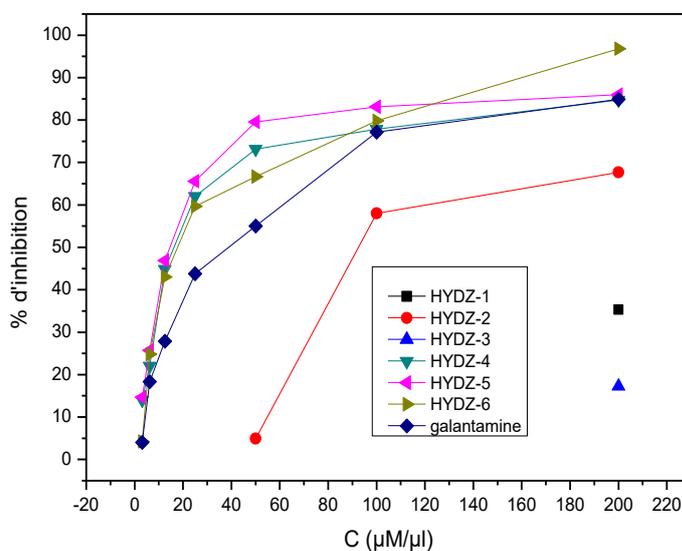


Figure IV.17 : Pourcentages d'inhibition de l'activité inhibitrice du butyrylcholinestérase par les hydrazones synthétisés et le standard Galantamine.

La méthode à la butyrylcholinestérase (BChE) a donné des résultats plus encourageants ; il a démontré que les deux molécules HYDZ-5 et HYDZ-6 sont de bons inhibiteurs de la butyrylcholinestérase et l'activité des autres molécules suit cet ordre d'IC₅₀ : HYDZ-5 > HYDZ-6 > galantamine > HYDZ-4 > HYDZ-2 > HYDZ-1 > HYDZ-3.

On peut conclure que le groupement CH₃ en position para sur le noyau benzénique des hydrazones HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6 pourrait être le motif responsable de l'activité anticholinestérase élevée de ces produits.

D'après la figure IV.18, on peut dire que les molécules HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6 ont un potentiel inhibiteur exceptionnel. La comparaison de l'activité des molécules synthétisées avec celle du standard Galantamine d'IC₅₀ = 20,38 ± 2,10 µM/ml, montre que les deux molécules HYDZ-5 et HYDZ-6 ont une activité inhibitrice meilleure que la galantamine avec des valeurs de l'IC₅₀ respectivement de 16,49 ± 1,04 µM/ml et 18,74 ± 0,41 µM/ml.

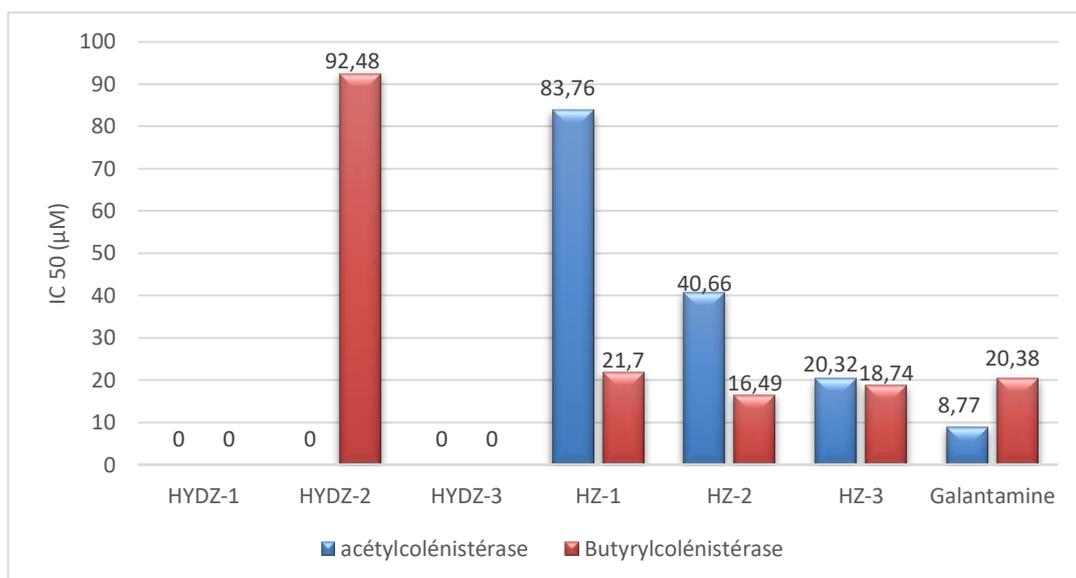


Figure IV.18 : Valeurs d'IC₅₀ (µM/ml) des dérivés d'hydrazones testés comme agents Anti-Alzheimer.

Les résultats indiquent que l'activité Anti-Alzheimer des molécules étudiées est proportionnelle à la concentration et que les molécules peuvent être très utiles pour le traitement des maladies liées aux dommages oxydatifs, surtout quand on sait que les molécules étudiées sont non toxiques.

IV.3.2. Activité inhibitrice de l' α -amylase

L'amylase de mammifère, qui est sécrétée par le pancréas et la salive, pénètre dans le tractus intestinal par le suc pancréatique en tant qu'enzyme glycolytique et est une enzyme clé qui catalyse la première étape du processus de digestion des glucides. .

L'activité antidiabétique des composés synthétisés a été évaluée à l'aide du test d'inhibition de l' α -amylase. Les résultats obtenus sont montrés dans les figures IV.19 et IV.20 (16 mM= 4 mg).

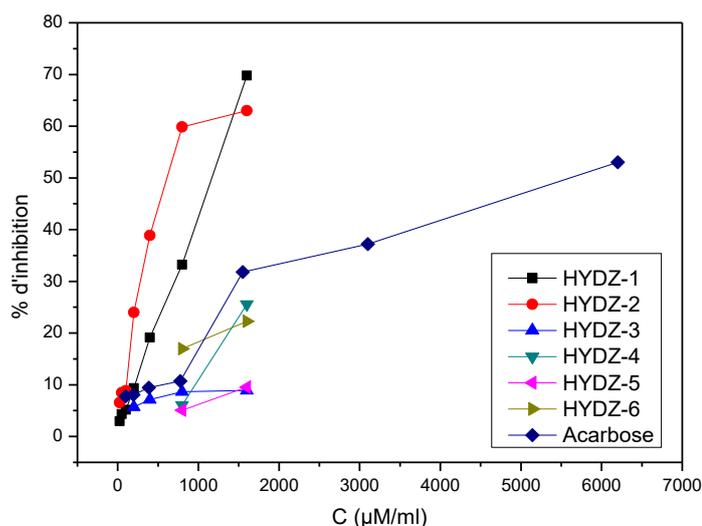


Figure IV.19 : Inhibition de l'α-amylase (activité antidiabétique) par les hydrazones synthétisés et le standard acarbose.

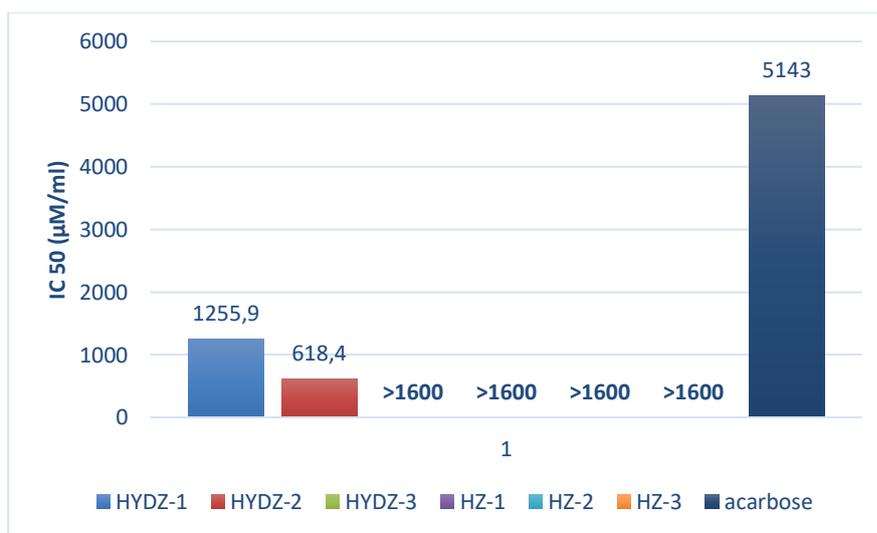


Figure I.V20 : Valeurs d'IC₅₀ (μM/ml) des dérivés d'hydrazones testés contre l'α-amylase.

Les effets inhibiteurs de l'α-amylase ont montré une activité inhibitrice plus élevée pour l'HYDZ-1 et l'HYDZ-2 que pour l'acarbose (IC₅₀ = 5143 ± 4.9 μM/ml) [13] à l'exception d'autres composés qui n'ont montré aucun effet d'inhibition. La plus grande activité d'inhibition de l'α-amylase a été obtenue dans le composé HYDZ-2 avec une IC₅₀ de 618,40 ± 2,94 μM/ml. On peut conclure que la combinaison entre le motif thiophène et acide benzoïque est responsable à l'effet anti-diabète.

IV.3.3. Evaluation de l'activité anti-uréase

L'infection chronique à l'*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) entraîne directement une maladie gastro-intestinale, en particulier une gastrite, des ulcères duodénaux et peptiques et un cancer gastrique. L'*H. pylori* produit de l'uréase, une enzyme très active capable d'hydrolyser l'urée normalement présente dans l'estomac en libérant de l'ammoniac, neutralisant ainsi le microenvironnement de la bactérie, ce qui rendrait le milieu plus accueillant à la bactérie [14,15]. À cet égard, les hydrazones synthétisées ont été examinées contre l'activité uréase. Les résultats obtenus du test de l'inhibition d'uréase sont présentés dans la Figure IV.21 et le Tableau IV.6 à une concentration de **16 M= 4mg**.

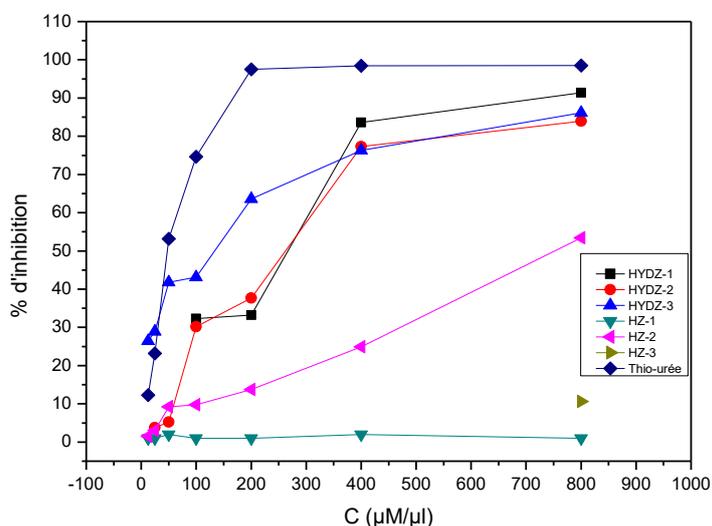


Figure IV.21 : L'inhibition de l'uréase par les hydrazones synthétisés et le standard Thio-urées.

Les composés testés ont inhibé l'uréase de manière dose-dépendante avec des valeurs d'IC₅₀ variées de $119,75 \pm 2,05 \mu\text{M/ml}$ à $754,94 \pm 3,87 \mu\text{M/ml}$, respectivement (figure IV.22). La thio-urée a été prise comme témoin positif avec une valeur d'IC₅₀ de $47,80 \pm 2,73 \mu\text{M/ml}$. La meilleure activité inhibitrice est observée pour l'HYDZ-3 avec une IC₅₀ de $119,75 \pm 2,05 \mu\text{M/ml}$.

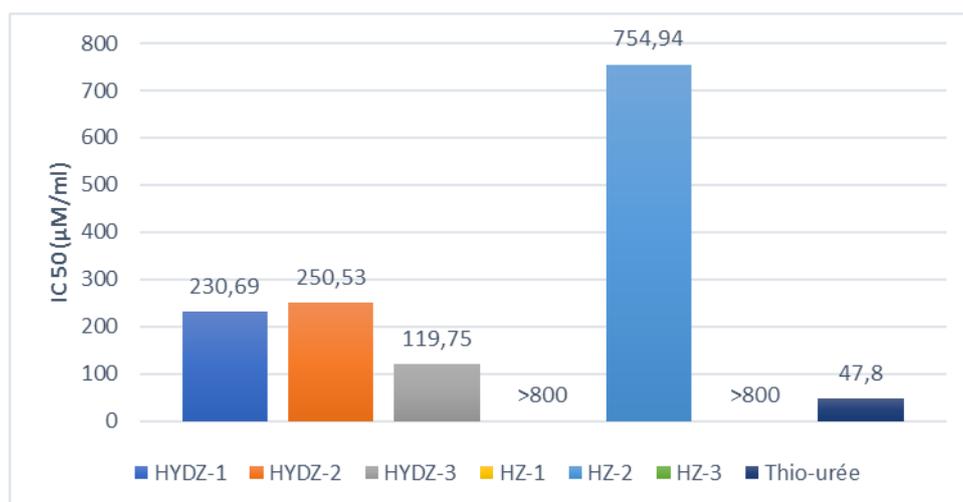
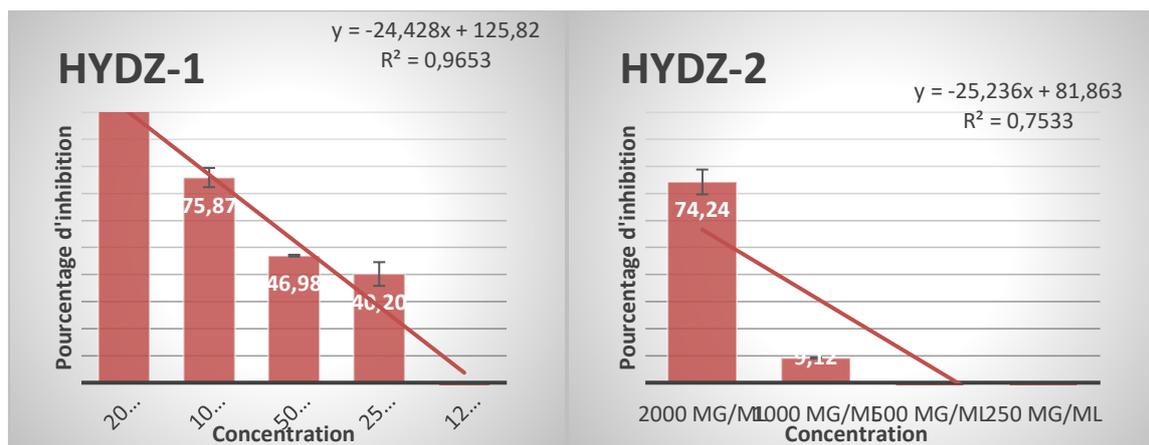


Figure IV.22: Valeurs d'IC₅₀ (µM/ml) des dérivés hydrazones étudiés contre l'uréase.

On peut conclure que le groupement acide carboxylique substitué en position para sur le noyau benzénique des hydrazones HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3 augmente leurs activités inhibitrices d'uréase.

IV.3.4. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

Il a été démontré que les AINS inhibent la dénaturation des protéines, de sorte que tout produit qui empêche la dénaturation des protéines peut être anti-inflammatoire. Pour cette raison, la méthode de dénaturation de la BSA a été utilisée pour évaluer l'effet anti-inflammatoire de nos produits, et les résultats ont été comparés avec le diclofénac sodique comme médicament standard (figure IV.23).



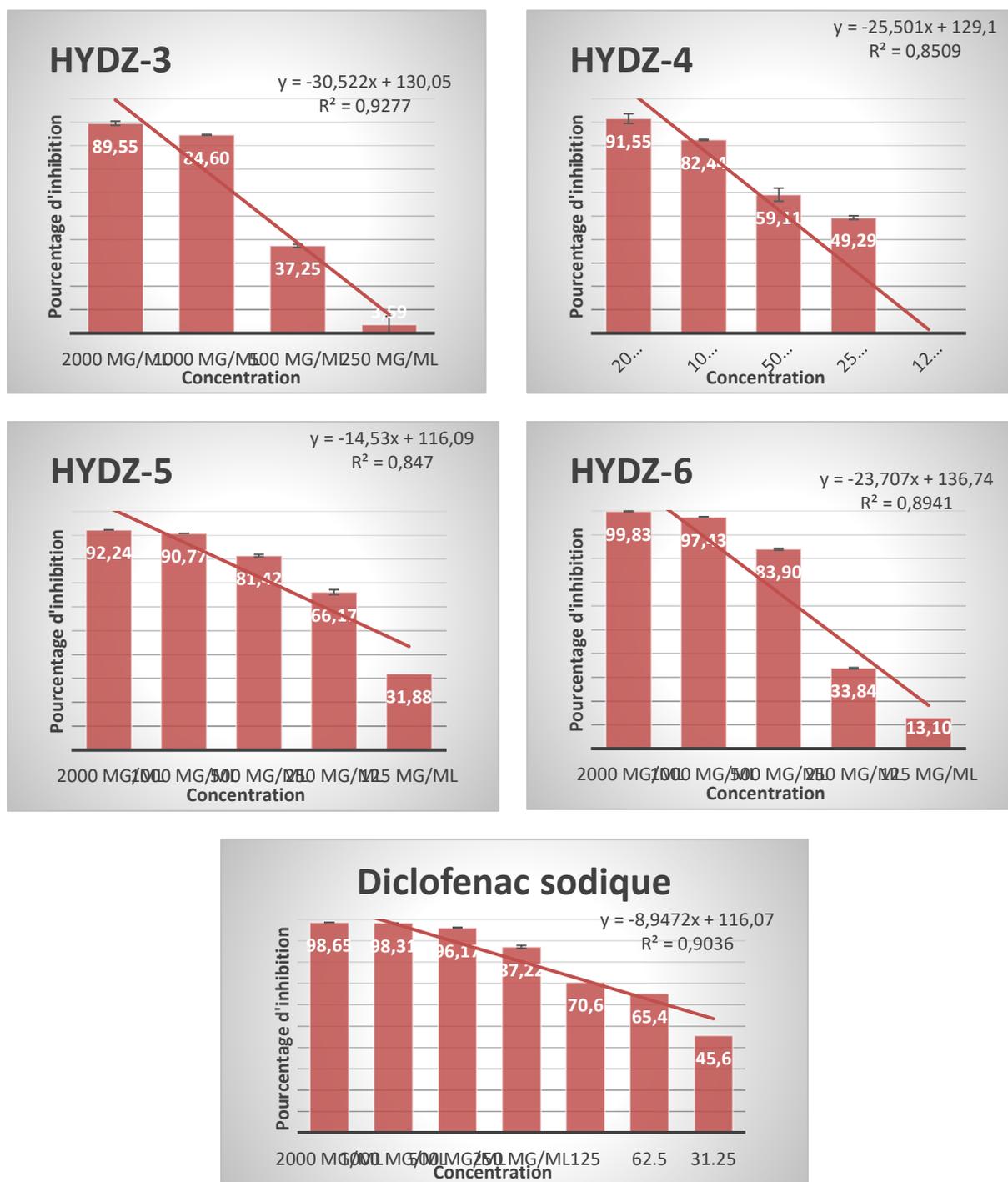


Figure IV.23 : Histogrammes du pourcentage de l'activité anti-inflammatoire des hydrazones et de diclofénac sodique en fonction de la concentration à T= 72 °C.

La figure IV.23 montre que toutes les molécules synthétisées et le médicament standard empêchent la dénaturation de l'albumine de sérum bovin d'une manière dose-dépendante, à part l'HYDZ-2 qui présente une activité inhibitrice plus ou moins faible sur la dénaturation des protéines (74.24 %). Le Diclofenac sodique en tant que médicament anti-inflammatoire standard atteint son inhibition maximale (98.65%) à la concentration de 2000

$\mu\text{g/ml}$. Dans les mêmes conditions, le pourcentage maximal d'effet inhibiteur des molécules synthétisées, est observé pour les molécules HYDZ-6 et HYDZ-5, suivi par la molécule HYDZ-4.

L'IC₅₀ variait de 191,42 à 818,5 $\mu\text{g/ml}$ (Figure IV.24). L'HYDZ-5, l'HYDZ-6 et l'HYDZ-4 avaient une bonne activité anti-dénaturation et mieux que les autres dérivés hydrazones et comparables avec le diclofénac sodique (IC₅₀ = 33,65 $\mu\text{g/ml}$).

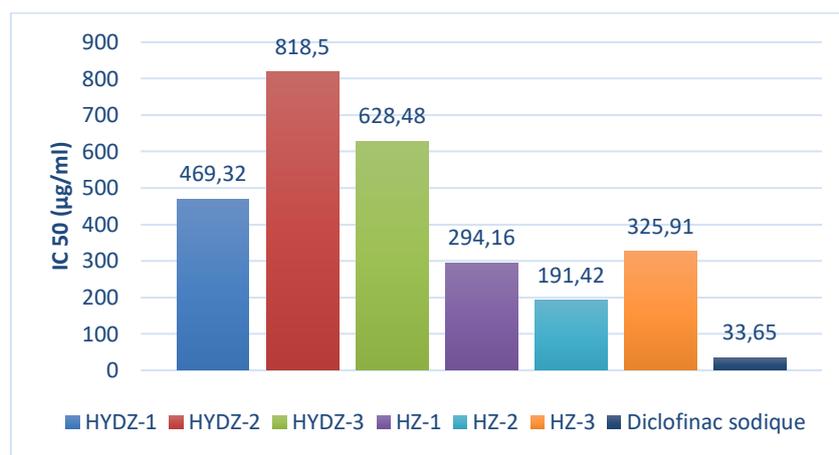


Figure IV.24 : Valeurs d'IC₅₀ de l'inhibition de l'activité anti-inflammatoire des hydrazones testés et le standard diclofénac sodique.

Les molécules synthétisées possèdent une activité AI bien déterminée par IC₅₀, l'HYDZ-5 possède une activité supérieure aux autres composés. On peut conclure que la combinaison entre le motif thiofène substitué en position 3 et le motif CH₃ dans l'hydrazine aromatique donne un effet anti-inflammatoire plus élevé que les autres analogues et on peut le comparer avec le diclofénac sodique.

IV.3.5. L'activité de protection solaire SPF

La photoprotection des composés permet de mesurer le facteur de protection solaire (SPF) selon la méthode de Mansur et al. [16]. Par définition, le SPF représente la quantité d'énergie nécessaire pour induire une dose minimale d'érythème sur une peau protégée après l'application d'une formulation d'écran solaire de 2 mg/ml par rapport à l'exposition aux rayons UV (généralement de sources artificielles). Les échantillons ont été dosés à 0,5 mg/ml (500 ppm) concentration en suspension dans méthanol. L'absorbance a été

enregistrée sur une plage de 280 à 320 nm mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques multimode (Perkin Elmer Enspire, Singapour).

Le SPF est généralement divisé en quatre catégories : protection basse (valeur FPS entre 2 et 15), protection moyenne (valeur FPS entre 15 et 30), protection élevée (valeur FPS entre 30 et 50) et très haute protection (la valeur FPS est plus supérieure à 50) [17].

Le facteur de protection solaire a été déterminé comme un indice de la capacité photoprotectrice dans la Figure IV.25. Tous les composés ont montré des valeurs SPF élevées allant de $32,13 \pm 0,36$ à $36,25 \pm 1,45$. Le HYDZ-4 avait la valeur SPF modérée ($26,40 \pm 0,38$), tandis que le HYDZ-6 a donné des valeurs faibles ($7,81 \pm 1,96$) sans effet protecteur.

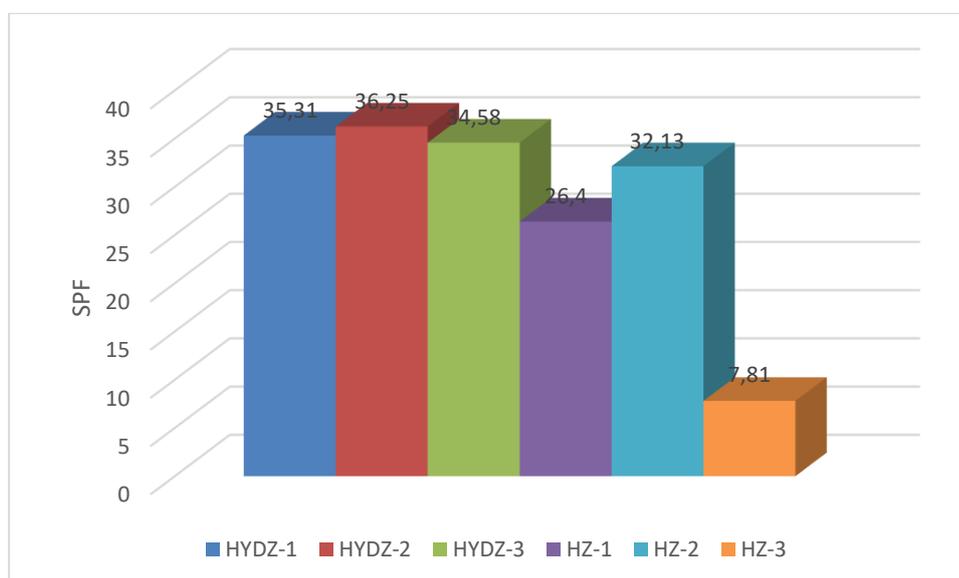


Figure IV.25 : Valeurs du facteur de protection solaire (FPS) des composés hydrazones testés.

Les résultats de l'étude du facteur de protection solaire indiquent que les hydrazones synthétisées sont de bons protecteurs contre le rayonnement solaire, elles appartiennent à la catégorie des produits de protection solaire élevée à moyenne puisque la valeur de SPF est comprise entre 36,25 et 26,40 et elles ont une meilleure protection que la référence utilisée (Tableau TV.2).

Tableau IV.2 : Comparaison du facteur de protection solaire (FPS) d'une série de dérivés hydrazones.

Composés (0,5 mg)	Valeur du SPF	Facteur de Protection Note	Commission européenne	Facteur de Protection solaire mesuré
HYDZ-1	35,31+5,72	Haut	« protection faible »	6 - 14,9
HYDZ-2	36,25+1,45	Haut		
HYDZ-3	34,58+0,77	Haut	« protection moyen »	15 - 29,9
HYDZ-4	26,40+0,38	Moyen		
HYDZ-5	32,13+0,36	Haut		
HYDZ-6	7,81+1,96	Faible	«protection haut »	30 – 59,9

IV.3.6. Evaluation des propriétés antimicrobiennes

L'activité antibactérienne *in vitro* de ces molécules a été testée contre quatre souches bactériennes ATTC à Gram positif et Gram négatif : *Bacillus subtilis* (ATCC-6633), *Staphylococcus aureus* (ATCC- 6538P), *Escherichia coli* (ATCC-8739) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC- 9027). Il a été déterminé par la méthode de diffusion sur disque d'agar [18, 19].

Dans un premier temps, la solution mère des molécules testées a été préparée en dissolvant 4 mg du produit dans 1 ml de DMSO, puis des dilutions de 1, 2, 3 et 4 mg/ml ont été réalisées. Des disques de papier filtre de 5 mm de diamètre sont imprégnés des dilutions correspondantes puis sont déposés sur la gélose MHensemencé préalablement par écouvillonnage par un inoculum de 10^8 cellules/ml d'une culture jeune (18-4 h) de la souche testée. Les boîtes de Pétri sont ensuite pré-incubées pendant 1/2 h à température ambiante permettant la diffusion complète du produit puis incubées à 37 °C pendant 24h.

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition (mm) ; un ensemencement à partir de la zone d'inhibition permet de déterminer si

l'activité est bactériostatique ou bactéricide. La gentamicine (10 µg) a été utilisée comme contrôle positif et le DMSO comme contrôle négatif.

Tableau IV.3 : Diamètres d'inhibition antibactérienne en mm.

Strains	Diamètres d'inhibition (mm)						
	HYDZ-1	HYDZ-2	HYDZ-3	HYDZ-4	HYDZ-5	HYDZ-6	GM
<i>P. aeruginosa</i>	14±2.08	7 ± 0.57	-	9.33±0.577	11±0.5	-	20
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	-	14±2.17	-	30
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	8.33±1.15	-	25
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	22

Parmi les souches examinées (tableau IV.3), seule la *P. aeruginosa* était sensible aux composés HYDZ-1 (15 mm), HYDZ-2 (7 mm), HYDZ-4 (9 mm) et HYDZ-5 (11 mm). Cependant, la *B. subtilis* et la *S. aureus* étaient tous sensibles au HYDZ-5 avec respectivement 14 mm et 8 mm. Quoi qu'il en soit, ces zones sont moins denses donc, ces activités étaient bactériostatiques et inférieures à la Gentamicine. Bien que la *P. aeruginosa* soit intrinsèquement résistante à de nombreux antibiotiques [20] et capable d'acquérir rapidement des résistances supplémentaires au cours du traitement soit une source fréquente d'échec thérapeutique [21], sa structure à double membrane spécifique aux lipides la rend sensible aux lipides lipophiles. Substances qui affectent l'intégrité et la perméabilité de la membrane et conduiraient à la lyse de la cellule bactérienne.

En revanche, selon *Haenni et al* [21], les études microbiologiques ont montré que la présence d'un groupement aromatique ou hétéroaromatique à caractère plus lipophile contribuait significativement à l'activité antibactérienne. *El-Etrawy et al.* [22] ont attribué l'effet inhibiteur des nouvelles hydrazones synthétisées contre les bactéries pathogènes à sa capacité à activer des enzymes et certaines protéines cellulaires essentielles à la synthèse de l'ATP et à l'expression des protéines des sous-unités ribosomales. L'étude de la relation structure-activité suggère que différentes substitutions sur les cycles aromatiques ont affecté de manière drastique l'activité antibactérienne des composés synthétisés [23].

De la même manière, la présence d'atomes et de groupements électronégatifs (-NO₂, -Cl, S-H et N-H) sur les cycles aromatiques améliore l'activité antimicrobienne des composés [24]. La présence de fonctions actives sur le cycle aromatique (COOH et CH₃), des groupements N=C des hydrazones et du motif thiophène renforcent l'activité antibactérienne des composés étudiés. Cette activité reste bactériostatique et inférieure à la gentamicine.

Cette activité, avec 4 mg (20 µl), est satisfaisante en comparaison avec d'autres études [23, 25], où des concentrations élevées ont été utilisées (50 µL, 35 µL). Ces observations suggèrent que les cibles moléculaires de l'HYDZ-1 et l'HYDZ-2 sont très différentes des autres molécules ainsi que de celles des antibiotiques conventionnels.

IV.3.7. Evaluation de la cytotoxicité des molécules par les larves (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Le test de cytotoxicité a été évalué sur la létalité des artémias [26]. Les œufs d'artémias ont été éclos dans un plat rectangulaire peu profond (150 mm × 5 mm) rempli d'eau de mer. Un séparateur en plastique avec plusieurs trous de 2 mm a été serré au centre du plateau pour créer deux compartiments inégaux. L'O₂ a été introduit pour la respiration. Des œufs d'artémias (50 mg) ont été saupoudrés dans le plus grand compartiment, qui était obscurci, tandis que le plus petit compartiment était éclairé. Après 48h, retirez les nauplii photochromiques de la chambre d'éclairage à l'aide d'une pipette pasteur. Les échantillons de test ont été préparés à différentes concentrations (0,125, 0,25, 0,5, 1 mg/ml) dans le DMSO. Transférer 100 µl de chaque solution préparée dans des ampoules contenant 4,9 ml d'eau de mer et 10 larves d'artémias (nauplii) à des concentrations finales de 25, 50, 100, 200 µM/ml. Les flacons sont conservés sous éclairage. Après 24 H, les larves d'artémias survivantes ont été comptées et la mortalité totale et le pourcentage de mortalité à chaque niveau de dose et contrôle ont été déterminés [26].



Figure IV.26: Représentation photographique de l'expérience de cytotoxicité des larves d'arthimias.

Les composés sont raisonnablement bien corrélés avec les propriétés cytotoxiques. Pour cette raison, tous les composés obtenus ont été soumis à un essai biologique de létalité des larves d'arthimias pour évaluer toute action cytotoxique possible. Les résultats sont donnés dans (Figure IV.27).

L'HYDZ-5 était le plus toxique pour les nauplii à 200 $\mu\text{M}/\text{mL}$ par rapport aux autres composés testés à la même concentration (200 $\mu\text{M}/\text{mL}$), tandis que a faibles concentrations (100, 50, 25 μM) nous n'avons aucune toxicité apparente. L'activité cytotoxique des autres hydrazones testés n'est pas apparenté à toutes les concentrations (200, 100, 50, 25 μM).

On peut en conclure que ces dérivés hydrazones n'ont aucune toxicité sur les larves et pourront donc être utilisés dans le futur comme médicaments destinés à l'être l'humain.

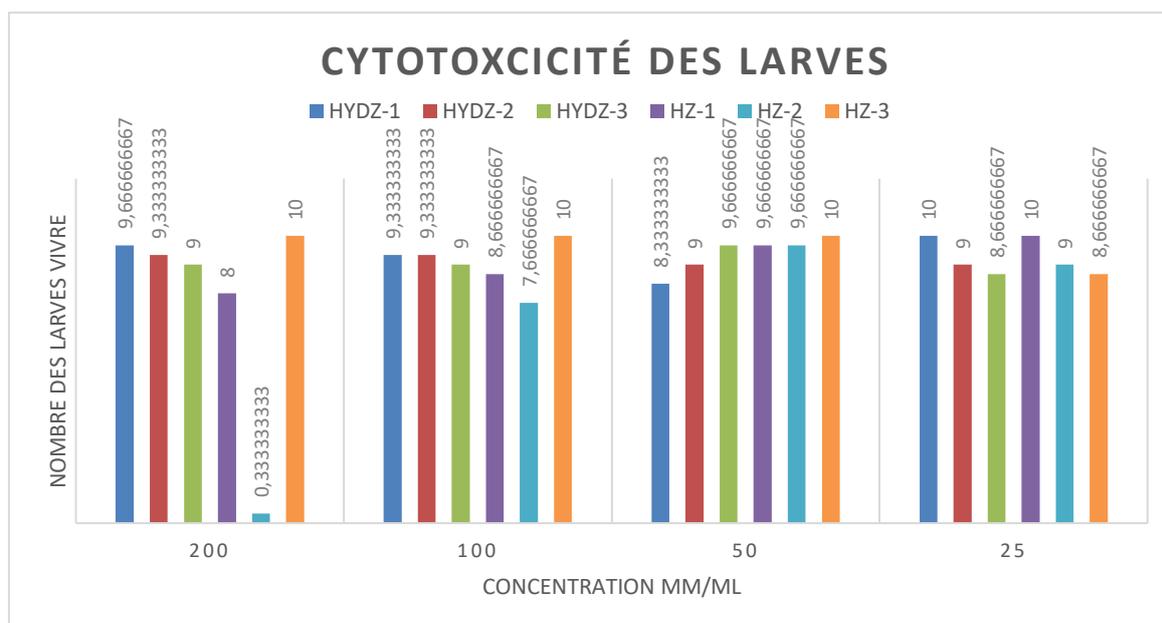


Figure IV.27 : Test de létalité des larves d'artimias des hydrazones synthétisés.

IV.4. Conclusion

L'évaluation *in vitro* de l'activité biologique des molécules synthétisées effectuée par différentes méthodes, montre que les molécules testées possèdent des activités biologiques importantes et prometteuses comparables aux celles des standards à de très faibles concentrations. Ceci peut être lié à la richesse des structures moléculaires des ces dérivés hydrazones en hétéroatomes et cycles aromatiques.

Enfin, la différence significative de l'activité antioxydante et les activités biologiques entre les molécules synthétisées, peut être attribuée aux positions du cycle thiophène (ortho ou para) et de la nature de la position du substituant sur le cycle aromatique (-CH₃ ou -COOH).

CHAPITRE V :

DFT ET

MODELISATION

MOLECULAIRE

V.1. Introduction

Dans notre travail la modélisation moléculaire a été faite par trois méthodes :

- ✓ Calculs de chimie quantique en utilisant la méthode de DFT (Density Functional Theory) pour déterminer certaines propriétés moléculaires importantes comme les propriétés électroniques, la stabilité et la réactivité, qui sont liées à la structure moléculaire ;
- ✓ Système ADME/T (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité) utilisant comme objectif la prédiction le devenir de ces molécules dans l'organisme et étudier leur leurs toxicités;
- ✓ La modélisation empirique par la méthode d'arrimage moléculaire (plus souvent connu sous le terme "docking") afin d'estimer l'affinité entre l'enzyme SARS-CoV-2 et les molécules testées et pour analyser les interactions intermoléculaires impliquées.

V.2. Calculs de chimie quantique par la méthode DFT

Récemment, les calculs DFT sont considérés comme les techniques de calcul les plus utilisées en raison de leur précision et de leur faible consommation de temps. Dans ce contexte, le programme Gaussian 09W a été utilisé pour effectuer tous les calculs de chimie quantique. Aussi, la méthode DFT au niveau B3LYP/6-311++G(d,p) a été utilisée pour déterminer les structures moléculaires optimisées de l'HYDZ-1, l'HYDZ-2, l'HYDZ-3, l'HYDZ-4, l'HYDZ-5 et l'HYDZ-6 [1]. De plus, les fréquences vibrationnelles calculées ont été obtenues aux structures optimisées des hydrazones étudiées. D'autre part, la DFT dépendante du temps (TD-DFT) avec la méthode B3LYP/6-311++G(d,p) a été utilisée pour prédire les spectres électroniques des dérivés hydrazones étudiés dans le méthanol comme solvant. L'écart énergétique (ΔE_{GAP}), l'indice d'électrophilie (ω), le moment dipolaire (μ), la mollesse (σ), la dureté (η) et l'électronégativité absolue (χ) sont calculés à l'aide des valeurs obtenues des énergies des orbitales HOMO et LUMO. Tous ces paramètres sont calculés à l'aide des équations suivantes [2-4] :

$$\Delta E_{GAP} = E_{LUMO} - E_{HOMO} \quad (V.1)$$

$$\eta = \frac{E_{LUMO} - E_{HOMO}}{2} \quad (V.2)$$

$$\sigma = \frac{1}{\eta} \quad (V.3)$$

$$\chi = \frac{-(E_{LUMO} + E_{HOMO})}{2} \quad (\text{V.4})$$

$$\omega = \frac{\chi^2}{2\eta} \quad (\text{V.5})$$

V.2.1. Résultats des calculs de chimie quantique

Les molécules visées par ce travail ont été analysées avec la méthode DFT. Les géométries optimisées, les charges atomiques et les paramètres de chimie quantique ont été calculées et discutés.

V.2.1.1. Propriétés structurales et électroniques

La **figure V.1** représente les structures géométriques optimales des hydrazones synthétisés. Ces structures ont été obtenues par une optimisation globale caractérisée par un calcul des fréquences vibrationnelles (I.R).

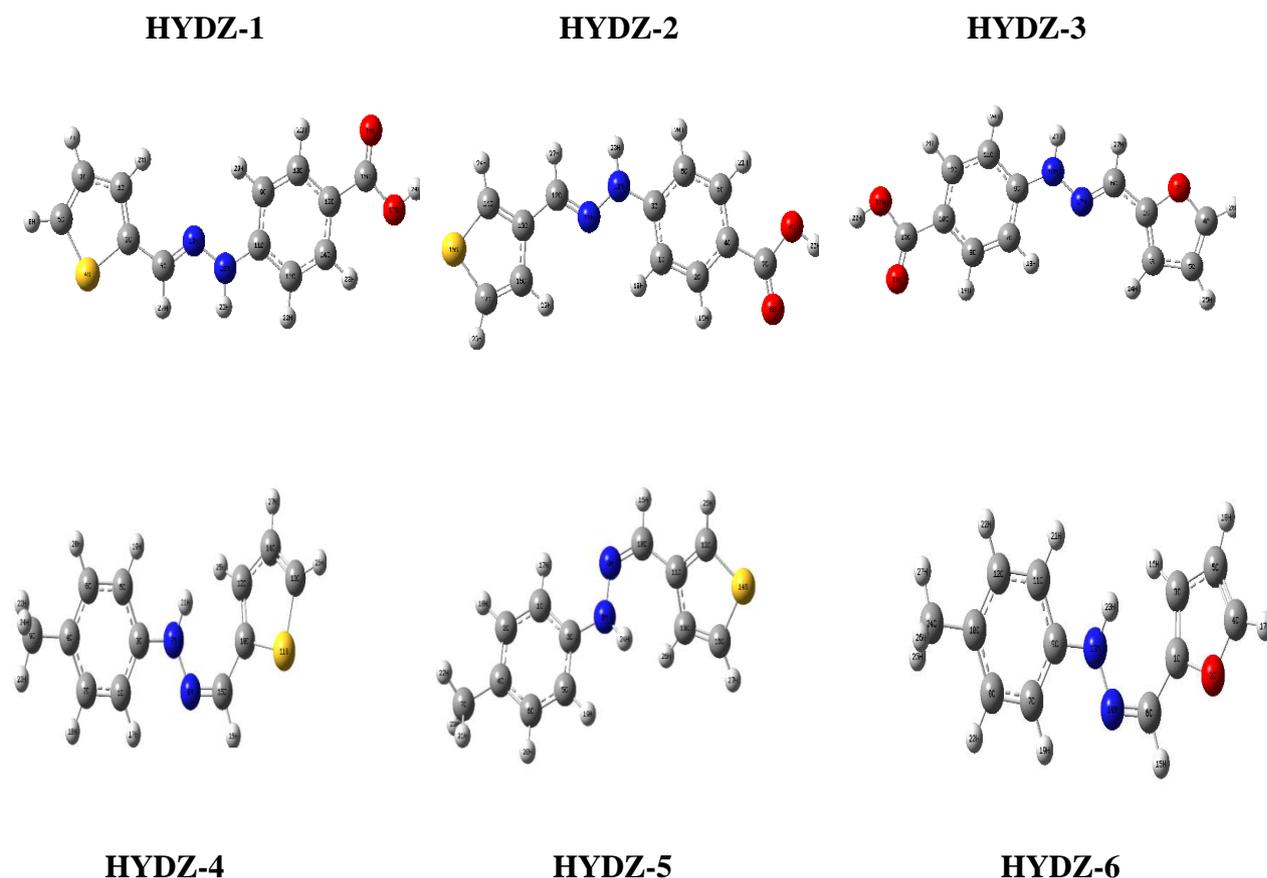


Figure V.1 : Structures moléculaires optimisées de l'HYDZ-1, l'HYDZ-2, l'HYDZ-3, l'HYDZ-4, l'HYDZ-5 et l'HYDZ-6.

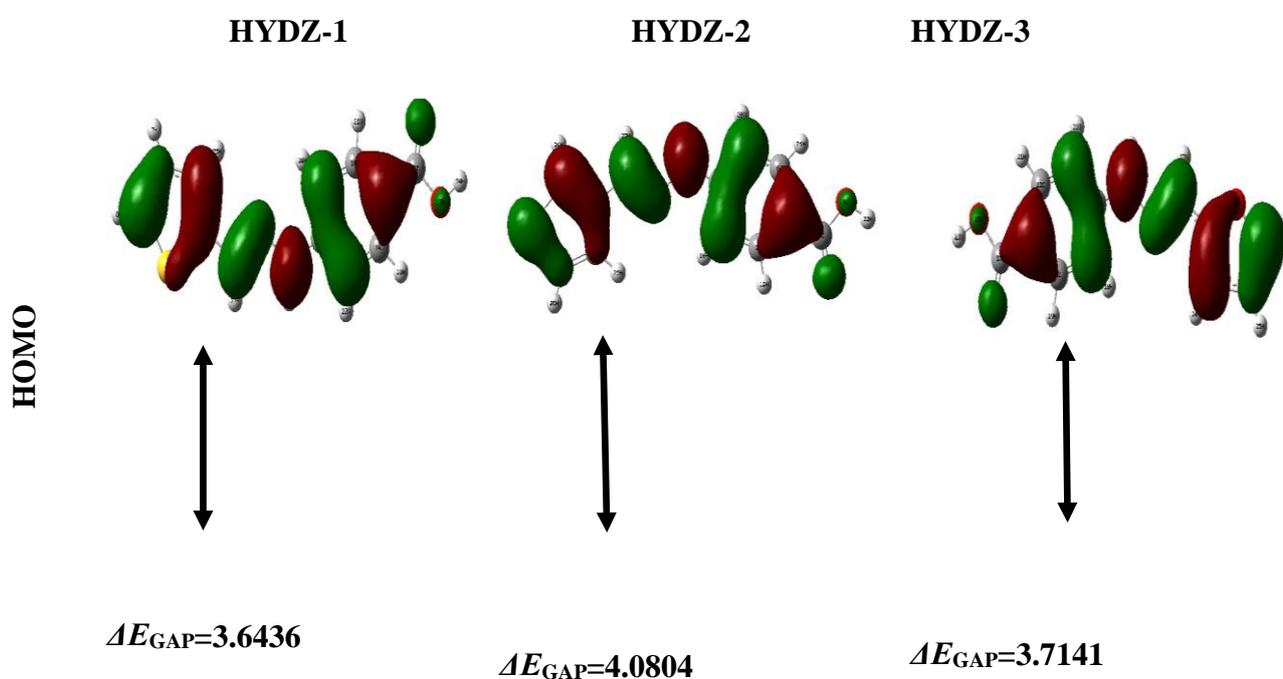
V.2.2. Analyse des orbitales moléculaires frontières (FMO)

La stabilité et la réactivité chimique des composés bioactifs peuvent être largement expliquées via les orbitales HOMO et LUMO et leurs énergies. Généralement, une valeur élevée d'EHOMO est liée à la capacité de donner d'électrons de la molécule [5], tandis qu'une valeur plus élevée d'ELUMO est liée à la capacité de la molécule à accepter des électrons [6].

La **figure V.2** représente la distribution des sites donneurs d'électrons de l'orbitale moléculaire occupée la plus élevée (HOMO) et des sites accepteurs d'électrons de l'orbitale moléculaire inoccupée la plus basse (LUMO).

D'après la figure V.2, la région colorée en rouge représente les atomes positifs, tandis que la région colorée en vert représente les lobes négatifs de la molécule. Généralement, les charges HOMO et LUMO sont situées sur des molécules entières [7].

On observe aussi que la densité d'HOMO est concentrée sur le cycle thiophène, furan et le cycle aromatique. En outre, on observe que la densité de LUMO est inversement distribuée à la densité de l'HOMO.



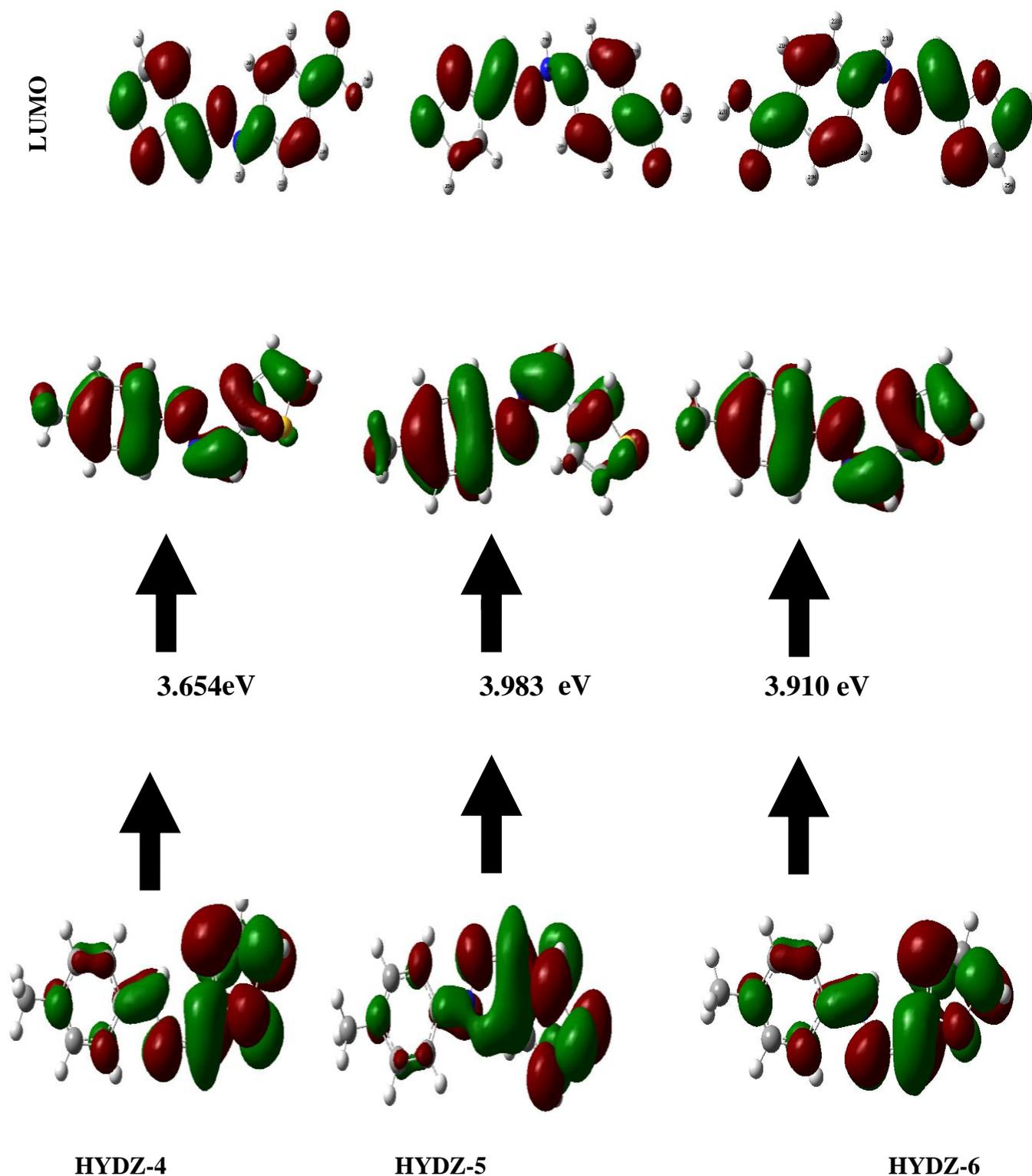


Figure V.2 : Distributions de densité des orbitales moléculaires frontières des dérivés hydrazones synthétisés.

Les énergies des orbitales LUMO et HOMO ont été utilisées pour étudier les descripteurs de réactivité globale tels que Energie de Gap (ΔE_{Gap}) la dureté (η), le potentiel chimique (μ), la mollesse (σ), l'électronégativité (χ), l'indice d'électrophilicité (ω) qui est un descripteur important de réactivité chimique.

Le **tableau V.1** récapitule les valeurs obtenues des descripteurs de réactivité chimique des composés étudiés déterminés par des calculs DFT.

Tableau V.1 : Descripteurs de réactivité chimique globale pour les dérivés hydrazones calculés par la méthode DFT à B3LYP/6-311++G(d,p).

Descripteurs chimiques quantiques	HYDZ-1	HYDZ-2	HYDZ-3	HYDZ-4	HYDZ-5	HYDZ-6
$E_{\text{Tot}}(\text{eV})$	-30521.494	-30521.36	-21732.70	-26458.40	-26458.339	-17669.61
$E_{\text{HOMO}}(\text{eV})$	-5.70487	-5.9002	-5.6689	-5.37506	-5.39901	-5.4395
$E_{\text{LUMO}}(\text{eV})$	-2.061263	-1.8198	-1.9548	-1.72084	-1.41580	-1.52928
$\Delta E_{\text{GAP}}(\text{eV})$	3.6436	4.0804	3.7141	3.65422	3.98321	3.91022
$\mu(\text{Debye})$	4.4728	5.5653	4.4565	2.22810	1.99865	2.497993
$\eta(\text{eV})$	1.8218	2.0402	1.8570	1.82711	1.991605	1.95511
Σ	0.5489	0.4901	0.5385	0.54731	0.5021	0.5114
$\chi(\text{eV})$	3.8830	3.860	3.8118	3.54795	3.40740	3.48439
Ω	4.1382	3.6515	3.9122	3.4447	2.9148	3.1049

Les densités HOMO sont liées à la forte électronégativité des atomes d'oxygène et de soufre. Il a été perturbé sur le thiophène, le cycle furane et la fonction C=N qui ont une plus grande affinité pour conserver leurs paires électroniques. L'énergie HOMO élevée correspond à une grande capacité à perdre un électron, tandis que l'énergie LUMO la plus petite indique la plus grande affinité pour les électrons.

Les résultats obtenue dans le tableau V.1 est devisés en deux séries :

- ✓ Série 1 : HYDZ-1 HYDZ-2 et HYDZ-3.
- ✓ Série 2 : HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6.

- L'ordre de l' E_{HOMO} pour la première série est HYDZ-3 (-5,6689) > HYDZ-1 (-5,70487) > HYDZ-2 (-5,9002), donc l'HYDZ-3 a une meilleure capacité de don d'électrons et libère des électrons plus que HYDZ-1 et HYDZ-2, qui exprime leur capacité en activité antioxydante. De plus, la valeur la plus basse d' E_{LUMO} est référée à la HYDZ-2 (-1,8198) qui montre son potentiel élevé à recevoir des électrons.
- L'ordre de E_{HOMO} pour la deuxième série est HYDZ-4 (-5,37506 eV) > HYDZ-5 (-5,39901 eV) > HYDZ-6 (-5,4395 eV).

Les molécules peuvent être très réactives chimiquement, instables et excitées facilement lorsque ΔE_{GAP} est plus petit, alors qu'elles peuvent être très stables et moins réactives chimiquement si ΔE_{GAP} est très grand [7]. En conséquence, le ΔE_{GAP} des molécules synthétisées devient sous l'ordre suivant :

- $\Delta E_{\text{GAP}}/\text{HYDZ-1}$ (3,6436 eV) < $\Delta E_{\text{GAP}}/\text{HYDZ-3}$ (3,7141 eV) < $\Delta E_{\text{GAP}}/\text{HYDZ-2}$ (4,0804 eV)
- $\Delta E_{\text{GAP}}/\text{HYDZ-4}$ (3,65422 eV) < $\Delta E_{\text{GAP}}/\text{HYDZ-6}$ (3,91022 eV) < $\Delta E_{\text{GAP}}/\text{HYDZ-5}$ (3,98321 eV)

Ce que signifie que l'HYDZ-1 et HYDZ-4 sont relativement les composés les plus réactifs chimiquement. Les atomes d'oxygène, d'azote et de soufre sur les hydrazones synthétisés sont des groupes électronégatifs et ils peuvent fortement impressionner la réactivité chimique ainsi que l'activité biologique au moyen de ΔE_{GAP} . En revanche, nous pouvons observer clairement que les valeurs obtenues de E_{HOMO} , E_{LUMO} et ΔE_{GAP} sont très proches les unes des autres. Il est donc difficile d'utiliser ces paramètres chimiques quantiques pour corrélés.

Généralement, les valeurs faibles de la dureté et les valeurs élevées de la mollesse sont liées à la réactivité chimique élevée des molécules [8]. Les valeurs calculées de la dureté pour les molécules étudiées suivent l'ordre suivant :

Pour la 1^{er} série : La dureté de nos molécules suivent l'ordre suivant : HYDZ-1 < HYDZ-3 < HYDZ-2 et HYDZ-1 > HYDZ-3 > HYDZ-2, respectivement. Ces résultats indiquent que l'HYDZ-1 avec la plus faible dureté et la plus grande mollesse est l'espèce la moins stable et la plus réactive.

Pour la 2^{ème} série : HYDZ-5 \geq HYDZ-6 \geq HYDZ-4, ce qui indique que le HYDZ-4 est moins flexible, instable et plus réactif. Concernant les valeurs obtenues de la mollesse, nous

observons que les hydrazones étudiées suivent l'arrangement suivant : HYDZ-4 \geq HYDZ-6 \geq HYDZ-5, ce qui suggère que l'HYDZ-4 est le composé hautement bioactif [9].

Bien que l'importance du moment dipolaire en tant qu'indicateur de la distribution électronique au sein d'une molécule soit certaine, des études ont rapporté des résultats incohérents sur l'association entre les valeurs du moment dipolaire et l'efficacité d'inhibition des molécules bioactives [10]. Dans l'étude actuelle, comme prévu, nous avons trouvé cette association significative entre les valeurs du moment dipolaire et l'ordre de la bioactivité est le suivant: HYDZ-2 > HYDZ-1 > HYDZ-3 et HYDZ-6 (2.4979 Debye) >HYDZ-4 (2.22810 Debye) >HYDZ-5 (1.99865 Debye). D'après ce résultat, on peut remarquer que l'HYDZ-3 et l'HYDZ-5 qui sont les composés les plus bioactifs ont valeur de μ les plus faibles parmi les hydrazones testées. Ainsi, nous pouvons dire que les molécules avec un moment dipolaire plus petit sont plus bioactives que les molécules avec un moment dipolaire élevé.

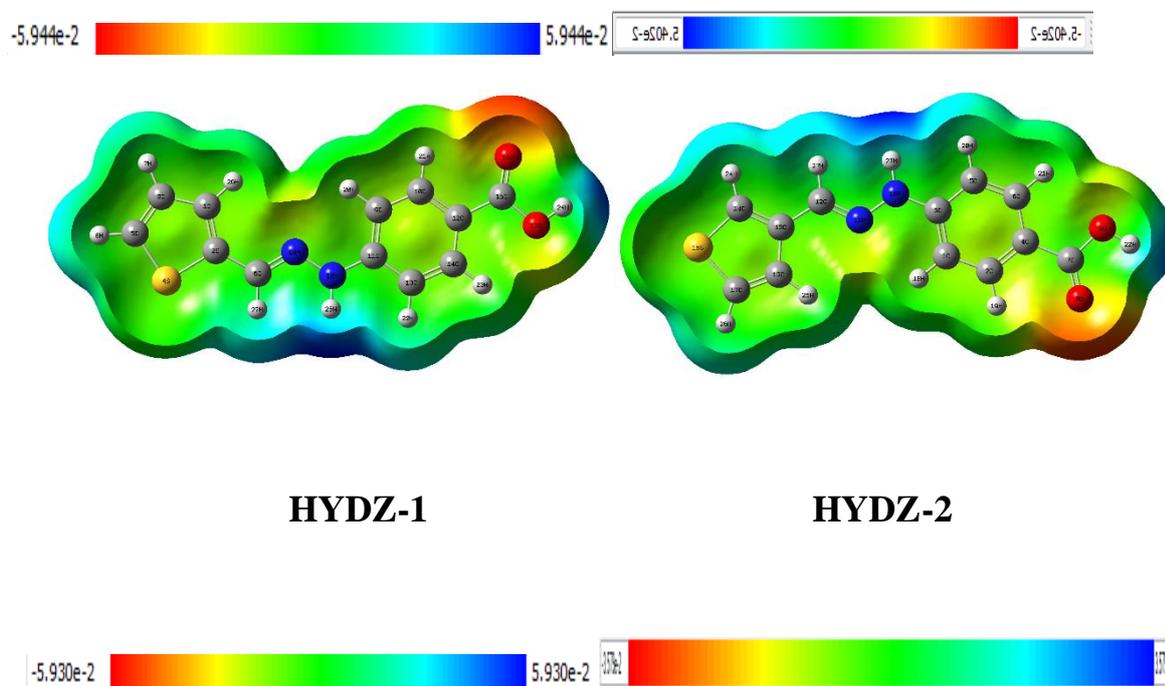
L'électrophilicité (ω) et l'électronégativité (χ) des molécules synthétisées montrent leur capacité à accepter des électrons. De même, une valeur accrue de ω prouve les meilleures propriétés électriques, tandis qu'une faible valeur de ω indique les mauvais électrophiles [11]. Dans ce contexte, l'activité biologique des composés augmente avec la diminution de la valeur de ω [12]. Dans cette étude, les valeurs calculées de ω pour les hydrazones synthétisées suivent la séquence suivante : ω HYDZ-4 > ω HYDZ-6 > ω HYDZ-5. En conséquence, nous observons que l'HYDZ-3 et l'HYDZ-5 ont la faible valeur de ω , ce qui indique que l'HYDZ-3 et l'HYDZ-5 sont les composés les plus bioactifs. Ce résultat est en bon accord avec les résultats expérimentaux obtenus de l'activité biologique de nos composés testés. Pour cette raison, nous pouvons dire que pour considérer une molécule comme un composé potentiellement bioactif, elle devrait avoir une valeur moindre de μ . En conclusion, les activités chimique et biologique des molécules augmentent avec l'augmentation de la valeur de l'électrophilicité [13]. Nous concluons que l'HYDZ-1 et l'HYDZ-4 ont une bonne activité inhibitrice (antibactérienne et inhibition de la protéase principale du SARS-CoV-2) et que l'HYDZ-3 et l'HYDZ-5 ont une bonne activité antioxydante, tandis que l'HYDZ-2 et l'HYDZ-6 montre les conformères les plus stables parmi les composés étudiés.

V.2.3. Surfaces du potentiel électrostatique moléculaire (MEP)

Pour déterminer les sites actifs qui conduisent aux attaques électrophiles et nucléophiles, nous avons décidé d'utiliser les surfaces du potentiel électrostatique moléculaire (MEP) comme descripteur utile [14]. Le MEP décrit la distribution de charge des molécules

de manière tridimensionnelle et corrèle la distribution de charge totale avec le moment dipolaire, l'électronégativité, la charge partielle et les sites chimiquement réactifs des molécules [15]. La zone de potentiel zéro est représentée par la couleur verte, et l'évolution du potentiel suit l'ordre rouge < orange < jaune < vert < bleu [16]. Généralement, la zone colorée en rouge indique la surface riche en électrons à potentiel négatif et à forte répulsion, tandis que la zone colorée en bleu représente la surface pauvre en électrons à potentiel positif et à forte attraction. De plus, la zone verte représente la région avec un potentiel neutre.

La Figure V.3 représente les surfaces MEP calculées de l'HYDZ-1, l'HYDZ-2, l'HYDZ-3, l'HYDZ-4, l'HYDZ-5 et l'HYDZ-6 avec des gammes potentielles de $[-5.944 \cdot 10^{-2}, 5.944 \cdot 10^{-2}]$, $[-5.402 \cdot 10^{-2}, 5.402 \cdot 10^{-2}]$, $[-5,930 \cdot 10^{-2}, 5,930 \cdot 10^{-2}]$, $[-3,579 \cdot 10^{-2}, 3,579 \cdot 10^{-2}]$, $[-3,591 \cdot 10^{-2}, 3,591 \cdot 10^{-2}]$ et $[-3,706 \cdot 10^{-2}, 3,706 \cdot 10^{-2}]$, respectivement. Ainsi, les surfaces étudiées apparaissent dans des couleurs différentes. Généralement, les zones rouges, oranges et jaunes indiquent les régions négatives du MEP, correspondant aux sites nucléophiles (groupes fonctionnels carboxyliques, thiophènes, furanes et hydrazones). Par contre, les zones vertes et bleues présentent les régions positives responsables des attaques électrophiles (atomes d'hydrogène et noyau benzénique).



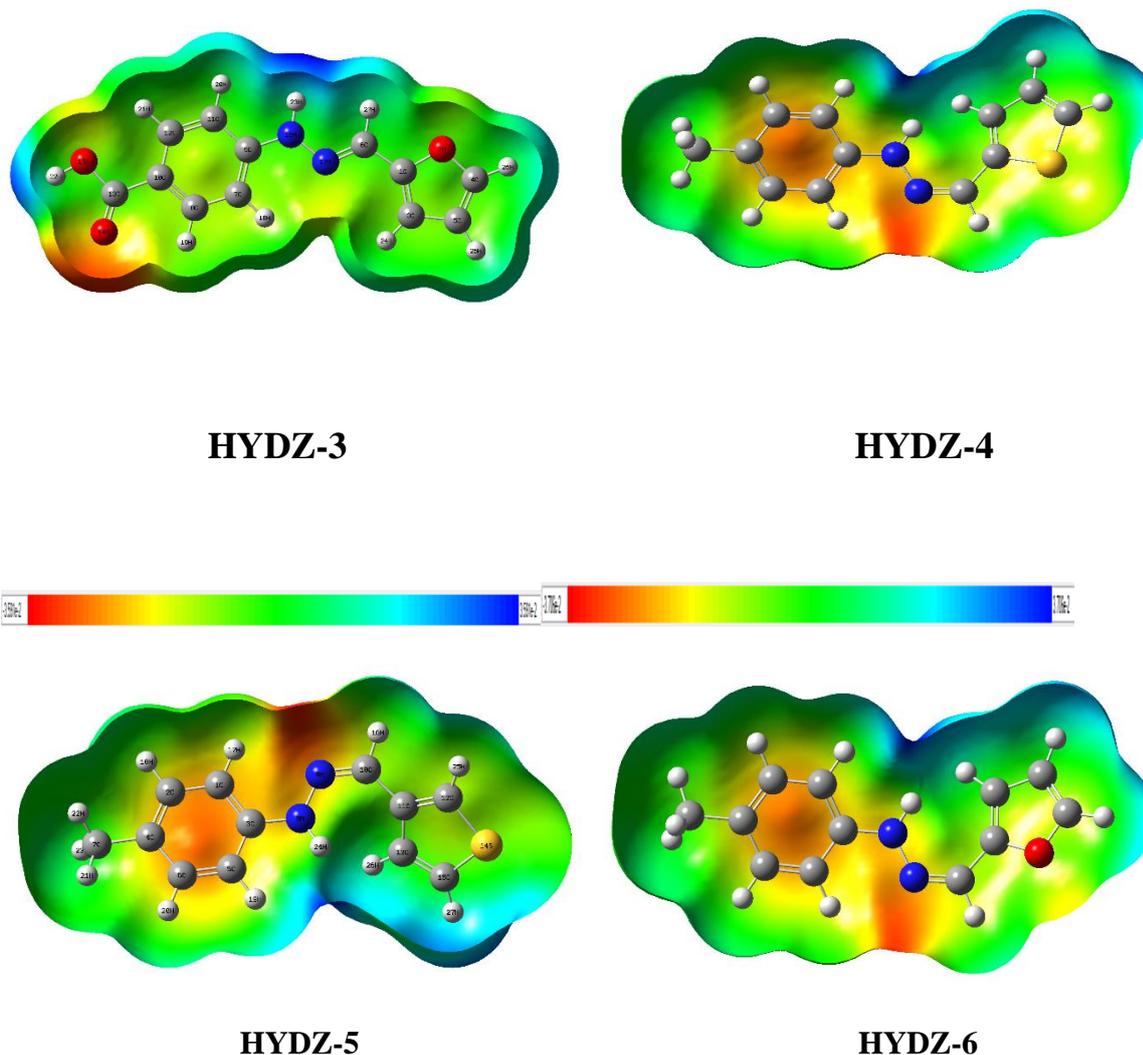


Figure V.3 : Cartes de potentiel électrostatique moléculaire de dérivés hydrazones.

V.2.4. Charges atomiques NBO :

La densité électronique des molécules peut être affectée par les charges NBO. De plus, pour vérifier les liaisons et les liens d'interaction au sein et entre les molécules, l'analyse NBO peut être utilisée pour évaluer la délocalisation de la densité électronique entre les orbitales de type Lewis occupées et les NBO vides non-Lewis, indiquant la stabilité de l'interaction donneur-accepteur [17]. Pour les hydrazones étudiées, les charges atomiques naturelles calculées de tous les atomes sont présentées dans le tableau V.2 . D'après les résultats obtenus, on peut voir que les atomes d'oxygène et d'azote ont les charges les plus négatives, ce qui est dû à la relaxation moléculaire. De plus, les charges les plus positives sont situées sur les atomes d'hydrogène. Pour les molécules étudiées, les charges négatives sont situées sur les

atomes O16, O17, N18 et N19 pour HYDZ-1, les atomes O14, O15, N16 et N17 pour HYDZ-2 et les atomes O2, O14, O15, N16 et N17 pour HYDZ-3.

Tableau V.2: Charges atomiques NBO de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3 calculées par la méthode DFT à B3LYP/6-311++G(d,p).

HYDZ-1		HYDZ-2		HYDZ-3	
Atomes	Charges NBO	Atomes	Charges NBO	Atomes	Charges NBO
C1	-0.2196900	C1	-0.3600700	C1	0.2420600
C2	-0.2457100	S2	0.4482700	O2	-0.4609100
C3	-0.2439300	C3	-0.1716300	C3	-0.2562800
S4	0.4259500	C4	-0.3762300	C4	0.1305300
C5	-0.3827100	C5	-0.2621100	C5	-0.2944000
C6	0.0257600	C6	0.0447000	C6	0.0077900
H7	0.2199800	C7	-0.2430600	C7	-0.2448700
H8	0.2267800	C8	-0.1258000	C8	-0.1250500
C9	-0.2444200	C9	0.1904000	C9	0.1872100
C10	-0.1249300	C10	-0.2055000	C10	-0.2061700
C11	0.1877300	C11	-0.2491000	C11	-0.2489400
C12	-0.2062300	C12	-0.1409600	C12	-0.1402900
C13	-0.2489400	C13	0.7855200	C13	0.7850000
C14	-0.1400200	O14	-0.6124800	O14	-0.6127000
C15	0.7850000	O15	-0.6979600	O15	-0.6977500
O16	-0.6126400	N16	-0.4033300	N16	-0.3762900
O17	-0.6977300	N17	-0.2401700	N17	-0.2366500

N18	-0.3780000	H18	0.1945300	H18	0.2305500
N19	-0.2395200	H19	0.2300800	H19	0.2286600
H20	0.2303400	H20	0.2295300	H20	0.2028600
H21	0.2286700	H21	0.2257700	H21	0.2253900
H22	0.2028800	H22	0.2331300	H22	0.4836000
H23	0.2253700	H23	0.2283000	H23	0.3559200
H24	0.4836100	H24	0.2029600	H24	0.2308000
H25	0.3553200	H25	0.2248100	H25	0.2238900
H26	0.2289000	H26	0.4834000	H26	0.1978500
H27	0.1581900	H27	0.3670100	H27	0.1681800

Les charges atomiques naturelles calculées (NBO) de la 2^{eme} série des hydrazones étudiées sont répertoriées dans le tableau V.3. L'atome C6 de HYDZ-4 et C3, C10 pour HYDZ-5 et les atomes C1, C4 et C9 de HYDZ-6 présentent des charges positives, tandis que les autres atomes de carbone ont des charges négatives. De plus, les deux atomes d'azote des groupes hydrazones ont des charges négatives (N13 et N14 de HYDZ-4, N8 et N9 de HYDZ-5 et N13 et N14 de HYDZ-6).

Tableau V.3 : Charges NBO atomiques de HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6 calculées par la méthode DFT à B3LYP/6-311++G(d,p).

HYDZ-4		HYDZ-5		HYDZ-6	
Atomes	Charges NBO	Atomes	Charges NBO	Atomes	Charges NBO
C1	-0.2592500	C1	-0.2296400	C1	0.2309400
S2	0.4000600	C2	-0.1798200	O2	-0.4565600
C3	-0.2258900	C3	0.1550900	C3	-0.2954300
C4	-0.3817100	C4	-0.0633400	C4	0.1370900

C5	-0.2470200	C5	-0.2363300	C5	-0.2976400
C6	0.0036200	C6	-0.1863500	C6	-0.0187400
C7	-0.2277300	C7	-0.5845900	C7	-0.2264500
C8	-0.1803500	N8	-0.4095700	C8	-0.1796000
C9	0.1533300	N9	-0.2369600	C9	0.1527900
C10	-0.0604000	C10	0.0270200	C10	-0.0597600
C11	-0.2324700	C11	-0.1667500	C11	-0.2340300
C12	-0.1864400	C12	-0.3645400	C12	-0.1867500
N13	-0.4002700	C13	-0.2608200	N13	-0.4001300
N14	-0.2398000	S14	0.4393200	N14	-0.2338400
C15	-0.5850100	C15	-0.3788300	C15	-0.5851200
H16	0.1966300	H16	0.1914200	H16	0.2046700
H17	0.2191300	H17	0.2276600	H17	0.2199600
H18	0.2278000	H18	0.1990800	H18	0.1994100
H19	0.2215800	H19	0.1983400	H19	0.2246400
H20	0.2282500	H20	0.1993300	H20	0.2285100
H21	0.1994200	H21	0.2039600	H21	0.1998000
H22	0.2003300	H22	0.2054500	H22	0.1982300
H23	0.1998700	H23	0.2079400	H23	0.1999300
H24	0.3578100	H24	0.3613200	H24	0.3589000
H25	0.2085100	H25	0.2282400	H25	0.2088000
H26	0.2053900	H26	0.2257300	H26	0.2063600
H27	0.2045900	H27	0.2276400	H27	0.2039900

V.3. Etude qualitative de système ADME/T

V.3.1. Introduction

Chaque médicament éventuel doit se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible coût de production, être soluble, stable mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité.

Au fil des ans, des ensembles de règles ou de filtres ont été codifiés afin d'aider à définir l'espèce chimique de la ressemblance avec les médicaments. La règle la plus connue rapportant les constitutions chimiques à leurs activités biologiques est la règle de Lipinski [18], il s'appelle la « règle de cinq ».

V.3.2. Analyse des propriétés physicochimiques, pharmacocinétiques et Drug-like

La règle de Lipinski est la plus utilisée pour l'identification des composés drug-like. D'après cette règle, les composés ne validant pas au moins deux des critères suivants ont de très fortes chances d'avoir des problèmes d'absorption ou de perméabilité :

- ✓ Le poids moléculaire du composé ne doit pas être supérieur à 500 daltons (Da) ;
- ✓ Le coefficient de partition (logP) doit être ≤ 5 (avec un optimum entre 0 et 3) ;
- ✓ Le nombre de donneurs de liaisons hydrogènes doit être ≤ 5 ;
- ✓ Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogènes doit être ≤ 10 .
- ✓ TPSA ne doit pas être supérieur à 140 Å².

Ce n'est donc pas une méthode pour distinguer les composés étant potentiellement des médicaments de ceux n'en étant pas, mais plutôt une méthode pour identifier les composés ayant une faible absorption ou une faible perméabilité.

V.3.2.1. Poids moléculaire

Noté MW (appelé aussi le poids de formule), mesuré en daltons (Da). C'est la somme des poids atomiques des différents atomes constituant la molécule. Il est utilisé dans l'étude de transport dont la diffusion et le mode de fonctionnement des médicaments [19,20].

V.3.2.2. Coefficient de partage (octanol-water) log P

Le coefficient de partage d'une substance chimique entre deux phases non miscibles est le rapport des concentrations à l'équilibre du composé dans la phase organique apolaire et la phase aqueuse. Le solvant organique couramment utilisé pour mesurer expérimentalement le coefficient de partage des molécules médicamenteuses est l'octanol. Le coefficient de partage P se calcule de la manière suivante [21]:

$$P = C_{oct}/C_{eau} \times 100 \quad (V.6)$$

Où : C_{oct} est la concentration de composé en solution dans l'octanol.

C_{eau} est la concentration du composé en solution dans l'eau.

V.3.2.3. Superficie topologique de la surface polaire (TPSA)

La superficie topologique de la surface polaire (TPSA : topological polar surface area) est définie comme la somme des surfaces des atomes. Ce paramètre a été représenté pour une meilleure corrélation d'absorption intestinale dans le corps humain, la perméabilité, et la pénétration de barrière hémato-encéphalique [22].

V.3.2.4. Nombre de donneurs de liaisons hydrogènes (HBD)

C'est un atome d'hydrogène lié à un hétéroatome (comme dans les amines, alcools, thiols...).

V.3.2.5. Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogènes (HBA)

Il s'agit du nombre d'atomes possédant des doublets non liants (N, O ou F) capable de se lier par liaisons hydrogène à d'autres molécules.

V.3.2.6. Solubilité Log S

LogS est directement lié à la solubilité dans l'eau d'un médicament et est défini comme une unité de solubilité commune correspondant au logarithme de base 10 de la solubilité d'une molécule mesurée en mol/L.

V.3.3. Résultats des propriétés physicochimiques (drug-likeness)

De plus, il est bien connu dans le développement de médicaments que les propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité (ADME-T) des molécules sont l'une des principales raisons de leur échec dans les essais cliniques. Les propriétés ADME-T des hydrazones synthétisées et leurs paramètres pharmacocinétiques et

la toxicité ont été évalués et calculés à l'aide de logiciel **OSIRIS** et de la boîte à outils de calcul des propriétés en ligne Molinspiration (disponible sur : <http://www.molinspiration.com>) [23].

Pour explorer l'importance de nos composés, nous avons utilisé les médicaments de *chloroquine* et *hydroxychloroquine* qui sont utilisées comme références dans traitement de COVID-19 pour comparer leurs propriétés ADME/T avec les produits hydrazones testés.

Généralement, la valeur négative de log P indique la forte affinité de la molécule pour la phase aqueuse (plus hydrophile), tandis que la valeur positive de log P montre la valeur élevée de la concentration de la molécule dans la phase lipidique (plus lipophile). Aussi, il a été montré que pour que les composés aient une probabilité raisonnable de bonne absorption ou perméation, leur valeur de log P ne doit pas être supérieure à 5.

D'après le tableau V.4, nous avons remarqué que les valeurs de lipophilie (log P) des hydrazones étudiées sont variait de 3.93 à 5,11. De plus, on constate que seul le composé HYDZ-4 a une valeur calculée de log P supérieure à 5 (5.11). Il a été démontré que pour que les composés aient une probabilité raisonnable de bonne absorption. Concernant le TPSA, la bonne biodisponibilité orale d'une molécule est obtenue lorsque la valeur du TPSA est comprise entre 20 et 130 Å². De plus, si le score TPSA est supérieur à 140 Å², la molécule a une faible biodisponibilité orale [24]. Pour tous nos composés testés, la valeur TPSA varie de 24,39 à 74.83.

La solubilité est l'une des principales propriétés physico-chimiques. Cette valeur exprimée en LogS affecte de manière significative ses caractéristiques d'absorption et de distribution. Généralement, une faible solubilité va de pair avec une mauvaise absorption et l'objectif général est donc d'éviter les composés peu solubles. Plus de 80 % des médicaments sur le marché ont une valeur de S (estimée) supérieure à -4 [25–26]. D'après les résultats obtenus, nous constatons que toutes les composés ont une solubilité aqueuse acceptable, car leurs valeurs du log S sont des valeurs supérieures à 1 a valeur optimale (-4), par contre pour hydroxychloroquine qui il est une valeur de log S inférieur à -4.

Tableau V.4 : Calcul informatique des paramètres physico-chimiques pharmacocinétiques importants pour une bonne biodisponibilité orale des composés synthétisés (ADME-T).

Composés	LogP	Solubilité	TPSA	MM	nON	nOH	MV	Vio	Risque de Toxicité				
									Mut	Tumo	Irr	R,E	
	<5	té	(A ²)	<500	<10	NH							
		>-4	<140			<5							
HYDZ-1	4.57	-3.17	61.69	246.29	4	2	208.8	0	No	No	No	No	No
HYDZ-2	4.26	-3.06	61.69	246.29	4	2	208.8	0	No	No	No	No	No
HYDZ-3	3.93	-2.84	74.83	230.22	5	2	199.6	0	No	No	No	No	No
HYDZ-4	5.11	-3.5	24.39	216.31	2	1	198.3	1	No	No	No	No	No
HYDZ-5	4.48	-3.39	24.39	216.31	2	1	204.6	0	No	No	No	No	No
HYDZ-6	4.47	-3.17	37.53	200.24	3	1	189.2	0	No	No	No	No	No
Chloroquine*	4.01	-4.06	28.16	319.83	3	1	313.1	1	Yes	No	Yes	No	No
Hydroxychloroquine*	3.08	-3.55	48.38	35.88	4	2	321.3	0	Yes	No	No	No	No

* : médicaments de Référence, surface polaire topologique (TPSA) ; Nombre de liaisons rotatives (n-rotb) ; Poids moléculaire (MW); Volume moléculaire (VM); Logarithme du coefficient de partage entre le n-octanol et l'eau (miLogP) ; Nombre de donneurs de liaisons hydrogène (n-OH/NH) ; Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (n-ON) ; Violation de Lipinski (vio) (Mut) mutagène (Tumo) : tumorigène (Irr) : irritant (R.E) reproductif efficace.

Comme observé dans le **tableau V.4**, les hydrazones synthétisées respectent la règle de Lipinski et n'ont montré aucune violation, sauf l'HYDZ-4 qui montre une violation. Le profil de toxicité des composés inspectés était relativement dans la plage de sécurité, à l'exception des médicaments de références qui présentaient un risque de toxicité. Tous les composés testés n'ont montré aucun risque de toxicité, ils ont donc été prédits pour provoquer des mutagènes, des tumorigènes, des irritations et des effets sur la reproduction. Enfin, l'étude *in silico* des propriétés ADME-T a démontré que les hydrazones synthétisées ont de bons paramètres ADME-T et peuvent être des nouveaux médicaments sans aucune toxicité déterminé.

V.4. Docking moléculaire

Le docking (amarrage ou arrimage) moléculaire est une méthode empirique qui permet de prédire l'affinité entre deux molécules. Cet outil est actuellement très sollicité dans la recherche de nouvelles molécules à visée thérapeutique. Il est utilisé pour faire des criblages très rapides et peu coûteux afin d'identifier une molécule pouvant avoir une forte activité sur une protéine cible ou au contraire d'identifier la cible d'une molécule ayant des activités biologiques intéressantes [27].

L'un des meilleurs moyens de comprendre l'interaction de liaison des ligands et des protéines dans l'industrie de la conception des médicaments est la recherche sur l'amarrage moléculaire. En outre, l'amarrage moléculaire est l'une des meilleures méthodes de simulation pour estimer le complexe d'interactions médicament-cible en calculant la minimisation de l'énergie et l'énergie de liaison.

V.4.1. Logiciel et protocole utilisés

L'achèvement du contrôle d'amarrage moléculaire consiste à évaluer l'affinité de liaison des ligands synthétiques à la protéase principale du SRAS-CoV-2 (Mpro). La structure cristalline de Mpro a été fournie à partir de la base de données de protéines PDB via le code 6LU7.

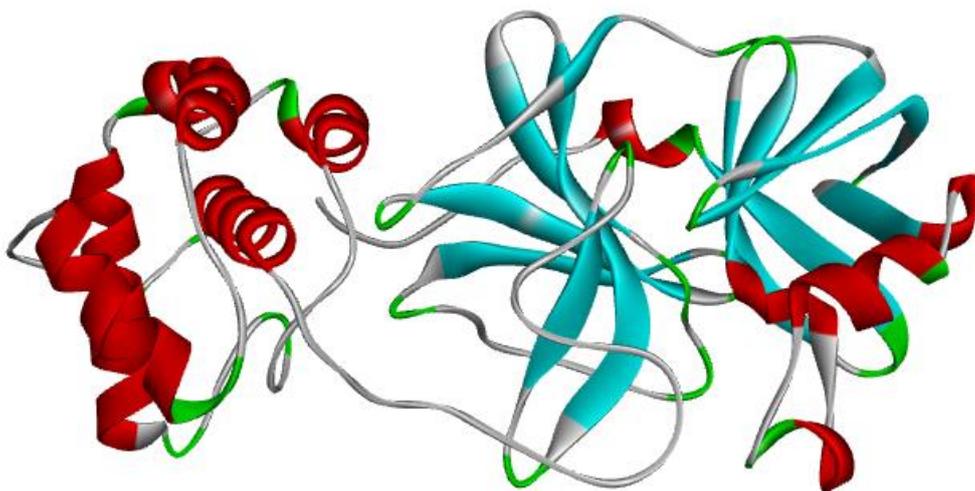


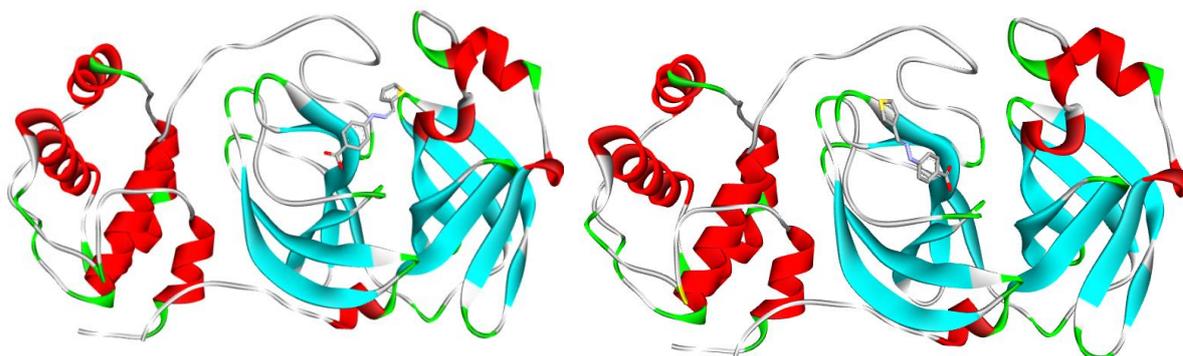
Figure V.4: Structure cristalline de la protéase principale du SARS-CoV-2.

De plus, les géométries optimisées de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6 obtenues par la méthode DFT au niveau B3LYP/6-311++ (d,p) ont été

utilisées dans les calculs d'amarrage moléculaire. Par conséquent, le processus d'amarrage moléculaire a été exécuté au moyen de la version 2.1 du programme iGEMDOCK. D'autre part, les complexes obtenus ont été visualisés avec la version 16.1.0 de Discovery Studio Visualizer d'Accelry

La préparation de récepteur pour l'amarrage s'effectue comme suit :

- Les molécules d'eau, les cofacteurs, et les ions ont été exclus ;
- Tous les atomes d'hydrogène et les charges des atomes ont été additionnés ;
- Les atomes d'hydrogène non polaires ont été fusionnés ;
- Les ligands ont été placés pour être flexible ;
- L'enzyme a été préparée comme corps rigide ;
- La conformation stable qui correspond à l'énergie de liaison la plus basse a été choisie comme meilleure pose et a été utilisée dans l'analyse d'amarrage [28].



Mpro-HYDZ-1

Mpro-HYDZ-2

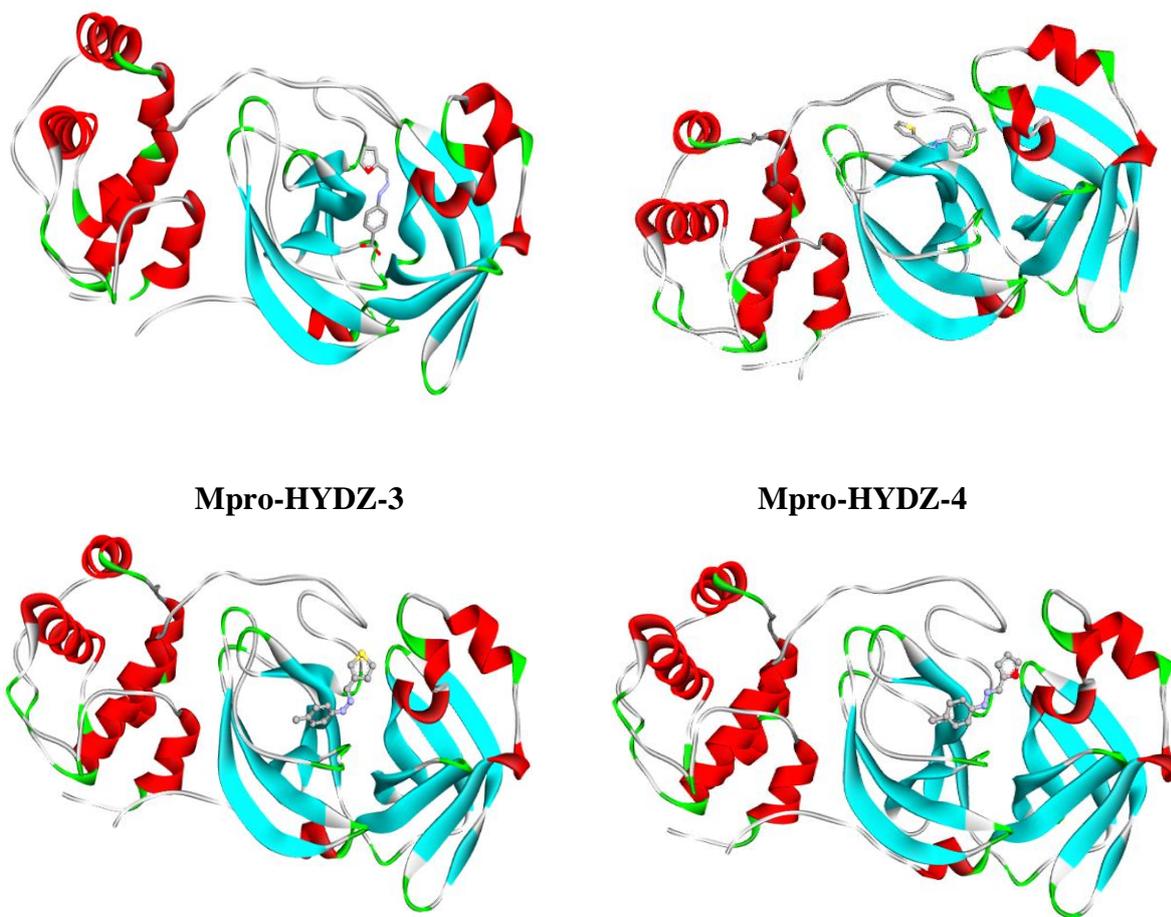
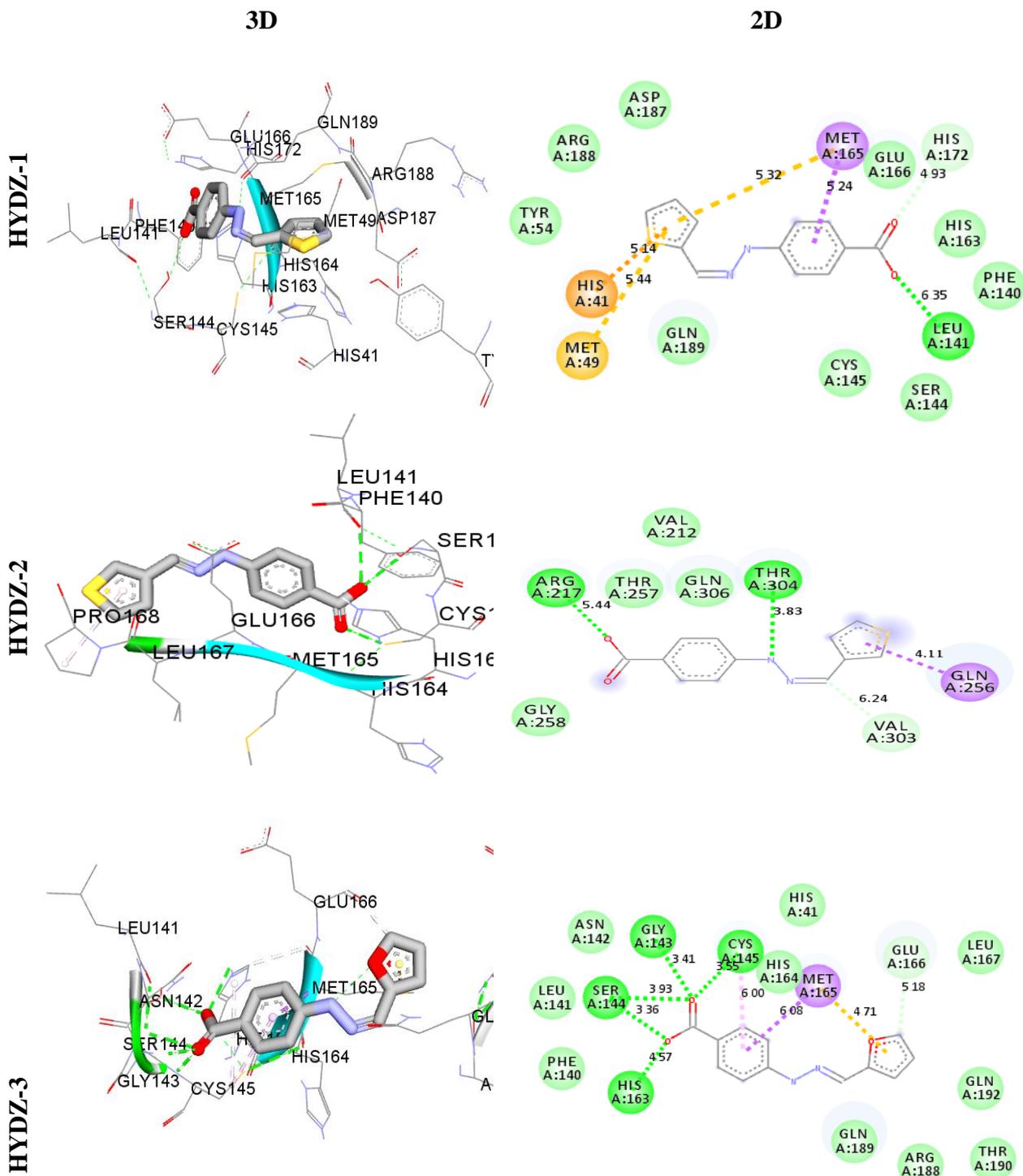


Figure V.5 : Meilleures configurations des complexes formés entre les ligands étudiés et la protéase principale du SRAS-CoV-2.

V.4.2. Résultats du docking moléculaire

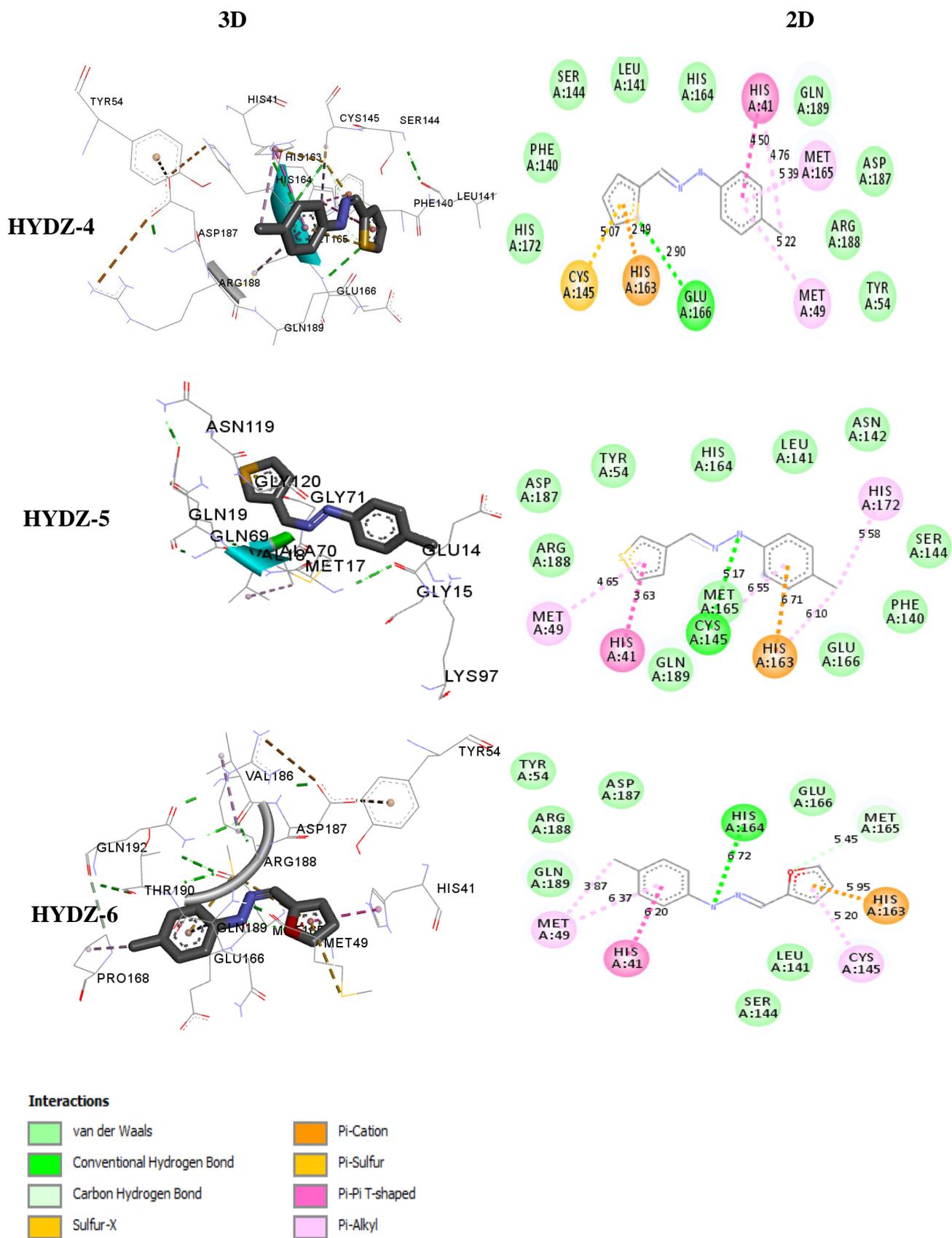
La **figure V.5** représente les structures cristallines des meilleurs modes d'amarrage des complexes Mpro-HYDZ-1, Mpro-HYDZ-2, Mpro-HYDZ-3, Mpro-HYDZ-4, Mpro-HYDZ-5 et Mpro-HYDZ-6. Il est à noter que les ligands étudiés se lient de préférence dans la structure externe de Mpro.

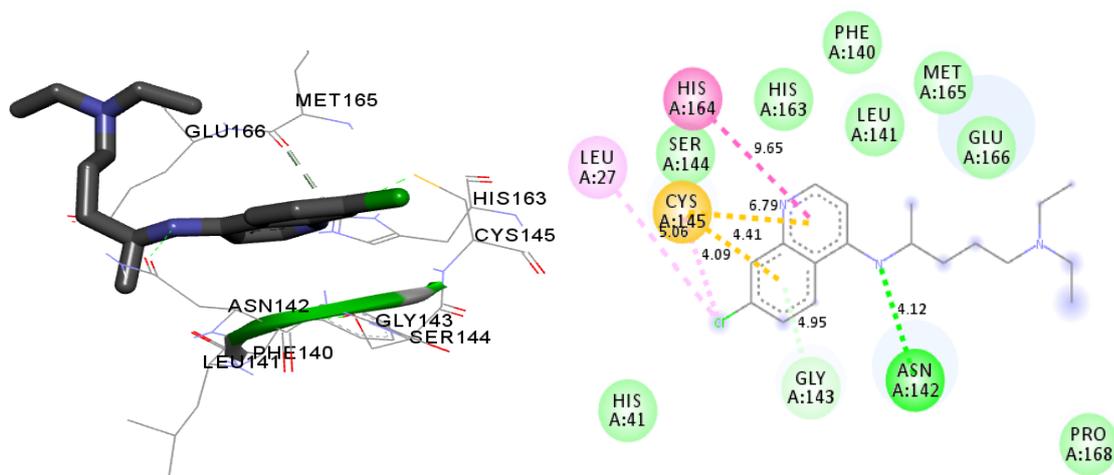
La **figure V.6** représente les diagrammes d'interaction 3D et 2D entre la cible Mpro et les ligands étudiés. En général, les interactions principales ont les couleurs suivantes : la liaison hydrogène conventionnelle est présentée en vert foncé, tandis que l'interaction de van der Waals est colorée en vert clair.



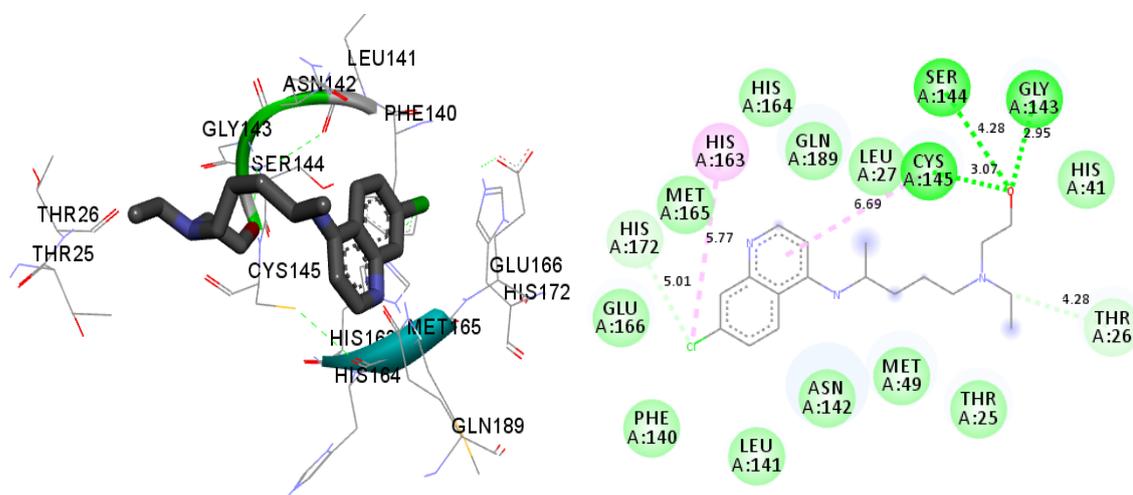
Interactions

- | | |
|----------------------------|--------|
| van der Waals | Pi-Sig |
| Conventional Hydrogen Bond | Pi-Sul |
| Carbon Hydrogen Bond | Pi-Alk |





Chloroquine



Hydroxychloroquine

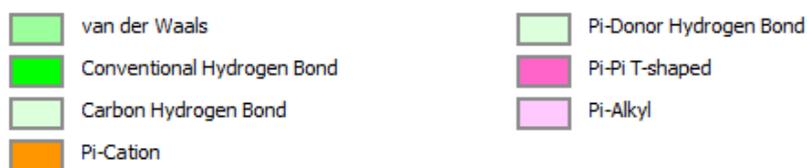


Figure V.6: Diagrammes d'interaction 3D et 2D de HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6, chloroquine et hydroxychloroquine avec la protéase principale du SRAS-CoV-2.

D'après la Fig. V.6, nous pouvons remarquer que :

Le ligand HYDZ-1 s'est avéré interagir avec une seule liaison hydrogène conventionnelle LEU141 (6,35 Å) avec l'oxygène du groupe carboxylique, un type Pi-sigma avec MET165 (5,24 Å) et le un groupe benzène, un Pi-Soufre avec MET49 (5,44 Å), HIS41 (5,14 Å) et MET165 (5,32 Å) et un groupe thiophène, une liaison vdW avec HIS172 (4,93 Å) et un groupe carboxylique.

Il a également été observé que le ligand HYDZ-2 interagissait à travers deux liaisons hydrogène conventionnelles ARG217 (5,44 Å) et THR304 (3,83 Å) avec l'oxygène des groupes carboxyliques et amines de l'hydrazone, respectivement, un Pi-sigma type avec GLN256 (4,11 Å) et un vdW avec VAL303 (6,24 Å) avec thiophène et fonction C=N, respectivement.

Quant au ligand HYDZ-3, il a interagi via cinq liaisons hydrogène avec CYS145 (3,55 Å), GLY143 (3,41 Å), SER144 (3,93 Å), SER144 (3,36 Å) et HIS163 (4,57 Å) qui a réagi sur le groupe carboxylique, un Pi-Alkyl avec CYS145 (6,00 Å), un Pi-Cation avec MET165 (4,71 Å) a réagi sur le groupe furane, un VDW avec GLU166 (5,18 Å) et Pi-Sigma avec MET165 (6,08 Å) et groupe benzénique.

A partir de ces résultats, nous observons que HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3 ont une liaison Pi-Sigma qui n'apparaît pas dans les standards. Cela signifie que l'effet inhibiteur a augmenté. On peut conclure que les acides aminés ont réagi plus fortement au niveau des sites nucléophiles (groupes hydroxy, furanne et thiophène) [29].

L'HYDZ-4 interagit avec les résidus d'acides aminés dans le site actif via une liaison hydrogène conventionnelle avec le GLU166 (2,90 Å), alors qu'il interagit avec le CYS145 (5,07 Å) par interaction Pi-soufre, il interagit avec le MET49 (5,22 Å), le MET165 (5,39 Å), l'HIS41 (4,76 Å) par interaction Pi-alkyle. Les interactions en forme de Pi-Cation et Pi-Pi correspondent à l'interaction des acides aminés HIS163 (2,49 Å) et HIS41 (4,50 Å), respectivement.

Pour le ligand HYDZ-5, nous observons qu'il interagit via des liaisons hydrogènes conventionnelles avec l'HIS164 (≥ 5 Å) et le TYR45 (7,41 Å), alors qu'il peut interagir avec HIS41 (4,57 Å) et HIS163 (5,56 Å) par interaction Pi-cations. De plus, il interagit par interaction Pi-alkyle avec le MET49 (4,89 Å), le CYC145 (6,54 Å) et l'HIS172 (5,86 Å).

Dans le cas du ligand HYDZ-6, nous avons observé la formation d'une liaison hydrogène conventionnelle avec l'HIS164 (6,72 Å). De plus, il interagit avec l'interaction Pi-cations avec l'HIS163 (5,95 Å) et l'HIS163 (6,20 Å). De plus, le HYDZ-6 forme une interaction Pi-alkyle avec le MET49 (3,87 Å), le MET49 (6,37 Å) et le CYC145 (5,20 Å). L'interaction de vdW et Pi-Pi en forme de T correspond à l'interaction des acides aminés MET165 (5,45 Å) et HIS41 (6,20 Å), respectivement.

Pour la chloroquine utilisée comme standard, il n'y a qu'une seule liaison hydrogène avec l'ASN142 (4,12 Å). Ensuite, une interaction de type Pi-Alkyl avec le CYS145 (4,09 Å) et le LEU27 (5,00 Å) avec l'atome de Chlorure, une interaction Pi-Cation avec la CYS145 (6,79 Å), la CYS145 (4,41 Å) réagissent sur le groupe quinoléine, une interaction de type Pi-Pi en forme de T avec la GLY143 (4,95 Å), l'HIS164 (9,65 Å) d'interaction vdW [30].

Pour l'Hydroxychloroquine, il existe trois liaisons hydrogènes avec la SER144 (4,28 Å), la GLY143 (2,95 Å) et la CYS145 (3,07 Å) par l'intervention du groupement fonctionnel OH, deux liaisons Pi-Alkyl avec l'HIS163 (5,77 Å) et la CYS145 (6,69 Å), la liaison de van der Waals avec la HIS172 (5,01 Å) et la THR (4,28 Å) ont interagi avec l'atome de chlore et les groupes amines de l'hydroxychloroquine, respectivement [31].

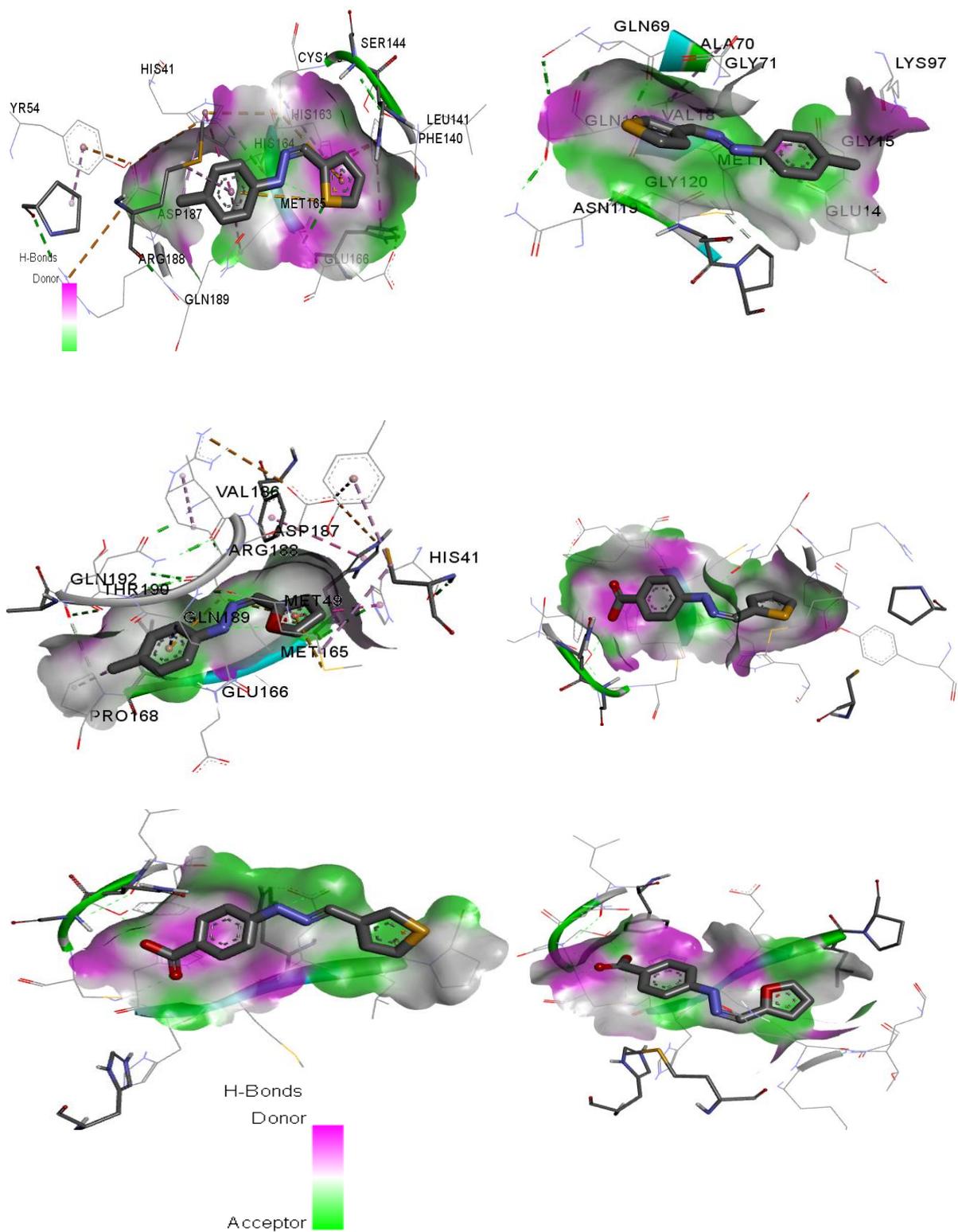


Figure V.7: Interaction des ligands avec leurs cartes de surface moléculaire à l'intérieur de la poche du site actif.

Sur la **figure V.7**, la zone verte représente les sites accepteurs d'électrons des liaisons H (cycles thiophène, furane et benzène), tandis que la zone rose représente les sites donneurs d'électrons (C-S, C=N, C-O) [32]. De plus, l'interaction théoriquement calculée du complexe inhibiteur-récepteur a montré des résultats très positifs. En ce sens, on peut dire que les hydrazones étudiées ont une bonne capacité inhibitrice.

Les inhibiteurs et les acides aminés à l'intérieur des sites actifs des enzymes ont été déterminés par des simulations d'amarrage moléculaire. Dans ce contexte, la répartition énergétique des différentes interactions entre le Mpro et les ligands synthétisés est illustrée dans le tableau V.10, qui explique les différentes interactions entre les acides aminés actifs du récepteur ciblé (Mpro), et l'HYDZ-1, l'HYDZ-2 et l'HYDZ-3 [33].

Le tableau V.5 rassemble les valeurs comparatives des énergies de liaison des composés selon l'ordre suivant : HYDZ-1 > HYDZ-2 > HYDZ-3 > Chloroquine > hydroxychloroquine > HYDZ-4 > HYDZ-6 > HYDZ-5.

D'après le tableau V.5, on observe que l'HYDZ-1 a l'énergie la plus négative, ceci montre que ce composé est le plus actif et il a l'affinité la plus élevée à interagir avec le Mpro. En outre, on note que les interactions de type vdW ont les énergies les plus négatives ce qui montre que ce type d'interaction est le plus dominant dans le système d'interactions.

En conséquence, les ligands étudiés ont montré une bonne capacité inhibitrice contre la protéase principale du SRAS-CoV-2 et supérieures aux celles des standards (hydroxychloroquine et chloroquine).

Tableau V.5: Répartition énergétique des hydrazones étudiées entre les forces de van der Waals, les liaisons hydrogènes et les interactions électrostatiques.

Produits	Energie totale	VdW	Liaison-H	Elec
Mpro-HYDZ-1	-89.90	-70.17	-17.17	-2.56
Mpro-HYDZ-2	-85.66	-60.75	-22.03	-2.88
Mpro-HYDZ-3	-84.82	-71.07	-13.07	-0.69
Mpro-HYDZ-4	-77.97	-69.88	-8.09	0
Mpro-HYDZ-5	-73.41	-63.49	-9.92	0
Mpro-HYDZ-6	-77.41	-68.98	-8.43	0
Chloroquine*	- 83.91	-74.41	-9.5	0
Hydroxychloroquine*	- 82.27	-67.02	-15.25	0

*: Médicaments de référence, Liaisons H : liaison hydrogène, vdW : forces de van der Waals et Elec : interactions électrostatiques.

V.5. Conclusion

Les résultats des calculs de chimie quantique effectués par la méthode DFT montrent les propriétés structurales et électroniques des molécules synthétisées, ainsi ils confirment les résultats expérimentaux sur la réactivité des molécules synthétisées.

Les résultats des calculs ADME/T permet de prédire plusieurs paramètres comme les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques notamment l'absorption, la distribution, le métabolisme, l'excrétion et la toxicité des molécules synthétisées a obéirent aux règles de Lipinski et de Drug-likeness qui supporte la conception de nouveaux médicaments

Enfin, les résultats du docking moléculaire révèlent que les molécules pénètrent bien dans le site actif de la protéase principale du SARS-CoV-2. Donc, ces molécules peuvent être considéré comme des inhibiteurs potentielles contre le virus de COVID-19.

CONCLUSION

GENERALE



CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Dans cette étude, une nouvelle série de six dérivées hydrazones : HYDZ-1, HYDZ-2 ; HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5, HYDZ-6 a été synthétisée en utilisant la réaction de condensation de **Woolf-kihner**. Dans ce contexte, on a réagit :

- Un Hydrazine aromatique porteur d'un groupement COOH avec trois aldéhydes hétérocycliques pour obtenir les composés : HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3.
- Une Hydrazine aromatique porteur d'un groupement CH₃ avec trois aldéhydes hétérocycliques pour obtenir les composés : HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6.

Le rendement de la synthèse était entre 75% et 88%. Les produits HYDZ-1, HYDZ-2 et HYDZ-3 sont des solides cristallins de couleur jaune et marron clair, alors que les composés HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6 sont des poudres cristallines noirs. Ces produits sont caractérisés respectivement par des points de fusion suivants : ($T_f=240.01\text{ °C}$, $T_f=252.1\text{ °C}$, $T_f=187.9\text{ °C}$, $T_f=125.02\text{ °C}$, $T_f=135.03\text{ °C}$ et $T_f=197.7\text{ °C}$).

Les spectres UV-Vis et infrarouge ATR-FTIR des hydrazones synthétisés montrent la disparition des pics caractéristiques des groupements aldehyde CH=O des réactifs de départ et l'apparition de nouveaux pics attribués aux groupements hydrazones, N=C, N-N=C et N-C. Les résultats IR et UV-Vis théoriques obtenus par la méthode (DFT) sont en bon accord avec les résultats expérimentaux.

L'analyse des produits synthétisés par la spectroscopie de résonance magnétique RMN ¹H, et RMN ¹³C a permis de confirmer les structures attendues.

Les molécules synthétisées, ont été valorisés à travers des tests biologiques pour avoir si ces composés ayant des activités biologiques ou non.

Premièrement, nous avons étudié l'activité antioxydante par ces cinq techniques:

► **La capacité de piégeage des radicaux :**

- Le DPPH basée sur la réduction du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ;
- L'ABTS basé sur la capacité à réduire le radical libre l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique ;

► **La capacité réductrice des ions :**

- Cuivriques (CUPRAC)
- Ferriques (FRAP et PHENANTHROLINE)

Les produits testés montrent une bonne capacité antioxydante avec des valeurs d'IC₅₀ comparables aux celles des standards utilisés BHT, BHA et acide ascorbique.

Dans un deuxième temps nous avons évalué l'activité anti-enzymatique des molécules synthétisées, vis-à-vis de quatre enzymes dont l'**AChE** et le **BChE** pour évaluer l'activité anti-**Alzheimer**, l'**α-amylase** pour évaluer l'activité **antidiabétique** et l'**uréase** pour évaluer l'activité **antiulcéreuse**.

- ✓ Les résultats montrent que les produits synthétisés ont une activité anti-Alzheimer prometteuse. Les composés **HYDZ-5** et **HYDZ-6** ont une activité meilleure que la galantamine (standard). On peut conclure que le motif CH₃ substitué dans l'hydrazine aromatique est responsable de l'effet anti-Alzheimer élevé ;
- ✓ L'**HYDZ-1** et **HYDZ-2** ont montré une activité inhibitrice de l'**α-amylase** plus élevée que l'acarbose (standard). On peut dire que la combinaison entre le motif thiophène et acide benzoïque est responsable de l'activité anti-diabète remarquable ;
- ✓ Les molécules synthétisées possèdent une meilleure activité inhibitrice d'uréase et on peut dire que la présence du groupement acide carboxylique substitué en position para du noyau benzénique des hydrazones (**HYDZ-1**, **HYDZ-2**, **HYDZ-3**) augmente l'activité d'inhibitrice de l'uréase.
- ✓ Les molécules synthétisées possèdent une activité AI importante et l'**HYDZ-6** possède l'activité la plus élevée par rapport aux autres composés testés et elle est comparable avec le diclofenac sodique. Cette activité est expliquée par la présence d'un hétérocycle (furan) et un groupement CH₃ à la fois dans la structure moléculaire de l'**HYDZ-6** ;
- ✓ Les résultats de l'étude effectuée sur les facteurs de protection solaire indiquent que les dérivées Hydrazones synthétisées appartenant à la catégorie des produits de Moyenne-haute protection solaire, sauf l'**HYDZ-6** qui apparaît dans la catégorie faible protection ;
- ✓ Les molécules synthétisées possèdent une activité antibactérienne faible et inférieure à celle de la gentamicine. En outre, cette activité faible est classée dans la catégorie des activités bactériostatiques ;
- ✓ L'étude de la toxicité des molécules synthétisées montre que les dérivés hydrazones n'ont aucune toxicité sur les larves et pourront donc être utilisés dans le futur comme

médicaments destinés à l'être l'humain, à l'exception de l'HYDZ-5 ;

Les calculs de chimie quantique effectués sur les hydrazones étudiées en appliquant la méthode de DFT au niveau de la base B3LYP/6-311++G(d,p) montre que :

- ✓ Les orbitales moléculaires sont principalement localisés sur toute la surface des hydrazones étudiées ;
- ✓ Les énergies des orbitales HOMO de toutes les molécules sont faibles, ceci confère aux molécules un caractère électrophile et la molécule HYDZ-4 a la valeur de E_{HOMO} la plus élevée ;
- ✓ Selon les valeurs du gap énergétique (ΔE_{GAP}) obtenus, les molécules sont des espèces réactives et instables et la molécule HYDZ-1 montre le gap énergétique le plus faible ce qui montre son réactivité élevée par rapport aux autres molécules testés ;
- ✓ Les charges atomiques négatives sont portées sur les atomes d'oxygène, d'azotes et sur certains atomes de carbone des cycles aromatiques ;

L'étude ADME-T réalisée sur les hydrazones synthétisées montre que :

- ✓ Les 5 règles de lipinski sont appliquées validées sur molécules synthétisés ;
- ✓ Les molécules synthétisées ont une bonne biodisponibilité orale ;
- ✓ Les hydrazones synthétisées présentent une bioactivité modérée par rapport aux médicaments de références testés (chloroquine et hydroxychloroquine) ;
- ✓ Les molécules synthétisés, ont des structures supposées non mutagènes, non irritantes et sans effet sur la reproduction lors de l'exécution de l'étude de mutagenicité.

Enfin, le docking moléculaire entre les molécules étudiées et la protéase principale du SARS-COV-2 a été exécuté pour définir les conformations appropriées des ligands synthétisés au sein du site actif du Mpro et les forces secondaires qui en résultent entre ces molécules et les acides aminés actifs, les résultats obtenus montrent que :

- ✓ Les valeurs énergies calculées des complexes Mpro-HYDZ-1, Mpro-HYDZ-2 et Mpro-HYDZ-3, HYDZ-4, Mpro-HYDZ-5 et Mpro-HYDZ-6 indiquent que l'HYDZ-1 a affinité la plus élevée à inhiber le Mpro par rapport aux autres hydrazones ;
- ✓ Les hydrazones testées inhibent le Mpro et forment des liaisons hydrogènes et des interactions de type vdW avec les acides aminés du site actif de la Mpro ;
- ✓ Les forces de vdW ont l'énergie la plus négative ce qui montre que ce type d'interactions est le plus dominant ;

- ✓ Les résultats d'amarrage moléculaire ont permis de conclure que les dérivés d'hydrazones étudiés peuvent être développés comme agents thérapeutiques contre le SRAS-CoV-2.

PERSPECTIVES

Vu les résultats excellents des tests biologiques réalisés, et en se concerne les prochains objectifs, il serait intéressant d'envisager comme perspectives de :

- ✓ Préparer les dérivés hydrazinophosphoniques correspondant aux molécules obtenues et évaluation de leurs activités biologiques ;
- ✓ Faire une étude *in vivo* des activités biologiques des composés synthétisés ;
- ✓ Synthétiser les complexes métalliques des hydrazones obtenus et évaluation *in vitro* et *in vivo* de leurs bioactivité;
- ✓ Poursuivre la mise en évidence des activités biologiques et pharmaceutiques des molécules synthétisées, notamment l'étude de leur intérêt dans la lutte contre le plusieurs maladies commune, le cancer, le SIDA,...etc ;
- ✓ Faire des autres tests de toxicité *in vivo* sur les rats pour confirmer leurs propriétés thérapeutiques et leur disposition à être administrés chez l'être humain.

Références

Bibliographiques

Références

Introduction générale

- [1] Rudler Bernard Denise, H. Stéphane, M. .Oxydation catalysée par le méthyltrioxorhénium d'aldéhydes et de cétones N,N-diméthylhydrazones avec H₂O₂ : formation de nitriles à partir d'aldéhydes et régénération des cétones .Comptes Rendus de l'Académie des Scienc.
- [2] Phillips, R. R. Organic Reactions, ed. R. Adams, John Wiley & Sons 1959, 10, 144-175.
- [3] Takamura, Norio, Tomishige Mizoguchi, and Shun-ichi Yamada. "Stereoselective syntheses of trans-and cis-cinnamic acid esters from the phenylalanine derivatives." Tetrahedron Letters 14.43 (1973): 4267-4270..
- [4] Rollas, Sevim, and Ş. Güniz Küçükgülzel. "Biological activities of hydrazone derivatives." Molecules 12.8 (2007): 1910-1939..
- [5] Singh, M., and N. Raghav. "Biological activities of hydrazones: a review." International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 3.4 (2011): 26-32.
- [6] Ali, M. R., Marella, A., Alam, M. T., Naz, R., Akhter, M., Shaquiquzzaman, M., Saha, R., Tanwar, O., Alam, M. M., and Hooda, J. (2012) Review of biological activities of hydrazones, Indonesian Journal of Pharmacy 23, 193-202.
- [7] Belskaya, N. P., Dehaen, W., and Bakulev, V. A. (2010) Synthesis and properties of hydrazones bearing amide, thioamide and amidine functions.
- [8] Lazny, Ryszard, and Aneta Nodzevska. "N, N-dialkylhydrazones in organic synthesis. From simple N, N-dimethylhydrazones to supported chiral auxiliaries." Chemical Reviews 110.3 (2010): 1386-1434.

Chapitre I :

- [1] Narayanan, Silpa, et al. "Anti-cancer effect of Indanone-based thiazolyl hydrazone derivative on colon cancer cell lines." The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 110 (2019): 21-28.
- [2] Asif, Mohammad, and Asif Husain. "Analgesic, anti-inflammatory, and antiplatelet
-

-
- profile of hydrazones containing synthetic molecules." *J. Appl. Chem* 2013 (2013): 1-7.
- [3] Angelova, Violina, et al. "Recent developments of hydrazide/hydrazone derivatives and their analogs as anticonvulsant agents in animal models." *Drug Development Research* 77.7 (2016): 379-392..
- [4] Kumar, Suresh, et al. "Synthesis and in vivo anticonvulsant evaluation of 2-chloroquinolinyl hydrazone derivatives." *Acta Pol Pharm* 67.5 (2010): 567-573.
- [5] Kosikowska P. et Berlicki Ł., 2011. Urease inhibitors as potential drugs for gastric and urinary tract infections: a patent review. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 21(6), 945-957.
- [6] Chaitra, Turuvekere K., et al. "Inhibition activity of new thiazole hydrazones towards mild steel corrosion in acid media by thermodynamic, electrochemical and quantum chemical methods." *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 67 (2016): 521.
- [7] Verma, G., Marella, A., Shaquiquzzaman, M., Akhtar, M., Ali, M. R., Alam, M. M. J. *Pharm. Bioallied Sci.* 6 (2014) 69.
- [8] Benmansour «synthese, etude physico-chimique et activite biologique des complexes de cuivre et/ou nickel derives d'hydrazone et thiadiazole», thèse de doctorat, universite abou bekr belkaid tlemcen, pp7-.
- [9] Michaut, Valérie. Comportement nucléophile des N-arylhydrazones: Réaction de Mannich et applications. Diss. Ecole Polytechnique X, 2003..
- [10] Michelot, D. "Les intoxications par *Geromitra esculenta*." *Journal de toxicologie clinique et expérimentale* 9.2 (1989): 83-99.
- [11] Shimogawa, Hiroki, et al. "Cinachyramine, the novel alkaloid possessing a hydrazone and two aminals from *Cinachyrella* sp." *Tetrahedron Letters* 47.9 (2006): 1409-1411.
- [12] Ali, M. R., Marella, A., Alam, M. T., Naz, R., Akhter, M., Shaquiquzzaman, M., ... & Hooda, J. (2012). Review of biological activities of hydrazones. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 23(4), 193-202.».
- [13] Hossain, Md Kamal, et al. "Dioxomolybdenum (VI) complexes of hydrazone phenolate ligands-syntheses and activities in catalytic oxidation reactions." *Journal of the Indian Chemical Society* 98.2 (2021): 100006.
-

-
- [14] Bharanidharan, M., S. Manivarman, and G. Prabakaran. "Catalytic synthesis, in-vitro anti-inflammatory activity, and molecular docking studies of novel hydrazone derivatives bearing N and S-heterocycles." *Materials Today: Proceedings* (2020)..
- [15] Katz, Leon. "Antituberculous compounds. III. Benzothiazole and benzoxazole derivatives." *Journal of the American Chemical Society* 75.3 (1953): 712-714.
- [16] Raj, BN Bessy, and MR Prathapachandra Kurup. "N-2-Hydroxy-4-methoxyacetophenone-N'-4-nitrobenzoyl hydrazine: synthesis and structural characterization." *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 66.4-5 (2007): 898-903.
- [17] Shang Shan, Hai-Gang Yu, Wei-Xiao Hu, Duan-Jun Xu. *acta cryst.* (2003).59, 01886-01887.
- [18] Pete, B. *Parlagh Tetrahedron* ,G, 2004, 60, 8829-8837. b) B. Pete *Tetrahedron Lett.* 2008, 49, 2835-2838..
- [19] Takamura, Norio, Tomishige Mizoguchi, and Shun-ichi Yamada. "Stereoselective syntheses of trans-and cis-cinnamic acid esters from the phenylalanine derivatives." *Tetrahedron Letters* 14.43 (1973): 4267-4270.
- [20] Michaut, Valérie. *Comportement nucléophile des N-arylhydrazones: Réaction de Mannich et applications.* Diss. Ecole Polytechnique X, 2003.
- [21] Belskaya, Nataliya P., Wim Dehaen, and Vasiliy A. Bakulev. "Synthesis and properties of hydrazones bearing amide, thioamide and amidine functions." (2010): 275-332.
- [22] Denmark, Scott E., Theodor Weber, and David W. Piotrowski. "Organocerium additions to SAMP-hydrazones: general synthesis of chiral amines." *Journal of the American Chemical Society* 109.7 (1987): 2224-2225.
- [23] Khadem, H. El, Z. M. El-Shafei, and M. M. Mohammed-Ali. "The Action of Acetic Anhydride on Osazones and Hydrazones." *The Journal of Organic Chemistry* 29.6 (1964): 1565-1567.
- [24] Sunita Devi,O, Manihar, A,K . Singh ,India.*J.Chem. Pharm.Res.* 3 (6) (2011) 1055.
- [25] Lynch, Brian Maurice, and K. H. Pausacker. "The oxidation of phenylhydrazones. Part II." *Journal of the Chemical Society (Resumed)* (1954): 1131-1134.
-

-
- [26] Conant, James B., and Paul D. Bartlett. "A quantitative study of semicarbazone formation." *Journal of the American Chemical Society* 54.7 (1932): 2881-2899.
- [27] Chafai, Nadjib, et al. "Synthesis, spectral analysis, anti-corrosive activity and theoretical study of an aromatic hydrazone derivative." *Journal of Molecular Structure* 1181 (2019): 83-92.
- [28] Lgaz, Hassane, and Han-seung Lee. "Facile preparation of new hydrazone compounds and their application for long-term corrosion inhibition of N80 steel in 15% HCl: An experimental study combined with DFTB calculations." *Journal of Molecular Liquids* 347 (2020).
- [29] Khamaysa, Oday Mohammad Ahmad, et al. "Hydrazone-based green corrosion inhibitors for API grade carbon steel in HCl: Insights from electrochemical, XPS, and computational studies." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 626 (2021).
- [30] Belghiti, M. E., et al. "New hydrazine derivatives as corrosion inhibitors for mild steel protection in phosphoric acid medium. Part A: experimental study." *J Mater Environ Sci* 7 (2016): 337-346.
- [31] Zhou, D.; Chu, W.; Rothfuss, J.; Zeng, C.; Xu, J.; Jones, L.; Welch, M.; R. Mach, "Design, Synthesis, Radiolabeling Mechanism, and Modeling Study of Sulfonamide Analogs for Imaging Activation in Apoptosis." *Bioorg. Med.Chem. Lett*, 2006, 16, 5041.
- [32] Abbate., A.; Bussani, R.; Zoccai, G.G. Biondi G.G.; Santini, D.; Petrolini, A.; Giorgio, F de; F.Vasaturo; Scarpa, S.; Severino, A.; Liuzzo, G.; M.Leone, A.; Baldi, F.; Sinagra, G.; Silvestri, F.; Vetovec, G.W.; Crea, F.; Biasucci, L.M.; A. Baldi, Infarc.
- [33] Hartmann, A.; S.Hunot; Michel, P. Patrick; Muriel, M.; S.Vyas; Faucheux, B.; A.Mouatt; H.Turmel; Srinivasan, A.; Ruberg, M.; Evan, G.; Agid, Y.; E. Hirsch, A vulnerability factor and final effector in apoptotic death of dopaminergic neurons in Parkinson's.
- [34] Ponka, P.; Borova, J.; Neuwirt, J.; et al. Mobilization of Iron from Reticulocytes. Identification of Pyridoxal Isonicotinoyl Hydrazone as a New Iron Chelating Agent. *FEBS Lett.* 1979, 97, 317–321.
- [35] Ponka, P.; Borova, J.; Neuwirt, J.; et al. A Study of Intracellular Iron Metabolism
-

Using Pyridoxal Isonicotinoyl Hydrazone and Other Synthetic Chelating Agents. *Biochim. Biophys. Acta* 1979, 586, 278–297.

[36] Aysha, T., Luňák Jr, S., Lyčka, A., & Hrdina, R. (2011). Synthesis, absorption and fluorescence of hydrazone colorants based on pyrrolinone esters. *Dyes and Pigments*, 91(2), 170-176.

[37] Asif, Mohammad, and Asif Husain. "Analgesic, anti-inflammatory, and antiplatelet profile of hydrazones containing synthetic molecules." *J. Appl. Chem* 2013 (2013): 1-7 .

[38] Farrugia, Gianluca, and Rena Balzan. "Oxidative stress and programmed cell death in yeast." *Frontiers in oncology* 2 (2012): 64.

[39] Ross, Cliff, Lory Santiago-Vázquez, and Valerie Paul. "Toxin release in response to oxidative stress and programmed cell death in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*." *Aquatic toxicology* 78.1 (2006): 66-73.

[40] Chevalier, Nicolas, and Patrick Fénelon. "Endocrine disruptors: a missing link in the pandemy of type 2 diabetes and obesity?." *Presse Medicale* (Paris, France: 1983) 45.1 (2015): 88-97.

[41] Flieger, Jolanta, et al. "Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles." *Materials* 14.15 (2021): 4135..

[42]. Bouguerne. S «étude par la methode dft de la complexation des metaux de transition avec un derive hydrazone», theme de master, universite ferhat abbas, setif 1, 2019, pp12.

[43] Maire, Stéphane. Les traitements symptomatiques de la maladie d'Alzheimer: Etude descriptive des modalités de prescription chez des patients en EHPAD dans le Haut-Rhin. Diss. 2013.

[44] Mhaidat, Ibrahim, et al. "Synthesis, characterization, computational, antioxidant and fluorescence properties of novel 1, 3, 5-trimesic hydrazones derivatives." *Heliyon* 7.9 (2021): e08074.

[45] Moussa, Ziad, et al. "Preparation and biological assessment of some aromatic hydrazones derived from hydrazides of phenolic acids and aromatic aldehydes." *Heliyon* 6.9 (2020): e05019.

[46] Leopoldini, Monica, Nino Russo, and Marirosa Toscano. "The molecular basis of

working mechanism of natural polyphenolic antioxidants." *Food chemistry* 125.2 (2011): 288-306.

[47] Demurtas, Monica, et al. "Indole derivatives as multifunctional drugs: Synthesis and evaluation of antioxidant, photoprotective and antiproliferative activity of indole hydrazones." *Bioorganic chemistry* 85 (2019): 568-576.

[48] Khodja, Imene Amine, et al. "Design, synthesis, biological evaluation, molecular docking, DFT calculations and in silico ADME analysis of (benz) imidazole-hydrazone derivatives as promising antioxidant, antifungal, and anti-acetylcholinesterase agents." *J.*

[49] Sarazin, Marie, Julien Lagarde, and Pauline Olivieri. "Maladie d'Alzheimer." *Revue Neurologique* 176 (2020): S142.

[50] Fotiou, Dimitrios, et al. "Evaluation of the cholinergic hypothesis in Alzheimer's disease with neuropsychological methods." *Aging clinical and experimental research* 27 (2015): 727-733.

[51] Mesulam, Marsel, et al. "Widely spread butyrylcholinesterase can hydrolyze acetylcholine in the normal and Alzheimer brain." *Neurobiology of disease* 9.1 (2002): 88-93.

[52] Bilen, Esra, et al. "Bioactive sulfonyl hydrazones with alkyl derivative: Characterization, ADME properties, molecular docking studies and investigation of inhibition on choline esterase enzymes for the diagnosis of Alzheimer's disease." *Chemico-Biologica*.

[53] Freitas, Leonardo Viana, et al. "Structural and vibrational study of 8-hydroxyquinoline-2-carboxaldehyde isonicotinoyl hydrazone—A potential metal–protein attenuating compound (MPAC) for the treatment of Alzheimer's disease." *Spectrochimica Acta Part A*.

[54] Nouadri, T. "L' α -amylase de *Penicillium camemberti* PL21: Production, Purification, Caractérisation et Immobilisation." *Diplôme de Doctorat d'Etat. Biochimie et Biotechnologies. Université Mentouri Constantine. p160* (2011).

[55] Merabti, Ryma. "Isolement et caractérisation de souches levuriennes amylolytiques à partir de sol saharien algerien." (2006).

[56] Kelly, C. T., D. J. Bolton, and W. M. Fogarty. "Bi-phasic production of α -amylase of *Bacillus flavothermus* batch fermentation." *Biotechnology letters* 19.7 (1997): 675-677.

[57] Chatterton J.-R., Vogelsong K.-M., Lu Y- Ellman A.-B. & Hudgens G.-A., 1996. -

Salivary - amylase as a measure of endogenous adrenergic activity. *Physiology Journal*, 16(4): 344-348.

[58] Rao, M. Srinivasa, et al. "Studies on the extraction and characterization of thermostable α -amylase from pericarp of *Borassus indica*." *African Journal of Biotechnology* 4.3 (2005): 288-291.

[59] GUITOUBI, Imane, and Hana TAMER. "Contrôle de la qualité microbiologique d'un lait pasteurisé et un lait UHT selon la durée de conservation." (2021)..

[60] Costes C., 1982. - Les enzymes. In *Production et utilisations industrielles*, Bordas, Paris. pp. 37-195.

[61] Scriban R., *Biotechnologies*. In *Techniques et Documentation-Lavoisier*. (1999) pp. 149-157.

[62] Berry D. & Paterson A., *Enzymes in food industry*. In Sucking C.J. *Enzyme chemistry impact and application*. Edition champman and hall, London. (1990) pp. 306-351.

[63] Kandra L., Gyemant G., Farakas E. & Liptak A., Action pattern of porcine pancreatic - amylase on three different series of beta-maltooligosaccharide glycoside. *Carbohydrate Research*, (1997), 289(3): 237-242.

[64] Duhan, Meenakshi, et al. "Quantitative structure activity relationship studies of novel hydrazone derivatives as α -amylase inhibitors with index of ideality of correlation." *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 40.11 (2022): 4933-4953.

[65] Taha, Muhammad, et al. "Synthesis and in vitro study of benzofuran hydrazone derivatives as novel alpha-amylase inhibitor." *Bioorganic chemistry* 75 (2017): 78-85.

[66] Vecchia, Carlo La, et al. "Trends in childhood cancer mortality as indicators of the quality of medical care in the developed world." *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society* 83.10 (1998): 2223-2227.

[67] Kosikowska P. et Berlicki Ł., 2011. Urease inhibitors as potential drugs for gastric and urinary tract infections: a patent review. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 21(6), 945-957.

[68] Khan, Khalid Mohammed, et al. "Synthesis and in vitro urease inhibitory activity of N, N'-disubstituted thioureas." *European journal of medicinal chemistry* 74 (2014): 314-323.

-
- [69] Scavenging, DPPH Radical. "Synthesis of benzophenone hydrazone analogs and their DPPH radical scavenging and urease inhibitory activities." *J. Chem. Soc. Pak* 37.03 (2015): 479.
- [70] Al-Mohammadi, Jana Abdullah, et al. "Synthesis, in vitro evaluation, and molecular docking studies of benzofuran based hydrazone a new inhibitors of urease." *Arabian Journal of Chemistry* (2022): 103954.
- [71] Arques, S. Albumine sérique et maladies cardiovasculaires: une revue approfondie de la littérature. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* , (2008), (Vol. 67, No. 2, pp. 82-90). Elsevier Masson.
- [72] Todeschini, A.R.; Miranda, A.L.; C.M., Silva; Parrini, S.C.; Barreiro, E.J. Synthesis and evaluation of analgesic, antiinflammatory and antiplatelet properties of new 2-pyridylarylhydrazone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 1998, 33 , 189-199.
- [73] Todeschini, A.R.; Miranda, A.L.; C.M., Silva; Parrini, S.C.; Barreiro, E.J. Synthesis and evaluation of analgesic, antiinflammatory and antiplatelet properties of new 2-pyridylarylhydrazone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 1998, 33 , 189-199.
- [74] Duarte, C.D.; Tributino, J.L.M.; Lacerda, D.I.; Martins, M.V.; Alexandre-Moreira, M.S.; Dutra, F.; Bechara, E.J.H.; De-Paula, F.S.; Goulart, M.O.F.; Ferreira, J.; Calixto, J.B.; Nunes, M.P.; Bertho, A.L.; Miranda, A.L.P.; Barreiro, E.J.; Fraga, C.A.M.; Sy.
- [75] Christensen, Luisa, Amanda Suggs, and Elma Baron. "Ultraviolet photobiology in dermatology." *Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment* (2017): 89-104.
- [76] Baldisserotto, Anna, et al. "Benzofuran hydrazones as potential scaffold in the development of multifunctional drugs: Synthesis and evaluation of antioxidant, photoprotective and antiproliferative activity." *European journal of medicinal chemistry* 156 (20).
- [77] Baldisserotto, Anna, et al. "In-Vitro Evaluation of Antioxidant, Antiproliferative and Photo-Protective Activities of Benzimidazolehydrazone Derivatives." *Pharmaceuticals* 13.4 (2020): 68.
- [78] Cattoir, Vincent, et al. *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Elsevier Health Sciences, 2016.
- [79] Malhotra, Manav, Sagun Sharma, and Aakash Deep. "Synthesis, characterization and
-

antimicrobial evaluation of novel derivatives of isoniazid." *Medicinal Chemistry Research* 21 (2012): 1237-1244.

[80] Popiołek, Łukasz. "Hydrazide–hydrazones as potential antimicrobial agents: overview of the literature since 2010." *Medicinal Chemistry Research* 26.2 (2017): 287-301.

[81] Zhang L, Lin D, Sun X, et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors." *Science* 368.6489 (2020): 409-412.

[82] Rudrapal, Mithun, et al. "Identification of bioactive molecules from Triphala (Ayurvedic herbal formulation) as potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease (Mpro) through computational investigations." *Journal of King Saud University-Science* 34.3 (20.

[83] Rut, Wioletta, et al. "Substrate specificity profiling of SARS-CoV-2 Mpro protease provides basis for anti-COVID-19 drug design." *BioRxiv* (2020).

[84] Tabbiche, Abdelkader, et al. "New bis hydrazone: Synthesis, X-ray crystal structure, DFT computations, conformational study and in silico study of the inhibition activity of SARS-CoV-2." *Journal of Molecular Structure* 1261 (2022): 132865.

[85] Topal, Tufan, Yunus Zorlu, and Nazan Karapınar. "Synthesis, X-ray crystal structure, IR and Raman spectroscopic analysis, quantum chemical computational and molecular docking studies on hydrazone-pyridine compound: As an insight into the inhibitor capacity of main protease of SARS-CoV2." *Journal of Molecular Structure* 1239 (2021): 130514.

[86] Said, Musa A., et al. "Synthesis and greener pastures biological study of bis-thiadiazoles as potential Covid-19 drug candidates." *Arabian Journal of Chemistry* 15.9 (2022): 104101.

Chapitre II

[1] Pisoschi, Aurelia Magdalena, and Aneta Pop. "The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review." *European journal of medicinal chemistry* 97 (2015): 55-74.

[2] Olaniyi, T. Adedosu, et al. "Antioxidant and anti-lipid peroxidation potentials of the ethylacetate and chloroform extracts of basella alba leaves." *Asian journal of natural and applied sciences* 2.2 (2013): 86.

-
- [3] Pavithra, Kalaisezhiyen, and Sasikumar Vadivukkarasi. "Evaluation of free radical scavenging activity of various extracts of leaves from *Kedrostis foetidissima* (Jacq.) Cogn." *Food Science and Human Wellness* 4.1 (2015): 42-46.
- [4] Kumazawa, Shigenori, Tomoko Hamasaka, and Tsutomu Nakayama. "Antioxidant activity of propolis of various geographic origins." *Food chemistry* 84.3 (2004): 329-339..
- [5] Pisoschi, Aurelia Magdalena, and Gheorghe Petre Negulescu. "Methods for total antioxidant activity determination: a review." *Biochem Anal Biochem* 1.1 (2011): 106.
- [6] Shahidi, Fereidoon, and Ying Zhong. "Measurement of antioxidant activity." *Journal of functional foods* 18 (2015): 757-781.
- [7] Favier, Alain. *Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimique. l'actualité chimique.* (2003)108-115.
- [8] Molyneux, Philip. "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity." *Songklanakarin J. sci. technol* 26.2 (2004): 211-219.
- [9] Blois, Marsden S. "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical." *Nature* 181 (1958): 1199-1200.
- [10] Portes, Elise. *Synthèse et études de tétrahydrocurcuminoïdes: propriétés photochimiques et antioxydantes: applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle.* Diss. Bordeaux 1, 2008.
- [11] Re, Roberta, et al. "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay." *Free radical biology and medicine* 26.9-10 (1999): 1231-1237.
- [12] Apak, Reşat, et al. "Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method." *Journal of agricultural and food chemistry* 52.26 (2004): 7970-7981..
- [13] Oyaizu, M. "Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine." *Jpn. J. Nutr.* 44 (1986): 307-315.
- [14] Szydłowska-Czerniaka, A. Dianoczki, C. Recseg , K. Karlovits, G. Szlyk, E. Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta.* 76 (2008) 899-905.
-

- [15] Enman, G. L. Featherstone, A., new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochemical Pharmacology*. 7 (1961) 88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).
- [16] Gray, Helen, and Stephen O'Rahilly. "Toward improved glycemic control in diabetes: what's on the horizon?." *Archives of internal medicine* 155.11 (1995): 1137-1142.
- [17] Zengin, Gokhan, et al. "A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes." *Industrial Crops and Products* 53 (2014): 244-251.
- [18] Fauchère, Jean-Louis, and Agnès Rosenau. "Campylobacter et Helicobacter en pathologie digestive humaine." (1991).
- [19] Graham, David Y., and Muhammad Miftahussurur. "Helicobacter pylori urease for diagnosis of Helicobacter pylori infection: A mini review." *Journal of advanced research* 13 (2018): 51-57.
- [20] Bauerfeind, P., et al. "Synthesis and activity of Helicobacter pylori urease and catalase at low pH." *Gut* 40.1 (1997): 25-30.
- [21] Muhammad Taha , Hayat Ullah , Laode Muhammad Ramadhan Al Muqarrabun , Muhammad Naseem Khan , Fazal Rahim , Norizan Ahmat , Muhammad Tariq Javid , Muhammad Ali , Khalid Mohammed Khan, Bisindolylmethane thiosemicarbazides as potential inhibitors of urease: Synthesis and molecular modeling studies, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 26 (2018) 152–160.
- [22] Kandikattu, Karthik, et al. "Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method." *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology* 1.5 (2013): 729-731.
- [23] Mbang, L., et al. "Comparative in vitro Sun Protection Factor (SPF) values of some herbal extracts found in Kinhasa by Ultraviolet Spectrophotometry." *J. of Physical and Chemical Sciences* 2.4 (2015): 1-6. [24] Dutra E.A, Oliveira D.A.G.C., Kedor-Hackmann E.R.M., Santoro M.I.R.M. Determination of Sun protection Factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. *Bra.J.Pharm.Sci.* 40,31(2004)
-

- [25] Mansur, João de Souza, et al. "Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria." *An. Bras. Dermatol* (1986): 121-4.
- [26] Dutra E.A, Oliveira D.A.G.C., Kedor-Hackmann E.R.M., Santoro M.I.R.M. Determination of Sun protection Factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry. *Bra.J.Pharm.Sci.* 40,31(2004)
- [27] Gulluce, Medine, et al. "Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*." *Phytomedicine* 13.7 (2006): 515-521.
- [28] Bauer, A. W. "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method." *Am. J. of Clinc. Path.* 45 (1996): 149-158.
- [29] El Kolli, Meriem, et al. "Chemical analysis, antimicrobial and anti-oxidative properties of *Daucus gracilis* essential oil and its mechanism of action." *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 6.1 (2016): 8-15.

Chapitre III

- [1] Gudasi, Kalagouda B., et al. "Crystal structure of 2-thiophene-2-yl-3 (thiophene-2-carboxylideneamino)-1, 2-dihydroquinazolin-4 (3H)-one and the synthesis, spectral and thermal studies of its transition metal (II) complexes." *Transition metal chemistry* 31 (2006): 374-381
- [2] Gudasi, Kalagouda B., et al. "Crystal Structure of 2-pyridine-2-yl-3 (pyridine-2-carboxylideneamino) quinazolin-4 (3H)-one and its Ligating Diversity Towards Transition Metal (II) Ions." *Transition metal chemistry* 31 (2006): 135-145.
- [3] J. Pisk, I. Đilović, T. Hrenar, D. Cvijanović, G. Pavlović, V. Vrdoljak, Effective methods for the synthesis of hydrazones, quinazolines, and Schiff bases: reaction monitoring using a chemometric approach, *RSC Adv.* 10 (2020) 38566–38577 .
- [4] Gros, Claude P., et al. "New potential bimodal imaging contrast agents based on DOTA-like and porphyrin macrocycles." *MedChemComm* 2.2 (2011): 119-125.
- [5] Benbougerra, Khalissa, et al. "New α -hydrazinophosphonic acid: synthesis, characterization, DFT study and in silico prediction of its potential inhibition of SARS-CoV-2 main protease." *Journal of molecular structure* 1239 (2021): 130480.

- [6] Chafai, Nadjib, et al. "Synthesis, spectral analysis, anti-corrosive activity and theoretical study of an aromatic hydrazone derivative." *Journal of Molecular Structure* 1181 (2019): 83-92.
- [7] Merrick, Jeffrey P., Damian Moran, and Leo Radom. "An evaluation of harmonic vibrational frequency scale factors." *The Journal of Physical Chemistry A* 111.45 (2007): 11683-11700.
- [8] Mehri, Mouna, et al. "Synthesis, electrochemical and classical evaluation of the antioxidant activity of three α -aminophosphonic acids: Experimental and theoretical investigation." *Journal of Molecular Structure* 1171 (2018): 179-189.
- [9] Hägele, Gerhard. "Synthesis and biological activity of aminomethanephosphonic acids and derivatives." *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements* 144.1 (1999): 445-447. [10] Kühn-Velten, J. H., et al. "Carbon isotopomers of tetrafluoroethylene: laser-induced synthesis and NMR spectroscopic characterization." *Magnetic Resonance in Chemistry* 40.1 (2002): 77-80.
- [11] Schuh, Walter, et al. "[Triangulo-Hg 3 (μ -dppm) 3](O 3 SCF 3) 4: first complete NMR analysis of a homoleptic [M 3 (μ -dppm) 3] type system and study of the conformation dynamics in solution by use of its dpam/mdppm derivatives." *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* 1 (2002): 19-27.

Chapitre IV

- [1] Silva, CG da, et al. "Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants." *Pharmacological research* 52.3 (2005): 229-233.
- [2] Nishaa, S., et al. "Antioxidant activity of ethanolic extract of *Maranta arundinacea* L. tuberous rhizomes." *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 5.4 (2012): 85-88.
- [3] Shirwaikar, Annie, Kirti S. Prabhu, and I. S. R. Punitha. "In vitro antioxidant studies of *Sphaeranthus indicus* (Linn)." (2006).
- [4] Gülcin, İlhami. "Antioxidant activity of food constituents: an overview." *Archives of toxicology* 86 (2012): 345-391.
- [5] Re, Roberta, et al. "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay." *Free radical biology and medicine* 26.9-10 (1999): 1231-1237.

-
- [6] Özyürek, Mustafa, et al. "A comprehensive review of CUPRAC methodology." *Analytical methods* 3.11 (2011): 2439-2453.
- [7] Özyürek, Mustafa, Kubilay Güçlü, and Reşat Apak. "The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement." *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 30.4 (2011): 652-664.
- [8] Apak, Reşat, et al. "Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method." *Journal of agricultural and food chemistry* 52.26 (2004): 7970-7981.
- [9] Oyaizu, Makoto. "Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine." *The Japanese journal of nutrition and dietetics* 44.6 (1986): 307-315.
- [10] Szydłowska-Czerniak, Aleksandra, et al. "Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods." *Talanta* 76.4 (2008): 899-905.
- [11] Zemek, Filip, et al. "Outcomes of Alzheimer's disease therapy with acetylcholinesterase inhibitors and memantine." *Expert opinion on drug safety* 13.6 (2014): 759-774.
- [12] Ellman, G. L., and K. D. Courtney. "V. Andres, and RM feather stone. 1961, a new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity." *Biochem. Pharmacol.* 7a88-95.
- [13] A. E. K. Sandeli, N. Khiri-Meribout, S. Benzerka, N. Gürbüz, M. Dündar, H. Karcı, & İ. Özdemir, Silver (I)-N-heterocyclic carbene complexes: Synthesis and characterization, biological evaluation of Anti-Cholinesterase, anti-alpha-amylase, anti-lipase, and antibacterial activities, and molecular docking study. *Inorganica Chimica Acta*, (2021) , 525, 120486.
- [14] Fauchère, Jean-Louis, and Agnès Rosenau. *Campylobacter et Helicobacter en pathologie digestive humaine*, Med Sci (Paris). 7 (1991) 138. <https://doi.org/10.4267/10608/4322>.
- [15] Suerbaum, Sebastian, et al. "Helicobacter pylori hspA-hspB heat-shock gene cluster: nucleotide sequence, expression, putative function and immunogenicity." *Molecular microbiology* 14.5 (1994): 959-974.
- [16] Mansur, João de Souza, et al. "Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria." *An. Bras. Dermatol* (1986): 121-4.
-

-
- [17] Toiletry, Cosmetic. "Fragrance Association of South Africa (CTFA-SA); The European Cosmetic and Toiletry Association (Colipa); Japan Cosmetic Industry Association (JCIA)." International Sun Protection factor (SPF) test method (2006).
- [18] Drew, W. Lawrence, et al. "Reliability of the Kirby-Bauer disc diffusion method for detecting methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*." *Applied microbiology* 24.2 (1972): 240-247 .
- [19] El Kolli, Meriem, et al. "Chemical analysis, antimicrobial and anti-oxidative properties of *Daucus gracilis* essential oil and its mechanism of action." *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 6.1 (2016): 8-15.
- [20] Lupo, Agnese, Marisa Haenni, and Jean-Yves Madec. "Antimicrobial resistance in *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas* spp." *Microbiology spectrum* 6.3 (2018): 6-3.
- [21] Haenni, Marisa, et al. "Population structure and antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* from animal infections in France." *BMC veterinary research* 11.1 (2015): 1-5.
- [22] El-Etrawy, Abd-Allah Sh, and Farag F. Sherbiny. "Design, synthesis, biological evaluation and molecular modeling investigation of new N'-(2-Thiouracil-5-oyl) hydrazone derivatives as potential anti-breast cancer and anti-bacterial agents." *Journal of Molecular Structure* 1232 (2021): 129993.
- [23] Gu, Wen, et al. "Synthesis and antibacterial evaluation of new N-acylhydrazone derivatives from dehydroabietic acid." *Molecules* 17.4 (2012): 4634-4650.
- [25] Özbek, Neslihan, et al. "Sulfonamide-derived hydrazone compounds and their Pd (II) complexes: Synthesis, spectroscopic characterization, X-ray structure determination, in vitro antibacterial activity and computational studies." *Journal of Molecular Structure* 1196 (2019): 707-719..
- [26] Tawaha, Khaled A. "Cytotoxicity evaluation of Jordanian wild plants using brine shrimp lethality test." *Jordan journal of applied science natural sciences* 8.1 (2006): 12.

Chapitre V

- [1] Boulebd, Houssein, et al. "Synthesis and radical scavenging activity of new phenolic hydrazone/hydrazide derivatives: Experimental and theoretical studies." *Journal of Molecular Structure* 1249 (2022): 131546.

-
- [2] Hellal, Abdelkader, et al. "Synthesis, antibacterial screening and DFT studies of series of α -amino-phosphonates derivatives from aminophenols." *Journal of Molecular Structure* 1134 (2017): 217-225.
- [3] Kohn, W., and L. J. Sham. "Quantum density oscillations in an inhomogeneous electron gas." *Physical Review* 137.6A (1965): A1697.
- [4] Arivazhagan, M., and V. P. Subhasini. "Quantum chemical studies on structure of 2-amino-5-nitropyrimidine." *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 91 (2012): 402-410.
- [5] Arjun, H. A., et al. "Crystal structure, DFT and Hirshfeld surface analysis of (E)-N'-[(1-chloro-3, 4-dihydronaphthalen-2-yl) methylidene] benzohydrazide monohydrate." *Acta Crystallographica Section E: Crystallographic Communications* 76.2 (2020): 132-136.
- [6] Vanitha, U., et al. "Design, synthesis, characterization, molecular docking and computational studies of 3-phenyl-2-thioxoimidazolidin-4-one derivatives." *Journal of Molecular Structure* 1246 (2021): 131212.
- [7] Sangeetha, M., and R. Mathammal. "A complete synergy on the experimental and theoretical study of the pyridine derivatives—2-Hydroxy-5-Nitropyridine and 2-Chloro-5-Nitropyridine." *Journal of Molecular Structure* 1117 (2016): 121-134.
- [8] Kieczkowski, Gerard R., et al. "Preparation of (4-amino-1-hydroxybutylidene) bisphosphonic acid sodium salt, MK-217 (alendronate sodium). An improved procedure for the preparation of 1-hydroxy-1, 1-bisphosphonic acids." *The Journal of Organic Chemistry* 60.25 (1995): 8310-8312.
- [9] AKumer, Ajoy, and Md Wahab Khan. "The effect of alkyl chain and electronegative atoms in anion on biological activity of anilinium carboxylate bioactive ionic liquids and computational approaches by DFT functional and molecular docking." *Heliyon* 7.7 (2021): e07509.
- [10] Stoyanova, A., G. Petkova, and S. D. Peyerimhoff. "Correlation between the molecular structure and the corrosion inhibiting effect of some pyrophthalone compounds." *Chemical Physics* 279.1 (2002): 1-6.
- [11] Hellal, A., S. Chafaa, and N. Chafai. "Synthesis, characterization and computational studies of three α -amino-phosphonic acids derivatives from Meta, Ortho and Para
-

-
- aminophenol." *Journal of Molecular Structure* 1103 (2016): 110-124.
- [12] Parthasarathi, R., et al. "Electrophilicity index as a possible descriptor of biological activity." *Bioorganic & medicinal chemistry* 12.21 (2004): 5533-5543.
- [13] Balakrishnan, Nithya, et al. "Effect of N-benzyl group in indole scaffold of thiosemicarbazones on the biological activity of their Pd (II) complexes: DFT, biomolecular interactions, in silico docking, ADME and cytotoxicity studies." *Inorganica Chimica Acta* 534 (2022): 120805.
- [14] Mehri, Mouna, et al. "Synthesis, electrochemical and classical evaluation of the antioxidant activity of three α -aminophosphonic acids: Experimental and theoretical investigation." *Journal of Molecular Structure* 1171 (2018): 179-189.
- [15] Rafiq, Muhammad, et al. "Synthesis, XRD, spectral (IR, UV–Vis, NMR) characterization and quantum chemical exploration of benzoimidazole-based hydrazones: A synergistic experimental-computational analysis." *Applied Organometallic Chemistry* 33.11 (2019): e5182.
- [16] Yesilkaynak, Tuncay, et al. "Theoretical and experimental studies on N-(6-methylpyridin-2-yl-carbamothioyl) biphenyl-4-carboxamide." *European Journal of Chemistry* 1.1 (2010): 1-5.
- [17] Kargar, Hadi, et al. "Diverse coordination of isoniazid hydrazone Schiff base ligand towards iron (III): Synthesis, characterization, SC-XRD, HSA, QTAIM, MEP, NCI, NBO and DFT study." *Journal of Molecular Structure* 1250 (2022): 131691.
- [18] Lipinski, Christopher A., et al. "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings." *Advanced drug delivery reviews* 64 (2012): 4-17.
- [19] Rekkab, Seifeddine, and Zahia Kabouche. "" Drug Design" et synthèse de nouveaux calix [8] arènes sulfoniques flexibles à activités anticorrosive et anticoagulante." (2017).
-

- [20] Lipinski, Christopher A., et al, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, *Advanced Drug Delivery Reviews*. 23 (1997) 3–25.
- [21] Mannhold, Raimund, et al. "Calculation of molecular lipophilicity: State-of-the-art and comparison of log P methods on more than 96,000 compounds." *Journal of pharmaceutical sciences* 98.3 (2009): 861-893.
- [22] Prasanna, S., and R. J. Doerksen. "Topological polar surface area: a useful descriptor in 2D-QSAR." *Current medicinal chemistry* 16.1 (2009): 21-41.
- [23] Khodja, Imene Amine, et al. "Design, synthesis, biological evaluation, molecular docking, DFT calculations and in silico ADME analysis of (benz) imidazole-hydrazone derivatives as promising antioxidant, antifungal, and anti-acetylcholinesterase agents." *Journal of Molecular Structure* 1218 (2020): 128527.
- [24] Parvez, Ali, et al. "Pharmacophores modeling in terms of prediction of theoretical physico-chemical properties and verification by experimental correlations of novel coumarin derivatives produced via Betti's protocol." *European journal of medicinal chemistry* 45.9 (2010): 4370-4378.
- [25] Sheikh, Javed, et al. "Synthesis, biopharmaceutical characterization, antimicrobial and antioxidant activities of 1-(4'-O- β -d-glucopyranosyloxy-2'-hydroxyphenyl)-3-aryl-propane-1, 3-diones." *European journal of medicinal chemistry* 46.4 (2011): 1390-1399.
- [26] Parvez, Ali, et al. "Pharmacophores modeling in terms of prediction of theoretical physico-chemical properties and verification by experimental correlations of novel coumarin derivatives produced via Betti's protocol." *European journal of medicinal chemistry* 45.9 (2010): 4370-4378.
- [27] Guezane-Lakoud, Samia, Martial Toffano, and Louisa Aribi-Zouiouèche. "Promiscuous lipase catalyzed a new P–C bond formation: Green and efficient protocol for one-pot synthesis of α -aminophosphonates." *Heteroatom Chemistry* 28.6 (2017): e21408.
- [28] Benbougerra, Khalissa, et al. "New α -hydrazinophosphonic acid: synthesis, characterization, DFT study and in silico prediction of its potential inhibition of SARS-CoV-2 main protease." *Journal of molecular structure* 1239 (2021): 130480.

- [29] Topal, Tufan, Yunus Zorlu, and Nazan Karapınar. "Synthesis, X-ray crystal structure, IR and Raman spectroscopic analysis, quantum chemical computational and molecular docking studies on hydrazone-pyridine compound: As an insight into the inhibitor capacity of main protease of SARS-CoV2." *Journal of Molecular Structure* 1239 (2021): 130514.
- [30] Adjissi, Lilia, et al. "Synthesis, characterization, DFT, antioxidant, antibacterial, pharmacokinetics and inhibition of SARS-CoV-2 main protease of some heterocyclic hydrazones." *Journal of Molecular Structure* 1270 (2022): 134005.
- [31] Noureddine, Olfa, et al. "Structural, docking and spectroscopic studies of a new piperazine derivative, 1-Phenylpiperazine-1, 4-dium bis (hydrogen sulfate)." *Journal of Molecular Structure* 1202 (2020): 127351.
- [32] Venkateshan, M., et al. "Azafluorene derivatives as inhibitors of SARS CoV-2 RdRp: synthesis, physicochemical, quantum chemical, modeling and molecular docking analysis." *Journal of molecular structure* 1220 (2020): 128741.
- [33] Gatfaoui, Sofian, et al. "Synthesis, experimental, theoretical study and molecular docking of 1-ethylpiperazine-1, 4-dium bis (nitrate)." *Solid State Sciences* 106 (2020): 106326.

ملخص:

في هذه الدراسة، تم تصنيع سلسلة من مشتقات الهيدرازونات (HYDZ-1، HYDZ-2، HYDZ-3، HYDZ-4، HYDZ-5، HYDZ-6) باستخدام تفاعل تكثيف من 2 هيدرازين عطري مع ثلاثة ألدهيدات حلقيّة غير متجانسة. تم توصيف الجزيئات المُصنّعة باستخدام طرق طيفية وطرق فيزيائية كيميائية بما في ذلك الأشعة فوق البنفسجية - المرئية، والأشعة تحت الحمراء، و ^1H NMR، و ^{13}C NMR، وتحديد درجة الانصهار. تم نمذجة الهياكل الجزيئية المحسنة، ونمذجة طيف الأشعة فوق البنفسجية - المرئية، والأشعة تحت الحمراء، والتفاعلية، والثبات، وبعض المعلمات الكيميائية الكمومية للجزيئات المصنّعة باستخدام نظرية الكثافة الوظيفية (DFT). النتائج النظرية المتحصل عليها في توافق جيد مع النتائج التجريبية. من ناحية أخرى، تم تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والبكتيريا للجزيئات التي تم دراستها لفهم آليات العمل المرتبطة بها بشكل أفضل. أيضًا، أشارت معلمات ADME-T والحركية الدوائية المتوقعة إلى أن هذه المركبات أظهرت توافقًا حيويًا جيدًا عن طريق الفم. تم اختبار المركبات من أجل السمية الخلوية بطريقة مميّنة الأرتيميا. كما تم تحديد فعالية الحماية الضوئية للمركبات عن طريق قياس عامل الحماية من أشعة الشمس (SPF). تم إجراء النشاط التثبيطي لأستيل كولينستيراز و بوتيريل كولينستيراز باستخدام طريقة Ellman's Colorimetric، وأظهرت هذه النتائج أن HYDZ-5 و HYDZ-6 يتمتعان بفاعلية أفضل من الجالنتامين. أظهرت هذه المركبات نشاطًا جيدًا مقارنة بالمعايير (أكلربوز، ثيوربا). أظهرت النتائج أن هذه المركبات يمكن أن تكون مصدرًا مهمًا لعلاج الأضرار المرضية دون أي سمية، وأخيرًا، تم استخدام الالتحام الجزيئي للتنبؤ بالنشاط المثبط لمشتقات الهيدرازون المدروسة على البروتياز الرئيسي SARS-CoV-2 (Mpro).

كلمات مفتاحية: صناعة، هيدرازونات، توصيف، الأنشطة البيولوجية، DFT، ADME-T، SARS-CoV-2

Résumé :

Dans cette étude, une série de dérivés hydrazones (HYDZ-1, HYDZ-2 ; HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5 et HYDZ-6) a été synthétisée en utilisant la réaction de condensation de 2 hydrazines aromatiques avec trois aldéhydes hétérocycliques. Les molécules synthétisées ont été caractérisées à l'aide des méthodes spectroscopiques et physico-chimiques comprenant l'UV-Vis, l'IR, la RMN ^1H , la RMN ^{13}C et la détermination du point de fusion. Les structures moléculaires optimisées, les spectres UV-Vis et IR, la réactivité, la stabilité et certains paramètres chimiques quantiques des molécules synthétisées ont été modélisés à l'aide de la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT). Les résultats théoriques obtenus sont en bon accord avec les résultats expérimentaux. D'autre part, les activités antioxydantes et antibactériennes des molécules synthétisées ont été évaluées. En outre, les paramètres ADME-T et pharmacocinétiques prédits ont indiqué que ces composés présentaient une bonne biodisponibilité orale. Les composés étudiés ont été testés pour déterminer leurs cytotoxicités par la méthode de létalité des artémias. L'efficacité photoprotectrice des composés synthétisés a également été déterminée en mesurant le facteur de protection solaire (SPF). L'activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase a été réalisée en utilisant la méthode colorimétrique d'Ellman. Les résultats ont montré que l'HYDZ-5 et l'HYDZ-6 ont la meilleure activité et supérieures à celle de la galentamine. Les composés étudiés ont montré une activité comparable aux standards (acarbose, thio-urée). Les résultats montrent que ces composés peuvent être une source importante de traitement des dommages pathologiques sans aucune toxicité. Enfin, l'amarrage moléculaire a été utilisé pour prédire l'activité inhibitrice des dérivés hydrazones étudiés sur la protéase principale du SRAS-CoV-2 (Mpro).

Mots Clés : Synthèse, Hydrazones, Caractérisation, activités biologiques, DFT, ADME-T, SARS-CoV-2.

Abstract:

In this study, a series of hydrazone derivatives (HYDZ-1, HYDZ-2; HYDZ-3, HYDZ-4, HYDZ-5, HYDZ-6) have been synthesized using condensation reaction of 2 aromatic hydrazines with three heterocyclic aldehydes. The synthesized molecules have been characterized using spectroscopic and physicochemical methods including UV-Vis, IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, and melting point determination. Optimized molecular structures, UV-Vis and IR spectra modeling, the reactivity, the stability and some quantum chemical parameters of the synthesized molecules were modeled utilizing density functional theory (DFT). The obtained theoretical results are in good agreement with the experimental results. On the other hand, the antioxidant and antibacterial activities of the studied molecules were evaluated to better understand the associated mechanisms of action specifically. Also, predicted ADME-T and pharmacokinetic parameters indicated that these compounds showed good oral bioavailability. The synthesized compounds were tested for cytotoxicity by the brine shrimp lethality method. The photoprotective efficacy of the studied compounds was also determined by measuring the sun protection factor (SPF). The acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase inhibitory activity were performed using Ellman's colorimetric method. The obtained results showed that HYDZ-5 and HYDZ-6 have the better activity and higher than its of the galentamine. Furthermore, The evaluation the inhibition effect of these compounds on alpha amylase and urease has been estimated. These compounds showed a good activity comparable to the standards (acarbose, thiourea). The results show that these compounds can be an important source of treatment for pathological damage without any toxicity. Finally, molecular docking has been used to predict the inhibitory activity of the studied hydrazone derivatives on the SARS-CoV-2 main protease (Mpro).

Key Words : Synthesis, Hydrazones, Characterization, biological activities, DFT, ADME-T, SARS-CoV-2