

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

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Biologie

Spécialité: Biochimie appliquée

Présenté par :

M^{elle} ABAZ Naziha

M^{elle} RAHMANI Saâdia

**Contribution à l'étude des activités biologiques de
quelques dérivés 1,2-dithioliques**

Soutenu publiquement

Le : 31/05/2016

Devant le jury :

Président	M ^{me} BOUDJENAH Saliha	MCA	Univ. Ouargla
Encadreur	M ^{elle} RAHMANI Zehour	MCB	Univ. Ouargla
Examineur	M ^{elle} HADJADJ Soumia	MAA	Univ. Ouargla

Année Universitaire : 2015/2016

REMERCIEMENTS

D'abord, et avant tout nous remercions Allah pour nous avoir aidé à effectuer ce travail, et pour tout ses donés.

Nous adressons une profonde reconnaissance à notre encadreur M^{elle} RAHMANI Zehour, Maître de conférences au Département de Chimie à la Faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière de l'Université Kasdi Merbah Ouargla, pour honoré en acceptant de diriger et aidée tout au long de la réalisation de ce mémoire, pour aussi ses conseils, ses commentaires, sa bienveillance.

Nous adressons aussi une profonde reconnaissance à M^{elle} HAMMOUDI Roukia, Maître de conférences au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah Ouargla, pour ses encouragements, et sa gentillesse.

Nous aimerions aussi remercier notre présidente M^{me} BOUDJENAH Saliha Maître de Conférences au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah Ouargla et notre examinatrice M^{elle} HADJADJ Soumia Maitre Assistante au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah Ouargla, d'avoir bien voulu nous faire l'honneur de participer au jury et de contribuer à l'examinations de ce travail.

Nous remercions vivement les membres de l'équipe du Laboratoire de l'hôpital de Mohamed Boudiaf Ouargla en particulier : Dr. CHARBI Yousf et Mr: DADA MOUSA et Mr: BOU ARAR Ali Dr: MADADI et CHARBI Samra merci pour votre aide et votre collaboration pour l'étude des activités biologiques. Très grande merci pour toutes les personnes de tous les étudiants de département de sciences biologie.

Merci



Dédicacés

Ce travail est dédié à :

***La famille Abaz**

À mes parents : Halima et Belkhir

À mes frères: Ammar, Abdelnaser, Abdelkader, Mohammed Taki Eldin, Radwan

À ma petite Soeur : Sana

À mes tantes et ma grand-mère et mes cousines

***La famille Rahmani**

À mes parents : Mohammed et Fatoom

À mes frères: Imad Edine et Sliman et Zaid Et Abd Eldjalil

À mes soeurs: Zehour ; Zineb ; Safia et Sarah

À tous nos amis et nos collègues de la promotion de Master II biochimie 2016.

Naziha et Saâdia



Liste des figures

Figure 01 :	La forme générale de 1,2-dithiole-3-thione	3
Figure 02:	Le 4,5-diméthyle-1,2-dithiole-3-thione.	3
Figure 03:	Parmi formes les plus célèbres de 1,2-dithiole-3-thione.	4
Figure 04:	La méthode générale de la préparation des dithiolethiones .	5
Figure 05:	La méthode de l'E.K.Field. Avec R = H ou CH ₃ .	5
Figure 06:	La méthode de B. Botcher. Avec R ₄ =C ₆ H ₅ , R ₅ =H, X = I ⁻ ou X = CH ₃ SO ₄ ⁻ .	6
Figure 07:	Dérivés de 1,2-dithiole-3-thione : (1) ADT ; (2) Oltipraz .	7
Figure 08 :	Mécanisme d'action des antibiotiques.	12
Figure 09 :	La cascade de la coagulation dans la voie endogène et la voie exogène .	15
Figure 10:	les étapes de la phagocytose .	18
Figure 11:	Les étapes des testes, TP et TCK pour déterminer l'activité des composés dithioliques.	26
Figure 12:	Etapes de tests de phagocytose <i>in vitro</i> .	29
Figure 13 :	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (vitamine C)	31
Figure 14 :	Courbes représentant le pouvoir réductrice de quelques dithiolethiones étudiés.	32
Figure 15 :	Classification de la capacité réductrice selon les valeurs d'AEAC	33
Figure 16 :	La relation entre l'activité réductrice de dithiolethiones et la lipophilie.	34
Figure 17:	La relation d'AEAC avec le potentiel d'ionisation.	36
Figure 18 :	Effet de (A) le 4-phényl-1,2- dithiole-3-thione sur les souches pathogènes testées.	38
Figure 19 :	Effet de (B) le 4-p-tolyl-1,2-dithiole-3-thione sur les souches pathogènes testées.	39
Figure 20 :	Effet de (C) 5- p- méthoxyphényl-1,2-dithiole -3-thione sur les souches souches pathogènes testées.	40
Figure 21 :	Effet de (A1) le 3-méthylthio4-phényl-1,2dithiolylium Contre ion (I ⁻) sur les souches pathogènes testées.	41
Figure 22 :	Effet de (A2) le 3-méthylthio4-phényl-1,2dithiolylium Contre ion (CH ₃ SO ₄ ⁻) sur les souches pathogènes testées.	42
Figure 23:	La relation entre l'activité antimicrobienne de dithiolethiones et la lipophilie.	44
Figure 24:	Activité antimicrobienne des composés dithioliques	45
Figure 25 :	Les valeurs de TP et TCK des composés dithioliques étudiés.	50
Figure26 :	Activité phagocytaire des composés Dithioliques.	52
Figure 27:	Observation microscopique de la phagocytose de <i>Candida albicans</i> en présence des dithiolethione (x 1000) (Photo originale)	53

Liste des tableaux

Tableau I:	Quelques composés de 1,2-dithiole-3-thione.	4
Tableau II :	Nom et code des composés utilisés.	20
Tableau III :	Description des différentes souches microbiennes testées.	22
Tableau IV:	Les composés dithioliques utilisés pour les tests TCK et TP	24
Tableau V:	Composition de PBS.	27
Tableau VI:	Composition de solution Hanks .	27
Tableau VII:	Les résultats de test du pouvoir réducteur (AEAC).	33
Tableau VIII:	Les valeurs de log P n-octanol/eau de dithiolethiones étudiés.	35
Tableau IX:	Les valeurs de PI des dithiolethiones étudiés.	35
Tableau X:	Diamètres des zones d'inhibition (mm) du composé (A) le 4-phényl-1,2- dithiole-3-thione .	37
Tableau XI:	Diamètres des zones d'inhibition (mm) du composé (B) 4-p-tolyl- 1,2-dithiole-3-thione.	38
Tableau XII:	Diamètres des zones d'inhibition (mm) du composé (C) 5- p- méthoxyphényl-1,2-dithiole -3-thione .	39
Tableau XIII :	Diamètres des zones d'inhibition (mm) du composé (A1) 3- méthylthio4-phényl-1,2dithiolylium Contre ion (I-).	40
Tableau XIV :	Diamètres des zones d'inhibition (mm) du composé (A2) 3- méthylthio4-phényl-1,2dithiolylium Contre ion (CH ₃ SO ₄ ⁻).	41
Tableau XV:	Diamètres des zones d'inhibition (mm) provoqués par les composés dithioliques.	42
Tableau XVI :	Résultats de la concentration minimal inhibitrice des composés dithioliques.	46
Tableau XVII :	Capacité anticoagulante des composés dithioliques par temps de céphaline kaolin (TCK).	48
Tableau XVIII:	Capacité anticoagulante des composés dithioliques par taux de prothrombine (TP).	49
Tableau XIX :	Les valeurs de la capacité phagocytaire des composés dithioliques	51

Liste des abreviations

% : pourcentage

Pouvoir

HO• : radical hydroxyle

kJ/mol: Kilojoules par mole

Log P: coefficient de partage

NO•: monoxyde d'azote

O₂•-: radical l'anion superoxyde

PBS : Phosphate saline

pH: potentielle d'hydrogène

PI : potentiel d'ionisation

PL: phospholipides

PPM: Phosphomolybdate

ROO•: radicaux peroxy

rpm: rotation par *minute*

s: seconde

TCA : temps de céphaline active

TP: taux de prothrombine

TQ: temps de Quick

UV-Vis: ultraviolet - visible

VIH: virus de l'immunodéficience humaine

X a: facteur dix active

λ max : lambda maximum

TNF-α: facteur de nécrose tumoral Alfa

Abs : absorbance

ABTS : acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

ADN:acide désoxyribonucléique

ADT : anéthol dithiolethiones

AEAC: acide ascorbique équivalent antioxydant capacité

ARNt : acide ribonucléique de transfert

°C: degré *Celsius*

CMI : concentration minimale inhibitrice

D3T: 1,2-Dithiole-3-thione

DPPH• : (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle)

DMSO :diméthyle sulfoxyde

ERO: espèces réactives de l'oxygène

ERN: espèces réactifs de l'azote

eV: eutron-volts

F3P : facteur 3 plaquettaire

Fab H: enzyme [fatty acid biosynthesis initiation](#)

Fe²⁺: ions de fer

FRAP : Fer Réduction Antioxydant

SOMMAIRE

	Introduction	1
<i>Partie I : Etude Bibliographique</i>		
<i>Chapitre I: Généralités sur les dithiolethiones</i>		
I.	Généralités sur les dithiolethiones	3
I.1.	Les dithiolethiones histoire et développement	3
I.2.	Les dérivés de dithiolethione	4
I.3.	Synthèse de 1,2- dithiole -3-thiones	5
I.3.1.	Synthèse des 1.2-Dithioliques à partir 3-oxoester	5
I.3. 2.	Synthèse d'aryldithiolethione	5
I.3.3.	Synthèse de 3- methylthio-1,2- dithiolium cations	5
I.4.	Les propriétés de dithiolethione	6
I.4.1.	Propriétés physicochimiques	6
I.4.2.	Propriétés Biologiques de dithiolethione	6
I.4.2 .1 .	Propriétés antioxydant	6
I.4.2 .2 .	Propriétés antimicrobienne	6
I.4.2 .3 .	Propriétés anti-hémolyse	7
I.5.	Les utilisations des dithiolethiones	7
I.5.1.	Pharmaceutique	7
I.5.2.	Industrielles	8
<i>Chapitre II: Généralités sur les activités biologiques</i>		
II. 1.	Généralités sur le stress oxydant et ses marqueurs	9
II. 1.1.	Radicaux libres biologiques	9
II.1.2.	Les antioxydants	9
II.1.3 .	Le stress oxydant	10
II.2.	Activité antimicrobienne	11
II.2.1.	Les antibiotiques	11
II.2.1.	Les modes d'action des antibiotiques	11
II.3.	Activité anticoagulante	13
II.3.1.	Le sang et physiopathologie de la coagulation sanguine	13

II.3.2.	Les anticoagulants	13
II.3 .3.	La coagulation	14
II.3 .3.1.	Les facteurs de la coagulation	14
II.3.3.2.	Les mécanismes de la coagulation	14
II.3.3.3.	Exploration de la coagulation	16
II.3.3.3.1.	Temps de Quick	16
II.3.3.3.2 .	Temps de céphaline active	16
II .4 .	Activité phagocytaire	16
II .4.1 .	La phagocytose	17
II .4 .1.1.	Les phagocytes	17
II .4. 1.1.1.	Les macrophages	17
II .4.1.1.2.	Les cellules dendritiques	17
II .4.1.1.3.	Les granulocytes neutrophiles	17
II .4.1.1.4.	Les monocytes	17
II .4.2 .	Mécanisme de la phagocytose	18

Partie II : Etude Expérimentale

Chapitre I: Matériels et Méthodes

I.	Activités biologiques des dithiolethiones	19
I.1 .	Activité antioxydante	21
I.1.1.	Principe de test de Phosphomolybdate (Test de PPM)	21
I.1.2.	Mode opératoire	21
I.2.	Activités antimicrobienne	22
I.2.1.	Mode opératoire	23
I.3.	Activité anticoagulante des dithiolethiones	24
I.3.1 .	Préparation du plasma dépaqueté	24
I.3.2 .	Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène par le teste de temps de quick ou taux de prothrombine (TP)	24
I.3.2.1 .	Principe	24
I.3.2.2 .	Mode opératoire	25
I.3.3 .	Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène par le test de temps de céphaline Kaolin (TCK)	25
I.3.3 .1.	Principe	25
I.3.3 .2.	Mode opératoire	26

I.4.	Activité phagocytaire	27
I.4.1.	Principe du test	27
I.4.1.	Préparation des solutions tampons	27
I.4.2.	Préparation du matériel biologique	28
I.4.3.	Préparation des composés dithioliques	28
I.4.4.	Préparation de zymosan	28
I.4.5.	Mode opératoire	29
I.4.6.	Principe de la coloration	30
I.4.7.	Principe de calcul de la capacité phagocytaire	30
I.4.8.	Principe de calcul de l'activité phagocytaire	30

Chapitre II: Résultats et Discussions

II.1.	Activité antioxydante	31
II.2.	Activité antimicrobienne	37
II.3.	Activité anticoagulante	48
II.4.	Activité phagocytaire	51
	Conclusion	54
	Références bibliographiques	55
	Annexe	

Introduction

La chimie des composés dithioliques représente un des développements majeurs dans le domaine de la chimie fine. L'importance biologique de ces composés est apparue dès le 18^{ème} siècle en raison de leur pouvoir à inhiber la toxicité chimique et la cancérogénicité chez de nombreux organes cibles [1]. Cette fonction particulière implique que ces composés, après quelques modifications, constitue une source importante d'agents thérapeutiques.

Les dithiolethiones sont des hétérocycles sulfurés naturellement trouvés dans les végétaux comestibles comme le Chou-fleur et d'autres légumes de la famille de Brassicacées (crucifères) [2]. Ces composés peuvent être synthétisé chimiquement et subir des modifications par des substitutions ioniques, pour donner des nombreux dérivés dithioliques [3]. Ces dérivés sont utilisés dans les domaines industriels et pharmaceutiques [4].

La première dithiolethione découverte pour laquelle une propriété pharmacologique particulièrement intéressante est la 5-p-méthoxyphényl-1,2-dithiole-3-thione : sulfarlem ®). Cette molécule est commercialisées dès 1949 pour ses propriétés cholérétiques, ses propriétés sont démontrées et la font prescrire, aussi, pour des troubles de sécheresse de la bouche consécutifs à certains traitements antidépresseurs. Le sulfarlem se révèle aussi bon antioxydant que le gallate de propyle. Il est beaucoup plus efficace que la vitamine E. Il semble réagir directement, surtout avec les radicaux libres carbonés [5]

Les chimistes sont intéressés aux dithiolethiones à cause de leur aptitude de faire des coordinations à l'aide de liaisons covalentes et capables de fixer sélectivement des espèces ioniques et/ou moléculaires. Les biochimistes se sont également intéressés aux complexes soufrés à cause de leurs analogies structurales avec les sites actifs de certaines enzymes contenant des atomes métalliques et du soufre [6].

L'objectif principale de ce travail est l'étude de la relation structure-activité (antioxydante, antimicrobienne, anticoagulant et phagocytaire) de quelques dérivés des dithiolethiones.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antioxydante des dithiolethiones par test de Phosphomolybdate. Aussi l'évaluation de leur activité antimicrobienne contre certaines germes pathogènes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *candida albicans*), car l'utilisation des antibiotiques s'accompagne de résistances acquises, rendant l'efficacité des thérapeutiques plus aléatoire ; et ce qui demande des efforts à développer des médicaments chimiques contre ses résistances. Encore l'évaluation d'activité anticoagulante de ce fait, le sujet de ce mémoire s'inscrit dans le cadre des études intéressées à la prévention et la thérapie des maladies thrombotiques, et cela

par la recherche d'une éventuelle activité anticoagulante des dérivés 1,2-dithioe-3- thione. Ainsi l'évaluation de l'activité phagocytaire et immunomodulatrice dans le but de prévention contre les infections par des micro-organismes opportunistes.

Le développement de cette étude à travers nos travaux de mémoire s'échelonna sur deux parties :

La première partie est une étude bibliographique partagée en deux chapitres, la première englobe des généralités exhaustives sur les composés dithioliques et les méthodes de synthèse de ces composés avec ses propriétés biologiques, et le deuxième résume des généralités sur les activités biologiques testées dans ce travail.

La deuxième partie est divisée en deux chapitres : le premier illustre les matériels et les méthodes utilisés dans l'évaluation des différentes activités biologiques suivantes : l'activité antioxydant, l'activité antimicrobienne, aussi l'étude de l'activité anticoagulant qui consiste à évaluer l'effet des dérivés dithioliques vis-à-vis les deux voies de coagulation la voie endogène et exogène par les tests du temps de céphaline-kaolin (TCK) et du temps de Quick (TQ) respectivement. Finalement, l'évaluer de l'activité phagocytaire des composés dithioliques *in vitro*.

Le dernier chapitre est consacré à la présentation, l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus. Enfin, on conclure notre travail par une conclusion générale.

Partie I

Etude

Bibliographique

Chapitre I:
Généralités sur les
dithiolethiones

I / Généralités sur les dithiolethiones

I.1 / Les dithiolethiones histoire et développement

Les dithiolethiones (1,2-dithiole-3-thiones), sont des composés hétérocycliques flexibles contenant trois atomes de soufre dont l'une est une fonction thione [1].

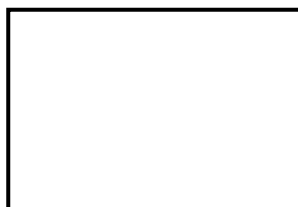


Figure.01 : La forme générale de 1,2-dithiole-3-thione [1].

Ces hétérocycles sulfurés sont naturellement trouvés dans les végétaux comestibles comme le Chou-fleur et les choux de Bruxelles et d'autres légumes de la famille de Brassicacées (crucifères) [2]. Les 1,2-dithiole-3-thiones sont une classe des composés d'organosoufrés de la structure générale montrée dans la figure 01.

La première synthèse de cette famille de composé a été réalisée en 1884 par A.G. Barbaglia, chimiste italien. Il a isolé et purifié une substance de formule $C_5H_6S_3$ obtenue par une réaction entre le soufre et l'isovaléraldéhyde (3-méthylbutanal) [3]. Barbaglia n'a pas déterminé sa structure, mais il a mesuré son point de fusion et a donné la méthode de synthèse, il a stipulé que cette substance serait le 4,5-diméthyle-1,2-dithiole-3-thione.

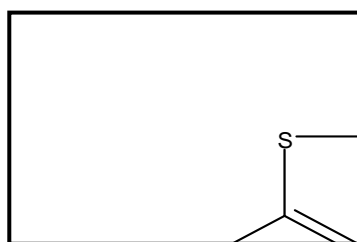


Figure 02: 4,5-diméthyle-1,2-dithiole-3-thione [17].

La dithiolethione parent (non substitué en position 4 ou 5) a été synthétisé en 1948 [4]. Nombreux dérivés ont été préparés entre les années 1940 et 1950, notamment en France, dont les utilisations potentielles de ces composés seraient dans les domaines industriels et pharmaceutiques [5].

I.2/ Les dérivés de dithiolethione.

Selon le radical R_5 et R_4 on peut distinguer plusieurs dérivés de cette classe des dithiolethiones [6].

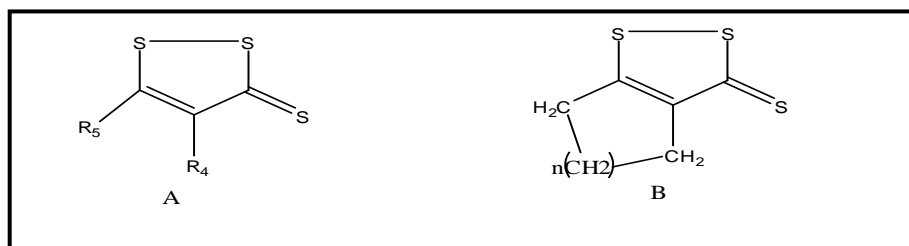


Figure 03: Parmi les formes plus célèbres de 1,2-dithiole-3-thione [6].

Tableau I: Quelques composés de 1,2-dithiole-3-thione [7].

Composé	Nom Abrégé	Structure	Form
1,2-Dithiole-3-thione	D3T	$R_5 = R_4 = H$	A
5-Methyl-1,2-dithiole-3-thione	5-Méthyl	$R_5 = CH_3, R_4 = H$	A
4,5-Dimethyl-1,2-dithiole-3-thione	4,5-Diméthyl	$R_5 = R_4 = CH_3$	A
4-Phenyl-1,2-dithiole-3-thione	4-Phényl	$R_5 = H, R_4 =$ phényl	A
5-Phenyl-1,2-dithiole-3-thione	5-Phényl	$R_5 =$ phényl, $R_4 = H$	A
4-Methyl-5-pyrazinyl-1,2-dithiole-3-thione	Oltipraz	$R_5 =$ pyrazinyl, $R_4 = CH_3$	A
5 - (4-methoxyphenyl) -1,2-dithiole-3-thione	Sulfarlem ou ADT	$R_5 =$ 4 méthoxy- phényl , $R_4 = H$	A
5-Ethyl-1,2-dithiole-3-thione	5-éthyl	$R_5 = H, R_4 =$ ethyl	A
4-Ethyl-1,2-dithiole-3-thione	4-éthyl	$R_5 =$ éthyl, $R_4 = H$	A
4,5,6,7-Tetrahydrobenzo[c]-1,2-dithiole-3-thione	Cyclohexa	$n = 2$	B
2-[(2,6-dichlorophenyl) amino] benzene acetic acid 4-(1,2-Dithiole-3-thione-5-yl)phenyl ester	S-diclofenac (diclofenac ester)	$R_4 = H$	A

Seules les positions 4 et 5 des 1,2-dithiole-3-thiones sont susceptibles d'être occupées par des groupements qui doivent, le plus souvent, être inclus dans les précurseurs correspondants. Cette condition limite les possibilités de synthèse, ce qui explique le nombre réduit de structures connues dans la série des 1,2 -dithiole-3-thiones.

I.3/ Synthèse des 1,2- dithiole -3-thiones

Vu l'importance accordée aux dithiolethiones et ses dérivés, plusieurs méthodes sont citées pour la synthèse des dithiolethiones, nous décrivons quelques méthodes ci dessous

I.3.1/ Synthèse des 1.2-Dithioliques à partir 3-oxoester

Les procédures habituelles pour la synthèse des dithiolethiones sont l'utilisation de la réaction d'un 3-oxo ester avec P_4S_{10} et le soufre, dans le toluène bouillant ou xylène [8].

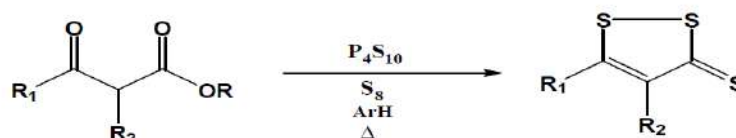


Figure 04: La méthode générale de la préparation des dithiolethiones [8].

I.3. 2/ Synthèse d'aryldithiolethione

La première synthèse de 1, 2-dithiole-3-thiones a été en 1954 par de E.K.Field, et leurs sels ont été synthétisés par B. Botcher [9].

Les 1,2-dithiole-3-thiones ont été synthétisés selon E.K.Field en présence de quantité catalytique de bases cumenes ont été trouvés à réagir avec du soufre ou P_4S_{10} et donner de bons rendements aryldithiolethione selon l'équation [9]:



Figure 05: La méthode de l'E.K.Field. Avec $R = H$ ou CH_3 [9].

I.3.3/ Synthèse de 3- methylthio-1,2- dithiolium cations

Les sels de 1,2-dithiole-3-thiones ont été synthétisés ci-après B. Botcher. Cette méthode fondée sur la réaction du sulfate de diméthyle ou iodide de méthyle en excès avec dithiolethiones selon l'équation suivante [10]:

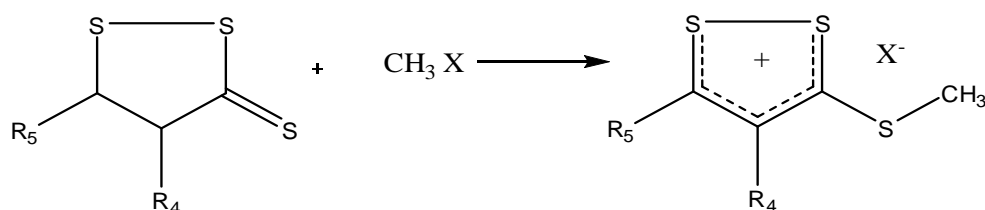


Figure 06: La méthode de B. Botcher. Avec R₄=C₆H₅, R₅=H, X = I⁻ ou X = CH₃SO₄⁻ [10].

I.4/ Les propriétés de dithiolethiones

I.4.1/Propriétés physicochimiques

Les 1,2-dithiole-3-thiones sont généralement odorés et possèdent un goût amer d'aspect cristallin. Les petits dérivés alkyles de 1,2-dithiole-3-thiones ont une odeur caractéristique, ils sont tous de couleur, variant généralement du jaune au rouge. Les 1,2-dithiole-3-thiones absorbent dans les domaines UV et visible. Challenger et son équipe rapporte les valeurs de λ_{\max} de 1,2-dithiole-3-thione vers 230, 254, 336 et 415 nm [11].

Mecke et Luttringhaus déterminent les spectres infrarouges d'un certain nombre de dithiolethiones. Les spectres IR présentent le caractère aromatique du cycle de ces molécules [11].

Les 1,2-dithiole-3-thiones possèdent des points de fusion souvent élevés par exemple: le point de la fusion de sulferlem est 109 °C. Ces composés sont insolubles dans l'eau et solubles dans certains solvants organiques usuels comme le chloroforme. Tandis que, les 1,2-dithiole-3-thiones sont solubles dans les acides minéraux, dans ces conditions, ces composés présentent une grande stabilité résulte de la formation des sels stables [12].

I.4.2/ Propriétés biologiques de dithiolethione

I.4.2 .1 / Propriétés antioxydante

L'anéthol dithiolethione (Sulfarlem[®]) est une molécule lipophile utilisée en thérapeutique depuis longtemps qui associe des propriétés anti radicalaires et antioxydantes ; la réactivité des fonctions dithiole et thiones est notamment traduit par du rendement d'activité antioxydante plus importante. Cela est dû à leur pouvoir de libérer un ou deux électrons selon le mécanisme d'oxydation des dithiolethiones [13].

I.4.2 .2 / Propriétés antimicrobienne

Les 1,2-dithiole-3-thiones étaient considérés comme de puissants inhibiteurs de l'enzyme Fab h bactérienne d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* [14]. Quelques dérivés comme 4-aryl-5- chloro-3H-1,2-dithiole-3-thiones se sont révélés être fongitoxique [15]. et ils ont également été utilisés comme insecticides [16].

I.4.2.3 / Propriétés anti-hémolytique

L'anéthol dithiolethione (Sulfarlem®) est une molécule lipophile utilisée en thérapeutique qui associe des propriétés anti radicalaires et antioxydantes à une bonne diffusion tissulaire et une bonne tolérance pour inhiber l'hémolyse des érythrocytes [17].

I.5/ Les utilisations des dithiolethiones.

I.5.1/Pharmaceutique.

Le 5-(4-méthoxyphényl)-3H-1,2-dithiole-3-thione (ADT, composé 1; figure I.3) et de 4-méthyl-5-pyrazinyle-1,2-dithiole-3-thione (Oltipraz, composé 2; figure 07) ont été testés en matière d'efficacité thérapeutique chez l'homme. ADT est utilisé comme stimulant de la salive [18] et oltipraz a été utilisé dans le traitement de la schistosomiase, essentiellement contre *Schistosoma Mansoni* [19].

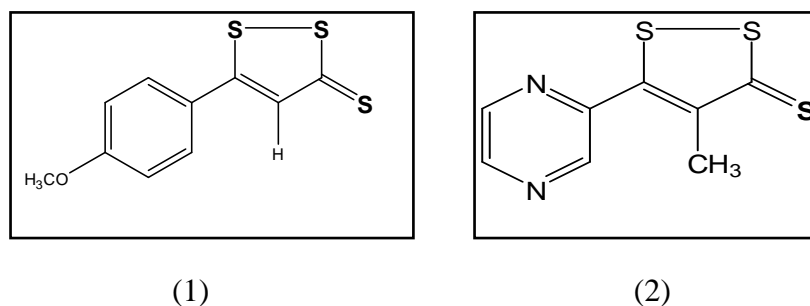


Figure 07: Dérivés de 1,2-dithiole-3-thione : (1) ADT ; (2) Oltipraz [18].

Les dithiolethiones (dont l'anéthol (sulfarlem®) et oltipraz) ont des propriétés antioxydantes, radio protectrices et chimio préventives. L'administration de cette substance aux fumeurs est corrélée à une nette diminution de cancer du poumon [20].

Aussi Oltipraz a été utilisé comme un agent potentiel schistosomicide chez l'homme. En outre, Oltipraz inhibe la réplication du VIH par la liaison de manière irréversible avec l'enzyme transcriptase inverse virale [21].

En clinique, cette molécule, connue pour sa bonne tolérance, est utilisée comme cholérétique et sialogogue notamment dans la prévention des effets secondaires atropiniques des neuroleptiques. Cette molécule est connue pour ses propriétés anti radicalaires, inductrices de glutathion, cytoprotective vis-à-vis de différents toxiques (CCl₄, paracétamol) [22].

I.5.2/Industrielles

En raison de la résistance contre l'oxydation de l'air sont utilisés comme:

- antioxydants; qui sont ajoutés au carburant, lubrifiants pour moteurs. Et pour empêcher l'influence du rayonnement UV en caoutchouc et matières plastiques [23], [24].
- inhibiteurs de corrosion pour le dioxyde de carbone dans les installations pétrolières [25].
- électrode dans les batteries grâce à leur conductivité [26].
- Pesticides et fongicides [27].

Chapitre II

Généralités sur les activités biologiques

II. 1/ Généralités sur le stress oxydant et ses marqueurs

II. 1.1/ Radicaux libres biologiques

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires sur leur couche externe [28]. Ils peuvent être dérivés de l'oxygène (ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (ERN). La présence d'un électron célibataire confère aux radicaux libres une grande réactivité sa durée de vie est très courte (de l'ordre d'une micro à nanoseconde). Cette instabilité rend difficile leur mise en évidence au niveau des différents milieux biologiques tel que l'acide désoxyribonucléique ADN, les protéines, les lipoprotéines et les lipides membranaires ce qui augmente les risques des maladies comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives, et la production des mutations cellulaires [29]. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé [30].

Certains radicaux formés chez les êtres vivants comme l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le monoxyde d'azote (NO^{\bullet}), les radicaux peroxydes (ROO^{\bullet}) et le radical hydroxyle (HO^{\bullet}) sont particulièrement réactifs avec la plupart des molécules biologiques. Leur réactivité n'a cependant pas que des conséquences toxiques pour l'organisme ; au contraire ils peuvent être utilisés dans divers mécanismes aboutissant à la destruction de bactéries au sein des cellules phagocytaires ou dans la régulation des fonctions cellulaires létales comme l'apoptose [31].

II.1.2/ Les antioxydants

D'après Halliwell, un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène présente en faible concentration par rapport au substrat oxydable qui est capable de prévenir, de retarder et de réduire et stopper la destruction oxydante des biomolécules due aux radicaux libres [32].

On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est exogène apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes qui est riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone ou flavonoïdes; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases [31].

Ces antioxydants peuvent agir selon deux mécanismes majeurs: soit par transfert d'atome d'hydrogène, soit par transfert d'électron. Les méthodes basées sur le transfert d'atome d'hydrogène mesurent la capacité globale d'un antioxydant à réprimer les radicaux libres par donation d'un atome d'hydrogène, alors que les méthodes basées sur le transfert d'électron

mesurent la capacité d'un antioxydant à transférer un électron qui réduira n'importe quel composé, incluant les métaux, les carbonyles et les radicaux [33].

La consommation élevée de fruits et légumes était associée à un plus faible risque de cancer, de maladies cardiovasculaires et de maladies neuro-dégénératives [34]. Les effets protecteurs des fruits et légumes sont attribués à un large éventail de composés, notamment les antioxydants. Les défenses antioxydantes limitent les dommages causés par les oxydants et confèrent plusieurs fonctions destinées à combattre l'inflammation, les virus, l'hypercholestérolémie, le développement du cancer, la formation de tumeurs malignes, la production des mutations cellulaires et le déclin des fonctions cognitives [35].

II.1.3 Le stress oxydant

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre des taux élevés d'espèce réactifs de l'oxygène (ERO) et une activité antioxydante réduite. Une augmentation du stress oxydant peut entraîner des destructions tissulaires et provoquer des lésions au niveau des structures cellulaires [36].

Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telle que l'exposition aux radiations ionisantes (exposition importante au soleil, radioactivité artificielle ou naturelle), la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, la consommation de tabac et d'alcool, la prise de certains médicaments, la pratique du sport intensif et tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxification hépatique, notamment une perte de poids importante [36].

Pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* ; différentes méthodes ont été développées. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capable d'inhiber la génération de radicaux Parmi les quelles test DPPH^{*} (2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyle), test de l'activité chélatrice des ions de Fe²⁺, test ABTS (Acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)), test de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), activité réductrice sur le ferricyanure de potassium, test de piégeage du radical hydroxyle OH, test de la capacité d'inhibition de radical l'anion superoxyde O₂⁻ et test Phosphomolybdate (test de PPM) par l'intervention d'une technique d'analyse spectrale (spectroscopie d'absorption UV-Vis notamment)

II.2/ Activité antimicrobienne

Les agents infectieux (microbes ou micro-organismes) classés dans différentes catégories constituent un groupe extrêmement diversifié d'organismes microscopiques, unicellulaires, Ils se distinguent les uns des autres par leur forme, leur taille et leur mode de vie Les principales catégories sont : les bactéries, les virus les champignons et les parasites.

Tous les micro-organismes (germes) n'ont pas les mêmes capacités à provoquer des infections, certains étant pratiquement toujours associés à des manifestations cliniques (maladies) alors que d'autres ne provoquent qu'exceptionnellement des maladies [52].

II.2.1/ Les antibiotiques

Les antibiotiques se définissent comme des agents antibactériens, naturels d'origine biologique (les sources principales des antibiotiques sont les champignons, mais parfois aussi les Bactéries) et/ou synthétiques et/ou semi-synthétiques qui peuvent empêcher la multiplication des bactéries (bactériostase) ou entraîner leur destruction (bactéricide) sans affecter l'hôte par une action au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie [53].

II.2.1/ Les modes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques possèdent 2 grands lieux d'action(la paroi et le cytoplasme) et différent modes d'action soit il ya:

- des antibiotiques actifs sur la paroi et la membrane bactérienne qui prennent comme cible des enzymes intervenant dans la synthèse de peptidoglycane tel que les β -lactames.
- des antibiotiques actifs sur la synthèse protéique, affectent la sous-unité 50S ou la sous-unité 30S, soit empêchent la fixation d'un nouvel acide aminé sur la chaîne en croissance (phénicolés) ou le transfert de la chaîne en croissance du site A vers le site P (macrolides) ,ou bien empêchent ou perturbent la liaison des aminoacyl-ARNt aux ribosomes (tétracyclines)
- des antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques, actifs d'une part sur la synthèse des ARN (ansamycines) et d'autre part, sur la synthèse des ADN (quinolones) ou de leurs précurseurs.
- des antibiotiques inhibiteurs de voies métaboliques (les sulfamides agissent sur la synthèse de l'acide folique, un cofacteur de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques) [54].

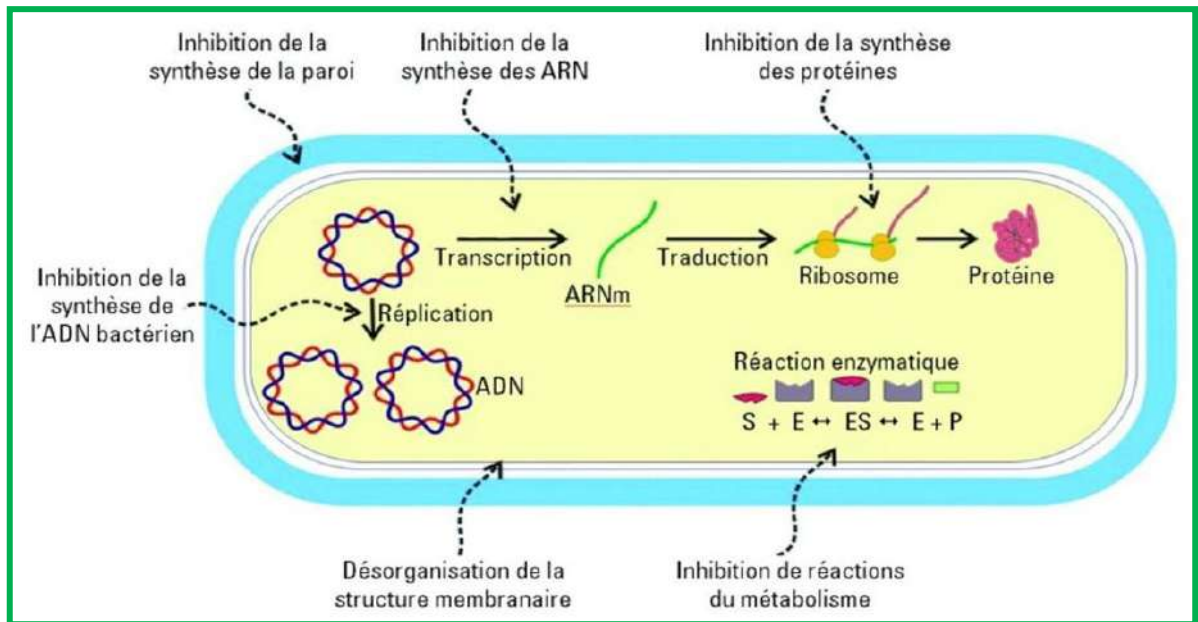


Figure 08 : Mécanisme d'action des antibiotiques [89].

Pour être efficace, un antibiotique doit parvenir au contact de la bactérie, puis pénétrer dans la cellule afin de se fixer à une cible et perturber le fonctionnement du microorganisme, sans être détruit ni modifié. Si l'antibiotique ne parvient pas à pénétrer dans la bactérie ou à se fixer sur une cible, il devient inefficace. Ce phénomène appelé résistance. Ainsi, de nombreux microorganismes pathogènes classiques développent des résistances multiples aux antibiotiques [55].

Au d'autre terme un micro-organisme est considéré (résistant) lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce [56]. Les bactéries se défendent contre l'action des antibiotiques :

- en se rendant imperméable à leur pénétration.
- en produisant des enzymes capables de les inactiver.
- en modifiant la structure de leurs cibles.

Ces résistances peuvent être naturelles ou acquises consécutivement à des modifications de l'équipement génétique chromosomique ou plasmidique (mutations spontanées -20% des résistances - ou échange par conjugaison d'un plasmide ou d'un transposon - 80 % des résistances) [55].

II.3/ Activité anticoagulante

II.3.1/ Le sang et physiopathologie de la coagulation sanguine

Sang est un tissu liquide indispensable à la vie. Il ne peut être remplacé par rien d'autre, Il circule à l'intérieur d'un système vasculaire clos (les artères, les vaisseaux capillaires et les veines) pour y alimenter toutes les cellules humaines en nutriments, électrolytes, hormones, vitamines et oxygène. Il est constitué d'éléments figurés : plaquettes, érythrocytes, polynucléaires (neutrophiles, basophiles et éosinophiles), lymphocytes et monocytes [58].

Le sang reste fluide dans les vaisseaux car il existe un équilibre entre les facteurs pro coagulants (favorisant la formation de caillots) et les mécanismes qui s'y opposent ou les détruisent. La thrombose provient de la rupture de cet équilibre vers des phénomènes de coagulation [59]. La formation de ce thrombus peut avoir des conséquences graves (accident vasculaire cérébral, infarctus du myocarde,...) mais rappelons qu'à la base, il est destiné à colmater les brèches provenant de lésions vasculaires [60].

II.3.2/Les anticoagulants

Les médicaments intervenants au niveau de la cascade de la coagulation sont appelés « anticoagulants ». Ils agissent à différents niveaux mais empêchent tous la formation du caillot de fibrine.

- Les héparines agissent en potentialisant l'effet de l'anti trombine III sur les facteurs II a et Xa.
- Les anti vitamines K interviennent en inhibant la formation des facteurs II, VII, IX et X, vitamines K dépendants.
- Les inhibiteurs directs de thrombine agissent à la fois sur la thrombine circulante et celle liée à un thrombus indépendamment de l'anti-trombine III. Ils sont représentés par les dérivés de l'hirudine (désirudine, bivalirudine et lépirudine) mais également par des dérivés synthétiques (mélagatran, ximélagatran, dabigatran . . .).
- Les inhibiteurs directs du facteur Xa, nouvelle classe médicamenteuse, représentée par le rivaroxaban (XAREL TO®) [61].

Afin de mieux comprendre le rôle d'anticoagulants pour éviter les risques de thrombose, les principales étapes de la coagulation sont expliquées.

II.3 .3/ La coagulation

La coagulation est le processus qui aboutit à la formation de fibrine nécessaire à la consolidation du clou plaquettaire. Il s'agit d'une séquence de réactions enzymatiques permettant l'activation de facteurs plasmatiques inactifs en protéases actives. La coagulation fait intervenir des facteurs de coagulation pour permettre la formation d'un réseau de fibrine qui enserre et consolide l'amas de plaquettes [62].

II.3 .3.1/Les facteurs de la coagulation

La plupart des facteurs de la coagulation sont des protéines synthétisées dans le foie sous forme monocaténaire, à l'exception le facteur XI qui est bicaténaire. Les facteurs II, VII, IX et X sont vitamines K dépendants ; ils subissent dans l'hépatocyte, une gamma-carboxylation sous l'action d'une carboxylase ayant la vitamine K pour cofacteur.

L'activation des facteurs de la coagulation se fait par clivage protéolytique et conduit à la formation de protéases bicaténaire, qui possèdent toutes une sérine dans leur site actif [61].

II.3.3.2/ Les mécanismes de la coagulation

La coagulation se déroule en trois étapes :

a. Etape de la génération de prothrombinase: c'est la formation du complexe activateur de la prothrombine. Elle se fait selon deux voies : extrinsèque, faisant appel à un facteur étranger au sang (la thromboplastine tissulaire). Et intrinsèques ; nécessitant uniquement le concours de facteurs plasmatiques et plaquettaires [61].

La cascade de la coagulation selon les deux voies :

- **La voie exogène ou extrinsèque**

Le facteur tissulaire est une glycoprotéine transmembranaire. Il est démasqué lors d'une lésion endothéliale ou tissulaire, mais il peut également être exprimé sous l'action des cytokines inflammatoires.

La fixation du facteur VII au facteur tissulaire induit son activation en facteur VIIa. Le complexe facteur tissulaire-facteur VIIa est le principal initiateur de la coagulation. Ce

processus est désigné sous le terme « système extrinsèque » ou « voie exogène » de la coagulation [61].

• **La voie endogène ou intrinsèque**

Le facteur XII a permis l'activation du facteur XI, puis le facteur XIa protéolyse le facteur IX en présence d'ions calcium. La vitesse d'activation du facteur X par le facteur IXa est accélérée par la formation d'un complexe enzymatique, le complexe « ténase » formé à la surface des plaquettes activées. Un complexe similaire au complexe « ténase », le complexe « prothrombinase » formé par les facteurs Xa, Va associés à des ions calcium (Ca^{2+}) et des phospholipides (PL), est responsable de la génération de thrombine [61].

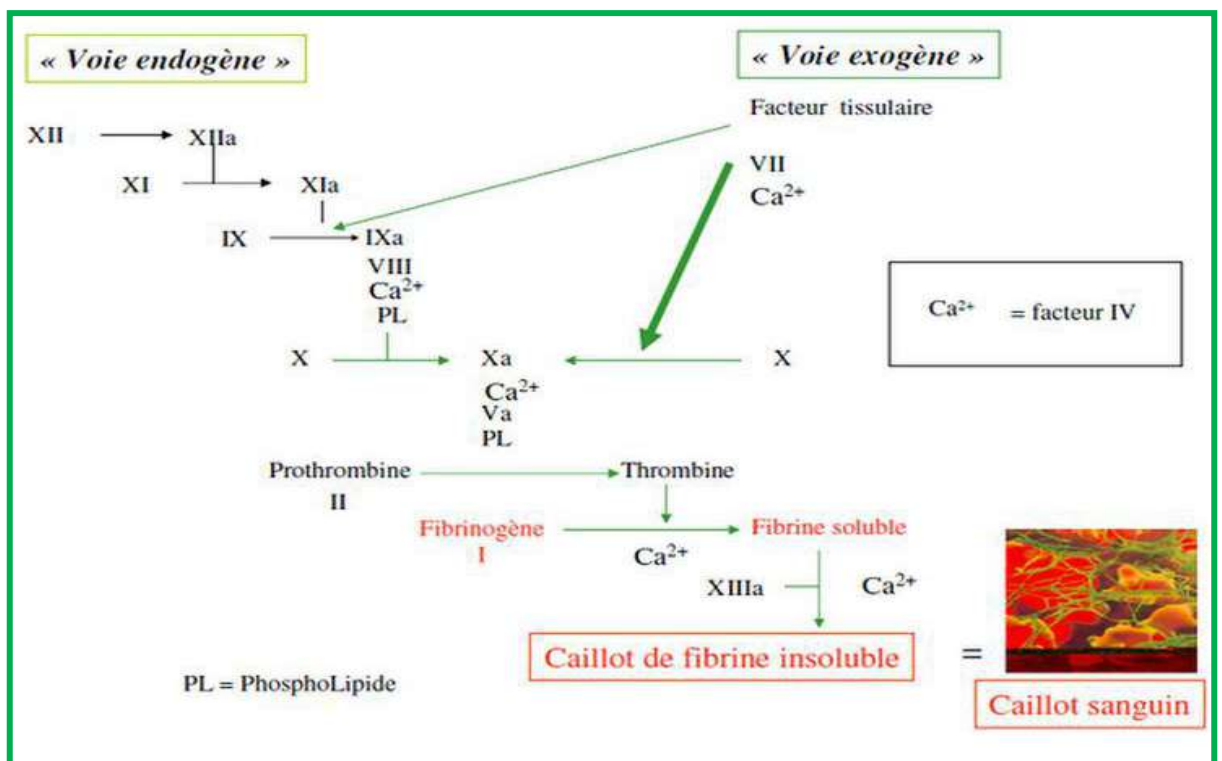


Figure 09 : La cascade de la coagulation dans la voie endogène et la voie exogène [63], [64].

b. Etape de throbinoformation

Elle assure la formation de la thrombine à partir de la prothrombine grâce à l'activité catalytique de la prothrombinase [65].

c. Etape de La fibionoformation

Elle aboutit à la formation de la fibrine insoluble à partir du fibrinogène plasmatique [65].

II.3.3.3/ Exploration de la coagulation

IL s'agit d'une technique d'exploration globale au phénomène de coagulation qui consiste à prélever le sang dans un tube sans anticoagulant et à observer le temps que met ce prélèvement pour coaguler. Ce temps de coagulation varie normalement entre 8 à 12 min à 37°C [65].

II.3.3.3.1/ Temps de Quick : TQ

Concerne la voie extrinsèque tissulaire. On l'exprime en taux de prothrombine (TP). C'est le temps de coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes en présence de thromboplastine calcique à 37°C. Ce temps varie entre 11 à 12 s et lorsqu'on l'exprime en TP, il est supérieur à 100% [65].

II.3.3.3.2/ Temps de céphaline active : TCA

Explore la voie intrinsèque. C'est le temps de coagulation d'un plasma pauvre en plaquettes en présence d'un activateur dont les plus utilisés sont le kaolin et la céphaline à 37°C. Les résultats sont exprimés en seconde par rapport à un témoin. Le TCA est pathologique, lorsqu'entre le malade et le témoin, on observe une différence de 8 à 10 s [65].

II .4 / Activité phagocytaire

Après avoir franchi les premières barrières de défense comme l'épiderme, les microorganismes sont pris en charge par le système immunitaire. En fonction du point d'entrée, des cellules sentinelles, situées au niveau sous-épithélial, vont se confronter aux microorganismes. Il s'agit de la réponse immunitaire non spécifique ou innée. Elle implique un grand nombre de cellules plus au moins phagocytaires (neutrophiles, macrophages et Cellule dendritique) [69].

Les candidoses sont des infections opportunistes dues à des levures du genre *Candida*. Il en existe environ 166 espèces. Cependant, seule une dizaine d'entre-elles est capable d'envahir les tissus de l'hôte, la transition saprophyte-pathogène peut se produire suite à une baisse des défenses immunitaires de l'hôte, permettant ainsi la multiplication des levures. L'espèce la plus pathogène est *Candida albicans*, suivie de, *C. glabrata*, *C. tropicalis* etc [70].*Candida* peut infecter tous les organes : reins, cœur, poumons, yeux, système nerveux, conduisant à un pronostic fatal dans 30-40% des cas [71].

II .4.1 / La phagocytose

La phagocytose est un processus immun naturel de l'organisme humain. par laquelle les phagocytes (grandes cellules ayant la propriété de reconnue et absorber et de détruire les éléments étrangers (les bactéries, les virus, les champignons, etc...) par les dérivés activés de l'oxygène et les enzymes lysosomal [69].

II .4 .1.1/ Les phagocytes

Les cellules phagocytaires sont caractérisées par leur propriétés de captation de l'antigène .elles prennent naissance dans la moelle osseuse, interviennent dans la phagocytose [72]. Parmi ces cellules les macrophages, les cellules dendritiques les granulocytes neutrophiles et les monocytes

II .4. 1.1.1/ Les macrophages

Les macrophages ont été parmi les premieres cellules du système immunitaire décrites , sont issus de la différenciation des monocytes ,les macrophages ont des appellations spécifiques dans certains organes ;cellules de kupffer dans le foie ,ostéoclastes dans l'os et cellule de la microglie dans le système nerveux central [73].

II .4.1.1.2 / Les cellules dendritiques

Ces cellules sont présentes dans tous les tissus de l'organisme à l'exception du cerveau et constituent 0.2à 2% de leur masse cellulaire [73].Ces cellules ont le rôle de sentinelle par leur capacité à reconnaître et capter efficacement les microorganismes [73].

II .4.1.1.3 / Les granulocytes neutrophiles

Les cellules granulocytaires possèdent de nombreuses granulations, d'où leur nom de granulocytes, elles comportent un noyau polylobé, c'est pourquoi elles sont aussi appelées polynucléaires [74].Les polynucléaires neutrophiles représentent la plus grande population des granulocytes les autres étant les éosinophiles et les basophiles [74].

II .4.1.1.4 / Les monocytes

Les monocytes sont des grosses cellules 15 à 30 µm au noyau, ils ont une fonction majoritairement phagocytaire et plus accessoirement de cellule présentatrice de l'antigène [73].

II .4.2 / Mécanisme de la phagocytose

La phagocytose début par la reconnaissance de la particule à ingérer, cette reconnaissance conduit à la transduction d'un signal dans la cellule dépendant des récepteurs engagés et mettant en jeu plusieurs enzymes (protéines tyrosine kinases principalement). Conduisant à l'émission de pseudopodes autour de la particule et la formation du phagosome qui fusion avec des endosomes. Après cette fusion on l'appelle phago-lysosome. Ces dernières possèdent diverses enzymes telles que des hydrolases et les acides qui vont détruire le germe phagocyté. La digestion est plus ou moins totale, selon le type de phagocyte mais aussi du type de germes internalisés [73].

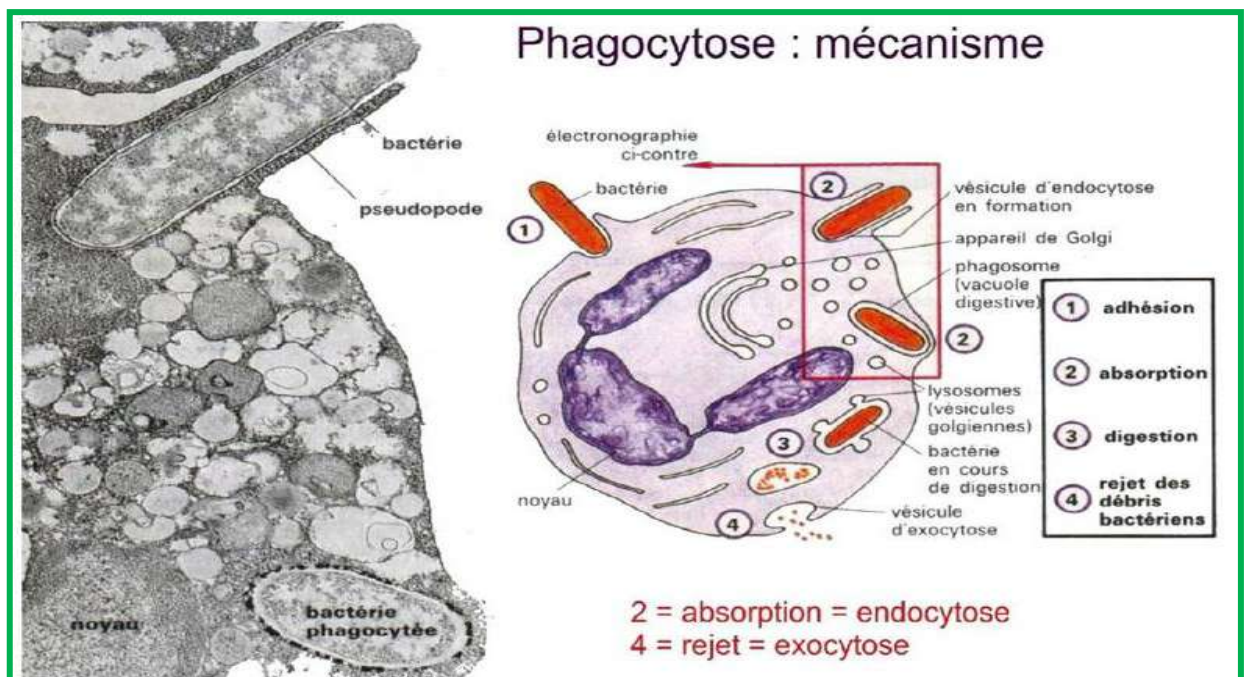


Figure 10: Les étapes de la phagocytose [90].

Partie II

Etude Expérimentale

Chapitre I
Matériels et
méthodes

I/Activités biologiques des dithiolethiones

La présente étude, s'intéresse à quatre activités biologiques (l'activité antioxydante, l'activité anticoagulante, activité phagocytaire et activité antimicrobienne) pour les dithiolethiones suivants : (C), (B1), (A2) et (C1) pour les activités antioxydant, coagulant et l'activité phagocytaire. Et les composés (A), (B), (C), (A1) et (A2) pour l'activité antimicrobienne. Cette étude de ces activités est donné à fin de valoriser ces composés dithioliques et ses dérivés.

Toutes les dithiolethiones que nous avons utilisés dans le Tableau II sont synthétisées par Dr: DEKMOUCHE M. sauf le composé (C) et (C1). Ils ont été préparés dans le travail de Dr: RAHMANI Z. par la récupération du composé C à partir d'un médicament sulfarlem® synthétisé par *Rottendorf Pharma*.

Tableau II : Nom et code des composés utilisés.

Code	Nom	Structure
(A)	4-phényl-1,2- dithiole-3-thione	
(B)	4-p-tolyl-1,2-dithiole-3-thione	
(C)	5- p- méthoxyphényl-1,2-dithiole-3-thione	
(A1)	3-méthylthio4-phényl-1,2dithiolylium Contre ion (I ⁻)	
(A2)	3-méthylthio4-phényl-1,2dithiolylium Contre ion (CH3SO4 ⁻)	
(B1)	3-méthylthio4-p .tolyl-1,2dithiolylium Contre ion(I ⁻)	
(C 1)	3-méthylthio -5p méthoxyphényl-1,2dithiolylium Contre ion(I ⁻).	

I.1 / Activités antioxydante

Pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* ; différentes méthodes ont été développées. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capable d'inhiber la génération de radicaux Parmi les quelles le test de Phosphomolybdate (test de PPM) par l'intervention d'une technique d'analyse spectrale (spectroscopie d'absorption UV-Vis notamment).

I.1.1/Principe de test de Phosphomolybdate (Test de PPM)

Ce test est basé sur la réduction du molybdate Mo (VI) en Mo (V) en présence des composés antioxydants et donc la formation d'un complexe verdâtre de (phosphate /Mo) à un pH acide. On mesure l'augmentation de coloration du complexe molybdène en présence d'antioxydant. Au cours de ce test, l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (extrait-antioxydant) vers le complexe oxydant (PPM). Ce transfert dépend du potentiel redox, du pH du milieu et de la structure du composé antioxydant [37].

I.1.2/Mode opératoire

Le test de Phosphomolybdate (PPM) a été réalisé selon la méthode décrite par Prieto et al [38] qui consiste à introduire dans un tube 0,1ml de composés dithioliques mélangés à 0,9 ml d'un réactif composé de H₂SO₄ (0,6 M), de NaH₂PO₄ (28 mM) et du molybdate d'ammonium (4 mM). Le tube a été ensuite bien fermé puis incubé à 95 °C pendant 90 minutes. Après refroidissement, l'absorbance a été mesuré à l'aide d'un Spectrophotomètre UV-Visible Scan 80 DV, à une longueur d'onde de 695 nm contre un témoin (blanc) préparé de la même manière (sauf que le composé dithiolique est remplacé par 0,1 ml d'éthanol). Nous avons utilisé l'acide ascorbique comme antioxydant standard, dont la capacité antioxydante est exprimée selon un nouveau terme appelé AEAC (Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity)

I.2/ Activités antimicrobienne

Des nombreuses maladies les plus fatales et les épidémies les plus répandues sont dues aux différents micro-organismes et sont la cause des infections nosocomiales. Pour cela des nombreux antibiotiques sont développés pour les traiter, cependant leur utilisation abusive est à l'origine de l'apparition de la multi résistance microbienne.

Dans la présente étude l'activité antimicrobienne de nos composés a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé cité par Treki *et al* [40], qui est sert à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques.

Cette étude ce fait au niveau de laboratoire de bactériologie de l'hôpital Mohamed Boudiaf Ouargla. Les milieux de cultures utilisés sont la gélose Mueller-Hinton (MH) pour les bactéries et le Sabouraud Dextrose Agar (SB) pour les levures (environ 4 mm d'épaisseur).

Les souches bactériennes et la levure testées sont représentées dans le tableau suivant:

Tableau III : Description des différentes souches microbiennes testées.

Nom de souche et Code référence	Quelques propriétés des souches testées
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Cocci à Gram positif, immobiles et disposées en amas, responsables d'infections graves communautaires et nosocomiales, d'infections des plaies, de la peau et du sang, infections urinaires, endocardites, gastro-entérites et infection pulmonaires [41].
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Bacille à Gram négatif, mobile aérobie, non capsulé. Agent pathogène opportuniste actif, provoque des infections nosocomiales, sous forme d'infections urinaires, d'infections du sang, des plaies et de l'appareil respiratoire [41].
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bacilles à gram négatifs asporules, la famille des entérobactéries d'origine fécale, anaérobie facultative et bâtonnet court responsables des infections urinaires, méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastro-entérites [42].
<i>Candida albicans</i>	Levures avec colonies grandes et rondes, vivant à l'état normal dans la bouche, le vagin et le tube digestif, responsable d'infections fongiques superficielles (le muguet, des vulvo-vaginites) et systémiques chez des individus immunodéprimés [43].

Les souches de référence suivantes: *Escherichia coli* ATCC 25922 – *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 – *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, fournies par l'Institut Pasteur d'Alger (ATCC = American Type Culture Collection). Ces bactéries sont conservées et maintenues en vie par des repiquages continus, pour assurer la survie des bactéries.

I.2.1/Mode opératoire

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi par la suite à préparer l'inoculum, des colonies bien isolées ont été transférées dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile à 0.9%, et bien homogénéiser afin d'avoir des suspensions microbiennes.

L'ensemencement se fait par la méthode d'inondation; les boîtes de pétri qui contiennent le milieu de culture MH ou le milieu SB sont inondés par un volume de la suspension microbienne puis décharger l'excès de suspension soigneusement.

Des disques de papier Wathman stériles (6 mm de diamètre) sont imprégnés des concentrations décroissantes de nos composés dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) avec une gamme de dilution allant de 100% , 70%, 50%, 30% , 10%, ,1%, et appliqués à l'aide d'une pince, sur la surface du milieu MH et SB.

Les boîtes de pétri sont incubées à l'étuve à 37°C durant 24 heures pour les bactéries et durant 48 heures pour les levures. L'activité antimicrobienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, qui se traduit par un halo translucide autour du disque, dont le diamètre est mesuré et exprimé en mm. Comme témoin positifs et négatifs on utilise l'AMIKACIN 30µg par disque et DMSO respectivement.

L'expérience est répétée trois fois pour chaque espèce microbienne afin de minimiser l'erreur expérimentale et garantir un bon déroulement de la méthode.

Dans la présent étude, nous avons adopté la détermination quantitative du degré d'activité antimicrobienne des dithiolethiones sélectionnées, et ce en déterminant la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

La CMI est définie comme étant la concentration la plus faible d'un agent antimicrobien qui inhibe la croissance visible d'un micro-organisme après l'incubation [44], [45].

I.3/ Activité anticoagulante des dithiolethiones

L'activité anticoagulante des composés dithioliques a été évaluée *in vitro* vis-à-vis les deux voies de la coagulation (la voie endogène et la voie exogène) à l'aide de deux tests globaux et chronométriques (le temps du céphaline-kaolin (TCK) et temps de Quick (TQ)).

Quatre dérivés dithioliques ont été dilués dans le DMSO pour ces tests : (C), (C1), (B1), (A2)

Tableau IV: Les composés dithioliques utilisés pour les tests TCK et TP.

Composés dithiolique	Concentration
(C) 5- p- méthoxyphényl-1,2-dithiole -3-thione	1.385mg/ml
(C1)3-méthylthio -5-p- méthoxyphényl-1,2-dithiolylium Contre ion(I)	1.385mg/ml
(B1)3-méthylthio-4-p -tolyl-1,2-dithiolylium Contre ion(I-)	1.489mg/ml
(A2)3-méthylthio-4-phényl-1,2-dithiolylium Contre ion (CH ₃ SO ₄ ⁻)	1.489mg/ml

Pour l'évaluation de l'activité anticoagulante on a utilisés les produits suivants : La Thromboplastine (BIO - TP), le tampon de reconstitution de la thromboplastine et la céphaline kaolin (BIO - CK) ont été fournis du BIOLABO SAS de France,

I.3.1 /Préparation du plasma déplaquettés

Par ponction veineuse, le sang de trois volontaires adultes sains non traités, dont les TCK et les TP sont normaux et comparables, a été prélevé dans des tubes citraté à (3,2 % de citraté de sodium) ; le sang est ensuite centrifugé pendant 3 minutes à 4000 rpm à l'aide d'une centrifugeuse de type (Rotofix 32a Hettich Zentrifugen) pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes.

L'activité anticoagulante des composés dithioliques vis à vis les deux voies de la coagulation a été évaluée selon la méthode décrite par Athukorala et ses collaborateurs avec des modifications [67].

I.3.2 / Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie exogène

Par le teste de temps de Quick ou taux de prothrombine (TP).

I.3.2.1 / Principe

Le test de Temps de Quick (TQ) permet une exploration de la voie extrinsèque de la coagulation. Le TQ converti en "taux de prothrombine" (TP) permet d'évaluer l'activité des facteurs du complexe prothrombinique en référence à un plasma normal à 100%.

Cet examen consiste à mesurer le temps que met à se former un caillot de fibrine à 37°C lorsqu'on ajoute dans le plasma un excès de thromboplastine. Normalement le caillot se forme en 11 à 13 secondes ce qui représente le temps de Quick. Le TQ explore les facteurs de la voie exogène de la coagulation: facteur VII, facteur X, facteur V, facteur II, fibrinogène [66].

Un temps de coagulation allongé par rapport à celui du contrôle négatif où l'échantillon est remplacé par le DMSO explique que les échantillons testés exercent un effet anticoagulant vis-à-vis de cette voie de coagulation.

I.3.2.2 / Mode opératoire

Un volume de 20 µL des composés dithioliques avec les concentrations illustrées dans le tableau IV, sont additionnées à 80µL du plasma standard qui est ensuite incubé à 37°C durant 15 minutes. Après l'incubation, la coagulation a été déclenchée par l'addition de 200 µL de thromboplastine ainsi le temps de coagulation est mesuré automatiquement à l'aide d'un coagulomètre de type Thrompomètre, les résultats sont exprimés par le temps de coagulation en seconde.

I.3.3 / Evaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène

Par le test de temps de céphaline Kaolin (TCK).

I.3.3 .1/Principe

L'évaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène de la coagulation a été réalisée en utilisant le test du temps de céphaline-Kaolin (TCK), un test qui permet d'explorer l'activité des facteurs plasmatiques de la voie endogène (intrinsèque) de la coagulation [66].

Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37°C d'un plasma déplaqueté et citraté mis en présence de phospholipides (la céphaline) substitut du facteur 3 plaquettaire (F3P) d'un activateur du système contact (Prékalikriène, Kininogène de haut poids moléculaire et le facteur XII) qui est généralement le Kaolin et de calcium comme un facteur déclenchant [66].

Un temps de coagulation allongé par rapport à celui du contrôle négatif où l'échantillon est remplacé par le DMSO explique que les échantillons testés exercent un effet anticoagulant vis-à-vis de cette voie de coagulation.

I.3.3 .2/Mode opératoire

Un mélange de 80 μL de plasma et 20 μL de composé dithiolique, est incubé à 37°C pendant 15 minutes, puis on ajoute 100 μL du réactif de céphaline, on réincubé le mélange 3 minutes au sein du coagulometre, suivi d'une addition de 100 μL de CaCl_2 pour la reclassification du plasma. Ainsi le temps d'incubation est mesuré à l'aide d'un coagulometre optique de type (Thrompomètre) basé sur le changement de la transmission de la lumière depuis d'addition du calcium (déclenchement du chronomètre) jusqu'à la formation du caillot de fibrine (arrêt du chronomètre), les résultats sont exprimés par le temps de coagulation en seconde (s).

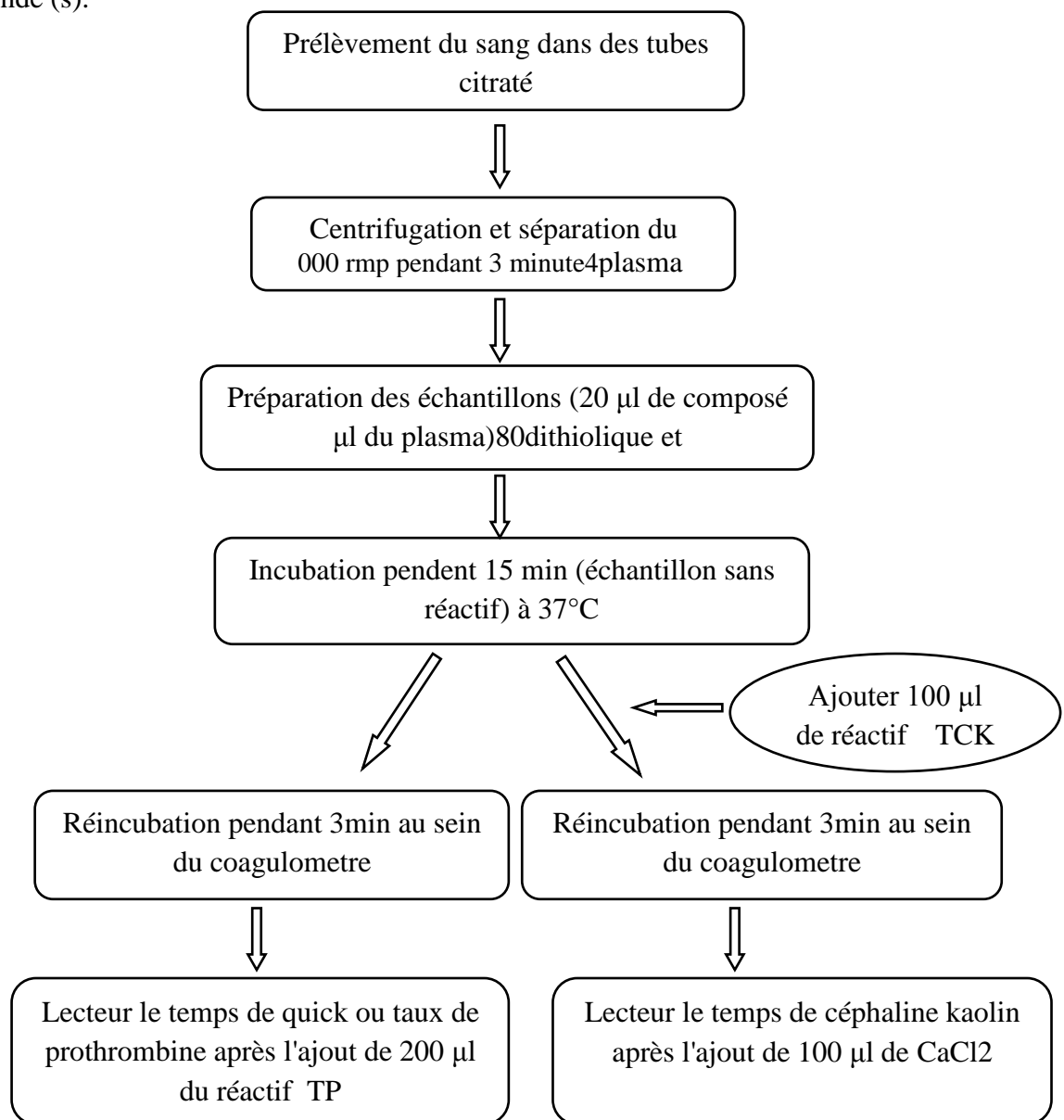


Figure 11: Les étapes des testes, TP et TCK pour déterminer l'activité des composés dithioliques.

I.4/ Activité phagocytaire

I.4.1/Principe du test

Le test de phagocytose est basé sur l'activation des cellules phagocytaires par les dithiolethiones. Cette expérience est utilisée pour déterminer l'augmentation de la capacité de leucocytes à phagocyter les particules après stimulation par les composés dithiolethione [75].

I.4.1/Préparation des solutions tampons

- Tampon phosphate saline (PBS)

Tableau V: Composition de PBS [76].

Composants	Quantité (g.l ⁻¹)
NaCl	8,0
KCl	0,2
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	2,9
KH ₂ PO ₄	0,2

Les composants sont ajoutés à 1000 ml. Après l'agitation et la dissolution de tous les composants, le pH est ajusté à 7,4. Le tampon est stérilisé à l'autoclave pendant 15 mn à une pression de 1 bar, à une température de 121°C et conservé à 25°C.

- Solution de Hanks

La solution de Hanks est préparée à pH 7,4 dans 1000ml d'eau distillée.

Tableau VI: Composition de solution Hanks [77].

Composants	Quantité (g.l ⁻¹)
CaCl ₂	0.14
NaCl	8
KCl	0,4
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	0,6
MgSO ₄ .7H ₂ O	2
KH ₂ PO ₄	0,6
Glucose	10
Rouge dephénol0,2%	0,4
NaHCO ₃	3.5

- Dans un bécher (1000ml de capacité) contenant 800ml d'eau distillée froide ajouter (1,4 g de CaCl₂, 10g de Glucose, 8g de NaCl, 4g de KCl, 2g de (MgSO₄, 7H₂O), 0.6g de KH₂ PO₄, 0.6g de (Na₂HPO₄.2H₂O), 3.5g de NaHCO₃ et 200ml de Phénol rouge 0.2% (préparé par dissolution de 0,2g de rouge de phénol dans 200 ml d'eau distillée froide). Puis remuer jusqu'à dissolution. pour avoir le BSS (Balenced Salt Solution). (BSS = pH 6,8) Puis on fait un autoclavage.
- Pour éviter les pertes de vapeur d'eau au cours de l'autoclavage on ajoute l'eau pour rendre le volume total de 1100ml .

I.4.2/Préparation du matériel biologique

- **Le sang**

Le sang d'une volontaire sain et adulte est prélevé dans un tube contenant le sodium héparine comme anticoagulant.

- **Les levures *Candida albicans***

La levure *Candida albicans* est inoculé dans un milieu liquide de Sabouraud à partir d'une culture mère maintenu sur la gélose inclinée de Sabouraud. Puis, elle est laissée pendant une nuit à 30°C. La culture est centrifugée à 400xg pendant 10mn [78].

Le culot est lavé deux fois avec 1ml de tampon PBS stérile [79].et centrifugé à 460xg à 4°C pendant 10mn, puis incubé pendant 1h à 90°C pour tuer les *C.albicans* [78].Les levures mortes sont lavées deux fois dans 1ml de PBS et centrifugé [80].

I.4.3/Préparation des composés dithioliques

L'activité phagocytaire des composés dithioliques (C), (C1), (B1) et (A2) a été évaluée *in vitro* pour étudier la capacité de la stimulation des phagocytes contre *C. albicans*, une concentration de 0.5mg.ml⁻¹ de différents composés dithioliques sont préparées dans la solution de Hanks.

I.4.4/Préparation de zymosan

Le zymosan est un dérivé de la membrane des cellules de *saccharomyces cerevisiae*, il s'agit d'un complexe de protéines et de glucides, 0.5 mg.ml⁻¹ de zymosan est préparée et utilisé comme contrôle positif pour faciliter la mesurer de l'activité phagocytaire *in vitro* [81].

I.4.5/Mode opératoire

L'activité phagocytaire ce fait au niveaux de laboratoire de hématologie de l'hôpital Mohammed Boudiaf Ouargla.

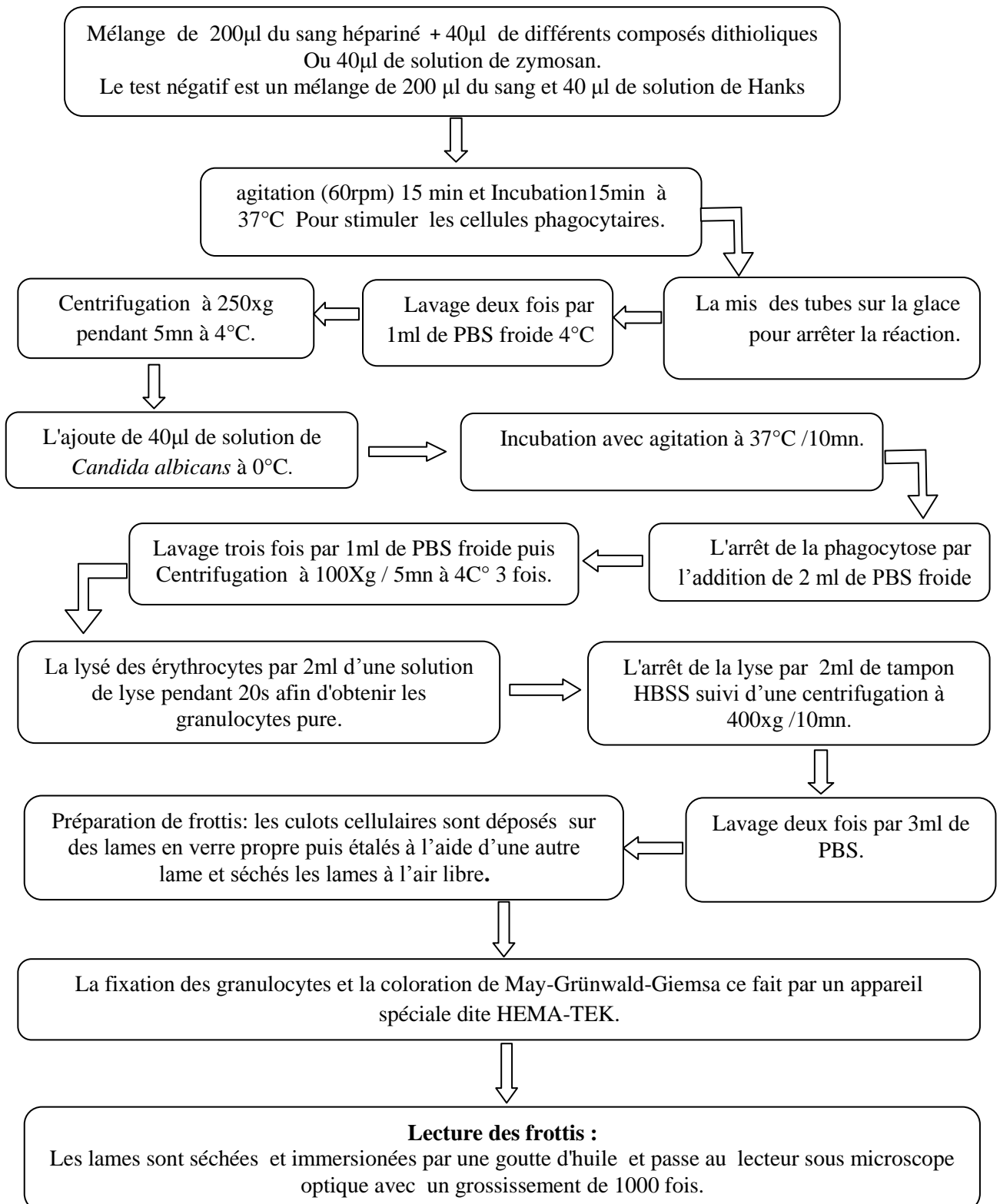


Figure 12: Etapes de tests de phagocytose *in vitro* [71]; [82].

I.4.6/Principe de la coloration

Une coloration standard utilise la méthode de May-Grünwald-Giemsa repose sur l'interaction entre l'éosine G et un complexe ADN azur B. Les deux colorants forment un complexe [83].

Les noyaux apparaissent en différents degré de coloration mauve et le cytoplasme en différents degrés en bleu, ce qui permet de différencier les structures individuelles. Le résultat de la coloration peut être influencé par divers facteurs comme le pH de la solution et de la solution tampon, les substances tampons, le temps de coloration et de fixation [83].

I.4.7/Principe de calcul de la capacité phagocytaire

Une centaine de cellules adhérentes sont comptés pour déterminer le pourcentage de la phagocytose à l'aide d'un microscope optique. Les valeurs de phagocytoses représentent le pourcentage de cellules qui contiennent des levures intériorisées [84]; [85].

La capacité phagocytaire est représentée comme suit:

$$\text{CP}\% = (\text{Nombre de cellules ingérées}/\text{Nombre totale}) \times 100\%.$$

- **CP:** Capacité de phagocytose.
- **Nombre de cellules ingérées:** les leucocytes phagocytaires de levures ou zymosan.
- **Nombre totale:** les leucocytes balayées.

I.4.8/Principe de calcul de l'activité phagocytaire

Après calcul du degré de phagocytose du contrôle positive, des dithiolethiones et du contrôle négatif. L'activité phagocytaire des dithiolethiones et celle de contrôle positive est calculé selon STEVEN *et al.* [86].comme suit:

$$\text{PA}\% = \text{CP}\% \text{ de composé testés} - \text{CP \% de contrôle négatif}$$

- **PA%:** activité phagocytaire catalysé par les composés dithioliques et du contrôle positive.
- **CP % de composé dithiolique:** capacité de phagocytose en présence des composés dithioliques ou bien le contrôle positive.
- **CP % de contrôle négatif:** capacité de phagocytose en absence des composés dithioliques ou bien le contrôle positive.

Chapitre II

Résultats et

Discussions

II. 1 / Activité antioxydant

En analyse d'activité réductrice, la présence des antioxydants dans les échantillons aurait comme conséquence de la réduction d'ions molybdate(VI) MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{3+} en donnant un électron. La quantité du complexe de Molybdène bleu Mo (V) peut être alors soit surveillée en mesurant la formation de la couleur bleu verdâtre du complexe molybdène en présence d'antioxydant à 695 nm. La croissance d'absorbance indique une augmentation des capacités réductrices.

Tous les tests ont été effectués en triple exemplaire en utilisant les programmes Origin 8 et les résultats sont présentés sous forme des courbes représentant la variation du pouvoir réducteur exprimé en absorbance en fonction de la concentration.

On a constaté que les activités réductrices de tous les dithiolethiones étudiés ont également augmentés avec l'augmentation de leurs concentrations.

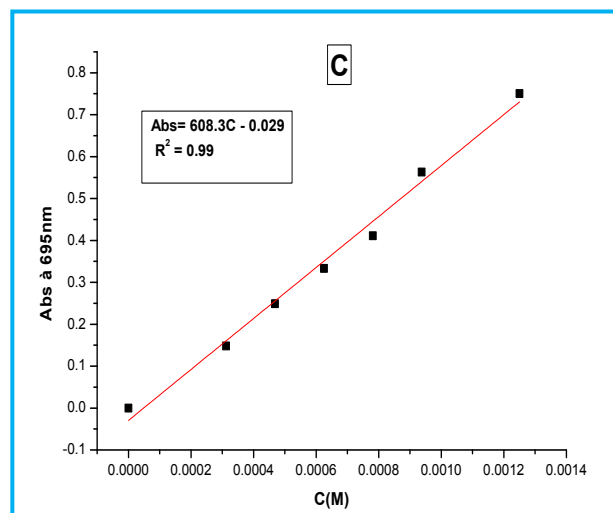


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (vitamine C)

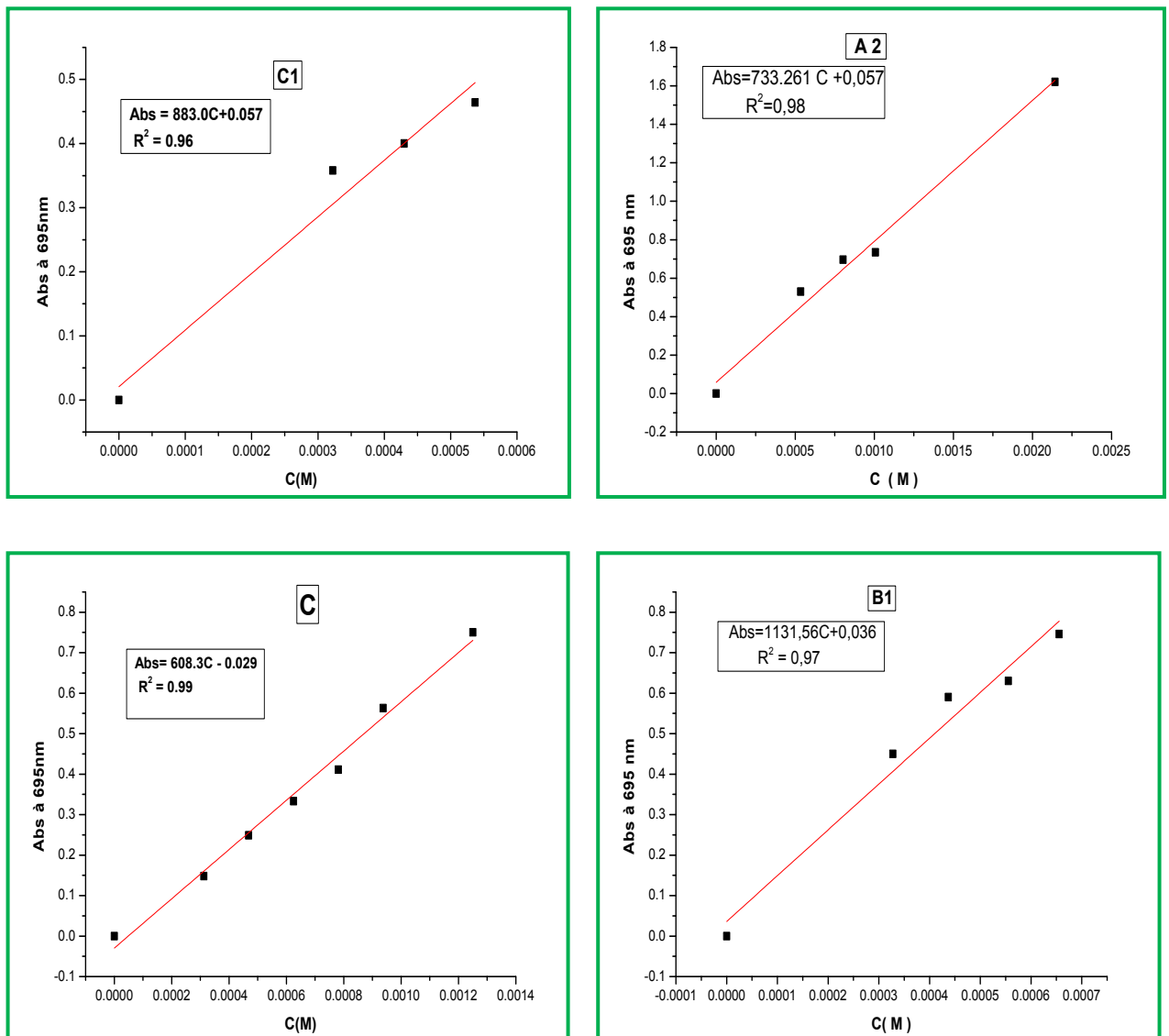


Figure 14 : Courbes représentant le pouvoir réductrice de quelques dithiolethiones étudiés.

Les différents produits dithioliques sont traités de la même façon que ceux de solution standard de l'acide ascorbique (vitamine C).

L'activité antioxydante est mesurée selon un nouveau terme appelé AEAC (Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity). On définit l'AEAC comme la concentration molaire de la solution d'acide ascorbique qui possède un pouvoir réducteur équivalent à solution de concentration 1 M de composé étudié [17].

On résume les résultats des tests du pouvoir réducteur dans le tableau VII :

Tableau VII: Les résultats de test du pouvoir réducteur (AEAC).

Échantillons	Activité antioxydante AEAC (M)
(C) le 5- p- méthoxyphényl-1,2dithiole -3-thione	1.73
(A2) 3-méthylthio4-phényl-1,2dithiolyliumContre ion (CH ₃ SO ₄ ⁻)	2.218
(B1) 3-méthylthio4-p .tolyl-1,2dithiolyliumContre ion(I-)	2.554
(C 1) 3-méthylthio -5p méthoxyphényl-1,2dithiolylium Contre ion (I-)	3.097

Nos composés ont montré une bonne activité réductrice qui était comparable à l'acide ascorbique. L'efficacité de la réduction du molybdate est directement proportionnelle à la valeur AEAC, elle est dans l'ordre croissant selon le classement suivant :

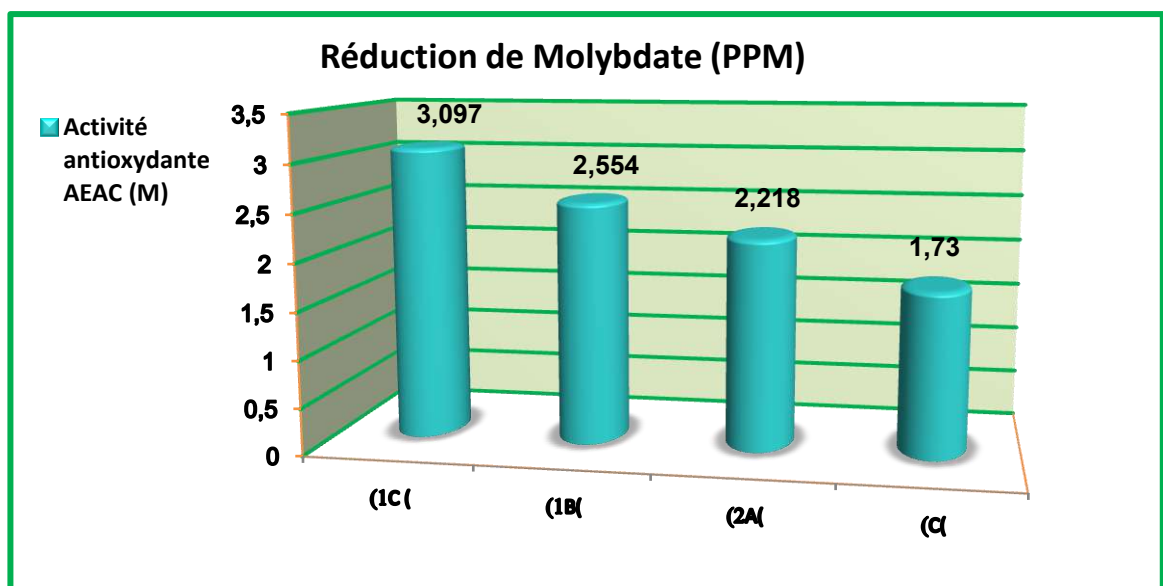


Figure 15 : Classification de la capacité réductrice selon les valeurs d'AEAC.

Les résultats obtenus dans le tableau 03 montrent que les composés étudiés possèdent une activité antioxydante très variée et les valeurs d'AEAC sont entre 1.73 M et 3.097 M.

De ces résultats, nous remarquons que 3-méthylthio-5p-méthoxyphényl-1,2-dithiolylium Contre ion (I-) (C1) possède une capacité réductrice très importante (AEAC = 3.097 M) par rapport à le 5- p- méthoxyphényl-1,2dithiole-3-thione(C) qui donne une faible activité réductrice (AEAC = 1.73 M).

On trouve que le sel de sulferlem(C1) est plus réductif que le composé neutre sulferlem (C) à cause de leur faible valeur de coefficient de partage n-octanol/eau (2.25et 3.82) pour le (C1) et (C) respectivement) ; c'est à dire leur faible hydrophobicité.

En effet, nous avons trouvé une bonne corrélation entre l'activité réductrice et le coefficient de partage octanol/eau avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,884$ (figure 16).

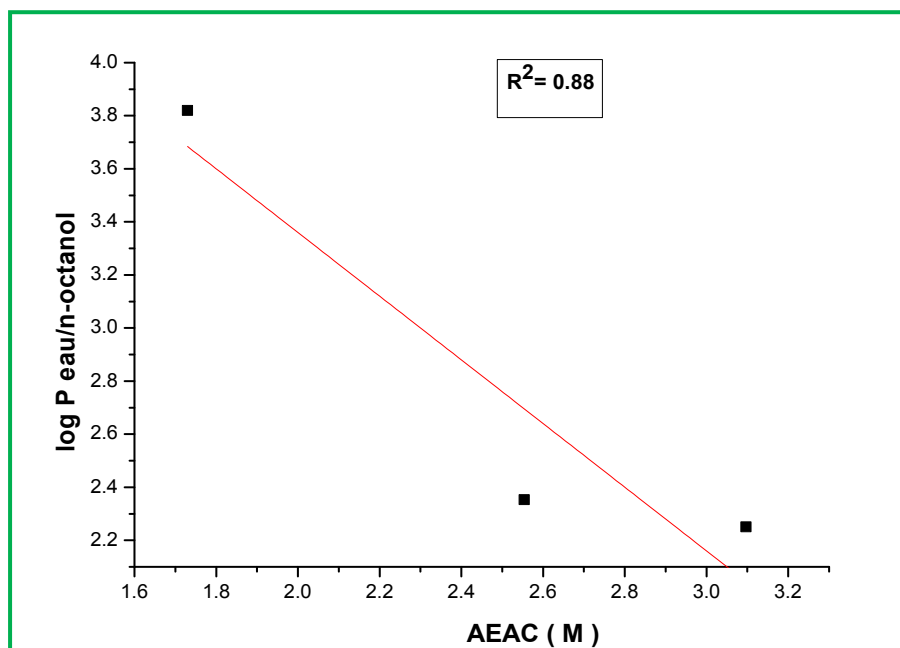


Figure 16 : La relation entre l'activité réductrice de dithiolethiones et la lipophilie.

Nous rappelons que les composés entre dans cette corrélation sont le (C), (C1) et le (B1).

De plus, nous rappelons que le coefficient de partage est le rapport de la concentration molaire d'une substance en milieu organique (comme le n-octanol) à sa concentration molaire en phase aqueuse (l'eau) ; lorsque le système biphasique est en équilibre et calculé par la relation suivante : $\text{Log } P = \log (C_{\text{octanol}}/C_{\text{H2O}})$

Remarquons que :

- si $\log P_{n\text{-octanol/eau}} > 0$, alors $C_{\text{oct}} > C_{\text{aq}}$, le composé a une tendance hydrophobe
- si $\log P_{n\text{-octanol/eau}} < 0$, alors $C_{\text{oct}} < C_{\text{aq}}$, le composé a une tendance hydrophile
- si $\log P_{n\text{-octanol/eau}} = 0$, alors $C_{\text{oct}} = C_{\text{aq}}$, le composé se répartit de manière égale entre les deux phases [17].

Tableau VIII: Les valeurs de $\log P_{n\text{-octanol/eau}}$ de dithiolethiones étudiés [17].

Échantillons	Log P n octanol/eau
(C) le 5-p-méthoxyphényl-1,2dithiole-3-thione	3.82
(C1) 3-méthylthio-5-p- méthoxyphényl-1,2dithiolylium Contre ion(I)	2.25
(B1) 3-méthylthio-4-p .tolyl-1,2dithiolylium Contre ion(I)	2.353
(A2)3-méthylthio-4-phényl-1,2dithiolylium Contre ion (CH ₃ SO ₄ ⁻)	0.45

Encore, un autre critère pris en considération pour l'activité réductrice : c'est le potentiel d'ionisation (PI). De plus le(PI) correspond à l'énergie minimale qu'il faut fournir à un atome (ou à un ion) pour arracher un électron le moins lié et s'exprime en électron-volts (eV) ou en Kilojoules par mole (kJ/mol). Plus un composé aromatique est substitué par des groupements donateurs d'électrons, plus son PI est faible et plus son caractère réducteur est élevé. Il peut alors subir une oxydation mono-électronique qui conduit au radical correspondant.

Donc, pour rechercher s'il ya une corrélation entre le potentiel d'ionisation (PI) des produits étudiés et l'activité réductive, nous utilisons les valeurs des PI des composés dithioliques qui sont trouvés dans la littérature et les valeurs de PI sont regroupées dans le tableau IX [17].

Tableau IX: Les valeurs de PI des dithiolethiones étudiés.

Échantillons	PI
(C1) 3-méthylthio -5p méthoxyphényl-1,2dithiolylium Contre ion (I)	190.064
(B1) 3-méthylthio-4-p .tolyl-1,2dithiolylium Contre ion(I)	198.919
(C) le 5- p- méthoxyphényl-1,2dithiole -3-thione	204.223
(A2)3-méthylthio-4-phényl-1,2dithiolylium Contre ion (CH ₃ SO ₄ ⁻)	209.966

Et pour cette dernier critère nous avons trouvé une moyenne corrélation entre l'activité réductrice et le potentiel d'ionisation avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,6495$ (figure 17).

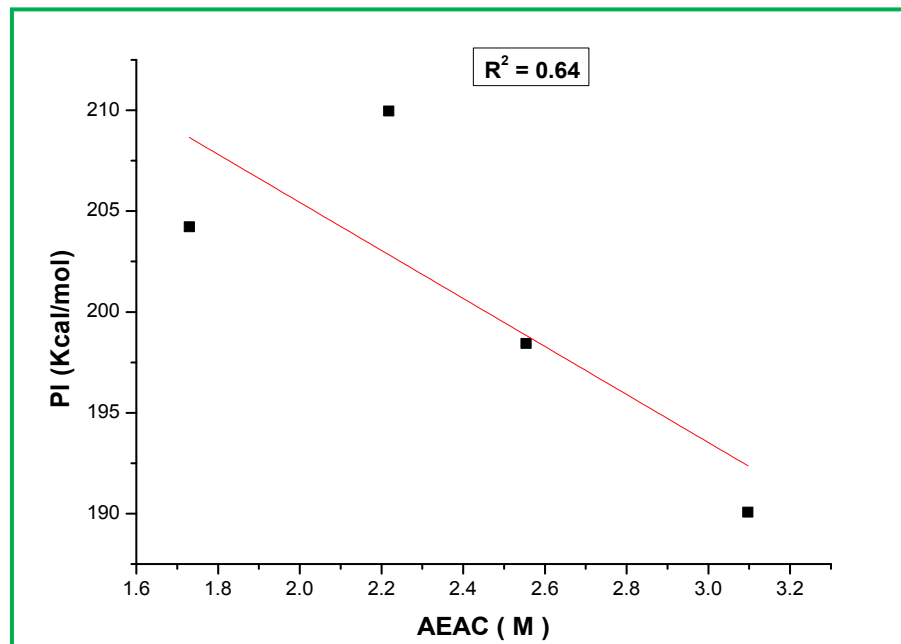


Figure 17: La relation d'AEAC avec le potentiel d'ionisation.

En conclusion, selon les corrélations AEAC vs PI et AEAC vs $\log P$, nous pouvons dire que presque tous nos dithiolethiones sont des composés réducteurs.

L'activité antioxydante observée qui serait due à leur potentiel d'ionisation pourrait expliquer l'usage de ces composés dans le traitement des affections liées à l'activité antioxydante, en particulier l'usage de dithiolethiones dans le traitement comme le sulfarlem utilisé en tant que cholérétique et sialagogue. Une étude récente a mis en évidence son effet chez l'homme dans la prévention des lésions précancéreuses du poumon chez le fumeur [39]. Dans ce travail nous remarquons généralement que les dithiolethiones sont des bonnes réductrices des ions molybdate (VI) MoO_4^{2-} .

Aussi les travaux antérieurs de RAHMANI Z . [17] indique que, les dithiolethiones qui nous avons testé sont des bonne réductrices des ions ferriques avec un AEAC de 0,770 M pour le composé (C1), des bons inhibitrices des radicaux superoxyde, des bons chélatrice des ions ferreux. En somme de cette étude *in vitro*, les différents résultats montrent, une plus grande efficacité des dérivés dithiolethiones quel que soit le test.

II.2/ Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des composés dithioliques et leurs dérivés A été testée contre les souches microbiennes : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Candida albicans*, en utilisant la méthode de diffusion par disque.

En milieu solide l'action antibactérienne des composés dithioliques testés se traduit par l'apparition de zone d'inhibition autour les disques. Le diamètre des zones d'inhibition diffère d'un microorganisme à un autre et d'une concentration à une autre.

Les moyens de mesures des zones d'inhibition en millimètre provoqués par les composés dithioliques sont représentés dans les tableaux suivants:

On a remarqué que toutes les zones d'inhibition dans ces tableaux étaient inférieures à celles de l'antibiotique de référence "amikacine", qui a montré des grandes zones d'inhibition à des concentrations très faible.

Tableau X: Diamètres des zones d'inhibition (moyenne \pm écart type) en (mm) provoqués par le composé (A) le 4-phényl-1,2- dithiole-3-thione et l'amikacine :

Souches microbienne	Concentrations de composé (A) avec 100% (2.04mg/ml)						
	100%	70%	50%	30%	10%	1%	Amikacin 30 μ g
<i>S. aureus</i>	11 \pm 0	9.5 \pm 0.7	11 \pm 1.41	9 \pm 0	8.5 \pm 2.12	0 \pm 0	18
<i>P. aeruginosa</i>	4 \pm 5.65	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	17
<i>E. coli</i>	11 \pm 1.41	9.5 \pm 0.7	11 \pm 1.41	8.5 \pm 0.7	7 \pm 0	0 \pm 0	22
<i>Candida albicans</i>	11.5 \pm 2.1	10 \pm 1.41	9.5 \pm 0.7	10 \pm 1.41	9 \pm 1.41	0 \pm 0	NT

Les résultats obtenus de l'activité antimicrobienne de composé (A) (le 4-phényl-1,2-dithiole-3-thione) indiquent que la levure *Candida albicans* est la plus sensible avec des zones d'inhibition de 9 à 11.5 mm, suivie par *S. aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922 avec des zones d'inhibition de 9 à 11 mm et de 7 à 11mm respectivement. Par contre *P. aeruginosa* ATCC 27853 présente une sensibilité faible (4mm) contre le composé (A).

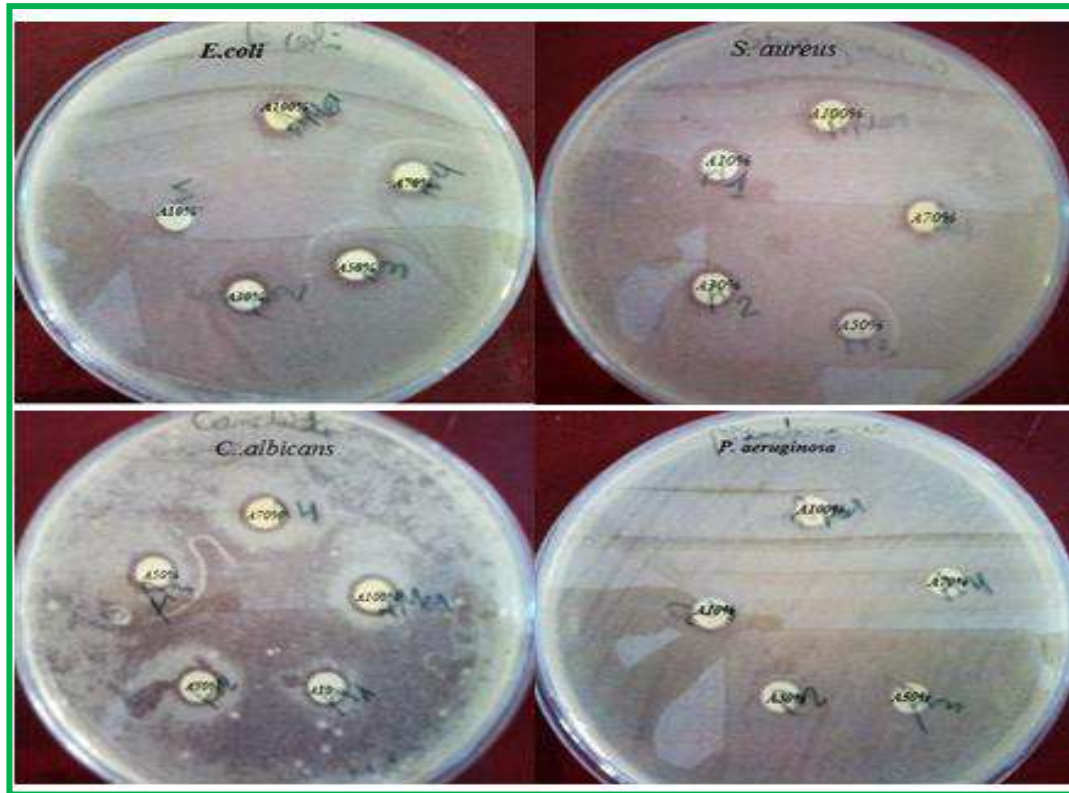


Figure 18 : Effet de (A) le 4-phényl-1,2- dithiole-3-thione sur les souches pathogènes testées.

Tableau XI: Diamètres des zones d'inhibition (moyenne \pm écart type) en (mm) provoqués par le composé (B) le 4-p-tolyl-1,2-dithiole-3-thione:

Souches microbienne	Concentration de composé(B) avec 100% (4.39mg/ml)						
	100%	70%	50%	30%	10%	1%	Amikacin 30 μ g
<i>S. aureus</i>	9 \pm 0	9.5 \pm 0.7	9 \pm 0	9 \pm 1.41	9.5 \pm 0.7	0 \pm 0	18
<i>P. aeruginosa</i>	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	17
<i>E.coli</i>	10.5 \pm 2.1	11 \pm 1.4	10 \pm 1.4	11 \pm 0	11 \pm 1.41	0 \pm 0	22
<i>Candida albicans</i>	12 \pm 2.8	11 \pm 1.4	9.5 \pm 2.1	12.5 \pm 0.7	9.5 \pm 0.7	0 \pm 0	ND

L'activité antimicrobienne de composé (B) (le 4-p-tolyl-1,2-dithiole-3-thione) indique que la levure *Candida albicans* est la plus sensible avec des zones d'inhibition de 9.5 à 12.5 mm, suivie par *Escherichia coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 25923 avec des zones d'inhibitions de 10 à 11mm et de 9 à 9.5mm respectivement. Par contre *P. aeruginosa* ATCC 27853 est résistant contre le composé (B).

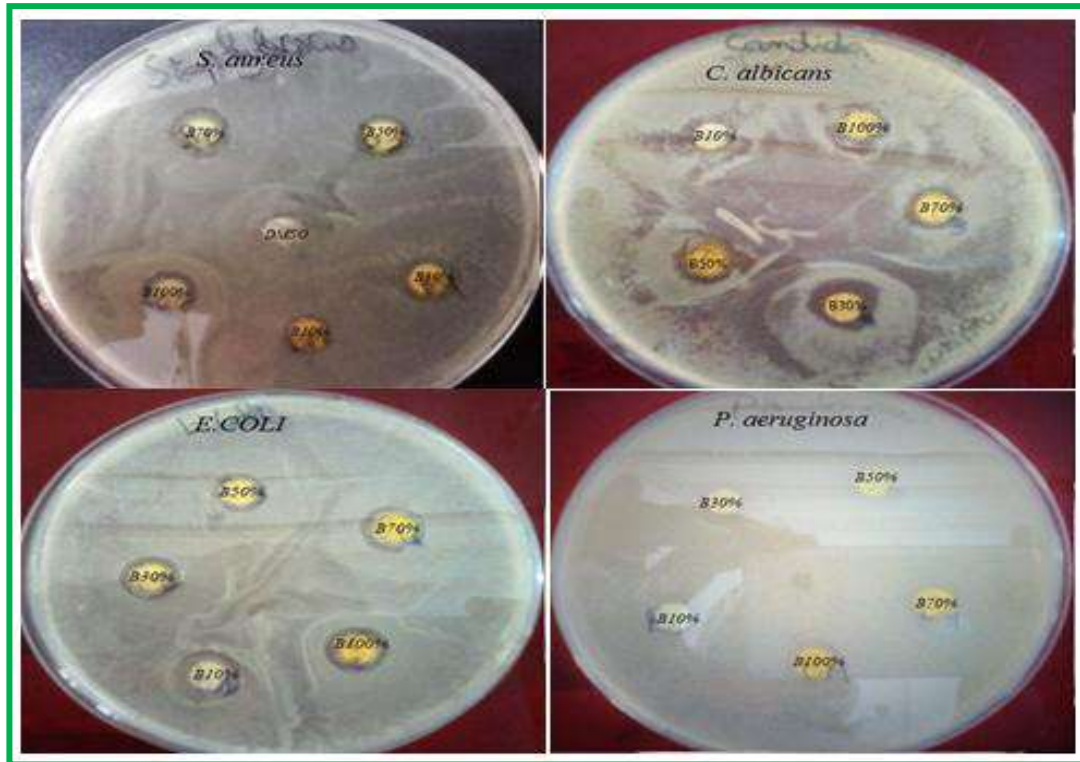


Figure 19 : Effet de (B) le 4-p-tolyl-1,2-dithiole-3-thione sur les souches pathogènes testées.

Tableau XII: Diamètres des zones d'inhibition (moyenne \pm écart type) en (mm) provoqués par le composé (C) 5- p- méthoxyphényl-1,2-dithiole -3-thione :

Souches microbienne	Concentration de composé (C) avec 100% (2.77mg/ml)							Amikacin 30 μ g
	100%	70%	50%	30%	10%	1%		
<i>S. aureus</i>	11 \pm 1.4	10.5 \pm 0.7	12 \pm 1.4	10.5 \pm 0.7	10 \pm 1.4	0 \pm 0	18	
<i>P. aeruginosa</i>	8 \pm 1.41	3.5 \pm 4.9	4 \pm 5.6	4 \pm 5.6	4.5 \pm 6.3	0 \pm 0	17	
<i>E. coli</i>	11 \pm 0	10 \pm 1.4	5.5 \pm 7.5	6 \pm 8.4	11 \pm 0	0 \pm 0	22	
<i>Candida albicans</i>	14.5 \pm 0.7	12 \pm 4.2	12.5 \pm 3.5	11 \pm 1.4	14.5 \pm 6.3	0 \pm 0	ND	

Concernant l'activité antimicrobienne de composé (C) (le 5- p- méthoxyphényl-1,2-dithiole -3-thione) la levure *Candida albicans* est le germe la plus sensible avec des zones d'inhibitions maximum de 11 à 14.5 mm, suivie par *S. aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25922 avec des zone d'inhibition de 10 à 12 mm, et de 5.5 à 11 mm respectivement. *P.aeruginosa* est germe le moins sensible avec des zones d'inhibition de 3.5 à 8 mm.

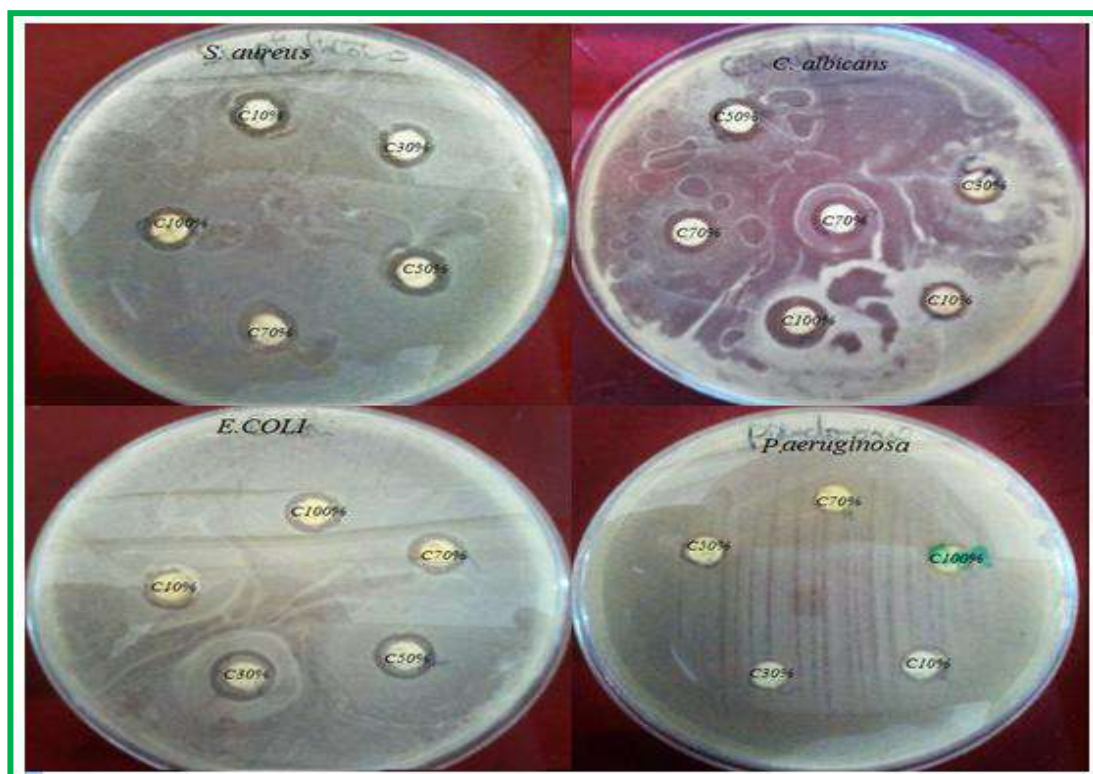


Figure 20 : Effet de (C) 5- p- méthoxyphényl-1,2-dithiole -3-thione sur les souches pathogènes testées.

Tableau XIII : Diamètres des zones d'inhibition (moyenne \pm écart type) en (mm) provoqués par le composé (A1) le 3-méthylthio4-phényl-1,2dithiolylium Contre ion (I).

Souches microbienne	Concentration de composé (A1) par 100% (2.04mg/ml)						Amikacin 30 μ g
	100%	70%	50%	30%	10%	1%	
<i>S. aureus</i>	11 \pm 1.4	11 \pm 4.2	11 \pm 1.4	9.5 \pm 0.7	9.5 \pm 0.7	0 \pm 0	18
<i>P. aeruginosa</i>	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	17
<i>E. coli</i>	12 \pm 0	12 \pm 2.8	10.5 \pm 2.1	8 \pm 1.4	8 \pm 1.4	0 \pm 0	22
<i>Candida albicans</i>	12.5 \pm 0.7	13.5 \pm 2.1	11.5 \pm 0.7	13 \pm 2.8	13 \pm 0	0 \pm 0	ND

Les résultats obtenus concernant l'activité antimicrobienne de composé (A1) indique que *Candida albicans* a été le micro-organisme le plus sensible avec des zones d'inhibitions de 11.5 à 13.5 mm, Suivie par *Escherichia coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 25923 avec des zones d'inhibitions de 8 à 12mm et de 9.5 à 11 mm respectivement. Par contre la souche la plus résistante contre le composé (A1) est la *P. aeruginosa* ATCC 27853.

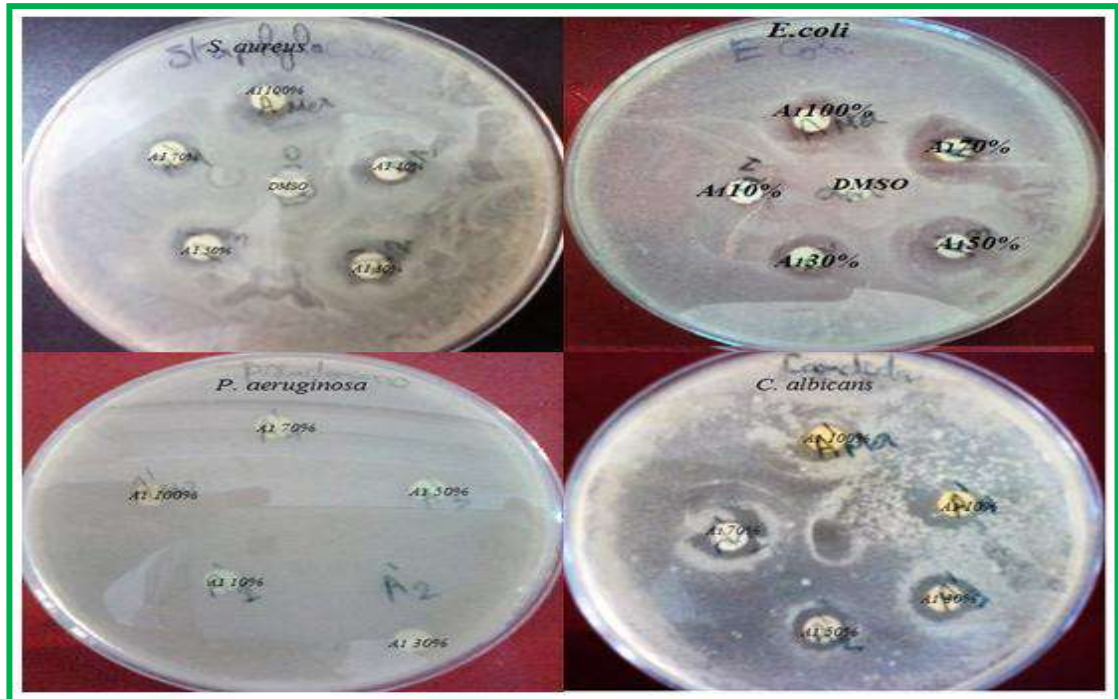


Figure 21 : Effet de (A1) le 3-méthylthio4-phényl-1,2-dithiolylium Contre ion (I⁻) sur les souches pathogènes testées.

Tableau XIV : Diamètres des zones d'inhibition (moyenne ±écart type) en (mm) provoqués par le composé (A2) le 3-méthylthio4-phényl-1,2-dithiolylium Contre ion (CH₃SO₄⁻) :

Souches microbienne	Concentration de composé (A2) avec 100% (4.96mg/ml)						
	100%	70%	50%	30%	10%	1%	Amikacin 30 µg
<i>S. aureus</i>	14.5±4.9	10.5± 0.7	10± 0	10.5± 0.7	11.5± 3.3	0 ±0	18
<i>P. aeruginosa</i>	0 ±0	0 ±0	0 ±0	0 ±0	0 ±0	0 ±0	17
<i>E.coli</i>	13.5± 3.5	12± 1.4	10± 1.4	11± 1.4	9.5 ± 0.7	0 ±0	22
<i>Candida albicans</i>	13 ± 4.2	12 ± 0	13 ±1.4	12 ±2.8	13.5 ±2.1	0 ±0	ND

D'après les résultats de ce tableau nous avons constaté que la bactérie gram positive (*S. aureus* ATCC 25923) est sensible à la composé (A2) (le 3-méthylthio4-phényl-1,2dithiolylium Contre ion (CH₃SO₄⁻)) avec une zone d'inhibition maximal de 10 à 14.5mm, Suivie par *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Candida albicans* avec des zones d'inhibition de 9.5 à 13.5mm et de 12à13.5 respectivement, par contre la souche la plus résistant contre le composé (A2) est la *P. aeruginosa* ATCC 27853.

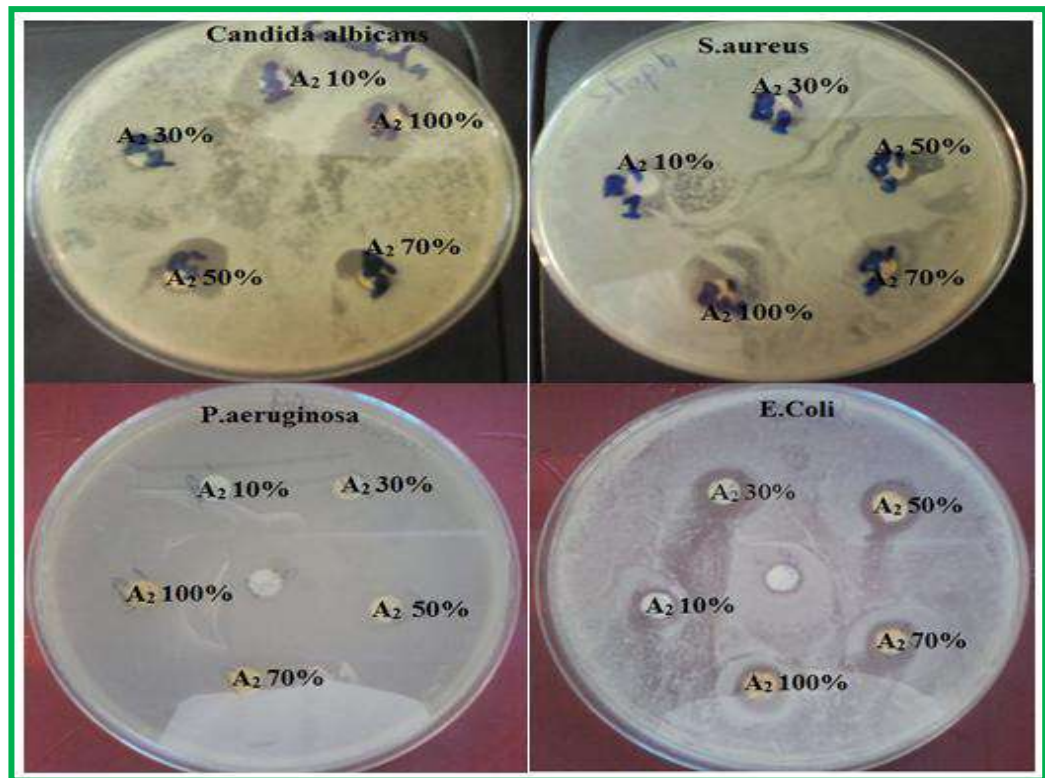


Figure 22 : Effet de (A2) le 3-méthylthio4-phényl-1,2-dithiolylium Contre ion (CH_3SO_4^-) sur les souches pathogènes testées.

Aussi les résultats obtenus avec la dilution 10% aide à déterminer la corrélation entre l'effet antimicrobienne des composés dithioliques testés et le coefficient de partage de ces dernier.

Tableau XV: Diamètres des zones d'inhibition (moyenne \pm écart type) en (mm) provoqués par les composés dithioliques:

Souches microbienne	Diamètres d'inhibitions (mm)					
	(A) 10%	(A1) 10%	(A2) 10%	(B) 10%	(C) 10%	Amkacine 30 μg
<i>S. aureus</i>	8.5 \pm 2.1	9.5 \pm 0.7	11.5 \pm 3.3	9 \pm 1.41	10 \pm 1.4	18
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	4.5 \pm 6.3	17
<i>E.coli</i>	7 \pm 0	8 \pm 1.4	9.5 \pm 0.7	11 \pm 1.41	11 \pm 0	22
<i>Candida albicans</i>	9 \pm 1.4	13 \pm 0	13.5 \pm 2.1	9.5 \pm 0.7	14.5 \pm 6.3	ND

les résultats dans ce tableau montrent que la levure *Candida albicans* est la plus sensible contre tous les composés dithioliques testés suivi par la bactéries Gram positive, mais les bactéries gram négative présentent une résistance plus remarquable chez le *P. aeruginosa* que chez l'*E.coli*.

Les composés dithioliques (A), (A1), (A2), (B) et le composé (C) sont testés contre une série de microorganismes et les résultats montrent clairement l'effet antimicrobien de ces composés sur toutes les souches testés, mais avec des diamètres d'inhibition différents.

Dans la littérature consultée, aucune étude sur l'activité antimicrobienne des dithiolethiones n'a été abordée. Mais plusieurs études sur les activités biologiques des autres analogues des composés dithioliques (ont des structures voisins) ont été réalisées, montre que les 1,2-dithiole-3-thiones ont été considérés comme des inhibiteurs bactériens puissants de l'enzyme Fab h de l'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* [8]. A titre d'exemple, l'Oltipraz a un effet antimicrobien très important sur la *Borrelia burgdorferi* qu'est bactérie à gram négative avec un CMI de 0.71 µg/ml [46].

Dans cette étude, nous avons constaté que le coefficient de partage log *P*, est important pour l'activité antimicrobienne. En effet nous avons trouvé une bonne corrélation entre cette activité et le coefficient de partage octanol/eau des composés testés avec des coefficients de détermination $R^2 = 0,84$ chez notre composés avec le *Candida albicans* et $R^2 = 0,76$ avec les *S. aureus* (les composés entre dans cette corrélation sont le (A), (A1), (A2) et (B)).

Une moyenne corrélation trouvée entre nos composés et les bactéries *E.Coli* et *P. aeruginosa* avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,43$ et $R^2 = 0,42$ respectivement (les composés entrés dans cette corrélation sont les: (A1), (A2), (B) et (C) pour l'*E. Coli* et le (A), (A1), (A2) et (C) pour *P. aeruginosa*). (figures 23)

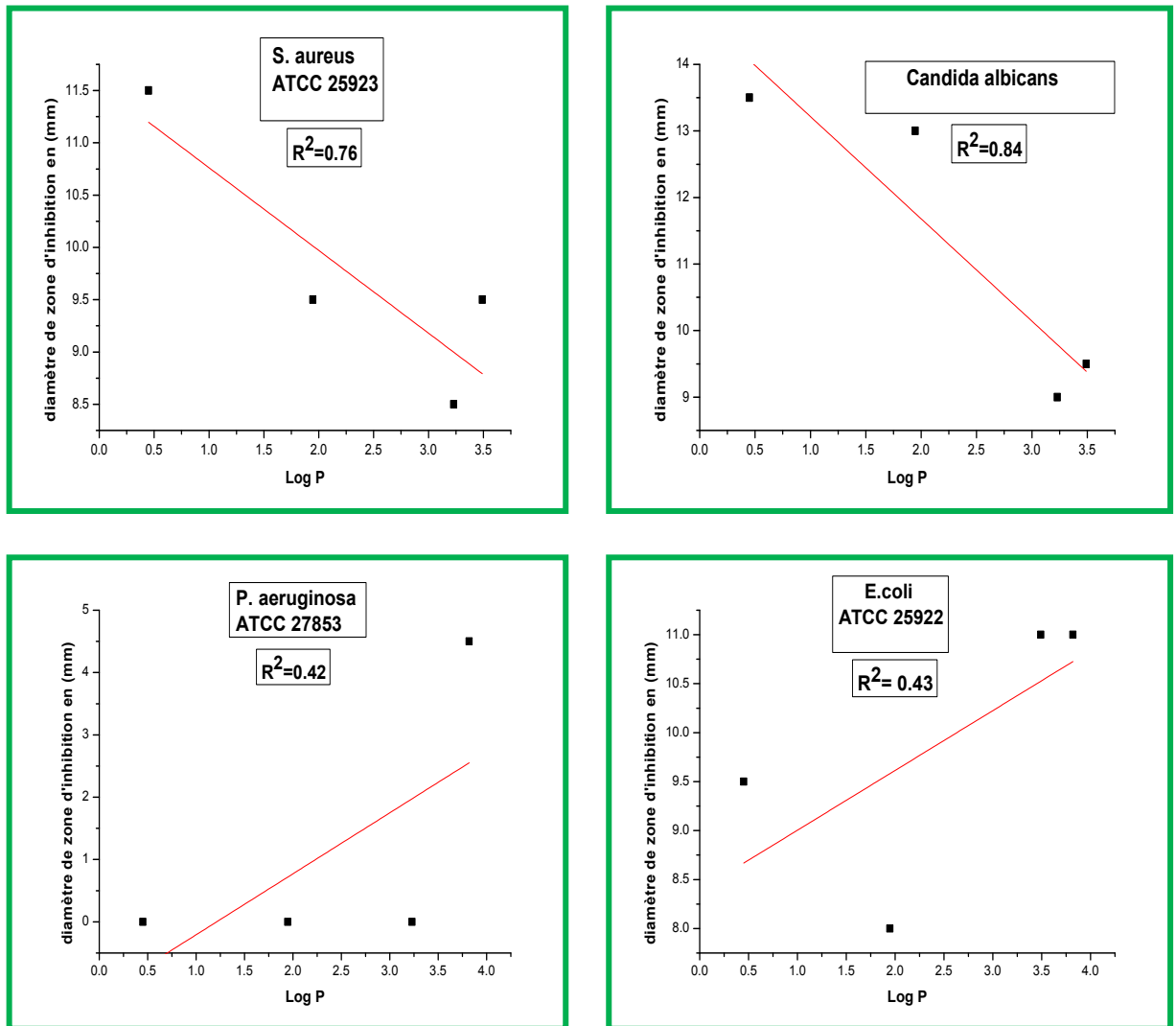


Figure 23: La relation entre l'activité antimicrobienne de dithiolethiones et la lipophilie.

D'après la comparaison entre ces corrélations, nous suggérons que l'effet antimicrobien obtenu de nos composés dithioliques est due en particulier à leur propriété hydrophobe (la lipophilie) qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane bactérienne. Qui peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K^+).

Aussi le mode d'action des composés dithioliques dépend sur le type de micro-organisme ; Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) [47], [57], Ceci peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram (-) et Gram (+). Les bactéries Gram (-), indépendamment de la membrane des cellules, possèdent une couche additionnelle dans la membrane externe, qui se

compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharides, cette membrane est imperméable à la plupart des molécules.

Pour comparer la relation structure-activité entre les cinq dérivés dithioliques testées entre eux. l'histogramme suivant represent les moyens des mesures des zones d'inhibition en mm provoqués par ces cinq dérivés à des concentrations proches .

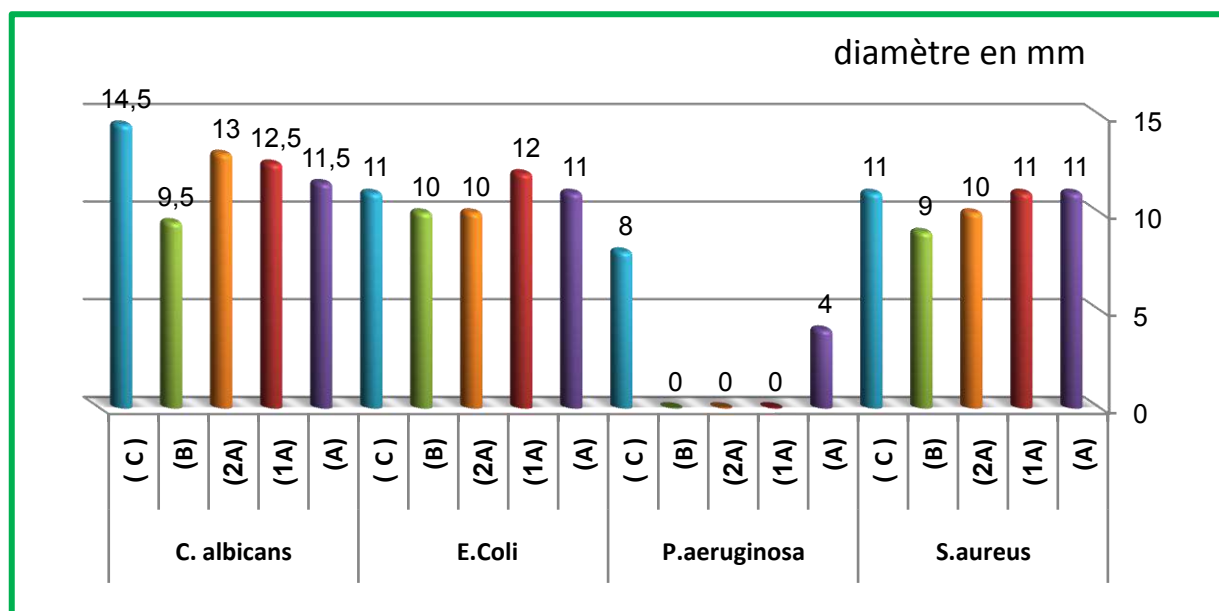


Figure 24: Activité antimicrobienne des composés dithioliques : (A), (B), (C) (A1) et le composés (A2).

D'après l'histogramme illustré au dessus ; le composé le plus actif est le 5- p-méthoxyphényl-1,2-dithiole -3-thione (C) qui possède les plus grandes zones d'inhibition entre (08 et 14.5mm) observés parmi toutes les souches microbiennes. Suivie par le 3-méthylthio4- phényle -1,2-dithiolylium Contre ion (CH_3SO_4^-) (A2) qui montre des zones d'inhibition entre (10 et 13mm) et le 3-méthylthio-4-phényl-1,2-dithiolylium Contre ion (I) (A1) avec des zones d'inhibition entre (11et 12.5mm) puis le 4-phényl-1,2- dithiole-3-thione(A) avec des zones d'inhibitions (4 et 11.5mm). la plus faible activité est observés chez le 4-p-tolyl-1,2-dithiole-3-thione (B) avec un zones d'inhibition compris entre (9 et 10mm) .

Nous suggérons que la variation de l'activité antimicrobienne des composés dithioliques entre elle, peut-être expliqués par la variation de leurs composants actifs. A titre d'exemple, le 5- p- méthoxyphényl-1,2-dithiole -3-thione (C) a montré une activité biologique non négligeable. C'est probablement le résultat de la présence de l'anéthol (méthoxyphényl) qui est connu pour son activité antimicrobienne [48].

Aussi le 3-méthylthio4-phényl-1,2dithiolylium Contre ion (I) (A1) leur activité peut-être expliqués par la présence de l'iode, qui est concéderés comme un antiseptique classique capable de pénétre dans la paroi microbienne pour complexer aux acides aminés et les acides gras insaturés et induire un blocage de la synthèse protéique [49].

Détermination de la concentration minimale inhibitrice des souches pathogènes

Tableau XVI : Résultats de la concentration minimal inhibitrice des composés dithioliques.

Souches microbienne	CMI				
	(A)	(A1)	(A2)	(B)	(C)
<i>S. aureus</i>	0.204	0.204	0.496	0.439	0.277
<i>P. aeruginosa</i>	2.04	-	-	-	0.277
<i>E.coli</i>	0.204	0.204	0.496	0.439	0.277
<i>Candida albicans</i>	0.204	0.204	0.496	0.439	0.277

Les valeurs de CMI sont données en mg /ml, (-): pas d'effet.

La CMI a été déterminée pour les différentes souches microbiennes (Tableau XVI):

Chaque produit possède la même CMI qui est la dilution 10% pour les souches de *S. aureus*, *E. coli*, *C.albicans* (A =0.204 mg/ml, A2=0.496 mg/ml, B=0.439 mg/ml et C=0.277 mg/ml.), la *P.aeruginosa* est révélé comme une souche résistante pour tous les composés sauf les composés (A) et (C) avec des valeurs de CMI de 2.04 mg/ml et 0.277 mg/ml respectivement.

D'après les diamètres des zones d'inhibition obtenus, on peut classier les composés dithioliques selon la classification montrer par [50]: non sensible (-) pour le diamètre moins de 8 mm ; sensible (+) pour diamètre entre 9-14 mm ; très sensible (++) pour un diamètre entre 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm.

Alors, la *S. aureus* est sensible pour tous les produits 1.2-dithioliques avec des diamètres des zone d'inhibition (A1=9.5, A2=11.5, B=9.5, C=10mm) sauf le produits (A) .elle ne lui présent aucun sensibilité ; la *P.aeruginosa* est nettement non sensible pour tous les composés dithioliques. *E. coli*, est sensible (+) pour tous les produits 1.2-dithioliques avec les

diamètres (A2=9.5, B=11, C=11mm) sauf les composés (A et A1) ils ne lui présentent aucun sensibilité.

Concernant la *C.albicans*; est sensible pour tous les composé dithioliques avec des zones d'inhibition supérieur de 9mm.

D'après cette recherche, les composés dithioliques réagissent positivement sur tous les souches microbiennes testées donc ils possèdent une activité antimicrobienne remarquables ; même conclusion décrits dans la littérature [51], pour les activités antimicrobiennes des autres composé dithioliques montré que les 1,2- dithiole-3-thiones, sont très intéressants car ils sont constitués des composés qui pourraient peut se comporter comme le disulfure, le sulfure, ou la fonction thiol dans sa activité. Les composés sont fongicides contre *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae*.

II.3/ Activité anticoagulante

Le pouvoir anticoagulant des composés dithioliques a été évalué *in vitro* vis-à-vis de la voie endogène et la voie exogène de la coagulation à l'aide de deux tests chronométriques, le TCK et le TQ respectivement. Les résultats sont illustrés dans le tableau suivant.

Tableau XVII : Capacité anticoagulante des composés dithioliques par temps de céphaline kaolin (TCK).

Les échantillons	temps de céphaline kaolin (TCK) en (s)
Témoin normale	28
Composé (C)	60.5
Composé(C1)	48.8
Composé (A2)	53.4
Composé(B1)	56.9
Contrôle positif (+) Héparine	Dépasse 600
Contrôle négatif (-) DMSO	38.2

Les résultats obtenus dans le tableau XVII montrent que le témoin négatif (DMSO) a un temps de céphaline kaolin (38.2s) ce temps est faible par rapport aux composés dithioliques, le composé (C) possède un temps de coagulation le plus élevé 60.5 s suivi par: le composé (B1) 56.9 s ,le composé (A2) 53.4 s et en fin le composé (C1) 48.8 s.

Tous les composés dithioliques montrent un temps de TCK presque deux fois plus élevés par rapport au témoin normal (28s). Tandis que l'héparine, contrôle positif, donne un temps de coagulation supérieure à 600 sec.

Tableau XVIII: Capacité anticoagulante des composés dithioliques par taux de prothrombine (TP).

Les échantillons	Temps de Quick en (s)	Taux de prothrombine en (%)
Témoins normal	11.5	100%
Composé (C)	33.05 ±2.05	14.95±3.04
Composé (C1)	28.6 ± 0.42	18.15±2.05
Composé (A2)	31.15 ± 1.76	18.60±0.42
Composé (B1)	30.1 ± 0	16.95±1.76
Contrôle positif Héparine	Dépasse 600	ND
Contrôle négatif (DMSO)	15	-

Les résultats obtenus dans le tableau XVIII montrent que le témoin négatif (DMSO) a un effet anticoagulant négligeable avec un temps de coagulation (15 s) et la différence entre l'effet de nos composés avec le contrôle négatif est importante. le composé (C) montre le plus grand temps de coagulation 33.05 s .suivi par les composés (A2),(B1),(C1) qui donnent les temps 31.15 s,30.1 s,28.6 s, respectivement.

Le témoin normale donne un temps de quick 11.5s, il est tellement faible par rapport aux composés dithioliques. Alors que l'héparine (contrôle positif), donne un temps de coagulation supérieure à 600 seconde .

On remarque que le taux de prothrombine de témoins normale est 100%, mais les taux de prothrombines induisent par les composés dithioliques sont très faibles, varies de 14.95% à 18.60%. Alors, on suggère que les composés dithioliques agissent sur les facteurs de coagulation spécifiquement le complexe prothrombinique.

L'histogramme illustré dans la figure (25) suivant montre le temps de TCK et de TP pour tous les échantillons étudiés :

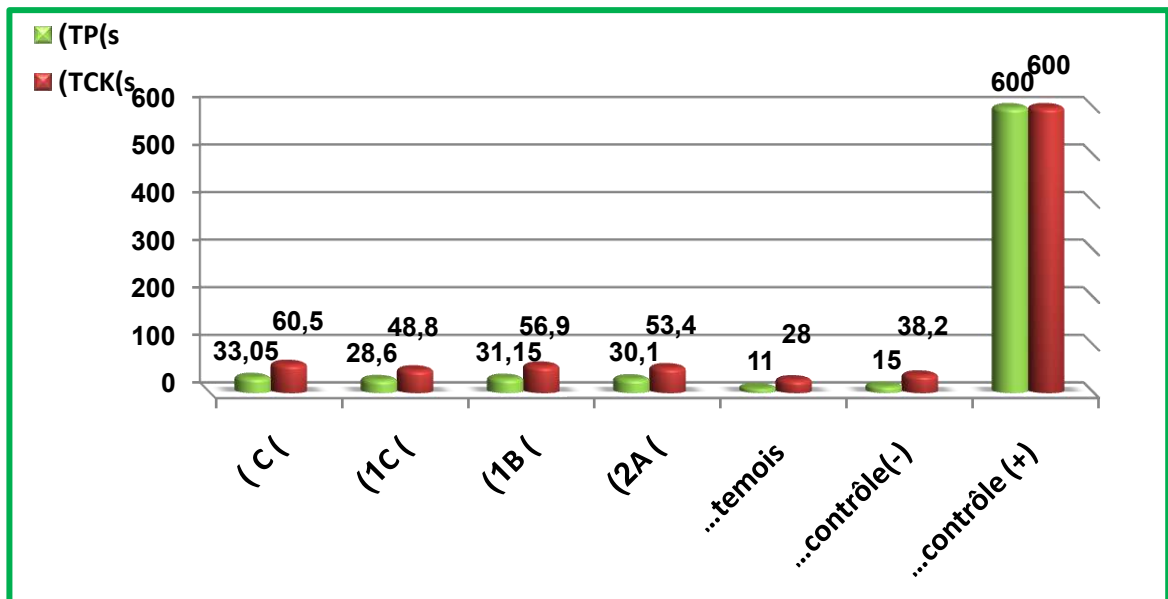


Figure 25: les valeurs de TP et TCK des composés dithioliques étudiés.

L'histogramme ci-dessus montre que les composés dithioliques sont capables d'allonger clairement le temps de Quick et le temps de céphalin kaolin par rapport aux témoins normaux. En revanche tous les composés dithioliques ont un effet anticoagulant moindre que celui de l'héparine (Anticoagulant commerciale) dont le temps de coagulation dépasse 600s.

Alors, les deux tests chronométriques le TCK et le TQ démontrent que ces dérivés exercent une activité anticoagulante importante vis-à-vis des deux voies de la coagulation, mais cette activité est plus remarquée vis-à-vis de la voie endogène que la voie exogène de la coagulation.

Nous remarquons que le composé neutre 5- p- méthoxyphényl-1,2-dithiole -3-thione (C) donne une activité anticoagulante très important contre les deux voies de coagulation par rapport aux autres composés, cette remarque s'explique par la présence de l'anéthol dans la structure de sulferlem (C). Des études similaires publier par TOGNOLINI et al [68] montre que l'anéthole possède des propriétés antiplaquettaires et la capacité à déstabiliser la rétraction du coagulum. Ainsi, l'anéthol, testé dans le plasma de porc diminué la surface du caillot fibrineux dans un plasma activé par la thrombine.

II.4 /Activité phagocytaire

L'activité phagocytaire des dérivés dithioliques, a été testée sur des leucocytes humains isolés à partir du sang total.

L'action immunomodulatrice des composés dithioliques testées dans cette activité ; se traduit par les valeurs de la capacité phagocytaire qui se transféré par calcule en activité phagocytaire.

Tableau XIX : Les valeurs de la capacité phagocytaire des composés dithioliques

Fraction	Capacité phagocytaire %
(C) 5- p- méthoxyphényl-1,2-dithiole -3-thione	47
(C1) 3-méthylthio -5p méthoxyphényl-1,2dithiolylium Contre ion (I-)	64
(B1) 3-méthylthio4-p .tolyl-1,2dithiolylium Contre ion(I-)	70
(A2) 3-méthylthio4-phényl-1,2dithiolylium Contre ion (CH ₃ SO ₄ ⁻)	50
Contrôle négatif	18
Contrôle positif	81

Les résultats cités dans le tableau XIX, montre que les valeurs des capacités phagocytaires des leucocytes sont remarquables et sont situées entre 47% pour le composé (C) et 70 % pour le composé (B1) ces valeurs sont supérieure à celle de contrôle négatif qui donne une capacité phagocytaire de 18%. En effet, le contrôle positif signale une forte capacité phagocytaire soit 81%.

Aussi la capacité phagocytaire des ces composés peut convertir en activité phagocytaire où on a suivant la formule (**PA% = CP% de composé testés - CP % de contrôle négatif**) selon STEVEN *et al* [86]. L'activité phagocytaire est exprimée en histogramme dans la figure 26.

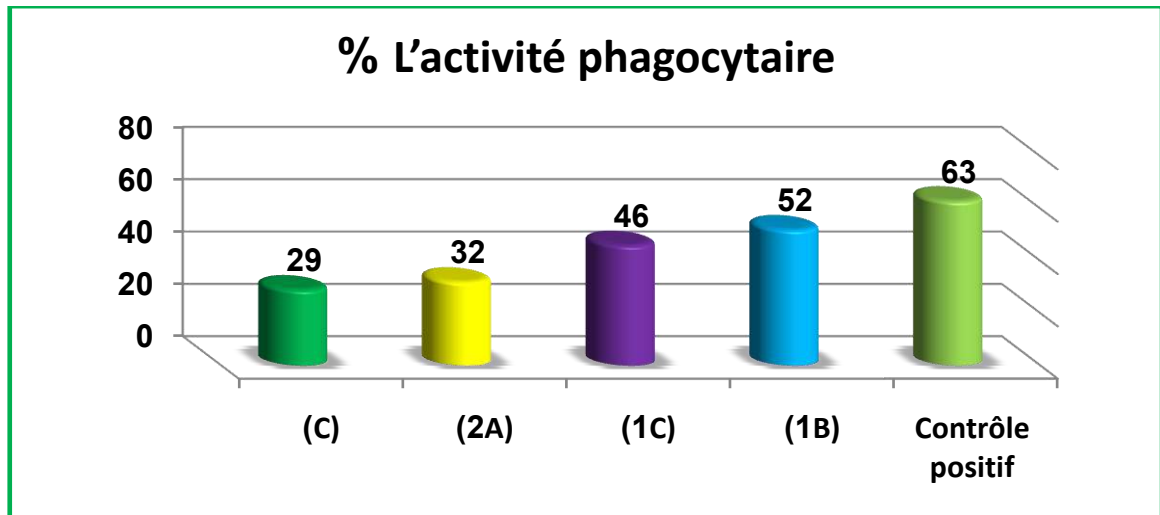


Figure 26 : Activité phagocytaire des composés Dithioliques.

À partir des résultats représentés dans l'histogramme de figure (26) les composés dithioliques testés présentent des activités phagocytaires remarquables et plus intéressantes dont le composé (B1) présente la plus grande activité suivi par les composés (C1), (A2) et (C) avec des valeurs de 52% , 46%, 32% et 29% respectivement et qui restent toujours inférieures à celle de zymosan (contrôle positif) 63 %.

En comparaison avec le contrôle négatif, tous les composés dithioliques pourraient améliorer la phagocytose des leucocytes. Nous suggérons que cette amélioration peut être due à la présence des groupements actifs comme les fonctions thioniques qui est présente chez tous les composés étudiés.

D'après TOOKEY, le Sulforaphane est un composé organosoufré qui existe dans les légumes crucifères et comme tous les dithiolethiones le Sulforaphane contient des fonctions thioniques dans sa structure [87].

THEJASS et *al* , indiquent que l'administration de Sulforaphane a augmenté de manière significative l'activité phagocytaire des macrophages. Et participe dans la stimulation de la prolifération des monocytes et leurs différenciations en macrophages matures capables de produire les TNF- α qui induisent à son tour le dégagement, l'oxyde nitrique et les intermédiaires réactifs de l'oxygène qui concorde avec l'amélioration de la phagocytose [88].

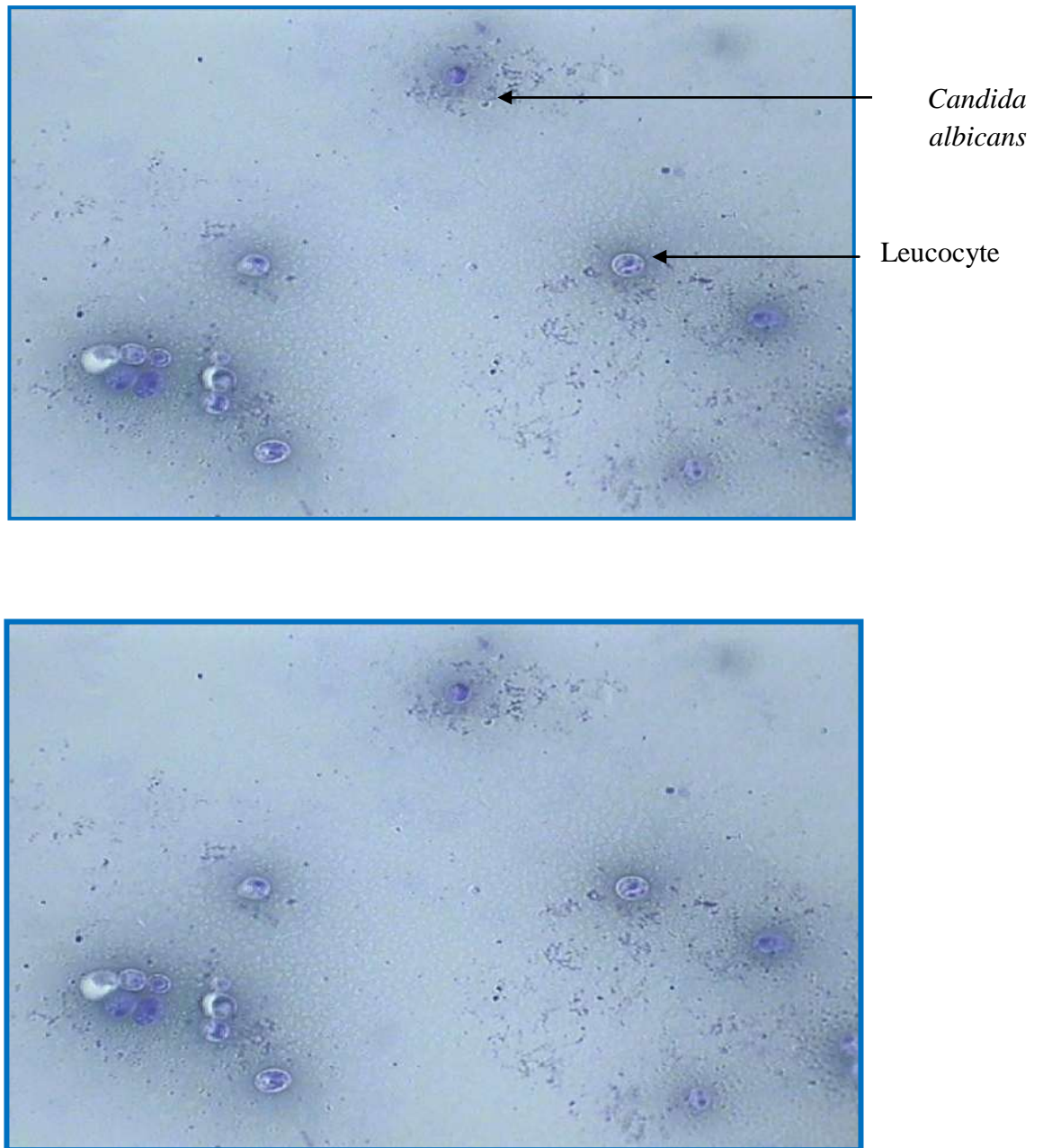


Figure 27: Observation microscopique de la phagocytose de *Candida albicans* en présence des dithiolethione (x 1000) (Photo originale)

Conclusion

Les travaux présentés dans ce manuscrit ont portés sur la contribution à étudier les activités biologiques : antioxydant, antimicrobienne, anticoagulant et l'activité phagocytaire de quelques composés dithioliques.

Les tests biologiques effectués dans ce travail ont montrés des résultats remarquables par les différents composés dithioliques :

I- pour la réduction de Phosphomolybdate les résultats obtenus montre que : le pouvoir réducteur se différencie selon la structure ; le sel de 3-méthylthio -5p méthoxyphényl-1,2dithiolylium Contre ion (I) C1 présente une activité réductrice plus importante que les autres composés, par contre le composé neutre le 5- p- méthoxyphényl-1,2dithiole -3-thione C a présenté la plus faible activité réductrice.

II- l'activité antimicrobienne effectuée contre les souches pathogènes, montre que les souches *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Candida albicans* présent une grande sensibilité aux dérivés dithioliques étudiés avec des valeurs de CMI située entre 0.204 et 0.496 mg/ml ; par contre la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 présent une moindre sensibilité aux composés (A) et (C) avec des valeurs de CMI située entre 2.04 et 0.277 mg/ml respectivement, et une résistance pour les autres composés. Cette efficacité pouvaient être due à la, lipophile des composés dithioliques et la présence des groupements fonctionnel comme le thione et dithiole, anétholeect .

III-les composés dithioliques ont la pouvoir d'allongé la coagulation du sang dont ils possèdent un activité anticoagulant, le composé neutre (C) illustre un bon effet contre la voie endogène (TCK) avec un temps de coagulation de 60.5 s , aussi contre la voie exogène (TP) avec un temps de coagulation de 33.05 s, par contre les autre composé qui ont un effet moindre.

VI- les résultats de l'activité phagocytaire des composés dithioliques montrent que ces composés présents des activités phagocytaires très importantes situées entre 29% chez le composé (C) et 52% chez le composé (B1).

Le potentiel d'activité différent entre les composés dithioliques rend à ses structures spécifiques. De ce fait chaque fois que les substituant diffères au niveau des positions 4 ou 5, et la présence des groupements ioniques modifié leur activité.

Références
Bibliographiques

Référence de l'introduction :

- [1] TRAN Q. T., XUL L., PHAN V., GOODWIN S. B., RAHMAN M., VICTOR JIN X., SUTTER C. H., ROEBUCK B. D., KENSLER T. W., GEORGE E. O. et SUTTER T. R .,2009.- Chemical genomics of cancer chemopreventive dithiolethiones Carcinogenesis, 30(3), pp 480–486 .
- [2] O'DWYER P. J., SZARKA C., BRENNAN J. M., LAUB P. B. et GALLO J. M .,2000.- Pharmacokinetics of the Chemopreventive Agent Oltipraz and of Its Metabolite M3 in Human Subjects after a Single Oral Dose . *Clinical Cancer Research*, 6, pp 4692–4696 .
- [3] REX MUNDA .Y., YUESHENG .Z., CHRISTINE M. MUNDAY, JUN LI ., 2006.- Structure–activity relationships in the induction of Phase II enzymes by derivatives of 3H-1,2-dithiole-3-thione in rats. *Chemico-Biological Interactions*, pp. 160, 115–122 .
- [4] STEWART .J.J.P.,1989.- *Optimization of parameters for semiempirical methods I. Method. Comp. Chem.*, 10, 221.
- [5] BONA M ., 1995.- Détermination du $\log P$ eau/n-octanol de 1,2-dithiole-3-thiones et de 1,2-dithiole-3-ones règles de calcul, thèse de doctorat, université de Renne I .
- [6] CAMMACK . R., ET SYKES . A.G., ADV., 1988.- *Inorganomet. Chem .*, Academic Press. New York. 38 .387.

Référence des chapitres :

- [1] TOOHEY J. I. et COOPER A. J. L., 2014.- Thiosulfoxide (Sulfane) Sulfur: New Chemistry and New Regulatory Roles in Biology., *Molecules*, 19, pp12796.
- [2] O'DWYER P. J., SZARKA C., BRENNAN J. M., LAUB P. B. et GALLO J. M., 2000. Pharmacokinetics of the Chemopreventive Agent Oltipraz and of Its Metabolite M3 in Human Subjects after a Single Oral Dose .*Clinical Cancer Research*, 6, pp 4692–4696.
- [3] BULTINCK .P ., 2004. -Computational Medicinal Chemistry for Drug Discovery, Dekker, New York.
- [4] CRAMER.C.J., 2004.-Essentials of Computational Chemistry, John Wiley & Sons Ltd, England.
- [5] STEWART. J.J.P., *J. COMP.*, 1989. .-*Optimization of parameters for semiempirical methods I. Method .CHEM.*, 10, 221.
- [6] KHANNA S., SEN C. K., ROY S., CHRISTEN M. O. ET PACKER L.,1998.- Iron coordination by catechol derivative antioxidants. , *Biochemical Pharmacology* 56 pp 61 .

- [7] GARGADENNEC .S, J. L.BURGOT, F. REKKER., 2005.- log P Estimation of 1,2-Dithiole-3-thiones and 1,2-Dithiole-3-ones: A Comparison of Experimental and Calculative Approaches, *Pharmaceutical Research*, Vol. 22.
- [8] XIN HE, ANNE MCELWEE REEVE, UMESH R. DESAI, GLEN E.KELLOGG, AND KEVIN A. REYNOLDS .,2004.- ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Augp. 3093– 3102}
- [9] FIELDS E. *J. Amer.*,1955.- Synthesis of 4-Aryl-1,2-dithiole-3-thiones by Reaction of Cumenes with Sulfur . *Chem. Soc.*, 77, p 4255.
- [10] MOLLIER Y. et LOZAC'H N .,1961.- The 1, 2- and 1, 3- Dithiolium Ions , *Bull. Soc. Chim. Fr.*, p 614.
- [11] REX MUNDAY, YUESHENG ZHANG, CHRISTINE M. MUNDAY, JUN LI., 2006.- *Chemico Biological Interactions*, pp. 160, 115–122 .
- [12] YUESHENG. Z, M. REX., 2008.- Dithiolethiones for Cancer Chemoprevention: Where Do We Stand? *therapeutics*, pp. 7, 3470
- [13] RAHMANI Z., SAÏDI M. et DEKMOUCHE M.,. 2014.-Évaluation de l'activité antioxydant de quelques dérivés de 1,2-dithiole-3-thiones .*Annales des Sciences et Technologie* Vol. 6, N° 2, p(131).
- [14] XIN HE, UMESH R. DESAI, GLEN E.KELLOGG, et KEVIN A. REYNOLDS .,2004.- Antimicrobial agents and chemotherapy, Aug., pp. 3093–3102.
- [15] HAGEN, H.;FLEIG, H. GER. OFFEN Patent 2,460,783; .,1976.- *Chem. Abst* 85,123899. (b) Bader, J.; Gaetzi, K. Ger. Offen. Patent 1, 278,701; *Chem. Abst.* 1969, 70, 115147.
- [16] MISRA, P.;MISRA, S.; MOHAPATRA, R.; MITTRA, A ., 1979.-*J. IndianChem. Soc.*, 61, 404.
- [17] RAHMANI .Z ., 2015.- Etude de la relation structure-activité antioxydante et antihémolyse des érythrocytes humaines par quelques dithiolethiones et composés phénoliques ,Thèse Doctorat en Sciences, Université de Kasdi Merbah Ouargla.
- [18] WEI .C.H .,1985.- Structure of 3H-1,2-dithiole-3-thione .*Acta Crystallogr.*, C41, 1768
- [19] WEI .C.H .,1986.- Structures of two isomers of phenyl -3H-1,2-dithiole-3-thione .*ActaCrystallogr.*,C42, 1836
- [20] LAM S., MAC A. C., LE RICHE J. C., DYACHKOVA Y., COLDMAN A., GUILLAUD M., HAWK E., CHRISTEN M. O. et GAZDAR A. F.;*J. Natl. A randomized phase IIb trial of anethole dithiolethione in smokers with bronchial dysplasia. Cancer Institute*, 94(13), pp 1001-1009 (2002).

- [21] BONA M., 1995.- Détermination du *log P eau/n-octanol* de 1,2-dithiole-3-thiones et de 1,2-dithiole-3-ones règles de calcul, Thèse de Doctorat de l'université de Rennes 1.
- [22] RAT P, OSSENI R, CHRISTEN MO, THEVENIN M, WARNET JM, ADOLPHE M. .,1997.- Microtitration fluorimetric assays on living cells (MIFALC tests): new tools for screening in cell pharmacotoxicology. In: van Zutphen LFM, Balls M, editors. *Animal Alternatives, Welfare and Ethics*.Amsterdam: Elsevierp. 813–25.
- [23] PETILLON F. ET GUERCHAIS J. E .,1971.- *Bull. Soc. Chim. Fr.* 24 pp 55.
- [24] RAUBENHEIMER H. G., KRUGER G. J., MARAIS C. F., OTTE R. ET HATTING J. T. Z . ,1988.- *Organometallics* 7 pp 1853.
- [25] REX MUNDAY, YUESHENG ZHANG, CHRISTINE M. MUNDAY, JUN LI.,2006.- *Chemico-Biological Interactions* 160 ,115–122.
- [26] STIEHL K. P., VIOLA H., SCHNEIDER W. ET LOENNECKE K .,1989.-*Ger. (East)* 258 pp 107 .
- [27] LOZAC'H N. ET STAVAUUX M .,1980.- *Adv. Heterocycl. Chem.* 27 pp 151.
- [28] HALLIWELL B., 1989.- Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J ExpPathol*, 70, pp 737 – 757.
- [29] GAEDÈS A. M., BONNEFONT R. D., ABEDINZADEH Z. ET JORE D.,2003.- *l'actualité chimique*, pp 91-96 .
- [30] GOUDABLE .J ,& FAVIER .A,1997. - Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 11,115-120.
- [31] HALENG. J , PINCEMAIL. J , DEFRAIGNE. J.O , CHARLIER .C , CHAPELLE .J.P .,2007.-Le stress oxydant .,Rev Med Liege; 62 : 10 : 628-638
- [32] PASTRE J., PRIYMENKO N., 2007. Intérêt des antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue Méd. Vét.* (4) :187p.
- [33] PRIOR .R.L, WU .X, SCHAICH .K ., 2005.- Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10): 4290-4302.
- [34] PAPAS .A ., 1998 .-Diet and antioxidant status. In: Papas A, ed. *Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health*. Boca Raton, Fl: CRC Press:89-94.
- [35] HAGFORS L, LEANDERSON P, SKOLDSTAM L, ANDERSSON J, JOHANSSON G. ., 2003.-Antioxidant intake, plasma antioxidants and oxidative stress in a randomized, controlled, parallel, Mediterranean dietary intervention study on patients with rheumatoid arthritis. *Nutr J*; 2(5): 1-11.

- [36] HALENG .J., PINCEMAIL . DEFRAIGNE . J., J.O., CHARLIER .C., CHAPELLE .J.P .,2007.- Le stress oxidant. *Rev Med Liege*; 62 : 10 : 628-638.
- [37] MUANDA N. F., KONE D., DICKO A., SOULIMANI R., YOUNOS C.,2007.- Phytochemical composition and antioxidant capacity of three Malian Medicinal plant parts, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 109: 1 - 8.
- [38] PRIETO P, PINEDA M, AGUILAR M. , 1999.- Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Anal Biochem*; 269:337-341.
- [39] FAYETTE J. et KIAKOUAMA L ., 2009.- Chemoprevention in head and neck cancer and lung cancer .*Bull Cancer*, 96, pp 25-34.
- [40] TREKI . A.S., MERGHEM .R , ET DEHIMAT, L.,2009.- Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une Labiée: *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie*, 29: 25-29.
- [41] PERRY J.J., STALEY J.T., LORY .S ., 2004.-Microbiologie. Cours et questions de révision. Ed. Dunod.
- [42] Guiraud J.P., 1998.- Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris: 54-571.
- [43] ART. T, SHEARS P., 1997.-Atlas de poche de microbiologie. Flammarion.
- [44] ANDREWS.J.M., 2001.- Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother*; 48 (suppl 1): 5-16.
- [45] COSENTINO .S., TUBEROSO .CI., PISANO. B., SATTA .M., MASCIA .V., ARZEDI .E., PALMAS F. , 1999.-Invitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett Appl Microbiol* ; 29(2):130-5.
- [46] FENG .J., WEITNER . M ., WANLIANG .S ., ZHANG .S., SULLIVAN.D AND YING .Z.,2015.- Identification of Additional Anti-Persister Activity against *Borrelia burgdorferi* from an FDA Drug Library * *Antibiotics*, 4, 397-410; doi:10.3390/antibiotics 4030397.
- [47] FALLEH. H., KSOURI, R., CHAIEB, K., KARRAY-BOURAOUI, N., TRABELSI, N., BOULAABA, M., ABDELLY, C.,2008.- Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*. 331: 372-379.
- [48] Y. GHOUATI .,T. BELAICHE ., MED. OUHSSINE ., A. AMECHROUQ .,A. TAHIRI .,S.CHAKIR ., 2014.- Antimicrobial Property Of The Essential Oil From The Moroccan Fennel Fruits. *British Journal of Biology Health and Medical Research* Vol.1, No.1, pp.25-33.
- [49] MAURY .E ., 2007.- Les Antiseptiques, De Varis Médicaments A Connaitre .*Réanimation Médicale* ,Hopitale Saint-Antoine , Assistance Puplicue-Hopitaux De Paris ,75571 ,Cedex 12 .P 650.

- [50] MOREIRA. M.R., PONCE. A.G., DEL VALLE. C.E., ROURA. S.I. .,2005.- Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT*. 38: 565-570.
- [51] ABLORDEPPEY. S. Y.; FAN. P.; ABLORDEPPEY. J. H.; MARDENBOROUGH .L., ., 1999.- Systemic antifungal agents against AIDS-related opportunistic infections: current status and emerging drugs in development. *Curr Med Chem* ,6, (12), 1151-95.
- [52] KIRCHACKER. R., 2008 .-Enquête de prévalence des infections nosocomiales dans une structure d'hospitalisation à domicile., Thèse de Doctorat en médecine , UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES (PARIS 5).
- [53] FRANÇOISE VAN B., DR PHARM SC., TULKENS P. DR. MED., 2010.- Pharmacologie et Pharmacothérapie. Anti-infectieuse 1. Antibiotiques.2. Antifongiques Thèse de Doctorat ., Université catholique de Louvain , Bruxelles.
- [54] LAVIGN.J.P.,2007.- bacteriologie : effets des antibiotiques et mécanismes de résistance. Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes. p2-3
- [55] STRUB .C., 2008.- Modélisation et Optimisation de la production de thiolutine Chez *Saccharothrix algeriensis*,. Thèse doctorat de l'université de toulouse.
- [56] AVORN JL, BARRETT JF, DAVEY PG, MCEWEN SA, O'BRIEN TF, LEVY SB. , 2001.- Organisation mondiale de la sante (OMS). Antibiotic resistance: synthesis of recommendations by expert policy groups: alliance for the prudent use of antibiotics.
- [57] HAYOUNI, E.A, ABEDRABBA, M ., BOUIX, M., HAMDI, M., 2007.- The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chem*.
- [58] SEAMUS J ., DENNIS R. BURTON., PETER J. DELVES IVAN M. ROITT MARTIN .,2008.- Les fondements de l'immunologie , 7^{ème} Edition par Pierre Masson .
- [59] TALBERT M, WILLOQUET 2004.- Gérard. *Guide Pharmaco* - 5ème édition, Rueil-Malmaison : Editions Lamarre.
- [60] BONTEMPS F., 2013.- *AVK et nouveaux anticoagulants oraux*: Le moniteur des Pharmacies n°2966, cahier 2.
- [61] AMANDINE PLAZIAT-DECOURCELLE,. 2009.- les anticoagulants: mise au point en 2009 ., these doctorat ., p 25.
- [62] M. GUILLOT NICOLAS,. 2008.- plaquettes sanguines et megacaryocytes humains : impact de differentes concentrations d'acide docosahexaenoïque sur leur activation et leur etat redox thèse doctorat. p 52.
- [63]GENTRY P A., 2004.- Comparative aspects of blood coagulation. *The Veterinary Journal*; 168: 238–251.

- [64] VOGLER AE, SIEDLECKI AC., 2009.- Contact activation of blood-plasma coagulation. *Biomaterials*; 30:1857–1869.
- [65] IGOR PASSI LYSETTE BOSSOKPI ., 2003.- Etude des activités biologiques de fagara zanthoxyloides Lam (Rutaceae) thèse Docteur en Pharmacie Université de Bamako .
- [66] CAQUET R., 2004. -250 examens de laboratoire : prescription et interprétation. 9^{ème} Ed., Masson Paris. pp : 388-389.
- [67] ATHUKORALA Y, LEE KW, KIM SK, JEON YJ.,2007.- Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Bioresource Technology*; 98: 1711–1716.
- [68] TOGNOLINI M, BALLABENI V, BERTONI S, BRUNI R, IMPICCIATORE M, BAROCELLI E., 2007.- Protective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil and anethole in an experimental model of thrombosis. *Pharmacological Research*; 56: 254–26
- [69] AURORE S., 2010 . - Les glycanes pariétaux de levures et leur implication dans l'induction et la régulation de la réponse immunitaire de l'hôte. Immunologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II. Français.
- [70] GUTIERREZ J, MORALES P, GONZALEZ MA & QUINDOS G .,2002.- *Candida dubliniensis*, a new fungal pathogen. *J Basic Microbiol* 42: 207-227.
- [71] PAGANO L, CAIRA M, CANDONI A, ET AL. .,2006.- The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica* 91: 1068-1075.
- [72] CHONTOUH B.,1994.-Bref rappel sur le système immunitaire .De l'infection a HIV au SIDA: 21.
- [73] ESPINOSA E, CHILLET P., 2010.-les composants du système immunitaire. Immunologie. Paris. pp: 26-88.
- [74] CHATENOU D L ., BACH J.F .,2008.- Immunité innée et immunité adaptative .Immunologie de la biologie à la clinique .Paris :18.
- [75] HARUN N. H., SEPTAMA A. W., et JANTAN I., 2015.- Immunomodulatory effects of selected Malaysian plants on the CD18/11a expression and phagocytosis activities of leukocytes. *Asian Pac J Trop Biomed*, vol. 5(1): 48-53.
- [76] BURNAT B., WALKOWIAK-PRZYBYŁO M., BŁASZCZYK T., KLIMEK L., 2013.- Corrosion behaviour of polished and sandblasted titanium alloys in PBS solution. Vol ,15.
- [77] HANKS J. H., 1975- hanks' balanced salt solution and pH control.

- [78] GHONEUM M., et GOLLAPUDI S., 2004.- Phagocytosis of *Candida albicans* by metastatic and non metastatic human breast cancer cell lines in vitro. *Cancer Detection and Prevention* 28:17–26.
- [79] TAVANTI A., CAMPA D., BERTOZZI A., PARDINI G., NAGLIK J. R., BARALE R., et SENESI S., 2006.- *Candida albicans* isolates with different genomic backgrounds display a differential response to macrophage infection. *Microbes and Infection*, vol. 8:791-800.
- [80] RAGSDALE R.L., GRASSO R.J., 1989- An improved spectrofluorometric assay for quantitating yeast phagocytosis in cultures of murine peritoneal macrophages. Vol. 23(2), 259-67.
- [81] FREIRE-GARABAL M., NUNEZ M.J., FERNANDEZ-RIAL J.C., COUCEIRO J., GARCIA-VALLEJO L., et REY-MENDEZ M., 1993.- Phagocytic activity in stressed mice: effects of alprazolam. *Resources in Immunology*, vol. 144: 311-316.
- [82] GIAIMIS, J.; LOMBARD, Y.; MAKAYA-KUMBA, M., 1992- A new and simple method for studying the binding and ingestion steps in the phagocytosis of yeasts. *J. Immunol. Methods*, v.154, p.185-193.
- [83] MERCK K., 2008.- May-Grünwald en solution d'éosine-bleu de méthylène. Dispositif médical de diagnostic in vitro. Allemagne.
- [84] POPOV S. V., POPOVA G. Y., OVODOVA R. G., BUSHNEVA O. A., et OVODOV Y. S., 1999.- Effects of polysaccharides from *Silene vulgaris* on phagocytes. *International Journal of Immunopharmacology*, vol. 21: 617-624.
- [85] ABID .S., KHAJURIA A., PARAVAIZ Q., SIDIQ T., BHATIA A., SINGH S., AHMAD S., RANDHAWA M.K., SATTI N.K. Prabhu DUTT P., 2012.- Immunomodulatory studies of a bioactive fraction from the fruit of *Prunus cerasus* in BALB/c mice. *International Immunopharmacology* 12 : 626–634
- [86] STEVEN M M., LENNIE S E., STURROCK R D., GEMMELL C G., 1984- Enhanced bacterial phagocytosis by peripheral blood monocytes in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, vol: 43.
- [87] TOOKEY, H.L., VAN ETTAN, C.H., DAXENBICHLER, M.E., 1980.- Glucosinolates. In: Liener, I.E. (Ed.), *Toxic Constituents of Plant Stuffs*. Academic press, New York, pp. 103–142.
- [88] THEJASS. P, KUTTAN .G., 2007.- Immunomodulatory activity of Sulforaphane, a naturally occurring isothiocyanate from broccoli (*Brassica oleracea*) *Phytomedicine* 14 538–545.
- [89] Sites .crdp –aquitaine .fr Antibiotique .

[90] www.vdsciences.com ,Microphotographie électronique illustrant la phagocytose.

Annexe



Reagent du teste PPM



Tubes incubés à 95 C°



Tube à essai au cour de refroidissement



teste PPM de vitamine C



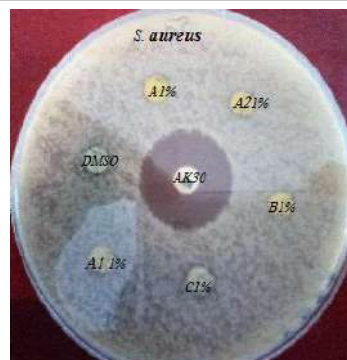
spectrophotomètre



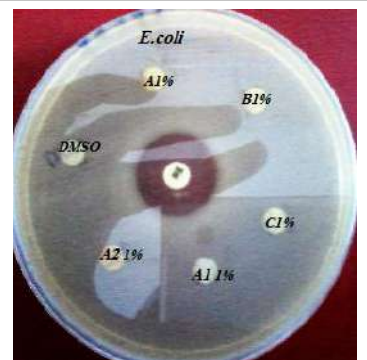
agitateur



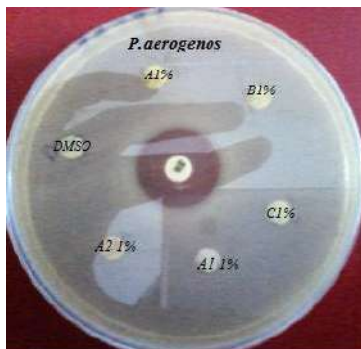
C. albicans dilution 1% de tous les produits testé



S. aureus dilution 1% de tous les produits testé



E. coli dilution 1% de tous les produits testé



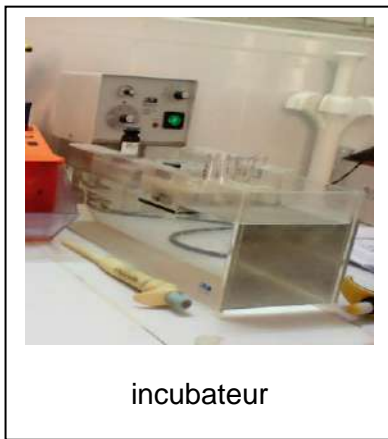
P. aeruginosa dilution 1% de tous les produits testé



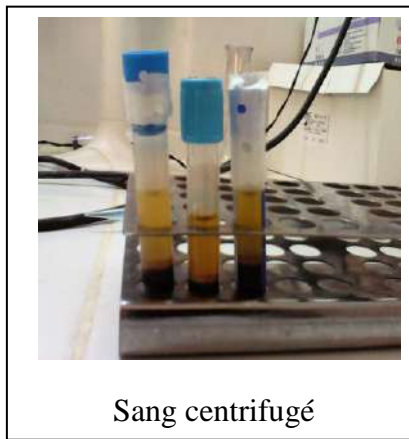
Coagulometre



Appareille de coloration



incubateur



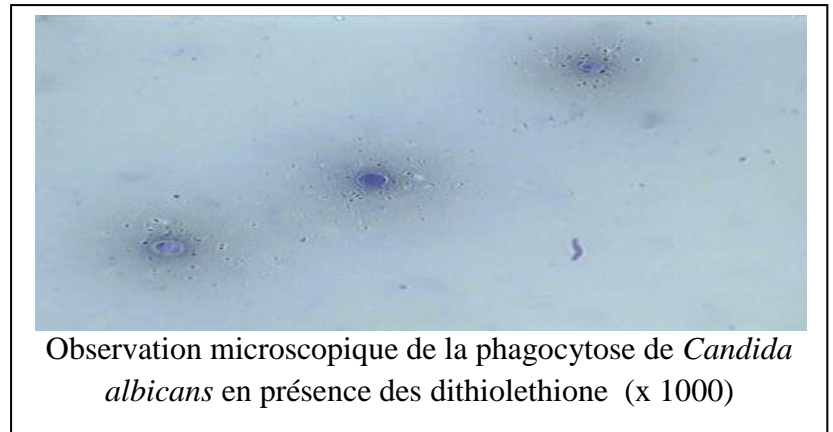
Sang centrifugé



héparine



Les frottis des leucocytes humain



Observation microscopique de la phagocytose de *Candida albicans* en présence des dithiolethione (x 1000)

		Diamètre de zone d'inhibition en (mm)			
composés dithioliques	Log P	S. aureus	C.albicans	E.coli	p.aeruginosa
(A) 10%	3.23	8.5	9	7	0
(A1) 10%	1.947	9.5	13	8	0
(A2) 10%	0.45	11.5	13.5	9.5	0
(B) 10%	3.49	9	9.5	11	0
(C) 10%	3.82	10	14.5	11	4.5

Tableau : les valeurs de la corrélation Log P effet antimicrobienne.

composés dithioliques	Diamètre de zone d'inhibition			
	S. aureus	C.albicans	E. coli	P.aeruginosa
(A)	11	11.5	11	4
(A1)	11	12.5	12	0
(A2)	10	13	10	0
(B)	9	9.5	10	0
(C)	11	14.5	11	8

Tableau : les valeurs de l'histogramme de figure (24) p 45

ملخص

العمل المنجز هو مساهمة في تثمين بعض مركبات ثنائي ثيول الحلقي ذات الأصل الاصطناعي , حيث يسمح التنوع البنوي الملحوظ لهذه المركبات بإظهار طيف واسع من الخصائص البيولوجية. سمحت هذه الدراسة بتسليط الضوء على الفعاليات البيولوجية التالية :

- الفعالية المضادة للأوكسدة التي قيمت باختبار الفوسفوموليبيدات حيث أظهرت المركبات المدروسة قدرة إرجاعية جيدة تراوحت بين 1.73 مولاري و 3.097 مولاري بالنسبة للمركبات (C) و (C1) ، على التوالي .
 - الفعالية المضادة للميكروبات التي كشفت عن حساسية كبيرة لهذه المركبات عند المكورات العنقودية الذهبية والمبيضات البيض، وحساسية أقل عند الإشريشية القولونية والزائفة الزنجارية.
 - الفعالية المضادة للتخثر، أظهرت نشاطا ملحوظا بالنسبة لكلا وقتي التخثر , الوقت الجزئي (TCK) قدر ب 60,05 ثانية ووقت البروثرومبين (TP) قدر ب 33.05 ثانية.
 - في النهاية أظهرت الفعالية البلعمية التي أجريت على الكريات البيضاء البشرية نشاطا بلعيميا مهما قدر ب 52%، 46%، 32% و 29% للمركبات (B1) ، (A2) (C1) و (C) على التوالي.
- الكلمات المفتاحية :** مركبات ثنائي ثيول، مضادة للأوكسدة، مضادة للميكروبات، مضادة للتخثر، البلعمية.

Résumé

Le travail effectué constitue une contribution à la valorisation de quelques dérivés des composés dithioliques d'origine synthétiques ; où la diversité structurale remarquable des ces composés permet de présenter un large spectre des propriétés biologiques. Cette étude a permis la mise en évidence des activités biologiques suivantes :

- L'activité antioxydant qui évaluée par le test de Phosphomolybdate où les composés étudiés présentent une bon pouvoir réductrice varient entre 1.73 M et 3.097M pour les composés (C) et (C1) respectivement.
- L'activité antimicrobienne qui révèle une sensibilité importante chez les *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*, et une moindre sensibilité chez les souches *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.
- L'activité anticoagulante, qui présente une activité remarquable pour les deux temps de coagulation TCK 60,5s et TP 33,05 s.
- L'activité phagocytaire qui effectué sur des leucocytes humaines présentent une activité phagocytaire importante de 52% ,46% ,32% et 29% chez les composés (B1) ,(C1) (A2) et (C) respectivement .

Mots clés : les composés dithioliques, antioxydante, antimicrobienne, anticoagulante, phagocytaire.

Abstract

The presented study is a contribution to the evaluation of some dithiolethiones derivatives compounds of synthetic origin where the remarkable structural diversity of these compounds can present a wide spectrum of biological properties. This study highlights the following biological activities:

- The activity antioxidant that is evaluated by the Phosphomolybdate test where the compounds studied showed a good reducing ability range between 1.73 M and 3.097M for the compounds (C) and (C1) respectively.
- The antimicrobial activity reveals an important sensibility of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, and less sensitivity in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*.
- The anticoagulant activity shows a remarkable activity for both clotting time TCK 60,5s and TP 33.05 s.
- The phagocytic activity performed on human leukocytes showed a high phagocytic activity of 52%, 46%, 32% and 29% for compounds (B1), (C1) (A2) and (C) respectively.

Keywords: dithiolic compounds, antioxidant , antimicrobial , anticoagulant , phagocytic.