

ABOU BEKR BELKAID UNIVERSITY
TLEMCEM
FACULTY OF MEDICINE- Dr. B. BENZERDJEB
PHARMACY DEPARTMENT



جامعة أبو بكر بلقايد - تلمسان
كلية الطب - د. ب. بن زرجب
قسم الصيدلة

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

THÈME :

Synthèse et identification de molécules à effet antioxydant

Présenté par :

**HAFFAF Mehdi
HADJIRA Aissa**

Soutenu le

Mardi 11 Juillet 2023

Jury

Président :

Pr/ BENSALD Okkacha

Professeur en chimie appliquée

Membres :

Dr/ BEGHADADI Sarah El-Mansouria

Maitre Assistante en chimie thérapeutique

Dr/ AOUNALLAH Aicha Houaria

Maitre Assistante en chimie thérapeutique

Encadrant :

Dr/ LOUZIM Habiba

Maitre Assistante en chimie thérapeutique

Co-Encadrant

Dr/ HAMZI Imane

Maitre de conférences Classe A en chimie organique

Année universitaire : 2022-2023

REMERCIEMENTS

En préambule à ce mémoire, nous tenons à remercier **Allah** qui nous a donné la patience et le courage tout au long de ces années d'études.

À notre encadrante, Dr LOUZIM Habiba, [Maitre-Assistante en chimie thérapeutique] :

Nous considérons comme un privilège d'avoir été membres de votre équipe et d'avoir pu bénéficier de vos qualités remarquables et de vos valeurs exemplaires. Votre engagement inébranlable, votre expertise indéniable et votre dévouement sans faille ont laissé une empreinte profonde sur notre parcours. En cet instant, nous souhaitons exprimer toute notre estime et notre admiration sincère pour votre excellence tant sur le plan scientifique que sur le plan humain. Ce mémoire est une occasion précieuse de vous témoigner notre gratitude profonde et authentique.

A notre co-encadrante, Dr HAMZI Imane, [Maitre de conférences A en chimie organique] :

Nous souhaitons également exprimer notre gratitude à notre co-encadrante, nous sommes reconnaissants d'avoir pu bénéficier de ses conseils éclairés et de sa collaboration fructueuse. Son implication active et son engagement ont grandement enrichi notre expérience. Nous lui témoignons notre profonde reconnaissance pour sa contribution significative à notre mémoire.

À notre président du jury, Pr BENSALIM Okkacha [Professeur en chimie appliquée] :

Nous vous remercions pour l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de juger ce mémoire de fin d'étude. Votre compétence et votre bienveillance suscitent notre grande estime. Nous tenons à vous exprimer ici nos sincères remerciements.

À, Dr BEGHADADI S.M [Maitre Assistante en chimie thérapeutique] et Dr AOUNALLAH A.H [Maitre Assistante en chimie thérapeutique] membres du jury :

Nous vous remercions chaleureusement d'avoir accepté de faire partie de notre jury de mémoire de fin d'étude. Votre présence et votre participation spontanée à l'évaluation de notre travail sont très appréciées. Veuillez croire, chers docteurs, en notre respect et notre considération.

DEDICACES

Je voudrais d'abord dédier ce travail à ma chère **Maman** qui a été là jour et nuit depuis le début, mes remerciements ne sauraient combler tout ce que tu as fait pour moi, ainsi que mon chère et unique frère **Mokhtar** et ma belle-sœur **Meriem**, qui m'ont encouragé à faire Pharmacie et à toujours donner le meilleur de moi-même, Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis toujours et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

Je remercie aussi mon grand-père **AbdelKafi** et mes deux grands-mères **Djamila** et **Choumicha** pour leurs encouragements et leurs douaa qui nous ont aidé quand on en avait le plus besoin.

Ma Tante **Souad** et son mari **Hichem**, Ma tante **Salima** et son mari **Zahir**, Mes deux tantes **Kamila** et **Zaket**, mon oncle maternel **Mohammed** et sa femme **Batoul**, Mes deux oncles paternels **Rafik** et sa femme **Nadjia** ainsi que **Reda** et sa femme **Samira**, à tous mes cousins **Ismail**, **Ilyes**, **Zakaria** et **Khalil**, mes cousines **Nihel** et sa ptite famille, **Ikram**, **Hadjer**, **Wafaa**, **Imene**, **Ismahene**, **Niama** et **Meriem**. Et à cette personne qui m'appellera tonton toute ma vie.

A mes amis de toujours **Zinou**, **Djamel**, **Lokman**, **Nadjib**, **Hocine**, **Ismail** et **Aymen**.

A mes confrères et collègues **Mohammed**, **Ahmed**, **Feth-Allah**, **Lhadi**, **Walid** et **Zaki** et spécialement à mon chère binôme **Aissa** qui a été toujours d'un sérieux irréprochable, pour les souvenirs pendant toutes ses années. Sans oublier mes consœurs **Anfel**, **Faiza** et **Nardjesse**.

Je voudrais maintenant dédier ce travail à mon chère **Papa** allah yerehmo, ce travail il est pour lui, aussi à tous ceux qui nous ont quitté, mon grand-père **Mokhtar**, le mari de ma tante **Rachid**, mon ami **Mehdi** et nos collègues **Adil** et **Zakaria** allah yerhamhoum w ywesse alihoum.

Merci à vous tous, sans vous je ne suis rien, sans moi vous êtes tous.

HAFFAF Mehdi (daddy framboise)

DEDICACES

Je dédie ce mémoire de fin d'étude à :

MERCI ALLAH

Je remercie en tout premier le dieu tout puissant qui ne cesse de me protéger, merci Seigneur de m'accorder ta bénédiction à travers ma soutenance.

Mes chers parents

Merci pour votre soutien tout au long de ces années, tous les mots ne sauraient exprimer l'immense amour que je porte à vous, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

A mes chers frères

Merci pour votre soutien moral, votre aide. Je vous souhaite le bonheur et la réussite dans vos vies.

A mon cher collègue pour son soutien moral et sa patience tout au long de ce projet

A tous mes chers enseignants qui m'ont guidé depuis mon premier jour jusqu'aujourd'hui

En souvenir éternel de mon cher ami Yacine, mon ami.

Hadjira Aissa

TABLEAU DES MATIERES

REMERCIEMENTS	I
DEDICACES.....	II
TABLEAU DES MATIERES.....	IV
LISTE DES FIGURES.....	VIII
LISTE DES TABLEAUX	IX
LISTE DES ABREVIATION	X
INTRODUCTION.....	1
REVUE DE LITTERATURE.....	4
I. STRESS OXYDATIF, ESPECES ET RADICAUX LIBRES.....	4
1 STRESS OXYDATIF	1
DEFINITION	1
2 LES RADICAUX LIBRES	2
2.1 DEFINITION ET CLASSIFICATION DES RADICAUX LIBRES	2
2.2 ROLE PHYSIOLOGIQUE DES RADICAUX LIBRES	3
2.3 SOURCES ENDOGENES DE RADICAUX LIBRES.....	3
<i>Les Espèces Réactives</i>	3
2.4 SOURCES EXOGENES DE RADICAUX LIBRES	4
2.5 DOMMAGES OXYDATIFS CELLULAIRES	5
2.5.1 <i>Sur l'ADN</i>	5
2.5.2 <i>Sur les lipides</i>	5
2.5.3 <i>Sur les sucres</i>	5
2.5.4 <i>Sur les protéines</i>	5
2.6 LES ESPECES PARTICIPANT AU STRESS OXYDATIF	6
2.6.1 <i>Les espèces radicalaires</i>	6
2.6.2 <i>Les espèces non radicalaires</i>	6
3 LES MALADIES LIEES AU STRESS OXYDANT	8
3.1 LES MALADIES CARDIOVASCULAIRES (MCV).....	8
3.2 LES MALADIES NEURODEGENERATIVES	8
3.3 LES CANCERS.....	8
4 SYSTEMES DE DEFENSES ANTI OXYDANTS.....	9
4.1 COMPOSANTE ENZYMATIQUE.....	10

4.1.1	<i>La superoxyde dismutase (SOD)</i>	10
4.1.2	<i>La catalase (l'hydroperoxydase)</i>	11
4.1.3	<i>Les peroxydases</i>	12
4.2	COMPOSANTE NON ENZYMATIQUES	14
4.2.1	<i>Les antioxydants endogènes</i>	14
4.2.2	<i>Les antioxydants d'origine alimentaire</i>	16
	REACTIFS DE DEPART	21
5	N-ACETYLCYSTEINE	22
5.1	HISTORIQUE DE LA DECOUVERTE DU N-ACETYLCYSTEINE.....	22
5.2	ORIGINE ET SOURCES DE PRODUCTION	22
	<i>L-cystéine</i>	22
5.3	PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUE.....	24
5.4	MECANISME D'ACTION DU N-ACETYLCYSTEINE	25
5.5	UTILISATION THERAPEUTIQUE DU N-ACETYLCYSTEINE	25
5.5.1	<i>L'empoisonnement au paracétamol</i>	26
5.5.2	<i>Bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO)</i>	26
5.5.3	<i>La N-acétylcystéine dans les maladies neurodégénératives</i>	27
6	L'ACIDE AZELAÏQUE	28
6.1	HISTORIQUE DE LA DECOUVERTE DE L'ACIDE AZELAÏQUE	28
6.2	ORIGINE ET SOURCES DE PRODUCTION	28
6.3	PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUE.....	29
6.4	UTILISATION DE L'ACIDE AZELAÏQUE.....	30
	<i>Mécanisme d'action</i>	30
7	HYDROXYACETOPHENONE	32
7.1	DEFINITION, ORIGINES ET SOURCES	32
7.2	PROPRIETES.....	32
7.3	ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	32
	PARTIE PRATIQUE	34
II.	SYNTHESE, IDENTIFICATION ET EVALUATION DE MOLECULES A EFFET ANTIOXYDANTS	34
	REACTIFS, MATERIELS ET METHODES	35
1	SYNTHESE	37
1.1	LA RÉACTION D'ACYLATION	37
1.1.1	<i>L'ésterification</i>	37
1.1.2	<i>L'amidification</i>	38

1.2	MONTAGES UTILISES	38
2	PREPARATION DES COMPOSES A PARTIR DE LA N-ACETYLCYSTEINE.....	40
2.1	COMPOSÉ E.NAC-ET, RÉACTION AVEC L'ÉTHANOL:	40
2.1.1	<i>Réactifs</i>	40
2.1.2	<i>Matériels</i>	41
2.1.3	<i>Méthode</i> :.....	41
2.2	COMPOSÉ E.NAC-AS, RÉACTION AVEC L'ACIDE SALICYLIQUE :	41
2.2.1	<i>Réactifs</i>	41
2.2.2	<i>Matériels</i>	42
2.2.3	<i>Méthode</i>	42
3	PREPARATION DES COMPOSES A PARTIR DE L'ACIDE AZELAÏQUE	43
3.1	COMPOSÉ E.AA-ET, RÉACTION AVEC L'ÉTHANOL:	43
3.1.1	<i>Réactifs</i>	43
3.1.2	<i>Matériels</i>	43
3.1.3	<i>Méthode</i>	44
3.2	COMPOSE E.AA-2HA : REACTION AVEC LA 2-HYDROXUACETOPHENONE :	44
3.2.1	<i>Réactifs</i>	45
3.2.2	<i>Matériels</i>	45
3.2.3	<i>Méthode Protocole 01</i> :	45
3.2.4	<i>Méthode Protocole 02</i> :	46
4	CARACTERISATION	46
4.1	CARACTERES ORGANOLEPTIQUES	46
4.2	REACTION COLOREE D'ORIENTATION :	46
4.3	DETERMINATION DU POINT DE FUSION DES PRODUITS SOLIDES	46
4.3.1	<i>Principe</i>	46
4.3.2	<i>Démarche</i>	46
4.4	SPECTRES INFRA-ROUGE	47
4.4.1	<i>Principe</i>	47
5	ACTIVITE ANTIOXYDANTE	48
5.1	PIEGEAGE DU RADICAL DPPH	48
5.1.1	<i>Principe</i>	48
5.1.2	<i>Démarche</i>	48
	RESULTATS.....	50
1	SYNTHESE ET IDENTIFICATION DES MOLECULES EN ETUDE :	51

1.1	PREPARATION DES COMPOSES A PARTIR DU NAC :	51
1.1.1	<i>Synthèse du E.NAC-Et :</i>	51
1.1.2	<i>Synthèse de l'E.NAC-AS :</i>	51
1.2	PREPARATION DES COMPOSES A PARTIR DE L'ACIDE AZELAÏQUE	52
1.2.1	<i>Réaction avec l'éthanol :</i>	52
1.2.2	<i>Réaction avec la 2-hydroxyacétophenone :</i>	52
	DISCUSSION	54
	CONCLUSION	59
	ANNEXES	62
	RÉFÉRENCES	66
	RESUME	73
	ABSTRACT	74
	ملخص	74

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Stress oxydatif	1
Figure 2. Radical libre au niveau de sa couche de valence.	2
Figure 3. Maladies liées aux stress oxydatif au niveau du corps humain	9
Figure 4. Enzymes intervenant dans la réduction des ERO.	10
Figure 5. Role de la SOD dans la conversion du radical superoxyde	10
Figure 6. Réaction à la quel participe la catalase	11
Figure 7. Structure de la catalase héminique	12
Figure 8. Structure du Gluthation	15
Figure 9. Structure coenzyme Q10	16
Figure 10. Structure de la vitamine E	17
Figure 11. Structures des principales formes de vitamine C. À pH physiologique, la vitamine C réduite existe principalement sous forme d'anion ascorbate en raison de son faible Pka.	17
Figure 12. Régénération de la vitamine C	18
Figure 13. Divers caroténoïdes naturels	19
Figure 14. Structure de la N-acétylcystéine.....	22
Figure 15. Structure du Glutathion et de la L-cystéine.....	23
Figure 16. Comparaison structurel entre N-Acétylcystéine et Carbocystéine.....	26
Figure 17. Structure Acide azélaïque	28
Figure 18. Ozonolyse de l'acide oléique(65)	29
Figure 19. Structure de la 2-hydroxyacetophenone	32
Figure 20. Mécanisme de l'estérification	38
Figure 21. Mécanisme de l'amidification	38
Figure 23. Montage d'un chauffage à reflux avec réfrigérant à boules	39
Figure 22. Montage d'un DEAN-STARK.....	40
Figure 24. Réaction entre le N-acétylcystéine et l'éthanol.....	40
Figure 25. Réaction entre le N-acétylcystéine et l'acide salicylique sur Dean-Starck.....	41
Figure 29. Réaction entre l'acide azélaïque et l'éthanol.....	43
Figure 30. Réaction entre l'acide azélaïque et la 2-hydroxyacétophénone.....	44
Figure 31. Montage d'hydro-distillation	45

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Propriétés physico-chimique du N-acétylcystéine	24
Tableau II. Propriétés physico-chimique de l'acide azélaïque (66)	29
Tableau III. Réactifs utilisés pour la synthèse du composé E.NAC-Et.....	40
Tableau IV. Réactifs utilisés pour la synthèse du composé E.NAC-AS	41
Tableau V. Réactifs utilisés pour la synthèse du E.AA-Et.....	43
Tableau VI. Réactifs utilisés pour la synthèse de l' E.AA-2HA	45
Tableau VIII. Test de présence de groupement phénol lors de la synthèse du E.NAC-Et.....	51
Tableau IX. Test de présence de groupement phénol.....	52
Tableau X. Test de solubilité sur les réactifs de départ	56

LISTE DES ABREVIATION

2HA : 2-hydroxyacetophenone

AA : Acide Azélaïque

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ATP : Adénosine triphosphate

BPCO : Bronchopneumopathie chronique obstructive

CAT : Catalase

Cu : Cuivre

DPPH : DiPhenyl Picryl Hydrazyl

DRO : Dérivés Réactifs de l'oxygène

E. AA-2HA : Ester de la réaction acide azélaïque et la 2-hydroxyacetophenone

E. AA-Et : Ester de la réaction Acide azélaïque et l'éthanol

E. NAC-As : Ester de la réaction N-acétylcystéine et l'acide salicylique

E. NAC-Et : Ester de la réaction N-acétylcystéine et l'éthanol

EPO : Peroxydase éosinophile

ERN : Espèce Réactive de l'azote

ERO : Espèce Réactive de l'oxygène

FDA : Food and Drug Administration

Fe : Fer

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

IR : Infrarouge

LPO : Lactoperoxydase

MCV : Maladies Cardio-Vasculaire

Mn : Manganèse

MPO : myéloperoxydase

NAC : N-acétylcystéine

NADP : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NAPQI : N-acétyl-p-benzoquinone imine

NMDA : récepteur au N-méthyl-D-aspartate

NOS : Nitrique Oxyde Synthase

PCATS : Superfamille des peroxydases catalases

PCOXS : Superfamille des peroxydases cyclo-oxygénases

pH : potentiel d'hydrogène

SD : Super Dopamine

SDA : Super Dopamide

SOD : Superoxyde Dismutase

SVCT : Sodium-dépendent vitamine C transporter

TPO : Peroxydase thyroïdienne

UV : Ultra-Violet

Zn : Zinc

INTRODUCTION

L'oxydation est un processus naturel qui se produit dans l'organisme en raison de l'exposition à des facteurs de stress oxydatif, tels que la pollution de l'air, le tabagisme, l'alcool, le stress, les infections, etc. Ce processus entraîne la production de radicaux libres qui peuvent endommager les cellules et les tissus, provoquant ainsi une inflammation chronique et diverses maladies, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, la maladie d'Alzheimer, etc. (1)

C'est pourquoi les antioxydants sont des molécules importantes pour protéger les cellules contre les effets nocifs des radicaux libres. Les antioxydants sont des composés capables de neutraliser les radicaux libres et de prévenir les dommages oxydatifs. (1, 2)

Comme compléments alimentaires, envisagés comme traitement adjuvant, ou en cosmétologie, les composés au pouvoir antioxydant sont très demandés, constituant donc un créneau important dans la recherche scientifique, très prometteur en industrie du médicament, et directement lié au secteur socio-économique.

La N-acétylcystéine est un antioxydant de la famille des thiols, dérivé de la L-cystéine. Il a été démontré que l'acétylcystéine possède des propriétés antioxydantes puissantes et qu'il peut être utilisé pour prévenir ou traiter diverses maladies. En parallèle, L'acide azélaïque, est un diacide aliphatique qui a prouvé récemment son efficacité en dermatologie, comme agent anti-acnéique, antibactérien et anti-inflammatoire mais sans pouvoir antioxydant franc.

A l'heure actuelle, le concept d'hybridation de molécules préalablement actives permet d'accéder à d'autres molécules dont l'effet est amélioré ou stabilisé, la toxicité diminuée...

De là, une problématique se pose : la synthèse de simples molécules à partir de la N-acétylcystéine ou de l'acide azélaïque peut-elle présenter un intérêt sur le plan pharmacologique ?

Le but de notre travail est de synthétiser des molécules hybrides à partir des différents réactifs proposés connus ayant une activité biologique, tout en explorant le pouvoir antioxydant. Les objectifs de ce mémoire se résument en :

- Synthétiser des molécules hybrides à partir de la N-acétylcystéine d'un côté et de l'acide azélaïque d'un autre côté.
- Evaluer le pouvoir antioxydant des molécules synthétisées.

Le manuscrit est scindé en deux parties :

- La revue de la littérature, commençant par des définitions et une classification des antioxydants puis une explication de leur rôle dans la prévention des dommages oxydatifs dans le corps humain. Les réactifs de départ sont aussi étudiés : leurs propriétés et usages...
- La partie pratique, dédiée aux différentes tentatives de synthèse, avec les protocoles et les techniques utilisées, puis les résultats obtenus, leurs discussions puis les perspectives proposées.

REVUE DE LITTERATURE

**I. STRESS OXYDATIF, ESPECES ET
RADICAUX LIBRES**

1 STRESS OXYDATIF

Définition

Le stress oxydatif est un processus qui résulte de la production excessive de radicaux libres et d'espèces réactives de l'oxygène suite à un déséquilibre entre la production et les mécanismes de défense antioxydants, ce qui peut endommager les protéines, les lipides et l'ADN(2). Les conséquences de ces lésions peuvent être graves et peuvent mener à la mort cellulaire ou à la formation de mutations génétiques, qui sont impliquées dans le développement de nombreuses maladies, notamment les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives. Induire une inflammation chronique, qui est associée au diabète(3). Il peut être impliqué dans de nombreuses autres pathologies tel que les maladies pulmonaires et les maladies auto-immunes(1).

On souligne le rôle important du stress oxydatif dans la carcinogenèse et on montre que la régulation de la production de radicaux libres peut être un moyen de prévenir le développement de cancers(4).

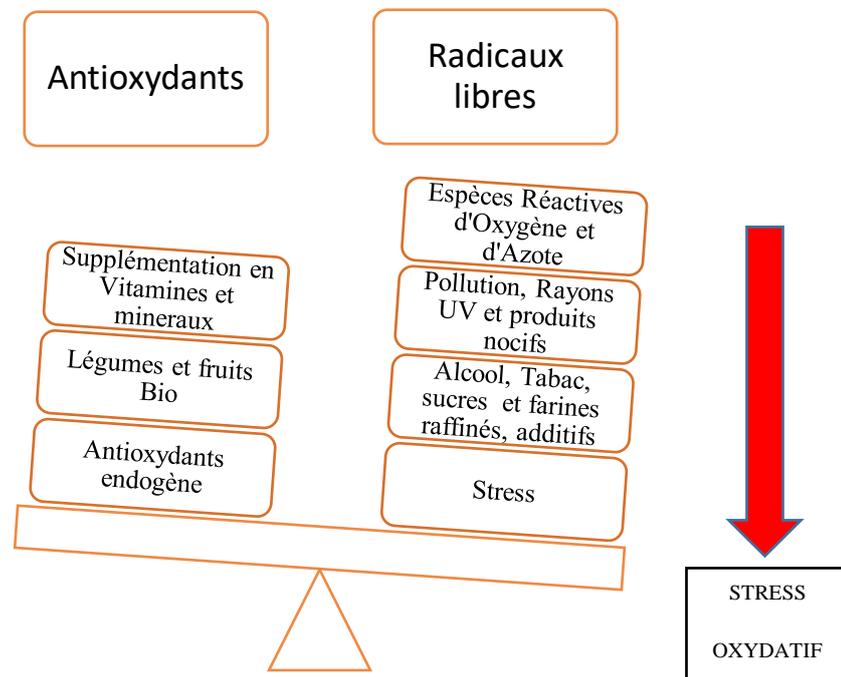


Figure 1. Stress oxydatif

2 LES RADICAUX LIBRES

Les radicaux libres sont des molécules instables qui ont au moins un électron célibataire dans leur couche externe et qui sont capables de réagir rapidement avec d'autres molécules pour récupérer leur électron manquant. Ces molécules très réactives sont produites dans le corps humain de manière endogène lors de processus métaboliques normaux et également de manière exogène par des facteurs environnementaux. Les radicaux libres peuvent endommager les lipides, les protéines et l'ADN, contribuant ainsi à des maladies telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives et le vieillissement. (5)

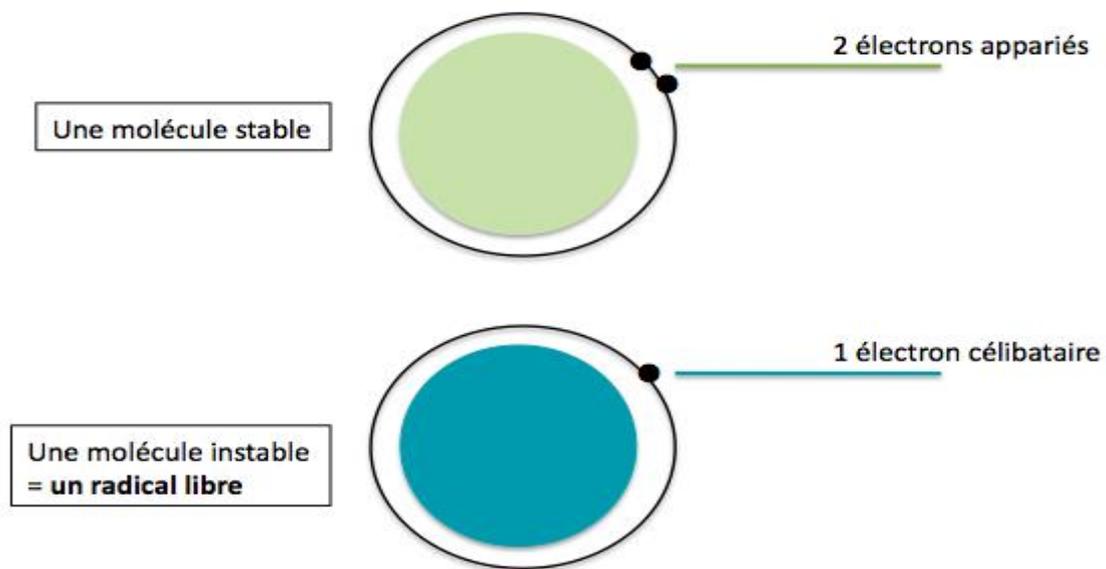


Figure 2. Radical libre au niveau de sa couche de valence.

2.1 Définition et classification des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être classés en fonction de leur structure en radicaux libres atomiques, moléculaires et organiques. Les radicaux libres atomiques incluent des espèces telles que l'oxygène atomique et l'azote atomique. Les radicaux libres moléculaires, quant à eux, incluent des molécules comme le dioxyde de carbone et le peroxyde d'hydrogène. Les radicaux libres organiques, enfin, comprennent les radicaux alkyles et les radicaux peroxydes. (5)

2.2 Rôle physiologique des radicaux libres

Les radicaux libres ont des rôles physiologiques importants dans l'organisme, notamment dans le système immunitaire notamment les macrophages qui utilisent des radicaux libres tels que le radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) contre les différents agents agressant le corps (6), la signalisation cellulaire dont les ERO entrant en jeu lors de la prolifération et la différenciation et la mort cellulaire (7) et le métabolisme des nutriments par la production d'énergie par les mitochondries. Les radicaux libres peuvent réguler l'activité des chaînes respiratoires et par ce fait la production d'ATP.(8)

2.3 Sources endogènes de radicaux libres

Les radicaux libres sont produits dans le corps humain par des processus métaboliques normaux tels que la respiration cellulaire et la dégradation des médicaments. La respiration cellulaire, qui a lieu dans les mitochondries, convertit les nutriments en énergie utilisable, mais produit également des radicaux libres, tels que l'oxygène singulet et les radicaux superoxydes. De plus, la dégradation des médicaments, notamment des médicaments anti tumoraux, peut produire des radicaux libres en endommageant l'ADN des cellules tumorales.(1)

Les Espèces Réactives

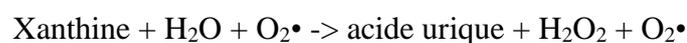
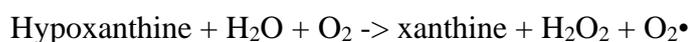
2.3.1.1 NADP(H) Oxydase

Complexe multimérique présent dans toutes les cellules de façon constitutionnelle, catalyse la réaction qui transforme l'oxygène moléculaire (O_2) en anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) en utilisant de la NADPH comme cofacteur selon la réaction suivante :



2.3.1.2 Xanthine oxydase

C'est une enzyme clé dans la production d'espèces réactives de l'oxygène telles que les radicaux superoxyde et l'eau oxygénée, qui sont impliquées dans le stress oxydatif et entre dans réaction qui catalyse la transformation l'hypoxanthine en xanthine puis catalyse cette dernière en acide urique.



2.3.1.3 Lipo-oxygénases et cyclo-oxygénases

La phospholipase A2 agit sur les phospholipides de la membrane, ce qui a pour conséquence de libérer l'acide arachidonique. Ce dernier peut ensuite être utilisé pour synthétiser deux types de médiateurs : les leucotriènes et les prostaglandines/thromboxanes. Ces voies de synthèse sont contrôlées par l'action des enzymes lipo-oxygénases et cyclo-oxygénases, qui agissent respectivement sur chaque voie de synthèse.

2.3.1.4 Enzyme des organites cellulaires

Trois organites sont essentiellement impliqués:

Les mitochondries sont des organites cellulaires impliqués dans la production d'énergie sous forme d'ATP par le biais de la chaîne de transport d'électrons. Cependant, une petite proportion d'électrons qui circulent dans la chaîne de transport d'électrons peut échapper au contrôle et réagir avec l'oxygène pour former des radicaux libres. Cela est amplifiée en cas de dysfonctionnement mitochondrial, comme lors d'un stress oxydant, pouvant entraîner des dommages cellulaires.(8)

Le réticulum endoplasmique est également une source importante de radicaux libres. Cette production est principalement liée à la présence d'enzymes métaboliques, générant des radicaux libres lors de leur activité catalytique.(9)

En plus, les peroxisomes, impliqués dans le métabolisme des lipides et la détoxification des composés toxiques contiennent plusieurs enzymes métaboliques, dont la catalase, qui dégrade les radicaux libres tel que le peroxyde d'hydrogène. Cependant, des études ont montré que les peroxysomes peuvent également produire le radical superoxyde, lorsqu'ils sont soumis à des conditions de stress oxydant ou lors de dysfonctionnements métabolique.(10)

2.4 Sources exogènes de radicaux libres

Les radicaux libres peuvent également être produits par des facteurs environnementaux. La pollution atmosphérique, en particulier les particules fines et les oxydes d'azote, peut induire la production des radicaux libres dans les cellules respiratoires. Les rayonnements ionisants, tels que les rayons X et gamma, sont également des sources exogènes de radicaux libres. Le tabac contient de nombreux composés chimiques qui produisent des radicaux libres lorsqu'ils sont métabolisés par le corps. Enfin, les rayons UV peuvent également induire la production de radicaux libres dans la peau, en particulier les radicaux libres d'oxygène.(5)

2.5 Dommages oxydatifs cellulaires

Les dommages subis sur les principales macromolécules de l'organisme humain sont plusieurs, les cibles varient aussi :

2.5.1 Sur l'ADN

Les radicaux libres peuvent causer des dommages à l'ADN en créant des cassures ou en modifiant les bases constitutives, causant des mutations génétiques et des dysfonctionnements cellulaires.(1)

2.5.2 Sur les lipides

La peroxydation lipidique résulte de l'action des radicaux libres sur les lipides membranaires. Cela peut conduire à une altération de la fluidité de la membrane et perturber donc les fonctions cellulaires.(11)

2.5.3 Sur les sucres

Les glucides peuvent être ciblés par les radicaux libres. Le glucose notamment peut s'oxyder en présence de traces métalliques, libérant alors des céto aldéhydes, du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et des radicaux hydroxyle ($\bullet OH$), responsables d'une dégradation des protéines ou leur glycation au cours du quelle on assiste à l'attachement de sucres sur les protéines générant ainsi des protéines glyquées que l'organisme ne peut pas éliminer. Ces molécules, plus sensibles à l'oxydation produisent à leur tour des radicaux libres. Le phénomène de glyco-oxydation associé est très important chez les diabétiques.

2.5.4 Sur les protéines

En réagissant avec les protéines cellulaires, les radicaux libres peuvent provoquer leur carbonylation, un processus qui conduit à la formation de groupements carbonyles sur les résidus d'acides aminés. Cette altération peut impacter la structure et la fonction des protéines de la cellule.(12)

Ils peuvent aussi agir sur le stock d'antioxydants : un stress oxydant important peut épuiser les défenses antioxydantes de la cellule, comme le glutathion ou les enzymes superoxyde dismutase et catalase. Cela peut aggraver les dommages oxydatifs.(1)

2.6 Les espèces participant au stress oxydatif

L'événement clé dans le stress oxydatif est la formation d'espèces réactives de l'oxygène et d'azote dans les cellules, qui peuvent être divisées en deux groupes : les espèces radicalaires et non radicalaires.(1, 11, 13, 14)

2.6.1 Les espèces radicalaires

Ce sont des molécules qui contiennent un ou plusieurs électrons célibataires dans leur couche externe, ce qui les rend très réactives et instables. Parmi les ERO radicalaires, on peut citer les radicaux hydroxyle ($\bullet\text{OH}$), superoxyde ($\text{O}_2\bullet$), peroxyde ($\text{ROO}\bullet$), alkoxy ($\text{RO}\bullet$), ainsi que les radicaux nitrique ($\bullet\text{NO}$). (1, 11, 13, 14)

2.6.2 Les espèces non radicalaires

Elles ne contiennent pas d'électrons célibataires, mais sont tout de même très réactives et peuvent causer des dommages oxydatifs importants dans les cellules :

2.6.2.1 Les espèces réactives de l'oxygène

- Espèces oxygénées non radicalaires : Dioxygène (O_2), peroxydes (ROOR), tels que l'eau oxygénée (H_2O_2), ozone (O_3)
- Espèces non radicalaires dérivées de l'oxygène : Superoxydes (O_2^-), anions peroxydes (O_2^{2-}), peroxydinitrites (ONOO^-),

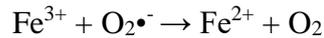
L'ion hypochlorite (OCl^-), l'acide hypochloreux (HOCl) et le monoxyde d'azote (NO). Les ERO sont produits en permanence dans les cellules comme sous-produits de la respiration cellulaire normale, mais leur production peut également être augmentée en réponse à des facteurs de stress tels que la pollution, le tabagisme, l'alcoolisme, l'exposition aux rayonnements ionisants et aux rayons UV, les infections et l'inflammation.(13-15)

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est une molécule qui est généralement produite dans les cellules vivantes en tant que sous-produit du métabolisme oxydatif normal. Bien qu'il soit relativement stable par rapport à d'autres espèces réactives de l'oxygène, il peut réagir avec les ions ferreux et cuivres pour former des radicaux hydroxyles très réactifs ($\bullet\text{OH}$) via la réaction de Fenton ou de Haber-Weiss,

La réaction de Fenton peut être représentée par la formule suivante :



Et la réaction de Haber-Weiss est représentée par la formule :



Qui sont impliqués dans le stress oxydatif et la détérioration des macromolécules cellulaires telles que l'ADN, les protéines et les lipides(16).

2.6.2.2 Les espèces réactives de l'azote

Les espèces réactives d'azote (ERAN) sont des molécules impliquées dans de nombreux processus biologiques et pathologiques. Elles peuvent être produites par les cellules en réponse à des stimuli externes tels que l'inflammation, l'infection ou les radiations. Les ERAN comprennent notamment :

Le monoxyde d'azote (NO), le peroxydinitrite (ONOO^-), le radical azote (RNO), le dinitrogène pentaoxyde (N_2O_5), et les nitrosamines.(13)

Le monoxyde d'azote (NO) est une molécule très réactive qui peut réagir avec toutes les macromolécules présente et constituants le corps humain. Il est produit par l'enzyme nitrique synthase (N.O.S) et peut agir comme un messenger cellulaire important dans de nombreuses voies de signalisation. Il est également impliqué dans la régulation de la pression artérielle et du flux sanguin. Cependant, une production excessive de NO peut conduire à des dommages cellulaires et tissulaires.(17)

Le peroxydinitrite (ONOO^-) est un oxydant très puissant qui peut réagir avec de nombreuses molécules. Il est produit par la réaction entre le (NO) et le superoxyde ($\text{O}_2\cdot^-$) et peut causer des dommages importants aux cellules et aux tissus, il est impliqué dans de nombreuses maladies, telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et les maladies neurodégénératives.(18)

Les radicaux azote (RNO) sont des espèces réactives d'azote contenant un électron non apparié. Ils sont produits par la réaction entre le NO et l' $\text{O}_2\cdot^-$, ou par l'oxydation de l'ammoniac (NH_3) et de l'hydrazine (N_2H_4). Les RNO peuvent causer des dommages importants aux cellules et aux tissus. Ils sont impliqués dans de nombreuses maladies.(19)

3 LES MALADIES LIEES AU STRESS OXYDANT

Les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives et les cancers ont toutes été liées à un stress oxydatif accru dans l'organisme.

3.1 Les maladies cardiovasculaires (MCV)

Ce sont une cause majeure de décès dans le monde entier. Le stress oxydatif peut jouer un rôle dans leur développement, en particulier dans l'athérosclérose, où les lipides oxydés peuvent contribuer à la formation de plaques qui obstruent les artères. Les antioxydants, tels que les vitamines C et E, peuvent aider à réduire l'oxydation des lipides et donc à prévenir la formation de plaques. Des études ont montré que la supplémentation en vitamines C et E peut réduire les marqueurs de stress oxydatif dans le sang et améliorer la fonction endothéliale, qui est importante pour la santé vasculaire.(20, 21)

3.2 Les maladies neurodégénératives

Telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la sclérose en plaques, ont également été liées au stress oxydatif. Dans ces maladies, les cellules du cerveau sont endommagées et détruites, ce qui peut être dû en partie à des espèces réactives de l'oxygène qui endommagent les membranes cellulaires et les protéines. Des études ont montré que les antioxydants, tels que les vitamines C et E, peuvent aider à réduire le stress oxydatif dans le cerveau et à ralentir la progression de la maladie. Cependant, les résultats des études sont mitigés et l'effet des antioxydants sur la prévention ou le traitement de ces maladies reste controversé.(22, 23)

3.3 Les cancers

Ils peuvent également être liés au stress oxydatif, car les espèces réactives de l'oxygène peuvent endommager l'ADN et d'autres molécules importantes dans les cellules. Les antioxydants peuvent aider à prévenir les dommages de l'ADN en piégeant les espèces réactives de l'oxygène avant qu'elles ne causent des dommages. Cependant, certaines études ont suggéré que la supplémentation en antioxydants peut en fait augmenter le risque de cancer, en particulier chez les fumeurs. Cette controverse est toujours en cours de débat, mais il est important de souligner que la consommation d'antioxydants par l'alimentation est préférable à la supplémentation en cas de risque de cancer.(24)

Les antioxydants, tels que les vitamines C et E, peuvent aider à réduire le stress oxydatif dans l'organisme et à prévenir les dommages cellulaires. Cependant, la supplémentation en antioxydants doit être prudente et peut ne pas être bénéfique pour tous. Il est recommandé d'obtenir des antioxydants par l'alimentation plutôt que par des suppléments.

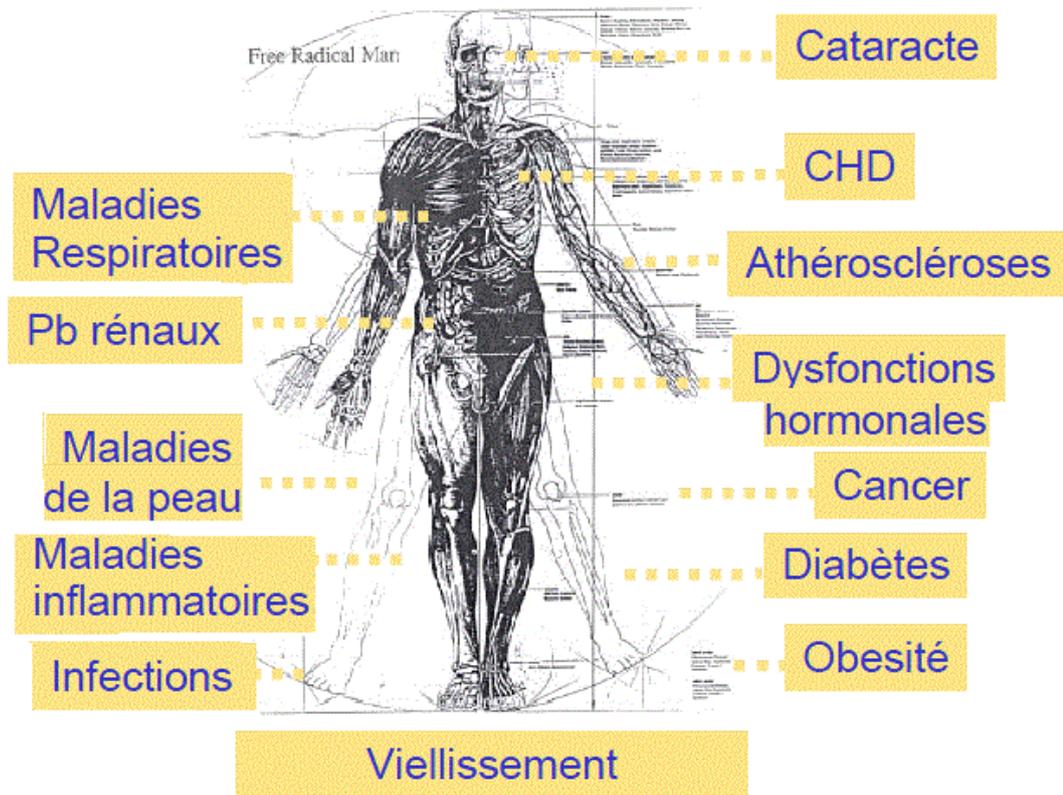


Figure 3. Maladies liées aux stress oxydatif au niveau du corps humain

4 SYSTEMES DE DEFENSES ANTI OXYDANTS

Le corps humain dispose de plusieurs systèmes de défense contre les radicaux libres et le stress oxydatif qui comprennent des systèmes de détoxification des espèces réactives d'oxygène (ERO). Ces sous-produits du métabolisme aérobie (25) sont impliquées dans la signalisation cellulaire, y compris l'expression des gènes de régulation et la transduction du signal(26). Si elles sont mal propagées ou éliminées de manière inefficace, les ERO conduiraient à des dommages aux protéines, acides nucléiques et lipides (1, 11). Pour éviter ces dommages oxydatifs, les organismes ont développé un système antioxydant complexe.

Les systèmes de défense de l'organisme contre l'activité des ERO sont multiples et complexes, comprennent des composantes enzymatiques ou non-enzymatiques.

4.1 Composante enzymatique

Plusieurs enzymes sont impliquées, donnant l'exemple de la superoxydedismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPX), la catalase (CAT).

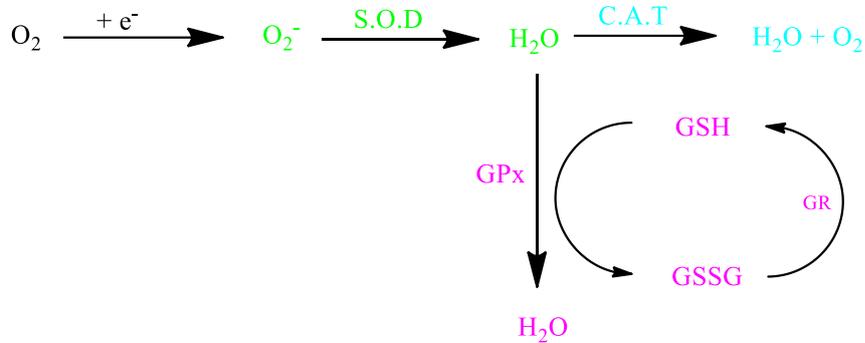


Figure 4. Enzymes intervenant dans la réduction des ERO.

4.1.1 La superoxyde dismutase (SOD)

Elle a été identifiée il y a environ 50 ans(27). Depuis lors, il est bien établi que les SOD jouent un rôle clé en tant que première ligne de défense contre les radicaux libres de l'oxygène. Chaque organisme vivant exprime au moins une forme de SOD, et il existe trois classes de SOD qui ont évolué dans divers organismes, utilisant différents ions métalliques catalyseurs : Cu-Zn SOD, Mn SOD/Fe SOD et Ni SOD. De plus, l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) est un élément essentiel du système de défense enzymatique. Elle assure la conversion du radical superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène grâce à l'utilisation des ions cuivre et zinc comme cofacteurs. Présente dans de nombreux tissus, notamment les érythrocytes, le foie et les reins, elle est régulée par plusieurs gènes, dont SOD1, SOD2 et SOD3..(6, 28-30).

Chimiquement, l'activité superoxyde dismutase des SODs accélère la réaction de l'anion superoxyde avec lui-même pour former le peroxyde d'hydrogène avec de l'oxygène(29).

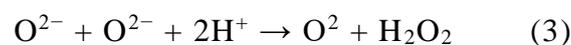
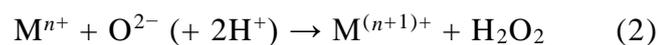
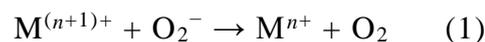


Figure 5. Role de la SOD dans la conversion du radical superoxyde

4.1.2 La catalase (l'hydroperoxydase)

C'est une enzyme clé dans le métabolisme de la peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , ainsi que les espèces réactives de l'azote. Ils ont une activité très importante dans le foie et les érythrocytes, intermédiaire dans les poumons et le pancréas, et très diminuées dans le cœur et le cerveau(31).

Selon leurs structures et leurs fonctions, on peut classer les catalases en trois groupes : catalase (dite typique) et le catalase-peroxydases, ces deux premiers groupes rassemblent les enzymes héminiques, au troisième groupe (non-héminique) appartiennent aux manganèse catalases(32).

- Les catalases dite typiques : la majorité des catalases de ce groupe ont une structure homotétramérique avec une protoporphyrine ferrique XI dans le centre active (c'est l'hème b). Chez l'homme, le groupe prosthétique des catalases est l'hème b et le cofacteur est la NADPH.
- Les catalases-peroxydases : sont des homodimères. Elles ont une meilleure affinité pour le peroxyde d'hydrogène par rapport aux catalases typique mais elles sont plus sensibles contre le Ph et la température.
- Les manganèse-catalase (non-héminiques) : ces enzymes se trouvent essentiellement dans les bactéries. Les manganèse-catalases utilisent deux ions manganèse dans le site actif dans une structure oligomérique. La réaction catalytique est totalement différente des autres catalases et se produit en deux étapes :

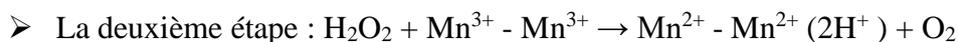
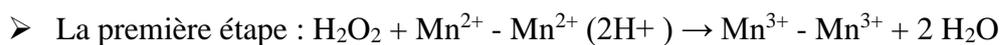


Figure 6. Réaction à la quel participe la catalase

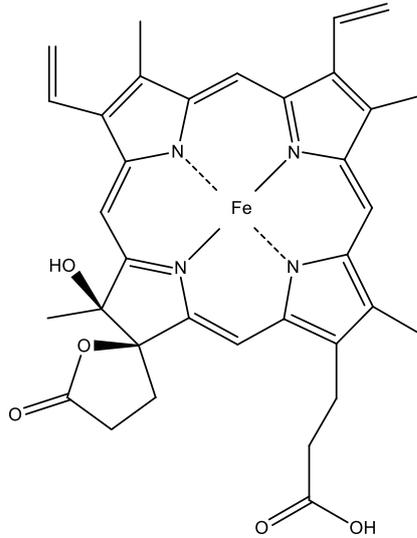


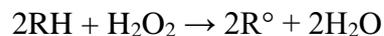
Figure 7. Structure de la catalase héminique

NB : Notons que lorsque le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) atteint des concentrations supérieures à $100 \mu M$, la catalase peut être inactivée.

Ainsi qu'une baisse de son activité lors de certaines conditions de stress notamment lors de stress thermiques ou osmotiques.(33)

4.1.3 Les peroxydases

Elles sont retrouvées dans les plantes et les animaux(34). Elles sont des enzymes catalytiques apparentés aux oxydoréductases qui catalysent la réduction du H_2O_2 par différents substrats donneurs d'électrons.



Elles peuvent catalyser aussi l'oxydation des substrats réducteurs, comme les phénols, les aldéhydes, les alcools et produits toxiques afin de réduire leurs toxicités(35)

En se basant sur la présence ou l'absence de l'hème, les peroxydases sont divisées en hème ferrique ou non-héminique. Selon le PeroxiBase database supérieur à 80% des gènes connus des peroxydases codent pour des peroxydases héméniques. Depuis la majorité des séquences de peroxydases seraient des peroxydases héméniques, on va les décrire en détail :

Les peroxydases héméniques sont divisés en deux superfamilles :

- La superfamille des peroxydases cyclo-oxygénases (PCOXS) :
 1. La myéloperoxydase (MPO).
 2. Peroxydase éosinophile (EPO).
 3. Lactoperoxydase (LPO).
 4. Peroxydase thyroïdienne (TPO).
- La superfamille des peroxydases catalases (PCATS) : cette famille regroupe les peroxydases héminiques qui ne se trouve pas chez les animaux, mais seulement dans les plantes les bactéries et les fongiques. Elle est divisée en trois classes I, II, et III
 1. Les peroxydases de la classe I sont intracellulaires Ils comprennent le cytochrome c peroxydase (CCP ; EC 1.11.1.5), ascorbate peroxydase (APX ; EC) et catalase peroxydase (CP ; EC). Le cytochrome c peroxydase (CCP), utilise des équivalents réducteurs du cytochrome c et réduit le peroxyde d'hydrogène en eau. Ascorbate peroxydases (APx) sont impliqués dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène en utilisant l'ascorbate comme la réduction des équivalents ainsi que dans la photo-protection des chloroplastes et le cytosol chez les plantes supérieures. Les catalase-peroxydases (CPs) sont principalement signalés dans les bactéries, elles sont des antioxydants bi-fonctionnels qui présentent à la fois une activité enzymatique catalase et peroxydase. En raison de leur capacité catalytique unique à dismuter le peroxyde d'hydrogène et à dégager de l'oxygène moléculaire (O_2) par oxydation de H_2O_2 , ils préviennent les bactéries du stress oxydatif. Au niveau structurel, les peroxydases de classe I sont dépourvues des ponts disulfures, du calcium et une séquence signal du réticulum endoplasmique.
 2. Les peroxydases de classe II, exclusivement des peroxydases fongiques, ont un rôle majeur dans la biodégradation de la lignine. Dans la base de données PeroxiBase, 609 séquences de peroxydases de classe II sont signalées jusqu'à ce jour. Les peroxydases fongiques de lignine de la pourriture blanche (LiPs ; EC) sont de nature sécrétoires et catalysent la dépolymérisation des lignines possèdent d'immenses potentiels pour l'élimination des déchets d'un nombre de composés phénoliques et non phénoliques. Les manganèse-peroxydases (MnP ; EC) sont également sécrétées par la dégradation de la lignine fongique de la moisissure blanche. Ils catalysent l'oxydation du peroxyde de Mn(II) en Mn (III) et le Mn (III) est libéré de l'enzyme sous forme de complexe oxalate-Mn (III) qui sert de médiateur redox diffusible ayant la capacité pour oxyder la lignine. Les peroxydases

polyvalentes (VP ; EC) exposent une architecture moléculaire hybride entre LiPs et MnPs. Ils sont non seulement spécifiques du Mn(II) comme dans le 3MnPs, mais catalysent également l'oxydation de substrats phénoliques et non phénoliques comme les LiP, même en absence de manganèse. Contrairement aux peroxydases de classe I, les peroxydases de classe II ont des peptides signal N-terminaux, quatre conservés les ponts disulfure (différemment localisés de ceux de la classe III) et le calcium dans leur structuration.

3. Les peroxydases de classe III qui sont typiques des plantes vertes(36). Cette classe contient un grand nombre d'isoformes qui peuvent oxyder de nombreuses molécules, d'où la difficulté de préciser le rôle de chacune. De plus, outre leur fonction de détoxification des DRO, elles ont d'autres fonctions physiologiques comme la construction de la paroi cellulaire, la synthèse de la lignine, l'hydroxylation des dérivés aromatiques, la défense contre les pathogènes ou la sénescence(37).

4.2 Composante non enzymatiques

Les bêta-carotènes, les rétinoïdes (la vitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C) et l'alpha-tocophérol (vitamine E) sont des molécules qui agissent ensemble dans des systèmes de détoxification et neutralisation des ERO. Le cycle ascorbate-glutathion a été signalé dans divers organites, y compris les chloroplastes, le cytosol, mitochondries, peroxysomes et membrane plasmique, impliquant son rôle prédominant dans la détoxification des ERO dans ces compartiments(38).

4.2.1 Les antioxydants endogènes

4.2.1.1 *Le glutathion et les protéines thiol*

Le glutathion est un tri-peptide contenant de la cystéine, il est le thiol non protéique le plus abondant dans les cellules des mammifères, jouant un rôle important dans la détoxification des substances xénobiotiques et dans la réduction des radicaux libres. Il peut se retrouver sous deux formes :

- La forme réduite (GSH)
- La forme oxydée (GSSG).

Le GSH est connue comme étant un substrat pour les glutathion s-transférases et la glutathion peroxydase, des enzymes qui catalysent les réactions de détoxification des xénobiotiques et la

réduction des espèces réactives d'oxygène. Dans la plupart des cellules, la concentration du glutathion est de 1 à 2 mM(39), sauf au niveau des hépatocytes, où elle peut atteindre les 10 mM..

Le GSH peut directement réduire l' H_2O_2 , l'anion superoxyde et le radical hydroxyle(1). Il est impliqué aussi dans la régénération de l'ascorbate dans le cycle HalliwellAsada. De plus, le ratio GSH/GSSG est un bon indicateur du stress oxydant d'un organisme(40).

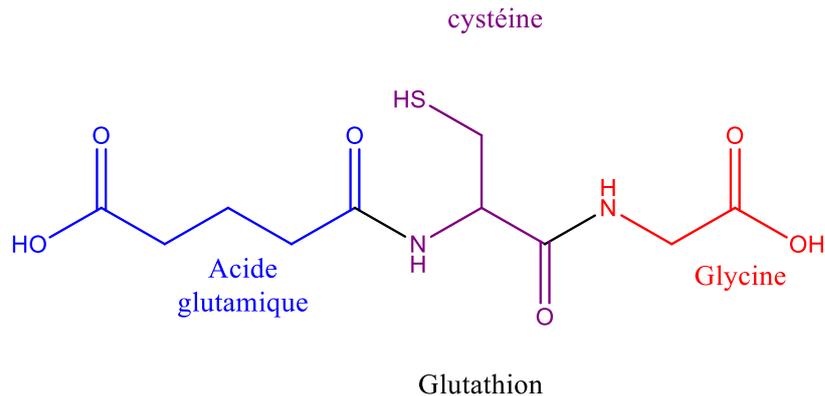


Figure 8. Structure du Glutathion

4.2.1.2 Le coenzyme Q10

De la famille des ubiquinones, le coenzyme Q10 peut être endogène ou apporté par l'alimentation. Ce coenzyme possède un caractère lipophile qui lui permet de s'insérer dans les membranes, dont celles des lipoprotéines. Il constitue un puissant inhibiteur de la peroxydation lipidique, en synergie avec la vitamine E. Il a été démontré que, par son effet sur le stress oxydant, le CoQ10 diminuait le besoin en insuline.(41)

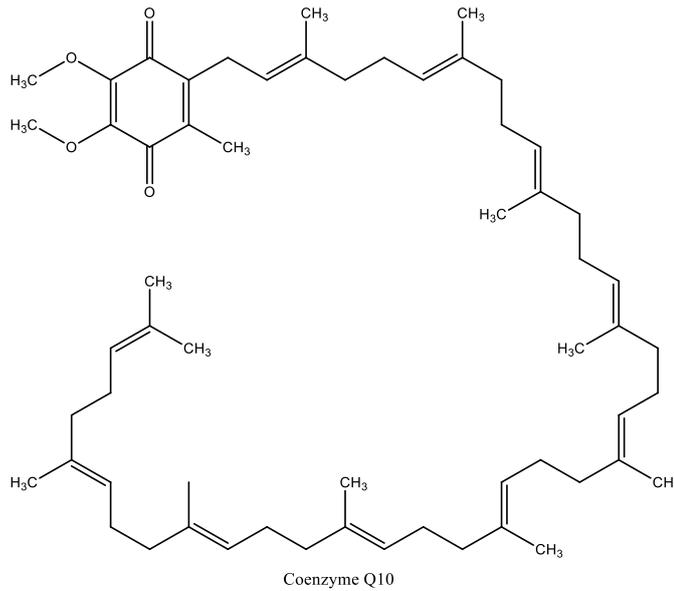


Figure 9. Structure coenzyme Q10

En plus des antioxydants enzymatiques, le corps dispose également d'antioxydants non-enzymatiques. Parmi eux, on peut citer la vitamine E, la vitamine C, le bêta-carotène, les flavonoïdes et les acides phénoliques. Ces antioxydants sont capables de neutraliser les radicaux libres en les piégeant et en les empêchant de causer des dommages aux cellules et aux tissus. De plus, ils ont la capacité de régénérer d'autres antioxydants tels que la vitamine E. Plusieurs études ont mis en évidence l'effet bénéfique de ces antioxydants sur la prévention de différentes maladies, notamment les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et certains types de cancer.

4.2.2 Les antioxydants d'origine alimentaire

4.2.2.1 La vitamine E (tocophérol)

C'est une vitamine liposoluble, qui se localise dans les membranes cellulaires ou dans les transporteurs de lipides répartis dans les différentes lipoprotéines plasmatiques. Elle est produite dans les chloroplastes des plantes, alors que les animaux doivent la procurer dans leur alimentation.

Elle réagit avec les radicaux peroxydes des acides gras en empêchant la formation des nouveaux DRO, réprimant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique incitée par ces derniers(42, 43). De plus, elle peut piéger les radicaux superoxydes, hydroxyde et stabilise l'oxygène singulet.(44)

L'acide ascorbique entre dans la cellule via le transporteur SVCT (sodium-dépendent vitamine C transporter) 1 et 2, tandis que l'acide dehydroascorbique, qui est structurellement ressemble au glucose, entre via les transporteurs de glucose et est rapidement transformé en ascorbate par des enzymes réductase ou par le glutathion. L'ascorbate est essentiellement utilisée au niveau cellulaire comme un donneur d'électrons pour les réactions enzymatiques, dans lesquelles elle sert au maintien des ions des métalloprotéines sous leurs formes réduites (par exemple, Fe^{2+} et Cu^+).

L'ascorbate est capable de réagir directement avec l'anion superoxyde et l'oxygène singulet, réduisant ainsi la peroxydation lipidique et les dommages aux protéines et à l'ADN. Elle joue également un rôle d'antioxydant indirect en recyclant les caroténoïdes et la vitamine E, permettant ainsi une meilleure efficacité de la peroxydase ascorbate(43). Elle interviendrait également dans la régulation du cycle cellulaire et dans l'extension de la paroi.

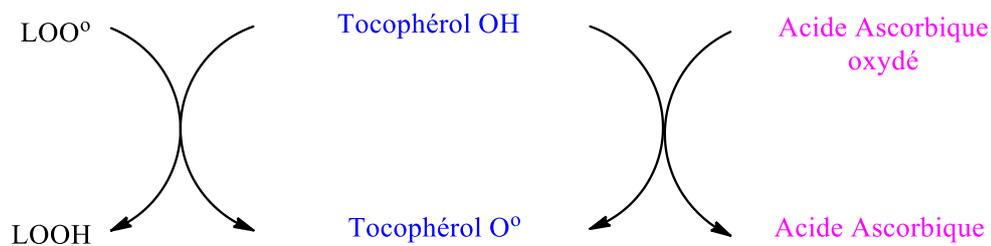


Figure 12. Régénération de la vitamine C

4.2.2.3 Les caroténoïdes

Les caroténoïdes, famille de la vitamine E, sont des molécules liposolubles produites par les organismes photo-autotrophes, dont les plus connus sont l'astaxanthine, le lycopène, le beta-carotène, la lutéine et la zéaxanthine(46). Elles sont capables de réagir avec les DRO de trois façons : le transfert d'électron, le transfert d'hydrogène ou la liaison directe avec le DRO. Elles sont générateurs de la vitamine E et sont eux-mêmes régénérés par la vitamine C (47).

Situés dans les chloroplastes des végétaux, ils sont impliqués dans la photosynthèse à deux niveaux : Premièrement en tant que pigments accessoires ou ils collectent l'énergie lumineuse (spectre entre le violet et le rouge) et la transfèrent aux chlorophylles. Leurs deuxième rôle est la photo-protection lors de l'excès de lumière : ils peuvent dissiper sous forme de chaleur une partie de l'énergie absorbée en excès, et aussi, ils s'avèrent efficaces pour éliminer l'oxygène singulet à cause de leur association aux PSU(48).

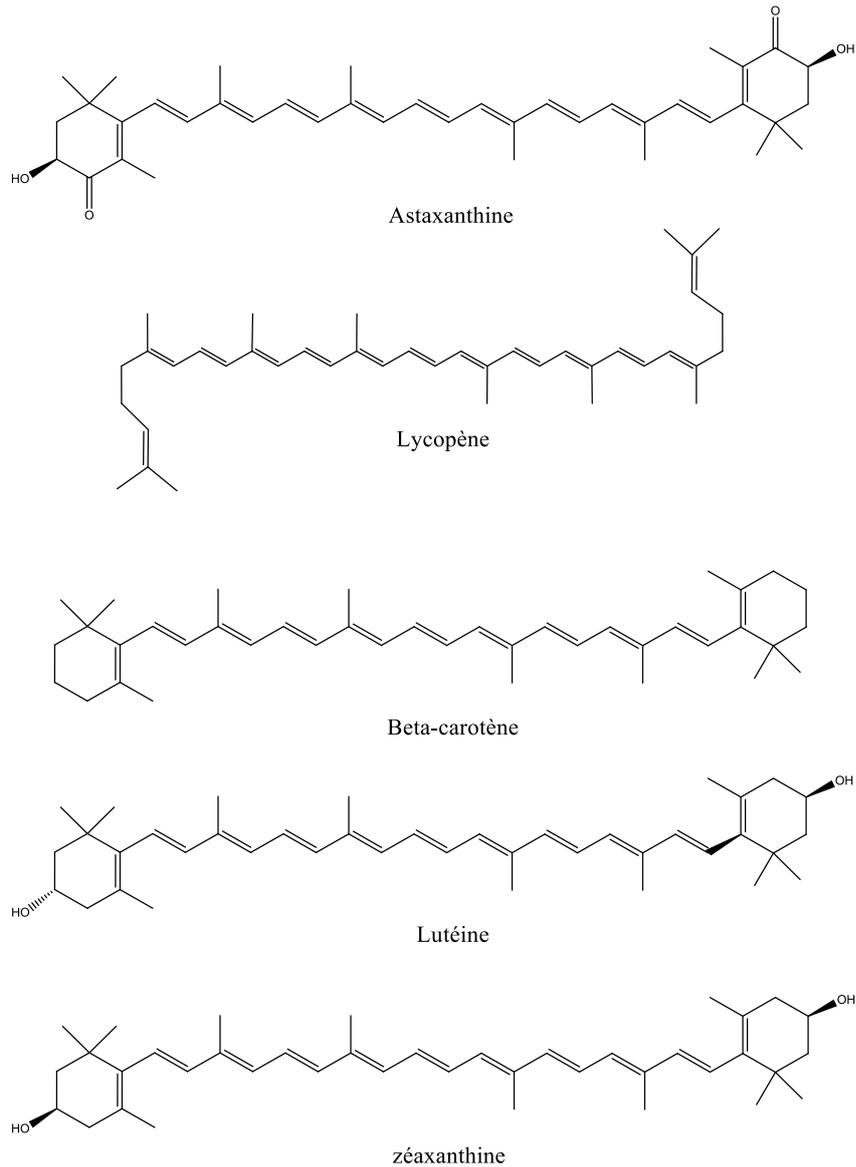


Figure 13. Divers caroténoïdes naturels

4.2.2.4 Les polyphénols

Ce sont des métabolites secondaires constituant l'un des groupes les plus abondants dans le royaume végétal avec plus de 8000 structures différentes. Ils possèdent un ou plusieurs noyaux aromatiques, auxquels sont directement liés un ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés dans une fonction ester, éther ou hétéroside. Ils peuvent être divisés en de nombreuses classes qui se différencient par la complexité du squelette de base, le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation), ainsi que par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines)(49), les deux groupes les plus importants des polyphénols sont :

- Les acides phénoliques sont des dérivés d'acide benzoïque (acide gallique) ou des dérivés d'acide hydroxycinnamiques (acide coumarique).
- Les principales classes des flavonoïdes sont représentées les flavonols (comme la quercétine, le kaempférol), les flavones (comme le lutéoline), les flavanols (comme les catéchines) et les isoflavones (comme la génistéine). (49)

Il faut noter que le pouvoir antioxydant des polyphénols est attribuable à la position des doubles liaisons et de la quantité de groupements hydroxyles, ainsi que la structure catéchol de l'anneau benzoïque (B)(50). Les polyphénols avec un groupement diphénol en position ortho ou para comme les catéchines ont un potentiel d'oxydation plus faible, donc sont plus facilement oxydés, que ceux avec des diphénols en position méta ou des phénols seuls comme les flavones qui sont moins réactives.(51)

Enfin, l'activité antioxydante des polyphénols in vivo chez l'humain n'est pas encore bien établie en raison que la majorité des polyphénols sont peu biodisponibles et leur absorption digestive est faible(52). En effet, après l'ingestion d'une quantité d'environ ± 1 g/jour de polyphénols (qui se trouve dans l'alimentation), la concentration plasmatique en divers sous-groupes des polyphénols ne dépasse pas 1 μ M.

4.2.2.5 *Autres antioxydants*

Il existe d'autres molécules que celles évoquées plus haut qui contribuent à la détoxification des DRO comme :

- 1- Les oligoéléments : Certaines enzymes antioxydantes requièrent un oligoélément pour maintenir leur activité catalytique comme le sélénium (Se), le zinc (Zn), le cuivre (Cu).
- 2- La bilirubine lutte contre les radicaux peroxyde et contre le peroxyde d'hydrogène.
- 3- L'urate qui est capable de détoxifier les ions superoxydes, les radicaux hydroxyles, et joue aussi le rôle d'un chélateur de métaux de transition.

REACTIFS DE DEPART

5 N-ACETYLCYSTEINE

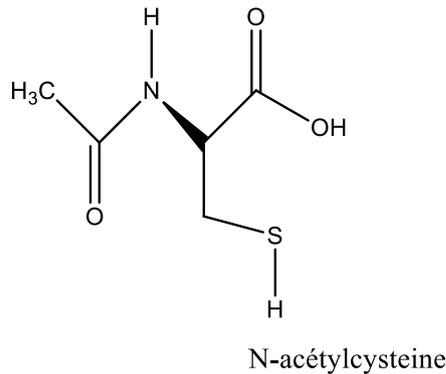


Figure 14. Structure de la N-acétylcystéine.

5.1 Historique de la découverte du N-acétylcystéine

Le N-acétylcystéine (NAC) est un dérivé synthétique de la cystéine, un acide aminé semi-essentiel. Il a été découvert pour la première fois dans les années 1960 comme un traitement potentiel pour les maladies pulmonaires. Depuis lors, le NAC a été étudié pour son activité antioxydante et son potentiel thérapeutique dans de nombreuses maladies.

La découverte du NAC est attribuée à l'équipe de chercheurs italiens dirigée par F. Cantoni, qui ont synthétisé le composé pour la première fois en 1963 en vue de son utilisation potentielle comme mucolytique pour les maladies pulmonaires. Depuis lors, les scientifiques ont découvert que le NAC possède de nombreuses autres propriétés bénéfiques pour la santé.(53)

5.2 Origine et sources de production

L-cystéine

Comme cité précédemment la L-Cystéine est un acide aminé non essentiel contenant du soufre, essentiel à la synthèse des protéines. Il agit également comme un précurseur du glutathion, un puissant antioxydant qui protège les cellules contre les dommages oxydatifs.

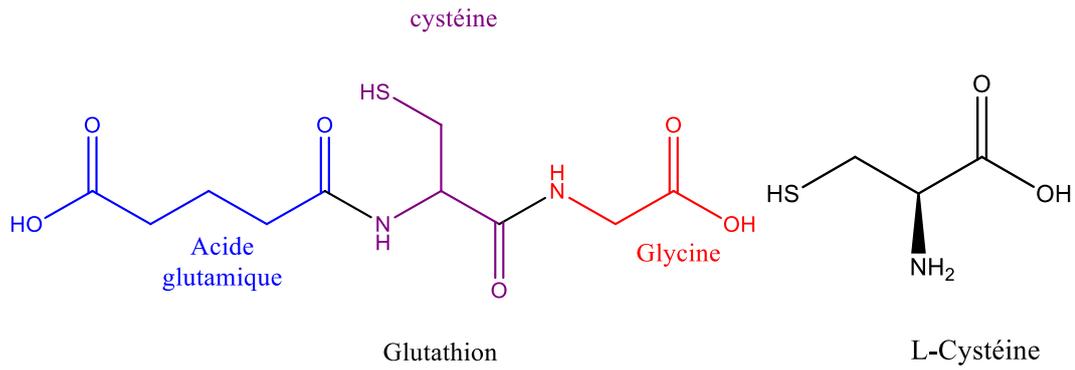


Figure 15. Structure du Glutathion et de la L-cystéine

Cet Acide Aminé peut être synthétisée naturellement dans le corps humain à partir de la méthionine, un autre acide aminé. Elle peut également être obtenue à partir de sources alimentaires telles que la viande, la volaille, les œufs et les produits laitiers(54). Possédant diverses propriétés qui lui confèrent une utilité dans différentes applications. Elle est utilisée comme exhausteur de goût dans l'industrie alimentaire, comme agent réducteur dans l'industrie cosmétique et comme améliorant de la texture dans l'industrie de la boulangerie. De plus, elle entre dans la composition de certains médicaments et compléments alimentaires(54).

En plus de ses applications industrielles, la L-Cystéine a également fait l'objet d'études pour ses potentiels bienfaits pour la santé. Elle présente des propriétés antioxydants et anti-inflammatoires, et pourrait contribuer à améliorer la sensibilité à l'insuline et réduire le risque de certaines maladies(54, 55).

Le NAC est principalement produit à partir de la cystéine. Le NAC est synthétisé en ajoutant un groupe acétyle à la cystéine. Il est généralement produit sous forme de poudre cristalline blanche et est soluble dans l'eau et l'alcool.(56)

Le NAC agit principalement comme un antioxydant, c'est-à-dire qu'il protège les cellules contre les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène. Le mécanisme exact de son activité antioxydante n'est pas encore entièrement compris, mais il est proposé que le NAC agit en augmentant les niveaux de glutathion, un antioxydant endogène important.(57)

En plus de son activité antioxydante, le NAC a été étudié pour son potentiel thérapeutique dans de nombreuses maladies, notamment la maladie pulmonaire obstructive chronique (BPCO), la fibrose kystique, la dépendance à la cocaïne et la maladie d'Alzheimer (58, 59). En outre, le

NAC est approuvé comme antidote pour l'empoisonnement au paracétamol en raison de sa capacité à reconstituer les réserves de glutathion dans le foie.(60)



Au niveau industriel Il convient de noter que le NAC peut également être produit par voie biotechnologique à partir de micro-organismes tels que *Streptococcus thermophilus* et *Escherichia coli*, qui peuvent produire de la cystéine endogène à partir de précurseurs tels que le glucose. Ensuite, la cystéine peut être acétylée pour former le NAC.

5.3 Propriétés physico-chimique

Tableau I. Propriétés physico-chimique du N-acétylcystéine

Propriété	Description
Solubilité	Soluble dans l'eau. 10mg/mL
Point de fusion	Environ 106-108°C.
Masse molaire	Environ 163,19 g/mol.
Aspect	Cristaux blancs
Odeur	Légère odeur d'acide acétique
Goût	Légèrement amer
pH	1.5-2.5 (100g/l dans de l'eau à 20 °C)
Hygroscopicité	Légèrement hygroscopique, sensible à l'humidité
Stabilité	Sensible à l'oxydation. Doit être protégé de la lumière.
Point de rupture	Fragile, se brise facilement.
Solubilité dans l'éthanol	Soluble dans l'éthanol.
Densité	Environ 1,3 g/cm ³ .

Cette liste de propriétés physicochimiques du N-acétylcystéine peut aider à mieux comprendre les caractéristiques de cette substance. Certaines propriétés peuvent varier en fonction de la source, de la méthode de production et des conditions spécifiques d'utilisation.

5.4 Mécanisme d'action du N-acétylcystéine

Le mécanisme précis par lequel le N-acétylcystéine (NAC) agit en tant qu'antioxydant n'est pas encore entièrement élucidé, mais des hypothèses ont été proposées. L'une d'entre elles suggère que le NAC stimule la production de glutathion, un antioxydant endogène important, en fournissant un précurseur de la cystéine nécessaire à sa synthèse. Cette augmentation des niveaux de glutathion intracellulaire permettrait ainsi une protection accrue contre les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres. De plus, le NAC peut réduire directement les espèces réactives de l'oxygène (ERO) en agissant comme un donneur de groupe thiol pour piéger les radicaux libres. Enfin, le NAC peut également moduler l'expression des gènes impliqués dans la réponse antioxydante en altérant les niveaux de transcription des protéines de stress oxydatif.(61)

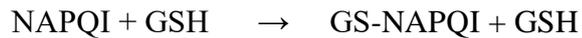
En plus de son activité antioxydante, des mécanismes additionnels ont été proposés pour expliquer l'activité pharmacologique du N-acétylcystéine (NAC). Parmi ceux-ci, il y a la modulation des récepteurs NMDA, qui jouent un rôle important dans la plasticité synaptique et l'apprentissage, ainsi que la régulation de la signalisation de l'acétylcholine, qui est impliquée dans des processus cognitifs tels que la mémoire et l'attention. Des études ont montré que le NAC peut moduler l'activité des récepteurs NMDA en se liant à un site allostérique situé sur les sous-unités GluN2B, ce qui peut avoir des effets bénéfiques dans les maladies neurodégénératives et psychiatriques. De plus, le NAC peut réguler la signalisation de l'acétylcholine en modulant l'activité de l'enzyme cholinestérase, qui dégrade l'acétylcholine. Cela peut avoir des implications pour le traitement de la maladie d'Alzheimer et d'autres troubles cognitifs. Les mécanismes précis de ces effets restent cependant à élucider.(59, 62)

5.5 Utilisation thérapeutique du N-acétylcystéine

Le N-acétylcystéine (NAC) a été approuvé pour plusieurs indications, dont les plus courantes sont le traitement de l'empoisonnement au paracétamol, de la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) et de la maladie d'Alzheimer.

5.5.1 L'empoisonnement au paracétamol

C'est une urgence médicale qui peut causer des lésions hépatiques graves voire fatales. Métabolisé dans le foie, le paracétamol produit un métabolite toxique réactif : NAPQI (N-acétyl-p-benzoquinone imine) qui provoque des lésions hépatiques en épuisant les réserves de glutathion. Le NAC fournit les précurseurs nécessaires pour la synthèse du glutathion, permettant ainsi de reconstituer les niveaux de glutathion hépatique et de neutraliser le métabolite toxique NAPQI.



Il s'agit d'une conjugaison qui permet la neutralisation et la détoxification du NAPQI en impliquant une liaison covalente entre le NAPQI et le groupe sulfhydryle (-SH) du glutathion.

5.5.2 Bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO)

Le NAC est utilisé en tant que traitement adjuvant pour réduire les exacerbations et améliorer la fonction pulmonaire chez les patients atteints de cette maladie. On notera que cette dernière indication tant à disparaître au profit d'une autre molécule dénommée Carbocystéine (S-carboxyméthyl-1-cystéine) celle-ci beaucoup plus stable et moins oxydable en plus d'une activité anti-inflammatoire ce qui est plus avantageux dans les affections respiratoires où l'inflammation est un facteur contributif.(63)

Elle agit en fluidifiant et diminuant la viscosité de la couche gélatineuse du mucus bronchique en agissant grâce à leurs groupements thiol (-SH) qui engendrent la rupture des ponts

Disulfures des glycoprotéines du mucus. Le mucus de l'estomac est ainsi fragilisé par le même mécanisme d'action ce qui expose le patient à des troubles gastriques types gastralgies.

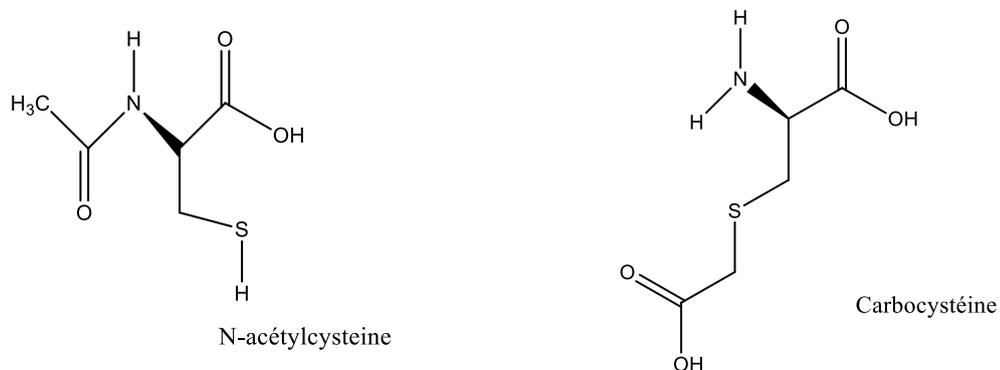


Figure 16. Comparaison structurelle entre N-Acétylcystéine et Carbocystéine

5.5.3 La N-acétylcystéine dans les maladies neurodégénératives

5.5.3.1 Dans la maladie de Parkinson

La maladie de parkinson est une maladie neurologique qui est caractérisée par une dégradation progressive des neurones dopaminergiques dans la substantia nigra pars compacta (SNpC). Le traitement standard, la levodopa, par sa transformation en dopamine, vient de pallier ce déficit dopaminergique, mais sans impact sur le processus neurodégénératif et la progression de la maladie. Dans le but de protéger les cellules dopaminergiques, on a préparé les précurseurs de la levodopa : la super Dopamide (AcCys-L-Dopa-Cys-amide) et la superDopamide (AcCys-L-Dopa amide), dans lesquels la levodopa a émergée avec la N-acétylcystéine dans une seule molécule.

La super Dopamine SD appartient à la famille des peptides mimétiques de la thioredoxine (TXM-peptides), qui protègent les cellules neuronales par inhibition du stress oxydative.

Tant que la superDopamide SDA est un peptide comprenant la NAC et la dopamide. La dopamide est un précurseur de la levodopa qui confrère une libération prolongée de la dopamine.

Les deux molécules SD et SDA exercent une activité antioxydante et une activité anti-inflammatoire avec la capacité de réapprovisionner les cellules par la levodopa. L'impact de ces activités exercées par une seule molécule est plus efficace que l'administration de chaque molécule à part.

6 L'ACIDE AZELAIQUE

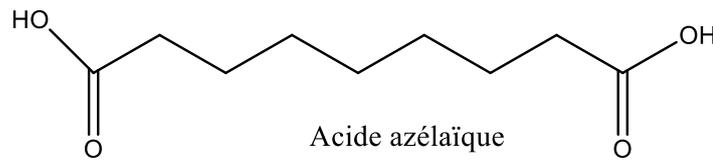


Figure 17. Structure Acide azélaïque

6.1 Historique de la découverte de l'acide azélaïque

L'acide azélaïque est un acide dicarboxylique (1,7-dicarboxyheptane) naturellement présent dans le blé, le seigle et l'orge. Il a été découvert pour la première fois en 1900 par Ferdinand C. Neuberg lors de son isolement à partir de ces céréales. En 1933, Hans Brockmann et Ernst Schmidt ont réalisé la première synthèse de l'acide azélaïque(64). Il possède une longue histoire d'utilisation dans le traitement des troubles cutanés. Il est reconnu pour son efficacité contre diverses affections cutanées, Au milieu des années 1980, des recherches in vitro évaluant la capacité de dépigmentation (éclaircissante) de l'acide azélaïque ont conclu qu'il était un puissant inhibiteur de la 5 α -réductase, il possède des propriétés antibactériennes, kératolytiques, comédolytiques et antioxydante. Ainsi, il est utilisé pour réduire l'inflammation associée à l'acné et à la rosacée.(64, 65)

6.2 Origine et sources de production

C'est une substance naturelle qui se trouve dans le blé, le seigle et l'orge, et il est un précurseur de divers produits industriels, notamment des polymères et des plastifiants(64).

- **Acide oléique** : L'acide azélaïque peut être synthétisé en utilisant l'acide oléique comme matière première, grâce à des procédés tels que l'ozonolyse ou l'oxydation microbienne.
- **Sources de biomasse** : Des études ont comparé différentes sources de biomasse, telles que l'huile d'olive, l'huile de tournesol fraîche, l'huile de tournesol épuisée et l'huile de colza, avec une attention particulière portée aux triglycérides d'acide oléique. Les résultats ont démontré que les triglycérides d'acide oléique étaient les plus appropriés pour la synthèse de l'acide azélaïque.

- **Levure** : L'acide azélaïque est également produit naturellement par une levure appelée *Malassezia furfur*, qui fait partie de la flore microbienne naturelle de la peau.

En résumé, l'acide azélaïque peut être obtenu à partir d'acide oléique, de sources de biomasse ou de la levure *Malassezia furfur*.

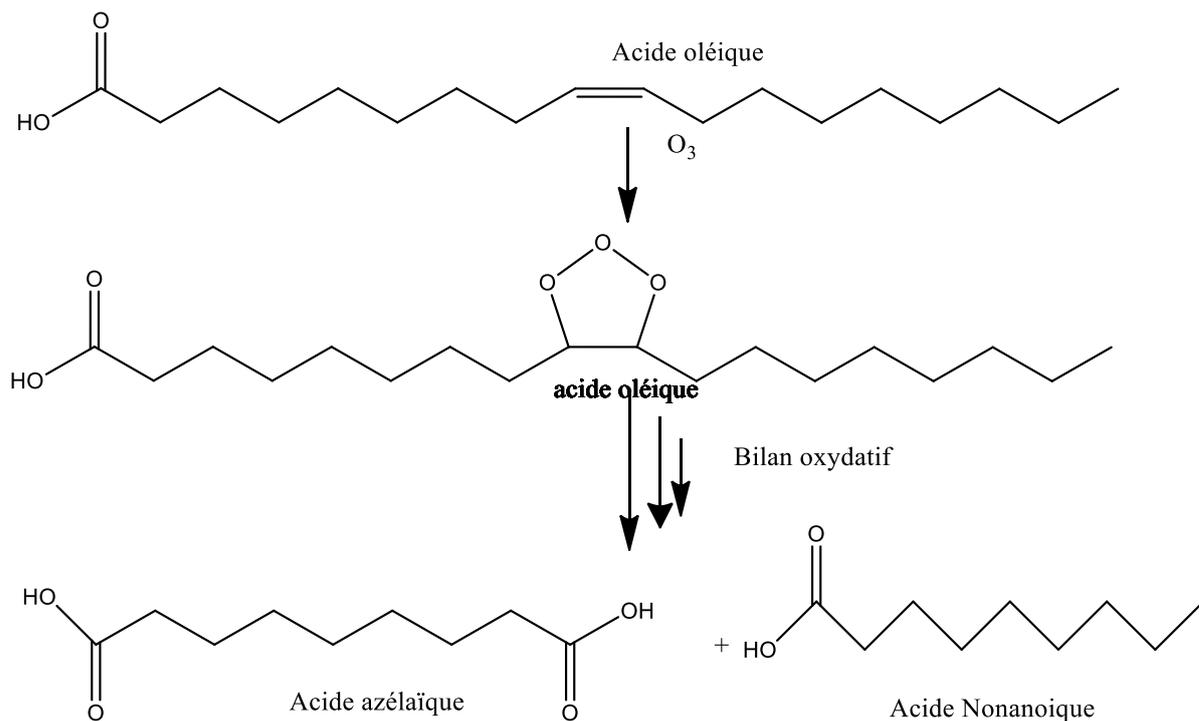


Figure 18. Ozonolyse de l'acide oléique(65)

6.3 Propriétés physico-chimique

Tableau II. Propriétés physico-chimique de l'acide azélaïque (66)

Propriété	Description
Solubilité	Soluble dans l'eau 2.14 g/L
Point de fusion	Environ 109°C
Masse molaire	Environ 188,22 g/mol.
Aspect	Poudre cristalline jaunâtre à blanche
Odeur	Légère odeur soufré d'ail.
PKa	4.550 and 5.498
Solubilité dans les solvants organiques	Soluble dans l'éthanol, DMSO et le dimethyl formamide.
Densité	Environ 1.443 g/mL

6.4 Utilisation de l'acide azélaïque

L'acide azélaïque est utilisé essentiellement en dermatologie, pour ses propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes.

Il est approuvé par la FDA comme traitement de la rosacée papulo-pustuleuse sous forme de gel à 15%.

Plusieurs études sont intéressées à l'action de l'acide azélaïque contre les taches pigmentaires, le cas de la melasma. Car il peut réduire la capacité des mélanocytes à produire de la mélanine en inhibant l'enzyme tyrosinase.

Il est utilisé aussi pour ses actions anti-inflammatoire et antimicrobienne contre la microflore folliculaire dans l'acné vilgaris. (67-70)

Mécanisme d'action

- **Action anti-inflammatoire**

La réaction inflammatoire est le principal facteur pathologique dans l'acné. L'acide azélaïque est censé d'inhiber les interleukines, IL-1 et l'IL-6, et l'expression du TNF- α .

Revue de la littérature

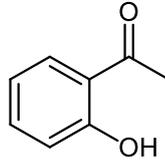
Cette activité anti-inflammatoire est attribué d'autre part de sa capacité de piéger les espèces réactives d'oxygènes tel que : le radical hydroxyle OH° et l'anion superoxyde O_2^- .(67-70)

- **Action antibactérienne**

L'acide azélaïque possède une activité antimicrobienne prédominante mais il n'est pas considéré comme antibiotique dans le sens vrai. Il a une action bactériostatique contre *Propionibacterium acnes* par inhibition de la synthèse des protéines bactériennes, en diminuant le pH intracellulaire, le gradient de pH membranaire qui devient altéré et causé une perte général d'énergie nécessaire pour la synthèse protéique. A des concentrations plus élevées, l'acide azélaïque exerce une action bactéricide contre *P. acnes* et *Staphylococcus epidermis*.(67-70).

7 HYDROXYACETOPHENONE

7.1 Définition, origines et sources



2-hydroxyacetophenone

Figure 19. Structure de la 2-hydroxyacetophenone

La 2-hydroxyacetophenone est un composé organique ayant pour formule chimique C₈H₈O₂. Il est également connu sous le nom d'o-hydroxyacetophenone ou de 2-acétylphénol. Ce composé est un solide cristallin blanc avec une légère odeur sucrée et est utilisé dans la production de parfums et d'arômes.

Elle peut être synthétisée par réaction du phénol et de l'anhydride acétique. Elle peut également être obtenue à partir de sources naturelles telles que les plantes et les fruits, notamment les raisins, les cerises et les framboises.(71, 72)

La 2-hydroxyacetophenone peut être trouvée dans divers aliments et boissons, notamment le vin, la bière et le thé. Elle est également utilisée comme agent aromatisant dans l'industrie alimentaire.(72)

7.2 Propriétés

La 2-hydroxyacetophenone possède plusieurs propriétés qui la rendent utile dans différentes applications. Par exemple, elle est utilisée comme agent parfumant et aromatisant dans les industries cosmétique et alimentaire. Elle est également utilisée dans la production de produits pharmaceutiques et comme réactif dans la synthèse organique.(71)

7.3 Activité antioxydante

Des études ont montré que la 2-hydroxyacetophenone possède une activité antioxydante. Par exemple, une étude a révélé que la 2-hydroxyacétophénone a la capacité de neutraliser les radicaux libres et de protéger les cellules contre les dommages oxydatifs. Une autre étude a

Revue de la littérature

montré que la 2-hydroxyacetophenone a le potentiel d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses.(73, 74)

PARTIE PRATIQUE

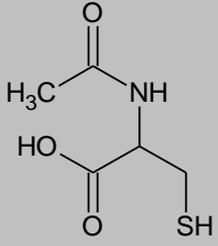
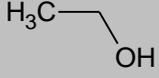
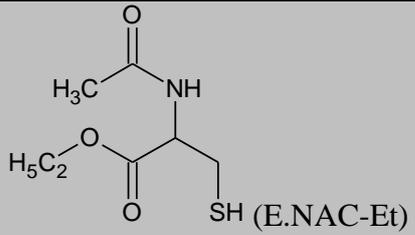
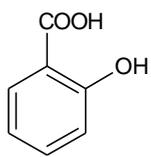
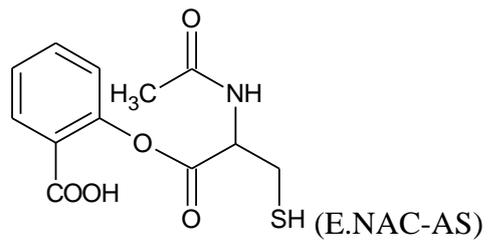
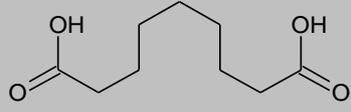
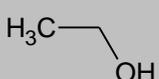
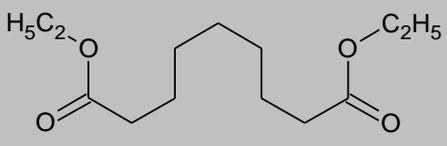
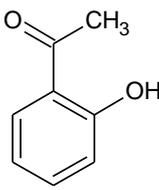
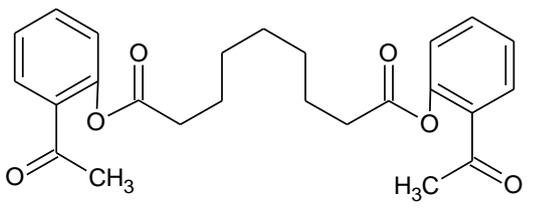
**II. SYNTHÈSE, IDENTIFICATION ET
EVALUATION DE MOLECULES A EFFET
ANTIOXYDANTS**

Cette partie a été réalisé aux laboratoire de chimie thérapeutique du département de pharmacie de la faculté de médecine Benzerdjeb Benaouda de l'université Abou bekr belkaid de Tlemcen du début de mois de Mai à la fin du mois de Juin.

REACTIFS, MATERIELS ET METHODES

L'acylation est une réaction qui vise à synthétiser des esters ou des amides en fonction des réactifs employés : acide carboxylique+ alcool et acide carboxylique + amine respectivement.

Au cours de cette partie, des synthèses sont proposées dans le but d'accéder à des molécules hybrides de la N-acétylcystéine et de l'acide azélaïque, en utilisant les réactifs suivants.

Réactif à fonction acide	Réactif à fonction alcool	RESULTAT PROPOSE
<p>N-acétylcystéine (Antioxydant)</p>  <p>NAC</p>	<p>Ethanol (Antiseptique)</p>  <p>EtOH</p>	 <p>(E.NAC-Et)</p>
	<p>Acide salicylique (Anti-inflammatoire)</p>  <p>AS</p>	 <p>(E.NAC-AS)</p>
<p>Acide azélaïque (Antibactérien, anti-inflammatoire)</p> 	<p>Ethanol (Antiseptique)</p> 	 <p>(E.AA-Et)</p>
	<p>2-Hydroxyacétophénone (Antioxydant)</p>  <p>2-HAP</p>	 <p>(E.AA-2HA)</p>

1 SYNTHÈSE

1.1 La réaction d'acylation

Une réaction d'acylation est une réaction chimique dans laquelle un groupe acyle est transféré d'une molécule à une autre.

Un groupe acyle est un groupe fonctionnel dérivé d'un acide carboxylique, qui se compose d'un atome de carbone lié à un groupe carbonyle (C=O) et à un autre groupe fonctionnel, tel qu'un groupe alkyle ou aryle.

La réaction d'acylation peut se produire de plusieurs façons, mais la plus courante est l'acylation par un anhydride d'acide ou un chlorure d'acyle. Dans ce processus, le groupe acyle est transféré à une autre molécule en remplacement d'un autre groupe fonctionnel, tel qu'un groupe hydroxyle (-OH) ou amino (-NH₂). Cela permet de former de nouveaux composés organiques en introduisant un groupe acyle sur une molécule donnée. Cette réaction est couramment utilisée dans la synthèse des esters, des amides et des acides carboxyliques, ainsi que dans la synthèse des acides aminés.

1.1.1 L'esterification

L'esterification est une réaction d'acylation dans laquelle un acide carboxylique ou un chlorure d'acide réagit avec un alcool pour former un ester. Pendant cette réaction, le groupe hydroxyle (-OH) de l'acide carboxylique réagit avec le groupe carboxylique (-COOH) pour former une liaison ester (-COO-). Cette réaction est souvent catalysée par un acide fort, comme l'acide sulfurique.

L'eau formée peut être éliminée avec un déshydratant tel que le sulfate de Magnésium ou en utilisant un montage avec un appareil de Dean-Starck, en utilisant un solvant qui forme un mélange azéotropique avec l'eau (toluène, cyclohexane...).

Il s'agit d'une addition nucléophile de l'alcool sur le carbone du groupement carboxyle de l'acide, après que l'oxygène doublement lié au carbone de ce groupement carboxyle ait été protoné.

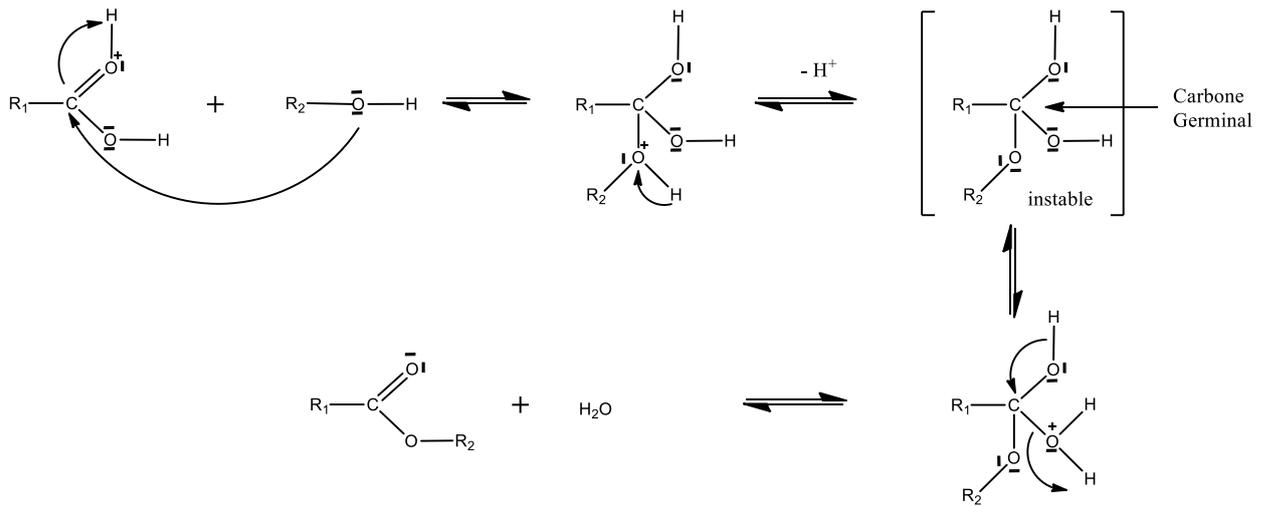


Figure 20. Mécanisme de l'estérification

1.1.2 L'amidification

C'est une réaction d'acylation mais contrairement à la précédente permet la formation d'une fonction amide et la libération d'une molécule d'eau. Les amides sont formés par l'action des acides carboxyliques ou un chlorure d'acide avec de l'ammoniac, des amines primaires et secondaires, la réaction est effectuée sous chauffage.

La réaction d'amidification peut être catalysée par un acide fort qui facilite la formation d'espèces réactives intermédiaires, stabiliser les charges positives formées pendant la réaction et favoriser les interactions entre les réactifs. Elle peut également être réalisée sous différentes conditions de température et de pression, en fonction des réactifs utilisés.

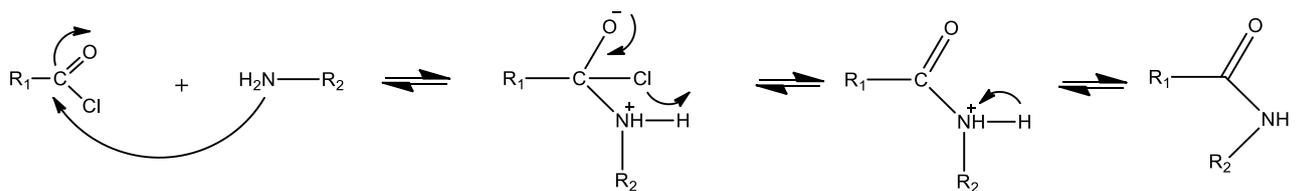


Figure 21. Mécanisme de l'amidification

1.2 Montages utilisés

La réaction d'acylation effectuée avec un dispositif de chauffage à reflux, La source de chaleur est constituée par un bain Marie (plaque chauffante agitatrice), ou un chauffe-ballon suivant la

température voulue et la température de fusion/ d'ébullition des réactifs et solvants. Notant l'utilisation d'un réfrigérant à boules pour un bon refroidissement et récupération des vapeurs.

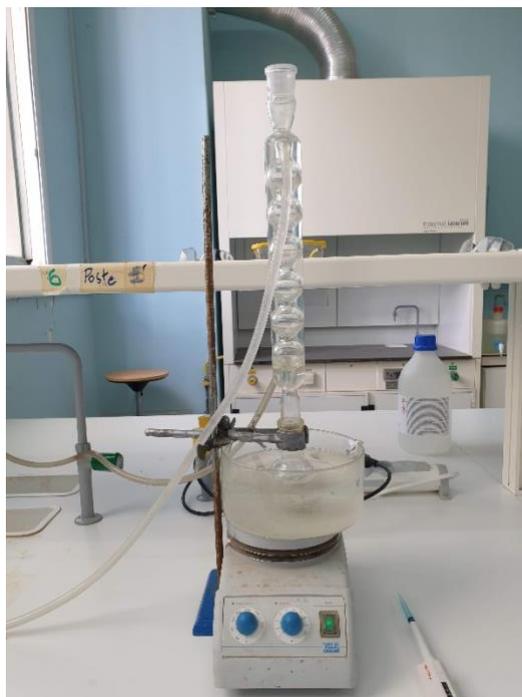


Figure 22. Montage d'un chauffage à reflux avec réfrigérant à boules

Dans le but d'optimiser le rendement, le déplacement d'équilibre de la réaction en retirant l'eau est envisagé. Le montage spécifique « Dean-Stark » peut être employé, ce dispositif permet une distillation d'un mélange azéotropique constitué de l'eau issue de la réaction et un solvant qui lui est non-miscible (un composé azéotrope négatif pour augmenter la température de réaction et inversement azéotrope positif pour baisser la température idéale pour une réaction d'estérification).

Le principe de fonctionnement du Dean-Stark est basé sur la différence de densité entre l'eau et l'autre solvant employé. L'eau est récupérée dans le récipient de séparation grâce à un réfrigérant droit qui condense la vapeur d'eau formée dans le ballon de réaction et la fait retourner dans le récipient de séparation car l'eau est la phase la moins dense donc reste en haut. La quantité d'eau récupérée peut être mesurée et utilisée pour estimer la teneur en eau du mélange réactionnel.



Figure 23. Montage d'un DEAN-STARK

2 PREPARATION DES COMPOSES A PARTIR DE LA N-ACETYLCYSTEINE

2.1 Composé E.NAC-Et, Réaction avec l'éthanol:

Il s'agit d'une réaction d'acylation suivant la réaction générale :

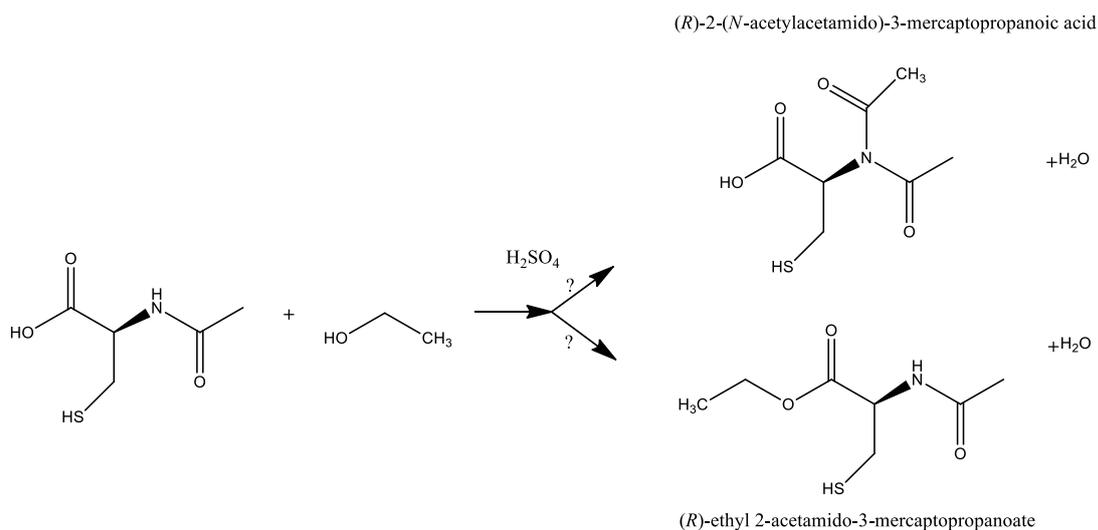


Figure 24. Réaction entre le N-acétylcystéine et l'éthanol

2.1.1 Réactifs

Tableau III. Réactifs utilisés pour la synthèse du composé E.NAC-Et

Réactif	Structure chimique	Masse molaire	Point de Fusion C°
Ethanol	C ₂ H ₆ O	46.08 g/Mol	- 114.1 C°
N-Acétylcystéine	C ₅ H ₉ NO ₃ S	163.2 g/Mol	106-108 C°

2.1.2 Matériels

- **Montage de synthèse** : Ballon monocol 50mL à col rodé, cristalliseur, agitateur magnétique chauffant, barreau magnétique, réfrigérant à boules, tuyaux, balance de précision, éprouvette 10 mL.
- **Montage de filtration** : Pompe à vide, fiole à vide, entonnoir Buchner, joint conique, papier filtre, spatule.

2.1.3 Méthode:

Une masse de 0.8g de NAC est solubilisée dans un volume 1.23 mL d'éthanol, le tout dans un ballon monocol de 50mL à col rodé, en présence et en absence d'H₂SO₄. Un réfrigérant à boules est adapté au ballon afin de minimiser le dégagement des vapeurs.

La température du bain marie est augmentée sans atteindre l'ébullition de l'eau du bain. On ajoute le barreau magnétique et on laisse agiter pendant 1h30.

2.2 Composé E.NAC-AS, Réaction avec l'acide salicylique :

Il s'agit d'une réaction d'acylation en milieu acide en présence du Toluène, la réaction générale est proposée ci-dessous :

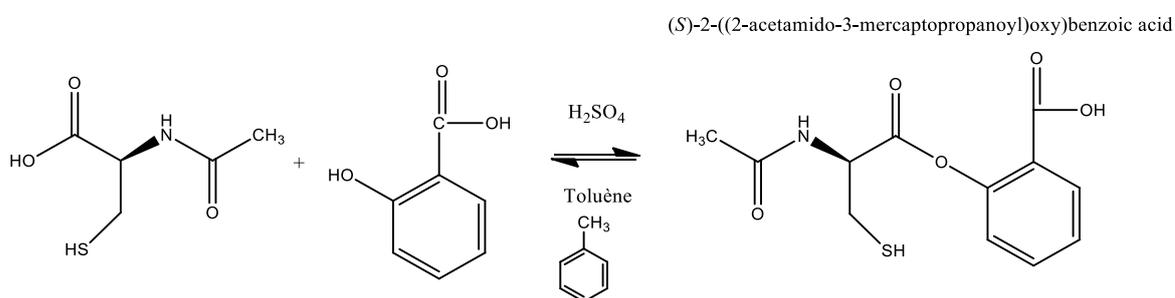


Figure 25. Réaction entre le N-acétylcystéine et l'acide salicylique sur Dean-Starck

2.2.1 Réactifs

Tableau IV. Réactifs utilisés pour la synthèse du composé E.NAC-AS

Réactif	Structure chimique	Masse molaire	Point de Fusion C°
Acide salicylique	$C_7H_6O_3$	138.12 g/Mol	159 C°
N-Acétylcystéine	$C_5H_9NO_3S$	163.2 g/Mol	106-108 C°
Toluène	C_7H_8	92.138 g/Mol	- 95 C°
Acide sulfurique	H_2SO_4	98.079 g/Mol	10.3 C°

2.2.2 Matériels

- **Montage de synthèse** : Ballon monocol 50 mL, DEAN-STARK, réfrigérant droit, chauffe ballon, tuyaux, balance de précision, éprouvette 10 mL
- **Montage de filtration** : Pompe à vide, fiole à vide, entonnoir Buchner, joint conique, papier filtre, spatule.

2.2.3 Méthode

Dans un ballon de 50 mL à col rodé, l'acide salicylique (0.69 g) et le N acétylcystéine (0.8 g) sont dissouts dans 6 mL de Toluène. Quelques gouttes d'acide sulfurique (4 gouttes) sont ajoutées au mélange, laissant le tout pendant 2 heures avec un montage DEAN-STARK adapté. Le chauffe ballon est réglé à la température d'ébullition du mélange.

Remarques :

- La filtration se fait à chaud sur Buchner sans l'aide du montage de filtration sous vide.
- Des essais de CCM sont réaliser afin de suivre l'avancement de la réaction, et l'identification de nouveau composé sur la base de comparaison de la migration d'acide salicylique solubilisé dans le solvant diéthyl éther.

Principe de la CCM :

Cette technique de séparation utilisée en chimie analytique pour séparer et identifier les différents composants d'un mélange repose sur le principe de la différence d'affinité des composants entre une phase stationnaire solide (couche mince) et une phase mobile liquide.

N.B :

La même réaction est reconduite dans un montage de chauffage à reflux et en présence du diéthyl éther comme solvant.

3 PREPARATION DES COMPOSES A PARTIR DE L'ACIDE AZELAÏQUE

3.1 Composé E.AA-Et, Réaction avec l'éthanol:

Il s'agit d'une réaction d'estérification en milieu acide avec excès d'éthanol, suivant la réaction :

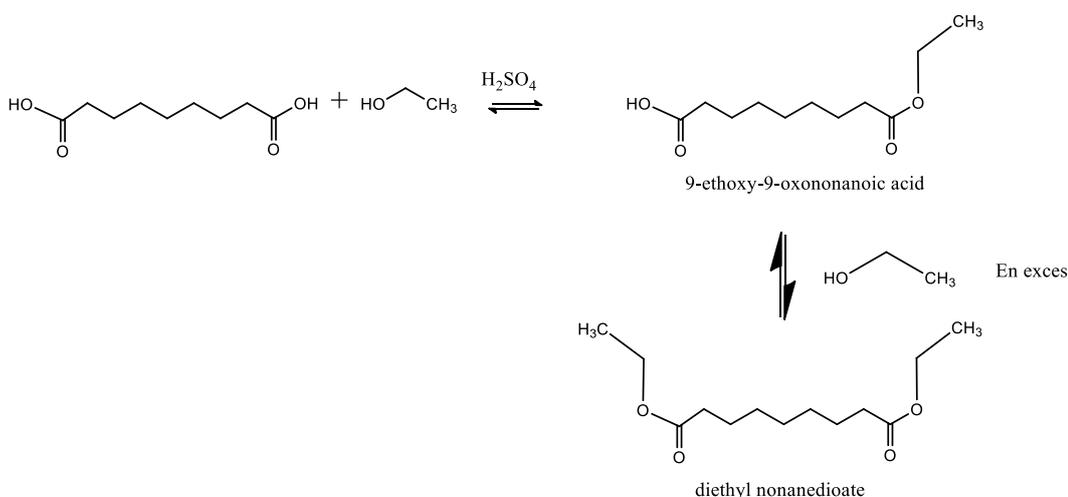


Figure 26. Réaction entre l'acide azélaïque et l'éthanol

3.1.1 Réactifs

Tableau V. Réactifs utilisés pour la synthèse du E.AA-Et

Réactif	Structure chimique	Masse molaire	Point de fusion C°
Ethanol	C ₂ H ₆ O	46.08 g/Mol	- 114.1 C°
Acide azélaïque	C ₉ H ₁₆ O ₄	188.22 g/Mol	109 C°
Acide sulfurique	H ₂ SO ₄	98.079 g/Mol	10.3 C°

3.1.2 Matériels

- **Montage de synthèse** : Ballon monocol 100mL à col rodé, cristalliseur, agitateur magnétique chauffant, barreau magnétique, réfrigérant à boules, tuyaux, balance de précision, éprouvette 20 mL.
- **Montage d'évaporation** : béccher, plaque chauffante.

3.1.3 Méthode

Dans un ballon de 100mL à col rodé, l'Acide azélaïque (3.7 g) est dissout dans 30 mL d'éthanol, avec quelques gouttes d'acides sulfurique comme catalyseur. La température de la réaction est réglée à une température inférieure à 100, pour une durée de 2 heures minutes avec agitation magnétique.

L'excès d'éthanol est évaporé sur une plaque chauffante sous une hotte pour l'éliminer. Jusqu'à l'obtention d'un volume plus ou moins réduit ayant l'aire stable.

Le produit liquide obtenu est mélangé à l'acétate d'éthyle (V=20mL) puis lavé par une solution saturée d'eau bicarbonatée (2 fois, 20mL) puis à l'eau distillée à volume égale jusqu'à neutralisation du pH.

La séparation des deux phases est réalisée par décantation. La phase organique subit une évaporation sous évaporateur rotatif pour récupérer le diester attenu.

3.2 Composé E.AA-2HA : Réaction avec la 2-hydroxyacetophenone :

Il s'agit d'une réaction d'estérification par un excès d'alcool aromatique, mécanisme réactionnel :

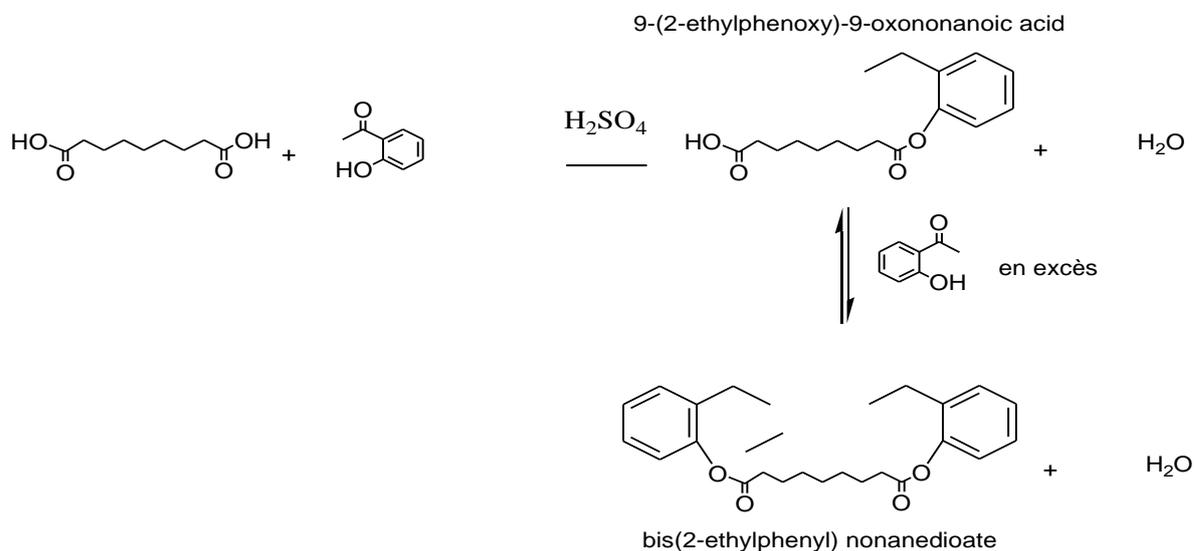


Figure 27. Réaction entre l'acide azélaïque et la 2-hydroxyacétophénone

3.2.1 Réactifs

Tableau VI. Réactifs utilisés pour la synthèse de l' E.AA-2HA

Réactif	Structure chimique	Masse molaire	Point de fusion C°
Acide azélaïque	$C_9H_{16}O_4$	188.22 g/Mol	109 C°
2hydroxyacétophen- one	$C_8H_8O_2$	136.144 g/Mol	4.0-6.0 C°
Acide sulfurique	H_2SO_4	98.079 g/Mol	10.3 C°
Toluène	C_7H_8	92.138 g/Mol	- 95 C°

3.2.2 Matériels

- **Montage de synthèse** : Ballon à col rodé, cristalliseur, barreau magnétique, réfrigérant à boules, éprouvette de 50 mL, Becher 50 mL.
- **Hydro-distillation** : montage d'hydro-distillation, chauffe ballon, réfrigérant à boules, tuyaux, erlenmeyer.

3.2.3 Méthode Protocole 01 :

Dans un ballon de 100 mL à col rodé, l'acide azélaïque 4g est mélangé avec un excès de l'alcool aromatique (2-hydroxyacétophénone) $V=40$ mL. L'acide sulfurique est ajouté en quelques gouttes au mélange comme catalyseur, avec augmentation de la température jusqu'à solubilisation de l'acide azélaïque. Après 2h d'ébullition, le mélange est reconduit sur un montage d'hydro-distillation.



Figure 28. Montage d'hydro-distillation

3.2.4 Méthode Protocole 02 :

Suivant le dernier schéma dans un ballon de 100 mL à col rodé, l'acide azélaïque 4g est mélangé avec un volume $V = 5.4\text{mL}$ de l'alcool aromatique (2-hydroxyacétophénone). L'acide sulfurique est ajouté en quelques gouttes au mélange suivie du Toluène avec un volume $V = 10.6\text{mL}$, avec augmentation de la température jusqu'à solubilisation de l'acide azélaïque. La réaction se déroulera sur un montage DEAN-STARK pour une durée de 2 Heures.

Les différentes phases sont récupérées après une nuit de repos dans le ballon fermé.

4 CARACTERISATION

4.1 Caractères organoleptiques

La couleur et l'aspect de chacun des composés synthétisés sont déterminés à l'œil nu.

4.2 Réaction colorée d'orientation :

A titre d'orientation, une réaction d'identification avec le chlorure de fer (FeCl_3) a été utilisée pour déterminer la présence ou l'absence de groupement phénol déduisant de cela si la réaction s'est faite avec le groupement ($-\text{COOH}$) ou ($-\text{OH}$) de l'acide salicylique.

4.3 Détermination du point de fusion des produits solides

La mesure des points de fusion des composés en étude est réalisée utilisant le banc Koffler.

4.3.1 Principe

Le point de fusion est une propriété physique essentielle d'un composé solide, correspondant à la température à laquelle il passe de l'état solide à l'état liquide.

Le banc KOFFLER est un instrument spécialement conçu pour déterminer avec précision les points de fusion des composés solides, en permettant une gradation progressive de la température.

4.3.2 Démarche

Avant de procéder à la manipulation, il est important d'allumer l'appareil avec suffisamment d'avance. Une fois que la petite lampe commence à clignoter, cela indique que le banc est prêt.

- Si l'objectif est de vérifier la pureté d'un composé déjà connu, la poudre est déposée près de son point de fusion, puis étalée à l'aide du curseur.
- Si le composé est inconnu, la poudre est étalée sur toute la plaque.

L'appareil doit être calibré, en utilisant une gamme d'étalons avec des températures de fusion connues, ce qui permet de positionner correctement l'index mobile.

Après la manipulation, il est recommandé de nettoyer l'appareil avec de l'éthanol ou de l'acétone afin d'éliminer tout résidu du composé analysé, évitant ainsi tout risque de contamination qui pourrait entraîner des fluctuations de température ou de faux résultats.

4.4 Spectres Infra-Rouge

4.4.1 Principe

La spectroscopie IR est une technique physique non destructive de caractérisation-analyse (qualitative) des molécules organiques basée sur l'interaction matière/rayonnements IR. La loi de BEER-LAMBERT est vérifiée en infra-rouge lui permettant d'être utilisée en analyse quantitative aussi.

Les molécules sont formées suite à l'assemblage des atomes par des liaisons chimiques dont la valence et la polarité se diffèrent. Ces dernières subissent plusieurs types de vibrations moléculaires sensibles aux radiations IR qui modifient leurs énergies de vibration.

La spectroscopie IR sert à caractériser les fonctions chimiques en étudiant suite à une irradiation IR l'énergie de vibration des liaisons qui les forment, déterminée par le nombre d'onde ν qui est spécifique. Cela est réalisé en mesurant la diminution de l'intensité du rayonnement qui traverse un échantillon en fonction de la longueur d'onde.

Une spectroscopie infrarouge peut ainsi avoir différentes finalités :

- Identifier et caractériser une molécule inconnue, en référant ses liaisons.
- Tester la présence ou l'absence d'une molécule dans un échantillon.
- Dans certains cas, procéder à un dosage d'une espèce chimique

5 ACTIVITE ANTIOXYDANTE

5.1 Piégeage du radical DPPH

5.1.1 Principe

Dans ce test les antioxydants réduisent un radical libre relativement stable, le DPPH (2,2diphényl- 1-picryl-hydrazyl), ayant une couleur violette, en un composé jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons.

5.1.2 Démarche

- 50 µl des solutions préparées ou des extraits à différente concentration (dilutions sérielles) ont été ajoutés à 1950 µl DPPH (0,0025g fraîchement préparé dans du méthanol)
- Pour chaque concentration un blanc est préparé contenant 50 µl de chaque concentration et 1950 µl du méthanol.
- Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950µl de la solution méthanolique de DPPH.
- La lecture de l'absorbance est faite à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.
- Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les extraits
- Pour chaque concentration, le test est répété 3 fois.

Calcul des pourcentages d'inhibition

$$CI (\%) = [(A_{\text{cont}} - A_{\text{éch}}) / A_{\text{cont}}] \times 100$$

CI (%) : Pourcentage d'inhibition.

A_{cont} : Absorbance du contrôle négatif.

$A_{\text{éch}}$: Absorbance du l'échantillon testé.

Calcul des CI_{50}

Le CI_{50} est définie comme étant la concentration de l'extrait qui provoque l'inhibition de 50% du radical libre DPPH.

Il est calculé graphiquement par les régressions logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits étudiés. Il permet de déterminer l'extrait le plus efficace avec la valeur la plus faible en CI_{50} .

RESULTATS

1 SYNTHÈSE ET IDENTIFICATION DES MOLECULES EN ETUDE :

1.1 Préparation des composés à partir du NAC :

1.1.1 Synthèse du E.NAC-Et :

Les protocoles proposés (Partie : matériels et méthodes) ont été bien respectés.

En absence d'acide sulfurique, aucun composé n'a été obtenu après cristallisation. Le résultat du test au chlorure ferrique est négatif.

En présence d'acide sulfurique, une fine couche blanchâtre bien collée aux parois du ballon a été obtenue. Le contenu réactionnel a été perdu sans pouvoir refaire la réaction en raison de manque de produit de départ.

Donc : Le composé E.NAC-Et n'a pas été récupéré.

1.1.2. Synthèse de l'E.NAC-AS :

Suite à l'utilisation du Dean-Starck, la séparation de deux masses a été possible : d'une masse pâteuse blanche clairement jaunâtre et d'une poudre blanche obtenue après filtration sur Buchner.

Suite au test au FeCl_3 , on a obtenu le tableau suivant :

Tableau VII. Test de présence de groupement phénol lors de la synthèse du E.NAC-Et

	FeCl_3	Groupement Phénol
Poudre Blanche	Violet foncé	+
Pâte jaunâtre	Violet claire disparaît après quelques instants	-
Liquide Jaune de filtration	Violet claire disparaît après quelques instants	-

Les deux composés sont sans odeur particulière.

Quant à la mesure du point de fusion, la pâte présente un point de fusion de 197 C° , et la poudre un point de fusion différent de 170 C° .

Le spectre IR montre une bande caractéristique à 1740 nm^{-1} lors de l'analyse de la pâte.

Suite à l'utilisation du diéthyl éther, un seul composé a été isolé, sous forme de poudre cristalline blanche, à un point de fusion d'environ 162°C, avec un test au chlorure ferrique négatif.

Tableau VIII. Test de présence de groupement phénol

	FeCl ₃	Groupement Phénol
Cristaux blancs	Violet clair disparaît après quelques instants	-
Liquide Jaune de filtration	Violet clair disparaît après quelques instants	-

1.2 Préparation des composés à partir de l'acide azélaïque

1.2.1 Réaction avec l'éthanol :

Les protocoles proposés (Partie : matériels et méthodes) ont été bien respectés.

Suite au premier protocole, deux liquides non miscibles ont été obtenus, la phase huileuse étant très réduite en quantité, difficile à récupérer et à mesurer, le rendement n'est pas déterminé.

Suite au 2^e protocole, la synthèse a été effectuée avec succès. Le liquide obtenu suite à l'évaporation de l'éthanol est de V = 5 mL, de couleur jaune-orangé, d'un aspect huileux et visqueux et une odeur fruitée d'orange. Le rendement du composé brut est estimé à 90% en appliquant la formule :

$$N = m/M \text{ avec } m = dxv \text{ soit : } N = (0.973 \times 5) / 244,32 = 0.019 \text{ mol}$$

$$\text{Le rendement est : } R = (0.019/0.021) \times 100 = 90\%$$

En réalisant le protocole de purification proposée, le rendement diminue suite à l'élimination des impuretés.

1.2.2 Réaction avec la 2-hydroxyacétophenone :

Les protocoles proposés sont bien respectés.

Suite à l'utilisation du montage de chauffage à reflux, une phase crémeuse a été obtenue, de couleur jaunâtre, impossible à être filtrée, qui se dissout rapidement en mélangeant.

Suite à une hydro-distillation, et après l'ajout de l'éthanol (2 phases liquides ont été séparées à 2 températures différentes. L'élévation progressive de température n'a permis que la transformation du contenu du ballon préalablement jaune (couleur du 2-hydroxyacétophenone), utilisée en excès lors de la réaction en brun foncé.

L'utilisation du Dean-Starck) permet l'obtention de 2 phases, une majoritaire correspondant au toluène et l'autre correspondant à l'eau, d'aspect blanchâtre, laiteux, d'un volume de 1ml environ.

DISCUSSION

Dans cette partie, plusieurs aspects importants de notre travail sont à aborder, en mettant l'accent sur des idées clés, justifiant le manque et les failles, et en proposant des solutions et des perspectives.

1. Notion d'hybridation des produits chimiques préalablement actifs :

Dans notre recherche, la synthèse des molécules potentiellement antioxydantes a été envisagée, en se basant sur des connaissances préalables en littérature et des études publiées.

Afin d'explorer de nouvelles voies de synthèse et de développer des produits chimiques potentiellement plus efficaces dans le domaine de la santé, une attention particulière a été accordée à l'hybridation de molécules actives connues comme produit de départ, dans le but d'obtenir des composés hybrides ayant des propriétés synergiques ou améliorées.

2. Origines des protocoles choisis :

Pour établir les protocoles expérimentaux, une recherche de la littérature a été réalisée. Les conditions opératoires de la réaction d'estérification sont connues, néant moins, la difficulté réside dans l'impossibilité de séparation des composés obtenus par manque de moyens.

En se basant sur le protocole de la synthèse de l'aspirine, surtout pour les réactions contenant l'acide salicylique, différents paramètres expérimentaux ont été modifiés, tels que les quantités de réactifs utilisés, la température, les montages et la durée de la réaction. Tout cela dans le but d'essayer d'optimiser les rendements afin d'avoir une quantité suffisante pour entamer l'identification et les tests nécessaires.

3. Résultats de synthèses :

- **Esters de la NAC :**

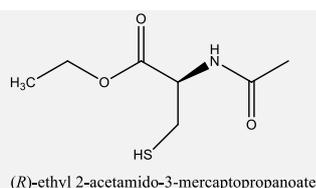
L'obtention des esters de la NAC nécessite sa transformation en chlorure d'acide correspondant puis entamer l'estérification par la suite dans le but d'augmenter le rendement. Kularatne, Ruvanthi & Bulumulla, Chandima & Catchpole, Timothy & Takacs, Alison & Christie, Abigail & Stefan, Mihaela & Csaky, Karl. (2020). Protection of human retinal pigment epithelial cells from oxidative damage using cysteine prodrugs. *Free Radical Biology and Medicine*. 152.

10.1016/j.freeradbiomed.2020.03.024 ; L'utilisation de la NAC directement justifie les faible quantité obtenue. Suite à l'utilisation de l'acide sulfurique, la réaction d'obtention de l'E.NAC-Et, composé est obtenu avec un faible rendement, colé en couche fine aux parois du ballon.

La réaction d'amidification est une réaction qui peut avoir lieu sans catalyse acide, l'absence de résultat final lors de la réaction de la NAC avec l'éthanol sans acide sulfurique confirme que c'est une réaction d'estérification touchant l'hydroxyle de la fonction acide.

Structure présumé

Masse molaire



191.06/Mol

Lors de la synthèse de l'E.NAC-AS, Le résultat négatif au FeCl_3 (un test d'orientation vers la fonction phénol) confirme l'engagement de l'hydroxyle du phénol dans la réaction d'estérification au composé de la réaction de la NAC avec l'acide salicylique. La masse pâteuse semble être le composé recherché. En plus de son point de fusion élevé, loin de celui de l'acide salicylique (157°C) et la NAC ($108-111^\circ\text{C}$), la présence de la bande caractéristique du carbonyle de l'ester vers les 1740 cm^{-1} dans le spectre de la masse obtenue est prometteuse.

La poudre blanchâtre cristalline, à test au chlorure ferrique positif et à un point de fusion de 170°C semble être l'acide salicylique impur (trace de produit final déplaçant le point de fusion).

Quant à l'utilisation du diéthyl éther, et Malgré son point d'ébullition bas, il a été choisi et essayé comme solvant de la réaction suite à un test de solubilité des produits de départ dans différents solvants (chloroforme, dichlorométhane et diéthyl éther).

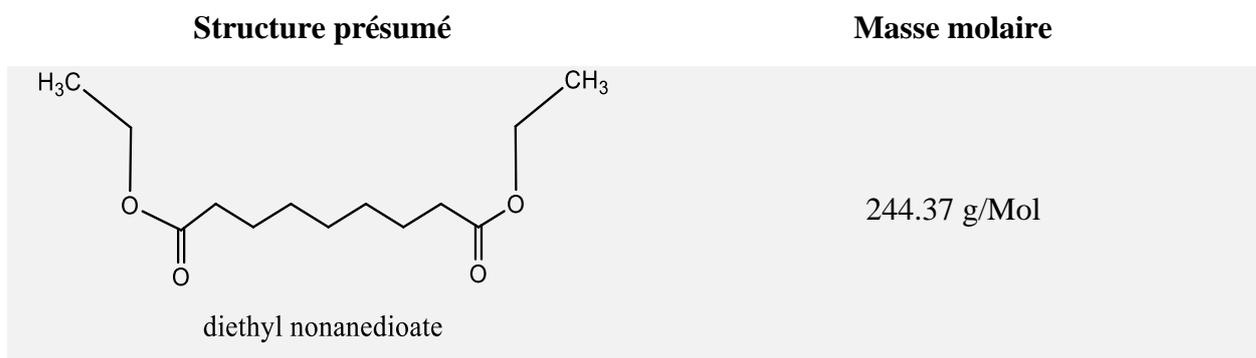
Tableau IX. Test de solubilité sur les réactifs de départ

Réactif	Chloroforme	Dichlorométhane	Diéthyl éther
Acide salicylique	Insoluble	Légèrement soluble	Soluble
N-acétylcystéine	Insoluble	Insoluble	Peu soluble

La poudre blanche obtenue avec le point de fusion de 162 suggère que c'est l'acide salicylique (157°C). Une température basse semble inadéquate pour achever la réaction.

- **Diesters de l'acide azélaïque :**

Seul le protocole de la réaction de l'acide azélaïque avec l'éthanol était publié (WO2006/74379 A2 ; Page/Page column 18-19), le rendement obtenu est considéré satisfaisant avec les mêmes caractéristiques organoleptiques publiées.



Le composé final issu de la réaction de l'acide azélaïque avec la 2-hydroxyacétophenone est supposé liquide à température ambiante (solide avec un point de fusion bas). Malheureusement, il n'était probablement pas isolé.

L'excès d'éthanol dans la réaction précédente, étant facile à éliminer, a rendu la récupération du produit final facile, contrairement à l'alcool aromatique 2-hydroxyacétophenone dont la température d'ébullition est de l'ordre de 200°C. Malgré isolement de deux phases liquides pouvant contenir le produit recherché, l'impossibilité d'estimer le point d'ébullition du diester de l'acide azélaïque suggèrent qu'il peut être encore mélangé avec l'excès de l'alcool employé.

Remarques :

- L'ensemble des produits de départ (aussi bien pour NAC que pour l'acide azélaïque) sont des molécules connues actives et utilisées en dermatologie-cosmétologie, la notion de purification n'était pas traitée avec rigueur.

- Le suivi de l'avancement des réactions était difficile par CCM en raison de la grande polarité des acides carboxyliques et de leur aspect caractéristique en fuseau (trainée) sur la plaque CCM, pouvant masquer les produits recherchés.
- En absence du matériel adéquat (évaporateur rotatif, colonne de séparation HPLC ...); la séparation des constituants des mélanges en fin des réactions était difficile voire impossible. L'évaporation à l'air libre, sous plaque chauffante, l'extraction par solvants sont des techniques qui ont été utilisées sans pour cela assurer le résultat obtenu. Pour cette dernière, la notion de solubilité, miscibilité des solvants et réactifs était difficile à gérer.

4. Evaluation de l'activité antioxydante :

La méthode proposée pour l'évaluation de l'activité antioxydante est une technique standardisée, qualifiée de facile.

Elle peut être appliquée aussi bien aux dilutions de solution de composés solubles (eau, alcool...) que des esters de la NAC, qu'aux extraits de composés miscibles (diéthyl éther, ...) que des diesters de l'acide azélaïque.

Le but de cette partie est d'évaluer le pouvoir antioxydant des composés synthétisés, en les comparant à celui de la NAC, produit de référence en ce domaine, mais aussi à l'ensemble des produits de départ, essentiellement la 2-hydroxyacetophénone, étant connue antioxydante.

L'évaluation des mélanges semblables à ceux réactionnels de départ a été proposée.

Malheureusement, il a été impossible d'envisager cette partie.

5. Perspectives :

De la synthèse, l'optimisation du rendement, le choix des techniques d'isolement... à l'évaluation du pouvoir antioxydant, ce travail n'est qu'une étude préliminaire qui doit être améliorée et complétée.

En parallèle, l'étude du pouvoir anti-inflammatoire pour les composés contenant l'acide salicylique, et antibactérien pour les esters de l'acide azélaïque peut être prometteur.

CONCLUSION

Les molécules à pouvoir antioxydant présente un intérêt énorme à l'heure actuelle. Le mode de vie favorisant les maladies de civilisation, ainsi les séquelles de la pandémie COVID ont rendu la consommation des compléments alimentaires contenant des ingrédients connus comme antioxydant accrue. En plus, en dermato-cosmétologie, ces composés sont très à la demande.

Cet humble travail a pour objectif la synthèse de nouvelles molécules à pouvoir antioxydant en se basant sur des composés de départ déjà connu actif et cela par hybridation. La réaction d'esthétisation était choisie comme moyen de liaisons entre ces composés.

La N-acétylcystéine, un antioxydant de référence, et l'acide azélaïque, un composé clé dans plusieurs préparations dermatologiques, sont choisis comme charpente, sur lesquels des modifications structurales sont envisagées par l'éthanol et l'acide salicylique d'un côté et l'éthanol et la 2-hydroxyacétophenone d'un autre côté, respectivement.

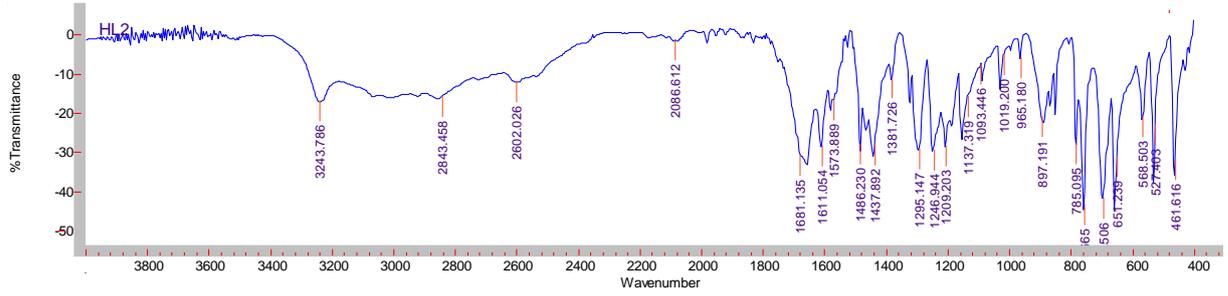
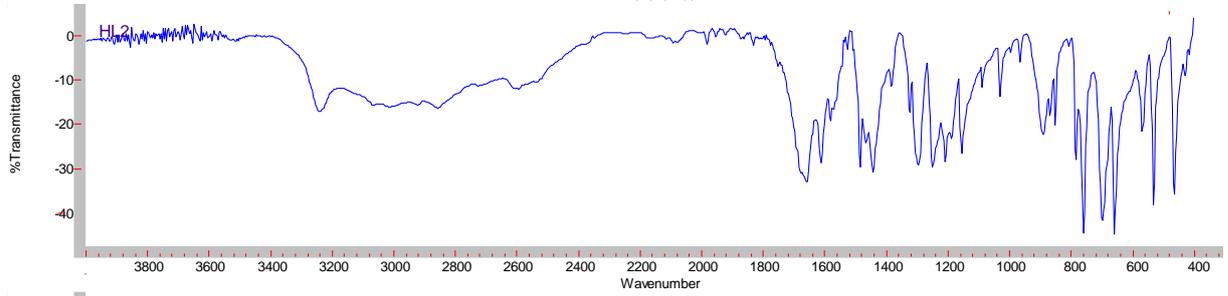
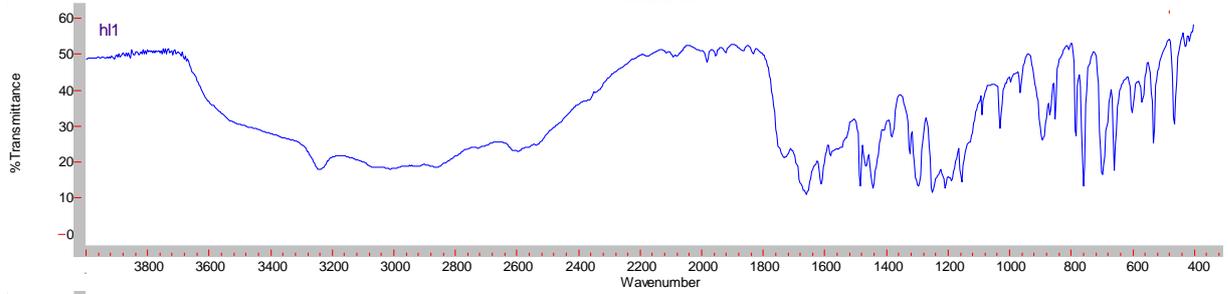
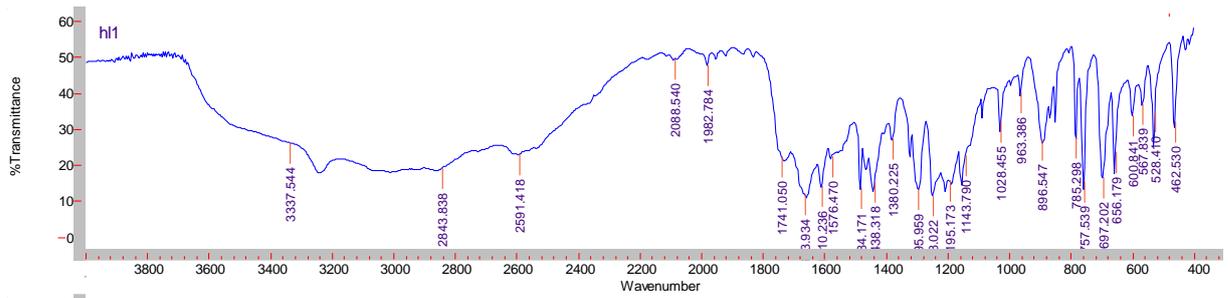
Les protocoles de synthèse des composés résultant de l'estérification avec l'éthanol, un alcool aliphatique à pouvoir antiseptique, sont déjà publiés. Ils ont servi de modèle pour les synthèses engageant des composés aromatiques à hydroxyle phénolique, l'acide salicylique pour la NAC et la 2-hydroxyacetophenone pour l'acide azélaïque.

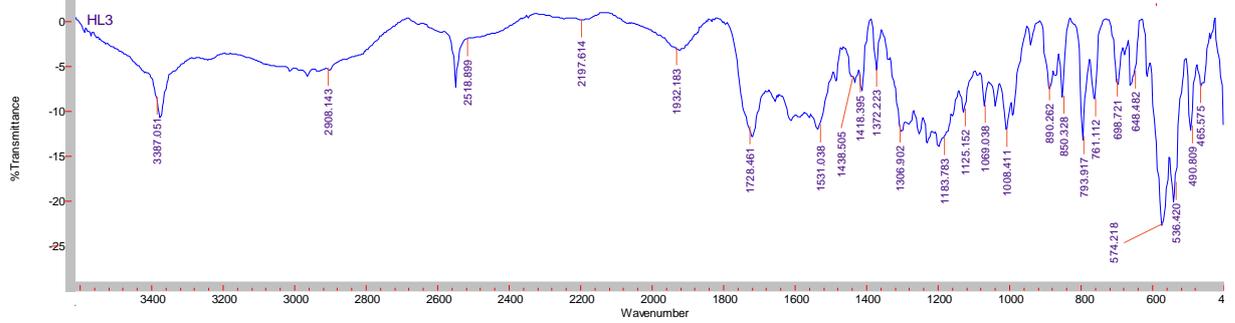
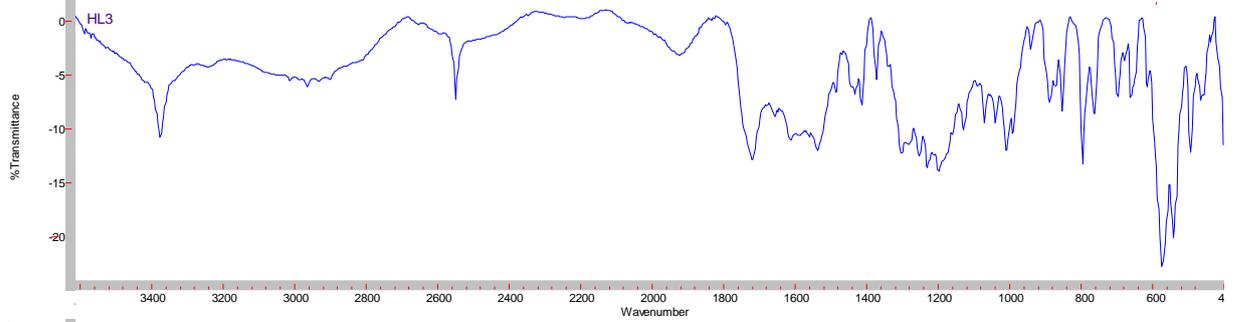
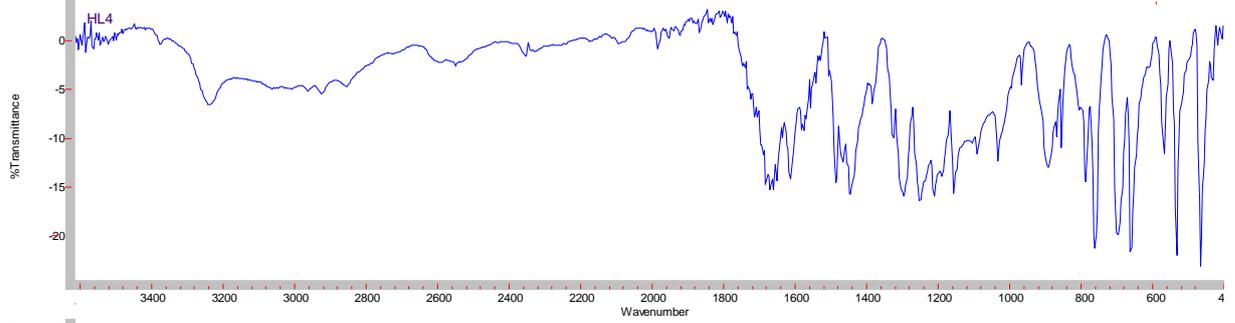
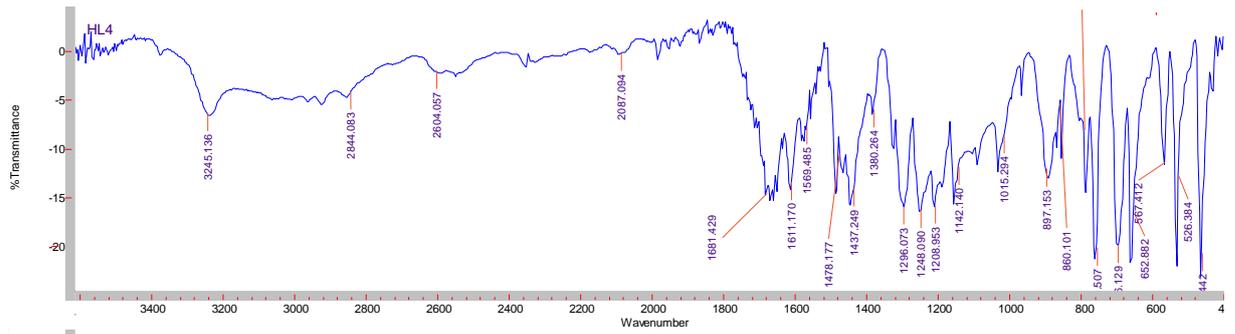
Le but est d'avoir des quantités suffisantes pour la caractérisation et l'évaluation de l'activité antioxydante. Un bon rendement n'était pas une priorité, malheureusement l'activité antioxydante n'était pas réalisée.

Les résultats obtenus sont préliminaires, les failles sont multiples, le manque en matériel est important, en expérience aussi...

Optimiser le rendement, caractériser convenablement les molécules synthétisées et l'évaluation leur pouvoir biologique comparé aux molécules de départ sont des perspectives.

ANNEXES





The picture can't be displayed.

**Table des nombres d'onde des vibrations d'élongation et de déformation. Liaison.
Nature. Nombre d'onde (cm-1)**

REFERENCES

1. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84.
2. Halliwell B, & Gutteridge, J. M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine.* Oxford University Press. 2007.
3. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox biology.* 2015;4:180-3.
4. Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004;44:239-67.
5. Sies H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. *Redox Biol.* 2017;11:613-9.
6. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 2006;141(2):312-22.
7. Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species. *J Cell Biol.* 2011;194(1):7-15.
8. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol.* 2003;552(Pt 2):335-44.
9. Malhotra JD, Kaufman RJ. ER stress and its functional link to mitochondria: role in cell survival and death. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011;3(9):a004424.
10. Fransen M, Nordgren M, Wang B, Apanasets O. Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: implications for human disease. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1822(9):1363-73.
11. Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem.* 1993;215(2):213-9.
12. Dalle-Donne I, Aldini G, Carini M, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. *J Cell Mol Med.* 2006;10(2):389-406.
13. Radi R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(23):5839-48.
14. Sosa V, Moliné T, Somoza R, Paciucci R, Kondoh H, ME LL. Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing Res Rev.* 2013;12(1):376-90.
15. Ali SS, Ahsan H, Zia MK, Siddiqui T, Khan FH. Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *J Food Biochem.* 2020;44(3):e13145.
16. Valko M, Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions,* 160(1). 2006.

17. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012;33(7):829-37, 37a-37d.
18. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev*. 2007;87(1):315-424.
19. Szabó C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov*. 2007;6(11):917-35.
20. Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, Sheridan P, Pogue J, Micks M, et al. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med*. 2006;354(15):1567-77.
21. Manson JE, Bassuk SS, Stampfer MJ. Does vitamin E supplementation prevent cardiovascular events? *J Womens Health (Larchmt)*. 2003;12(2):123-36.
22. Praticò D, Delanty N. Oxidative injury in diseases of the central nervous system: focus on Alzheimer's disease. *Am J Med*. 2000;109(7):577-85.
23. Mariani E, Polidori MC, Cherubini A, Mecocci P. Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: an overview. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2005;827(1):65-75.
24. Wang X, Quinn PJ. Vitamin E and its function in membranes. *Prog Lipid Res*. 1999;38(4):309-36.
25. Wang N, Chintala SK, Fini ME, Schuman JS. Activation of a tissue-specific stress response in the aqueous outflow pathway of the eye defines the glaucoma disease phenotype. *Nat Med*. 2001;7(3):304-9.
26. Kumar JP, Hsiung F, Powers MA, Moses K. Nuclear translocation of activated MAP kinase is developmentally regulated in the developing *Drosophila* eye. *Development*. 2003;130(16):3703-14.
27. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling | *Journal of Cell Biology* | Rockefeller University Press.
28. Brigelius-Flohé R, Maiorino M. Glutathione peroxidases. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1830(5):3289-303.
29. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem*. 1995;64:97-112.
30. Chelikani P, Fita I, Loewen PC. Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol Life Sci*. 2004;61(2):192-208.
31. Goyal MM, Basak A. Human catalase: looking for complete identity. *Protein & cell*. 2010;1(10):888-97.

32. Sepasi Tehrani H, Moosavi-Movahedi AA. Catalase and its mysteries. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2018;140:5-12.
33. Hertwig B, Streb P, Feierabend Jr. Light dependence of catalase synthesis and degradation in leaves and the influence of interfering stress conditions. *Plant Physiology*. 1992;100(3):1547-53.
34. Busch A, Deckena M, Almeida-Trapp M, Kopischke S, Kock C, Schüssler E, et al. MpTCP1 controls cell proliferation and redox processes in *Marchantia polymorpha*. *New Phytol*. 2019;224(4):1627-41.
35. Hamid M, Khalil ur R. Potential applications of peroxidases. *Food Chemistry*. 2009;115(4):1177-86.
36. Passardi F, Penel C, Dunand C. Performing the paradoxical: how plant peroxidases modify the cell wall. *Trends in plant science*. 2004;9(11):534-40.
37. Hiraga S, Sasaki K, Ito H, Ohashi Y, Matsui H. A large family of class III plant peroxidases. *Plant and Cell Physiology*. 2001;42(5):462-8.
38. Cadmium-induced oxidative stress and response of the ascorbate–glutathione cycle in *Bechmeria nivea* (L.) Gaud - ScienceDirect.
39. Meister A. Glutathione metabolism and its selective modification. *J Biol Chem*. 1988;263(33):17205-8.
40. Jones DP, Carlson JL, Mody VC, Cai J, Lynn MJ, Sternberg P. Redox state of glutathione in human plasma. *Free Radic Biol Med*. 2000;28(4):625-35.
41. Fazakerley DJ, Chaudhuri R, Yang P, Maghzal GJ, Thomas KC, Krycer JR, et al. Mitochondrial CoQ deficiency is a common driver of mitochondrial oxidants and insulin resistance. *Elife*. 2018;7.
42. Wolf R, Wolf D, Ruocco V. Vitamin E: the radical protector. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 1998;10(2):103-17.
43. Nordberg J, Arnér ESJ. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system1 |This review is based on the licentiate thesis “Thioredoxin reductase—interactions with the redox active compounds 1-chloro-2,4-dinitrobenzene and lipoic acid” by Jonas Nordberg, 2001, Karolinska Institute, Stockholm, ISBN 91-631-1064-4. *Free Radical Biology and Medicine*. 2001;31(11):1287-312.
44. Mandelker L. Cellular effects of common antioxidants. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2008;38(1):199-211, vii.
45. Öhrvall M, Vessby B, Sundlöf G. Gamma, but not alpha, tocopherol levels in serum are reduced in coronary heart disease patients. *Journal of internal medicine*. 1996;239(2):111-7.

46. El-Agamey A, Lowe GM, McGarvey DJ, Mortensen A, Phillip DM, Truscott TG, et al. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Arch Biochem Biophys*. 2004;430(1):37-48.
47. Lushchak VI, Hermes-Lima M. The effect of buthionine sulfoximine on the glutathione level in goldfish tissues. *Ukr Biokhim Zh* (1999). 2005;77(3):35-8.
48. Miller G, Suzuki N, Ciftci-Yilmaz S, Mittler R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, cell & environment*. 2010;33(4):453-67.
49. Dixon RA, Paiva NL. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The plant cell*. 1995;7(7):1085.
50. Yamasaki H, Sakihama Y, Ikehara N. Flavonoid-peroxidase reaction as a detoxification mechanism of plant cells against H₂O₂. *Plant Physiology*. 1997;115(4):1405-12.
51. Kilmartin PA, Zou H, Waterhouse AL. A cyclic voltammetry method suitable for characterizing antioxidant properties of wine and wine phenolics. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2001;49(4):1957-65.
52. Sun AY, Simonyi A, Sun GY. The “French Paradox” and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. *Free Radical Biology and Medicine*. 2002;32(4):314-8.
53. Cantoni O ea. Glutathione and N-acetyl-cysteine as precursors of mercapturic acids. *Atti della Accademia Nazionale dei Lincei Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali Rendiconti Lincei Serie IX: Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali*. 1963.
54. Dong G, editor *Characterization of SufS and SufE of Suf Pathway for FE-S Cluster Assembly in Escherichia Coli*2017.
55. Vasconcelos Q, Bachur TPR, Aragão GF. Whey protein supplementation and its potentially adverse effects on health: a systematic review. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2021;46(1):27-33.
56. Samuni Y, Goldstein S, Dean OM, Berk M. The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1830(8):4117-29.
57. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002;82(1):47-95.
58. Berk M, Malhi GS, Gray LJ, Dean OM. The promise of N-acetylcysteine in neuropsychiatry. *Trends Pharmacol Sci*. 2013;34(3):167-77.
59. Brunden KR, Ballatore C, Crowe A, Smith AB, 3rd, Lee VM, Trojanowski JQ. Tau-directed drug discovery for Alzheimer's disease and related tauopathies: a focus on tau assembly inhibitors. *Exp Neurol*. 2010;223(2):304-10.

60. Smilkstein MJ, Knapp GL, Kulig KW, Rumack BH. Efficacy of oral N-acetylcysteine in the treatment of acetaminophen overdose. Analysis of the national multicenter study (1976 to 1985). *N Engl J Med.* 1988;319(24):1557-62.
61. Atkuri KR, Mantovani JJ, Herzenberg LA, Herzenberg LA. N-Acetylcysteine--a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Curr Opin Pharmacol.* 2007;7(4):355-9.
62. Hardingham GE, Do KQ. Linking early-life NMDAR hypofunction and oxidative stress in schizophrenia pathogenesis. *Nat Rev Neurosci.* 2016;17(2):125-34.
63. Pace E, Cerveri I, Lacedonia D, Paone G, Sanduzzi Zamparelli A, Sorbo R, et al. Clinical Efficacy of Carbocysteine in COPD: Beyond the Mucolytic Action. *Pharmaceutics.* 2022;14(6).
64. Fleischer AB, Jr. The evolution of azelaic acid. *Cutis.* 2006;77(2 Suppl):4-6.
65. <https://www.geeksforgeeks.org/azelaic-acid-formula/>. Formule d'acide azélaïque 2022 [
66. biotechnologie Cndisl. Résumé des composés PubChem pour CID 2266, Acide azélaïque. 2023 [Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Azelaic-Acid>
67. Chilicka K, Rogowska AM, Szyguła R, Dzieńdziora-Urbińska I, Taradaj J. A comparison of the effectiveness of azelaic and pyruvic acid peels in the treatment of female adult acne: a randomized controlled trial. *Sci Rep.* 2020;10(1):12612.
68. Searle T, Ali FR, Al-Niaimi F. The versatility of azelaic acid in dermatology. *J Dermatolog Treat.* 2022;33(2):722-32.
69. Sieber MA, Hegel JK. Azelaic acid: Properties and mode of action. *Skin Pharmacol Physiol.* 2014;27 Suppl 1:9-17.
70. Worret WI, Fluhr JW. [Acne therapy with topical benzoyl peroxide, antibiotics and azelaic acid]. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2006;4(4):293-300.
71. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyère O, Cederholm T, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing.* 2019;48(1):16-31.
72. Munteanu IG, Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int J Mol Sci.* 2021;22(7).
73. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods.* 2012;9(7):676-82.
74. Wang F, Song Y, Vidyarthi SK, Zhang R. Physicochemical properties, and volatile compounds of blackened jujube vinegar as prepared by optimized fermentation process. *International Journal of Food Properties.* 2022;25:288 - 304.

RESUME

Les molécules à pouvoir antioxydant sont prometteuses en thérapie récente, aussi bien comme traitement que comme compléments alimentaires...

Ce travail vise la synthèse et l'identification de nouvelles molécules antioxydantes dérivées de la N-acétylcystéine (NAC) et de l'acide azélaïque comme points de départ en se basant sur la réaction d'estérification avec l'éthanol, et des composés aromatiques phénoliques : l'acide salicylique et la 2-hydroxyacétiphenone respectivement.

Les résultats obtenus avec l'éthanol se concordent avec la littérature, avec un bon rendement pour le diester de l'acide azélaïque. Les composés ont été identifiés par mesure de point de fusion, le test au chlorure ferrique, et IR.

Ceux avec les composés aromatiques sont encore préliminaires mais prometteurs. Les protocoles de synthèse doivent être optimisés, les méthodes de séparation et de caractérisation aussi.

Le choix des molécules de départ est basé sur les données de la littérature, une confirmation de l'activité antioxydante est l'idéale.

Mots-clés : N-acétylcystéine, acide azélaïque, réaction d'estérification, alcool aliphatique, composés aromatiques phénoliques, pouvoir antioxydant.

ABSTRACT

In recent therapy, molecules with antioxidant activity are promising as both treatment and food supplements...

The aim of this work is the synthesis and identification of new antioxidant molecules derived from N-acetylcysteine (NAC) and azelaic acid as starting compounds based on the esterification reaction, with ethanol, and aromatic phenolic compounds : salicylic acid and 2-hydroxyacetophenone respectively.

The results obtained with ethanol agree with the literature, with a good yield for the diester of azelaic acid. Compounds were identified by the measurement of their melting point, the result of the ferric chloride test, and by IR.

The results of the esterification with aromatic compounds are still preliminary but promising. Synthesis protocols must be optimized, as well as separation and characterization methods.

The choice of starting molecules is based on literature data, confirmation of antioxidant activity is ideal.

Key words: N-acetylcysteine, azelaic acid, esterification reaction, aliphatic alcohol, aromatic phenolic compounds, antioxidant activity

ملخص

تعد الجزيئات ذات القوة المضادة للأكسدة واعدة في العلاج الحديث ، كعلاج ومكملات غذائية...

يهدف هذا العمل إلى تخليق وتحديد جزيئات مضادات الأكسدة الجديدة المشتقة

بناءً على تفاعل الأسترة مع الإيثانول والمركبات العطرية الفينولية: حمض الساليسيليك و 2-هيدروكسي أسيتيفينون على التوالي.

النتائج التي تم الحصول عليها مع الإيثانول تتفق مع الأدبيات ، مع عائد جيد للديستر من حمض الأزيليك. تم تعريف المركبات عن طريق قياس درجة الانصهار واختبار كلوريد الحديديك والأشعة تحت الحمراء

تلك التي تحتوي على مركبات عطرية لا تزال أولية ولكنها واعدة. يجب تحسين بروتوكولات التوليف ، وكذلك طرق الفصل والتوصيف

يعتمد اختيار جزيئات البدء على بيانات الأدبيات ، ويعتبر تأكيد نشاط مضادات الأكسدة أمراً مثالياً

الكلمات المفتاحية

حمض الأزيليك ، تفاعل الأسترة ، الكحول الأليفاتي ، المركبات الفينولية العطرية ، القدرة المضادة للأكسدة

