



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

Synthèse et évaluation *in vitro* du potentiel antioxydant et antimicrobien d'une série de composés 1,5 Benzodiazépines

Présenté et soutenu par :

Le : 28 / 06 / 2020

MERABET Skander Amine ET SEKHSOUKH Mohamed Nabil

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : *DAFFRI Amel* (MCB – UFM Constantine 1)

Rapporteur : *MOUAS Toma Nardjes* (MCA – UFM Constantine 1)

Co-encadreur : *DJEDOUANI Amel* (Pr – ENS Constantine 3)

Examinatrice : *BOUCHERIT Zeyneb* (MAA – UFM Constantine 1)

Année universitaire

2019/2020

Remerciements

Nous remercions en premier lieu Allah le tout puissant qui nous a permis d'être ce que nous sommes aujourd'hui et qui nous a donné toute la volonté et le courage pour l'achèvement de ce travail.

Nous tenons à adresser nos très sincères remerciements à notre encadrant de mémoire Mme MOUAS T. Nardjes, MCA à L'Université Frères Mentouri (UFM) Constantine 1 qui nous a guidé et encouragé dans notre travail.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à Mme DJEDOUANI Amel, Professeur à L'Ecole Normale Supérieure (ENS) Constantine, pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail et pour la confiance qu'elle nous a accordé au cours de ce travail ainsi que sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nos réflexions.

Nos remerciements vont aussi à tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation et au Présidente et membres du jury pour avoir bien voulu examiner et juger cet humble travail.

Sans oublier de remercier vivement l'équipe de laboratoire de Biochimie RDC de notre Département, l'équipe de bibliothèque de biologie, les travailleurs de l'administration et les agents de la faculté.

Nous tenons à exprimer notre gratitude très spéciale aux membres de nos familles respectives.

Enfin nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail et son déroulement dans les meilleures conditions.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE.....1

PARTIE THEORIQUE

Chapitre I : Généralités et données bibliographiques

I. Introduction.....	3
I.1. Acide déhydroacétique	3
I.2. Orthophénylènediamine (Diaminobenzène).....	4
I.3. Bases de Schiff.....	4
I.3.1. Classification des ligands bases de Schiff.....	5
I.3.1.1. Base de Schiff monodentate	5
I.3.1.2. Base de Schiff bidentate	5
I.3.1.3. Base de Schiff tridentate.....	6
I.3.1.4. Base de Schiff tétradentate	6
I.3.1.5. Base de Schiff pentadentate.....	7
I.4. Applications Biologiques des bases de Schiff	8
I.4.1. Antioxydante	8
I.4.2. Antibactérienne	8
I.4.3. Antifongique.....	9
I.5. Benzaldéhyde.....	10
I.5.1. 4-Méthoxybenzaldéhyde	10
I.5.2. 4-Hydroxybenzaldéhyde	11
I.5.3. 4-Chlorobenzaldéhyde	12
I.6. Benzodiazépines	13

I.6.1. Synthèse des Benzodiazépines	15
I.6.1.1. Chalcones.....	15
I.6.1.2. Cétones	17
I.6.1.3. Pyrones	18
I.6.2. Pharmacologie des Benzodiazépines	18
I.6.2.1. Pharmacocinétique.....	19
I.6.2.2. Pharmacodynamique.....	21

Chapitre II : Rappels théoriques sur les applications testées

II.1. Activités antioxydantes	23
II.1.1. Radicaux libres.....	23
II.1.2. Principales espèces réactives de l'oxygène.....	24
II.1.2.1. ERO radicalaires	24
II.1.2.2. ERO non radicalaires	25
II.1.3. Stress oxydatif.....	25
II.1.3.1. Effets du stress oxydant sur l'organisme.....	26
II.1.4. Antioxydants	29
II.1.4.1. Acide ascorbique	30
II.1.5. Activités antioxydantes testées	30
II.1.5.1. Pouvoir réducteur de fer (FRAP)	30
II.1.5.2. Activité de peroxyde d'hydrogène	31
II.1.5.3. Activité du piégeage du radical hydroxyle.....	31
II.2. Activité antibactérienne	32
II.2.1. Généralités sur les entérobactéries	32
II.2.1.1. <i>Escherichia coli</i>	33
II.2.1.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	33
II.2.2. Généralités sur le genre <i>Pseudomonas</i>	34

II.2.2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
II.2.3. Groupe des cocci Gram+	35
II.2.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	35
II.2.4. Généralités sur les antibiotiques	36
II.2.4.1. Mode d'action des antibiotiques	36
II.2.4.2. Mécanisme de résistance aux antibiotiques.....	37
II.2.4.3. Gentamicine	37
II.2.4.4. Acide nalidixique	38
II.3. Activité antifongique	38
II.3.1. Généralités sur <i>Trichoderma</i>	38
II.3.2. Morphologie.....	38
II.3.3. Mode d'action	39
II.3.4. Métabolites de <i>Trichoderma harzianum</i>	39
II.3.5. Généralités sur les antifongiques	39
II.3.6. Mécanisme de la résistance aux antifongiques	41

PARTIE PRATIQUE

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel et consommable utilisés	42
I.1.1. Matériel	42
I.1.2. Réactifs.....	43
I.2. Synthèse chimique des composés	43
I.2.1. Procédure générale de la synthèse des 1,5 Benzodiazépines	44
I.3. Analyse structurale des composés synthétisés	45
I.3.1. Calcul du rendement.....	45
I.3.2. Point de fusion.....	45
I.3.3. Spectroscopie Infrarouge.....	45

I.4. Evaluation des activités Biologiques	46
I.4.1. Activités antioxydantes	46
I.4.1.1. Protocole de l'activité du piégeage du radical hydroxyle.....	46
I.4.1.2. Protocole de l'activité du pouvoir réducteur de Fer (FRAP).....	46
I.4.1.3. Protocole de l'activité peroxyde d'hydrogène.....	47
I.4.2. Activité antimicrobienne	47
I.4.2.1. Protocole de l'activité antimicrobienne	48

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Résultat de la procédure de synthèse des 1,5 Benzodiazépines	50
II.1.1. Première étape de la synthèse des 1,5 Benzodiazépines.....	50
II.1.2. Deuxième étape de la synthèse des 1,5 Benzodiazépines.....	50
II.2. Propriétés physico-chimiques des composés synthétisés	51
II.3. Analyse spectroscopique infrarouge	52
II.4. Résultats et discussion des activités biologiques <i>in vitro</i>	56
II.4.1. Activités antioxydantes.....	56
II.4.1.1. Activité du piégeage du radical hydroxyle.....	56
II.4.1.2. Activité du pouvoir réducteur de fer (FRAP).....	58
II.4.1.3. Activité de peroxyde d'hydrogène	61
II.4.2. Activités antimicrobiennes.....	64
II.4.2.1. Activité antibactérienne.....	64
II.4.2.2. Activité antifongique.....	66
Conclusion générale	68
Références bibliographiques	70

Annexes

LISTE DES ABREVIATIONS

A 0,5 : Absorbance à 0,5 µg/mL

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGPI : Acide gras polyinsaturé

BZ : Benzaldéhyde

BZD : Benzodiazépine

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 µg/mL

DHA : Acide déhydroacétique

DMSO : Diméthylsulfoxyde

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FRAP : Réduction du pouvoir antioxydant du fer

GABA : L'acide γ-aminobutyrique

GN : Gentamicine

NA : Acide nalidixique

OPDA : Orthophénylènediamine

PL : Peroxydation lipidique

PR : Pouvoir réducteur

R : Radical

SOD : Superoxyde dismutase

TCA : Acide trichloroacétique

TPTZ : Tripyridyl-s-triazine

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Acide déhydroacétique (DHA)	3
Figure 2: Orthophénylènediamine (OPDA)	4
Figure 3: Schéma de réaction de l'amine primaire avec un aldéhyde ou une cétone.....	5
Figure 4: Base de Schiff monodentate	5
Figure 5: Base de Schiff bidentate	6
Figure 6: Base de Schiff tridentate	6
Figure 7: Schéma d'obtention d'une base de Schiff tétradentate (NNOO donneurs)	7
Figure 8: Base de Schiff pentadentate de type N_2O_3 donneurs	7
Figure 9: Base de Schiff pentadentate de type N_3O_2 donneurs	7
Figure 10: N-(Salicylidene)-2-hydroxyaniline	9
Figure 11: Différentes Classes de 2,4-dichloro-5-fluorophényl ayant une activité antibactérienne	9
Figure 12: Composés bases de Schiff ayant une activité antifongique.	10
Figure 13: Structure du benzaldéhyde.....	10
Figure 14: Structure du 4-méthoxybenzaldéhyde	11
Figure 15: Structure du 4-hydroxybenzaldéhyde	12
Figure 16: Structure du 4-chlorobenzaldéhyde	13
Figure 17: Structure chimique d'une 1,5 Benzodiazépines.....	14
Figure 18: Schéma de synthèse de 2,4-disubstitués-1,5-Benzodiazépines de chalcones	16
Figure 19: Schéma de synthèse de dérivés Benzodiazépines.....	16
Figure 20: Schéma de synthèse de benzimidazole assemblé 1,5-Benzodiazépine.....	17
Figure 21: Schéma de synthèse de 2,3-di hydro-1H-1,5-Benzodiazépines.....	17
Figure 22: Schéma de synthèse de Benzodiazépine à partir de Diamine	18
Figure 23: Schéma de synthèse de Benzodiazépine à partir de Pyrone	18
Figure 24: Schéma de la dégradation métabolique du diazépam en oxazépam	20
Figure 25: Schéma de la dégradation métabolique du lorazépame en lorazépame glucuronide	21
Figure 26: Sites de liaisons fonctionnelles sur le récepteur GABA	22
Figure 27: Altérations cellulaires induites par les radicaux libres	26
Figure 28: Schéma de la séquence réactionnelle basique de la peroxydation lipidique.....	28
Figure 29: Structure chimique de l'acide ascorbique	30

Figure 30: Schéma de réaction du test FRAP (Ferric reducing antioxidant power)	31
Figure 31: Gentamicine C1	37
Figure 32: Acide nalidixique	38
Figure 33: Sites d'action des antifongiques	40
Figure 34: Schéma de la première étape de la Synthèse des 1,5 Benzodiazépines à partir du DHA.	50
Figure 35: Schéma de la deuxième étape de la synthèse des 1,5 Benzodiazépines.	50
Figure 36: Schéma de la synthèse générale des 1,5 Benzodiazépines (3a-3d).....	51
Figure 37: Spectre infrarouge du composé 3a.	53
Figure 38: Spectre infrarouge du composé 3b.....	54
Figure 39: Spectre infrarouge du composé 3c.	55
Figure 40: Courbes des absorbances de l'activité de piégeage du radical hydroxyle.	57
Figure 41: Courbe d'absorbance de l'acide ascorbique de l'activité de piégeage du radical hydroxyle.....	57
Figure 42: Valeurs des A 0,5 exprimées en $\mu\text{g/mL}$ pour l'activité du piégeage du radical hydroxyle.....	58
Figure 43: Courbe des absorbances de l'activité de réduction de fer.....	60
Figure 44: Courbe d'absorbance de l'acide ascorbique de l'activité de réduction de fer.	60
Figure 45: Valeurs des A 0,5 $\mu\text{g/mL}$ pour l'activité de réduction de fer.	61
Figure 46: Courbes des pourcentages d'inhibitions de l'activité du peroxyde d'hydrogène. .	63
Figure 47: Courbe de pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique de l'activité peroxyde d'hydrogène.....	63
Figure 48: Valeurs des A 0,5 $\mu\text{g/mL}$ pour l'activité peroxyde d'hydrogène.	64
Figure 49: Histogrammes des zones d'inhibition montrant l'activité antibactérienne des ligands synthétisés.....	65
Figure 50: Histogrammes des zones d'inhibition montrant l'activité antifongique des composés synthétisés.....	66

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Exemple de quelques Benzodiazépines commercialisées à usage fréquent.....	15
Tableau 2: Origines des espèces réactives de l'oxygène	23
Tableau 3: Réactifs utilisés pour la synthèse organique et les activités biologiques	43
Tableau 4: Données analytiques des Benzodiazépines synthétisées	51
Tableau 5: Données spectrales du composé 3a	52
Tableau 6: Données spectrales du composé 3b	53
Tableau 7: Données spectrales du composé 3c	55
Tableau 8: Résultats de l'activité du piégeage du radical hydroxyle	56
Tableau 9: Résultats du témoin positif acide ascorbique pour l'activité du piégeage du	56
Tableau 10: Résultats de l'activité de la réduction de fer (FRAP).	58
Tableau 11: Résultats du témoin positif acide ascorbique pour l'activité de la réduction de fer (FRAP).....	59
Tableau 12: Résultats de l'activité de peroxyde d'hydrogène.	61
Tableau 13: Résultat du témoin positif acide ascorbique pour l'activité de peroxyde d'hydrogène.....	62
Tableau 14: Zone d'inhibition bactérienne (mm) du DHA et de ses dérivés Benzodiazépines (3a-3d).....	64
Tableau 15: Zone d'inhibition fongique (mm) du DHA et de ses dérivés Benzodiazépines (3a-3d).....	66

De nombreux composés azotés d'origine naturelle et synthétique ont trouvé une multitude d'applications importantes dans le domaine pharmaceutique comme antibactérien, antioxydant, antifongique et anxiolytique.

Parmi ces composés azotés : les bases de Schiff, en référence à Hugo Schiff (1864). Ces ligands largement exploités en chimie médicale et chimie de coordination ont pris de l'importance à cause de leur physiologie et les activités pharmacologiques qui leur sont associées. Les composés contenant le groupe imine ($-C=N-$) dans la structure sont connus sous le nom de bases Schiff (Bharti et *al.*, 2010).

Les Benzodiazépines (BZD) sont des molécules de découverte ancienne. Cependant, elles ne sont pas dénuées d'effets indésirables et posent des problèmes de toxicodépendance. Les agences sanitaires tentent de résoudre ces problèmes depuis de nombreuses années. En effet, les recommandations officielles concernant cette famille thérapeutique sont fréquemment mises à jour, mettant l'accent sur des durées de prescription courtes et sans renouvellement (Gamblin, 2015).

Depuis leur apparition sur le marché pharmaceutique en 1950, les BZD se sont largement répandues dans les habitudes de consommation et de prescriptions des médecins du monde entier. Les BZD ont à ce moment été reconnues comme médicaments de référence du traitement de l'anxiété aiguë et subaiguë. Elles sont indiquées dans les troubles anxieux comme traitement symptomatique des manifestations anxieuses sévères et/ou douloureuses. L'objectif de ce travail est la synthèse et l'évaluation *in vitro* du potentiel biologique d'une famille de 1,5 Benzodiazépines obtenues par interaction entre les bases de Schiff et le benzaldéhyde (un composé organique largement utilisé comme réactif et un intermédiaire dans les industries pharmaceutiques) respectivement. En effet, les structures de quatre composés Benzodiazépines (3a-3d) fonctionnalisées par OCH_3 , OH , H et Cl respectivement, seront reportées et différents tests biologiques ont été également initiés afin d'évaluer leurs potentiels antioxydant, antibactérien et antifongique *in vitro* (Duval, 2011).

Le présent manuscrit est scindé en deux grandes parties :

- Une partie théorique composée de deux chapitres :

Le premier chapitre comprend des généralités et des données bibliographiques sur le DHA, les bases de Schiff, les benzaldéhydes et les Benzodiazépines, leurs propriétés, ainsi que leurs différentes applications biologiques.

Le deuxième chapitre présente des rappels théoriques sur les différentes applications biologiques testées.

- Une partie pratique qui comprend également deux chapitres :

Un chapitre dédié au matériel et méthodes utilisés.

Les résultats seront traités et discutés dans le dernier chapitre.

Enfin, une conclusion générale ainsi que des perspectives de recherche avenir viendront achever ce travail.

Chapitre I :

Généralités et données
bibliographiques

I. Introduction

Dans le présent travail, quatre composés 1,5 Benzodiazépines ont été synthétisées à partir d'une réaction qui combine l'acide déhydroacétique, une molécule de diaminobenzène et un 4R-benzaldéhyde substitué en position 4 par des groupements : OCH₃, OH, H ou Cl, les produits de cette addition sont dits **Benzodiazépines**, et dans ce qui suit un rappel succinct sur les propriétés chimiques et biologiques de chaque acteur de cette réaction.

I.1. Acide déhydroacétique

L'acide déhydroacétique (3-acétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyrane-2one) commercialement abrégé en DHA (Kashmiri et *al.*, 2018) est un composé hétérocyclique d'une masse moléculaire de 168,15 g/mol, souvent utilisé en synthèse organique (Prakash et *al.*, 2004) et trouve ses applications principalement comme fongicide et bactéricide (Miller et *al.*, 2001).

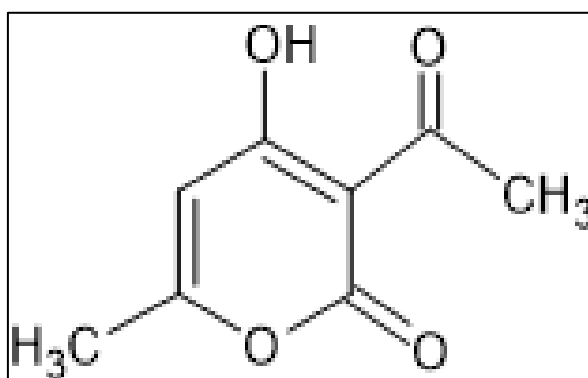


Figure 1: Acide déhydroacétique (DHA) (Rassweiler et Adams, 1924).

La réaction entre une lactone (DHA) et un composé aromatique : l'orthophénylènediamine ou 1, 2 diaminobenzène aboutit à la formation d'un composé dit Benzodiazépine qui renferme une base de Schiff

I.2. Orthophénylènediamine (Diaminobenzène)

Orthophénylènediamine (OPDA) est un composé aromatique de formule $C_6H_4(NH_2)_2$, très utilisé en synthèse hétérocyclique et joue le rôle d'intermédiaire important dans plusieurs composés biologiquement actifs dont les fongicides (Layer, 1976).

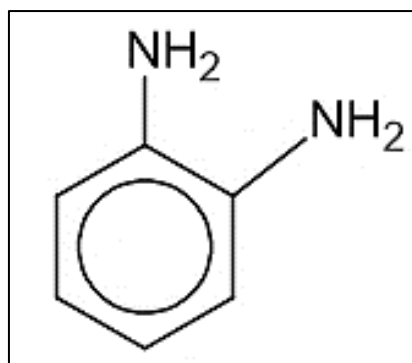


Figure 2: Orthophénylènediamine (OPDA) (Guisnet et *al.*, 1991).

I.3. Bases de Schiff

Ce sont des Composés ayant une fonction imine ou azométhine ($-C=N-$) et sont connus sous le nom de bases de Schiff. Elles ont été citées pour la première fois en 1864 par le chimiste allemand Hugo Schiff (Chaturvedi et Kamboj, 2016).

On appelle base de Schiff tout produit comportant une double liaison ($-C=N-$) (Da Silva et *al.*, 2011 ; Mugerli, 2017). Elles sont à l'origine le produit de la réaction entre un amine primaire ($R-NH_2$) et un composé carbonyle (R_1-CO-R_2) où R_1 , R_2 est un aldéhyde ou une cétone, l'eau est un sous-produit de cette réaction (Chaturvedi et Kamboj, 2016) (**Figure 3**).

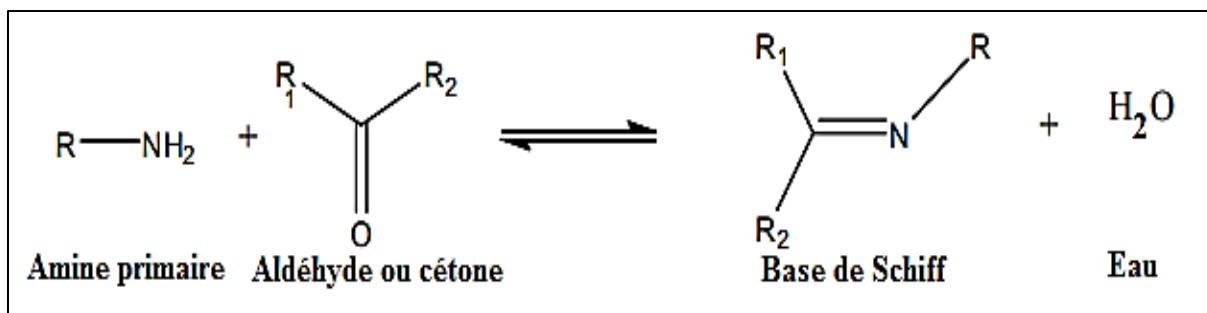


Figure 3: Schéma de réaction de l'amine primaire avec un aldéhyde ou une cétone (Schiff, 1864).

I.3.1. Classification des ligands bases de Schiff

Les ligands base de Schiff sont classés selon le nombre de site de fixation : monodentates, bidentates, tridentates, tétradentates et pentadentates (Battin, 2019).

I.3.1.1. Base de Schiff monodentate

C'est une molécule qui possède un seul site de fixation.

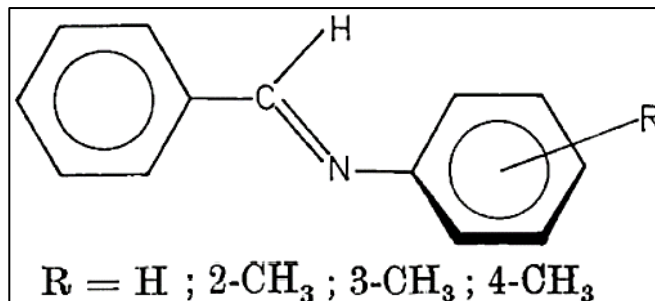


Figure 4: Base de Schiff monodentate (Garcia-Vazquez, 1984).

I.3.1.2. Base de Schiff bidentate

Ce genre de base de Schiff peut exister sous forme de plusieurs types. Les bidentés peuvent être O, N donneurs tel que le composé suivant :

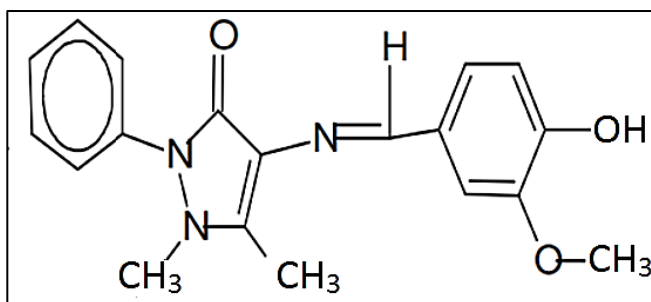


Figure 5: Base de Schiff bidentate (Suresh et Prakash, 2011).

I.3.1.3. Base de Schiff tridentate

Les ligands tridentates qui peuvent être synthétisé à partir de la figure suivante sont de type : ONN ou ONO ligands.

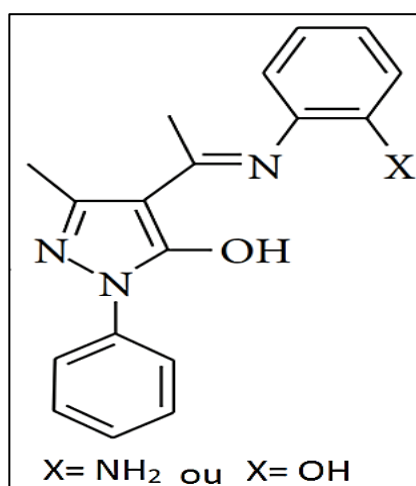


Figure 6: Base de Schiff tridentate (Jayarajan et *al.*, 2010).

I.3.1.4. Base de Schiff tétradentate

- **Type NNOO (N₂O₂) donneurs**

Cette classe de ligands qui présente bis-base de Schiff (NNOO) est nommée par le terme H₂Salen.

Les deux protons associés au Salen sont des protons des fonctions hydroxyles greffés sur des cycles aromatiques qui deviennent des substances acides (Zoubeidi, 2017).

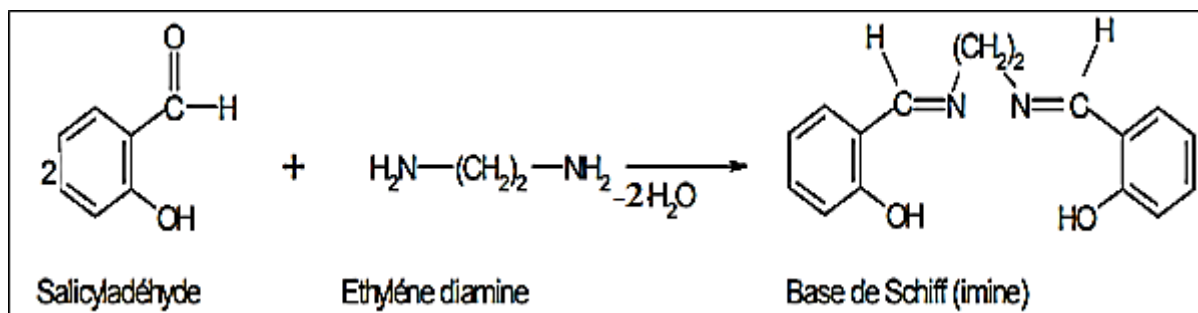


Figure 7: Schéma d'obtention d'une base de Schiff tétradentate (NNOO donneurs) (Diehl et *al.*, 1950).

I.3.1.5. Base de Schiff pentadentate

- Type NNOOO donneurs (N_2O_3)

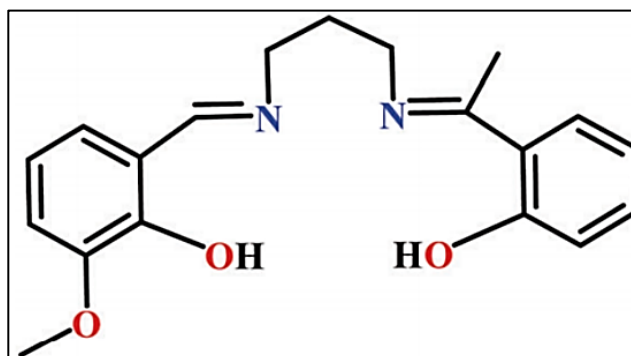


Figure 8: Base de Schiff pentadentate de type N_2O_3 donneurs (Mahapatra et *al.*, 2019).

- Type NNNOO donneurs (N_3O_2)

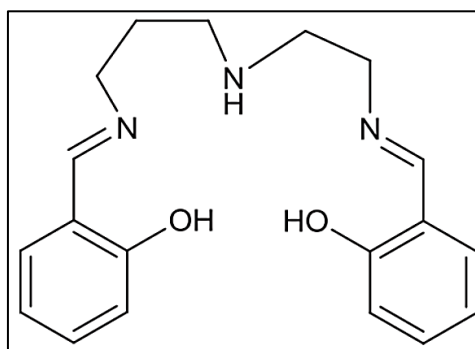


Figure 9: Base de Schiff pentadentate de type N_3O_2 donneurs (Krüger et *al.*, 2015).

I.4. Applications Biologiques des bases de Schiff

Les bases de Schiff sont largement utilisées dans plusieurs domaines : biologique (Imran et *al.*, 2007), inorganique (Poualimardan et *al.*, 2007), analytique (Cimerman et *al.*, 2000) et en synthèse organique (Abu-hussen, 2006).

L'importance des bases de Schiff réside dans leurs utilisations comme antibactériens, antifongiques, ainsi que leurs capacités à capturer des ions métalliques (Dutta et Chakravorty, 1994).

I.4.1. Antioxydante

Les ligands de base de Schiff ont montré une excellente activité antioxydante (DPPH, FRAP). Par ailleurs, le but de la combinaison de groupes fonctionnels est d'augmenter le potentiel antioxydant afin d'améliorer leurs propriétés et synthétiser de nouveaux complexes portants des groupes fonctionnels antioxydants (Tadele, 2017 ; Zaranappa et *al.*, 2012).

I.4.2. Antibactérienne

Il a été démontré que les bases de Schiff présentent une large gamme d'activités biologiques, y compris antifongiques, antibactériennes, antipaludiques, antiprolifératives, anti-inflammatoires, antivirales et antipyrétiques (Dhar et Taploo, 1982 ; Przybylski et *al.*, 2009).

L'augmentation du taux de mortalité associé aux maladies infectieuses est directement liée aux bactéries présentant une résistance aux antibiotiques (Da Silva et *al.*, 2011). La synthèse de nouveaux agents antibactériens renfermant de mécanismes d'action nouveaux et plus efficaces est devenue incontestablement un besoin médical prompt (Rice, 2006).

Les bases de Schiff ont été désignées comme des agents antibactériens prometteurs, par exemple, la N-(salicylidène)-2-hydroxyaniline est efficace contre le *Mycobacterium tuberculosis*, présentant une valeur de concentration minimale inhibitrice de 8 µg/mL (de Souza et *al.*, 2007).

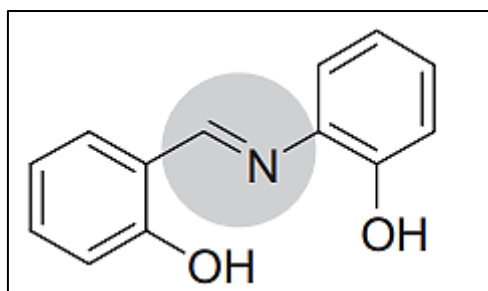


Figure 10: N-(Salicylidene)-2-hydroxyaniline (Da Silva et al., 2011).

Les bases de Schiff avec une portion de 2,4-dichloro-5-fluorophényl sont également efficaces dans l'inhibition de la croissance bactérienne. Cette classe des bases de Schiff inhibe complètement la croissance de *S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Klebsiella pneumoniae*. Les valeurs de concentrations minimales inhibitrices pour cette classe des composés varient entre 6,3 et 12,5 $\mu\text{g/mL}$ (Karthikeyan et al., 2006).

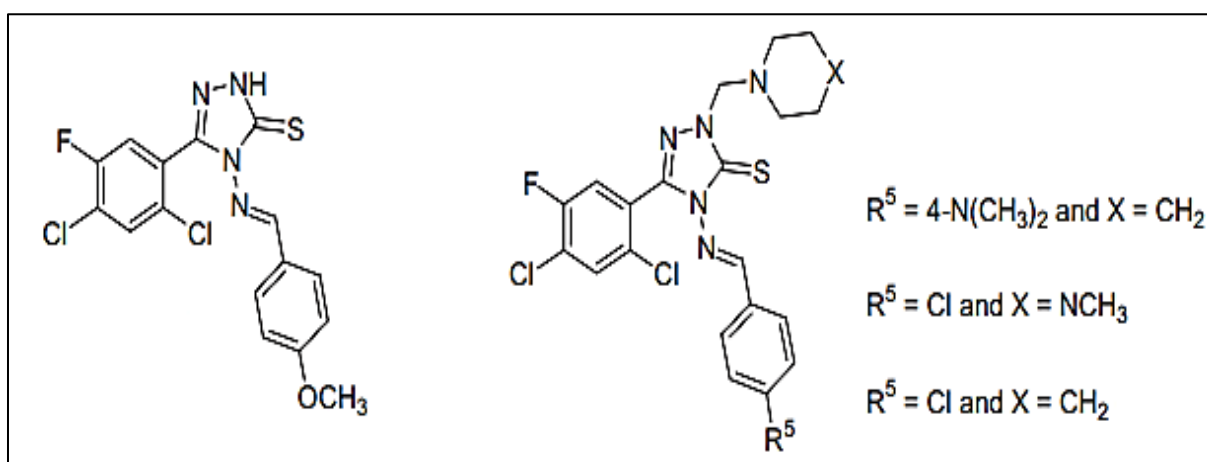


Figure 11: Différentes Classes de 2,4-dichloro-5-fluorophényl ayant une activité antibactérienne (Da Silva et al., 2011).

I.4.3. Antifongique

Les infections fongiques sont de plus en plus résistantes aux traitements utilisés (Sundriyal et al., 2006), le développement de nouveaux agents antifongiques est devenu donc nécessaire, et fait l'objet de plusieurs études (Martins et al., 2009 ; Martins et al., 2009). Plusieurs complexes de bases de Schiff sont décrits pour leur pouvoir antifongique important (Da Silva et al., 2011).

Les bases de Schiff avec une portion de 2,4-dichloro-5-fluorophényle (**Figure 11**) ainsi que les composés (**1-2**) (**Figure 12**) inhibent la croissance de champignons d'intérêt clinique, comme *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Trichophyton mentagrophytes*, et *Penicillium marneffeii*. Les concentrations minimales inhibitrices de ces composés varient entre 6,3 et 12,5 µg/mL (Karthikeyan et al., 2006).

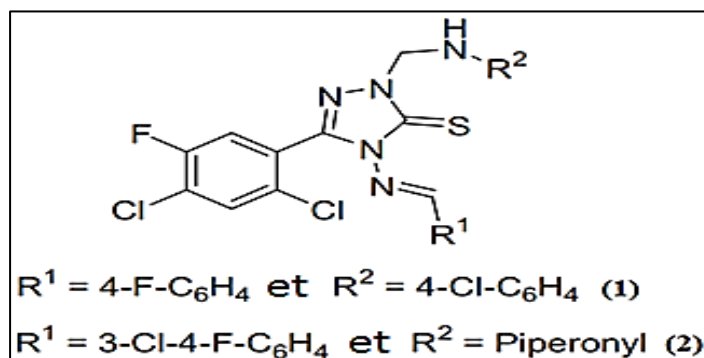


Figure 12: Composés bases de Schiff ayant une activité antifongique (Da Silva et al., 2011).

I.5. Benzaldéhyde

Le benzaldéhyde (BZ) est un aldéhyde aromatique ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}$), d'une masse moléculaire de 106,1 g/mol, liquide transparent à légèrement jaunâtre lors du stockage et à odeur d'amande amère. Il est utilisé comme réactif et intermédiaire dans les industries pharmaceutiques (Bishop, 1990).

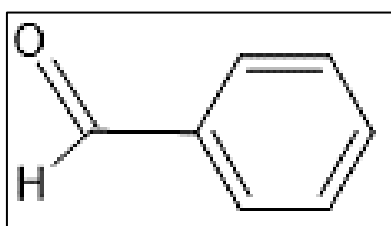


Figure 13: Structure du benzaldéhyde (Bishop, 1990).

I.5.1. 4-Méthoxybenzaldéhyde

Le P-méthoxybenzaldéhyde, ou anisaldéhyde appartient à la classe des benzaldéhydes, portant un substituant méthoxy (OCH_3) en position 4. Sa formule générale est ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$), de masse moléculaire de 136,15 g/mol.

C'est un composé chimique commercial, d'un état liquide huileux, volatile dans la vapeur (O'neil, 2013), de couleur jaune (Govindarajan et Nagabalasubramanian, 2015) et d'une odeur d'aubépine (Lewis, 2012), insoluble dans l'eau, miscible dans l'éthanol et très soluble dans le chloroforme (Haynes, 2015).

L'anisaldéhyde commercial est largement utilisé dans l'industrie chimique comme intermédiaire dans la préparation de parfums, aromatisants, colorants, produits pharmaceutiques et agrochimiques (Kirchner et *al.*, 2011).

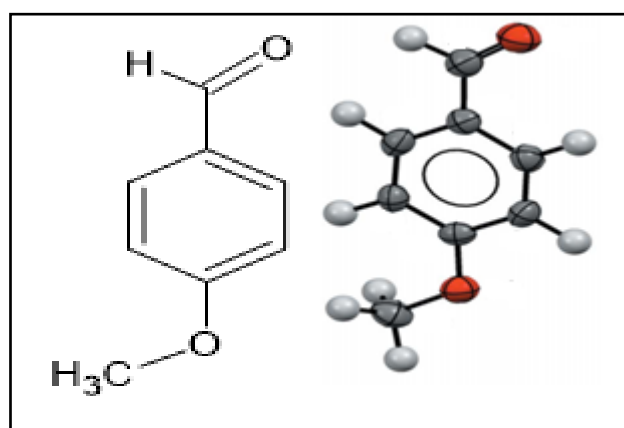


Figure 14: Structure du 4-méthoxybenzaldéhyde (Kirchner et *al.*, 2011).

I.5.2. 4-Hydroxybenzaldéhyde

Le 4-hydroxybenzaldéhyde est un benzaldéhyde solide substitué par un groupe hydroxyle (OH) en position 4. Sa formule chimique est (C₇H₆O₂), d'une masse molaire de 122,12 g/mol.

Le 4-hydroxybenzaldéhyde est un constituant actif majeur du *Gastrodiae Rhizoma*, une plante médicinale chinoise utilisée pour le traitement médical des maux de tête, de l'épilepsie, des rhumatismes, des névralgies, de la paralysie et d'autres troubles névralgiques et nerveux (Tang, 1992).

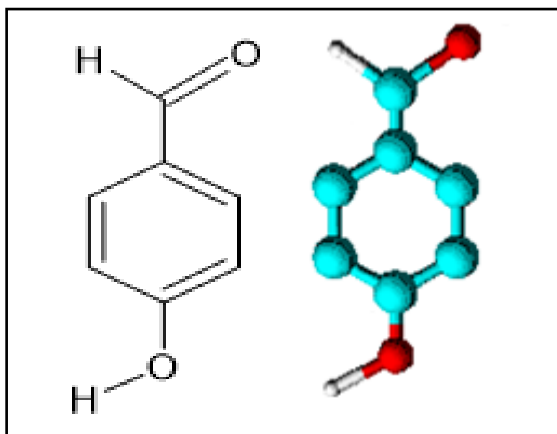


Figure 15: Structure du 4-hydroxybenzaldéhyde (Jasinski, 2008).

I.5.3. 4-Chlorobenzaldéhyde

Le p-Chlorobenzaldéhyde, également connu sous le nom de 4-chlorobenzaldéhyde est une poudre cristalline incolore en paillettes ou jaune pâle. Son poids moléculaire est de 140,56 g/mol et d'une formule générale (C_7H_5ClO). Il est insoluble dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool, l'éther, le benzène et l'acétone.

Il peut être utilisé pour la production de médicaments, aussi comme modulateur de propriété des fluides incluant les agents antimousses, les agents de coagulation, les agents de dispersion et les émulsifiants. Il rentre aussi dans la production de produits chimiques agricoles utilisés sur une variété de cultures et dans la fabrication de produits chimiques de laboratoire, d'engrais à usage domestique ou industriel. Il sert également comme substance pour prévenir, détruire ou atténuer les effets des parasites.

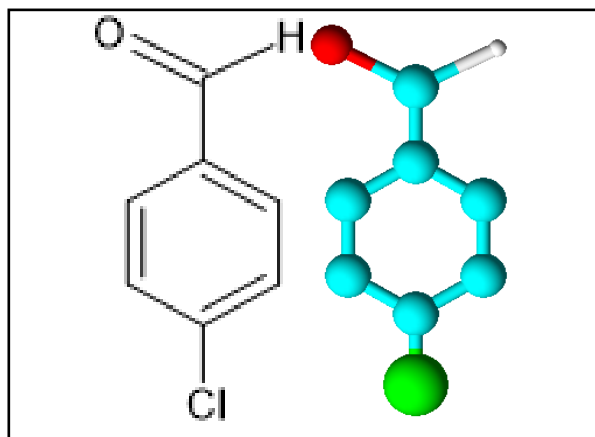


Figure 16: Structure du 4-chlorobenzaldéhyde (Sampath et *al.*, 2010).

Des études préliminaires sur la relation structure-activité ont révélé que les composés ayant un fragment donneur d'électrons (OH-OCH₃) sont d'excellents antioxydants et que les composés ayant un fragment électrodonneur (Cl) sont d'excellents agents anti-inflammatoires (Taqi Khan et *al.*, 1992).

En plus de leurs activités antioxydantes, la littérature a rapporté aussi que le 4-méthoxybenzaldéhyde possède une propriété antifongique contre plusieurs souches (Fitzgerald et *al.*, 2005).

I.6. Benzodiazépines

Les Benzodiazépines constituent une classe importante de composés bioactifs. Elles comptent parmi les médicaments du psychisme et sont largement utilisées dans le traitement des syndromes anxieux. Elles présentent des propriétés anti-convulsivantes, myorelaxantes, sédatives (Katrizky et Rees, 1984 ; Barton et *al.*, 1979), anti-inflammatoires, analgésique (Satyanarayana et Rao, 1993) et inhibitrices de synthèse des prostaglandines (Nawrocka et *al.*, 2004) ainsi que des activités antibiotiques (Kamal et *al.*, 2001).

Certaines de ces structures ont été utilisées dans l'industrie comme pigments pour les fibres acryliques (Harris et Straley, 1968).

Elles doivent leurs noms à leur structure chimique comme : le noyau Benzodiazépine associe un motif de benzène (benzo-) plus un hétérocycle dont deux atomes sont des azotes (-diaz), présents en position 1,4 ; 1,5 ; 1,2 ; 1,3 ; 2,4 et 2,3. Les 1,4 et 1,5- Benzodiazépine ont

trouvé une large application comme agents thérapeutiques à forte diffusion biologique : hypnotiques, sédatifs, anxiolytiques...etc (Marks, 1991).

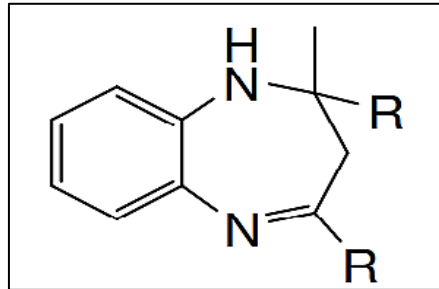


Figure 17: Structure chimique d'une 1,5 Benzodiazépines (Rida et *al.*, 2018).

Cette structure accepte des modifications importantes sans perte sensible de son activité pharmacologique, ce qui permet de comprendre la multiplication des produits commercialisés (Landry et Gies, 2014).

Les Benzodiazépines sont d'une importance essentielle dans le domaine médical et dans le tableau qui suit, quelques Benzodiazépines à usage fréquent sont citées :

Tableau 1: Exemple de quelques Benzodiazépines commercialisées à usage fréquent (Urman et Kaye, 2012).

Médicament (nom commercial)	Dosage (intraveineux)		Début	Durée
	Pédiatrique	Adulte		
Midazolam (Versed)	Bolus incrémentiel : 0,05-0,1 mg/kg Titration : 0,25mg/kg tous les 5 min Max : 0,2 mg/kg	Initiale : 0,5-2,5 mg, lentement, pendant 2 minutes Titration : incréments de 0,5 mg Max : 5 mg	1–5 min	1–2,5 h
Diazépam (Valium)	Bolus incrémentiel : 0,1-0,3 mg/kg par tranches de 3 min minimum Max: 0,6 mg/kg	Initiale : 2,5-10 mg lentement Titration : 2-5 mg toutes les 5-10 min Max: 20 mg	30 s – 5 min	2–6 h
Lorazépam (Ativan)	Bolus incrémentiel : 0,05 mg/kg sur 2 min Peut répéter ½ dose toutes les 10-15 min Max : 2 mg	Initiale : 0,02- 0,05 mg/kg sur 2 min ; peut répéter ½ dose toutes les 10-15 min Max : 2 mg	5–10 min	4–6 h

I.6.1. Synthèse des Benzodiazépines

La synthèse des Benzodiazépines a été largement étudiée. Elle consiste en une action de l'OPDA sur des composés carbonyles α , β -insaturé, les β -halocétone, ou avec des cétones (Reid et Torinus, 1959) en présence des catalyseurs acides qui sont essentiels pour améliorer le processus de condensation (Abdul Majid et *al.*, 2012).

Dans ce qui suit, quelques méthodes de synthèse des Benzodiazépines.

I.6.1.1. Chalcones

Synthèse de 2,4-disubstitués-1,5-Benzodiazépines de chalcones, avec un bon rendement (70 à 88 %) (Bhatia et *al.*, 2008).

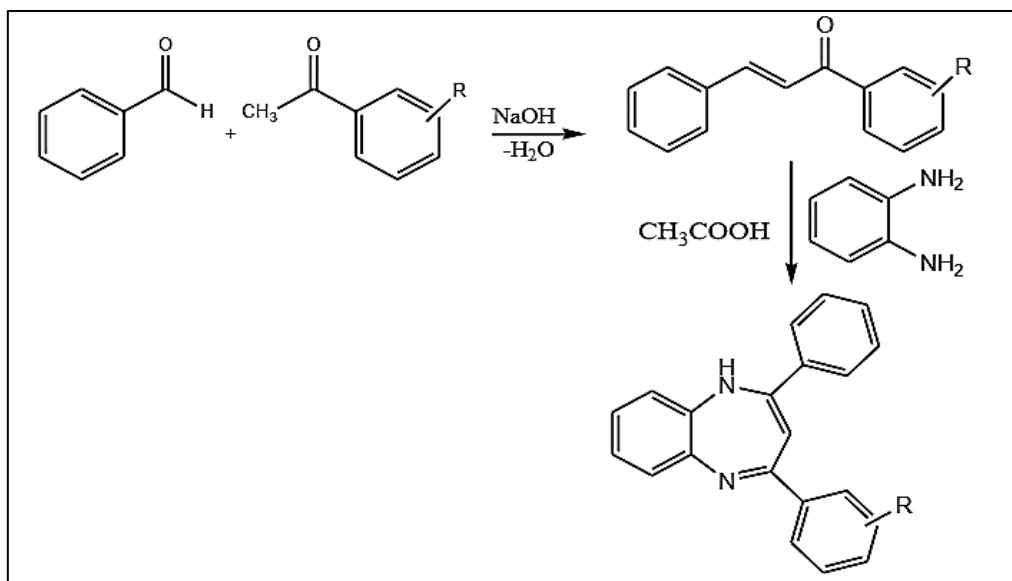


Figure 18: Schéma de synthèse de 2,4-disubstitués-1,5-Benzodiazépines de chalcones (Bhatia *et al.*, 2008).

Une nouvelle série de 2,4-disubstitués-2,3dihydrosubstitué-1,5-dérivés des Benzodiazépines de divers chalcones substituées a été synthétisée sous irradiations micro-ondes (Sharma et Joshi, 2012).

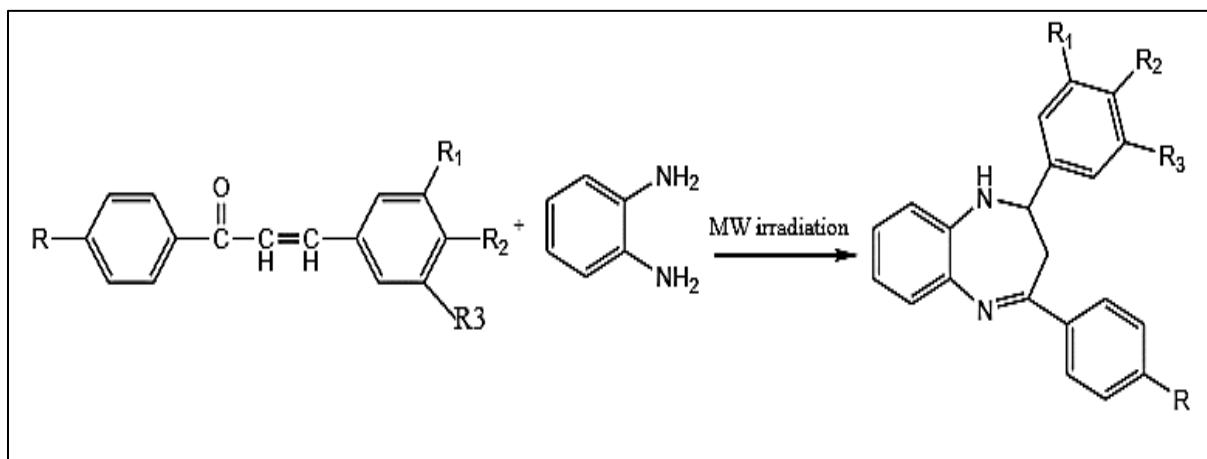


Figure 19: Schéma de synthèse de dérivés Benzodiazépines (Sharma et Joshi, 2012).

Synthèse de quelques nouveaux benzimidazoles assemblés 1,5 Benzodiazépines dérivées de chalcones substituées (Yadav et Srivastava, 2011).

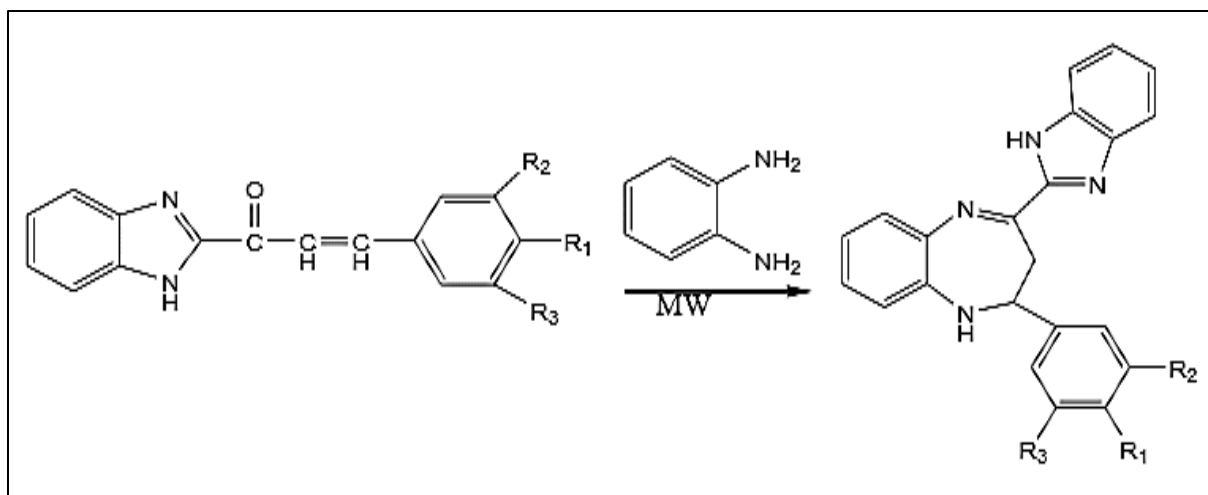


Figure 20: Schéma de synthèse de benzimidazole assemblé 1,5-Benzodiazépine (Yadav et Srivastava, 2011).

I.6.1.2. Cétones

La synthèse de 2,3-di hydro-1H-1,5-Benzodiazépines de diverses cétones a été effectuée en présence d'un catalyseur solide super acide polyvalent, et les rendements obtenus étaient de 80 à 96 % (Reddy et Srekanth, 2003).

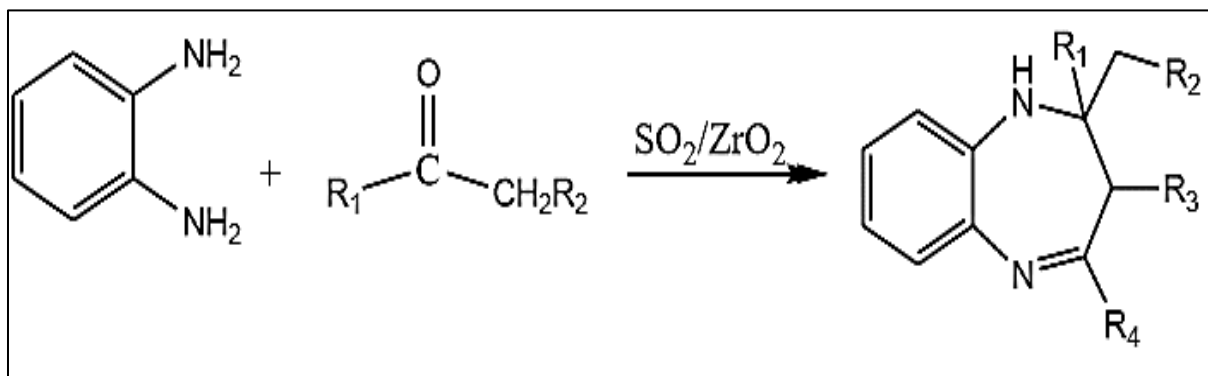


Figure 21: Schéma de synthèse de 2,3-di hydro-1H-1,5-Benzodiazépines (Reddy et Srekanth, 2003).

La synthèse de 1,5-Benzodiazépines dérivés de cétones énolisables en utilisant 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine comme catalyseur. Les produits ont été obtenus avec d'excellents rendements à travers les conditions de la réaction simples et douces (Kuo *et al.*, 2008).

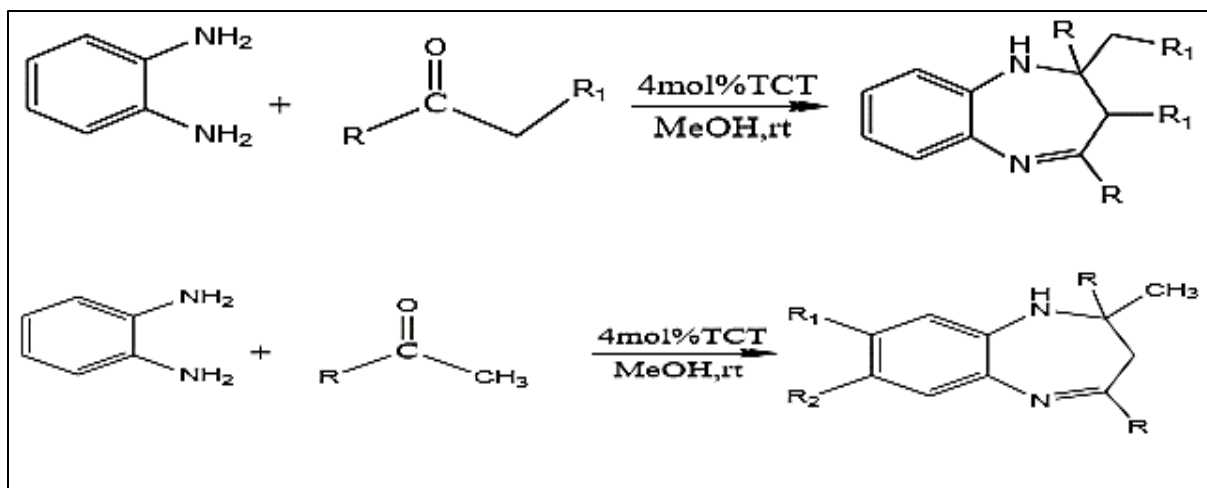


Figure 22: Schéma de synthèse de Benzodiazépine à partir de Diamine (Kuo et *al.*, 2008).

I.6.1.3. Pyrones

Une méthode originale de synthèse de la Benzodiazépine a été mise au point en utilisant comme précurseur les dérivés de la pyrone (DHA) et l'OPDA (Ballo, 2008).

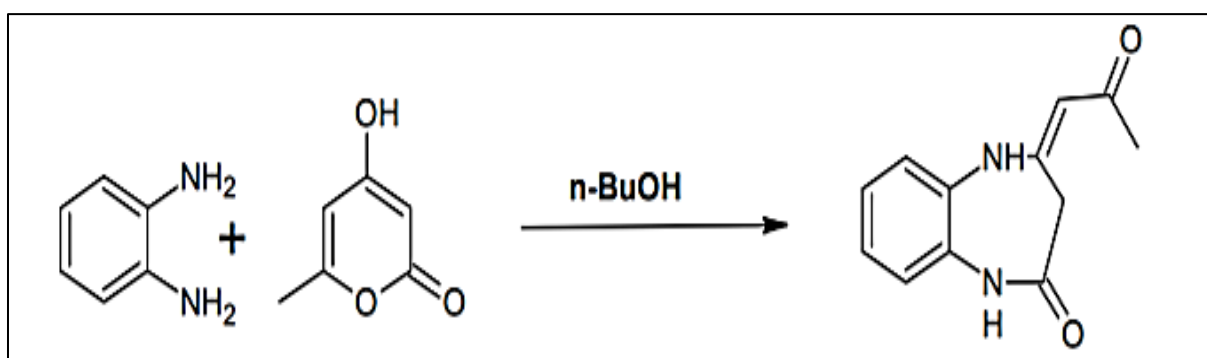


Figure 23: Schéma de synthèse de Benzodiazépine à partir de Pyrone (Ballo, 2008).

I.6.2. Pharmacologie des Benzodiazépines

La pharmacocinétique (détermination du début de l'action et de la durée de l'effet du médicament) est affectée par la voie d'administration, l'absorption et le volume de distribution. Les BZD peuvent être administrées par voie intramusculaire, intraveineuse, orale, sublinguale, intranasale ou rectale sous forme de gel. Les caractéristiques du médicament notamment la liposolubilité, la liaison aux protéines plasmatiques et la taille moléculaire influent sur le volume de distribution. La pharmacodynamie et les effets

pharmacologiques du médicament sont décrits en termes de courbes dose-réponse qui décrivent la relation entre la dose et l'effet pharmacologique résultant. Les courbes dose-réponse permettent de prédire l'effet du médicament sur le patient lorsque les doses augmentent. Le titrage d'un médicament doit se faire en fonction de la pharmacodynamique attendue. Les principales considérations lors du titrage des médicaments comprennent le choix approprié à l'état du patient (par exemple : insuffisance rénale, insuffisance hépatique, exposition antérieure aux médicaments), le choix approprié du dosage progressif (c'est-à-dire, temps et quantité) et la surveillance périodique (Kaye, 2012).

I.6.2.1. Pharmacocinétique

D'un point de vue pharmacologique, les BZD sont généralement bien absorbées par le tractus gastro-intestinal après administration orale. Après une administration par voie intraveineuse, les BZD se distribuent rapidement au cerveau et au système nerveux central. L'activité des BZD est interrompue par une redistribution similaire à celle des barbituriques liposolubles. Après une injection intramusculaire, l'absorption du diazépam ou du chlordiazépoxyde est lente et irrégulière, tandis que l'absorption de l'administration intramusculaire de lorazépam ou de midazolam semble rapide et complète. Le lorazépam est bien absorbé après une administration sublinguale, atteignant son niveau maximal en 60 minutes (Fox et *al.*, 2011).

Certaines BZD exercent une action supplémentaire par la production de métabolites actifs, un élément important à prendre en compte lors de la prescription de ces agents. Le midazolam, l'un des BZD à courte durée d'action, ne produit aucun métabolite actif (Fox et *al.*, 2011).

Le métabolisme hépatique des médicaments peut être de phase I (oxydation) et de phase II pour former des glucuronides, des sulfates et composés acétylés. Les Benzodiazépines peuvent être soumises à la fois à la phase I et à la phase II du métabolisme comme le diazépam ou seulement à la phase II comme le lorazépam. Les médicaments métabolisés par les seuls processus de la phase II sont mieux tolérés que ceux de la phase I /phase II par certains patients, tels que les alcooliques souffrant d'une insuffisance hépatique. En outre, la phase I du métabolisme ralentit avec l'âge, de sorte que les personnes âgées sont

plus susceptibles de souffrir les effets indésirables lors de la prise des médicaments de phase I /phase II plutôt que la prise des médicaments de phase II uniquement (Lader, 1987).

Cependant, le diazépam, une BZD à longue durée d'action, produit les métabolites actifs, desméthyldiazépam, témazépam et oxazépam (**Figure 24**), ces métabolites augmentent encore la durée d'action du médicament et devraient être sérieusement pris en considération dans certains groupes de patients, en particulier les personnes âgées et celles souffrant d'une maladie hépatique étendue (Fox et *al.*, 2011).

Le lorazépam se condense avec l'acide glucuronique afin de donner une molécule inactive éliminée dans les urines (**Figure 25**) (Greenblatt, 1981).

La plupart des BZD sont excrétées presque entièrement dans les urines (Griffin et *al.*, 2013).

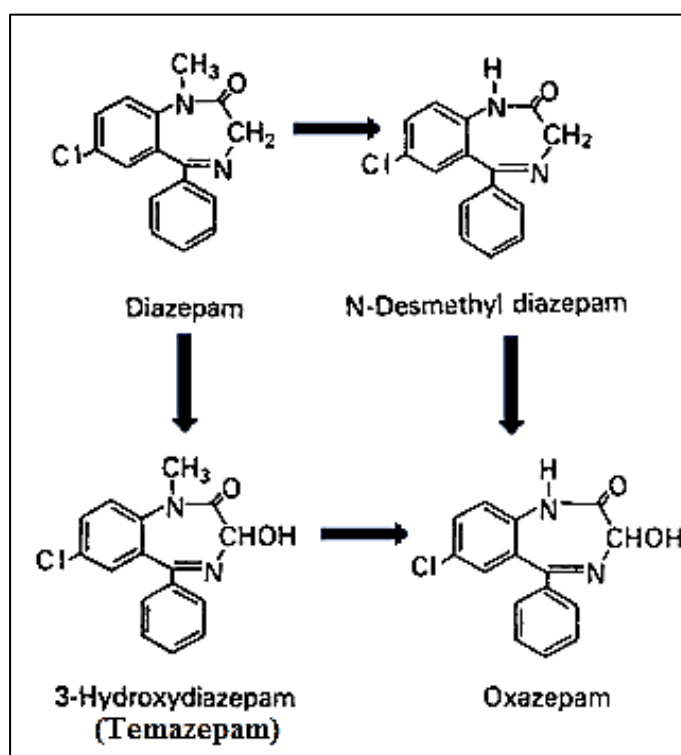


Figure 24: Schéma de la dégradation métabolique du diazépam en oxazépam (Ohnhaus et *al.*, 1987).

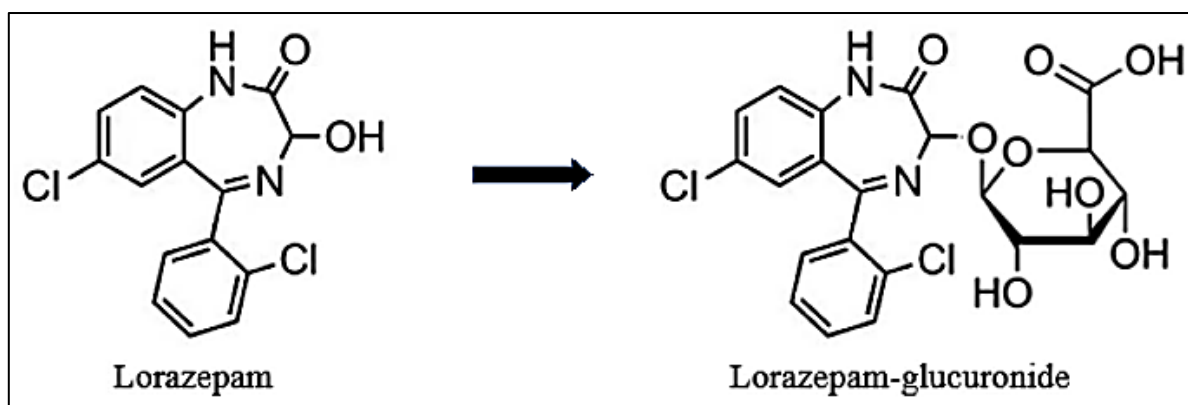


Figure 25: Schéma de la dégradation métabolique du lorazépame en lorazépame glucuronide (Van Hulst et *al.*, 2018).

I.6.2.2. Pharmacodynamique

Les BZD agissent comme des modulateurs allostériques positifs sur le récepteur de l'acide gamma-amino-butérique (GABA)-A. Le récepteur GABA-A est un canal ionique sélectif pour les chlorures, activé par un ligand.

Le GABA est le neurotransmetteur le plus courant dans le système nerveux central, que l'on trouve en forte concentration dans le cortex et le système limbique. Le GABA est de nature inhibitrice et réduit donc l'excitabilité des neurones. Le GABA produit un effet calmant sur le cerveau (Fox et *al.*, 2011).

Le complexe du récepteur GABA-A est composé de 5 sous-unités glycoprotéiques, chacune ayant de multiples isoformes. Les récepteurs GABA-A contiennent deux sous-unités α , deux sous-unités β et une sous-unité γ . Chaque complexe de récepteurs possède deux sites de liaison GABA mais seulement un site de liaison BZD. Le site de liaison des BZD se trouve dans une poche spécifique à l'appariement (intersection) des sous-unités α et γ . Dans la sous-unité α des isoformes 1, 2, 3 et 5 se trouve un résidu d'histidine (H101, H101, H126 et H105, respectivement) qui possède une forte affinité pour les BZD (Kelly et *al.*, 2002). Les isoformes 4 et 6 de la sous-unité α contiennent un résidu d'arginine et n'ont pas d'affinité pour les BZD (Kelly et *al.*, 2002). Les BZD se lient à la poche créée par les sous-unités α et γ et induisent un changement de conformation dans le récepteur GABA-A, permettant au GABA de se lier. Cette altération, à son tour, induit un changement conformationnel dans le canal chlorure du récepteur GABA-A qui hyperpolarise la cellule et explique l'effet inhibiteur du GABA dans tout le système nerveux central (Kelly et *al.*, 2002).

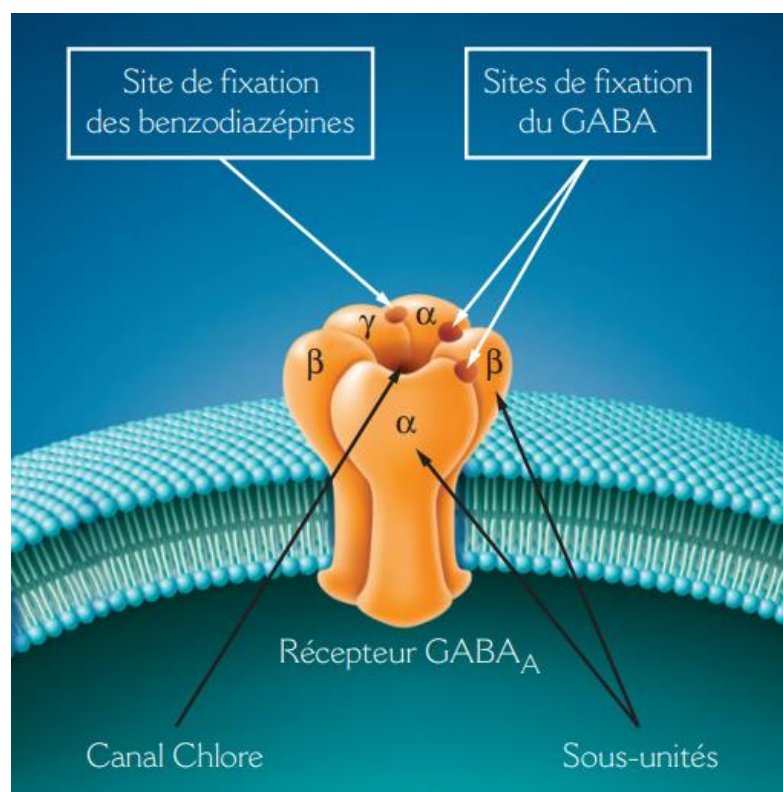


Figure 26: Sites de liaisons fonctionnelles sur le récepteur GABA (Spadone et Glikman, 2008).

Chapitre II :
Rappels théoriques sur les
applications testées

II.1. Activités antioxydantes

II.1.1. Radicaux libres

Un radical libre est un atome ou une molécule qui porte sur sa couche électronique périphérique un ou plusieurs électrons non appariés, c'est-à-dire non couplés à un électron de spin opposé. Cela entraîne une très haute réactivité chimique avec les éléments voisins (Rochette, 2008 ; Leverve, 2009).

Les espèces radicalaires sont électrophiles et vont chercher à arracher un électron à une molécule voisine afin d'apparier leur électron célibataire. Cet état est donc seulement transitoire, de l'ordre de la microseconde (Gambini et Granier, 2013) car le radical va soit accepter un autre électron, soit transférer le ou les électrons libres sur une autre molécule (lipide, protéine, acide nucléique) afin de rapparier son ou ses électrons célibataires et d'obtenir ainsi un état plus stable (Fontaine et *al.*, 2002).

Le tableau qui suit représente les différentes espèces réactives de l'oxygène produites par sa réduction :

Tableau 2: Origines des espèces réactives de l'oxygène (Migdal et Serres, 2011).

Espèces réactives de l'oxygène		Réactions
Réduction tétravalente de l'oxygène		$O_2 + 4 e^- + 4 H^+ \longrightarrow 2 H_2O$
$O_2^{\bullet-}$	Anion superoxyde	$O_2 + 1 e^- \longrightarrow O_2^{\bullet-}$
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène	$O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2 H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$
$\bullet OH$	Radical hydroxyle	$H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow \bullet OH + Fe^{3+} + OH^-$
		$H_2O_2 + H_2O_2 \longrightarrow 2 H_2O + O_2$
		$H_2O_2 + 2 GSH \longrightarrow 2 H_2O + GSSG$
RO_2^{\bullet}	Radical peroxyde	$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow RO_2^{\bullet}$
RO_2H	Hydroperoxyde	$RO_2^{\bullet} + RH \longrightarrow RO_2H + R^{\bullet}$
RO^{\bullet}	Radical alkoxyde	$RO_2H + Fe^{2+} \longrightarrow RO^{\bullet} + Fe^{3+} + OH^-$

II.1.2. Principales espèces réactives de l'oxygène

Il existe deux sortes d'espèces réactives de l'oxygène ERO : radicalaires et non radicalaires ; autrement dit, qui agissent selon un procédé direct ou indirect et qui sont aussi délétères les unes que les autres pour la santé humaine.

II.1.2.1. ERO radicalaires

Voici quelques exemples d'ERO radicalaires reportés selon Guillouty, 2016.

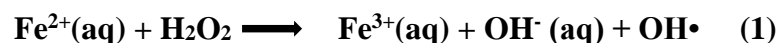
- Radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$.
- Radical perhydroxyle HO_2^{\bullet} .
- Radical hydroxyle OH^{\bullet} .
- Radical peroxyde RO_2^{\bullet} .

Parmi lesquels le piégeage du radical hydroxyle OH^{\bullet} a été étudié dans la présente étude.

a. Radical hydroxyle (OH^{\bullet})

C'est le radical le plus toxique, son rôle physiologique n'est pas connu. Dans la chaîne respiratoire mitochondriale, le peroxyde d'hydrogène peut réagir avec des ions métalliques (fer ou cuivre) par la réaction de Fenton. Il s'agit d'une réaction d'oxydation avancée qui permet la formation du radical hydroxyle OH^{\bullet} . Le radical hydroxyle est le deuxième oxydant le plus puissant présent dans la nature après le Fluor (Guillouty, 2016).

Au cours de la réaction de Fenton, le peroxyde d'hydrogène (ou eau oxygénée) oxyde le fer ferreux (ou ion fer II) selon la réaction d'oxydo-réduction (1) (Guillouty, 2016) :



II.1.2.2. ERO non radicalaires

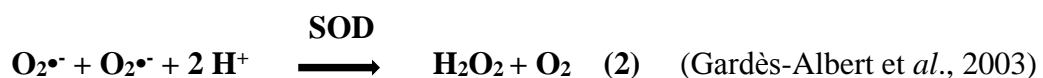
Voici quelques exemples d'ERO non radicalaires reportés par Belkheiri, 2010.

- Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 .
- L'acide hypochloreux $HOCl$.
- L'oxygène singulet 1O_2 .
- Le peroxyde nitrite $ONOO^-$.

Parmi lesquels la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) a été étudié dans la présente étude, ce qui est un très bon exemple, car il conduit à la génération de l'espèce radicalaire hydroxyle OH^\bullet via le processus indirect.

a. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le peroxyde d'hydrogène est obtenu à partir de l'anion superoxyde par dismutation spontanée ou par l'enzyme superoxyde dismutase selon la réaction (2) (Deby et Goutier, 1990).



H_2O_2 n'est pas un radical au sens propre mais permet la formation du radical hydroxyle en présence de métaux de transition (réaction de Fenton). Le radical hydroxyle est très toxique car très réactif et présente une grande probabilité de réagir à proximité immédiate de son lieu de production (Guillouty, 2016).

II.1.3. Stress oxydatif

Dans le système vivant, le stress oxydatif entraîne la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) comme le superoxyde radical ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle (OH^\bullet), Radical peroxy (RO_2^\bullet) et le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 .

Ces radicaux hydroxyles oxydent les protéines, les lipides et les acides nucléiques, ce qui entraîne des mutations au niveau cellulaire (Halliwell et Gutteridge, 2007).

Il est donc caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces radicalaires et les capacités de défense antioxydante de l'organisme (Bonfont-Rousselot, 2007).

II.1.3.1. Effets du stress oxydant sur l'organisme

Les ERO réagissent avec de nombreuses molécules, ce qui entraîne certaines modifications de ces dernières. Elles perdent alors leur activité au sein de la cellule et cela a un impact sur le fonctionnement cellulaire physiologique (Guillouty, 2016).

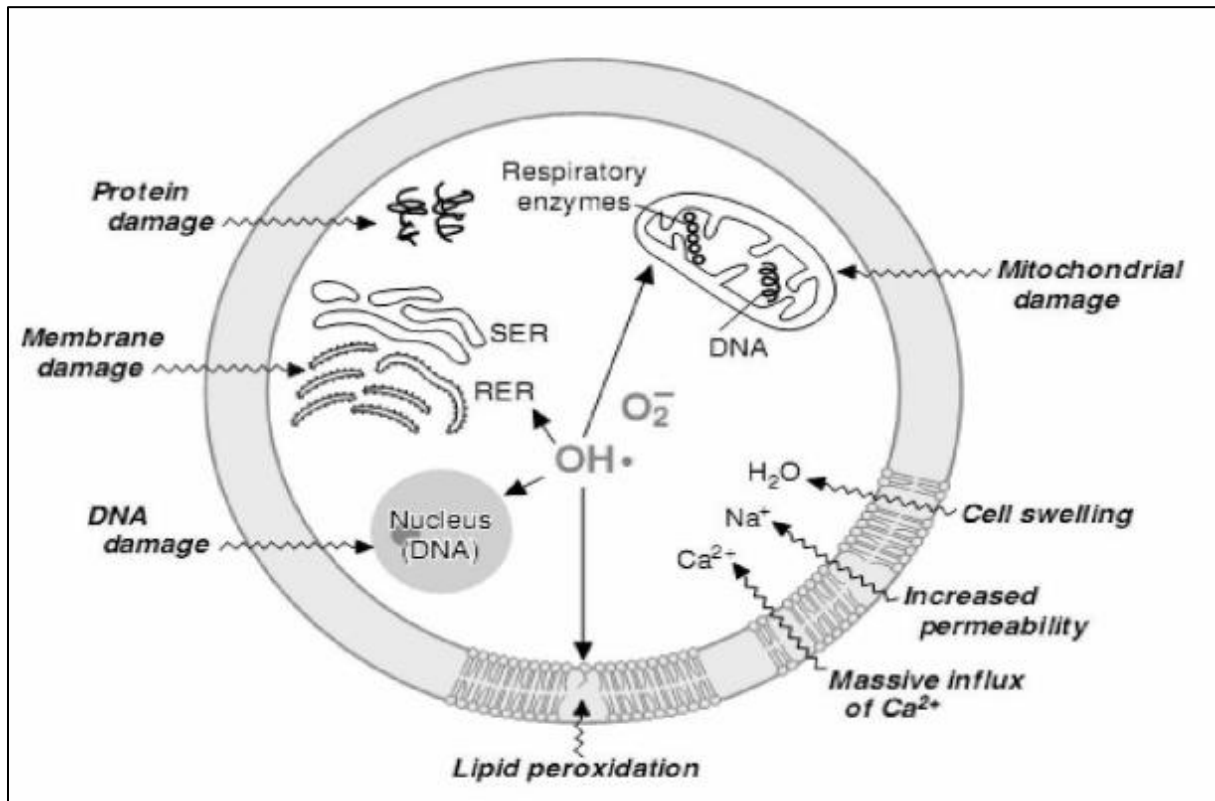


Figure 27: Altérations cellulaires induites par les radicaux libres (Zerargui, 2015).

a. Altération des membranes lipidiques

L'oxydation enzymatique ou non enzymatique des lipides polyinsaturés des membranes ou des lipoprotéines conduit à la formation de nombreux composés impliqués dans le développement des maladies cardiovasculaires comme l'athérosclérose et les accidents vasculaires cérébraux.

L'oxydation non enzymatique des lipides (via les ERO) ou dite « peroxydation lipidique » (PL), est un processus complexe qui débute de la formation des produits primaires (hydroperoxydes) jusqu'à celle des produits terminaux (aldéhydes, isoprostanes) (Michel et *al.*, 2008).

La PL provoquée principalement par les radicaux hydroxyles ($\bullet\text{OH}$) et hydroperoxydes ($\text{HOO}\bullet$) se déroule en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison (Cillard et Cillard, 2006).

- **Initiation** : La PL commence par l'abstraction d'un atome d'hydrogène (H^\bullet) de l'acide gras situé sur un carbone placé entre deux doubles liaisons, c'est-à-dire le groupe méthylène ($-\text{CH}_2-$) portant des hydrogènes hautement réactifs (Wagner et *al.*, 1994). La molécule résultante subit un réarrangement moléculaire pour former un diène plus stable (Young et McEneny, 2001).
- **Propagation** : Le diène conjugué formé dans l'étape d'initiation réagit facilement avec l'oxygène pour donner un radical peroxyde (Young et McEneny, 2001). Puisque ce dernier est extrêmement fragile, il affecte immédiatement une autre molécule d'acide gras libre afin de créer une molécule d'acide gras différente. Le radical existant poursuit ce cycle en créant un nouveau radical, c'est la propagation ou le phénomène dit réaction en chaîne (Black, 2002).
- **Terminaison** : Après un certain temps, l'oxydation diminue une fois les radicaux lipidiques interagissent entre eux pour donner des produits non radicalaires, plus ou moins stables (Cillard et Cillard, 2006) tels que des aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonéal) (Young et McEneny, 2001).

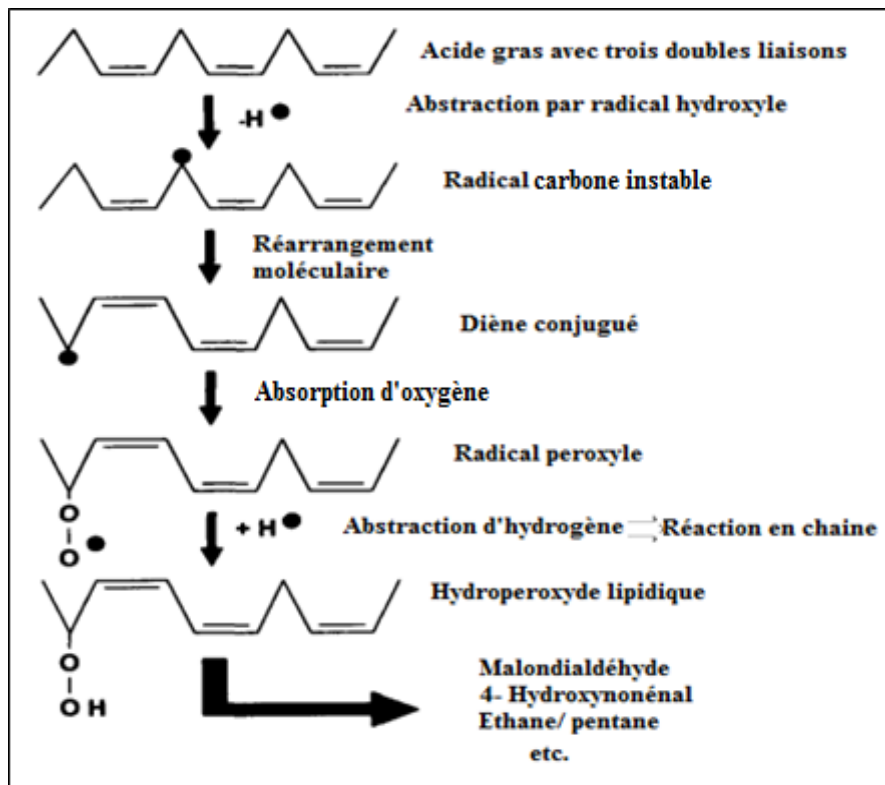


Figure 28: Schéma de la séquence réactionnelle basique de la peroxydation lipidique (Young et McEneny, 2001).

b. Altération de l'ADN

Le radical hydroxyle peut s'additionner sur les doubles liaisons des bases de l'ADN ou arracher un atome d'hydrogène des groupements méthyles ou des résidus désoxyribose (Chatgililoglu et O'Neill, 2001). Le radical hydroxyle réagit avec les purines en s'additionnant sur la double liaison en 7,8 et en formant le 8-oxo-7,8-dihydrodésoxyguanosine (8-oxo-dG) qui est plus abondant que 8-oxo-7,8-dihydrodésoxyadénosine (8-oxo-dA) (Cadet, 1999) ce qui implique des mutations qui conduisent à un développement du cancer (Pincemil et *al.*, 1999).

c. Altération des protéines

Les radicaux libres produits au cours du stress oxydant peuvent modifier la chaîne polypeptidique et générer des protéines carbonylées (Dean et *al.*, 1997). Ces dernières peuvent aussi être formées par oxydation de la chaîne latérale de plusieurs acides aminés comme la lysine, l'arginine et la proline. Bien que la plupart des acides aminés puissent être

modifiés, certains d'entre eux comme la cystéine, la tyrosine et la méthionine sont particulièrement sensibles à l'action des radicaux hydroxyles. Par exemple, l'oxydation réversible du groupement thiol de la cystéine conduit à la formation d'un acide sulfénique qui peut, dans un deuxième temps, réagir avec un autre thiol ou subir une oxydation irréversible en formant respectivement un disulfure ou un acide sulfonique (Claiborne, 1999).

Les acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine) sont également la cible des agents oxydants. La phénylalanine est sensible aux radicaux hydroxyles et aux métaux de transition qui provoquent sa conversion en ortho et méta-tyrosine (Podrez *et al.*, 2000).

Les modifications des protéines de structure, des enzymes ou des facteurs de transcription conduisent à les désactiver (Marnett *et al.*, 2003).

II.1.4. Antioxydants

Définis comme toute substance présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, et capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat (Halliwell, 1995).

Il existe des antioxydants naturels et synthétiques :

- Antioxydants naturels : α -tocophérol (Vitamine E), acide ascorbique (Vitamine C), palmitate ascorbyle (Hilton, 1989).

- Antioxydants synthétiques : hydroxyanizole butylé (BHA), 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol (BHT), butylhydroquinone (TBHQ) (Desmier, 2016).

Ces antioxydants naturels et/ou synthétiques interagissent différemment selon leurs structures et donc un effet antioxydant plus ou moins important est obtenu selon qu'on utilise l'une ou l'autre de ces substances.

L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif pour cette étude car il présente une certaine analogie structurale et fonctionnelle avec les composés synthétisés et une bonne activité antioxydante pour la plupart des essais.

II.1.4.1. Acide ascorbique

L'acide ascorbique ou la vitamine C, l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présent dans les fluides intracellulaires et extracellulaires. La vitamine C peut directement réagir avec des espèces réactives de l'oxygène comme HO• ou O₂•⁻ (Vertuani et *al.*, 2004).

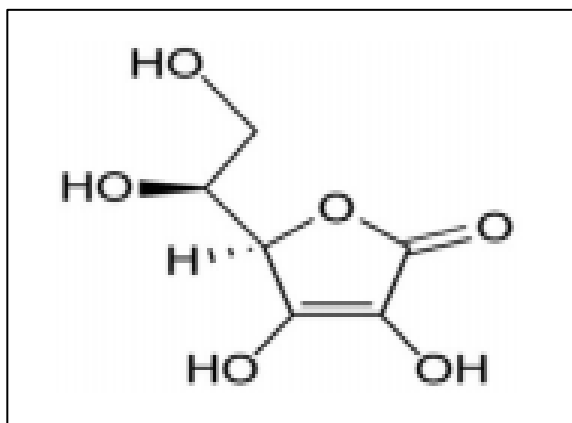


Figure 29: Structure chimique de l'acide ascorbique (Vertuani et *al.*, 2004).

II.1.5. Activités antioxydantes testées

II.1.5.1. Pouvoir réducteur de fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur est une méthode de criblage pratique et rapide pour mesurer le potentiel antioxydant (Oyaizu, 1986).

Ce test mesure la capacité des composés antioxydants à ramener le complexe ferrique de la tripyridyl-s-triazine 2.4.6 [Fe (III) - (TPTZ) 2] intensément au complexe ferreux coloré par le bleu [Fe (II) - (TPTZ) 2]²⁺ dans un milieu acide (Benzie et Strain, 1999).

Le Fe²⁺ résultant sera évalué en mesurant l'augmentation de la densité de la couleur bleue cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung et *al.*, 2002).

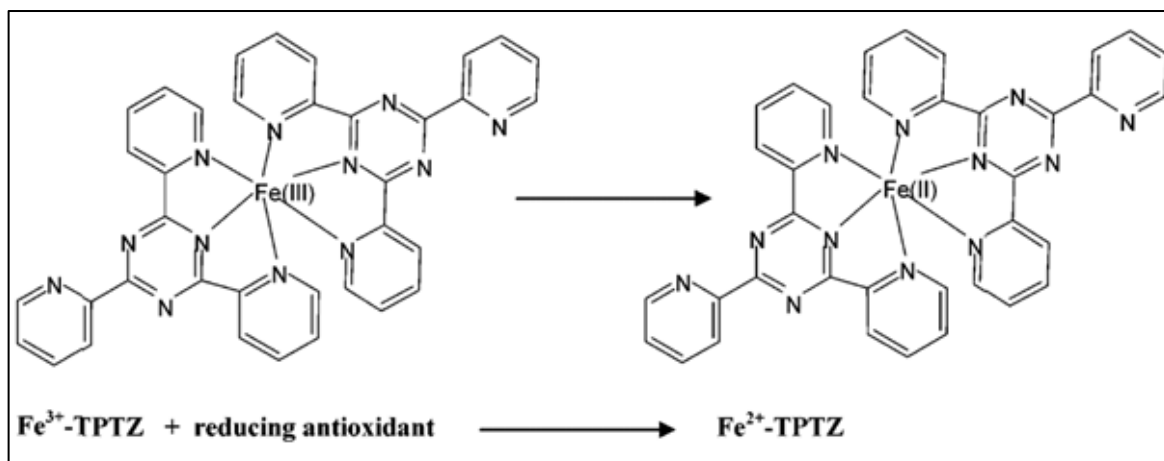
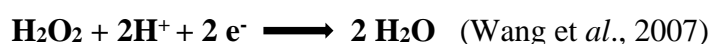


Figure 30: Schéma de réaction du test FRAP (Ferric reducing antioxidant power) (Prior *et al.*, 2005).

II.1.5.2. Activité de peroxyde d'hydrogène

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV. Comme la concentration du H_2O_2 diminue par les composés piègeurs, l'absorbance de ce dernier à 230 nm diminue également. Néanmoins il est tout à fait normal que les échantillons absorbent également à cette longueur d'onde, exigeant ainsi l'exécution d'une mesure blanche (Malgalhaes *et al.*, 2008).



II.1.5.3. Activité du piégeage du radical hydroxyle

Le radical hydroxyle ($\text{OH}\cdot$) est un radical libre extrêmement réactif formé dans les systèmes biologiques à partir d'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène en présence des ions métalliques comme le fer et le cuivre suivant la réaction de Haber Weiss (Burr *et al.*, 1976). Ce radical possède un électron libre avec un potentiel de réduction plus élevé lui permet de réagir avec les lipides, les protéines, les polypeptides et l'ADN particulièrement la thiamine et la guanine (Siddhuraj et Becker, 2007). Le système $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ a été utilisé pour générer des radicaux hydroxyles et mesurer les activités de piégeage des antioxydants. Les activités du piégeage du radical hydroxyle augmentent rapidement avec l'augmentation de concentration. L'absorbance a été mesurée à 510 nm (Zhou *et al.*, 2020).



II.2. Activité antibactérienne

II.2.1. Généralités sur les entérobactéries

Les entérobactéries appartiennent à la famille des enterobacteriaceae, elles sont ubiquitaires mais sont pour la plupart des hôtes du tube digestif de l'homme et de certains animaux d'où leur nom. Dans la famille des enterobacteriaceae sont groupés des bacilles à Gram négatif qui sont ; soit mobiles avec une ciliature péritriche, soit immobiles ; non sporulés ; aérobies et anaérobies facultatifs ; qui cultivent sur les milieux ordinaires à base d'extrait de viande ; qui fermentent le glucose avec ou sans production de gaz ; qui possèdent une nitrate réductase à l'exception de certaines souches ; leurs cultures donnent toujours une réaction négative des oxydases et une réaction positive des catalases (Le Minor et Véron, 1989).

Selon leur pouvoir pathogène, les entérobactéries peuvent être opportunistes (ne disposent pas d'un pouvoir pathogène suffisant pour déclencher une pathologie chez un hôte sain, mais sont susceptibles de déclencher une infection chez un sujet immunodéprimé comme des septicémies surtout en milieu hospitalier) comme *Klebsiella pneumoniae* ou spécifiques (leur présence dans l'organisme est anormale quel que soit leur nombre et entraînent souvent une infection dont la gravité dépend de leur point d'entrée) comme salmonella et shigella. Les entérobactéries sont à l'origine d'infections diverses :

- Infections urinaires (à l'origine de plus de 70 % de ces infections).
- Méningites.
- Infections abdominales.
- Suppurations péritonéales.
- Suppurations biliaires.
- Suppurations appendiculaires ou génitales.
- Syndromes diarrhéiques.
- Bactériémies (Nauciel et Vildé, 2005).

II.2.1.1. *Escherichia coli*

a. Définition

Escherichia coli appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles à coloration de Gram négatif, non sporulés, anaérobies facultatifs et qui ne possèdent pas d'oxydase (Freter et *al.*, 1983).

b. Habitat

E. coli appartient à la microflore commensale de l'homme et de nombreux animaux. C'est une bactérie colonisatrice du tube digestif des animaux à sang chaud (carnivores, omnivores, herbivores et oiseaux) mais également des reptiles. Le tractus digestif constitue son habitat primaire (Gordon et Cowling, 2003).

L'environnement constitue l'habitat secondaire des *E. coli*. Il est contrairement à l'habitat primaire plutôt défavorable à leur survie (Smati et *al.*, 2013).

c. Physiopathologie

E. coli est la bactérie la plus souvent isolée dans les laboratoires de microbiologie clinique, elle est très complexe et représente une cause majeure des contaminations de l'appareil urinaire. Elle est aussi capable d'infecter l'ensemble du système extra-intestinal provoquant des méningites, des infections de la peau, des myosites, des ostéomyélites, des épидидymo-orchites et peut même entraîner le syndrome de réponse inflammatoire systémique lors des infections graves par cette bactérie (Vila et *al.*, 2016).

II.2.1.2. *Klebsiella pneumoniae*

a. Définition

Les bactéries appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae* sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, non flagellés, anaérobies facultatifs et appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae (El Fertas-Aissani et *al.*, 2013).

b. Habitat

Klebsiella pneumoniae est une espèce pathogène opportuniste (Brisse et Duijkeren, 2005). Elle est fréquemment rencontrée dans la nature : eaux de surface, du sol, du bois et des végétaux, présente dans le tube digestif de l'homme et des animaux, et elle est commensale des voies respiratoires (El Fertas-Aissani et *al.*, 2013).

c. Physiopathologie

Klebsiella pneumoniae est un agent classique et majeur d'infections nosocomiales en général et néonatales particulièrement (Boukadida et *al.*, 2002). Elle est l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans les infections urinaires (Ben Haj Khalifa et Khedher, 2012 ; Stahlhut et *al.*, 2012). Elle fait partie du groupe KES (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) qui est d'une grande importance en clinique hospitalière (Nedjai et *al.*, 2012).

II.2.2. Généralités sur le genre *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* se distinguent des entérobactéries principalement par leur ciliature polaire, l'absence de métabolisme fermentatif des sucres et un habitat habituellement extra-intestinal. Les *Pseudomonas* sont des bactéries ubiquitaires que l'on rencontre dans les sols, sur les végétaux et surtout dans les eaux douces et marines. Les *Pseudomonas* ubiquistes ont souvent une versatilité nutritionnelle très large, ce qui leur permet de vivre dans des niches écologiques naturelles très diverses. À cause de la richesse de leurs voies métaboliques, elles sont souvent capables de résister à de nombreux antiseptiques ou antibiotiques, ce qui explique leur présence de plus en plus fréquente en milieu hospitalier. Ils peuvent aussi, grâce au caractère psychotrope de nombreuses souches, détériorer des denrées alimentaires, des médicaments ou des réactifs biologiques conservés au froid (Le Minor et Véron, 1989).

II.2.2.1. *Pseudomonas aeruginosa***a. Définition**

Pseudomonas aeruginosa, autrement connue sous le nom de bacille pyocyanique, est un bacille à Gram négatif du genre *Pseudomonas*. Les bacilles sont fins, droits et très mobiles

grâce à un flagelle polaire : ciliature monotriche, dépourvus de spores et de capsules. Ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles (Le Minor et Véron, 1989).

b. Habitat

Pseudomonas aeruginosa est très répandu dans l'eau et les milieux humides, il peut aussi coloniser l'homme (Nauciel et Vildé, 2005).

c. Physiopathologie

P. aeruginosa est l'espèce du genre *Pseudomonas* la plus fréquemment isolée en pathologie infectieuse. Elle peut être rencontrée au niveau du tube digestif, de la gorge, du nez ou de la peau. L'infection par *P. aeruginosa* augmente de façon significative avec le temps d'hospitalisation. L'origine de l'infection peut être endogène : le malade est colonisé par le germe et devient porteur chronique. La colonisation peut être antérieure à l'hospitalisation du malade en raison du caractère ubiquiste de *P. aeruginosa*. Mais le plus souvent il s'agit d'une infection nosocomiale acquise lors de l'hospitalisation. L'infection est manuportée par le personnel ou transmise à partir de matériels ou de fluides contaminés (Freney et al., 2007).

II.2.3. Groupe des cocci Gram+

II.2.3.1. *Staphylococcus aureus*

a. Définition

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques (coques) aérobies-anaérobies facultatives à Gram positif, très résistantes dans le milieu extérieur et peu exigeantes en culture. *S. aureus*, communément appelé staphylocoque doré, En 1880, il a été décrit par Sir Alexander Ogston comme grappes de raisin, puis nommé ainsi par un physicien allemand Rosenbach en 1884 en raison de la production des molécules ubiquitaires donnant à la bactérie sa pigmentation de surface caractéristique (Licitra, 2013).

b. Habitat

Staphylococcus aureus est une des bactéries les plus fréquemment retrouvée en pathologie humaine. C'est un germe commensal des flores cutanées et digestives, il est retrouvé au niveau des fosses nasales de manière persistante chez environ 20% des individus et de manière transitoire chez 30% de la population générale (Wertheim et *al.*, 2005).

c. Physiopathologie

S. aureus est typiquement porté de façon asymptomatique par l'homme et les animaux. Cependant, il est responsable d'une large gamme d'états pathologiques nécessitant un traitement. La nature et l'étendue de la maladie dépendent des caractéristiques de la souche infectante, la susceptibilité de l'hôte et la voie d'entrée. Les infections les plus courantes sont les infections de la peau et des tissus mous « Skin and soft tissue Infections » incluant : la folliculite, le furoncle, l'anthrax, l'abcès, la cellulite, l'impétigo, les plaies chirurgicales postopératoires (Cohen, 2007), et les ostéomyélites (Cunningham et *al.*, 1996). Les souches portant des toxines particulières peuvent être associées à des états pathologiques spécifiques, y compris le syndrome staphylococcique de la peau ébouillantée « Staphylococcal scalded skin syndrome » (Ladhani et *al.*, 1999), le syndrome du choc toxique « Toxic shock syndrome » (Novick et Subedi, 2007), la toxi-infection alimentaire (Le Loir et *al.*, 2003) et la pneumonie nécrosante (Labandeira-Rey et *al.*, 2007).

II.2.4. Généralités sur les antibiotiques**II.2.4.1. Mode d'action des antibiotiques**

Les antibiotiques agissent habituellement soit comme bactéricides (ils tuent les bactéries) soit comme bactériostatiques (ils inhibent la croissance bactérienne et détruisent les bactéries). Par exemple, une bêta-lactamine est bactéricide parce qu'elle inhibe la synthèse de la paroi bactérienne. Sans cette paroi, la bactérie meurt. D'autres antibiotiques interfèrent avec les processus chimiques internes de la cellule, ce qui entraîne la mort de la bactérie. Les nouveaux types d'antibiotiques, comme les quinolones, provoquent le déroulement de l'ADN de la bactérie en interférant avec une enzyme bactérienne qui permet à la molécule d'ADN de

se loger dans une petite cellule. En conséquence, la bactérie ne pouvant pas se diviser ou produire les enzymes nécessaires à son activité normale, meurt (Chetley, 2000).

II.2.4.2. Mécanisme de résistance aux antibiotiques

Quelques bactéries sont naturellement résistantes à certains antibiotiques. Mais la résistance est souvent acquise. Les bactéries deviennent résistantes par l'incorporation dans leurs gènes d'un "facteur résistant" qui rend les antibiotiques inefficaces. Cette résistance peut être transmise rapidement à d'autres bactéries par l'intermédiaire de petits fragments de matériel génétique, appelés plasmides. Les gènes résistants peuvent parfois être englobés dans les unités d'ADN appelées transposons qui leur permettent de sauter d'un site d'ADN à un autre (Jacoby et Archer, 1991).

II.2.4.3. Gentamicine

La gentamicine est un antibiotique de la classe des aminoglycosides, réservée surtout au traitement des infections à bacille Gram négatif, néphrotoxique et ototoxique (Boudia et *al.*, 2017). Elle est produite naturellement par *Micromonospora purpurea* (Cleophax et *al.*, 1977) et capable d'inhiber la synthèse des protéines par liaison rapide aux ribosomes bactériens (Meenavilli et *al.*, 2008).

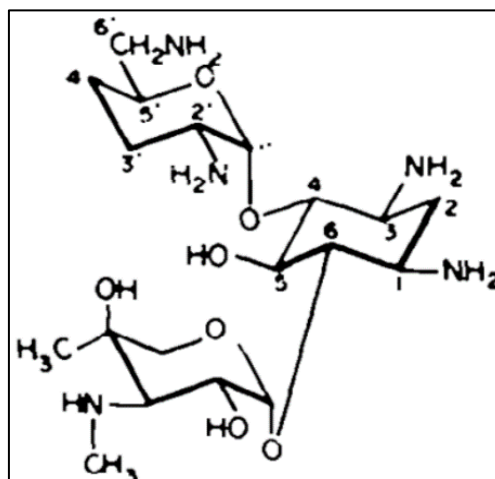


Figure 31: Gentamicine C1 (Cleophax et *al.*, 1977).

II.2.4.4. Acide nalidixique

L'acide nalidixique (NA) est crucial chez les agents antibactériens qui ont une utilisation clinique. Il s'agit d'un inhibiteur d'ADN des bactéries (Crumplin et Smith, 1975).

Goss et *al.*, 1964 ont démontré que le NA a un effet mortel sur la prolifération des cultures d'*E. coli* associé à la formation de formes allongées et serpentine.

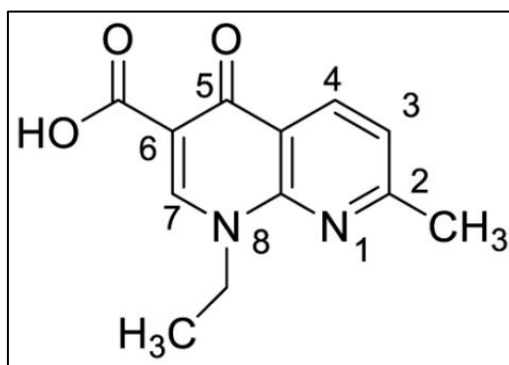


Figure 32: Acide nalidixique (Sharma et *al.*, 2017).

II.3. Activité antifongique

II.3.1. Généralités sur *Trichoderma*

Le terme « *Trichoderma* » a été utilisé pour la première fois par le mycologue sud-africain Christiaan Hendrik Persoon en 1794. C'est le premier qui a décrit le genre *Trichoderma* à partir des échantillons collectés en Allemagne.

En milieu terrestre, leur production de substances bioactives et leur développement rapide font des *Trichoderma* des agents potentiels en agroalimentaire et une matière de choix pour l'exploitation industrielle (Prieto et *al.*, 1997) ; utilisés comme agents de lutte biologique en raison de leur antagonisme vis-à-vis d'autres espèces fongiques (Roquebert, 1996).

II.3.2. Morphologie

Depuis la révision du genre *Trichoderma* par Rifai en 1969 (Rifai, 1969), les caractéristiques morphologiques sont utilisées pour caractériser et distinguer les espèces de *Trichoderma* (Gams et Bissett, 2002).

L'aspect macroscopique des *Trichoderma sp* est apprécié à partir de cultures sur géloses nutritives appropriées, réparties en boîtes de Pétri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Entre ces deux extrêmes, existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogenèse. D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16^{ème} et le 20^{ème} jour un feutrage épais se superpose à la culture (phialospores ou bien conidies) (Cournut, 1984 ; Landreau, 2001 ; Kubicek et *al.*, 2003).

II.3.3. Mode d'action

Le *Trichoderma harzianum* a fait l'objet de nombreuses études dans le cadre de la protection des plantes vis-à-vis des maladies parasitaires. Il est capable d'attaquer différents agents pathogènes par des mécanismes variés dont les principaux sont le parasitisme, l'antibiose et la compétition (Howell, 2003 ; Vinale et *al.*, 2006).

II.3.4. Métabolites de *Trichoderma harzianum*

Les espèces de *Trichoderma* sont capables de produire plus de 180 métabolites secondaires différents, selon les conditions environnementales, le sol, la plante et l'agent pathogène auquel elles sont confrontées. Ces métabolites appartenant à différentes classes de composés chimiques (Reino et *al.*, 2008), volatiles, diffusibles et des peptaïboles (Ghisalberti et Sivasithamparam, 1991).

II.3.5. Généralités sur les antifongiques

Actuellement, il est reporté dans la littérature que quatre classes d'antifongiques :

- Les polyènes (Amphotéricine B) : L'amphotéricine B interagit directement avec l'ergostérol qui est un constituant essentiel de la membrane plasmique des champignons nécessaire au maintien de la structure. Cette interaction forme des pores

perméables provoquant la fuite du matériel cytoplasmique à travers la membrane de la levure. L'amphotéricine est donc fongicide.

- Les azolés (Miconazole, Fluconazole) : L'activité antifongique des dérivés azolés repose sur l'inhibition de la synthèse de l'ergostérol par inhibition de la stérol 14-déméthylase nécessaire à la synthèse de l'ergostérol membranaire par interactions avec le cytochrome P-450. Il en résulte dans la membrane, une déplétion en ergostérol et une accumulation de stérols aberrants. Ils sont essentiellement fongistatiques.
- Les dérivés pyrimidiques (5-fluorocytosine) : Certains antifongiques tels que les dérivés pyrimidiques peuvent inhiber la biosynthèse d'ADN une fois transformée en 5-FU (5-fluorouracile), l'origine d'erreurs de codage lors de la synthèse protéique.
- Les échinocandines (Caspofungine, Micafungine) : La paroi fongique est la cible des échinocandines. Elles inhibent la biosynthèse des glucanes de la paroi par inhibition de la (1,3) - β -D-glucane synthase. Cela entraîne l'arrêt de la synthèse de la paroi cellulaire, ce qui constitue un effet fongistatique, suivi de sa destruction, elles deviennent alors fongicides (Lacroix et *al.*, 2003 ; Gales, 2009 ; Mesbah, 2018).

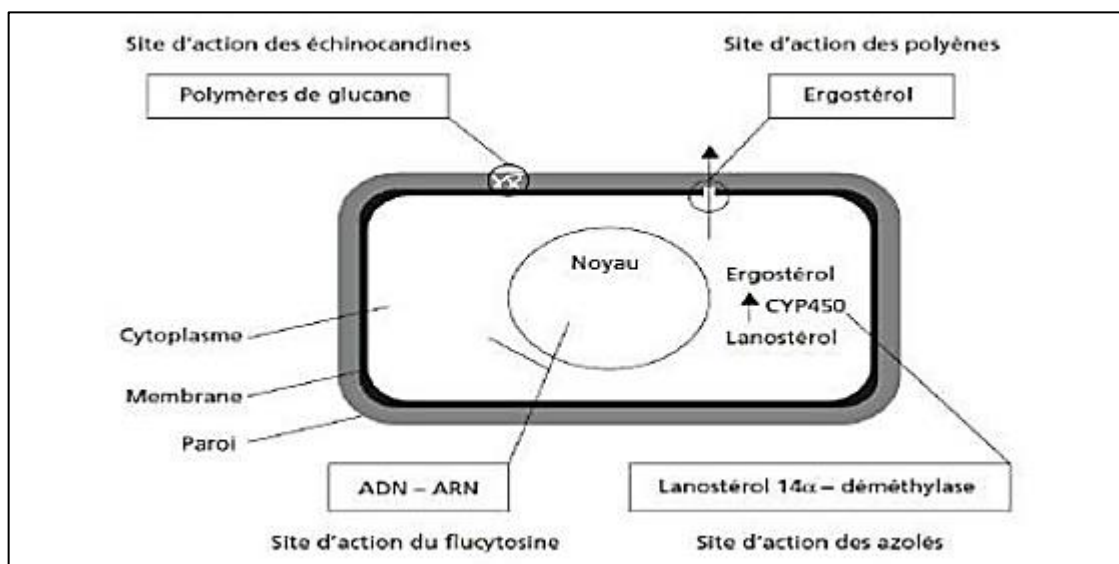


Figure 33: Sites d'action des antifongiques (Mesbah, 2018).

II.3.6. Mécanisme de la résistance aux antifongiques

Chez les champignons, la résistance aux antifongiques est naturelle. Elle peut être due à une absence de concentration de l'antifongique dans la cellule ou à une faible affinité de l'antifongique pour sa cible. Mais, elle peut être aussi acquise et induite par un processus de sélection génétique sous l'effet de l'application répétée d'un antifongique.

Les mécanismes moléculaires qui rendent compte de ce mode de résistance incluent :

- La modification de la cible de l'antifongique (liée à une ou plusieurs mutations du gène codant pour la cible).
- La surexpression de la cible de l'antifongique (par exemple liée à une modification du promoteur du gène).
- La surexpression de pompes membranaires d'efflux (qui réduisent rapidement la concentration d'antifongiques dans la cellule fongique) (Cuenca-Estrella, 2014 ; Mesbah, 2018).

PARTIE PRATIQUE

Chapitre I :

Matériel et méthodes

La partie expérimentale du présent travail s'est déroulée au niveau du :

- Laboratoire de Physicochimie Analytique et Cristallographie des Matériaux Organométalliques et Biomoléculaires, Université des Frères Mentouri Constantine 1, pour la synthèse organique des Benzodiazépines.
- Laboratoire de Biochimie RDC, Université des Frères Mentouri Constantine 1, pour les applications antioxydantes.

I.1. Matériel et consommable utilisés

I.1.1. Matériel

Le matériel consommé pour réaliser la synthèse ainsi que les activités biologiques des différents composés synthétisés est reporté dans la liste suivante :

- Bécher.
- Papier filtre.
- Spatule.
- Balance analytique.
- Ballon.
- Pipettes de 1 et 2 mL.
- Tubes à essai.
- Chauffe-Ballon de laboratoire avec agitateur magnétique.
- Système de refroidissement.
- Spectrophotomètre infrarouge.
- Spectrophotomètre UV.
- Bain Marie.
- Appareil de mesure de point de fusion.
- Boîtes de Petri.
- Râteau.
- Bec bunsen.
- Disques de papier whatman.
- Une pince.
- Anse de platine.

I.1.2. Réactifs

Les réactifs chimiques utilisés pour la synthèse des différents composés de Benzodiazépines et les activités biologiques sont de qualité analytique et sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 3: Réactifs utilisés pour la synthèse organique et les activités biologiques.

Réactifs	Solvants et milieux de culture	Souches microbiennes
- Acide déhydroacétique (C ₈ H ₈ O ₄)	-Ethanol (C ₂ H ₅ OH)	- <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)
-Orthophénylènediamine (C ₆ H ₈ N ₂)	-Dichlorométhane (CH ₂ Cl ₂)	- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)
-4R-Benzaldéhyde (C ₇ H ₅ OR)	-Eau distillée (H ₂ O)	- <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 700603)
-Acide trifluoroacétique (CF ₃ COOH)	-DMSO ((CH ₃) ₂ OH)	- <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)
	- Gélose Mueller Hinton	- <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai
	-Gélose Sabouraud	

I.2. Synthèse chimique des composés

Le présent travail reporte l'accès facile et efficace à une famille de 1,5-Benzodiazépines en deux étapes : la première consiste à la formation de la base de Schiff par la condensation de l'acide déhydroacétique (DHA) et l'OPDA, la deuxième étape, c'est la synthèse de la famille de 1,5 Benzodiazépines à partir de la base de Schiff obtenue et un 4R-benzaldéhyde (R= OCH₃, OH, H, Cl), qui est une réaction de formation de cycle substitué en position 1 et 5 et ce afin de voir l'effet de la substitution sur l'activité biologique.

I.2.1. Procédure générale de la synthèse des 1,5 Benzodiazépines

Etape1 : Dans un ballon 1,68 g de DHA (**1**) sont dissouts dans 20 mL d'éthanol puis 1,08 g de l'OPDA sont ajoutés, le tout est porté au reflux pendant 1h30mn sous agitation, pour aboutir à la base de Schiff (**2**) sous forme d'une poudre blanchâtre, cette dernière a été recristallisée dans l'éthanol.

Etape 2 : À un mélange équimolaire, de la base de Schiff (**2**) (10mmol), et de benzaldéhyde substitué en position 4 (10mmol), (4-méthoxy=BZ1, 4-hydroxy=BZ2, 4-H=BZ3 et 4-chloro=BZ4), dissout dans 20 mL d'éthanol, on ajoute quelques gouttes d'acide trifluoroacétique (CF₃COOH). Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant un temps de réaction qui varie de 6h à 8h, pour accéder à une famille de 1,5 Benzodiazépines (**3a-3d**) sous forme d'une poudre, ces dernières ont été recristallisées dans l'éthanol.

3a : 1,37 g (0,01 mol) de 4-OCH₃-benzaldéhyde et 2,58 g (0,01 mol) de base de Schiff (**2**) sont dissous dans 15 mL d'éthanol en rajoutant quelques gouttes d'acide trifluoroacétique, le tout est laissé sous agitation et au reflux pendant 6h à 8h.

3b : Une masse de 1,23 g (0,01 mol) de 4-OH-benzaldéhyde et 2,58 g (0,01 mol) de base de Schiff (**2**) ont été mélangées dans 15 mL d'éthanol en présence de quelques gouttes d'acide trifluoroacétique. La solution est portée au reflux sous agitation magnétique de 6h à 8h.

3c : Une pesée de 1,07 g (0,01 mol) de 4-H-benzaldéhyde est rajoutée à 2,58 g (0,01 mol) de base de Schiff (**2**), le tout est dissous dans 15 mL d'éthanol en présence d'acide trifluoroacétique et agité au reflux pendant 6h.

3d : 1,41 g (0,01 mol) de 4-Cl-benzaldéhyde a été dissous dans 15 mL d'éthanol avec 2,58g de base de Schiff (**2**) en présence d'acide trifluoroacétique, le tout est laissé sous agitation au reflux durant 6h.

I.3. Analyse structurale des composés synthétisés

I.3.1. Calcul du rendement

Le rendement de la synthèse des composés est calculé comme suit : le rapport exprimé en pourcentage entre le nombre de mol du composé effectivement obtenu et le nombre de mol théorique.

$$\text{Rdt (\%)} = 100 \times \frac{\text{Nombre de mol obtenu}}{\text{Nombre de mol théorique}}$$

I.3.2. Point de fusion

Le point de fusion représente la température nécessaire à la transformation de l'état d'un corps solide à un état liquide sans aucun changement chimique (Franchimont, 2010).

Les points de fusion ont été déterminés à l'aide d'un appareil numérique banc chauffant de Banc Kofler. Ce dernier est une plaque chauffante présentant un gradient de température, sur laquelle on déplace un échantillon.

I.3.3. Spectroscopie Infrarouge

La spectroscopie infrarouge (IR) est une technique basée sur les vibrations des atomes d'une molécule. Un spectre IR est généralement obtenu en faisant passer un rayonnement IR à travers un échantillon et en déterminant quelle fraction du rayonnement incident est absorbée à une énergie particulière. L'énergie à laquelle tout pic dans un spectre d'absorption apparaît correspond à la fréquence d'une vibration d'une partie de la molécule de l'échantillon (Stuart, 2005).

Les analyses en IR ont été réalisées sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer 1000 FT-IR à double faisceau, équipé d'un système d'acquisition à transformée de Fourier. Le bromure de potassium est utilisé comme support pour la préparation des pastilles. Les spectres sont tracés entre 450 cm^{-1} et 4000 cm^{-1} .

I.4. Evaluation des activités Biologiques

I.4.1. Activités antioxydantes

L'activité antioxydante de chaque composé synthétisé a été évaluée par trois méthodes : piégeage du radical hydroxyle OH^\bullet , réduction du fer (FRAP) et réduction du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 .

Les BZD synthétisées ont été testées *in vitro*, une gamme de concentration de 7,8125 à 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a été suivie durant ces tests.

Quant au témoin positif, l'acide ascorbique, une gamme de concentration de 1,953 à 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a été mise au point.

I.4.1.1. Protocole de l'activité du piégeage du radical hydroxyle

Ce test qui permet d'évaluer la capacité des composés synthétisés à piéger les radicaux hydroxyles a été conduit selon un protocole décrit par Smirnoff et Cumbes, 1989.

Un volume de 0,24 mL de sulfate de fer FeSO_4 [8 mM Sulfate de fer ($\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$) : 111,2 mg de ($\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$) dans 10 mL H_2O], 0,2 mL de peroxyde d'hydrogène [20 mM H_2O_2 : (30 μL H_2O_2 + 99,7 mL H_2O)] et 0,80 mL d'acide salicylique (3mM acide salicylique : 4 mg d'acide salicylique dans 10 mL H_2O) ont été ajoutés aux composés à tester. Après incubation à 37°C pendant 30 min, 36 mL H_2O est ajouté aux mélanges. L'absorbance est mesurée à 510 nm.

I.4.1.2. Protocole de l'activité du pouvoir réducteur de Fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur (PR) des différents composés synthétisés a été évalué en appliquant le protocole décrit par Oyaizu, 1986.

Un volume de 0,4 mL de tampon phosphate (pH 6,6) et 0,5 mL de potassium ferricyanide (1%) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ dans 100 mL H_2O) ont été mélangés à 0,1 mL de composés à tester à différentes concentrations. Après incubation de 20 min dans le bain marie à 50°C, 0,5 mL d'acide trichloroacétique (TCA) (10%) (1 g de TCA dans 10 mL H_2O) et 0,4 mL H_2O ainsi que 0,1 mL de ferric chloride FeCl_3 (0.1%) (0,1 g de FeCl_3 dans 100 mL H_2O) ont été rajoutés aux différentes concentrations. La lecture de l'absorbance du

milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc, le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des composés testés (Singleton et Rossi, 1965).

I.4.1.3. Protocole de l'activité peroxyde d'hydrogène

Cette activité a été estimée par la méthode de Ruch *et al.*, 1989.

Un volume de 0,1 mL H₂O₂ solution [40mM dans phosphate buffer Ph 7,4 (63 µL H₂O₂ + 19,94 mL phosphate buffer, Ph 7,4)] est ajouté à 0,1 mL de composé à tester à différentes concentrations. Le mélange obtenu est incubé pendant 10 min. L'absorbance du mélange est mesurée à 230 nm. Les résultats obtenus ont été comparés à celui de l'antioxydant standard (acide ascorbique).

I.4.2. Activité antimicrobienne

D'après une recherche bibliographique effectuée sur les bases de Schiff ainsi que les dérivés du DHA et après un rappel à propos des souches bactériennes et la souche fongique testées, l'activité antimicrobienne *in vitro* des benzodiazépines synthétisées vis-à-vis d'un type fongique (*Trichoderma harzianum* Rifai) et quatre types de bactérie : trois bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603) et une bactérie à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923).

À cet effet, Les composés synthétisés (3a-3d) ont été soumis à des tests de sensibilité antimicrobienne en suivant la méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Parekh et Chanda, 2007 ; Dulger et Gonuz, 2004), ces derniers mesurent 6 mm de diamètre, de papier Whatman stérilisé, imbibés de volumes de solutions des composés testés puis déposés dans des milieux gélosés préalablement préparés (la gélose de Mueller Hinton pour les bactéries et la gélose Sabouraud qui est un milieu d'isolement des Fungi (levures et moisissures)) ensemencés par les suspensions bactériennes et fongiques. L'incubation des milieux de cultures dure 24h à 37°C, si les composés testés possèdent un pouvoir antimicrobien, des zones d'inhibition autour des disques seront observées.

I.4.2.1. Protocole de l'activité antimicrobienne

a. Préparation des solutions

1 mg de chaque composé synthétisé ont été pesés et solubilisés dans 1 mL de DMSO afin d'obtenir les solutions mères de 1000 µg/mL.

b. Préparation de la suspension microbienne

En utilisant une culture pure des bactéries à tester sur un milieu d'isolement (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) et *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603)) et une culture fongique (*Trichoderma harzianum* Rifai) et en suivant la méthode des stries, quelques colonies bien séparées ont été repiquées par une anse de platine stérile.

Décharger l'anse dans 10 mL de bouillon nutritif et porter la suspension à l'incubation pendant (18-24) heures à 37°C.

c. Préparation des milieux de cultures

Afin de tester l'activité antibactérienne des composés synthétisés, nous avons préparé des milieux de cultures en coulant la gélose (Mueller Hinton) dans des boîtes de Pétri stériles. La gélose spécifique aux champignons dite Sabouraud, a été coulée dans des boîtes de Pétri stériles afin de tester le pouvoir antifongique des composés synthétisés.

Avant d'entamer le travail, il faut attendre qu'elles se solidifient.

d. Ensemencement

Près du bec bunsen, les milieux de cultures préalablement préparés sont ensemencés par étalement à l'aide d'un râteau stérile. L'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries et des champignons.

e. Préparation des disques

Cette étape consiste à imprégner des disques en papier Whatman stérilisé de 6 mm de diamètre dans 10 μ L de solutions mères contenant les composés synthétisés, puis les poser délicatement sur la surface de la gélose de Mueller Hinton pour les bactéries, et sur la gélose de Sabouraud pour les champignons.

L'activité antimicrobienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37°C et est mesurée à l'aide d'une règle.

Chapitre II :

Résultats et discussion

II.1. Résultat de la procédure de synthèse des 1,5 Benzodiazépines

II.1.1. Première étape de la synthèse des 1,5 Benzodiazépines

La base de Schiff (2) a bien été obtenue comme produit intermédiaire (**Figure 34**).

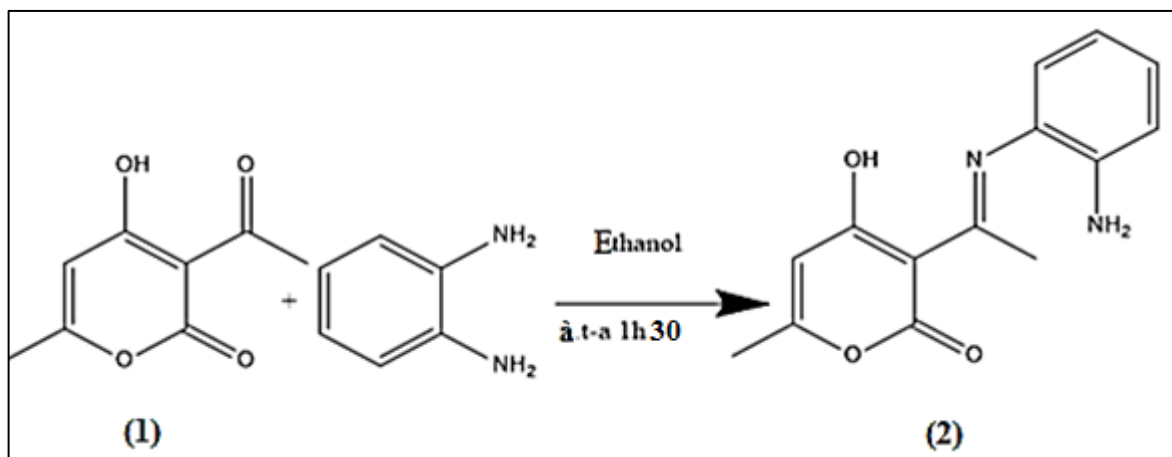


Figure 34: Schéma de la première étape de la Synthèse des 1,5 Benzodiazépines à partir du DHA.

II.1.2. Deuxième étape de la synthèse des 1,5 Benzodiazépines

La famille de Benzodiazépines (**3a-3d**) a été obtenue avec de bons rendements 80%, 85%, 76%, 82% respectivement (**Figure 35**).

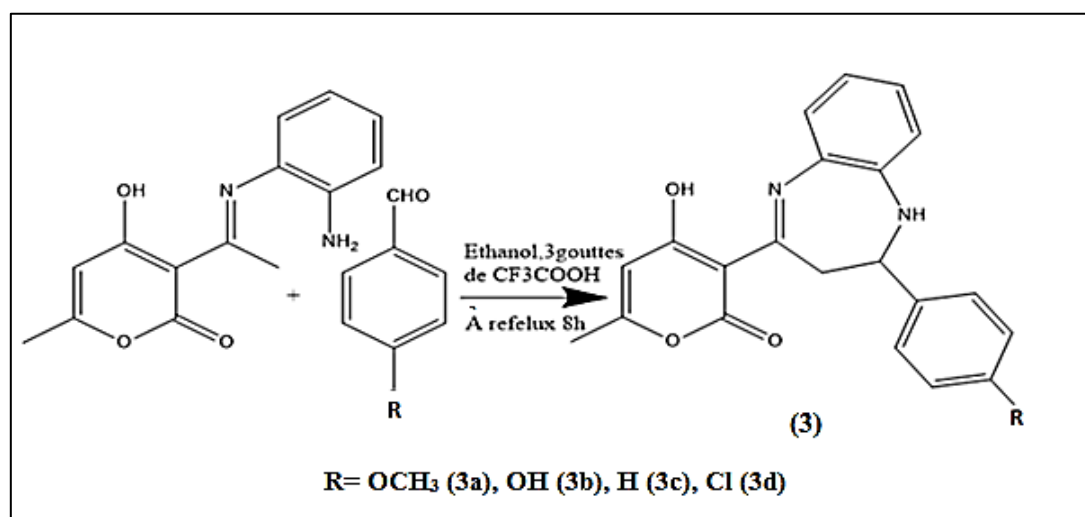


Figure 35: Schéma de la deuxième étape de la synthèse des 1,5 Benzodiazépines.

La synthèse générale des 1,5 Benzodiazépines (3a-3d) est récapitulée dans le schéma qui suit :

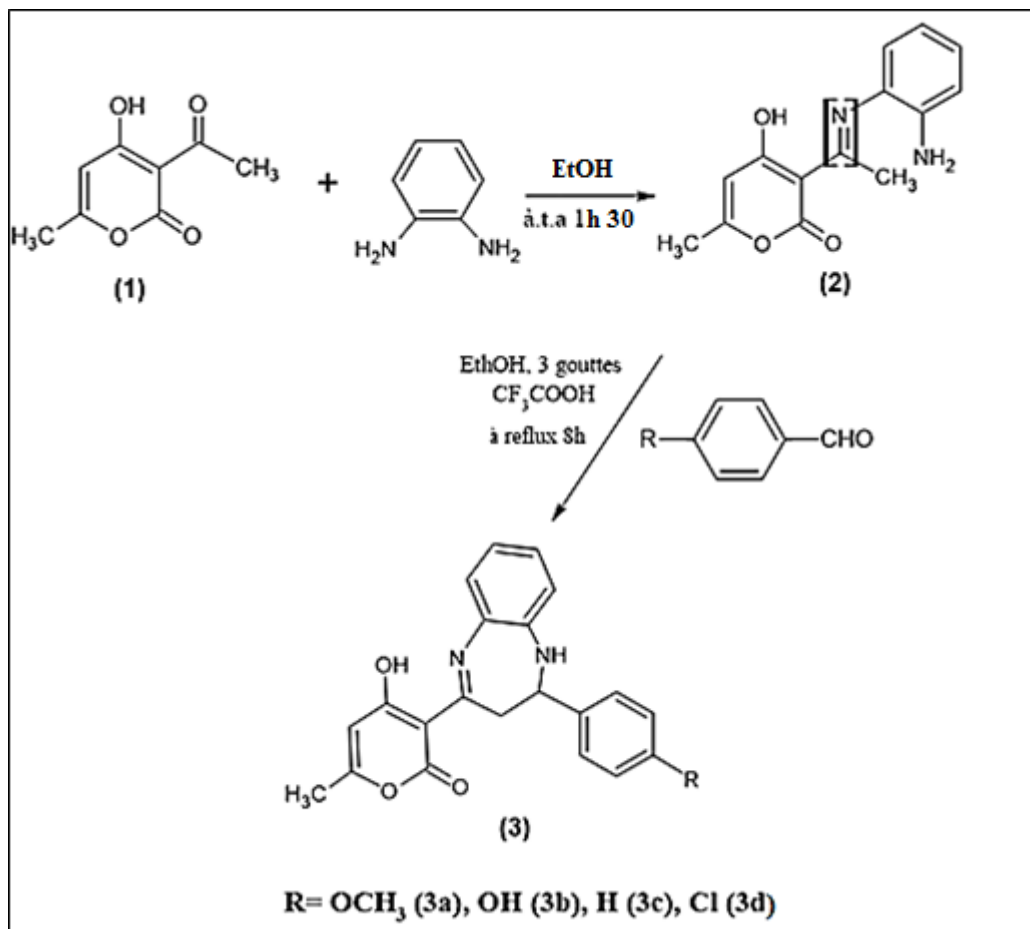


Figure 36: Schéma de la synthèse générale des 1,5 Benzodiazépines (3a-3d).

II.2. Propriétés physico-chimiques des composés synthétisés

Tous les composés obtenus à partir du DHA se présentent sous forme d'une poudre colorée insoluble dans l'éthanol mais soluble dans le dichlorométhane à température ambiante. La couleur de chaque composé ainsi que le rendement et la température de fusion sont mentionnés dans le tableau suivant.

Tableau 4: Données analytiques des Benzodiazépines synthétisées.

Composé	Couleur	Rdt %	T _f (°C)
3a	Jaune	80	224
3b	Jaune	85	237
3c	Blanc	76	209-110
3d	Jaune	82	219

II.3. Analyse spectroscopique infrarouge

Les spectres IR des quatre composés ont permis de sélectionner et discuter des différentes bandes de vibrations des groupements fonctionnels constituant ces molécules.

- **Composé 3a**

L'analyse du spectre IR de ce composé montre une bande d'absorption aux environs de $3325,81 \text{ cm}^{-1}$ attribuable au (OH) d'alcool. La bande à $3000,28 \text{ cm}^{-1}$ est caractéristique de la liaison C-H des alcanes. Une bande intense et fine vers $1703,47 \text{ cm}^{-1}$ indique la présence d'une liaison C=O (carbonyle cétone) ainsi que la liaison indiquant la fonction imine C=N vers $1642,46 \text{ cm}^{-1}$. Une bande caractéristique de la liaison C-OH d'un alcool primaire est apparue à $1030,89 \text{ cm}^{-1}$, une autre bande est apparue de 1200 à 1300 cm^{-1} attribuée à la liaison C-N de la fonction amine, l'absorption enregistrée à $1595,46$ correspondants à la double liaison C=C du cycle aromatique, une autre absorption située de $1642,46$ à $1703,47 \text{ cm}^{-1}$ attribuable au benzoïde tetrasubstitution. Les bandes d'absorption indiquant la disubstitution ortho et la substitution méta apparaissent respectivement à $629,91 \text{ cm}^{-1}$ et $710,57 \text{ cm}^{-1}$.

Tableau 5: Données spectrales du composé 3a.

Fonction	Bande d'absorption (cm^{-1})
OH (alcool)	3325,81
C-H alcane	3000,28
C=O (carbonyle cétone)	1703,47
C=N (imine)	1642,46
C-OH (alcool) primaire	1030,89
C-N (amine)	De 1200 à 1300
C=C (aromatique)	1595,46
Benzoïde tetrasubstitution	1642,46 - 1703,47
Disubstitution ortho	629,91
Disubstitution méta	710,57

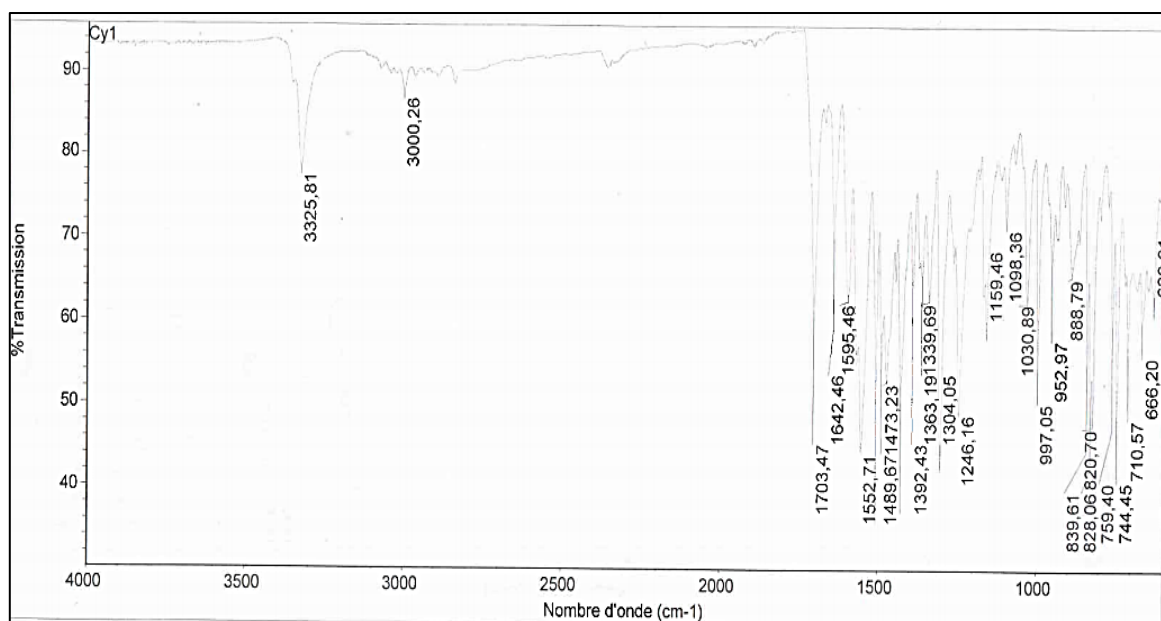


Figure 37: Spectre infrarouge du composé 3a.

• Composé 3b

Le spectre IR de ce composé comprend une bande d'absorption courte et fine vers $3334,20 \text{ cm}^{-1}$ attribuée à la fonction (NH). L'absorption enregistrée à $3233,37 \text{ cm}^{-1}$ est attribuée à la fonction OH d'alcool. La bande longue et fine enregistrée aux environs de $1674,18 \text{ cm}^{-1}$ correspond à la fonction imine C=N. À $1596,27 \text{ cm}^{-1}$, la bande d'absorption est attribuée à la fonction C=C du cycle aromatique. La bande d'absorption de $1648,10$ à $1674,18 \text{ cm}^{-1}$ est attribuable au benzoïde tetrasubstitution. L'absorption enregistrée de $1223,17$ à $1347,62 \text{ cm}^{-1}$ est attribuée à la fonction amine C-N. La bande d'absorption située vers $1054,09 \text{ cm}^{-1}$ est caractéristique à la liaison C-OH d'un alcool primaire. Les bandes d'absorption indiquant la disubstitution ortho et para apparaissent respectivement à $667,73 \text{ cm}^{-1}$ et $821,90 \text{ cm}^{-1}$.

Tableau 6: Données spectrales du composé 3b.

Fonction	Bande d'absorption (cm^{-1})
N-H (amine)	3334,20
OH (avec liaison H : alcool)	3233,37
C=N (imine)	1674,18
C=C (aromatique)	1596,27
Benzoïde tetrasubstitution	De 1648,10 à 1674,18
C-N (amine)	De 1223,17 à 1347,62
C-OH (alcool) primaire	1054,09
Disubstitution ortho	667,73
Disubstitution para	821,90

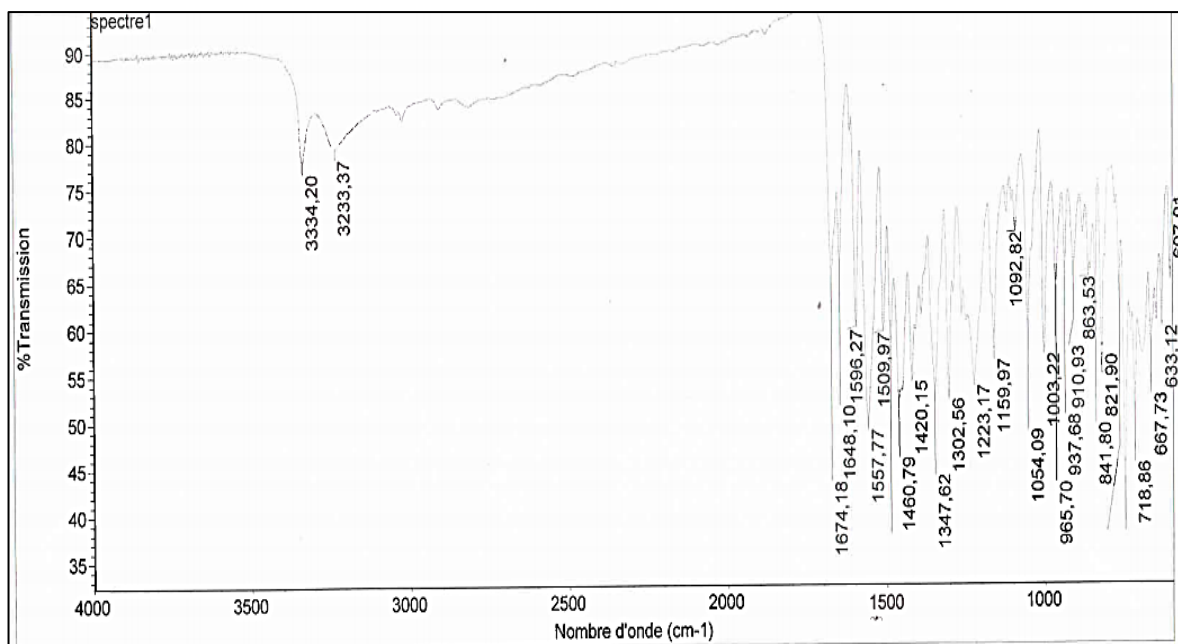


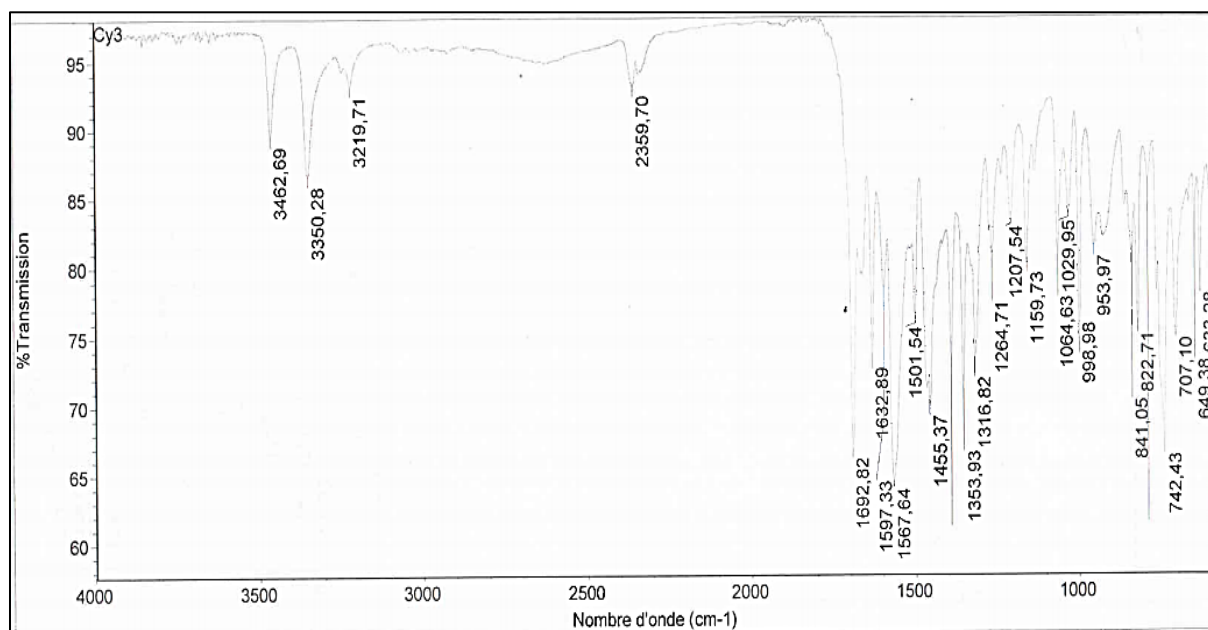
Figure 38: Spectre infrarouge du composé 3b.

- **Composé 3c**

Le spectre IR correspondant au composé 3c enregistre deux bandes d'absorption courtes et fines attribuées aux (OH) d'alcool à $3462,69\text{ cm}^{-1}$ et à $3291,71\text{ cm}^{-1}$, une bande à $3350,28\text{ cm}^{-1}$ attribuée à la fonction amine (NH). La bande d'absorption enregistrée à $1692,82\text{ cm}^{-1}$ est attribuée à la fonction carbonyle cétone C=O, celle enregistrée à $1632,69\text{ cm}^{-1}$ indique la présence de la fonction imine C=N. Une bande d'absorption enregistrée à $1597,33\text{ cm}^{-1}$ est caractéristique à la double liaison C=C du cycle aromatique. La bande d'absorption enregistrée vers $1316,82\text{ cm}^{-1}$ attribuée à la vibration de déformation des groupement alcanes (CH). Le spectre enregistre une bande d'absorption aux environs de $1264,71\text{ cm}^{-1}$ attribuée à la fonction amine C-N, la bande enregistrée à 1064 cm^{-1} attribuée à la fonction C-OH d'un alcool primaire. Les trois bandes d'absorption indiquant la disubstitution para, méta et ortho sont enregistrées respectivement à $822,71\text{ cm}^{-1}$, $707,10\text{ cm}^{-1}$ et $633,12\text{ cm}^{-1}$.

Tableau 7: Données spectrales du composé 3c.

Fonction	Bande d'absorption (cm ⁻¹)
OH (Alcool)	3462,69
NH (Amine)	3350,28
OH (Avec liaison h : alcool)	3219,71
C=O (Carbonyle cétone)	1692,82
C=N (Imine)	1632,69
C=C (aromatique)	1597,33
C-H (alcane : vibration de déformation)	1316,82
C-N (amine)	1264,71
C-OH (alcool) primaire	1064,63
Disubstitution para	822,71
Disubstitution méta	707,10
Disubstitution ortho	633,12

**Figure 39:** Spectre infrarouge du composé 3c.

II.4. Résultats et discussion des activités biologiques *in vitro*

II.4.1. Activités antioxydantes

II.4.1.1. Activité du piégeage du radical hydroxyle

Les résultats obtenus pour ce test sont regroupés dans les tableaux qui suivent :

Tableau 8: Résultats de l'activité du piégeage du radical hydroxyle.

C μ g/mL	7,8125	15,625	31,25	62,5	125	250	500	1000	A0,5 μ g/mL
3a	0,37 ± 0,0	0,37 ± 0,0	0,36 ± 0,0	0,37 ± 0,0	0,39 ± 0,0	0,39 ± 0,0	0,39 ± 0,0	0,49 ± 0,0	>1000
3b	0,36 ± 0,0	0,36 ± 0,0	0,39 ± 0,0	0,36 ± 0,0	0,37 ± 0,0	0,37 ± 0,0	0,39 ± 0,0	0,47 ± 0,0	>1000
3c	0,43 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,44 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,43 ± 0,0	0,45 ± 0,0	0,5 ± 0,0	1000
3d	0,46 ± 0,0	0,44 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,43 ± 0,0	0,44 ± 0,0	0,45 ± 0,0	0,42 ± 0,0	0,43 ± 0,0	>1000
DHA	0,35 ± 0,1	0,42 ± 0,0	0,39 ± 0,0	0,45 ± 0,0	0,43 ± 0,0	0,52 ± 0,0	0,49 ± 0,0	0,61 ± 0,0	154,72

Tableau 9: Résultats du témoin positif acide ascorbique pour l'activité du piégeage du radical hydroxyle.

C μ g/mL	1,953	3,906	7,812	15,625	31,25	62,5	125	250	A0,5 μ g/mL
Acide ascorbique	0,56 ± 0,0	0,57 ± 0,0	0,55 ± 0,0	0,54 ± 0,0	0,51 ± 0,0	0,44 ± 0,0	0,16 ± 0,0	0,11 ± 0,0	1,74

D'après l'allure générale des courbes (**Figure 40**), les quatre ligands ainsi que la molécule mère DHA commencent leurs activités du piégeage du radical hydroxyle dès la plus petite concentration testée 7,8125 μ g/mL avec une absorbance variant de 0,35 à 0,46 nm, et stagnent pratiquement après jusqu'à la concentration maximale.

Le dépouillement de ces données révèle généralement une A 0,5 supérieure ou égale à 1000 μ g/mL pour tous les composés testés sauf le DHA qui révèle un taux d'A 0,5

de 154,72 $\mu\text{g/mL}$, en comparaison avec l'acide ascorbique (**Tableau 9**) utilisé comme contrôle positif avec une A 0,5 de 1.74 $\mu\text{g/mL}$.

Les résultats obtenus pour ce test indiquent une activité pratiquement similaire et faible pour tous les composés testés par rapport au contrôle positif.

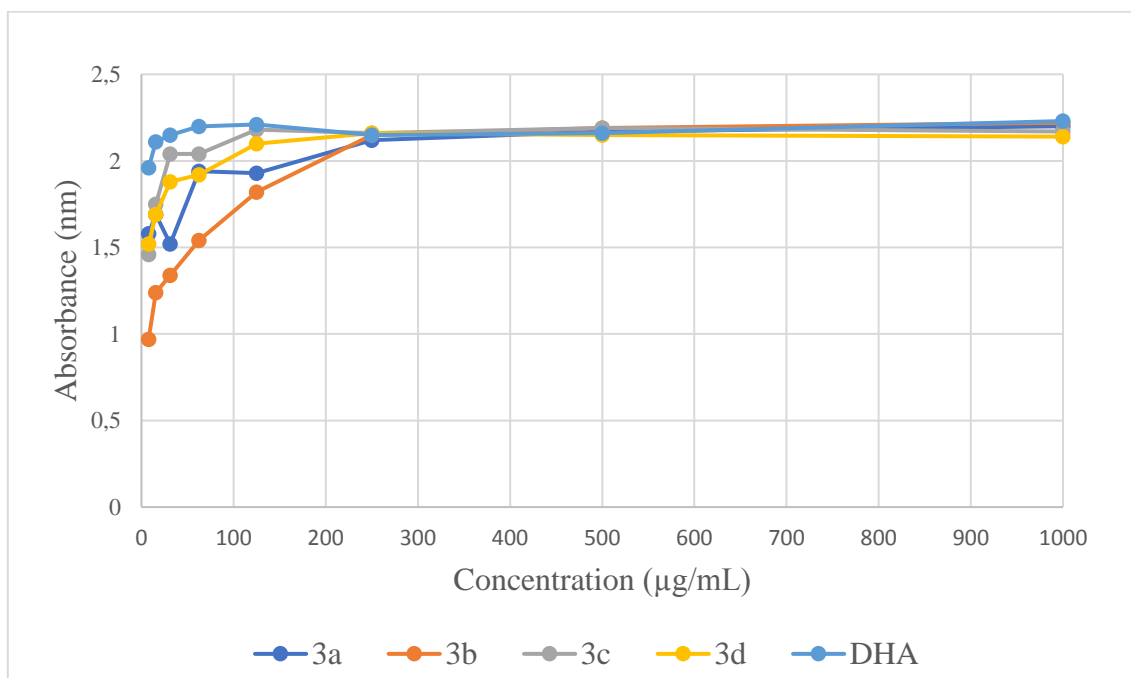


Figure 40: Courbes des absorbances de l'activité de piégeage du radical hydroxyle.

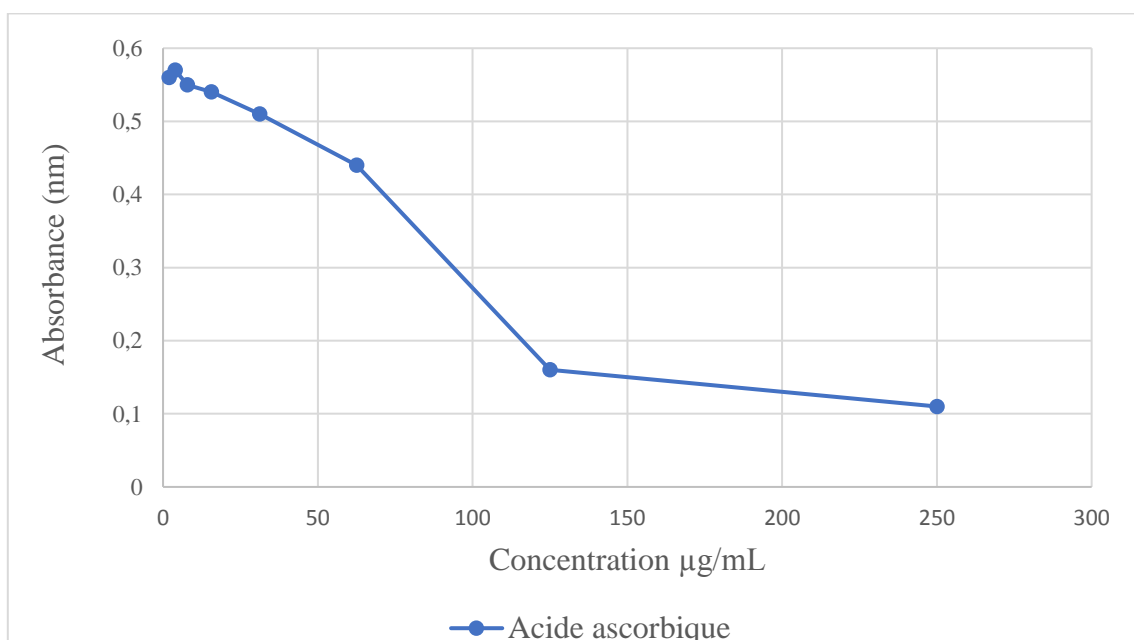


Figure 41: Courbe d'absorbance de l'acide ascorbique de l'activité de piégeage du radical hydroxyle.

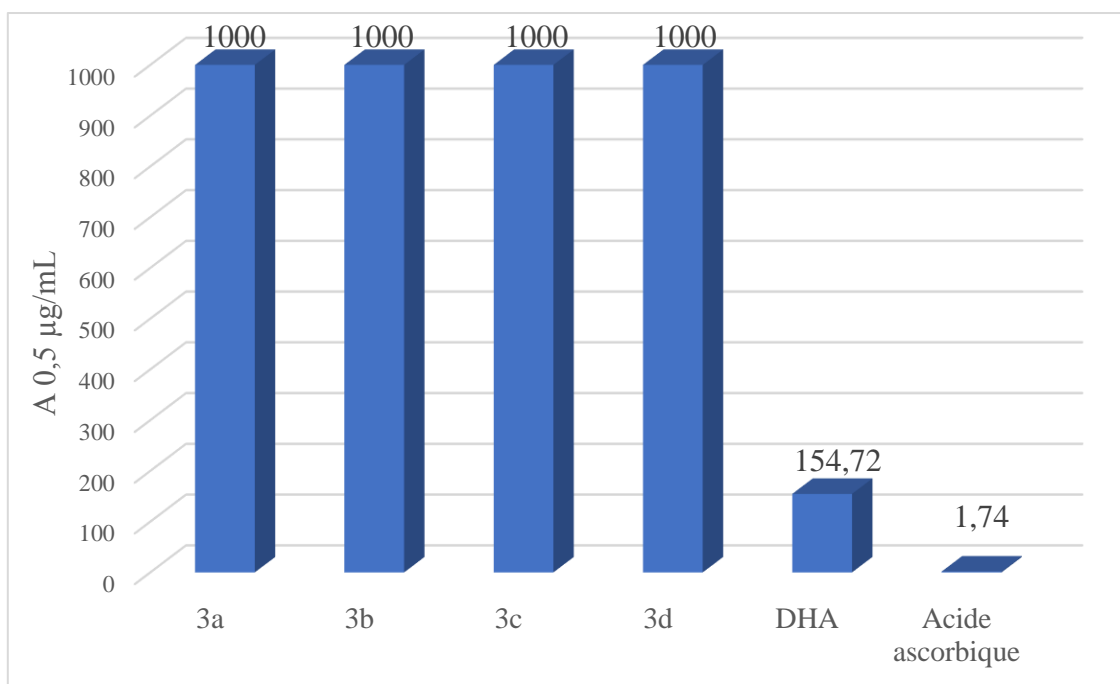


Figure 42: Valeurs des A_{0,5} exprimées en µg/mL pour l'activité du piégeage du radical hydroxyle.

II.4.1.2. Activité du pouvoir réducteur de fer (FRAP)

Les résultats de ce test sont reportés dans les tableaux qui suivent :

Tableau 10: Résultats de l'activité de la réduction de fer (FRAP).

C µg/mL	7,8125	15,625	31,25	62,5	125	250	500	1000	A _{0,5} µg/mL
3a	1,13 ± 0,01	1,11 ± 0,01	1,1 ± 0,0	1,11 ± 0,0	1,16 ± 0,01	1,23 ± 0,01	1,24 ± 0,04	1,19 ± 0,02	7,04
3b	1,21 ± 0,01	1,17 ± 0,0	1,2 ± 0,02	1,23 ± 0,02	1,2 ± 0,02	1,12 ± 0,01	1,21 ± 0,01	1,02 ± 0,01	3,22
3c	0,99 ± 0,01	1,15 ± 0,02	1,17 ± 0,03	1,16 ± 0,02	1,21 ± 0,02	1,19 ± 0,01	0,18 ± 0,01	1,12 ± 0,01	3,94
3d	1,1 ± 0,01	1,19 ± 0,02	1,18 ± 0,0	1,18 ± 0,01	1,17 ± 0,01	1,17 ± 0,01	1,17 ± 0,01	1,14 ± 0,01	3,55
DHA	1,14 ± 0,01	1,12 ± 0,0	1,15 ± 0,01	1,09 ± 0,01	1,12 ± 0,01	1,12 ± 0,01	1,14 ± 0,01	1,13 ± 0,01	6,97

Tableau 11: Résultats du témoin positif acide ascorbique pour l'activité de la réduction de fer (FRAP).

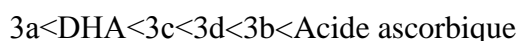
C $\mu\text{g/mL}$	1,953	3,906	7,812	15,625	31,25	62,5	125	250	A0,5 $\mu\text{g/mL}$
Acide ascorbique	1,87	0,99	0,99	0,78	0,96	0,93	0,97	1,03	0,52
	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	
	0,0	0,01	0,0	0,0	0,01	0,0	0,01	0,01	

D'après l'allure générale des courbes (**Figure 43**), tous les ligands ainsi que la molécule mère DHA commencent leurs activités réductrices du fer dès la plus petite concentration testée 7,8125 $\mu\text{g/mL}$ avec une absorbance aux alentours de 0,99 à 1,21 nm, pour augmenter légèrement et atteindre leur maximum au tour de :

- 1,24 nm pour 3a à une concentration de 500 $\mu\text{g/mL}$.
- 1,23 nm pour 3b à une concentration de 62,5 $\mu\text{g/mL}$.
- 1,21 nm pour 3c à une concentration de 125 $\mu\text{g/mL}$.
- 1,19 nm pour 3d à une concentration de 15,625 $\mu\text{g/mL}$.
- 1,15 nm pour DHA à une concentration de 31,25 $\mu\text{g/mL}$.

Le dépouillement de ces données révèle également un taux d'A 0,5 supérieur à celui de l'acide ascorbique (0,52 $\mu\text{g/mL}$) pour tous les composés testés (**Tableau 11**).

Les résultats obtenus indiquent une activité à peu près similaire pour les trois ligands 3b, 3c et 3d supérieure à la molécule de départ DHA, avec une meilleure réactivité pour le 3b. Quant au 3a, il a montré une activité plus ou moins faible par rapport à la molécule mère DHA, l'ordre de réactivité peut être le suivant :



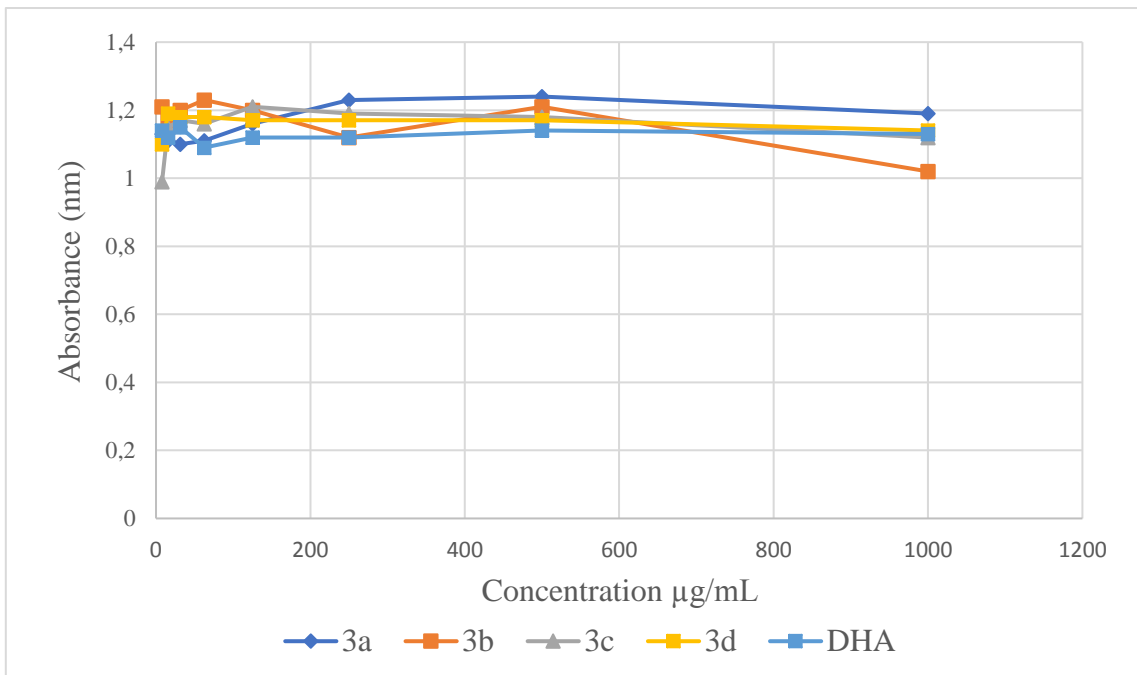


Figure 43: Courbe des absorbances de l'activité de réduction de fer.

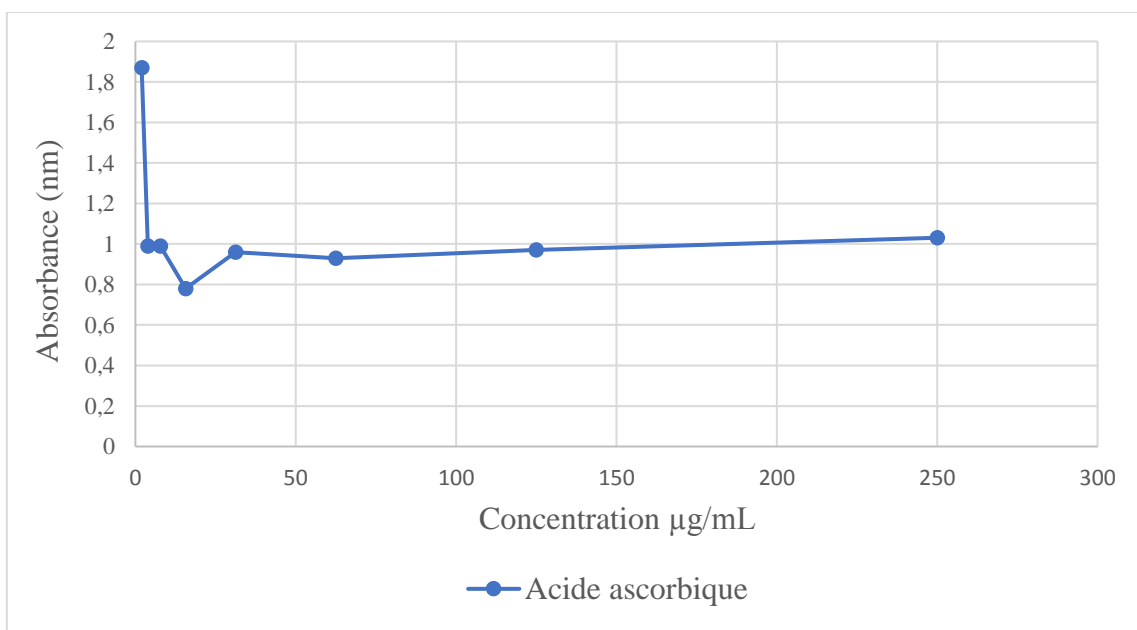


Figure 44: Courbe d'absorbance de l'acide ascorbique de l'activité de réduction de fer.

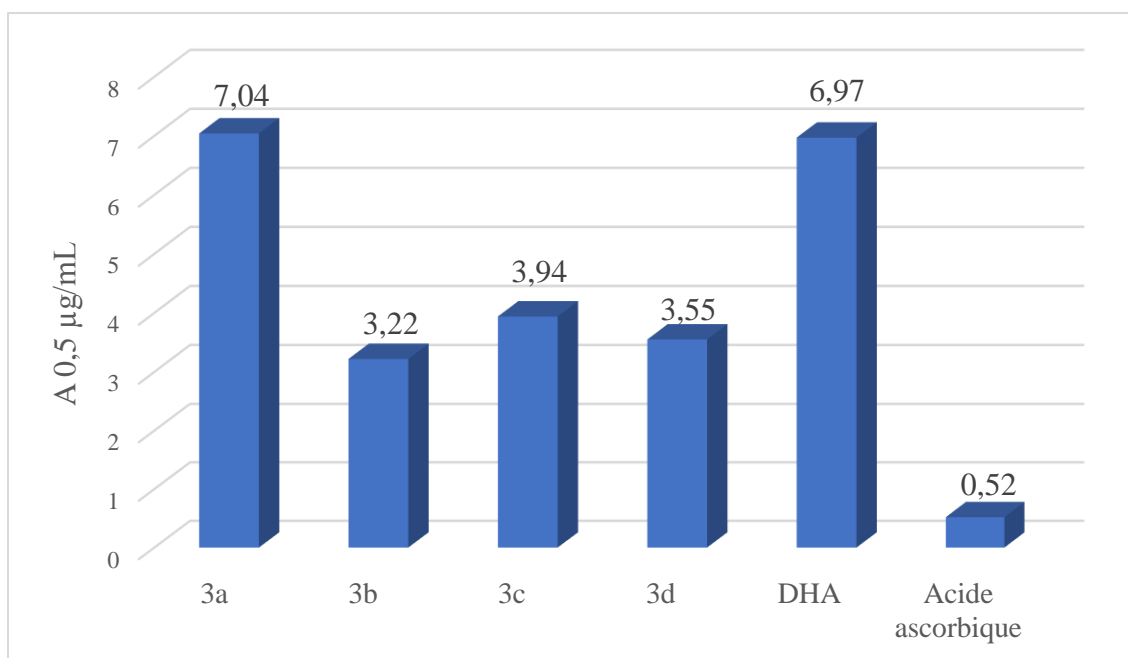


Figure 45: Valeurs des A 0,5 µg/mL pour l’activité de réduction de fer.

II.4.1.3. Activité de peroxyde d’hydrogène

Les résultats de cette activité sont présentés dans les tableaux suivants :

Tableau 12: Résultats de l’activité de peroxyde d’hydrogène.

C µg/mL	7,8125	15,625	31,25	62,5	125	250	500	1000	CI ₅₀ µg/mL
3a	58 ± 0,01	69 ± 0,0	52 ± 0,0	94 ± 0,01	93 ± 0,02	100 ± 0,02	100 ± 0,05	100 ± 0,05	6,73
3b	9,7 ± 0,01	24 ± 0,0	34 ± 0,0	54 ± 0,0	82 ± 0,01	100 ± 0,01	100 ± 0,03	100 ± 0,01	51,91
3c	46 ± 0,0	75 ± 0,0	100 ± 0,01	100 ± 0,01	100 ± 0,02	100 ± 0,02	100 ± 0,02	100 ± 0,01	9,45
3d	52 ± 0,0	69 ± 0,01	88 ± 0,02	92 ± 0,03	100 ± 0,03	100 ± 0,03	100 ± 0,02	100 ± 0,04	7,51
DHA	96 ± 0,01	100 ± 0,02	100 ± 0,01	100 ± 0,03	100 ± 0,04	100 ± 0,02	100 ± 0,02	100 ± 0,01	4,06

Tableau 13: Résultat du témoin positif acide ascorbique pour l'activité de peroxyde d'hydrogène.

C $\mu\text{g/mL}$	1,953	3,906	7,812	15,625	31,25	62,5	125	250	CI ₅₀
Acide ascorbique	45 ± 0,01	64 ± 0,01	77 ± 0,01	72 ± 0,0	91 ± 0,01	89 ± 0,01	100 ± 0,02	100 ± 0,01	2,61

L'allure générale des courbes (**Figure 46**) révèle que tous les ligands ainsi que la molécule de départ DHA commencent leurs activités réductrices de peroxyde d'hydrogène dès la plus petite concentration testée 7,8125 $\mu\text{g/mL}$, avec un taux d'inhibition de :

- 58% pour le composé 3a et atteint son maximum de 100% d'inhibition à la concentration de 250 $\mu\text{g/mL}$.
- 9,7 % pour le composé 3b et plafonne à 100% d'inhibition à la concentration de 250 $\mu\text{g/mL}$.
- 46% pour le composé 3c et atteint son maximum de 100% d'inhibition à 31,25 $\mu\text{g/mL}$.
- 52% pour le composé 3d et enregistre un maximum de 100% d'inhibition à 125 $\mu\text{g/mL}$.

Quant au DHA, son activité commence avec un taux d'inhibition de 96% ce qui le rend très réactif pour ce test avec une CI₅₀ = 4,06 $\mu\text{g/mL}$ proche de celle du contrôle positif, l'acide ascorbique avec une CI₅₀ de 2,61 $\mu\text{g/mL}$ (**Tableau 13**).

Les résultats obtenus montrent une faible activité du ligand 3b tandis que les ligands 3a, 3c et 3d semblent avoir une activité assez proche de celle de la molécule de départ DHA et de l'acide ascorbique, l'ordre de réactivité selon les CI₅₀ peut être :

3b < 3c < 3d < 3a < DHA < Acide ascorbique.

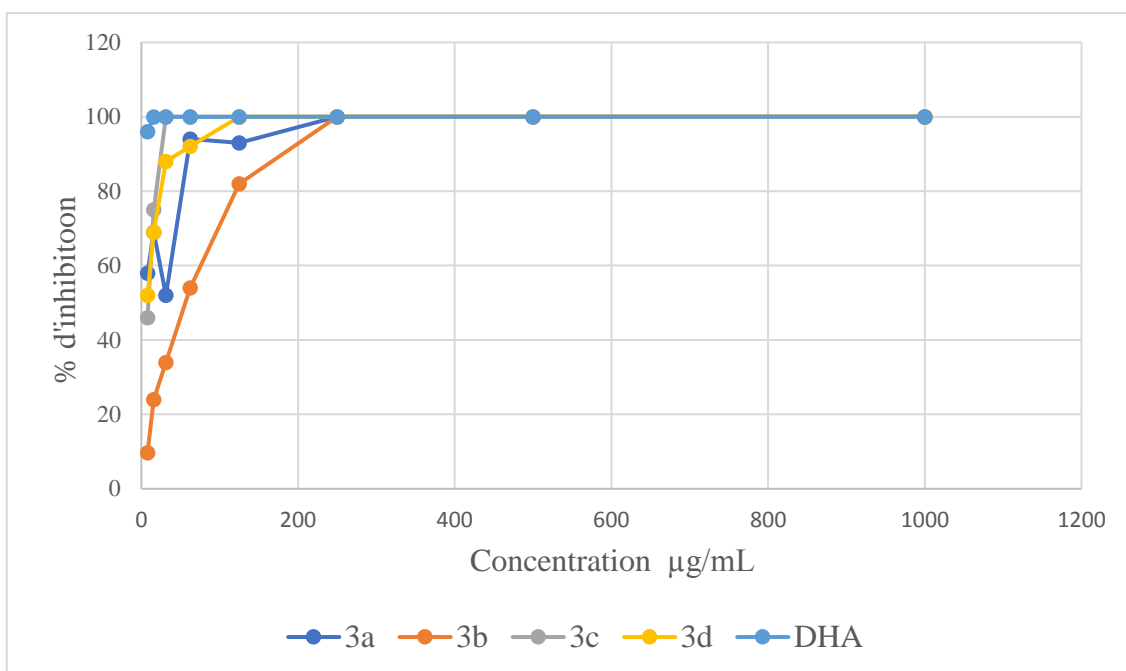


Figure 46: Courbes des pourcentages d'inhibitions de l'activité du peroxyde d'hydrogène.

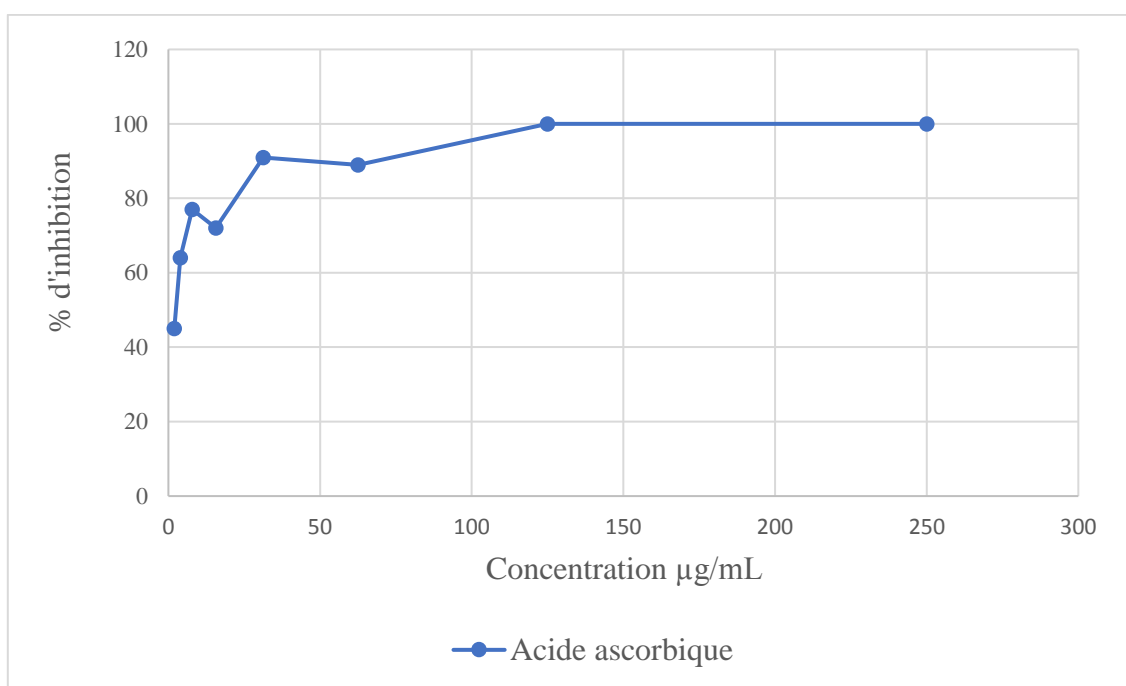


Figure 47: Courbe de pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique de l'activité peroxyde d'hydrogène.

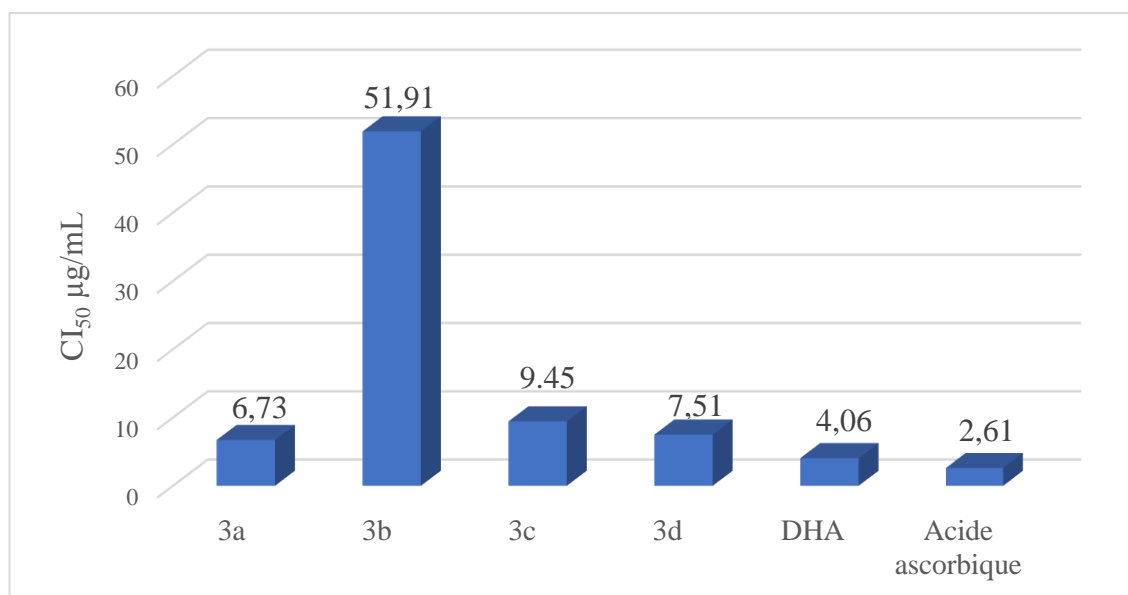


Figure 48: Valeurs des A 0,5 µg/mL pour l'activité peroxyde d'hydrogène.

II.4.2. Activités antimicrobiennes

II.4.2.1. Activité antibactérienne

Les résultats des tests de l'activité antibactérienne réalisés sur les ligands synthétisés sur les différentes souches bactériennes en comparaison avec les antibiotiques NA, GN sont indiqués dans le tableau qui suit :

Tableau 14: Zone d'inhibition bactérienne (mm) du DHA et de ses dérivés Benzodiazépines (3a-3d).

Composés	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>
DHA	15,00±0,00	20,00±0,50	20,00±0,50	15,00±0,00
3a	10,00±0,00	N.D	N.D	N.D
3b	08,00±0,30	10,00±0,20	10,00±0,50	15,00±0,00
3c	12,00±0,60	N.D	12,00±0,50	N.D
3d	N.D	N.D	08,00±0,00	08,00 ±0,00
NA	42,00	N.D	28,00	22,00
GN	38,00	24,00	18,00	-
DMSO	0,00	0,00	0,00	0,00

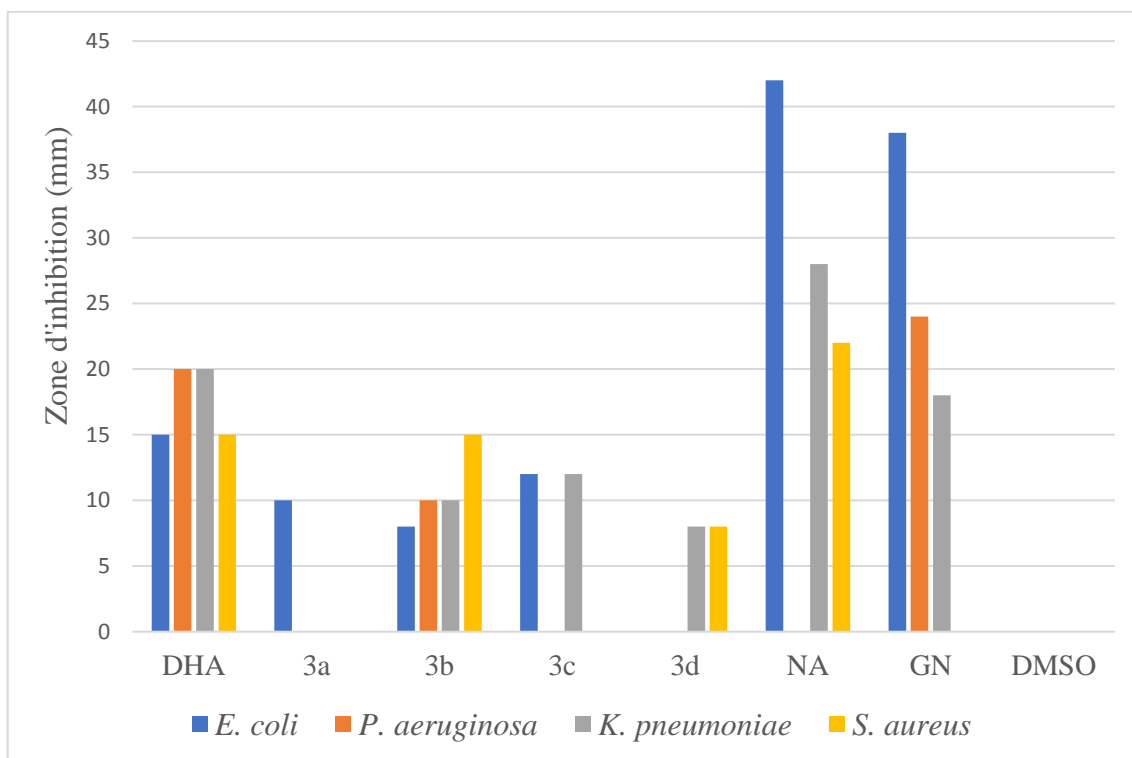


Figure 49: Histogrammes des zones d'inhibition montrant l'activité antibactérienne des ligands synthétisés.

D'après les diamètres des zones d'inhibition obtenus, les souches bactériennes investies se comportent différemment vis-à-vis des ligands testés.

- Le DHA a révélé un pouvoir inhibiteur vis-à-vis de toutes les souches bactériennes avec un diamètre maximal de $(20.00 \pm 0.50 \text{ mm})$ pour les souches *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* suivi de $(15.00 \pm 0.00 \text{ mm})$ pour les souches *E. coli* et *S. aureus*.

- Le composé 3a possède un pouvoir inhibiteur modéré vis-à-vis d'une seule souche qui est *E. coli* avec un diamètre d'inhibition égale à $(10.00 \pm 0.00 \text{ mm})$, quant aux autres souches, aucune zone d'inhibition n'a été observée ce qui peut être interprété par une résistance de ces souches au ligand testé.

- Le composé 3b a présenté un effet inhibiteur pour toutes les souches bactériennes testées avec un diamètre maximal égale à $(15.00 \pm 0.00 \text{ mm})$ pour *S. aureus* suivi de $(10.00 \pm 0.00 \text{ mm})$ pour les souches *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* et un diamètre minimal égale à $(8.00 \pm 0.30 \text{ mm})$ pour *E. coli*.

- Concernant le composé 3c, la présence d'une zone d'inhibition a été observée pour deux souches bactériennes avec un diamètre égale à (12.00±0.60 mm) pour *E. coli* et (12.00±0.50 mm) pour *K. pneumoniae*.

- Quant au composé 3d, une zone d'inhibition a été relevée pour deux souches bactériennes qui sont *K. pneumoniae* et *S. aureus* avec un diamètre égale à (08,00±0,00 mm).

La gentamicine (10 µg/ disque) et le NA (30 µg/ disque) ont été utilisés comme contrôle positif.

II.4.2.2. Activité antifongique

Les résultats de l'activité antifongique sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 15: Zone d'inhibition fongique (mm) du DHA et de ses dérivés Benzodiazépines (3a-3d).

Espèce fongique	Zones d'inhibition de la croissance (mm) de l'activité antifongique				
	DHA	3a	3b	3c	3d
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	N.D	N.D	12,00±0,50	10,00±0,00	N.D

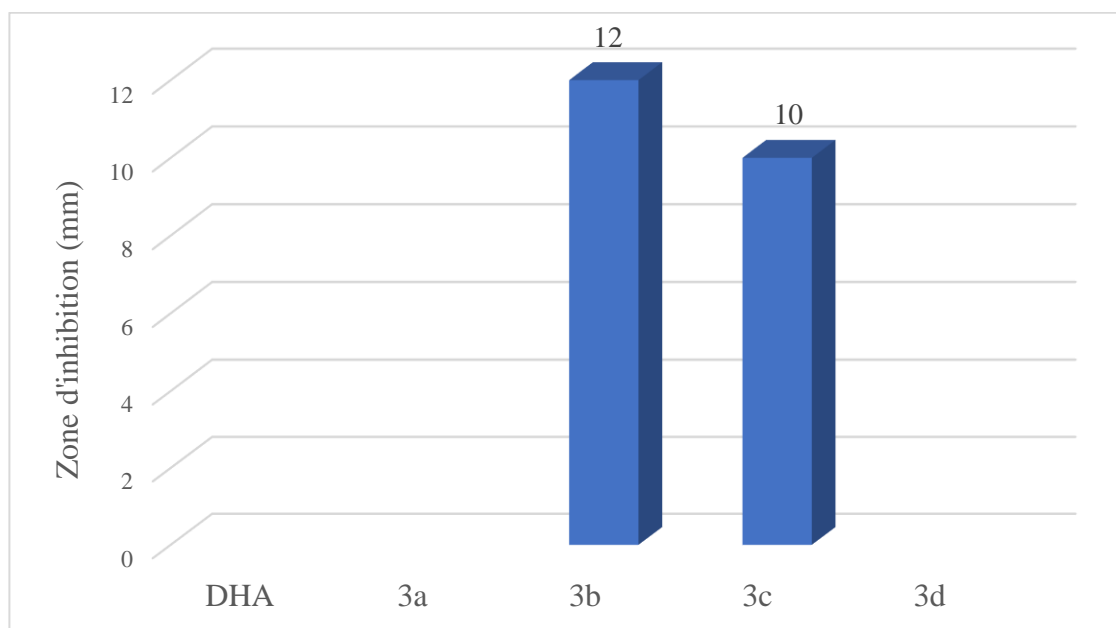


Figure 50: Histogrammes des zones d'inhibition montrant l'activité antifongique des composés synthétisés.

Les résultats des tests de l'activité antifongique réalisés sur le DHA et les ligands (3a-3d) vis-à-vis de la souche fongique *Trichoderma harzianum* Rifai, ont révélé la présence de zones d'inhibitions de croissance pour deux composés testés :

- Le DHA ainsi que les composés 3a et 3d n'ont révélé aucune zone d'inhibition, ce qui peut être expliqué par une résistance et une absence de l'activité antifongique.

- Les composés 3b et 3c ont montré une activité antifongique modérée à bonne avec des diamètres d'inhibition de (12.00 ± 0.50 mm) et (10.00 ± 0.00 mm) respectivement meilleure que celle du DHA.

Conclusion générale

Au terme de ce travail, quatre composés 1,5 Benzodiazépines (3a-3d) ont été synthétisés, structuralement analysés et évalués pour leur potentiel antioxydant et antimicrobien *in vitro*.

Une recherche bibliographique intensive a été conduite sur les différentes molécules synthétiques permettant l'élaboration de ces composés, au bout de laquelle le DHA, l'OPDA ainsi que les benzaldéhydes fonctionnalisés en position 4, ont été sélectionnés pour accéder à cette famille via une synthèse en deux étapes avec de très bons rendements.

L'analyse structurale par spectroscopie FT-IR indique la présence de bandes caractéristiques des différentes fonctions portées par les quatre composés synthétisés.

Dans le but d'évaluer leur potentiel biologique, les composés synthétisés ainsi que leur précurseur DHA, ont été soumis à une série de tests préliminaires démontrant leur potentiel antioxydant par la capacité de piéger les radicaux libres comme : le radical hydroxyle OH[•], la réduction du fer et du peroxyde d'hydrogène. Ajouter à cela le potentiel antimicrobien dont le principe est de tester le pouvoir d'inhibition de la croissance de quatre souches de bactéries dont trois à gram négatif (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603)) et une bactérie à gram positif (*Staphylococcus aureus*) ainsi qu'une souche fongique (*Trichoderma harzianum* Rifai) a été déterminé.

Les composés qui ont montré une activité antioxydante notable sont :

- Les composés 3b, 3c, 3d qui ont montré une bonne activité réductrice du fer avec une A_{0.5} estimée à 3.22 µg/mL, 3.94 µg/mL, 3.55 µg/mL, respectivement, meilleure que celle de la molécule mère DHA (6.97µg/mL) et relativement proche de celle de l'acide ascorbique (A_{0.5} = 0,52 µg/mL).
- Une bonne réactivité pour le DHA, 3a, 3c et 3d avec une CI₅₀ de 4,06 µg/mL, 6,73 µg/ml, 9,45 µg/mL, 7,51 µg/mL respectivement pour la réduction du peroxyde d'hydrogène proche de celle e l'acide ascorbique (CI₅₀ = 2,61 µg/mL).

En ce qui concerne l'activité antimicrobienne :

- Le DHA a montré une meilleure activité antibactérienne en général, cependant, le composé 3b a montré un pouvoir antibactérien intéressant pour toutes les souches bactériennes, le composé 3a n'a enregistré aucun pouvoir antibactérien envers

P.aeruginosa, *K. pneumonia* et *S. aureus*, le composé 3c a enregistré un pouvoir antibactérien uniquement pour *E.coli* et *K.pneumonia* et le composé 3d a enregistré un faible pouvoir antibactérien envers *K. pneumonia* et *S. aureus* seulement.

- Les composés 3b et 3c ont montré un pouvoir antifongique remarquable, contrairement au DHA, les composés 3a et 3d.

Ainsi, ces composés représentent un point de départ pour le drug discovery et le développement des médicaments.

Des perspectives avenir à ce travail sont proposées comme suit :

- ✓ Une caractérisation structurale par DRX et RMN sont indispensables afin de confirmer les structures de ces composés.
- ✓ Initier une étude *in silico* afin de confirmer l'effet biologique obtenu et essayer d'expliquer les différentes interactions moléculaires responsables de cet effet (RSA).
- ✓ Certains de ces composés ont montré une activité antimicrobienne meilleure que celle de la molécule mère, ce qui mérite d'approfondir la recherche dans la conception des médicaments antibiotiques ou antifongiques et leur toxicologie.
- ✓ La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

Abdul Majid. S, Khanday. W. A., Tomar. R. (2012). Synthesis of 1,5-Benzodiazepine and Its Derivatives by Condensation Reaction Using H-MCM-22 as Catalyst. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, p 1-6.

Abu-hussen. A. A. A. (2006). Synthesis and spectroscopic studies on ternary bis-Schiff-base complexes having oxygen and/or nitrogen donors. *Journal of Coordination Chemistry*. Vol 59(2), p 157.

-B-

Ballo. D. (2008). Recherche en série, Benzodiazépine, Benzimidazole, Quinoxaline : Synthèse, Réactivité et étude biologique. Mémoire de magister en chimie. Université Mohammed V- Agdal, Maroc, p 8.

Barton. D., Ollis. W. D. (1979). Comprehensive organic chemistry. Pergamon, Oxford. Vol 4, p 600.

Battin S. N. (2019). Vanillin-aminoquinoline Schiff bases and their Co (II), Ni (II) and Cu (II) complexes. *Lulu publication United-States*, p17.

Beaudeau. J. L., Delattre. J., Therond. P., Bonnefont-Rousselot. D., Legrand. A., Peynet. J. (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie spécialisé*. Vol 21, p 144-150.

Belkheiri. N. (2010). Dérivés phénoliques à activités antiathérogène. Thèse en chimie-biologie-santé. Université Toulouse 3 Paul Sabatier, France.

Ben Haj Khalifa. A., Khedher. M. (2012). Epidémiologie des souches de Klebsiella spp.uropathogènes productrices de B-lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien. *Pathologie Biologie*. Vol 60, e1-e5.

Benzie. I. F. F., Strain. J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*. Vol 299, p 15-36.

Bharti. S. K., Nath. G., Tilak. R., Singh. S. K. (2010). Synthesis, anti-bacterial and anti-fungal activities of some novel Schiff bases containing 2,4-disubstituted thiazole ring. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Vol 45(2), p 651–660.

Bhatia. M., Choudhari. P., Ingale. K., Zarekar. B. (2008). Synthesis, screening and QSAR studies of 2,4-disubstituted 1,5-benzodiazepine derivatives. *Oriental J. Chem.* Vol 24(1), p 147-152.

Bishop. J. (1990). Toxicology and carcinogenesis studies of benzaldehyde. National Toxicology Program, p 1-191.

Black h. S. (2002). Pro-Oxidant and Anti-Oxidant Mechanism(s) of BHT and β -Karatene in Phatocarcinogenesis. *Frontiers in Bioscience*7, p 1044-1055.

Bonnefont-Rousselot. D. (2007). Stress oxydant et vieillissement. *Spectra Biologie*. Vol 157, p 23.

Boudia. F., Fetati. H., Mekaouche. N., Guellil. M. S., Toumi. H. (2017). Suivi thérapeutique pharmacologique de la gentamicine et dysfonctionnement rénal. *Néphrologie & Thérapeutique*. Vol 13(5), p 380.

Boukadida. J., Salem. N., Hannachi. N., Monastiri. K., Snoussi. N. (2002). Exploration génotypique d'une bouffée épidémique nosocomiale néonatale à *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêtalactamase à spectre étendu. *Arch Pédiatr*. Vol 9, p 463-468.

Brisse S., Duijkeren. E. V. (2005). Identification and antimicrobial susceptibility of 100 *Klebsiella* animal clinical isolates. *Veterinary Microbiology*. Vol 105(3-4), p 307-312.

Burr. R. J., Leigh. G. J., Pickett. C. J. (1976). *Chem Commun*, p 940-941.

-C-

Cadet. J. (1999). Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutat Res*. Vol 424, p 9-21.

Chatgillaloglu. C., O'Neill. P. (2001). Free radicals associated with DNA damage. *Exp Gerontol*. Vol 36, p 1459-1471.

Chaturvedi. D., Kamboj. M. (2016). Role of Schiff Base in Drug Discovery Research. *Chemical Sciences Journal*. Vol 7(2), e114.

Chetley. A. (2000). Médicaments à problèmes. Paris. Edition ReMed. 405 In : Thèse : Brama. S. O. Activité antibactérienne d'extraits d'*Euphorbia hirta* (Linn), une plante utilisée traditionnellement dans le traitement des infections urinaires. (2002). Université de Ouagadougou.

Chung. Y. C., Chang. C. T., Chao. W. W., Lin. C. F., Chou. S. T. (2002). Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*. Vol 50, p2454 – 2458.

Cillard. J., Cillard. P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. Vol 13(1), p 24-29.

Cimerman. Z., Miljanic. S., Galic. N. (2000). Schiff bases derived from aminopyridines as spectrofluorimetric analytical reagents. *Croatica Chemica Acta*. Vol 73(1), p 81.

Claiborne. A. (1999). Protein-sulfenic acids: diverse roles for an unlikely player in enzyme catalysis and redox regulation. *Biochemistry*. Vol 38, p 15407-15416.

Cleophas. J., Olesker. A., Rolland. A., Gero. S. D., Forchioni. A. (1977). Synthèse de dérivés de la purpurosamine C, composant de la gentamicine C1a. *Tetrahedron*. Vol 33(11), p 1303–1308.

Cohen. P. R. (2007). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections: a review of epidemiology, clinical features, management, and prevention. *Int J Dermatol*. Vol 46, p 1–11.

Cournut. B. (1984). Le genre *Trichoderma* hyphomycètes. Thèse en Pharmacie. Marseille. p 77.

Crumplin. G. C., Smith. J. T. (1975). Nalidixic Acid: an Antibacterial Paradox. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol 8(3), p 251–261.

Cuenca-Estrella. M. (2014). Antifungal drug resistance mechanisms in pathogenic fungi: from bench to bedside. *Clinical Microbiology and Infection*, Vol 20, p 54–59.

Cunningham. R., Cockayne. A., Humphreys. H. (1996). Clinical and molecular aspects of the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* bone and joint infections. *J Med Microbiol*. Vol 44, p 157–64.

-D-

Da Silva. C. M., da Silva. D. L., Modolo. L. V., Alves. R. B., de Resende. M. A., Martins. C. V. B., de Fátima. Â. (2011). Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. *Journal of Advanced Research*, Vol 2(1), p 1–8.

De Souza. A. O., Galetti. F. C. S., Silva. C. L., Bicalho. B., Parma. M. M., Fonseca. S. F., Marsaioli. A. J., Trindade. A. C. L. B., Gil. R. P. F., Bezerra. F. S., Andrade-Neto. M., de Oliveira. M. C. F. (2007). Antimycobacterial and cytotoxicity activity of synthetic and natural compounds. *Quim Nova*. Vol 30(7), p 1563–1566.

Dean. R. T., Fu. S., Stocker. R., Davies. M. J. (1997). Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J*. Vol 324, p 1-18.

Deby. C., Goutier. R. (1990). New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutases. *Biochemical Pharmacology*. Vol 39(3), p 399- 405.

Desmier. T. (2016). Les antioxydants de nos jours : définitions et applications. Thèse en pharmacie. Université de Limoges, France.

Dhar. D. N., Taploo. C. L. (1982). Schiff bases and their applications. *J Sci Ind Res*. Vol 41(8), p 501–506.

Diehl. H., Hach. C. C., Bailar. J. C. (1950). Bis(N,N'-Disalicylaethylenediamine)-μ - Aquodocobalt(II). *Inorganic Syntheses*. Vol 3, p 196–201.

Dulger. B., Gonuz. A. (2004). Antimicrobial activity of some turkish medicinal plants. *Pakistan journal of biological sciences*. Vol 7(9), p 1559-1562.

Dutta. S., Chakravorty, A. (1994). Water soluble manganese (III) and manganese (IV) complexes of tridentate ono ligands. *Polyhedron*, Vol 13(12), p 1811–1816.

Duval. F. (2011). La consultation au SAU peut-elle être un moment privilégié de détection et d'information sur le problème de dépendance aux benzodiazépines ? Thèse en médecine générale. Université Paris-Est-Créteil-Val-de-Marn France, p 13.

-E-

El Fertas-Aissani. R., Messai. Y., Alouache. S., Bakour. R. (2013). Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. *Pathologie Biologie*. Vol 61, p 209-216.

-F-

Fitzgerald. D. J., Stratford. M., Gasson. M. J., Narbad. A. (2005). Structure-function analysis of the vanillin molecule and its antifungal properties. *J Agric Food Chem.* Vol 53, p 1769–1775.

Fontaine. E., Barnoud., D., Schwebel. C., Leverve. X. (2002). Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique : Antioxydants in critically ill patients. *Réanimation*, Vol 11(6), p 411-420.

Fox. C., Liu. H., Kaye. A. D. (2011). Antianxiety Agents. In: *Clinical Aspects of Pain Medicine and Interventional Pain Management* of Manchikanti. L., Trescot. A.M., Christo. P. J. A Comprehensive Review. Paducah, KY: ASIP Publishing, p 543–552.

Franchimont. A. P. N. (2010). Sur le point de fusion des substances organiques. *Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas et de La Belgique.* Vol 16(4), p 126–161.

Freney J., Renaud F., Leclerc R., Riegel P. (2007). Précis de bactériologie clinique. Editeur : Lacassagne et ESKA. 2^{ème} édition. 795-910, 1037-1093, 1121-1148.

Freter. R., Brickner. K. Fekete. J., Vickerman. M. M. Carey. K. E. (1983). Survival and implantation of *Escherichia coli* in the intestinal tract. *Infect Immun.* Vol 39, p 686-703.

-G-

Gales. A. (2009). Role central des Monocytes/Macrophages dans la défense anti-infectieuse ; implication de la polarisation M2 et des marqueurs associés Dectine-1, Récepteur Mannose et Interleukine -10. Thèse en immunologie et maladies infectieuses. Université Toulouse 3 Paul Sabatier, p 70-72.

Gambini. J., Granier. R. (2013). Effets indésirables des rayons x. *Emc-radiologie et imagerie médicale*, p 1-20.

Gamblin. W. (2015). Problèmes posés par l'usage thérapeutique des benzodiazépines : dérivés, mésusages et toxicité. Existe-t-il une alternative ? Thèse en pharmacie. Université de bordeaux France, p 10.

Gams. W., Bissett. J. (2002). Morphology and Identification of *Trichoderma*. In: Kubicek, C.P., Harman, G.E. Eds *Trichoderma and Gliocladium: Basic Biology, Taxonomy and Genetics.* Taylor & Francis Ltd., London, p 3-31.

Garcia-Vazquez. J. A., Lopez-Becerra. M., Masague. J. R. (1984). Coordination Complexes of Some Group (IV) Halides with Monodentate Schiff Bases. *Zeitschrift Für Anorganische Und Allgemeine Chemie*. Vol 508(1), p 187-190.

Gardès-Albert. M. Bonnefont –Rousselot. D., Adedinzadeh. Z., Jore. D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique, p 91-96.

Ghisalberti. E. L., Sivasithamparam. K. (1991). Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. *Soil Biology and Biochemistry*. Vol 23, p 1011– 1020.

Gordon. D. M., Cowling. A. (2003). The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology*. Vol 149(12), p 3575-3586.

Goss. W. A., Deitz. W. H., Cook. T. M. (1964). Mechanism Of Action Of Nalidixic Acid On *Escherichia Coli*. *Journal Of Bacteriology*. Vol 88(4), p 1112-1118.

Govindarajan. S., Nagabalasubramanian. P. B. (2015). Molecular structure and spectroscopic properties of 4- methoxybenzaldehyde based on density functional theory calculations. *Int. J. Adv. Sci. Eng.* Vol 2(2), p 75-86.

Greenblatt. D. J. (1981). Clinical Pharmacokinetics of Oxazepam and Lorazepam. *Clinical Pharmacokinetics*. Vol 6(2), p 89–105.

Griffin. C. E., Kaye. A. M., Bueno. F. R., Kaye. A. D. (2013). Benzodiazepine Pharmacology and Central Nervous System–Mediated Effects. *Ochsner Journal*. Vol 13(2), p 214-223

Guillouty. A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants. Thèse en pharmacie. Université Toulouse 3 Paul Sabatier, p 17.

Guisnet. M., Barrault. J., Bouchoule. C., Duprez. D., Pérot. G., Maurel. R., Montassier. C. (1991). Heterogeneous Catalysis and Fine Chemicals. *Elsevier Science Publishers*, p 314.

-H-

Halliwell. B. (1995). How to characterize an antioxidant: an update. *Biochemical Society Symposium*, Vol 61, p 73–101.

Halliwell. B., Gutteridge. J. M. (2007). Free Radicals in Biology and Medicine. 4th edition, *Oxford University Press*, USA.

Harris. R. C., Straley. J. M. (1968). U.S. Patent 1 537 757. *Chem Abstr*, 73,100054w, (1970).

Haynes. W. M. (2015). (ed). CRC Handbook Of Chemistry and Physics. 95th Edition. CRC Press LLC, Boca Raton, p 3-346.

Hilton. J. W. (1989). Les antioxydants rôles, types et nécessites dans les aliments pour animaux de compagnie. *Can Vet J.* Vol 30, p 834-837.

Howell. C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease.* Vol 87(1), p 4–10.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Chlorobenzaldehyde> 25/05/2020 20:22.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Hydroxybenzaldehyde> 23/05/2020 15:00.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Methoxybenzaldehyde> 24/05/2020 21:15.

-I-

Imran. M., Iqbal. J., Iqbal. S., Ijaz. N. (2007). In Vitro Antibacterial Studies of Ciprofloxacin-imines and Their Complexes with Cu(II),Ni(II),Co(II), and Zn(II). *Turk J Biol*, p 31, 67.

-J-

Jacoby. G. A., Archer. G. L. (1991). New mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *New England journal of medecine.* Vol 9(324), p 12 – 601.

Jasinski. J. P., Butcher. R. J., Narayana. B., Swamy. M. T., Yathirajan. H. S. (2007). Redetermination of 4-hydroxybenzaldehyde. *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online*, Vol 64(1), o187–o187

Jayarajan. R., Vasuki. G., Rao. P. S. (2010). Synthesis and Antimicrobial Studies of Tridentate Schiff Base Ligands with Pyrazolone Moiety and Their Metal Complexes. *Organic Chemistry International*, p 1–7.

-K-

Kamal. A., Laxman. N., Ramesh. G., Neelima. K., Kondapi. A. K. (2001). DNA binding affinity and potent antitumour activity. *Chem. Commun.*, p 437.

Karthikeyan. M. S., Prasad. D. J., Poojary. B., Bhat. K. S., Holla. B. S., Kumari. N. S. (2006). Synthesis and biological activity of Schiff and Mannich bases bearing 2,4-dichloro-5-fluorophenyl moiety. *Bioorg Med Chem.* Vol 14(22), p 7482–7489.

Kashmiri. L., Pinki. Y., Ashwani. K., Anil. K., Avijit. K. P. (2018). Design, synthesis, characterization, antimicrobial evaluation and molecular modeling studies of some dehydroacetic acid-chalcone-1,2,3- triazole hybrids. *Bioorganic chemistry*, Vol 77, p 236-244.

Katritzky. A. R., Rees. C. W. (1984). Comprehensive organic chemistry. Pergamon Oxford, Vol 1, p 166.

Kaye. A. D., Gayle. K., Kaye. A. M. (2012). Pharmacology principles. In: *Moderate and Deep Sedation in Clinical Practice* of Urman. R. D. et Kaye. A. D. Cambridge, p 8–32.

Kelly. M. D., Smith. A., Banks. G., Wingrove. P., Whiting. P. W., Atack. J., Seabrook. G. R., Maubach. K. A. (2002). Role of the histidine residue at position 105 in the human alpha 5 containing GABA(A) receptor on the affinity and efficacy of benzodiazepine site ligands. *Br J Pharmacol.* Vol 135(1), p 248-56.

Kirchner. M. T., Bläser. D., Boese. R., Thakur. T. S., Desiraju. G. R. (2011). Weak C—HO hydrogen bonds in anisaldehyde, salicylaldehyde and cinnamaldehyde. *Acta Crystallographica Section. C*67, o387–o390.

Krüger. C., Augustín. P., Dlhán. L., Pavlik. J., Moncol. J., Nemeč. I., Boc. R., Renz. F. (2015). Iron (III) complexes with pentadentate Schiff-base ligands: Influence of crystal packing change and pseudohalido coligand variations on spin crossover. *Polyhedron.* Vol 87, p 194–201.

Kubicek. C. P., Bissett. J., Druzhinina. I., Kullnig-Gradinger. C., Szakacs. G. (2003). Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma* sp.: a case study on South-East Asian isolates. *Fungal Genet Biol.* Vol 38(3), p 310-319.

Kuo. C. W., Wang. C. C., Kavala. V., Yao. C. F. (2008). Efficient TCT-catalyzed synthesis of 1,5-Benzodiazepine derivatives under mild conditions. *Molecules.* Vol 13, p 2313-2325.

-L-

Labandeira-Rey. M., Couzon. F., Boisset. S., Brown. E. L., Bes. M., Benito. Y., Barbu. E. M., Vazquez. V., Höök. M., Etienne. J., Vandenesch. F., Bowden. M. G. (2007). Staphylococcus aureus Panton-Valentine Leukocidin Causes Necrotizing Pneumonia. *Science*. Vol 315, p 1130–1133.

Lacroix. C., Dubach. M., Feuilhade. M. (2003). Les échinocandines : une nouvelle classe d'antifongiques. *Médecine et Maladies Infectieuses*, Vol 33(4), p 183–191.

Lader. M. (1987). Clinical pharmacology of benzodiazepines. *Ann. Rev. Med.* Vol 38, p 19-28.

Ladhani. S, Joannou. C. L., Lochrie. D. P., Evans. R. W., Poston. S. M. (1999). Clinical, microbial, and biochemical aspects of the exfoliative toxins causing staphylococcal scalded-skin syndrome. *Clin Microbiol Rev.* Vol 12, p 224–242.

Landreau. A. (2001). Métabolites d'une souche de *Trichoderma koningii* Oudemans isolée du milieu marin : Etude chimique, biologique et risques pour les coquillages en culture. Thèse en Pharmacie, Université de Nantes, France, p 201.

Landry. Y., Gies. J. P. (2014). Transmissions GABAergiques. Pharmacologie : des cibles à la thérapeutique. *Dunod*, p 372-386.

Layer. H. L. (1976). Amines, aromatic-phenylenediamines, in Garyson. M and Eckroth. D (Eds) "Kirk-othmer Encycl.Chem.Technol., 3rd Ed., Wiley. New York. Vol 2, p 348-354.

Le Loir. Y., Baron. F., Gautier. M. (2003). Staphylococcus aureus and food poisoning. *Genet Mol Res.* Vol 2(1), p 63–76.

Le Minor. L., Véron. M. (1989). Bactériologie médicale. Ed. Médecine sciences Flammarion, 2^{ème} édition, 389-450, 555-587.

Leverve. X. (2009). Stress oxydant et antioxydants ? *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* Vol 44(5), p 219-224.

Lewis. R. J. Sr. (2012). (ed) Sax's Dangerous Properties Of Industrial Materials. 12th Edition. Wiley- Interscience, Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ. Vol 2, p 323.

Licitra. G. (2013). Etymologia: Staphylococcus. *Emerging Infectious Diseases*. Vol 19(9), p 1553.

-M-

Mahapatra. P., Koizumi. N., Kanetomo. T., Ishida. T., Ghosh. A. (2019). A series of CuII–LnIII complexes of an N2O3 donor asymmetric ligand and a possible CuII–TbIII SMM candidate in no bias field. *New Journal of Chemistry*. Vol 43, p 634-643.

Malgalhaes. L. M., Segundo. M. A., Reis. S., Lima. J. (2008). Methodological Aspects About Vitro Evaluation of Antioxidant Properties. *Analytica Chemical Acta*. Vol 613, p 1-19.

Marks. J. (1991). Benzodiazepine dependence and the therapeutic contract. *Nervure*. Vol 4, p 8-9.

Marnett. L. J., Riggins. J. N., West. J. D. (2003). Endogenous generation of reactive oxidants and electrophiles and their reactions with DNA and protein. *J Clin Invest*. Vol 111, p 583-593.

Martins C. V. B., da Silva. D. L., Neres. A. T. M., Magalhães. T. F. F., Watanabe. G. A., Modolo. L. V., Sabino. A. A., de Fátima. A., de Resende. M. A. (2009). Curcumin as a promising antifungal of clinical interest. *J Antimicrob Chemother*. Vol 63(2), p 337–339.

Martins C. V. B., de Resende. M. A., da Silva. D. L., Magalhães. T. F., Modolo. L. V., Pilli. R. A., de Fátima. A. (2009). In vitro studies of anticandidal activity of goniothalamine enantiomers. *J Appl Microbiol*. Vol 107(4), p 1279–1286.

Meenavilli. H., Potumarthi. R., Jetty. A. (2008). Gentamicin production by *Micromonospora echinospora* (Me- 22) in stirred tank reactor: effect of various parameters. *Journal of Basic Microbiology*, Vol 48(1), p 53–58.

Mesbah. M. (2018). Synthèse, Caractérisation et Application Biologique de Nouveaux Ligands Bases de Schiff et Leurs Complexes métalliques. Thèse en génie des procédés pharmaceutiques. Université Ferhat Abbas Sétif 1, p 34-35.

Michel. F., Bonnefont-Rousselot. D., Mas. E., Drai. J., Thérond. P. (2008) Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques. *Ann Biol Clin*. Vol 66(6), p 605-620.

Migdal. C., Serres. M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Medecine/sciences*. Vol 27, p 405-412.

Miller. R., Abaecherli. C., Said. A., Jackson. B. (2001). Ketenes in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim.

Mugherli. L. (2017). Microarrays fonctionnels de gouttes de la synthèse chimique combinatoire au criblage de molécules bioactives. Thèse en biotechnologie, santé et management. Université Joseph Fourier, France.

-N-

Nauciel. C., Vildé. J. L. (2005). Bactériologie médicale. Ed. Masson, 2^{ème} édition, p 77- 142.

Nawrocka. W., Sztuba. B., Kowalska. M. W., Liszkiewicz. H., Wietrzyk. J., Nasulewicz. A., Pelczyńska. M., Opolski. A. (2004). Synthesis and antiproliferative activity in vitro of 2-aminobenzimidazole derivatives. *Farmaco*, Vol 59(2), p 83–91.

Nedjai. S., Barguigua. A., Djahmi. N., Jamali. L., Zerouali. K., Dekhil. M., Timinouni. M. (2012). Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamases in Klebsiella-Enterobacter-Serratia group bacteria, in Algeria. *Médecine et Maladies Infectieuses*. Vol 42(1), p 20–29.

Novick. R. P., Subedi. A. (2007). The SaPIs: Mobile Pathogenicity Islands of Staphylococcus. *Chemical Immunology and Allergy*. Vol 93, p 42–57.

-O-

O'neil. M. J. (2013). (ed). The Merck Index – An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and biologicals. Cambridge, UK : Royal Society Of Chemistry, p 114.

Ohnhaus. E. E., Brockmeyer. N., Dylewicz. P., Habicht. H. (1987). The effect of antipyrine and rifampin on the metabolism of diazepam. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, Vol 42(2), p 148–156.

Oyaizu. M. (1986). Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn J Nutr*. Vol 44, p 307-315.

-P-

Parekh. J., Chanda. S. V. (2007). In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plant. *Turkish journal of biology*. Vol 31, p 53-58.

Pincemail. J., Meurisse. M., Limet. R., Defraigne. J. O. (1999). Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme : importance en matière de prévention. *Cancerologie. Medi Sphere* 95.

Podrez. E. A., Abu-Soud. H. M., Hazen. S. L. (2000). Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med*. Vol 28, p 1717-1725.

Pouralimardan. O, Chamayou. A. C., Janiak. C., Monfared. H. H. (2007). Hydrazone Schiff base-manganese (II) complexes: Synthesis, crystal structure and catalytic reactivity. *Inorganica chimica acta*. Vol 360(5), p 1599.

Prakash. O., Kumar. A., Singh. P. (2004). Synthesis of Heterocyclic Compounds from the Reactions of Dehydroacetic Acid (DHA) and Its Derivatives. *Heterocycles*. Vol 63, p 1193-1220.

Prieto. A., Leal. J. A., Poveda. A., Jiménez-Barbero. J., Gómez-Miranda. B., Domenech. J., Ahrazem. O., Bernabé. M. (1997). Structure of complex cell wall polysaccharides isolated from *Trichoderma* and *Hypocrea* species. *Carbohydrate Research*. Vol 304(3-4), p 281–291.

Prior. R. L., Wu. X., Schaich. K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Agric. J Agric Food Chem*. Vol 53, p 4290-4302.

Przybylski. P., Huczynski. A., Pyta. K., Brzezinski. B., Bartl. F. (2009). Biological properties of schiff bases and azo derivatives of phenols. *Curr Org Chem*. Vol 13(2), p 124–148.

-R-

Rassweiler. C. F., Adams. R. (1924). The Structure Of Dehydro-Acetic Acid. *Journal of the American Chemical Society*. Vol 46(12), p 2758–2764.

Reddy. B. M., Sreekanth. P. M. (2003). An efficient synthesis of 1,5-benzodiazepine derivatives catalysed by a solid superacid sulfated zirconia. *Tetrahedron letters*. Vol 44, p 4447-4449.

Reid. W., Torinus. E. (1959). Über heterocyclische Siebenringsysteme, X. Synthesen kondensierter 5-, 7- und 8-gliedriger Heterocyclen mit 2 Stickstoffatomen,” *Chemische Berichte*, Vol 92(11), p 2902–2916.

Reino. J. L., Guerrero. R. F., Hernandez-Galan. R., Collado. I. G. (2008). Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry Reviews*. Vol 7, p 89–123.

Rice. L. B. (2006). Unmet medical needs in antibacterial therapy. *Biochem Pharmacol*. Vol 71(7), p 991–995.

Rida. M., El Ghayati. L., Essassi. E. M. (2018). Les 1,5-benzodiazépines : synthèses et réactivités. *J.Mar.Chim.Heterocycl*. Vol 17, p 42-82.

Rifai. M. A. (1969). A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers*. Vol 116, p 1-56.

Rochette. L. (2008). Stress oxydant et sepsis. *Réanimation*. Vol 17(6), p 1-4.

Roquebert. M. F. (1996). Interactions antagonistes des *Trichoderma* sp dans les systèmes telluriques : Systématique, biologie et écologie des organismes. Compte rendu de 4ème Rencontre en Toxicologie, Paris, p 13-15.

Ruch. R. J., Cheng. S. J., Klaunig. J. E. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Caranogen*. Vol 10, p 1003-1008.

-S-

Sampath. N., Mathews. R., Ponnuswamy. M. N. (2010). Crystal Structure and Conformation Study of 4-Chlorobenzaldehyde Thiosemicarbazone Derivative. *J Chem Crystallogr* Vol 40, p 1110–1114.

Satyanarayana. K., Rao. M. N. A. (1993). Anti-inflammatory, analgesic and anti-pyretic activities of 3-(4-(3-(4-dimethylaminophenyl)-1-oxo-2-propenyl) phenyl) sydnone. *Indian Drugs*. Vol 30, p 313–318.

Schiff. H. (1864). Mittheilungen aus dem Universitätslaboratorium in Pisa: Eine neue Reihe organischer Basen. *Justus Liebigs Annalen Der Chemie*, Vol 131(1), p 118–119.

Sharma. D., Patel. R. P., Zaidi. S. T. R., Sarker. M. M. R., Lean. Q. Y., Ming. L. C. (2017). Interplay of the quality of ciprofloxacin and antibiotic resistance in developing countries. *Frontiers in Pharmacology*. Vol 8(546), p 1-7.

Sharma. N. Joshi. Y. C. (2012). Synthesis of some novel 2,4-disubstituted-1,5benzodiazepine derivatives under solvent – free microwave irradiation conditions and their antimicrobial evaluation. *Int J Pharm Biomed Sci*. Vol 3(2), p 55-59.

Siddhuraj. P., Becker. K. (2007). The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) seed extracts. *Food Chem*. Vol 101, p 10-19.

Singleton. V., Rossi. J. (1965). Colorimetry of Total Phenolic Compounds with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. Vol 16, p 144-158.

Smati. M., Clermont. O., Le Gal. F., Schichmanoff. O., Jauréguy. F., Eddi. A., Denamur. E., Picard. B., C. Group. (2013). Real-time PCR for quantitative analysis of human commensal *Escherichia coli* populations reveals a high frequency of subdominant phylogroups. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 79(16), p 5005-5012.

Smirnoff. N., Cumbes., Q. J. (1989). Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*. Vol 28, p 1057–1060.

Spadone. C., Glikman. M. (2008). L'étifoxine : un nouveau regard sur le récepteur GABA et l'anxiété. *L'Encéphale*. Vol 34(1), p 1–11.

Stahlhut. S. G., Struve. C., Krogfelt. K. A., Reisner. A. (2012). Biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* on urethral catheters requires either type 1 or type 3 fimbriae. *FEMS Immunol Med Microbiol*. Vol 65, p350–359.

Stuart. B. (2005). Infrared Spectroscopy. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. Vol 14, p 1.

Sundriyal. S., Sharma. R. K., Jain. R. (2006). Current advances in antifungal targets and drug development. *Curr Med Chem*. Vol 13(11), p 1321–1335.

Suresh. M. S., Prakash. V. (2011). *International Journal of the Physical Sciences*. Vol 5(14), p 2203-2211.

-T-

Tadele. K. T. (2017). Antioxidant Activity of Schiff Bases and Their Metal Complexes: A Recent Review. *Journal of pharmaceutical and medicinal research*. Vol 3(1), p 73-77.

Tang. W. (1992). Eisenbrand, G. Chinese Drugs of Plant Origin; Springer: Heidelberg, Berlin, p 545–547.

Taqui Khan. M. M., Mizra. S. A., Shaikh. Z. A., Sreelatha. C., Paul. P., Shula. R. S., Srinivas. D., Prakash Rao. A., Abdi. S. H. R., Bhatt. S. D., Ramachandraiah. G. (1992). Polyhedron. Vol 11, p 1821-1827.

-U-

Urman. R. D., Kaye. A. D. (2012). Pharmacology principles. *Moderate and Deep Sedation in Clinical Practice*. Cambridge, p 8–32.

-V-

Van Hulst. A., Koekkoek. K., Tjan. D. H. T., Lammers. H. J. W., Smulders. C. A. (2018). A Comatose Patient with a Bluish Tongue. *Clinical Chemistry*. Vol 64(8), 1143-1145.

Vertuani. S., Angusti. A., Manfredini. S. (2004). The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. *Current Pharmaceutical Design*. Vol 10, p 1677-1694.

Vila. J., Sáez-López. E., Johnson. J. R., Römling. U., Dobrindt. U., Cantón. R., Giske. C. G., Naas. T., Carattoli. A., Martínez-Medina. M., Bosch. J., Retamar. P., Rodríguez-Baño. J., Baquero. F., Soto. S. M. (2016). Escherichia coli: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiol Rev*. Vol 40(4), p 437-463.

Vinale. F., Marra. R., Scala. F., Ghisalberti. E. L., Lorito. M., Sivasithamparam. K. (2006). Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. *Lett Appl Microbiol*. Vol 43, p 143–148.

-W-

Wagner. B. A., Buettner. G. R., Burns. C. P. (1994). Free Radical mediated Lipid Peroxidation in Cells: Oxidizability is a Function of Cell Lipid bisallylic Hydrogen Content. *Biochemistry*. Vol 33(15), p 4449-4453.

Wang. J., Yuan. X., Jin Z., Tian. Y., Song. H. (2007). Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract. *Food Chemistry*. Vol 104, p 242-250.

Wertheim. H. F., Melles. D. C., Vos. M. C., van Leeuwen. W., Van Belkum. A., Verbrugh. H. A., Nouwen. J. L. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet Infectious Diseases*. Vol 5(12), p 751–762.

-Y-

Yadav. J. S., Srivastava. Y. K. (2011). Microwave assisted rapid and efficient synthesis, characterization and pharmacological evaluation of some novel benzimidazole assembled 1,5-benzodizepine and 1,5-benzothiazepine derivatives. *Der Pharmacia Lettre*. Vol 3(2), p 284-291.

Young. I. S., McEneny, J. (2001). Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochemical Society Transactions*. Vol 29(2), p 358.

-Z-

Zaranappa, Vagdevi. H. M., Jayanna. N. D., Latha. K. P. (2012). Synthesis, Characterization and evaluation of Antibacterial Activity of some 3-Substitutedphenylquinazoline -2,4-diones. *Der pharma chemica*. Vol 4(4), p 1754-1758.

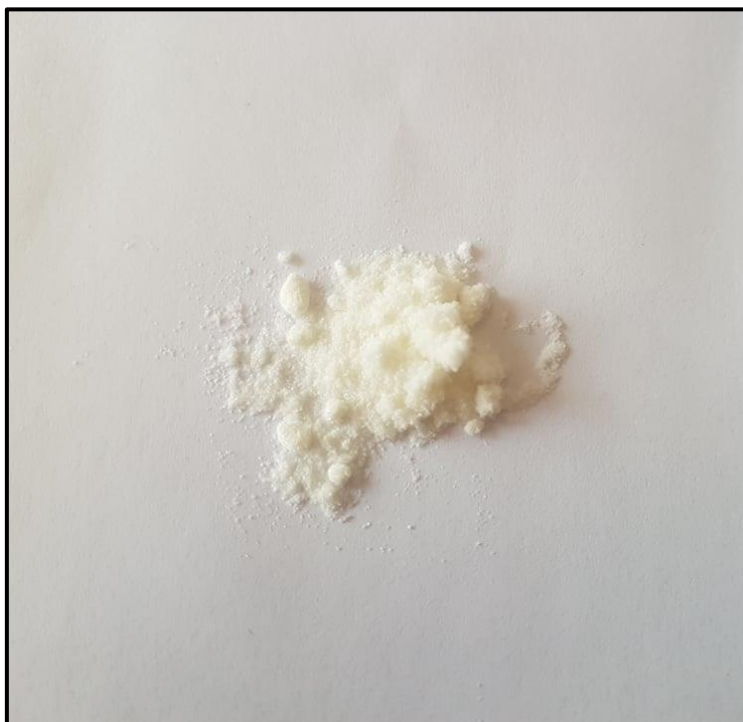
Zerargui. F. (2015). Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives. Thèse en biochimie. Université Ferhat Abbas Sétif.

Zhou. J., Yang. Q., Zhu. X., Lin. T., Hao. D., Xu. J. (2020). Antioxidant activities of *Clerodendrum cyrtophyllum* Turcz leaf extracts and their major components. *PLOS ONE*, Vol 15(6), e0234435.

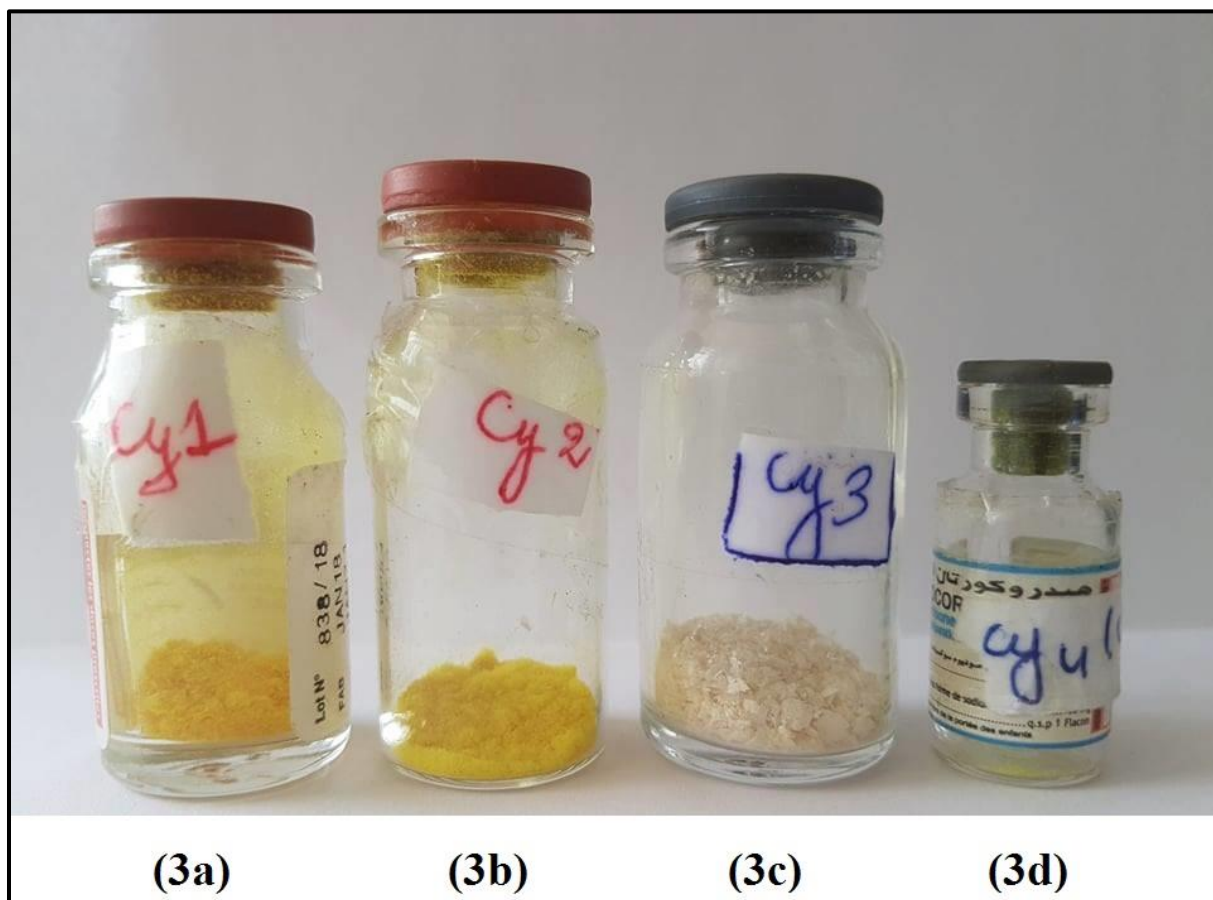
Zoubeydi. C. (2017). Elaboration des electrodes modifiées contenant des espèces antioxydantes. Thèse en génie électrochimie. Université Ferhat Abbas Sétif 1, p 13.

Annexes

Annexe 1 : Acide déhydroacétique.



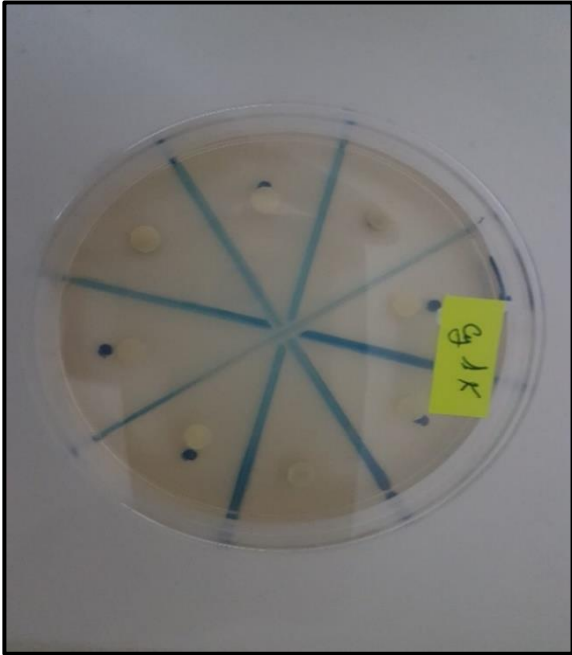
Annexe 2 : Composés synthétisés.



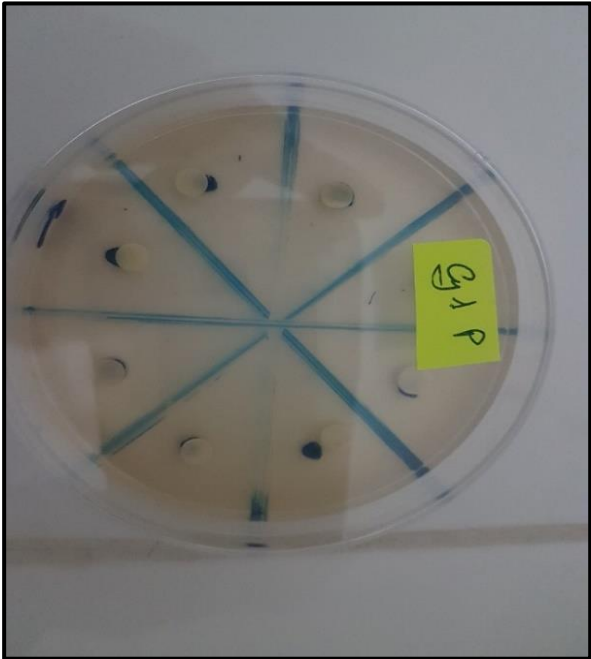
Annexe 3 : Test de l'activité du pouvoir réducteur du fer.



Annexe 4 : Tests antibactériens.



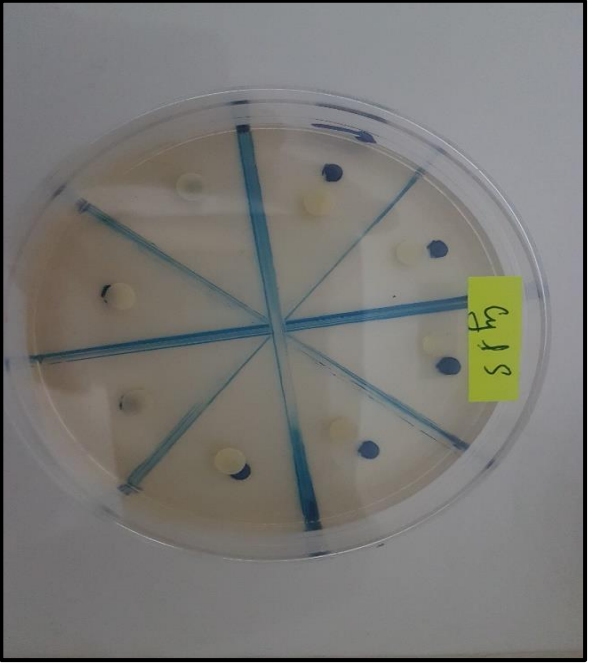
K. pneumoniae



P. aeruginosa

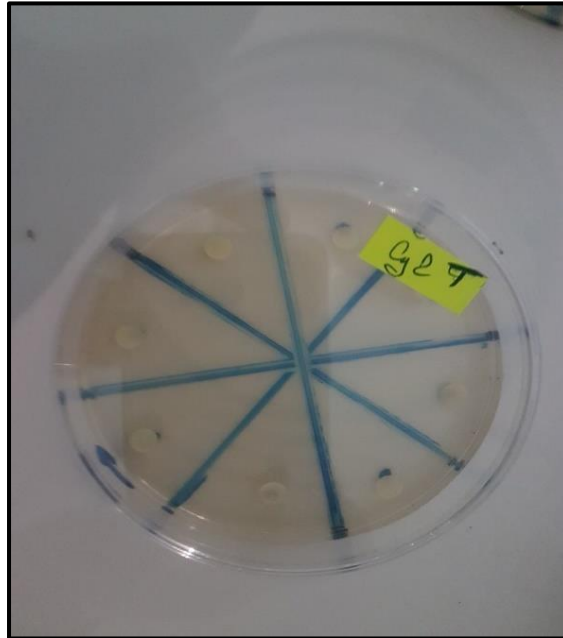


E. coli



S. aureus

Annexe 5 : Test antifongique.



Trichoderma harzianum Rifai

Annexe 6 : Chauffe-Ballon de laboratoire avec agitateur magnétique (Laboratoire de Physicochimie Analytique et Cristallochimie des Matériaux Organométalliques et Biomoléculaires, Université des Frères Mentouri Constantine 1).

C'est un équipement de mélange magnétique avec chauffage dont les caractéristiques sont :

- **La puissance de chauffe et la vitesse d'agitation sont réglables en continu.**
- **Avec support de thermomètre réglable, tiges en acier inoxydable et barre d'agitation.**



Annexe 7 : Spectrophotomètre à UV visible (Laboratoire de Biochimie RDC, Université des frères Mentouri Constantine1).

Le spectrophotomètre à UV visible est un appareil permettant d'effectuer une mesure spectrométrique. Il sert à déterminer l'absorbance d'une substance chimique en solution en fonction d'une longueur d'onde.

En d'autres termes, la mesure de sa capacité à absorber la lumière qui traverse la substance chimique.



Annexe 8 : Bain Marie (Laboratoire de Biochimie RDC, Université des frères Mentouri Constantine 1).

Le bain-marie est un des équipements de laboratoire permettant de chauffer un récipient dans un bain d'eau ou d'huile (en fonction de la température souhaitée) tout en évitant la destruction de molécules par contact avec la paroi du récipient.



Annexe 9 : Balance analytique (Laboratoire de Physicochimie Analytique et Cristallochimie des Matériaux Organométalliques et Biomoléculaires, Université des Frères Mentouri Constantine 1).

Les Balances analytiques sont des instruments hautement sensibles conçus pour mesurer la masse avec exactitude. Leur lecture a une plage de 0.1 mg - 0.01 mg. Les balances analytiques ont un paravent ou une chambre de pesée pour que les petits échantillons ne soient pas affectés par les courants d'air. Elles sont faites pour détecter des incréments infimes, donc la moindre vibration ou brise peut affecter les résultats. Elles doivent être supervisée avec attention et calibrée fréquemment.



Annexe 10 : Etuve (Laboratoire d'Obtention de substances thérapeutiques LOST)

Une étuve de laboratoire est un appareil de chauffage fonctionnant le plus souvent à la pression atmosphérique (parfois sous vide ou sous gaz neutre) et permettant d'effectuer divers traitements thermiques à température régulée. Elle est utilisée également en microbiologie pour maintenir les cultures de microbes à température constante et donc faciliter leur développement.



Résumé

Le présent travail est une contribution à la synthèse de composés Benzodiazépines en deux étapes à partir de l'acide déhydroacétique (3-acétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyra-2-one) et l'évaluation de leur potentiel antioxydant et antimicrobien. La réaction du précurseur DHA avec l'orthophénylènediamine conduit à la formation d'une base de Schiff, ensuite, cette dernière réagit avec un benzaldéhyde substitué en position 4 par OCH₃, OH, H ou Cl, afin d'obtenir une famille polyfonctionnelle de 1,5 Benzodiazépines (3a-3d) avec de bons rendements. Les composés obtenus sont structuralement analysés par spectroscopie infrarouge, et leurs propriétés physico-chimiques étudiées. Des tests biologiques *in vitro* ont donné des résultats encourageants pour les activités antioxydantes suivantes : le piégeage du radical hydroxyle, le pouvoir réducteur du fer et la réduction du peroxyde d'hydrogène, ainsi que pour les activités antibactériennes et antifongiques. Ces résultats sont une première étape qui s'inscrit dans le cadre de la valorisation des Benzodiazépines synthétisées, tant sur le plan chimique que sur le plan biologique, et qui ouvrent le champ à des études plus approfondies sur ces composés.

Mots clés : Acide déhydroacétique, bases de Schiff, Benzodiazépines, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

ملخص

العمل الحالي هو مساهمة في توليف مركبات بنزوديازيبين على مرحلتين من حمض ديهيدروأسيستيك (3-أسيثيل-4-هيدروكسي-6-ميثيل-2-هيدروجين-بير-2-واحد) وتقييم إمكاناتها المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات. يؤدي تفاعل السليف حمض ديهيدروأسيستيك مع الأورطو-فينيلان-دي-أمين إلى تكوين قاعدة شيف، ثم تتفاعل هذه الأخيرة مع بنزالدهيد مستبدل في الموضع 4 بواسطة OCH_3 ، OH ، H أو Cl ، من أجل الحصول على عائلة متعددة الوظائف من 1,5 بنزوديازيبينات (3 أ-3 د) مع مردودات جيدة. يتم تحليل المركبات التي تم الحصول عليها هيكلياً بواسطة التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء، ودراسة خصائصها الفيزيائية والكيميائية. أظهرت الاختبارات البيولوجية المخبرية نتائج مشجعة للأنشطة المضادة للأكسدة التالية: مسح جذر الهيدروكسيل، تقليل قوة الحديد وتقليل بيروكسيد الهيدروجين، وكذلك للأنشطة المضادة للبكتيريا والفطريات. هذه النتائج هي الخطوة الأولى التي تعد جزءاً من تطوير البنزوديازيبينات المركبة، كيميائياً وبيولوجياً، والتي تفتح المجال لمزيد من الدراسات المتعمقة حول هذه المركبات.

الكلمات المفتاحية: حمض ديهيدروأسيستيك، قاعدة شيف، بنزوديازيبينات، أنشطة مضادة للأكسدة، أنشطة مضادة للميكروبات.

Abstract

The present work is a contribution to the synthesis of two-step Benzodiazepine compounds from dehydroacetic acid (3-acetyl-4-hydroxy-6-methyl-2H-pyridin-2-one) and the evaluation of their antioxidant and antimicrobial potential. The reaction of the precursor DHA with orthophenylenediamine leads to the formation of a Schiff base, then the latter reacts with a benzaldehyde substituted in position 4 by OCH₃, OH, H or Cl, to obtain a polyfunctional family of 1,5 Benzodiazepines (3a-3d) with good yields. The compounds obtained are structurally analysed by infrared spectroscopy, and their physicochemical properties studied. In vitro bioassays have shown encouraging results for the following antioxidant activities: hydroxyl radical scavenging, iron reduction and hydrogen peroxide reduction, as well as antibacterial and antifungal activities. These results are a first step in the upgrading of synthesized Benzodiazepines, both chemically and biologically, and open the way for further studies on these compounds.

Key words: Dehydroacetic acid, Schiff base, Benzodiazepines, antioxidant activity, antimicrobial activity.

Année universitaire : 2019/2020

Présenté par : MERABET Skander Amine

SEKHSOUKH Mohamed Nabil

Synthèse et évaluation *in vitro* du potentiel antioxydant et antimicrobien d'une série de composés 1,5 Benzodiazépines

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Résumé :

Le présent travail est une contribution à la synthèse de composés Benzodiazépines en deux étapes à partir de l'acide déhydroacétique (3-acétyl-4-hydroxy-6-méthyl-2H-pyridin-2-one) et l'évaluation de leur potentiel antioxydant et antimicrobien. La réaction du précurseur DHA avec l'orthophénylènediamine conduit à la formation d'une base de Schiff, ensuite, cette dernière réagit avec un benzaldéhyde substitué en position 4 par OCH₃, OH, H ou Cl, afin d'obtenir une famille polyfonctionnelle de 1,5 Benzodiazépines (3a-3d) avec de bons rendements. Les composés obtenus sont structuralement analysés par spectroscopie infrarouge, et leur propriétés physico-chimiques étudiées. Des tests biologiques *in vitro* ont donné des résultats encourageants pour les activités antioxydantes suivantes : le piégeage du radical hydroxyle, le pouvoir réducteur du fer et la réduction du peroxyde d'hydrogène, ainsi que pour les activités antibactériennes et antifongiques. Ces résultats sont une première étape qui s'inscrit dans le cadre de la valorisation des Benzodiazépines synthétisées, tant sur le plan chimique que sur le plan biologique, et qui ouvrent le champ à des études plus approfondies sur ces composés.

Mots clés : Acide déhydroacétique, bases de Schiff, Benzodiazépines, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Laboratoire de recherche

Laboratoire d'Obtention de Substances Thérapeutiques LOST.

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : *DAFFRI Amel* (MCB – UFM Constantine 1)

Rapporteur : *MOUAS Toma Nardjes* (MCA – UFM Constantine 1)

Co-encadreur : *DJEDOUANI Amel* (Pr – ENS Constantine 3)

Examinatrice : *BOUCHERIT Zeyneb* (MAA – UFM Constantine 1)

Date de soutenance : 28 / 06 / 2020