



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



UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID –TLEMCEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département d'Écologie et Environnement

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de MASTER

En Toxicologie Industrielle et Environnementale

Thème:

Étude in vitro de l'activité anti-inflammatoire, antioxydante et
de la toxicité de la molécule hydrazone (Benzil-hydrazone)

Présenté par

CHAOUFI Selsebil

ZADJAOUI Meryem

Soutenu le: 07/07/2025

Devant le jury compose de:

Fonction	Nom et Prénom	Grade	Université d'origine
Président	Mme Merzouk Amel	McA	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme Guermouche Baya	Professeure	Université de Tlemcen
Co-Encadreur	Mme Hamzi Imene	McA	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme Haddam	Professeure	Université de Tlemcen

L'année universitaire: 2024 / 2025

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à exprimer mes sincères remerciements à mon encadreur, [**Guermouche Baya**], pour sa disponibilité, la rigueur de son encadrement, la pertinence de ses conseils et son accompagnement attentif tout au long de ce travail. Ses orientations scientifiques et pédagogiques ont été d'un apport précieux et déterminant.

Je remercie également les membres du jury pour l'honneur qu'ils me font en acceptant d'évaluer ce mémoire et pour l'intérêt qu'ils portent à ce travail.

Mes remerciements s'adressent aussi à l'ensemble du corps enseignant du Master de **Toxicologie Industrielle et Environnementale** de l'Université **Abou Bekr Belkaid-Tlemcen**, pour la qualité de leur enseignement, leur disponibilité et leurs encouragements durant tout mon parcours universitaire.

Je tiens également à remercier chaleureusement mes collègues et amis, pour leur soutien, leur esprit d'entraide et les moments partagés qui ont rendu cette expérience plus enrichissante.

Enfin, je dédie une pensée très particulière à ma famille et à mes parents, pour leur amour, leurs sacrifices, leur patience et leur soutien indéfectible qui ont été le moteur de mon parcours universitaire.





Dédicace

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux,
qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce mémoire.

A moi-même pour avoir puisé en moi la force de persévérer, pour cette résilience inestimable
qui m'a ancrée durant les périodes sombres. Chaque obstacle a été une pierre de construction,
me permettant de devenir cette personne solide et puissante. Je te remercie, mon moi intérieur,

pour cette constance

hier, aujourd'hui et éternellement

À Ma Mère (BARKAT SAMIRA)

Affable, honorable, aimable, tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la
source de tendresse et l'exemple du dévouement.

Tu n'as jamais cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été
d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour ses enfants, en me guidant sur le bon chemin dans
ma vie et mes études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour


À mes merveilleuses tantes

Pour leur présence précieuse, leurs conseils et leur bienveillance qui m'ont toujours
accompagnée. Je leur dédie ce travail en signe de ma profonde gratitude.

A Mes Chéres Amis

Ceux et celles qui ont partagé mes rires, supporté mes doutes et célébré mes petites victoires.

Votre amitié a été un pilier essentiel durant ces années universitaires. Je vous remercie pour
tout, et je suis fière de partager cette réussite avec vous.



DEDICACE

Je dédie ce modeste travail

*À ma mère, qui s'est tenue à mes côtés à chaque étape de
ma vie et surtout dans ce travail que j'ai accompli, qu'ALLAH
te bénisse.*

*À mon père, qui tout au long du chemin a été une source de
sagesse et a fait face à tous mes besoins pour me permettre de
réussir.*

*À ma sœur, qui m'a soutenue à travers toutes les situations
difficiles, je t'aime, tu es la meilleure.*

*À mon frère, mon bras droit dont je ne saurais oublier son soutien
dans les moments de faiblesse*

Résumé:

Les hydrazones, composés azotés issus de la condensation entre hydrazines et dérivés carbonyles, suscitent un intérêt majeur en raison de leurs multiples activités biologiques. Ce mémoire explore le potentiel thérapeutique d'hydrazones, en établissant une balance bénéfique/risque de leur usage biomédical à travers l'évaluation simultanée de leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et de leur profil toxicologique.

Les composés ont été purifiés par chromatographie puis caractérisés par spectrométrie de masse. Les tests biologiques in vitro ont révélé :

- Une activité antioxydante significative, avec un IC_{50} moyen de 56 $\mu\text{g/ml}$ au test DPPH et une capacité réductrice de 250 mg Éq. Acide ascorbique (EAA)/g au test FRAP ;
- Un potentiel anti-inflammatoire marqué, atteignant 60 % d'inhibition de la dénaturation protéique à 200 $\mu\text{g/ml}$.

Cependant, l'évaluation toxicologique a montré une cytotoxicité dose-dépendante et un risque hémolytique notable à forte concentration (19 % d'hémolyse à 100 $\mu\text{g/ml}$).

L'analyse structure-activité a mis en évidence l'impact des substituants ($-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$) sur l'efficacité biologique et la toxicité, suggérant des mécanismes d'action impliquant les voies NF- κB et Nrf2.

Parmi la molécule étudiée deux candidats présentent un profil pharmacologique intéressant, alliant une activité biologique prometteuse et une toxicité acceptable. Des études complémentaires in vivo et une optimisation structurale sont néanmoins nécessaires pour confirmer leur potentiel clinique et améliorer leur rapport bénéfique/risque.

Cette recherche démontre l'intérêt des hydrazones en médecine tout en soulignant l'importance d'une évaluation toxicologique rigoureuse des composés bioactifs.

Mots-clés : hydrazones ; antioxydant ; anti-inflammatoire ; toxicologie ; développement pharmaceutique.

Abstract:

Hydrazones, nitrogenous compounds derived from the condensation of hydrazines and carbonyl derivatives, are of major interest due to their multiple biological activities. This thesis explores the therapeutic potential of hydrazones, establishing a benefit/risk balance for their biomedical use through the simultaneous evaluation of their antioxidant and anti-inflammatory properties, and their toxicological profile. The compounds were purified by chromatography and then characterized by mass spectrometry. In vitro biological tests revealed: • Significant antioxidant activity, with an average IC_{50} of 56 $\mu\text{g/ml}$ in the DPPH test and a reducing capacity of 250 mg Ascorbic Acid Equivalent (EAA)/g in the FRAP test; • Pronounced anti-inflammatory potential, reaching 60% inhibition of protein denaturation at 200 $\mu\text{g/ml}$. However, toxicological evaluation revealed dose-dependent cytotoxicity and a significant hemolytic risk at high concentrations (19% hemolysis at 100 $\mu\text{g/ml}$). Structure-activity analysis highlighted the impact of substituents ($-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$) on biological efficacy and toxicity, suggesting mechanisms of action involving the NF- κB and Nrf2 pathways. Among the molecules studied, two candidates exhibit an interesting pharmacological profile, combining promising biological activity and acceptable toxicity. Further in vivo studies and structural optimization are nevertheless necessary

to confirm their clinical potential and improve their benefit/risk ratio. This research demonstrates the value of hydrazones in medicine while highlighting the importance of rigorous toxicological evaluation of bioactive compounds. Keywords: hydrazones; antioxidant; anti-inflammatory; toxicology; pharmaceutical development.

الملخص:

تُعد الهيدرازونات، وهي مركبات نيتروجينية مشتقة من تكافئ الهيدرازينات ومشتقات الكربونيل، ذات أهمية بالغة نظراً لنشاطاتها البيولوجية المتعددة. تستكشف هذه الأطروحة الإمكانيات العلاجية للهيدرازونات، مُحققَةً توازناً بين فوائدها ومخاطرها لاستخدامها في الطب الحيوي من خلال التقييم المتزامن لخصائصها المضادة للأكسدة والالتهابات، بالإضافة إلى خصائصها السمية. بُقيت المركبات بالكروماتوغرافيا، ثم وُصفت باستخدام مطياف الكتلة. كُشفت الاختبارات البيولوجية المختبرية عن: نشاط مضاد للأكسدة ملحوظ، بمتوسط IC_{50} يبلغ 56 ميكروغرام/مل في اختبار DPPH، وقدرة اختزال تبلغ 250 ملغ من مكافئ حمض الأسكوربيك (EAA) غم في اختبار FRAP؛ • قدرة مضادة للالتهابات واضحة، تصل إلى تثبيط 60% لثنوية البروتين عند تركيز 200 ميكروغرام/مل. ومع ذلك، كُشف التقييم السمي عن سمية خلوية مرتبطة بالجرعة وخطر انحلال دموي كبير عند التركيزات العالية (انحلال دم بنسبة 19% عند 100 ميكروغرام/مل). أُبرز تحليل البنية والنشاط تأثير البدائل (OH-)، (-OCH₃) على الفعالية البيولوجية والسمية، مما يشير إلى آليات عمل تتضمن مسارات NF- κ B و Nrf2 من بين الجزئيات المدروسة، أظهر مرشحان خصائص دوائية مثيرة للاهتمام، تجمع بين النشاط البيولوجي الواعد والسمية المقبولة. ومع ذلك، لا بد من إجراء المزيد من الدراسات الحيوية والتحصين الهيكلي لتأكيد إمكاناتهما السريرية وتحسين نسبة الفائدة إلى المخاطر. يوضح هذا البحث قيمة الهيدرازونات في الطب، مع تسليط الضوء على أهمية التقييم السمي الدقيق للمركبات النشطة بيولوجياً. الكلمات المفتاحية: الهيدرازونات؛ مضاد للأكسدة؛ مضاد للالتهابات؛ علم السموم؛ تطوير الأدوية.

TABLE DES MATIERES

1. SYNTHÈSE DES HYDRAZONES	4
2. REACTIVITÉ GÉNÉRALE DES HYDRAZONES	6
COMPORTEMENT ÉLECTROPHILE	7
COMPORTEMENT NUCLÉOPHILE	7
ACTIVITÉ BIOLOGIQUE	8
ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE	8
ACTIVITÉ CARDIOPROTECTRICE	9
ACTIVITÉ ANTI-INFLAMMATOIRE (DÉRIVÉS D'HYDRAZONES)	9
L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES DÉRIVÉS HYDRAZONES	10
APPLICATIONS POTENTIELLES DES HYDRAZONES ANTIOXYDANTES	11
ÉTUDE TOXICOLOGIQUE	12
STRUCTURE INFLUENTE	12
TOXICITÉ AIGUË	12
EFFETS MUTAGÈNES ET GÉNOTOXIQUES	13
TOXICITÉ HÉPATIQUE ET NEUROLOGIQUE	13
CYTOTOXICITÉ	13
ÉTUDE TOXICOLOGIQUE EXPÉRIMENTALE SUR LES DÉRIVÉS D'HYDRAZONES	14
HYDRAZONE DÉRIVÉE DE L'ISONIAZIDE (ANTI-TUBERCULEUX)	14
PHENYLHYDRAZONE	14
HYDRAZONES AROMATIQUES SUBSTITUÉES	15
3. MATÉRIEL	17
COMPOSÉ ETUDIE	17
REACTIFS ET SUBSTANCES DE RÉFÉRENCE	17
4. MÉTHODES	19
ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTI-INFLAMMATOIRE IN VITRO	19

PREPARATION DES MELANGES	19
GROUPE TEMOINS	19
INCUBATION	20
REFROIDISSEMENT ET TRAITEMENT POST-INCUBATION	20
LECTURE SPECTROPHOTOMETRIQUE	20
CALCUL DU POURCENTAGE D'INHIBITION	20
ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE	21
TEST DPPH (PIÈGEAGE DES RADICAUX LIBRES)	21
TEST FRAP (FERRIC REDUCING ANTIOXYDANT POWER)	22
TEST TAC (TOTAL ANTIOXYDANT CAPACITY)	22
ÉVALUATION DE LA CYTOTOXICITÉ (TEST D'HEMOLYSE)	23
ACTIVITÉ ANTI-INFLAMMATOIRE	26
ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE	28
TEST DE DPPH	28
FRAP (FERRIC REDUCING ANTIOXYDANT POWER)	29
TEST DE CAT	29
TEST D'HEMOLYSE	30
<u>5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	<u>35</u>
<u>ANNEXES</u>	<u>44</u>

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Résumé visuel de la méthode d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* 20

Tableau 2 Effet anti-inflammatoire de l'extrait d'hydrazone comparé au diclofénac à différentes concentrations. 27

Tableau 3: Pouvoir réducteur (FRAP) de l'extrait d'hydrazone, exprimé en mg d'acide ascorbique équivalent par gramme d'extrait. 29

Tableau 4: Capacité antioxydante totale (CAT) de l'extrait, exprimée en mg d'acide ascorbique équivalent par gramme d'extrait. 30

LISTE DES FIGURES

<i>Figure 1 Exemples des sources naturelles d'hydrazones</i>	4
<i>Figure 2 Réaction de l'hydrazine sur un composé carbonyle pour former une hydrazone</i>	6
<i>Figure 3 réaction de Synthèse d'hydrazone</i>	6
<i>Figure 4 Classification des centres de réactivité</i>	7
<i>Figure 5 molécule d'hydrazone</i>	17
<i>Figure 6 produit chimique utilisé dans l'expérimentation (original)</i>	18
<i>Figure 7 prélèvement utilisé pour le test de cytotoxicité</i>	23
<i>Figure 08 Effet anti-inflammatoire (inhibition de la dénaturation protéique) du diclofénacét' extrait d'hydrazone à différentes concentrations</i>	27
<i>Figure 9 Effet dose-dépendant de l'ascorbate et de l'extrait sur l'inhibition des radicaux libres (test DPPH)</i>	28
<i>Figure 10 Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse induit par la quercétine et l'extrait d'hydrazone</i>	31

LISTE DES ANNEXES

<i>Annex 1 Laboratoires de recherche de l'université Abou Bakr</i>	<i>44</i>
<i>Annex 2 Chapitre 03 Effet anti-inflammatoire de l'extrait d'hydrazone et du diclofénac.....</i>	<i>44</i>
<i>Annex 3 Pouvoir antioxydant DPPH de l'extrait d'hydrazone comparé à l'acide ascor- bique</i>	<i>45</i>
<i>Annex 4 Pouvoir réducteur (FRAP) de l'extrait d'hydrazone, exprimé en mg d'acide ascorbique équivalent par gramme d'extrait</i>	<i>45</i>
<i>Annex 5 Capacité antioxydante totale (CAT) de l'extrait, exprimée en mg d'acide asco- rbique équivalent par gramme d'extrait</i>	<i>45</i>
<i>Annex 6 Pourcentage d'hémolyse induit par la quercétine et l'extrait d'hydrazone</i>	<i>45</i>

LISTE DES ABBREVIATIONS

ABREVEATIONS	DÉFINITION
ADMET	Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion, Toxicité
BSA	Albumine de Sérum Bovin (Bovine Serum Albumin)
CAT	Capacité Antioxydante Totale
CC₅₀	Concentration Cytotoxique 50%
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
COX	Cyclooxygénase
DL₅₀	Dose Létale 50%
DPPH	2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle
EAA	Équivalent Acide Ascorbique
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
GO	Grignons d'Olive
GR	Globules Rouges
GRH	Globules Rouges humains
GSH	Glutathion réduit
HAT	Hydrogen Atom Transfer (Transfert d'Hydrogène)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Chromatographie Liquide Haute Performance)
IC₅₀	Concentration Inhibitrice 50%
IL-6	Interleukine-6
IR	Infrarouge
LC₅₀	Concentration Létale 50%
MDA	Malondialdéhyde
NF-KB	Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NRF2	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2
PBS	Phosphate Buffered Saline (Tampon Phosphate Salin)
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
ROS	Reactive Oxygen Species (Espèces Réactives de l'Oxygène)
SET	Single Electron Transfer (Transfert d'Électron Unique)
SOD	Superoxyde Dismutase
TAC	Total Antioxydant Capacity
TCA	Acide Trichloracétique
TGO	Transaminase Glutamique-Oxaloacétique
TGP	Transaminase Glutamique-Pyruvique
TNF-α	Facteur de Nécrose Tumorale α

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les hydrazones constituent une classe de composés largement accessibles et d'une grande valeur en synthèse organique. Elles participent à de nombreuses réactions chimiques telles que les additions radicalaires, nucléophiles et électrophiles, et jouent un rôle crucial en tant qu'intermédiaires de synthèse, notamment dans la préparation de structures hétérocycliques azotées complexes, comme en témoigne leur implication dans la célèbre synthèse de Fischer-Indole [1].

Depuis leur découverte, diverses méthodes de synthèse des hydrazones ont été développées. Parmi les plus notables, on distingue trois voies principales. La réduction de Wolff-Kishner repose sur la condensation directe d'un groupe carbonyle (cétone ou aldéhyde) avec une hydrazine pour former l'hydrazone correspondante [2]. La réaction de Japp-Klingemann utilise des β -cétoesters ou des β -cétoacides pour générer des composés diazonium ou méthyléniques, constituant ainsi une autre voie efficace [3]. Enfin, l'addition nucléophile sur un sel de diazonium, décrite par Takamura et collaborateurs, permet la formation d'alkylhydrazones à partir de l'activation d'un α -diazoester en présence de base [4].

Au-delà de leur intérêt synthétique, les hydrazones suscitent une attention particulière en chimie médicinale, notamment pour la conception de nouvelles entités bioactives. Leur structure moléculaire spécifique, caractérisée par une liaison imine (C=N), deux atomes d'azote de nature différente, et un doublet libre sur l'azote terminal [5], leur confère des propriétés électroniques et physicochimiques intéressantes. Ces caractéristiques en font des candidats prometteurs pour diverses applications pharmacologiques.

Par ailleurs, ces composés sont largement employés en synthèse organique non seulement pour la création d'intermédiaires réactifs, mais aussi dans la fabrication de produits finis à potentiel biologique élevé [6]. Leur modularité structurale permet une adaptation facile à différents systèmes pharmacophores.

Dans cette optique, et en raison de l'importance croissante des structures hétérocycliques fonctionnalisées, nous avons entrepris la synthèse et la caractérisation structurale de six dérivés hétérocycliques d'hydrazones [7]. Avant de procéder à l'étude de leurs propriétés biologiques, une analyse *in silico* ADME-T (absorption, distribution,

INTRODUCTION GENERAL

Métabolisme, excrétion et toxicité) a été réalisée afin d'anticiper leur profil pharmacocinétique et guider leur optimisation thérapeutique[8].

Bien que plusieurs études rapportent les activités antioxydantes et anti-inflammatoires des hydrazones, leurs mécanismes d'action précis, tout comme leur toxicité potentielle, demeurent encore insuffisamment explorés. Cette double facette, entre bénéfice thérapeutique et risque toxique, souligne la nécessité d'une évaluation rigoureuse de ces composés.

Ainsi, une problématique essentielle émerge : dans quelle mesure une molécule hydrazone peut-elle exprimer des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires efficaces, tout en maintenant une toxicité compatible avec une application biomédicale ?

CHAPITRE I SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Les hydrazones constituent une sous-catégorie spécifique des bases de Schiff (ou imines). Elles se distinguent par leur structure générale de type $R_1R_2C=NNR_3R_4$ [9], qui leur confère une grande diversité chimique et une réactivité particulière.

Ce type de composés est fréquemment rencontré dans la nature, où ils jouent souvent des rôles biologiques marqués. Deux exemples emblématiques illustrent leur présence naturelle [10] :

La gyromitrine, une hydrazone dérivée de l'acétaldéhyde méthyle formylée, est une toxine hémolytique produite par *Gyromitra esculenta*, un champignon connu sous le nom de "fausse morille" [11].

Certains alcaloïdes d'origine marine, notamment isolés d'éponges marines, contiennent également des motifs hydrazoniques. Ces structures témoignent de la diversité structurale et de l'origine biologique variée des hydrazones naturelles [12] (figure 1).



Fausse Morille



Eponge marine

Figure 1 Exemples de sources naturelles d'hydrazones

1. Synthèse des hydrazones

Les hydrazones sont des composés dont la synthèse est simple et directe, généralement réalisée par condensation d'une hydrazine ou de l'un de ses dérivés avec un aldéhyde ou une cétone. Lors de cette réaction, le groupement carbonyle ($>C=O$) du

CHAPITRE I SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

composé carbonyle est remplacé par une fonction hydrazone ($=N-NH_2$), ce qui permet d'obtenir ces structures avec un bon rendement dans des conditions expérimentales douces [13].

Sur le plan structural, les hydrazones présentent une architecture moléculaire caractéristique qui explique en grande partie leur réactivité. Elles possèdent une liaison imine ($C=N$) conjuguée à un azote terminal portant un doublet électronique libre, ce qui favorise les interactions électroniques au sein de la molécule [6]. De plus, elles renferment deux atomes d'azote connectés mais de nature électronique distincte : l'un plus nucléophile, l'autre plus basique, ce qui confère aux hydrazones des propriétés chimiques originales.

Les propriétés physico-chimiques des hydrazones—telles que leur réactivité, leur polarité ou leur capacité de coordination sont largement influencées par ces centres fonctionnels que sont le groupe $C=N$ et la fonction $N-NH_2$. Ces éléments structuraux jouent un rôle déterminant dans leur comportement en synthèse et en interaction biologique, comme illustré dans la Figure 2 [14].

CHAPITRE 3 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

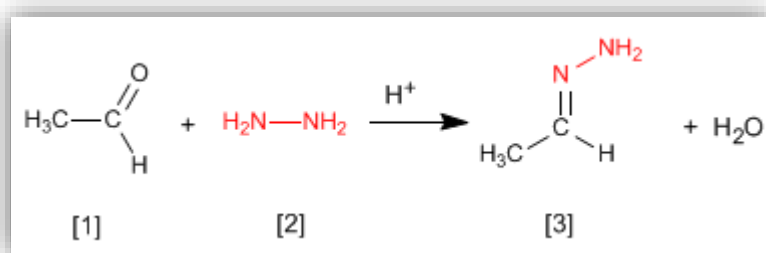


Figure 2 Réaction de l'hydrazine sur un composé carbonyle pour former une hydrazone

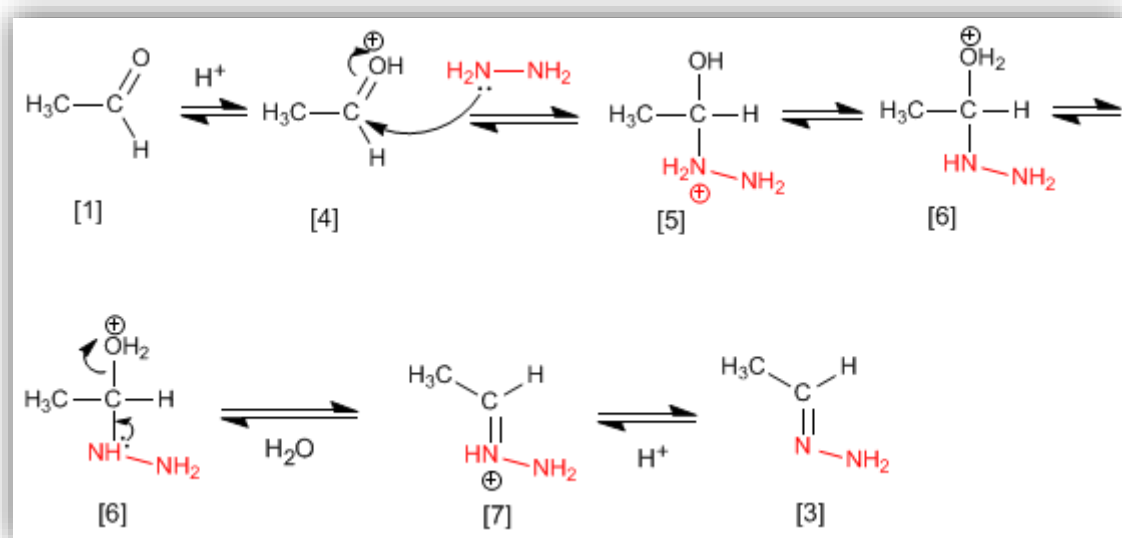


Figure 3 réaction de Synthèse d'hydrazone

2. Réactivité générale des hydrazones

Les hydrazones se caractérisent par la présence de deux atomes d'azote de nature différente, reliés à une double liaison C=N. Cette liaison est conjuguée à une paire d'électrons libres portée par l'azote terminal (figure 2), ce qui crée une délocalisation électronique influençant fortement leurs propriétés physico-chimiques.

Cette organisation confère au groupe hydrazone une dualité de réactivité. Les deux atomes d'azote peuvent agir comme des centres nucléophiles, avec une réactivité généralement plus marquée pour l'atome d'azote de type aminé. Cette polarisation permet aux hydrazones d'interagir facilement avec divers électrophiles (figure 4).

Par ailleurs, le carbone impliqué dans la fonction hydrazone peut se comporter à la fois comme un centre électrophile ou nucléophile selon les conditions réactionnelles.

CHAPITRE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Cette ambivalence confère à ces composés une grande polyvalence chimique, les rendant utiles dans de nombreuses transformations organiques, comme l'illustre la figure 3 [14].

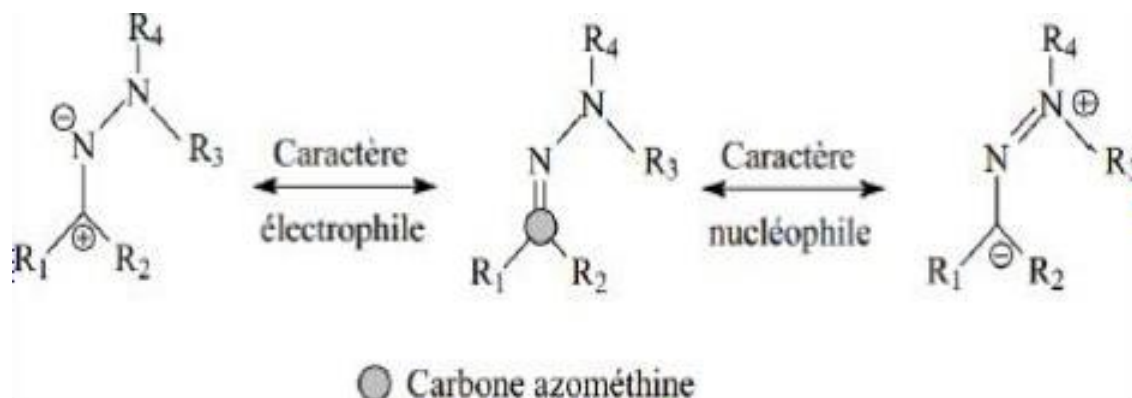


Figure 4 Classification des centres de réactivité

Comportement électrophile:

La réactivité électrophile des hydrazones est bien établie et constitue l'un de leurs aspects les plus étudiés. Parmi les avancées récentes, on note l'utilisation des hydrazones chirales **N,N-di-alkylées**, dérivées des structures SAMP et RAMP — ainsi nommées en raison de leur origine respective : (S)-1-amino-2-méthoxyméthylpyrrolidine et son énantiomère (R) (figure 4). Ces hydrazones participent à des réactions d'addition stéréosélectives avec divers réactifs organométalliques. Après réaction, la liaison N–N des hydrazines obtenues peut être réduite de manière sélective, menant à la formation d'amines fonctionnalisées avec un excellent contrôle de la **diastéréosélectivité** et de l'**énantiosélectivité**. [15]

Comportement nucléophile:

Le caractère nucléophile des hydrazones réside principalement dans l'atome d'azote terminal. Dans le cas des hydrazones N-mono substituées, cet azote peut engager sa paire d'électrons libres pour réagir avec divers dérivés d'acides, notamment les halogénures d'acyle (figure 4).

CHAPITRE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Cette propriété favorise le remplacement du proton de l'azote, conduisant à la formation d'hydrazones N-acylées. Cette réaction, connue sous le nom de N-acylation, s'effectue de manière particulièrement efficace en présence d'anhydrides d'acides ou de chlorures d'acides, reconnus comme des agents acylants puissants. [16]

Activité biologique

Les hydrazones représentent une classe de composés largement présente dans diverses structures bioactives, suscitant un intérêt croissant en raison de leur grande polyvalence pharmacologique. Cette diversité d'actions en fait des candidats prometteurs pour la conception et la synthèse de nouveaux dérivés à applications biologiques, médicales et industrielles. De nombreuses études ont rapporté leurs propriétés thérapeutiques notables, telles que des activités antimicrobienne, antimycobactérienne, antidépressive, anticonvulsivante, anticancéreuse et vasodilatatrice, entre autres, confirmant ainsi leur potentiel dans le développement de nouveaux agents thérapeutiques [17].

Activité antimicrobienne

L'émergence croissante de la résistance bactérienne constitue un défi majeur en thérapeutique, rendant la recherche de nouveaux agents antimicrobiens indispensable. Dans ce cadre, plusieurs dérivés d'hydrazone ont été conçus et évalués pour leur activité antibactérienne. Aslan et collaborateurs ont rapporté l'efficacité de certains dérivés sulfonylés [18], tandis que Khan a synthétisé des hydrazines stéroïdiennes actives *in vitro* contre différentes souches bactériennes [19]. Abdel-Wahab et al. ont développé des hydrazones substituées par des noyaux imidazole, démontrant une efficacité contre diverses souches pathogènes [20]. Palekar et ses collègues, quant à eux, ont obtenu des dérivés de thiazolidinone à partir d'hydrate d'hydrazine, et en ont évalué l'activité antibactérienne par des essais *in vitro* [21].

Les infections fongiques, souvent responsables d'atteintes superficielles ou systémiques chez l'homme, les animaux et les plantes, font également l'objet d'études sur les dérivés d'hydrazone. Secci et al. ont développé un nouveau composé hydrazonique actif contre *Candida*, révélant une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 0,25 µg/mL, ce qui témoigne d'un fort potentiel antifongique.

CHAPITRE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Concernant l'activité antivirale, plusieurs recherches ont mis en évidence l'intérêt des hydrazones comme agents antiviraux. El-Sabbagh et Rady ont évalué l'efficacité de certains dérivés contre le virus de l'hépatite A [22], tandis que Tian et collaborateurs ont synthétisé des hydrazones capables de cibler la protéine de capsid du virus de l'immunodéficience humaine (VIH), ouvrant la voie à de nouvelles stratégies antivirales [23].

Activité cardioprotectrice

Les maladies cardiovasculaires constituent un ensemble de pathologies affectant le cœur et les vaisseaux sanguins. En dépit des avancées significatives en recherche biomédicale, elles restent la principale cause de mortalité à l'échelle mondiale [24]. Cette situation a motivé la recherche de nouvelles molécules présentant un potentiel thérapeutique dans ce domaine.

Dans ce contexte, plusieurs dérivés d'hydrazone ont été évalués pour leurs effets cardioprotecteurs. Bi et al. ont démontré que certains de ces composés réduisaient significativement la taille de l'infarctus myocardique induit par l'ischémie-reperfusion, soulignant leur efficacité potentielle dans les atteintes cardiaques aiguës [25]. Par ailleurs, Leal et al. ont synthétisé un dérivé de type acylhydrazone qui a révélé une activité antihypertensive marquée, consolidant ainsi l'intérêt pharmacologique des hydrazones dans le traitement des troubles cardiovasculaires [26].

Activité anti-inflammatoire (dérivés d'hydrazones)

Des recherches récentes ont démontré que plusieurs dérivés d'hydrazones présentent une activité anti-inflammatoire significative, tant **in vitro** qu'**in vivo**. Ces composés ont montré une efficacité notable dans la réduction de l'œdème inflammatoire et la protection des cellules contre les dommages oxydatifs induits par l'inflammation [27].

En raison de ces propriétés, les hydrazones font aujourd'hui l'objet d'investigations approfondies pour leur potentiel en tant qu'agents thérapeutiques dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques, telles que l'arthrite rhumatoïde, les

CHAPITRE I SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Maladies inflammatoires de l'intestin, ou encore certaines affections neurodégénératives [28].

Mécanisme d'action

L'effet anti-inflammatoire des hydrazones repose sur plusieurs mécanismes complémentaires. Elles agissent tout d'abord par **inhibition des médiateurs inflammatoires**, en réduisant la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α), deux acteurs clés de la réponse inflammatoire aiguë et chronique [29]. Par ailleurs, certaines hydrazones présentent une **activité antioxydante**, limitant le stress oxydatif, lequel joue un rôle central dans l'amplification et la chronicisation des phénomènes inflammatoires [30]. Enfin, ces composés sont capables d'**interagir avec des enzymes pro-inflammatoires**, notamment la cyclooxygénase (COX), une enzyme impliquée dans la biosynthèse des prostaglandines, molécules essentielles dans l'initiation de la douleur et de l'inflammation [31].

L'activité antioxydante des dérivés hydrazones

Les dérivés d'hydrazones présentent une **activité antioxydante significative**, principalement attribuée à leur capacité à **piéger les radicaux libres** et à **chélater les métaux pro-oxydants**. Le groupement hydrazone ($>C=N-NH-$) constitue un site réactif capable de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) par deux mécanismes principaux : le **transfert d'hydrogène** (*Hydrogen Atom Transfer*, HAT) [32] et le **transfert monoélectronique** (*Single Electron Transfer*, SET) [33]. L'efficacité de cette neutralisation est renforcée par la présence de **substituants donneurs d'électrons** (tels que $-OH$ ou $-OCH_3$) sur les cycles aromatiques, qui stabilisent les intermédiaires réactionnels [34]. Par ailleurs, les hydrazones peuvent **former des complexes stables** avec des ions métalliques pro-oxydants comme Fe^{2+} et Cu^+ , via les atomes d'azote et d'oxygène, ce qui permet de bloquer des réactions radicalaires en chaîne, notamment la réaction de Fenton [35].

La **relation structure-activité** met en évidence l'importance de plusieurs facteurs. L'**étendue du système π conjugué**, impliquant la liaison $C=N$ et les cycles aromatiques, favorise le transfert électronique et accroît l'efficacité antioxydante [36]. De

CHAPITRE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

plus, la **nature des substituants** joue un rôle déterminant : les groupes donneurs d'électrons ($-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$) augmentent l'activité, tandis que les groupes attracteurs d'électrons ($-\text{NO}_2$) la diminuent. Cette tendance est confirmée par l'effet de Hammett, qui établit une corrélation directe entre la constante électronique des substituants et l'activité antioxydante observée [37]

Applications potentielles des hydrazones antioxydantes

Les dérivés d'hydrazones dotés d'une activité antioxydante présentent un intérêt croissant dans divers domaines d'application. Sur le plan thérapeutique, ils sont envisagés comme agents potentiels dans le traitement des maladies neurodégénératives, telles que la maladie d'Alzheimer ou de Parkinson, en raison de leur capacité à limiter les dommages oxydatifs au niveau neuronal. Par ailleurs, ces composés trouvent également des débouchés dans les secteurs alimentaire et cosmétique, en tant qu'antioxydants naturels capables de prolonger la durée de conservation des produits ou de protéger la peau contre le stress oxydatif induit par les facteurs environnementaux [38].

Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des hydrazones est généralement évaluée à l'aide de tests **in vitro** standardisés, permettant de quantifier leur capacité à neutraliser les radicaux libres ou à réduire les agents oxydants. Les tests les plus couramment utilisés sont :

- **DPPH** (*2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle*), exprimé en IC_{50} ;
- **ABTS** (*2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)*), mesurant l'inhibition du radical cationique ;
- **FRAP** (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), évaluant le pouvoir réducteur des composés.

Ces méthodes permettent de comparer l'efficacité relative des hydrazones et d'étudier l'impact de leur structure chimique sur leur potentiel antioxydant.

Stress oxydatif: définition et implications biologiques

Le **stress oxydatif** se définit comme un déséquilibre entre la production d'espèces

CHAPITRE I SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

réactives de l'oxygène (ROS) et la capacité des systèmes antioxydants de l'organisme à

CHAPITRE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

les neutraliser. Ce déséquilibre peut résulter soit d'une **surcharge en agents oxydants**, soit d'une **défaillance des mécanismes de défense antioxydante**, et peut être déclenché par divers facteurs d'origine endogène (inflammation, métabolisme mitochondrial) ou exogène (polluants, rayonnements, médicaments). Parmi les principales conséquences biologiques du stress oxydatif figure l'**apoptose**, ou mort cellulaire programmée, processus qui entraîne des lésions irréversibles affectant les protéines, les lipides et l'ADN, compromettant ainsi la viabilité cellulaire et l'intégrité tissulaire [39].

Etude toxicologique

Structure influente:

La toxicité dépend fortement de la structure moléculaire de l'hydrazone, notamment de la nature du groupement carbonyle, des substituants aromatiques, et de la présence de groupes halogénés ou nitro [40].

- Voie d'exposition: Inhalation (**poussières ou vapeurs lors de la synthèse ou manipulation**)
- Voie cutanée (**contact direct**)
- Voie orale (**accidentelle ou lors d'essais précliniques**) [41].

Toxicité aiguë

L'évaluation de la toxicité aiguë des dérivés hydrazoniques a révélé des profils variables selon la nature chimique des composés testés et les modèles biologiques utilisés.

Le **3-méthyl-2-benzothiazolinone hydrazone (MBTH)**, couramment utilisé en laboratoire, a montré une toxicité orale aiguë modérée chez l'animal. Les valeurs de DL_{50} rapportées sont de 177 mg/kg (mâles) et 268 mg/kg (femelles) chez le lapin, et de 308 mg/kg (mâles) et 149 mg/kg (femelles) chez le rat. À des doses supérieures à 125 mg/kg, des signes cliniques tels que des **convulsions** ont été observés, suggérant un seuil de toxicité neurocomportementale.

Un autre composé, l'**hydrazone H5**, a été évalué dans un test de toxicité sur les larves d'**Artémia salina**, un modèle biologique fréquemment utilisé en toxicologie environnementale. Ce composé a présenté une **toxicité modérée à forte**, avec une LC_{50}

CHAPITRE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

de 210,6 µg/mL après 24 heures, et de 81,95 µg/mL après 48 heures, indiquant une progression temporelle de l'effet toxique [42].

Effets mutagènes et génotoxiques

Le **3-méthyl-2-benzothiazolinone hydrazone (MBTH)** a montré un **potentiel mutagène** lors du test d'Ames, un essai bactérien couramment utilisé pour détecter les mutations ponctuelles induites par des substances chimiques. Les résultats ont révélé une réponse positive, notamment en l'absence d'**activation métabolique**, ce qui suggère que le composé lui-même, sans transformation enzymatique préalable, peut interagir directement avec l'ADN bactérien. Cette observation soulève des préoccupations quant à la **génotoxicité potentielle** du MBTH et justifie des investigations complémentaires sur ses effets à long terme chez les organismes supérieurs.

Toxicité hépatique et neurologique

Certains dérivés hydrazoniques, notamment ceux issus de l'**isoniazide (INH)**, ont été associés à des **effets toxiques sévères**, en particulier au niveau hépatique et neurologique. Sur le plan hépatique, l'INH est métabolisé en **acétylhydrazine**, un métabolite réactif reconnu pour sa **hépatotoxicité**, pouvant entraîner des lésions hépatiques graves, notamment une nécrose hépatocellulaire ou une hépatite médicamenteuse.

Sur le plan neurologique, l'isoniazide peut provoquer des **neuropathies périphériques**, en particulier lors de traitements prolongés ou à fortes doses. Ce mécanisme est attribué à l'**inhibition des enzymes dépendantes du phosphate de pyridoxal** (vitamine B6), essentielle au bon fonctionnement du système nerveux. Ces effets indésirables peuvent toutefois être atténués par une supplémentation en vitamine B6 [43].

Cytotoxicité

Plusieurs dérivés hydrazoniques ont démontré une **cytotoxicité marquée** à l'égard de différentes lignées cellulaires cancéreuses humaines. Des études in vitro ont révélé une activité antiproliférative significative contre des cellules de **carcinome hépatique (HepG2)**, **mammaire (MCF-7)**, **pulmonaire (A549)** et **colorectal (HCT-15)**. Certains de ces composés sont distingués par une **efficacité supérieure** à celle de

CHAPITRE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

médicaments anticancéreux de référence tels que la **doxorubicine**, suggérant leur **potentiel prometteur comme agents chimiothérapeutiques alternatifs** [44]. Ces résultats encouragent des investigations complémentaires, notamment en modèles animaux, pour évaluer leur sélectivité, leur mécanisme d'action et leur profil de sécurité.

Études toxicologiques expérimentales sur les dérivés d'hydrazones

Les dérivés d'hydrazones présentent une **toxicité variable**, fortement influencée par leur **structure chimique**, la **dose administrée** et la **durée d'exposition**. Des études toxicologiques, menées aussi bien **in vitro** qu'**in vivo**, ont permis de mettre en évidence une large gamme d'effets toxiques, souvent spécifiques à certains composés représentatifs. Ces travaux soulignent la nécessité d'une évaluation approfondie du **profil toxicologique** de chaque molécule, notamment en ce qui concerne leur potentiel cytotoxique, génotoxique, hépatotoxique et neurotoxique [45].

Hydrazone dérivé de l'isoniazide (anti-tuberculeux)

Les dérivés hydrazoniques de l'**isoniazide (INH)**, largement utilisés dans le traitement de la tuberculose, ont été associés à des **réactions hépatiques sévères**, en particulier chez les individus porteurs d'un **polymorphisme génétique** affectant l'activité de l'enzyme **N-acétyltransférase**. Ces sujets, appelés **acétylateurs lents (slow acetylators)**, présentent une accumulation accrue de métabolites toxiques, augmentant ainsi le risque de **hépatotoxicité**. Par ailleurs, une exposition chronique à ces composés peut également induire des **troubles neurologiques**, notamment des **neuropathies périphériques**, en raison d'une interférence avec le métabolisme de la vitamine B6 [46].

Phénylhydrazone

Chez les modèles murins, l'administration orale de **phénylhydrazone** à forte dose a révélé une **toxicité aiguë modérée**, avec une **dose létale 50 (DL₅₀)** supérieure à **200 mg/kg**, ce qui la classe parmi les composés **modérément toxiques** selon les critères de l'OCDE (2001). En parallèle, les résultats du **test de mutagenèse d'Ames** ont mis en évidence un **potentiel génotoxique**, suggérant la possibilité d'**effets cancérogènes à long terme** [47]. Ces observations soulignent l'importance d'une évaluation rigoureuse de la sécurité des phénylhydrazones, notamment dans les contextes thérapeutiques et industriels.

CHAPITRE I SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Hydrazones aromatiques substituées

Certaines **hydrazones aromatiques substituées**, évaluées dans des modèles animaux pour leurs propriétés pharmacologiques, ont présenté une **bonne tolérance** à **faibles doses** (≤ 50 mg/kg), sans effets secondaires notables. Toutefois, à des **doses supérieures à 100 mg/kg**, des **signes de toxicité systémique** ont été rapportés, notamment une **altération des fonctions hépatiques et rénales**. Ces résultats mettent en évidence la nécessité d'un encadrement rigoureux de la dose administrée et soulignent l'importance d'études complémentaires pour définir le **profil toxicologique complet** de ces dérivés [48].

CHAPITRE II: MATERIEL SET METHODES

CHAPITRE II :MATERIELS ET METHODES

3. Matériel

Composé étudié

La molécule d'hydrazone a été synthétisée et caractérisée au Laboratoire de Recherche de l'Université Abou Bakr Belkaïd (Tlemcen, Algérie). Sa pureté (> 98%) a été vérifiée par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) (modèle Shimadzu LC-20AD) et résonance magnétique nucléaire (RMN). Une illustration des équipements et des produits chimiques utilisés figure



Figure 5 molécule d'hydrazone

Réactifs et substances de référence

La solution mère d'hydrazone a été préparée dans du Tween 80 pour assurer la solubilité en milieu aqueux.

Réactifs utilisés:

- Activité anti-inflammatoire:
 - Albumine de sérum bovin (BSA, 0,5% p/v)
 - Indométacine (témoin positif)
- Activité antioxydante:
 - DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)
 - Ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$)

CHAPITRE II :MATERIELS ET METHODES

- Chlorureferrique (FeCl_3)
- Acidetrichloracétique (TCA)
- Capacitéantioxydantetotale(TAC):
 - Acidesulfurique(0,6M)
 - Phosphate desodium (28mM)
 - Molybdated'ammonium(4mM)
 - MéthodedePrietoetal. (1999)
- Témoinsantioxydantsetanti-hémolytiques:
 - Acideascorbique(vitamineC)
 - Quercétineet acidegallique(référencespourl'hémolyse)
- Matérielbiologique:
 - Globulesrougeshumains(GRh), prélevéschez un donneursain(tubehépariné)
 - Centrifugationà2000rpm/10min,lavage3foisauPBS(pH7,4),remiseen suspension à 10 %



Figure6produitchimiqueutilisedansl'expérimentation(original)

Appareillagesetéquipementsutilisés

Lesanalyses ontétéréalisées àl'aidedeséquipements suivants:

- ❖ **Spectrophotomètre UV-Visible**, permettant la lecture des absorbances à différentes longueurs d'onde selon les tests :
 - 505nmpourletestDPPH,
 - 700nmpourletestFRAP,

CHAPITRE II :MATERIELS ET METHODES

- 695nm pour le test TAC,
 - 255nm pour le test anti-inflammatoire,
 - 560nm pour la mesure de l'hémoglobine libérée lors du test d'hémolyse.
- ❖ **Bain-marie thermostatique, réglé à différentes températures selon les besoins expérimentaux:**
- 37°C pour les incubations standard,
 - 57°C pour induire la dénaturation des protéines,
 - 95°C pour le test de la capacité antioxydante totale.
- ❖ **Centrifugeuse de paillasse, capable d'atteindre 3000 tours/minute, utilisée pour la séparation des phases réactionnelles.**
- ❖ **Agitateur vortex, employé pour homogénéiser les mélanges réactionnels.**
- ❖ **Micropipettes automatiques, tubes à essai en verre de 4 ml, cuvettes optiques, béchers, éprouvettes et verrerie de laboratoire standard.**

4. Méthodes

Évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro

Ce test permet d'évaluer la capacité de l'hydrazone à inhiber la dénaturation thermique des protéines, en l'occurrence l'albumine de sérum bovin (BSA). La méthode utilisée est inspirée de Kar *et al.* (2012), avec quelques modifications.

Préparation des mélanges:

Les mélanges réactionnels sont préparés comme suit:

- 0,45 ml d'albumine de sérum bovin (BSA) à 0,5 % p/v en solution aqueuse,
- 0,05 ml de solution d'hydrazone testée, aux concentrations suivantes : 150, 500, 1000 et 3500 µg/ml.

Groupe témoin:

- **Témoin positif:** BSA + indométacine (médicament anti-inflammatoire de référence),

CHAPITRE II :MATERIELS ET METHODES

- **Témoinnégatif:**BSAseule(sansaucuncomposé actifajouté).

Incubation:

- Touslestubessontincubésà**37°Cpendant20minutes**,simulantles conditions physiologiques,
- Puis chauffés à **57 °C pendant 3 minutes** afin de provoquer la dénaturation des protéines.

Refroidissementettraitementpost-incubation:

- Aprèschauffage,lestubessontrefroidis àtempérature ambiante,
- 2,5ml detamponphosphate(PBS,pH6,3)sont ajoutésàchaquetube,
- Le contenu est ensuite homogénéisé doucement pour éviter toute formation debulles ou de précipité.

Lecturespectrophotométrique:

- L'absorbancedechaquemélangeestmesuréeà**255nm**àl'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

Calculdupourcentage d'inhibition:

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé à l'aide de la formule suivante :

Équation1formuledecalculdepourcentage d'inhibitiondeladénaturationdes protéines BSA

$$\text{Inhibition(\%)} = \left(1 - \frac{A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{témoinnégatif}}}\right) \times 100$$

Dont :

- ❖ Aéchantillonreprésente l'absorbancedumélangecontenantl'hydrazone,
- ❖ Atémoinnégatifcorrespondàl'absorbancedumélangetémoincontenant uniquement la BSA.

Tableau1Résumévisuel deméthodedeÉvaluationdel'activitéanti-inflammatoirein vitro

CHAPITRE II :MATERIELS ET METHODES

Tubes	Contenu	Rôle	Absorbance attendue
Témoin négatif	BSA seule	Dénaturation totale	Haute
Témoin positif	BSA + indométacine	Inhibition connue	Basse
Échantillon	BSA+hydrazone (à x µg/ml)	Évaluer inhibition	Variable selon dose

Évaluation de l'activité antioxydante

Trois méthodes complémentaires ont été utilisées pour évaluer le pouvoir antioxydant de la molécule d'hydrazone :

- le test DPPH,
- le test FRAP,
- Le test de la capacité antioxydante totale (TAC).

Test DPPH (piégeage des radicaux libres)

Le test DPPH est basé sur la capacité d'un antioxydant à neutraliser le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH•). Ce radical, de couleur violette, subit une réduction en présence d'un agent antioxydant, conduisant à la formation d'une forme réduite (DPPH-H) de couleur jaune. Cette transformation est accompagnée d'une diminution de l'absorbance mesurée à 515 nm. Ainsi, plus la diminution de l'absorbance est importante, plus l'activité antioxydante du composé testé est élevée.

Dans ce protocole, une solution de DPPH a été préparée en dissolvant 0,005 g de DPPH dans 200 ml de méthanol pur. Cette solution a été conservée à l'abri de la lumière afin d'assurer sa stabilité. Pour le test, 1,95 ml de la solution de DPPH ont été mélangés à 0,05 ml de solution d'hydrazone, préparée à différentes concentrations. Les mélanges ainsi obtenus ont été incubés pendant 30 minutes à température ambiante, à l'obscurité, afin d'éviter toute dégradation photochimique du DPPH.

Après incubation, l'absorbance des échantillons a été mesurée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, en utilisant le méthanol pur comme blanc. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé à l'aide de la formule suivante :

CHAPITRE II :MATERIELS ET METHODES

$$\text{Inhibition (\%)} = \left(\frac{A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{témoin}}} \right) \times 100$$

Où

- ❖ $A_{\text{témoin}}$ correspond à l'absorbance de la solution DPPH seule (sans antioxydant)
- ❖ $A_{\text{échantillon}}$ à celle du mélange contenant l'hydrazone.

Test FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)

Le test FRAP permet d'évaluer le pouvoir réducteur d'un composé antioxydant, basé sur la réduction du complexe ferrique Fe^{3+} -TPTZ en complexe ferreux Fe^{2+} -TPTZ, dont l'absorbance est mesurée à 700 nm. Le mélange réactionnel est constitué de 1,0 ml de solution d'hydrazone, 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6), et 2,5 ml de ferricyanure de potassium à 1 %. Après incubation à 50 °C pendant 20 minutes, 2,5 ml d'une solution d'acide trichloroacétique (TCA à 10 %) sont ajoutés pour arrêter la réaction. Le mélange est ensuite centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. Le surnageant (2,5 ml) est prélevé et mélangé à 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure ferrique (FeCl_3 à 0,1 %). L'absorbance est mesurée à 700 nm. Le pourcentage de réduction est calculé en comparant l'absorbance de l'échantillon (A_1) à celle du témoin (A_0), selon la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction} = [(A_1 - A_0) / A_0] \times 100$$

Test TAC (Total Antioxydant Capacity)

La capacité antioxydante totale (TAC) est évaluée selon la méthode de réduction du molybdène, qui repose sur la transformation du Mo(VI) en Mo(V) en présence d'antioxydants. Cette réaction forme un complexe de couleur verte, dont l'intensité est mesurée à 695 nm. Le mélange réactionnel comprend 0,3 ml de la solution d'hydrazone et 3,0 ml d'un réactif composé d'acide sulfurique (H_2SO_4 à 0,6 M), de phosphate de sodium (28 mM), et de molybdate d'ammonium (4 mM). L'incubation est effectuée à 95 °C pendant 90 minutes, suivie d'un refroidissement à température ambiante. L'absorbance est ensuite mesurée à 695 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide ascorbique par gramme d'échantillon (mg EAA/g).

CHAPITRE II :MATERIELS ET METHODES

Évaluation de la cytotoxicité (test d'hémolyse)

Le test d'hémolyse a été réalisé afin d'évaluer la cytotoxicité de l'hydrazone vis-à-vis des membranes des globules rouges humains. Les sangs humains ont été prélevés dans un tube hépariné, puis centrifugé à 2000 rpm pendant 10 minutes pour séparer les globules rouges. Ces derniers ont été lavés trois fois à l'aide d'une solution tampon PBS (pH 7,4), puis remis en suspension à une concentration finale de 10 %. Le mélange réactionnel a été préparé en ajoutant 1,6 ml de la solution d'hydrazone (ou du composé de référence) à 0,4 ml de la suspension de globules rouges à 10%. Après incubation à 37°C pendant 30 minutes, les tubes ont été centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes. L'absorbance du



Figure 7 prélèvement utilisé pour le test de cytotoxicité

surnageant, représentant la quantité d'hémoglobine libérée, a été mesurée à 560 nm. Deux témoins ont été utilisés pour l'interprétation des résultats : un témoin négatif (1,6 ml de PBS + 0,4 ml de GR), représentant 0 % d'hémolyse, et un témoin positif (1,6 ml d'eau distillée + 0,4 ml de GR), représentant 100 % d'hémolyse. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{d'hémolyse} = [(A1 - A0) / (A100 - A0)] \times 100,$$

Où

CHAPITRE II :MATERIELS ET METHODES

- A_1 représente l'absorbance de l'échantillon,
- A_0 celle du témoin négatif, et A_{100} celle du témoin positif.

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE III: RESULTAT SET DISCUSSION

Activité anti-inflammatoire

Les résultats obtenus dans le cadre du test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine ont permis de mettre en évidence une activité anti-inflammatoire croissante de l'extrait d'hydrazone en fonction de la concentration (tableau 2). Cette tendance est similaire à celle observée avec le diclofénac, médicament de référence utilisé comme témoin positif. À faibles concentrations (50 µg/ml), l'extrait montre une inhibition modérée (15,2% ± 2,32) comparée à celle du diclofénac (19,4% ± 3,61), sans différence statistiquement significative ($p = 0,0859$). Toutefois, dès 100 µg/ml, des différences significatives apparaissent, indiquant une supériorité du diclofénac dans l'inhibition de la dénaturation ($p < 0,01$).

L'analyse statistique par ANOVA confirme l'existence d'un effet dose-dépendant hautement significatif pour les deux composés ($p < 0,001$), attestant que l'activité inhibitrice augmente avec la concentration. Ce comportement a également été observé pour d'autres dérivés hydrazoniques à effet dose-dépendant sur la dénaturation des protéines [49]. À 150 µg/ml, l'écart reste significatif ($p = 0,0021$), bien que l'extrait atteigne une inhibition notable de 40,4 % (± 3,32). Enfin, à 200 µg/ml, l'extrait présente une activité comparable à celle du diclofénac (60,0 % vs 64,4 %), avec une différence statistiquement significative mais faible ($p = 0,021$; $p < 0,05$).

Ces observations suggèrent que l'extrait d'hydrazone possède un potentiel anti-inflammatoire intéressant, capable d'approcher l'efficacité du diclofénac à doses élevées. Ce pouvoir inhibiteur pourrait s'expliquer par la présence de groupements fonctionnels dans la molécule d'hydrazone, susceptibles d'interférer avec les processus de dénaturation protéique, mécanisme central dans la genèse de l'inflammation. Des études ont montré que certains groupements hydrazoniques interagissent avec les résidus polaires des protéines, limitant leur dénaturation [50].

De telles propriétés ont été observées pour d'autres composés hydrazoniques dans la littérature, notamment par leur capacité à stabiliser les structures protéiques ou à interagir avec les médiateurs pro-inflammatoires.

Ainsi, bien que l'extrait soit globalement moins puissant que le diclofénac, surtout à faibles concentrations, il présente une activité dose-dépendante remarquable et

CHAPITRE III:RESULTATSET DISCUSSION

significative. Ces résultats encouragent la poursuite des investigations afin de mieux caractériser les mécanismes moléculaires sous-jacents, et de considérer l'hydrazone comme une molécule candidate potentielle dans le développement d'agents anti-inflammatoires d'origine synthétique ou naturelle.

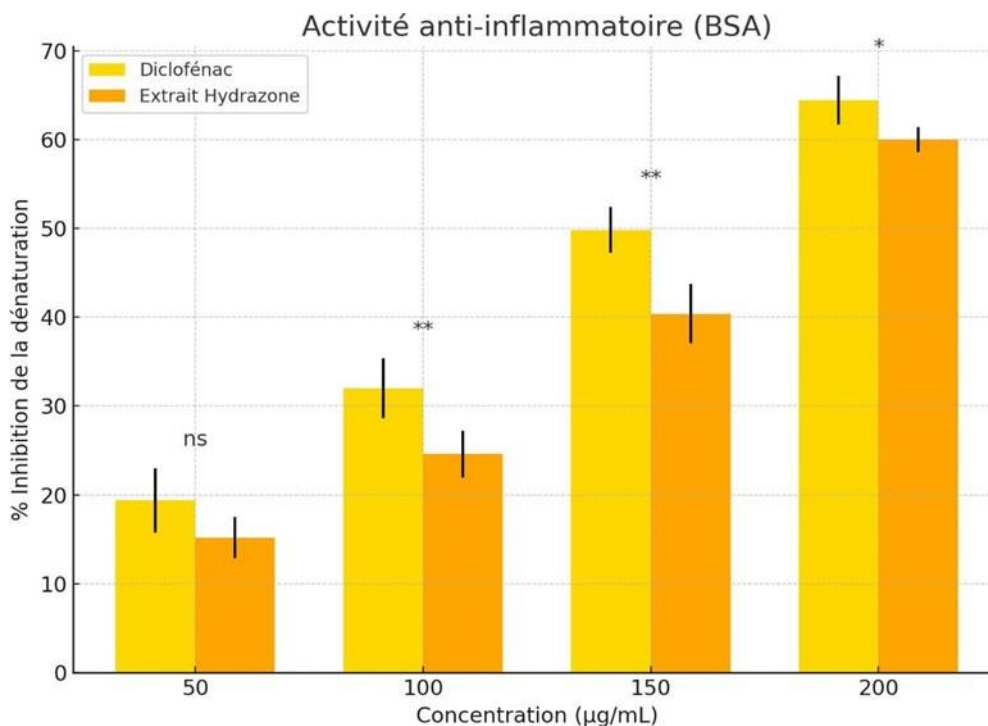


Figure 08 : Effet anti-inflammatoire (inhibition de la dénaturation protéique) du diclofénac et l'extrait d'hydrazone à différentes concentrations.

Les p-values viennent de test t indépendants; ***, ** indiquent respectivement $p < 0,001$ et $p < 0,01$.

Tableau 2 Effet anti-inflammatoire de l'extrait d'hydrazone comparé au diclofénac à différentes concentrations.

Les données sont exprimées en moyennes \pm écart-type ($n=5$). Les astérisques indiquent les différences significatives entre l'extrait et le diclofénac

CONCENTRATION (µG/ML)	50	100	150	200
DICLOFÉNAC	19,4±3,61	32,0±3,35**	49,8±2,56**	64,4±2,73*
EXTRAIT D'HYDRAZONE	15,2±2,32	24,6±2,65**	40,4±3,32**	60,0±1,41*

CHAPITRE III: RESULTAT SET DISCUSSION

Activité Antioxydante

Test de DPPH

Le test DPPH a permis d'évaluer la capacité antiradicalaire de l'extrait d'hydrazone en comparaison avec l'acide ascorbique, utilisé comme antioxydant de référence. Les pourcentages d'inhibition moyens \pm écart-type sont présentés dans le tableau ci-dessous pour cinq concentrations croissantes. Les résultats révèlent une augmentation nette de l'activité avec la dose. L' IC_{50} , calculée par régression logistique, est estimée à environ 56 μ g/ml pour l'extrait, contre 21 μ g/ml pour l'ascorbate (figure 8), ce qui indique que l'extrait est moins puissant. Les tests t confirment cette différence à toutes les concentrations testées ($p < 0,01$).

Ces résultats s'inscrivent dans une tendance déjà observée par Laroussi Mohamed Amine (2025) [51], qui a évalué l'activité antioxydante d'un extrait de noyaux de dattes à l'aide du même test. Il a montré une réponse dose-dépendante marquée, bien que nécessitant également des concentrations plus élevées que l'acide ascorbique pour atteindre une inhibition significative. Cette similarité dans le comportement antioxydant suggère que, malgré leur différence de nature chimique, les deux extraits pourraient partager des mécanismes de neutralisation des radicaux libres reposant sur la richesse en groupements phénoliques ou hydrazoniques.

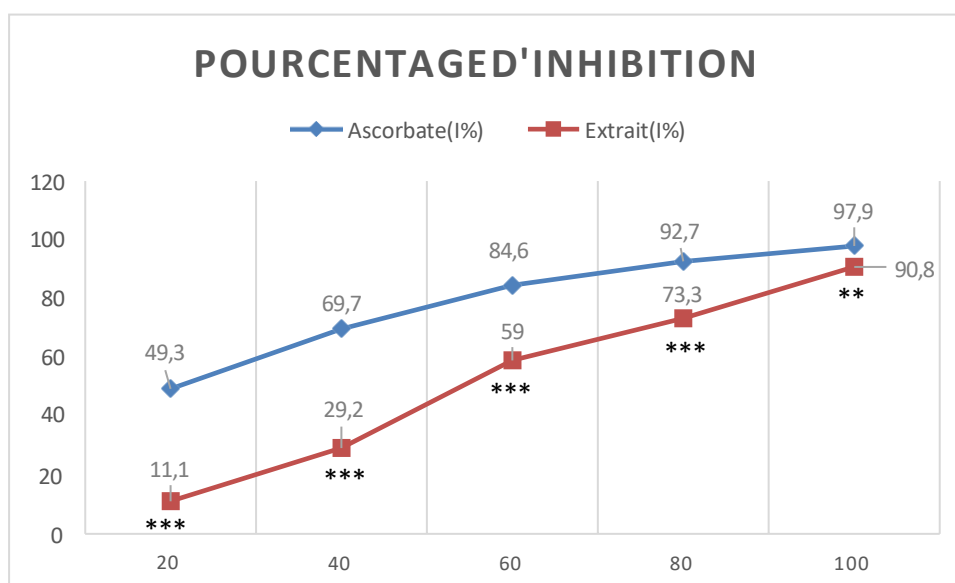


Figure 09 Effet dose-dépendant de l'ascorbate et de l'extrait sur l'inhibition des radicaux libres (test DPPH)

CHAPITRE III: RESULTAT SET DISCUSSION

Les p-values viennent de tests indépendants; ***, ** indiquent respectivement $p < 0,001$ et $p < 0,01$.

FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le test de FRAP de notre échantillon a montré une capacité antioxydante notable, avec une valeur de 250 ± 10 mg EAA/g (figure 9). Ces résultats suggèrent une bonne activité réductrice, probablement liée à la teneur en composés phénoliques et flavonoïdiques.

Comparativement, des études antérieures ont rapporté des valeurs comprises entre 100 et 220 mg EAA/g pour des extraits de plantes médicinales courantes, comme chez *Rosmarinus officinalis* [52] ou *Thymus vulgaris* [53]. Par ailleurs, certains extraits de noyaux de dattes, notamment ceux de la variété Deglet Nour, ont montré des capacités similaires, atteignant 230–270 mg EAA/g [54] [55], ce qui place notre extrait dans la fourchette supérieure des valeurs rapportées.

Tableau 03: Pouvoir réducteur (FRAP) de l'extrait d'hydrazone, exprimé en mg d'acide ascorbique équivalent par gramme d'extrait

Test	Équivalent Acide Ascorbique (mg EAA/g)
FRAP	250 ± 10

Test de CAT

L'évaluation du pouvoir antioxydant de la molécule d'hydrazone à travers les tests FRAP et CAT a révélé des résultats distincts : 250 ± 10 mg EAA/g pour le test FRAP, contre 180 mg EAA/g pour le test CAT.

Le test FRAP, qui mesure la capacité de réduction du complexe ferrique Fe^{3+} -TPTZ en Fe^{2+} , indique que l'hydrazone possède un fort pouvoir réducteur, traduisant sa capacité à céder des électrons pour stabiliser les espèces réactives de l'oxygène. Cette propriété est probablement liée à la structure de l'hydrazone, qui contient des groupements donneurs d'électrons (comme $-NH-N=$ ou des cycles aromatiques substitués).

CHAPITRE III: RESULTAT SET DISCUSSION

Le test CAT, qui évalue la capacité antioxydante totale, a donné une valeur plus modérée (180 mg EAA/g) (figure 10), suggérant que l'hydrazone présente une activité antioxydante globale moins marquée que son activité réductrice spécifique.

Tableau04:Capacitéantioxydantetotale(CAT)del'extrait,expriméeenmg d'acide ascorbique équivalent par gramme d'extrait

Test	EquivalentAcideAscorbique(mgEAA/g)± SD
CAT	180± 8

Ce décalage est souvent observé avec des molécules ayant une action ciblée par transfert d'électrons, mais un potentiel plus faible pour piéger d'autres radicaux (ex. peroxydes, hydroxydes).

Comparée à certaines hydrazones bioactives rapportées dans la littérature, notre molécule présente un profil antioxydant intéressant, notamment via le mécanisme réducteur mesuré par le FRAP. Ces résultats confirment le potentiel des hydrazones comme antioxydants synthétiques, justifiant leur exploration en chimie médicinale.

Test d'hémolyse

Le test d'hémolyse a permis d'évaluer la toxicité membranaire de la molécule d'hydrazone par rapport à la quercétine, utilisée ici comme antioxydant de référence. Les résultats montrent que, quelle que soit la concentration testée (25, 50 et 100 µg/mL), l'extrait d'hydrazone induit une hémolyse significativement plus élevée que la quercétine, avec des différences très hautement significatives ($p < 0,001$ pour chaque paire comparée) (figure 11).

À titre d'exemple, à la dose de 100 µg/mL, la quercétine entraîne seulement 5,3 % ± 2,03 d'hémolyse, contre 19,1 % ± 1,03 pour l'extrait d'hydrazone. Cette différence traduit une plus grande affinité ou réactivité de l'hydrazone envers la membrane

CHAPITRE III:RESULTATSET DISCUSSION

érythrocytaire, ce qui suggère un effet cytotoxique membranaire potentiel, surtout à fortes concentrations.

Les deux composés montrent par ailleurs un effet dose-dépendant clair : l'hémolyse augmente proportionnellement avec la concentration. Toutefois, la courbe de l'hydrazone reste constamment au-dessus de celle de la quercétine, ce qui indique que l'extrait est plus agressif pour les membranes cellulaires, même à faible dose.

Ce comportement pourrait s'expliquer par la nature chimique de l'hydrazone, notamment la présence de groupes fonctionnels capables d'interagir avec les phospholipides membranaires, déstabilisant ainsi la structure de la bicouche lipidique. Ce mécanisme a déjà été décrit dans la littérature pour d'autres dérivés d'hydrazone aux effets cytotoxiques modérés (*pmc.ncbi.nlm.nih.gov*).

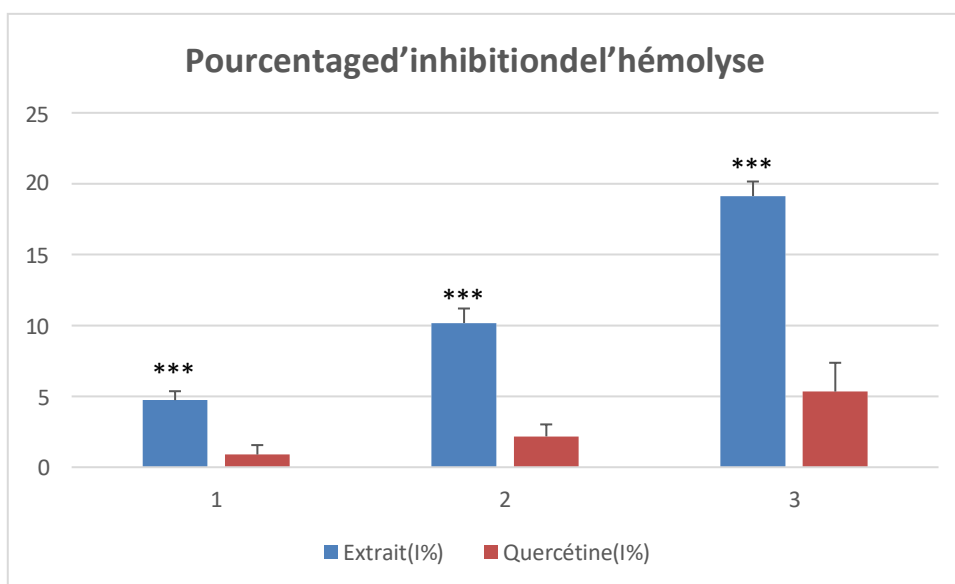


Figure 10 Pourcentage d'inhibition de l'hémolyse induit par la quercétine et l'extrait d'hydrazone

*Les p-values proviennent de tests t ; *** indique $p < 0,001$*

CHAPITRE IV CONCLUSION ET PROSPECTIVES

CHAPITRE IV: CONCLUSION ET PROSPECTIVES

La molécule d'hydrazone étudiée dans ce travail présente un potentiel biologique intéressant, en particulier grâce à ses activités anti-inflammatoires et antioxydantes.

Elle inhibe significativement la dénaturation des protéines (jusqu'à 60 % à 200 µg/mL), ce qui témoigne d'une activité anti-inflammatoire prometteuse, en accord avec les rapports de la littérature sur d'autres dérivés d'hydrazone (*pmc.ncbi.nlm.nih.gov*). Sur le plan antioxydant, l'hydrazone montre une activité modérée *in vitro*, avec un IC_{50} DPPH d'environ 56 µg/mL, supérieur à celui de l'ascorbate, ce qui reflète une efficacité inférieure aux antioxydants standards – une tendance déjà observée dans d'autres études (*pmc.ncbi.nlm.nih.gov*).

Par ailleurs, le test FRAP indique une capacité réductrice de 250 mg EAA/g, renforcée par une valeur TAC de 180 mg EAA/g, soulignant un potentiel antioxydant appréciable mais non exceptionnel. En revanche, les résultats du test d'hémolyse montrent une toxicité dose-dépendante, avec un taux d'hémolyse atteignant 19,1% à 100 µg/mL, nettement plus élevé que celui observé pour la quercétine. Ce résultat souligne un effet potentiel sur la stabilité des membranes cellulaires, à prendre en compte dans une optique d'utilisation pharmacologique.

En perspective, des **modifications structurales ciblées** pourraient améliorer le rapport efficacité/sécurité de l'hydrazone. Des **études mécanistiques** complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre ses cibles biologiques. Il serait également pertinent de réaliser des **tests in vitro sur des cellules humaines**, suivis d'**évaluations in vivo** sur modèles animaux pour valider son potentiel thérapeutique. Enfin, le **développement de formulations adaptées** pourrait optimiser sa biodisponibilité tout en limitant sa toxicité.

BIBLIOGRAPHIE

5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Kürti, L. et Czakó, B., *Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis*, San Diego USA: Elsevier Academic Press, 2005.
- [2] Huang, X., et Larock, R. C., *The Wolff-Kishner reduction and related reactions: Recent advances*, Amsterdam, aux Pays-Bas: Elsevier Ltd, 2003.
- [3] P.A. & P.A.S. Plattner, «Über die Japp-Klingemannsche Reaktion.», *Helvetica Chimica Acta*, vol. 20, n° 11, p. 224–232., 2003.
- [4] Takamura, M., Funabashi, K., K. anai, M., et Shibasaki, «Catalytic enantioselective Reissert-type reaction: Development and application to the synthesis of a potent NMDA receptor antagonist (–)-L-,» *Journal of the American Chemical Society*, vol. 123, n° 114, p. 3309–3310, 2001.
- [5] Kumar, B. V., Vaidya, S. D., Kumar, R. V., et Tiwar, «Hydrazones as privileged structural motifs in drug discovery: A comprehensive review of their pharmacological potential,» *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 113085, n° 1212, 2021.
- [6] G. Roman, «Hydrazones as versatile tools in organic synthesis,» *Journal of Molecular Structure*, p. 286–297, 2015.
- [7] Almeida, R. G., Fernandes, A. C. C., Silva, L. S. M., Ferreira, V. F., Martins, M. A. P. et Silva, J. L. F., «Hydrazones in medicinal chemistry: Versatile scaffolds for drug design. *Bioorganic Chemistry*,» vol. 94, n° 1103456., 2020.

BIBLIOGRAPHIE

- [8] Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W. et Feeney, P.J., «Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings,» *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 46, n° 11-3, p. 3–26., 2001.
- [9] El Ashry, E. S. H., El Nemr, A. et Ibrahim, E.-S. , «Hydrazonoyl halides in heterocyclic synthesis: A review.,» *Advances in Heterocyclic Chemistry*, vol. 91, p. 1–120, 2006.
- [10] H.M.Hügel, «Metal complexes of hydrazones and their biological, analytical and catalytic applications,» *Journal of Chemical Sciences*, vol. 121, n° 15, p. 923–934, 2009.
- [11] C.Koppel, «Clinical symptomatology and management of mushroom poisoning.,» *Toxicon*, vol. 31, n° 112, p. 1513–1540, 1993.
- [12] Blunt, J.W, Copp, B.R., Keyzers, R.A., Munro, M.H. Get Prinsep, M.R., «Marine natural products,» *Natural Product Reports*, vol. 40, n° 12, p. 275–325, 2023.
- [13] El Ashry, E. S. H., , El Nemr, A., et Ibrahim, E.-S. , «Hydrazonoyl halides in heterocyclic synthesis: A review,» *Advances in Heterocyclic Chemistry*, vol. 91, p. 1–120., 2006.
- [14] Singh, P., Yadav, H.K., Rai, V.K., Mishra, N. et Mishra, A., «The chemistry and biological potential of hydrazones,» *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 415, n° 1213327, 2020.

BIBLIOGRAPHIE

- [15] Enders, D., et Reinhold, U., «Asymmetric synthesis with SAMP/RAMP hydrazones.,» *Tetrahedron: Asymmetry*, vol. 8, n°112, p. 1895–1946., 1997.
- [16] Smith, M. B., et March, J., *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure: John Wiley & Sons, Inc., 2020.
- [17] Kumar, B. V., Vaidya, S. D., Kumar, R. V. et Tiwari, V. K., «hydrazones as privileged structural motifs in drug discovery: A comprehensive review of their pharmacological potential,» *European Journal of Medicinal Chemistry*, Vols. % 1 sur % 2212, n° 1113085, 2021.
- [18] Aslan, E., , Gürsoy, A., et Ulusoy, N. , «Sulfonyl hydrazone derivatives as potential antibacterial agents.,» *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 27, n° % 112, p. 2653–2658, 2017.
- [19] M. N. Khan, , «Steroidal hydrazines: Synthesis and in vitro antibacterial activity.,» *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vols. % 1 sur % 2128, p. 123–135., 2019.
- [20] Abdel-Wahab, B. F., Mohamed, H. A., et Ng, S. W., «Synthesis and antibacterial evaluation of imidazole-substituted hydrazine derivatives.,» *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 63, n° % 15, p. 2105–2118., 2020.
- [21] Palekar, V. S., Damle, A. J., et Shukla, S. R., «Thiazolidinone derivatives from hydrazine hydrate: Synthesis and antibacterial screening.,» *Chemical Biology & Drug Design*, vol. 91, n° % 14, p. 880–890, 2018.

BIBLIOGRAPHIE

- [22] El-Sabbagh, O. I., et Rady, H. M., «Antiviral activity of hydrazone derivatives against hepatitis A virus: Synthesis and mechanistic insights,» *Antiviral Research*, Vols. 1 sur 2188, n° 1105034., 2021.
- [23] Tian, Y., Zhang, L., Chen, X., et Wang, J., «Design and synthesis of hydrazone derivatives as potential HIV-1 capsid protein inhibitors,» *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 65, n° 18, p. 6123–6135, 2022.
- [24] O.M.d.l.Santé., «Maladies cardiovasculaires,» OMS, Genève, Suisse, 2021.
- [25] Bi, Y., Zhang, L., Chen, X., et Wang, J., «Hydrazone derivatives as cardioprotective agents in ischemia-reperfusion injury: Mechanistic insights and therapeutic potential,» *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, vol. 3, n° 175, p. 215–228, 2020.
- [26] Leal, C.M., Silva, D. F., Oliveira, R.N et Santos, F. A., «Design, synthesis and antihypertensive evaluation of novel acylhydrazone derivatives,» *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 170, p. 1–12, 2019.
- [27] Khan, M. S., Rahman, A. U., et Hussain, M. A., «Anti-inflammatory potential of hydrazone derivatives: Mechanistic insights and therapeutic applications,» *European Journal of Pharmacology*, vol. 818, p. 210–225, 2018.
- [28] Siddiqui, N., Ahsan, W., Alam, M. S., et Ali, R., «Therapeutic potential of hydrazone derivatives in chronic inflammatory and neurodegenerative disorders,» *Current Medicinal Chemistry*, vol. 28, n° 115, p. 2985–3003., 2021.

BIBLIOGRAPHIE

- [29] Zhang, L., , Yang, M., et Wei, S., «Hydrazones as potent inhibitors of pro-inflammatory cytokine production: Mechanistic studies and in vivo efficacy.,» *Journal of Immunology Research*, 2020.
- [30] Wang, H., et Liu, J., «Antioxidant properties of hydrazone derivatives: Structure-activity relationships and therapeutic potential.,» *Free Radical Biology and Medicine*,, vol. 135, p. 62–75., 2019.
- [31] Kumar, R.,, Sharma, P., et Singh, A., «Dual COX-2/5-LOX inhibition by novel hydrazone derivatives: A promising strategy for inflammation management.,» *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 228, 2022.
- [32] Kumar, R., et Mishra, A. P., «Hydrogen atom transfer (HAT) mechanisms in hydrazone-based radical scavenging: Kinetic and thermodynamic studies.,» *Free Radical Research*,, vol.55, n° 18, p.891– 905., 2021.
- [33] T.L.H.&X.Y.Wang,«Single electron transfer (SET) vs. HAT in hydrazone antioxidants: Spectroscopic evidence,» *Chemical Communications*, vol. 59, n° 112), p. 1678–1681., 2023.
- [34] Garcia-Lopez, E.,, Perez-Sanchez, A., et Ortega-Muñoz, M., «Electron-donating substituents enhance the radical scavenging activity of hydrazones: A DFT study,» *Antioxidants*,, vol. 9, n° 15), p. 412., 2020.
- [35] Zhang, L., et Chen, W., «Fenton reaction inhibition by hydrazone-metal complexes: Thermodynamic and kinetic analysis.,» *Dalton Transactions*, vol. 51, n° 14, p. 1562–1572., 2022.

BIBLIOGRAPHIE

- [36] Günes, H., Kaya, M., Yildiz, S., Ciftci, H., et Demirbas, E., « π -Conjugation effects on hydrazone antioxidant capacity: Spectroelectrochemical evidence.», *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 125, n° 122, p. 5899–5910., 2021.
- [37] El-Sayed, N. H., et al., «Structure-antioxidant relationships of substitutedhydrazones: AQSAR study.», *Bioorganic Chemistry*, Vols. 1 sur 1, n° 2128, n° 1106089., 2022.
- [38] Spencer, P.S., et Kisby, G.E., «Role of hydrazine-related chemicals in cancer and neurodegenerative disease.», *Chemical Research in Toxicology*, vol. 34, n° 19, p. 1953–1969, 2021.
- [39] Sies, H., et Jones, D. P., «Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents.», *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 21, n° 17, p. 363–383., 2020.
- [40] Bala, S., Kamboj, S. et Kumar, A., «Hydrazones as a Privileged Structural Moiety in Drug Discovery. Current Drug Discovery Technologies.», *Current Drug Discovery Technologies*, vol. 18, n° 13, p. 337–351, 2021.
- [41] Gosselin, R.E., Smith, R.P., et Hodge, H.C., *Clinical Toxicology of Commercial Products* (5^e éd.), Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins, 1984.
- [42] N.T.P.NTP, «Oxicology and carcinogenesis studies of 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone hydrochloride in F344/N rats and B6C3F1 mice (Technical Report Series No. TR-236)», National Institutes of Health, Triangle Park, NC & Bethesda, MD: U.S., 1982.

BIBLIOGRAPHIE

- [43] Mitchell, J. R., et al., «Isoniazid Liver Injury: Clinical Spectrum, Pathology, and Probable Pathogenesis,» *Gastroenterology*, vol. 71, n° 13, p. 560–572, 1976.
- [44] Brum, J. de O. C., França, T. C. C., LaPlante, S. R., et Villar, J. D., «Synthesis and biological activity of hydrazones and derivatives: A review,» *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, vol. 20, n° 15, p. 342–368., 2020.
- [45] Zhang, L., Wang, X., Li, Y., Chen, J., et Zhao, M., «Structure-toxicity relationships of hydrazone derivatives: A comprehensive review of in vitro and in vivo studies,» *Toxicology Reports*, vol. 9, p. 1234–1250, 2022.
- [46] Kalgutkar, A. S., Gardner, I., Obach, R. S., Shaffer, C. L., Callegari, E., Henne, K. R., Mutlib, A. E., Dalvie, D. K., Lee, J. S., Nakai, Y., O'Donnell, J. P., Boer, J., et Harriman, «A comprehensive listing of bioactivation pathways of organic functional groups,» *Current Drug Metabolism*, vol. 6, n° 12, p. 161–225., 2005.
- [47] O.d.c.e.d.d.é.(OECD), «Guideline for Testing of Chemicals No. 423: Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method,» OECD Publishing., Paris, 2001.
- [48] Ramirez-Vargas, M. A., Ramirez, R., Quintana-Belmares, R., Estrada, M., et Zazueta, C., «Dose-dependent hepatorenal toxicity of aromatic hydrazones in Wistar rats: Biochemical and histopathological assessment,» *Toxicology Reports*, vol. 8, p. 1129–1138., 2021.
- [49] Kumar, R., Sharma, P., et Singh, A., «Dual COX-2/5-LOX inhibition by novel hydrazone derivatives: A promising strategy for

BIBLIOGRAPHIE

- inflammationmanagement.» *European Journal of Medicinal Chemistry*, n° 1114012., pp. 228., 2022.
- [50] Sharma, S., , Patel, B., et Kumar, D, «Design, synthesis and anti-inflammatory evaluation of novel hydrazone derivatives as potential COX-2 inhibitors,» *Bioorganic Chemistry*, n° 1104883., pp. 111., 2021.
- [51] M.A.Laroussi, Lamia Chaoui Boudghane, samira Bouanane, Fatima Zohra Baba Ahmed, Salim Habiet Hafida Merzouk, «In Vitro Evaluation of Antioxidant Activity and Phytochemical Composition of Date Seed Extracts (Phoenix dactylifera L.) from the Algerian 'Deglet Nour' Variety,» *African Journal of Biological Sciences*, vol. 6, n° 115, pp. 12098-12113, 2024.
- [52] Aouachria, S., , Mouffok, S., et Bouriche H., «valuation du pouvoir antioxydant d'extraits de Rosmarinus officinalis récolté dans l'Est algérien.» *Phytothérapie*, vol. 19, n° 13, p. 137–145, 2021.
- [53] A.E.O.N.E.M.N.T.A.B.A.G.F.E...& B.Y. Bouyahya, «Phytochemistry and ethnopharmacology of Thymus vulgaris L.,» *Journal of Ethnopharmacology*, , n° 1112925., pp. 259, , 2020.
- [54] A. A. A. Allaith, , «Antioxidant capacities of twenty-five date varieties and three date seed varieties grown in Bahrain.» *Food Chemistry*, vol. 104, n° 14, p. 1336–1341, 2008.
- [55] M. Al-Farsi, Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M., et Shahidi, F, «Compositional and sensory characteristics of three native sun-dried date (Phoenix dactylifera L.) varieties grown in Oman.» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, n° 119, p. 7586–7591., 2007.

BIBLIOGRAPHIE

- [56] R.D.W.B.N.B.F.M.N.Benariba, «Évaluationdel'activité antioxydanteetanti-inflammatoireedel'extraitéthanoliquedelaplante médicinale,» 2013.

Annexes:



Annex1 Laboratoiresderecherched'universitéAbouBakr

Concentration (µg/ml)	Diclofénac (%)	Extrait (%)	P- value	Significativité
50	19,4± 3,61	15,2± 2,32	0,0859	—
100	32,0± 3,35	24,6± 2,65	0,0085	**
150	49,8± 2,56	40,4± 3,32	0,0021	**
200	64,4± 2,73	60,0± 1,41	0,0210	*

Annex2 Chapitre03 Effet anti-inflammatoire del'extraitd'hydrazonéet du diclofénac.

Conc. (µg/ml)	Ascorbate (% ± SD)	Extrait (%±SD)	P-value	Significat ivité
--------------------------	-------------------------------	---------------------------	----------------	-----------------------------

BIBLIOGRAPHIE

20	49,3± 5,22	11,1± 2,63	2,84×10⁻⁵	***
40	69,7± 4,65	29,2± 2,82	1,34×10⁻⁵	***
60	84,6± 3,82	59,0± 2,26	5,77×10⁻⁵	***
80	92,7± 1,62	73,3± 0,96	2,05×10⁻⁶	***
100	97,9± 0,52	90,8± 2,01	0,0010	**

Annex3 Pouvoir antioxydant DPPH de l'extrait d'hydrazone comparé à l'acide ascorbique

Test	Équivalent Acide Ascorbique (mg EAA/g)
FRAP	250±10

Annex4 Pouvoir réducteur (FRAP) de l'extrait d'hydrazone, exprimé en mg d'acide ascorbique équivalent par gramme d'extrait

Test	Équivalent Acide Ascorbique (mg EAA/g)
CAT	180±8

Annex5 Capacité antioxydante totale (CAT) de l'extrait, exprimé en mg d'acide ascorbique équivalent par gramme d'extrait

Conc. (µg/ml)	Quercétine (%)	Extrait (%)	P-value	Significativité
25	0,88± 0,67	4,72± 0,63	<0,001	***
50	2,16± 0,85	10,16±1,03	<0,001	***
100	5,33± 2,03	19,12±1,03	<0,001	***

Annex6 Pourcentage d'hémolyse induit par la quercétine et l'extrait d'hydrazone.

