

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université Belhadj Bouchaib Aïn-Témouchent



Institut des Sciences
Département de Science de la nature et de la vie

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie
Option : Biochimie

Présenté par :

BEKKOUCHE Nouria et BOUAZZA HAMADOUCHE Hadjer

Optimisation de l'activité biologique de la chalcone

Encadrant :

Mme. BOUDGHENE-GUERRICHE AMINA

Maitre de conférences "A" à U.B.B.A.T.

Soutenu en juillet 2021

Devant le jury composé de :

Présidente : Mme. CHAKER Hanane (M.C.A)	U.B.B.A.T.
Examineur : Mr. BENNABI Farid (M.C.A)	U.B.B.A.T.
Encadrant : Mme. BOUDGHENE-GEURRICHE Amina (M.C.A)	U.B.B.A.T.

A nos parents bien aimés

Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a
Donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.*

*La première personne que nous tenons à remercier est notre encadrant Madame
BOUDGHENE-GUERRICHE AMINA, maitre de conférences «A» à
L'Université **BELHADJ Bouchaib** pour l'orientation, la confiance ainsi que la patience qui
a constitué un apport considérable, sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon
port. Nous la remercions d'avoir contribué à la réalisation de celui-ci dans les conditions les
plus extrêmes et pour ses bonnes explications qui nous ont éclairé le chemin de la recherche.
Veuillez trouver ici cher Madame un hommage vivant à votre haute personnalité ainsi que
l'expression de notre profonde estime.*

*On tient également a remercié Madame **CHAKER Hanane**, maitre de conférence «A» à
L'Université **BELHADJ Bouchaib** pour l'honneur quelle nous a fait en acceptant de
présider notre jury.*

*On est très sensible à l'honneur que nous fait **Mr BENNABI Farid**,
Maitre de conférences «A» a l'Université **BELHADJ Bouchaib**
D'avoir accepté d'examiner ce travail. On lui adresse nos sincères remerciements.*

*On tient a remercié le personnel du laboratoire Nordine et Chokria de l'université
BELHADJ Bouchaib d'Ain Témouchent*

*A tous nos enseignants qui nous ont initiés aux valeurs authentiques, en signe d'un profond
Respect.*

Nouria et Hadjer

Résumé

Les chalcones sont des composés précurseurs de la biosynthèse des flavonoïdes chez les plantes, et elles peuvent également être synthétisées en laboratoire. Les chalcones possèdent un large spectre d'activités biologiques, des changements dans leur structure ont offert un degré élevé de diversité qui s'est avéré utile pour le développement de nouveaux agents médicaux ayant une puissance améliorée. La chalcone est devenue un objet d'intérêt continu à la fois dans les universités et dans l'industrie. En effet elle possède des propriétés bénéfiques pour la santé qui sont détectés *in vitro*. Dans cette optique nous avons évalué les activités biologiques de la chalcone synthétique tels que le teste de cytotoxicité, l'activité anti-hémolytique, anti inflammatoire et le teste d'inhibition de la peroxydation lipidique. Nos résultats on démontrés que la chalcone est cytotoxique à des concentrations élevés, de plus les résultats de ce présent travail démontrent que la chalcone a des effets anti-hémolytique considérables comparativement aux molécules de référence testée, la chalcone a aussi révélé une inhibition efficace de la dénaturation thermique de l'albumine bovine avec des pourcentages maximaux de 71,6%. De plus, la chalcone a provoqué une inhibition de la peroxydation des lipides à faible concentration, ceci est le reflet de l'activité antioxydante de la chalcone. Notre travail permet donc de conclure que la chalcone est une molécule qui doit être exploité, en effet cette dernière possède une structure qui lui procure des activités anti-inflammatoires et antioxydantes à des concentrations bien déterminé. Cette structure peut être modifiée pour l'utilisation de la chalcone dans différents domaines.

Mots clés : Chalcone, intérêt thérapeutique, activités biologique.

Abstract

Chalcones are precursor compounds for flavonoid biosynthesis in plants, and they can also be synthesised in the laboratory. Chalcones possess a broad spectrum of biological activities, changes in their structure have provided a high degree of diversity that has proved useful for the development of new medicinal agents with improved potency. Chalcone has become an object of continuing interest in both academia and industry. Indeed, it possesses health-promoting properties that are detected *in vitro*. To this end, we evaluated the biological activities of chalcone such as cytotoxicity, anti-hemolytic, anti-inflammatory and lipid peroxidation inhibition tests. Our results showed that chalcone is cytotoxic at high concentrations, furthermore the results of the present work demonstrate that chalcone has considerable anti-hemolytic effects compared to the reference molecules tested, chalcone also revealed an effective inhibition of thermal denaturation of bovine albumin with maximum percentages of 71.6%. In addition, chalcone caused an inhibition of lipid peroxidation at low concentrations, reflecting the antioxidant activity of chalcone. Our work therefore allows us to conclude that chalcone is a molecule that should be exploited, as it has a structure that provides anti-inflammatory and antioxidant activities at well-defined concentrations. This structure can be modified for the use of chalcone in different fields.

Key words : Chalcone, therapeutic interest, biological activities.

ملخص

الشالكون هي مركبات طبيعية للتخليق الحيوي للفلافونويد في النباتات، ويمكن أيضاً تصنيعها في المختبر. تمتلك الشالكون مجموعة واسعة من الأنشطة البيولوجية، وقد وفرت التغييرات في هيكلها درجة عالية من التنوع التي أثبتت فائدتها في تطوير عوامل طبية جديدة ذات فاعلية محسنة. أصبحت الشالكون موضوع اهتمام مستمر في الأوساط الأكاديمية والصناعية. في الواقع، إنه يمتلك خصائص تعزز الصحة تم اكتشافها في المختبر. تحقيقاً لهذه الغاية، قمنا بتقييم الأنشطة البيولوجية للشالكون مثل اختبارات السمية الخلوية ومضادات الانحلال ومضادات الالتهاب وتثبيط بيروكسيد الدهون. أظهرت نتائجنا أن الشالكون سام للخلايا بتركيزات عالية، علاوة على ذلك، أظهرت نتائج العمل الحالي أن الشالكون له تأثيرات كبيرة مضادة للانحلال مقارنة بالجزئيات المرجعية التي تم اختبارها، كما كشفت الشالكون أيضاً عن تثبيط فعال للتمسخ الحراري لألبومين الأبقار بنسب قصوى 71.6%. بالإضافة إلى ذلك، تسبب الشالكون في تثبيط بيروكسيد الدهون بتركيزات منخفضة، مما يعكس النشاط المضاد للأكسدة في الشالكون. لذلك، فإن عملنا يسمح لنا باستنتاج أن الشالكون هو جزيء يجب استغلاله، لأنه يحتوي على بنية توفر أنشطة مضادة للالتهابات ومضادة للأكسدة بتركيزات محددة جيداً. يمكن تعديل هذا الهيكل لاستخدام الشالكون في مجالات مختلفة.

الكلمات المفتاحية : الشالكون، الفائدة العلاجية، الأنشطة البيولوجية.

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique

ATP : adénosine triphosphate

CAT : catalase

CI : concentration inhibitrice

COA : coenzyme A

COX : cyclooxygénase

ERO : espèce réactive de l'oxygène

ESKAPE : enterococcus faecium, staphylococcus aureus, klebsiellapneumoniae, acinetobacterbaumannii, pseudomonas aeruginosa et les espèces d'enterobacter

GPx : glutathion peroxydase

GRH : globule rouge humain

GSH : glutathion

IBC : isobavachalcone

ICAM-1 : molécule d'adhésion cellulaire intracellulaire-1

IL : interleukine

ISL : isoliquiritigénine

IRA : insuffisance rénale aiguë

LOX : lipooxygénase

LPO : peroxydation lipidique

LPS : lipopolysaccharides

LTD-4 : leucotriène D4

MCP-1 : protéine chimioattractive Monocyte-1

NF- κB : facteur nucléaire-κB

NOS : nitrique oxydase synthase

Nrf2 : nuclear factor erythroid 2

ONOO* : radicalxperoxynitrite

PG : prostaglandine

PON : peroxynitrite

PPAR- γ : récepteur gamma activé par les proliférateurs de peroxyosomes

SARM : staphylococcus aureus résistant a la méthicilline

SBA : sérum albumine bovine

SDS : dodécylsulfate de sodium

SOD : superoxyde dismutase

TBARS : substances réactives à l'acide thiobarbiturique

VCAM-1 : molécule d'adhésion de cellule vasculaire -1

Liste des figures

Figure 1 : Participation de la chalcone dans la biosynthèse des principaux types de flavonoïdes	04
Figure 2 : Représentations structurelles et numériques de l'échafaudage chalcone	05
Figure 3 : Réaction Chalcone synthase.....	05
Figure 4 : Effet du Xanthoangelol sur la membrane bactérienne.....	13
Figure 5 : Chalcone agissant sur diverses cibles moléculaires impliquées dans l'inflammation	15
Figure 6 : Comparaison de l'activité antioxydante des dihydrochalcones (phlorétine et phloridzine) et de quelques phénols. L'activité est exprimée par la concentration nécessaire pour inhiber 50% du peroxy-nitrite (PON) et la peroxydation lipidique (LPO).....	19
Figure 7 : Comparaison en % du taux d'hémolyse provoqué par la Chalcone et l'AC Gallique	25
Figure 8 : Comparaison de l'activité anti-hémolytique de l'acide gallique, de l'Ibuprofène et de la Chalcone	26
Figure 9 : Comparaison de l'inhibition de la dénaturation protéique par l'Ibuprofène et la Chalcone	27
Figure 10 : Inhibition de la peroxydation lipidique par la Chalcone	28

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différentes plantes naturelles.....06

Tableau 2 : Dérivés de chalcones.....11

Table des matières

Introduction.....	01
--------------------------	-----------

Etat actuel du sujet

1. Généralités sur la chalcone.....	03
2. Intérêt thérapeutique de la chalcone.....	08
3. Activités biologique de la chalcone.....	10

Matériels et méthodes

1. Détermination de l'activité anti-hémolytique, anti-inflammatoire et antioxydant de la chalcone	21
1.1. Préparation de la suspension des globules rouges humains (GRh).....	21
1.2. Test de cytotoxicité de la chalcone.....	21
1.3. Évaluation de l'activité anti-hémolytique, <i>in vitro</i> , de la chalcone par la méthode de stabilisation membranaire des globules rouges.....	22
1.4. Activité Anti-inflammatoire de la chalcone.....	22
1.5. Test de l'inhibition de la peroxydation lipidique.....	23

Résultats et interprétations

1. Test de cytotoxicité de la chalcone.....	25
2. Test anti-hémolytique (stabilisation membranaire des globules rouges) de la chalcone.....	26
3. Activité anti-inflammatoire de la chalcone.....	27
4. Test de l'inhibition de la peroxydation lipidique par la chalcone.....	28

Discussions.....	29
-------------------------	-----------

Conclusion.....	35
------------------------	-----------

Références Bibliographiques.....	36
---	-----------

Introduction

Les sources naturelles sont toujours l'une des inspirations les plus importantes pour la découverte et la conception de nouvelles entités chimiques en tant que médicaments potentiels **(Matos et al., 2015)**.

De nos jours, les recherches ont prouvé qu'il existe, dans la nature, plusieurs substances naturelles qui ont des propriétés thérapeutiques importantes. Parmi ces substances connues par leurs intérêts pharmacologiques on note les molécules suivantes : les polyphénols, les molécules azotées, les terpènes et les flavonoïdes. Ces derniers comprennent différents sous groupes à l'instar des chalcones. Différentes études ont été effectuées pour statuer sur leurs activités biologiques **(Doan et Tran, 2011)**.

En effet, la valeur médicinale de la plupart des plantes repose sur certains composés chimiques bioactifs efficaces naturellement présents dans différentes parties de la plante qui produisent un effet physiologique spécifique dans le corps humain **(Kumar et Satapathy, 2011)**.

Parmi ces composé naturelle on évoque les chalcones, ou 1,3-diphényl-2-propène-1-one, l'une des classes de flavonoïdes les plus importantes dans l'ensemble du règne végétal **(Sahu et al., 2012 ; Ni et al., 2004)**, ils sont largement répandu dans les légumes, les fruits, le thé et d'autres plantes **(Karthikeyan et al., 2015 ; Zhou et Xing, 2015)**.

Les chalcone sont des précurseurs à chaîne ouverte pour la biosynthèse des flavonoïdes et des isoflavonoïdes et se présentent principalement sous forme de composés polyphénoliques dont la couleur passe du jaune à l'orange **(Wong, 1968)**.

Ils existent sous forme d'isomères trans ou cis ayant deux cycles aromatiques reliés par un système carbonyle α,β -insaturé à trois atomes de carbone dans la plupart des cas, l'isomère trans est plus stable du point de vue de la thermodynamique, ce qui en fait la configuration prédominante parmi les chalcones **(Evranos et Ertan, 2011)**.

Les applications thérapeutiques des chalcones remontent à des milliers d'années grâce à l'utilisation de plantes et d'herbes par nous ancêtre pour le traitement de différents troubles médicaux bien avant que la médecine ne soit développée **(Zhou et Xing, 2015)**.

La chimie des chalcones reste toujours une fascination pour les chercheurs du 21ème siècle en raison du grand nombre d'hydrogènes remplaçables qui permet de générer un grand nombre de dérivés et une variété d'activités biologiques prometteuses **(Gomes et al., 2017)**.

Plus important encore les chalcones sont attrayants comme intermédiaires de synthèse clés et des cadres dans la conception d'outils thérapeutiques pour le traitement de diverses infections, y compris aux anti- bactérien, antipaludéens, anti- cancer, anti-inflammatoire, anti-VIH, et anti-Alzheimer, etc (**Sinha et al., 2019 ; Anandam et al., 2018 ; Wang et al., 2018 ; Syahri et al., 2017 ; Zhuang et al., 2017 ; Mahapatra et al., 2015 ; Ventura et al., 2015 ; Bano et al., 2013**).

Étant donné que les chalcones sont faciles à synthétiser, il est possible que les chalcones d'origine naturelle puissent servir de composés principaux pour l'enrichissement ultérieur de la diversité structurelle ou l'amélioration de son innocuité ou de son efficacité pour un profil pharmacologique ciblé (**Chen et al., 2020**).

En effet, la modification structurelle des chalcones où l'anneau B est remplacé par d'autres fragments ou unités bioactifs est une stratégie contemporaine qui a été largement utilisée par divers groupes de recherche impliqués dans la conception de composés bioactifs pour le traitement de différentes maladies (**Karthikeyan et al., 2015**).

L'objectif de notre étude est de déterminer la cytotoxicité de la chalcone synthétique et d'évaluer certaines de ses activités biologiques, notamment ses activités anti-hémolytique, anti-inflammatoire et sa capacité de l'inhibition de la peroxydation lipidique.

Etat actuel du sujet

1. Généralités sur la chalcone

La chalcone est une énone aromatique qui forme le noyau central de nombreux composés biologiques importants. Ils sont les précurseurs biogénétiques des flavonoïdes, catalysée par la chalcone synthase, la cyclisation des 6'-hydroxy chalcones forme des flavanones et finalement plusieurs classes de flavonoïdes, tels que les flavones, flavonols, dihydroflavonols, aurones et isoflavones (figure 1) (**Ferreira et al., 2012**). L'origine de ces composés peut être naturelle, extraits de plantes, hémi-synthétique, synthétique ou par biosynthèse (**Rammohan et al., 2019**). On trouve des chalcones dans de nombreux fruits (agrumes, pomme, tomate, etc.), des légumes (échalotes, fèves germées, pommes de terre, etc.), ainsi que quelques plantes comestibles de notre alimentation quotidienne comme la réglisse (**Schnekenburger et Diederich, 2015**).

L'expression «chalcone» vient du grec «chalcos», qui signifie «bronze» a été donné en 1921 par Kostanecki et Tambor, qui résulte des couleurs de la plupart des chalcones naturelles.

En 1880-1881 Claisen et Schmidt ont publiés les rapports de leur recherche individuelle de condensation catalysée par une base entre un aldéhyde et une cétone, ce qui semble être le premier rapport publié dans la préparation de la chalcone.

Elles ont une structure chimique commune en 1,3-diphényl-2-propène-1-one, également connue sous le nom de chalconoïde, qui existe sous forme d'isomères trans (*E*, 1) ou cis (*Z*, 2), dont l'isomère trans étant thermodynamiquement plus stable (figure 2) (**Sahu et al., 2012 ; Sebti et al., 2002**).

L'échafaudage intéressant des chalcones en termes de structure chimique de base a attiré de nombreux chercheurs dans le monde entier afin d'étudier leurs dérivés et leurs activités biologiques. Les chalcones naturelles ont été produites par la voie de biosynthèse des chalcones synthase, comme présenté dans la figure 3 (**Mah, 2020**).

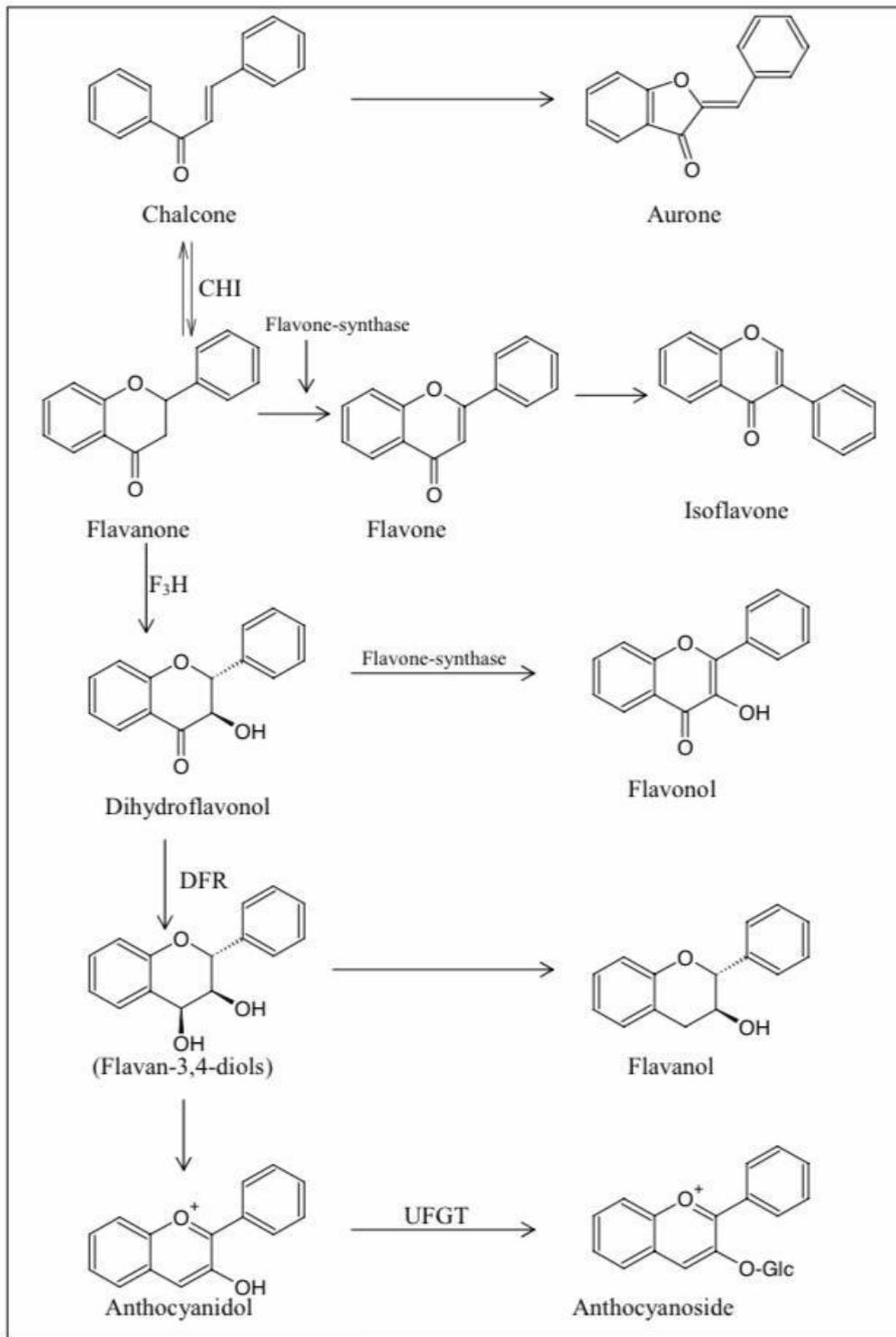


Figure 1 : Participation de la chalcone dans la biosynthèse des principaux types de flavonoïdes (Guignard, 2000 ; Bruneton, 1999).

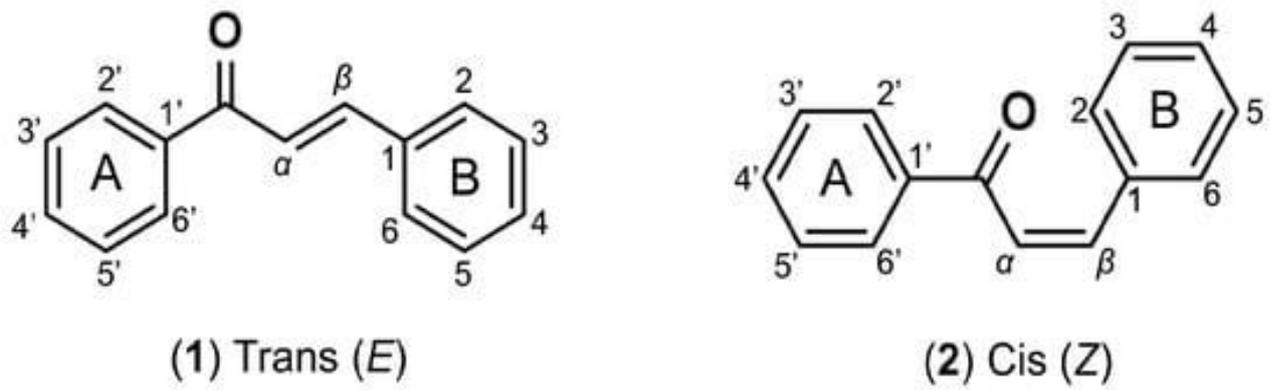


Figure 2 : Représentations structurales et numériques de l'échafaudage chalcone (Gomes et al., 2017).

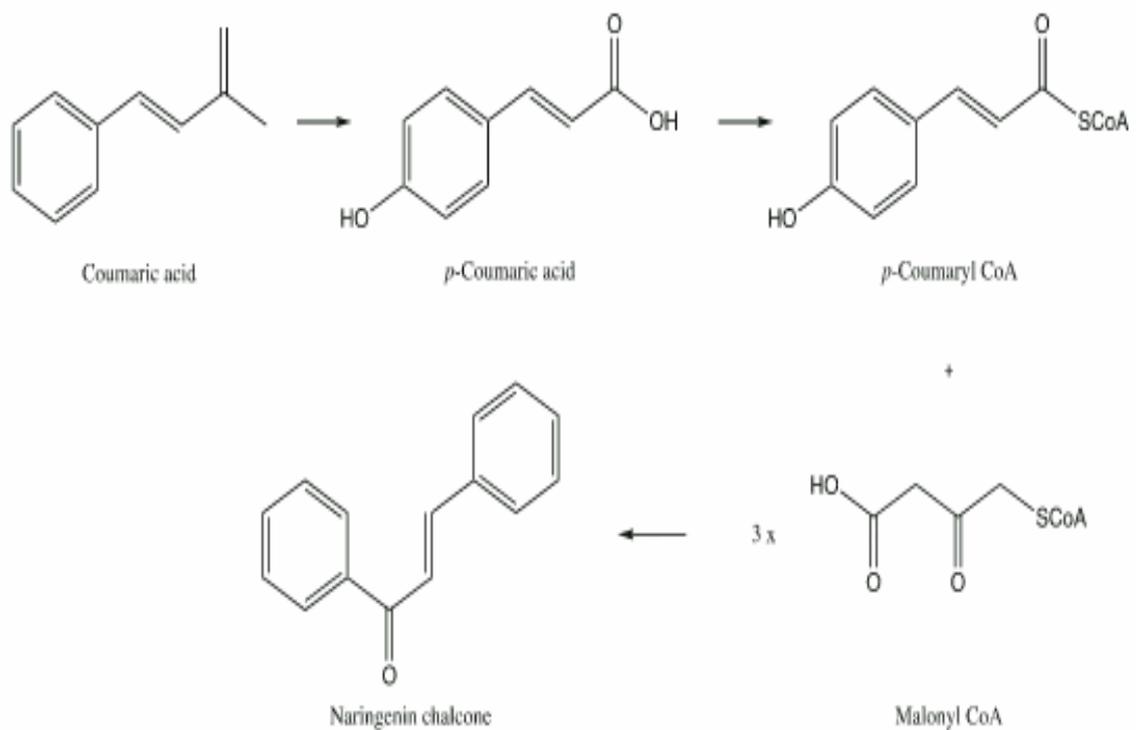


Figure 3 : Réaction chalcone synthase (Mah, 2020).

En bref, la réaction de biosynthèse implique la condensation entre un coenzyme A (CoA)-ester (substrat de départ) de l'acide cinnamique ou ses dérivés tels que l'acide coumarique ou l'acide férulique et trois unités de malonyl-CoA (substrat extenseur) par réaction de décarboxylation. Le produit formé est une chaîne polykétidique linéaire, qui est ensuite cyclisée à travers la chaîne intramoléculaire de Claisen condensation et aromatisation pour donner la naringeninechalcone qui est un composé organique de la famille des flavanones (Dao et al., 2011 ; Jez et al., 2001).

Les chalcones d'origine naturelle ont généralement des cycles aromatiques hydroxylés.

Les plantes les plus courantes pour produire des chalcones naturellement sont mentionnées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Les différentes plantes naturelles.

Nom botanique	Noms communs
Les acacia (Hudson et Lewis, 1983)	Mimosa d'hiver, mimosa des fleuristes
Angelica (Nakata et al., 1999 ; Baba et al., 1990 ; Kozawa et al., 1978)	Angélique des jardins, angélique des prés, herbe du Saint-Esprit, herbe impériale
Carthamus (Obara et Onodera, 1979)	Carthame laineux, chardon béni des parisiens
Myrica (Mathiesen et al., 1996)	Le piment royal, galé odorant, Lorette
Coreopsis (Kim et al., 2019 ; Geissman, 1941)	Coréopsis élégant
Cryptocarya (Fujioka et al., 2010)	le laurier indigène, le hêtre brun, le laurier brun
Desmos (Nakagawa-Goto et al., 2005)	Herbe mauritanien

Bien que les chalcones existent à l'état naturel, ils pourraient être disponibles en plus grande quantité grâce à une synthèse simple et efficace en laboratoire par une réaction générale de condensation de Claisen-Schmidt, L'appellation a été donné ainsi par les deux chercheurs pionniers Claisen et Schmidt. Dans cette réaction l'aldéhyde aromatique est condensé avec une cétone aliphatique ou aromatique par la présence d'un acide ou d'une base **(Patil et al. 2009)**.

Les chalcones naturelles et synthétiques ont montrés d'excellentes propriétés biologiques avec un faible profil de toxicité. La présence du groupe cétoéthylénique serait le principal contributeur de ces activités biologiques, certaines études ayant confirmé que la suppression de ce groupe diminue leurs activités. Le groupe cétoéthylénique fournit un effet de conjugaison entre le groupe carbonyle ($-C=O$) et sa double liaison voisine ($-C=C$). La résonance se produit en raison de la position côte à côte des deux et se traduit par le libre mouvement des électrons autour de ces atomes **(Yuvaraj et al., 2016 ; Mayr et al., 2003)**.

Par conséquent, le groupe céto-éthylénique des chalcones est facilement cyclisé, les composés hétérocycliques se forme par addition de Claisen (addition de 1,2) ou de Michael (addition de 1,4), en fonction des conditions de réaction. Par exemple, les chalcones peuvent être transformées en pyrazoline, oxazoline, thiazine, oxazine, et pyrimidine **(Selvam et al., 2013 ; Hayat et al., 2010 ; Kanagarajan et al., 2010 ; Reddy, 2010 ; Ingarsal et al., 2007)**.

2. Intérêt thérapeutique de la chalcone

La mise en évidence de l'effet thérapeutique des chalcones est signalée par une multitude de publications ; invoquant à titre d'exemples :

Le métochalcone utilisé en thérapie pour traiter l'inflammation de la vésicule biliaire, et l'ictère provenant de l'hépatite (**Dorvault, 1982**), il a été approuvée comme médicament cholérétique (**Sahu et al., 2012**).

L'sobavachalcone (IBC), a eu des remarquable effets comme antifongique, antioxydant anticancéreux, et il a été également trouvé comme inhibiteur des plaquettes d'agrégation (**Tsai et al., 1996**).

L'IBC a aussi été considéré comme une cible prometteuse pour la chimio prévention et le traitement du cancer, des tests ont été réaliser pour but de détecter les effets de l'IBC sur la viabilité et la prolifération des cellules et les résultats ont démontrés que l'IBC a efficacement inhibé la prolifération des cellules du cancer du foie (**Binbin et al., 2019**). Globalement, les données actuelles indiquent que l'IBC peut être un candidat thérapeutique potentiel pour d'autre cancer humain.

De même les chalcones ont été initiés en tant que précurseurs pharmacochimiques potentiels de nouveaux antipaludiques. Le regain d'intérêt en chimie médicinale pour les chalcones ou 1,3-diphényl-2-propène-1-ones est survenu depuis la mise en évidence de la forte potentialité antiplasmodiale de la licochalcone A par (**Chen et al., 1994**), un produit naturel isolé d'une réglisse chinoise. En effet, les chalcones posséderaient de bonnes propriétés anti-infectieuses qui ont été mises à profit pour l'élaboration de médicaments antiviraux, antimicrobiens et antiparasitaires dont des médicaments antipaludiques (**Bijo et al., 2014 ; Jain et Triveti, 2010**).

Yochikawa et son groupe extraient deux nouveaux composants (licogrochalcone A ; licogrocapin) de cellules cultivées à partir de culture cellulaire capillaire de plante (glycyrrhizaglobraleghuminasie) (**Dorvault, 1982**), Ces composés ce sont avéré être efficaces contre le diabète en permettant d'abaissé le taux de glycémie dans le sang (**Kumar et al., 2010**). Des chalcones ont également été reconnues comme des agents médicaux précieux pour les maladies cardio-vasculaires et le dysfonctionnement endocrinien (**Dahr, 1981**) ;

l'hésperidine-méthylchalcon exerce une action thérapeutique dans le traitement des maladies chroniques de l'oeil et des reins, en incluant des maladies rhumatoïdes et l'arthrose. Aussi, des études sur des rats ont également montrés que l'hésperidine-méthylchalcone, incorporée dans l'alimentation à 0,2%, a un effet inhibiteur des caries dentaires **(Liming, 2004)**.

Le sofalcone, autre dérivé synthétique de la chalcone, est considéré comme agent anti-ulcéreux qui augmente la quantité de prostaglandine muqueuse, conférant un effet gastroprotecteur contre *Helicobacter pylori*. **(Higuchi et al., 2010)**.

De même, dans certains pays africains et asiatiques les chalcones sont très utilisées sous forme d'extraits de plantes médicinales principalement dans le traitement de la malaria **(Dominguez, 2005 ; Liu, 2004)**. Elles possèdent en outre des activités anti-inflammatoires **(Viana, 2003)** et antioxydantes **(Yoshimasa, 2003)**.

3. Activités biologiques de la chalcone

Les chalcones et leurs dérivés ont une importance énorme en chimie médicinale en raison de leur large spectre de potentiel thérapeutique et des propriétés pharmacologiques. Les dérivés des chalcones montrent une variété d'activités biologiques grâce à la présence de la double liaison et du groupe carbonyle dans leur conformation (**Rammohan et al., 2019**). Une étude concise sur l'importance biologique des chalcones avec exemples sont résumées dans le tableau 2 (**Zhuang et al., 2017**).

Les agents pathogènes nosocomiaux deviennent une menace croissante pour la santé humaine en raison de la quasi propagation incontrôlée des résistances aux antibiotiques est ceci en raison des lacunes dans le développement de nouveaux antibiotiques et l'utilisation sans restriction des antibiotiques existant en médecine humaine et en élevage dans le monde entier. Cela a conduit à l'évolution des bactéries résistantes aux molécules antibiotiques présente actuellement sur le marchés (**Tacconelli et al., 2017**).

En effet l'OMS en 2017 à rapporter la résistance du *Staphylococcus aureus* (SARM), un commensal opportuniste Gram positif, à la méthicilline.

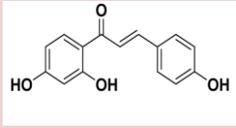
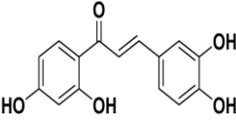
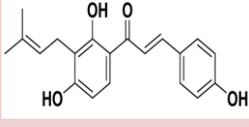
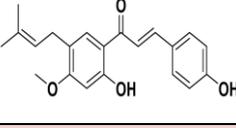
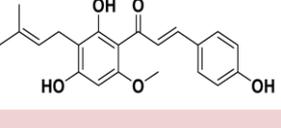
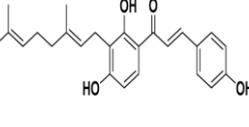
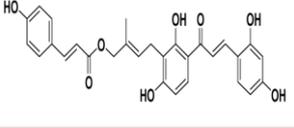
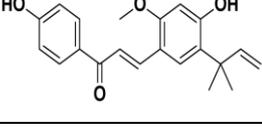
En outre, le SARM est un des agents pathogènes du groupe ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et les espèces d'*Enterobacter*) qui sont à l'origine de la majorité des infections nosocomiales résistantes aux médicaments (**Boucher et al., 2009**).

Pour faire face à ce défi et le relever, il est urgent de mettre en place de nouvelles structures de pointe pour le développement des antibiotiques.

Les composés naturels sont une source intéressante pour le développement de médicaments car leur diversité structurelle fournit de nombreux nouveaux échafaudages pour les antimicrobiens et autres composants bioactifs. Malgré leur large utilisation traditionnelle, les effets de nombreuses plantes médicinales n'ont pas encore été élucidés. C'est pourquoi les produits phytochimiques restent des composés naturels intéressants, offrant de larges bioactivités sous-exploitées (**Richwagen et al., 2019 ; Cushnie et Lamb, 2005**).

Une activité antibactérienne pour les chalcone a été décrite (**Zhuang et al., 2017 ; Inamori et al., 1991**).

Tableau 2 : Dérivés de chalcones (Zhuang et al., 2017).

NOM	STRUCTURE	ACTIVITÉ	SOURCE NATURELLE
Isoliquiritigenin		Anti-cancer Antioxydant Anti-inflammation	Nepalese propolis
Butein		Anti-cancer Anti-inflammation	Rhus verniciflua
Isobavachalcone		Anti-cancer Antibactérienne Antifongique Antioxydant	Psoralea corylifolia (Leguminosae) Kadsura ananosma
Bavachalcone		Antibactérienne	Psoralea corylifolia
Xanthohumol		Anti-VIH Antibactérienne Anti-cancer	HopsHumulus Lupulus/Angelica Keiskei/Koidzumi
Xanthogelol		Antibactérienne	Angelica keiskei/Psoralea corylifolia
Isogemichalcones B		Cytotoxicité	Hypericum Geminiflorum
Licochalcone A		Anti-inflammation Anti-cancer	Glycyrrhiza inflata

Nous rapporterons, pour notre part l'utilisation de la chalcone comme agent antimicrobien en prenant comme exemple le Xanthoangelol. L'évaluation antibactérienne des dérivés de la chalcone révèle deux fractions qui sont essentiels pour l'activité antibactérienne, en premier lieu, le groupe hydroxyle placé soit à la position 2' ou 6' qui est importante pour l'activité, tandis qu'un second groupe hydroxyle en position 4' renforce les effets antibactériens sur les agents pathogènes à Gram positif. Deuxièmement, un substituant lipophile augmente l'activité antibactérienne suggérant que ce substituant est crucial pour la pénétration de la membrane. En outre, l'augmentation d'hydrophile par des groupes hydroxyle supplémentaires élimine l'activité antibactérienne due à la membrane et diminue la capacités de pénétration (**Feng et al., 2014**).

Le Xanthoangelol est un hydroxy chalcone jaune géranylé isolé des fruits d'*Amorpha fruticosa*, un arbuste de la famille des légumineuses (**Muharini et al., 2017**). Cette molécule présente des effets antibactériens à faible concentration micro-molaire contre les bactéries pathogènes à Gram positif tels que le SARM, *Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis* (**Inamori et al., 1991**).

Il a été démontré dans une étude menée par Meiere et ses collaborateurs que le traitement au Xanthoangelol sur des bactéries Gram-positives affecte l'intégrité de la membrane bactérienne et entraîne une fuite des métabolites intracellulaires. C'est en corrélation avec un effondrement rapide du potentiel membranaire et entraîne un effet bactéricide. En effet, le profilage protéomique des cellules traitées au Xanthoangelol a révélé un endommagement au niveau de la membrane de la bactérie et un stress oxydatif. Le Xanthoangelol perturbe spécifiquement la membrane des bactéries Gram-positives potentiellement en formant des pores entraînant une lyse cellulaire (figure 4) (**Meier et al., 2019**). En revanche, le traitement des cellules humaines par le Xanthoangelol n'a montré que des effets légèrement hémolytiques et cytotoxiques à des concentrations plus élevées. C'est pourquoi les chalcones comme le Xanthoangelol restent une source prometteuse pour la production de nouveaux antimicrobiens contre les agents pathogènes à gram-positifs résistants aux médicaments déjà existants (**Meier et al., 2019**).

Les chalcones se relient également à des activités anti-inflammatoires. L'inflammation se définit comme étant la réponse du système immunitaire aux stimuli nocifs, tels que les agents pathogènes, les cellules endommagées, les composés toxiques ou l'irradiation (**Medzhitov, 2010**).

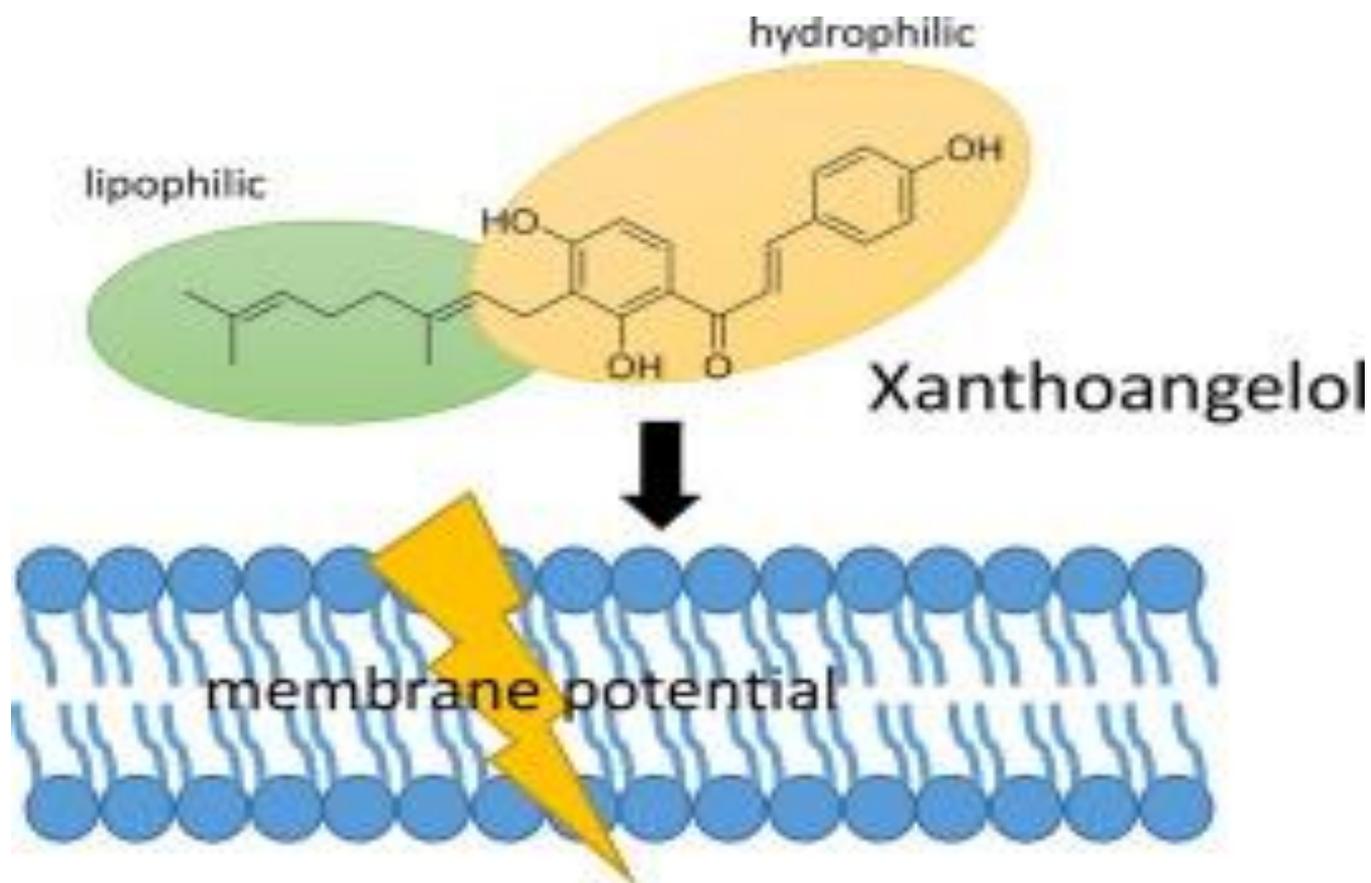


Figure 4 : Effet du Xanthoangelol sur la membrane bactérienne (Meier et al., 2019).

Elle agit en supprimant les stimuli nuisibles en initiant le processus de guérison (**Ferrero-Miliani et al., 2007**).

La réponse inflammatoire est l'activation coordonnée des voies de signalisation qui régulent les niveaux des médiateurs inflammatoires dans les cellules tissulaires résidentes et les cellules inflammatoires recrutées dans le sang (**Lawrence, 2009**). L'inflammation est donc un mécanisme de défense indispensable à la santé, habituellement, pendant les réponses inflammatoires aiguës, les événements et interactions cellulaires et moléculaires minimisent efficacement les blessures ou les infections imminentes (**Nathan et Ding, 2010**).

Ce processus d'atténuation contribue à la restauration de l'homéostasie tissulaire et à la résolution de l'inflammation aiguë. Cependant, une inflammation aiguë incontrôlée peut devenir chronique, contribuant à diverses maladies inflammatoires (**Zhou et al., 2016**).

Elle peut être une forme de pathogénèse courante de nombreuses maladies chroniques, notamment les maladies cardiovasculaires, intestinales, le diabète et l'arthrite (**Libby, 2007**).

Bien que les processus de réponse inflammatoire dépendent de la nature précise du stimulus initial et de son emplacement dans le corps, ils partagent tous un mécanisme commun, qui est initié d'abord par les récepteurs de la surface cellulaire reconnaissent les stimuli nuisibles puis l'activation des voies inflammatoires survient, ce qui provoque la libération des marqueurs inflammatoires et le recrutement des cellules inflammatoires (**Linlin Chen et al., 2018**).

Il a été démontré qu'un certain nombre de dérivés de chalcone naturels et (semi-) synthétiques ont une activité anti-inflammatoire admirable en raison de leur potentiel inhibiteur contre diverses cibles thérapeutiques telles que la cyclooxygénase (COX), la lipooxygénase (LOX), les interleukines (IL), les prostaglandines (PG), les nitriques, l'oxyde synthase (NOS), leucotriène D4 (LTD4), facteur nucléaire- κ B (NF- κ B), molécule d'adhésion cellulaire intracellulaire-1 (ICAM-1), molécule d'adhésion de cellules vasculaires-1 (VCAM-1), protéine chimioattractrice monocyte-1 (MCP-1), etc. L'échafaudage des chalcones avec substitution hydroxyle, méthoxyle, carboxyle, groupe prényle et / ou hétérocycle a montré une activité anti-inflammatoire prometteuse (figure 5) (**Debarshi et al., 2017**).

Ce phénomène a mené les chercheurs à étudier des dérivés de chalcones pour leurs activités anti-inflammatoires et aussi pour leur activité inhibitrice de plusieurs facteurs impliqués dans le désordre de l'inflammation dont, l'isoliquiritigénine (ISL), qui est une chalcone isolée des racines de réglisse (**Peng et al., 2015 ; Wang et al., 2015**). L'ISL a été considéré comme un candidat puissant ayant un effet anti-inflammatoire et immunomodulateur sur le système digestif et le système cardiovasculaire (**Nakamura et al., 2018 ; Wang et al., 2015**).

Des études récentes ont rapporté que l'ISL pourrait activer PPAR- γ (qui est un récepteur nucléaire participant au contrôle des mécanismes anti-inflammatoires) (**Zhang et al., 2018**) et inhiber le facteur nucléaire κ amplificateur de chaîne légère des cellules B activées par la voie des (NF- κ B) (**Liu et al., 2017**) pour protéger l'organe pulmonaire contre les lésions pulmonaires aiguës. Les chercheurs pensent également qu'il s'agit d'un puissant inducteur de Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2) ce dernier joue un rôle essentiel dans la protection contre le stress oxydant (**Hou et al., 2018 ; Ji et al., 2017**).

Ces études indiquent que l'ISL a des effets anti-inflammatoires sur les principaux organes.

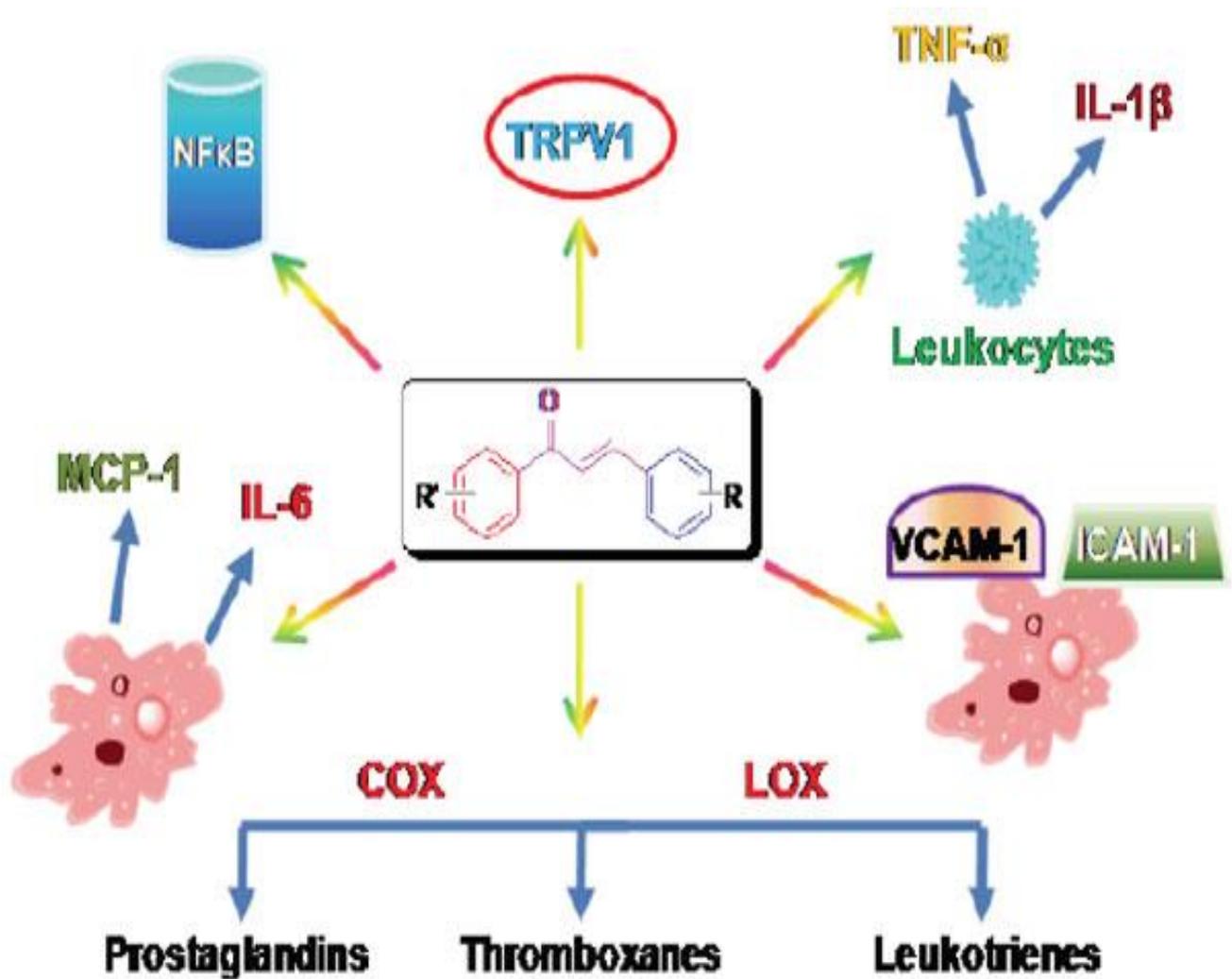


Figure 5 : Chalcone agissant sur diverses cibles moléculaires impliquées dans l'inflammation (Debarshi et al., 2017).

Pour démontrer le rôle et les effets de l'ISL sur les lésions rénales aiguës (IRA) induites par la septicémie, des chercheurs ont établi un modèle IRA murin par injection de lipopolysaccharides (LPS) qui a été utilisé dans de nombreuses recherches pour induire l'inflammation (Zhang et al., 2017 ; Xu et al., 2014).

Dans le processus pathologique de IRA induite par le LPS, une vacuolisation pouvait être trouvée dans les cellules tubulaires rénales, indiquant une lésion rénale modérée/sévère. L'injection de LPS a également augmenté de manière significative le niveau de la créatinine et de l'urée sérique. Cependant, le traitement ISL améliorait le dysfonctionnement rénal en réduisant le niveau de la créatinine et de l'urée sérique. Il a également atténué la

lésion tubulaire rénale suite à l'induction du LPS. Les résultats de cette recherche suggèrent le rôle puissant de l'ISL contre l'IRA septique, en particulier, ils ont révélé le rôle protecteur de l'ISL contre la polarisation des macrophages, l'activation des neutrophiles et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires déclenchées par la translocation de NF- κ B dans l'inflammation rénale aiguë induite par le LPS (**Yun et al., 2018**).

Il est primordial de rapporter l'activité antioxydante des chalcones. Le stress oxydatif survient lorsque la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) submerge les défenses anti-oxydantes intrinsèques. Les ERO jouent un rôle important en tant que seconds messagers dans de nombreuses cascades de signalisation intracellulaire visant à maintenir la cellule en homéostasie avec son environnement immédiat. À des niveaux plus élevés, ils peuvent causer des dommages aveugles aux molécules biologiques, entraînant une perte de fonction et même la mort cellulaire (**Burton et al., 2011**).

L'oxygène présente à la fois des avantages positifs et des effets secondaires potentiellement dommageables pour les systèmes biologiques. La réactivité permet à l'oxygène de participer aux transferts d'électrons à haute énergie, et donc de soutenir la génération de grandes quantités d'adénosine-5-triphosphate (ATP) par phosphorylation oxydative. Ceci est nécessaire pour permettre l'évolution d'organismes multicellulaires complexes, mais les rend également susceptibles d'attaquer toute molécule biologique, que ce soit une protéine, un lipide ou un ADN. Par conséquent, notre corps est soumis à une attaque oxydative constante des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Un système complexe de défenses antioxydantes maintient généralement cette attaque en équilibre. Parfois, cet équilibre peut être perturbé, entraînant un stress oxydatif (**Halliwell et Gutteridge, 1999**).

L'Exposition aux radicaux libres provenant de diverses sources a conduit les organismes à développer une série de mécanismes de défense (**Cadenas, 1997**).

En effet, afin de contrecarrer l'action des ERO, notre organisme dispose d'un système de défense représenté par les antioxydants qui peuvent être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (**Berger, 2006**).

Les défenses antioxydantes regroupe des antioxydants enzymatiques comprennent le superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx), la catalase (CAT) et les

antioxydants non enzymatiques qui sont représentés par acide ascorbique (Vitamine C), tocophérol (Vitamine E), glutathion (GSH), caroténoïdes, flavonoïdes et autres antioxydants. Dans des conditions normales, il existe un équilibre entre les activités et les niveaux intracellulaires de ces antioxydants. Cet équilibre est essentiel pour la survie des organismes et leur santé (**Masella et al., 2005**).

On compte parmi les sources biologiques importante d'ERO la xanthine-oxydase qui est une enzyme indispensable au métabolisme des purines, Elle catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et de la xanthine en acide urique produisant ainsi des radicaux superoxydes (**Moussard, 2006**). Des recherches menées sur 3,3',4,4'-tetrahydrochalcone à travers des essais sur des rats, ont abouties a des résultats qui démontre une bonne activité inhibitrice de la xantine oxydase (**Beiler et Martin, 1951**). D'autre teste de la naringénine-chalcone, l'hesperidine-chalcone et la phoridzine qui est un dihydrochalcones effectué sur des rats ont aussi démontrés les mêmes activités inhibitrices de la xantine oxydase (**Beiler et al., 1952**).

Par ailleurs, il a été montré que l'activité antioxydante des chalcones est due principalement aux groupements OH greffés sur les cycles aromatiques (**Haenen et al., 2001**).

L'activité antioxydante des chalcone s'assigne a la présence des différent groupe fonctionnelle quelle comporte, les concentrations nécessaires pour inhiber 50% (CI50) de radicaux peroxydites (ONOO^{\bullet}) et de la peroxydation lipidique sont présenté en un aperçue générale dans la figure 6. Les résultats montrent que le groupe phénol ne présentant qu'un seul groupe OH, est un faible antioxydant. Plus on augmente le nombre de groupements OH, plus l'activité antioxydante augmente : phloroglucinol > résorcinol > phénol. Elle est encore plus importante en présence du groupe carbonyle (2,4,6-trihydroxyacétophénone). La phlorétine (une dihydrochalcone) présente une forte activité antioxydante, et inhibe la peroxydation lipidique (figure 6).

La forte activité de la 2,6-dihydroxyacétophénone est due à la stabilisation de son radical par tautomérie. La CI50 de la phlorétine est de 3,1 μM pour l'inhibition du (ONOO^{\bullet}) et 24 μM pour l'inhibition de la LPO (figure 6). Le remplacement de deux groupes OH par le glucose dans la phloridzine diminue les activités antioxydantes par rapport à la phlorétine. Les groupes hydroxyles du sucre n'ont aucun rôle dans l'activité antioxydante de la phloridzine, la CI50 du glucose étant de plus de 1000 μM (**Rezk, 2002**).

Concernant l'activité anticancéreuse, plusieurs études ont rapporté que les chalcones peuvent être classées parmi les molécules ayant présenté une propriété de suppression des cellules tumorales.

Le cancer naît d'une seule cellule, les tumeurs malignes qui sont décrites comme étant monoclonales, ce qui signifie que chaque tumeur provient d'une seule cellule. Le développement d'une tumeur maligne à partir d'une cellule normale s'étale généralement sur une période considérable de notre vie (**Miller, 1979**).

Cependant, l'efficacité des traitements conventionnels contre le cancer n'est pas toujours optimale et la recherche de nouvelles molécules naturelles, possédant des propriétés anticancéreuses et n'induisant pas d'effets secondaires, est donc d'un intérêt majeur.

De nombreux médicaments anticancéreux cliniquement efficaces sont eux-mêmes des produits naturels ou ont été développés à partir de composés principaux d'origine naturelle (**Kinghoru et al., 1993**).

Bien que des chalcones antimitotiques aient été identifiées dans les années 1980 (**Edwards et al., 1990**), des efforts considérables sont encore consacrés à l'identification de nouvelles pistes à base de chalcones dans le domaine de l'oncologie, en raison de leurs vastes propriétés anticancéreuses et de leur simple synthèse. Les progrès les plus récents comprennent les agents photodynamiques (**Tuncel et al., 2012**), les chalcones dihalogénées (**Dyrager et al., 2011**) et les dérivés peptidiques (**Rodrigues et al., 2011**) et d'acide boronique (**Kong et al., 2010**).

Un flavonoïde se distingue des autres molécules naturelles par ses nombreux effets thérapeutiques potentiels, l'isoliquiritigénine (ISL). Cette chalcone naturellement présente dans la racine de réglisse, possède de nombreuses propriétés, incluant une activité anti-tumorale (**Michael et Murray, 2020**).

L'ISL a présenté une activité anticancéreuse significative par le biais de divers mécanismes, tels que la suppression de la prolifération, l'induction de l'apoptose et/ou l'autophagie, et l'inhibition de la migration et l'invasion dans diverses cellules cancéreuses. Cependant, les essais cliniques utilisant l'ISL contre le cancer n'ont pas été initiés. Sans aucun doute, des études *in vitro* et *in vivo* ont démontré le potentiel de l'ISL pour la prévention et le traitement de différents types de cancers (**Cuendet et al., 2010**).

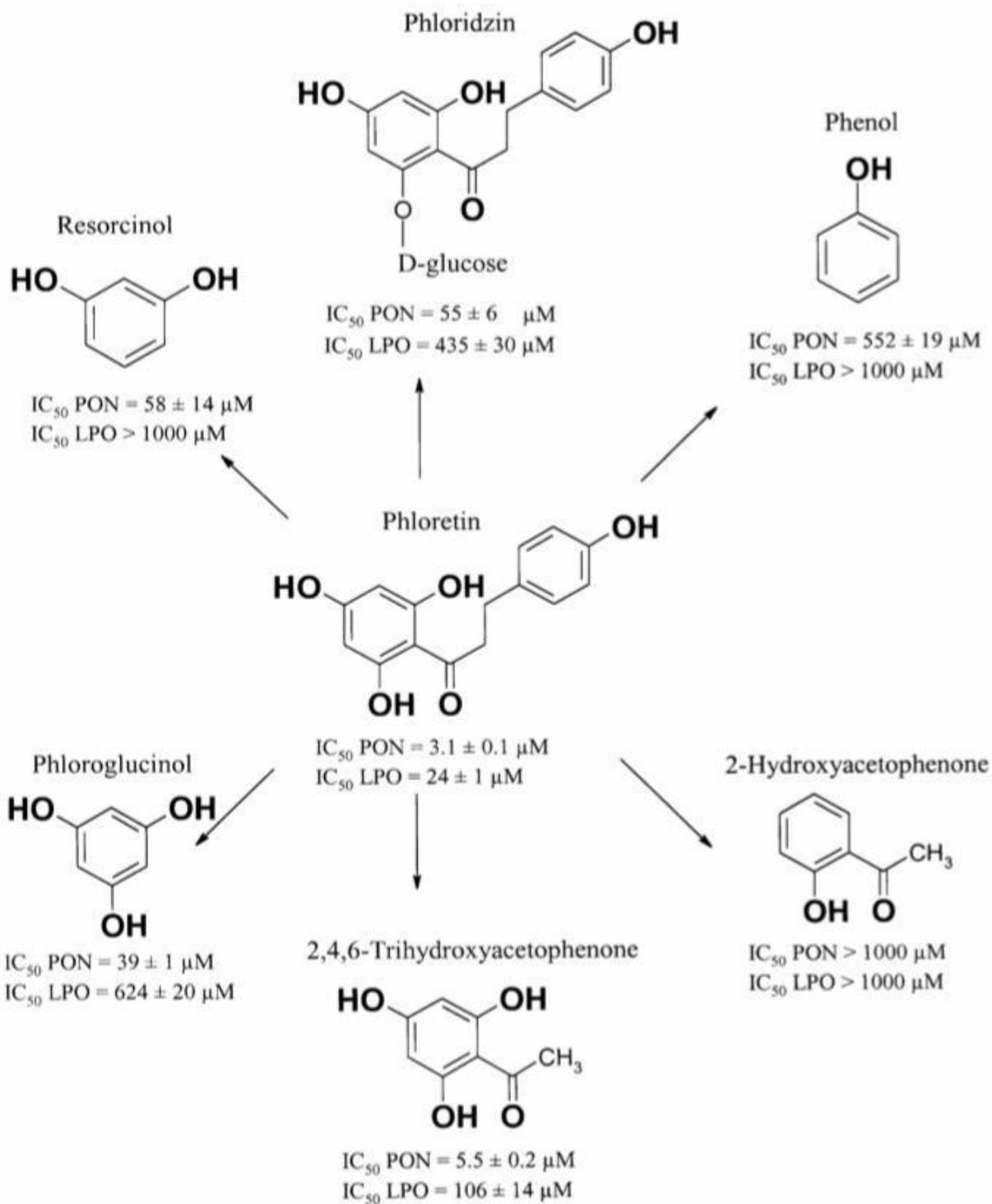


Figure 6 : Comparaison de l'activité antioxydante des dihydrochalcones (phlorétine et phloridzine) et de quelques phénols. L'activité est exprimée par la concentration nécessaire pour inhiber 50% du peroxynitrite (PON) et la peroxidation lipidique (LPO) (Rezk, 2002).

Un effet de cytotoxicité sélectif de l'ISL a été rapporté et la dose efficace dans les lignées cellulaires tumorales montre très peu d'effet cytotoxique sur les cellules normales (**Wang et al., 2021**).

La plupart des études ont affirmé que l'ISL inhibe de manière significative la viabilité des cellules cancéreuses mais a peu de toxicité sur les cellules normales. Par exemple, Wu et ses collaborateurs ont comparé les cellules stromales de l'endomètre humaines (T-HESC ; en tant que contrôle) et les lignées cellulaires de cancer de l'endomètre humain (cellules Ishikawa, HEC-1A et RL95-2), leurs résultats ont indiqué que l'ISL inhibe la croissance des cellules cancéreuses à des concentrations inférieures à 27 M, mais a peu d'effet sur les cellules normales (**Wu et al., 2016**). De plus une autre étude menée par Na et ses collaborateurs affirme que l'ISL montre peu de toxicité sur les lignées cellulaires d'hépatocytes normaux (AML-12) ; ce n'est que lorsqu'il est appliqué à des concentrations supérieures à 100 μ M que l'ISL est nocif pour les hépatocytes normaux (**Na et al., 2018**). La plupart des études se sont concentrées sur la cytotoxicité entre les cellules tumorales et normales.

Cependant les effets de l'ISL sur les cellules normales restent inconnus comme l'a mentionné Peng, des recherches supplémentaires sur la toxicité pour les organes cibles et pour l'évaluation des effets secondaires de l'ISL sont nécessaires (**Peng et al., 2015**).

Matériels et méthodes

Notre travail expérimental a été réalisé au niveau du laboratoire de l'université de BELHADJ BOUCHAIB Ain Témouchent.

1. Détermination de l'activité cytotoxique anti-hémolytique, anti-inflammatoire et antioxydante de la chalcone :

1.1 Préparation de la suspension des globules rouges humains (GRh)

8 ml de sang frais sont récupérés dans des tubes héparinés, au niveau du laboratoire où la prise de sang a été effectuée, sur des volontaires.

Les différents échantillons de sang humain récupérés sont centrifugés à 3000 rpm, pendant 15 min, afin d'éliminer le plasma et les cellules polynucléaires. Ensuite, le culot de globules rouges est lavé trois fois, avec un volume équitable de solution iso-saline. Après cette étape, le volume a été mesuré et reconstitué sous forme de suspension de 10 % (v/v) (GRh), avec une solution iso-saline et utilisé immédiatement.

1.2 Test de cytotoxicité de la chalcone

Un test de toxicité est nécessaire, afin de cibler les concentrations à utiliser. Le principe est de mettre en contact des hématies avec la chalcone, à différentes concentrations (30-110 μM), dans une solution isotonique et de suivre le taux d'hémoglobine libérée par les cellules hémolysées, afin d'évaluer la cytotoxicité de la chalcone, vis-à-vis, des GRh.

D'après le protocole de (**Bulmus *et al.*, 2003**) un volume de 1,6mL de la chalcone a différents concentration est mélangé avec un volume de 0,4ml de la suspension de GRh (10%). Le mélange réactionnel est incubé dans divers condition à 37°C, pendant 30min, puis 47°C pendant 20min et 57°C pendant 10min ensuite centrifugé à 3000rpm pendant 10min et l'absorbance de l'hémoglobine libérée est mesuré à 560nm. Parallèlement, et dans les mêmes conditions, deux contrôles sont réalisés en remplaçant la chalcone avec de l'eau physiologique (contrôle négatif) ou avec de l'eau distillée (contrôle positif correspondant à 100% d'hémolyse). Le pourcentage d'hémolyse est calculé à partir de la formule suivante :

% d'hémolyse = (At /Ac) X 100 (Ac = Absorbance du contrôle positif ; At = Absorbance du test).

1.3. Évaluation de l'activité anti-hémolytique, *in vitro*, de la chalcone par la méthode de stabilisation membranaire des globules rouges

Le principe de cette méthode est basé sur la capacité de la chalcone à empêcher l'hémolyse des GRh, induite par l'hypotonie et la chaleur et donc prévenir la libération de l'hémoglobine (**Sadique et al., 1989 ; Oyedapo et al., 2010**). Le milieu réactionnel qui contient 0,5mL de la chalcone, à différentes concentrations (30-90 μ M), est mélangé avec 1,5mL du tampon phosphate (0,9% NaCl, pH=7,4) et 2ml d'une solution hypo-saline (0,36% NaCl), est incubé dans divers condition a 37°C pendant 20min et 47°C pendant 10min puis 27°C pendant 30 min. Ensuite 0,5mL de la suspension de GRh (10%) sont ajoutés à chaque concentration et une deuxième incubation est réalisée à 56°C pendant 1h, 76°C pendant 40min et 96°C pendant 20min.

Finalement, les tubes sont refroidis sous l'eau courante et suivis par une centrifugation à 2500rpm pendant 5min. Les absorbances du surnageant sont mesurées à 560nm. En parallèle, un contrôle est réalisé en remplaçant la chalcone avec 0,5mL d'Ibuprofène à différents concentration. Le pourcentage de stabilité membranaire est estimé à partir de l'expression suivante :

$$\% \text{ de stabilité membranaire} = (Ac - At / Ac) \times 100 \text{ (Ac : absorbance du contrôle ;}$$

At : absorbance du test).

1.4. Activité Anti-inflammatoire de la chalcone

La dénaturation des protéines est l'une des causes de l'inflammation (**Williams et al., 2008**). Des études ont évalué l'effet inhibiteur de différents extraits de plantes sur l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de la dénaturation des protéines (**Bouhlali et al., 2016**). L'activité anti-inflammatoire *in vitro* de la chalcone est effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (**Chandra et al., 2012**).

4 tubes sont préparés :

1. La solution d'essai : composée de 0,45ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA 5%) et 0,05ml de chalcone avec une concentration de (30 μ M - 90 μ M). (Test solution).
2. La solution test contrôle : 0,45ml de la solution aqueuse de BSA 5% et 0,05ml d'eau distillé. (Test control).

3. La solution contrôle produit : 0,45ml d'eau distillé et 0,05ml de chalcone avec une concentration de (30µM - 90µM). (Control).

4. La solution standard test : 0,45ml de la solution aqueuse de BSA 5% et 0,05ml de la solution d'Ibuprofène avec une concentration de (30 µM – 90 µM). (Étalon).

Ces quatre solutions sont ajustées à Ph=6,3 par une solution d'HCL (1N). Après l'incubation des échantillons à 37°C pendant 20min, 27°C pendant 30min ensuite la température est augmentée pour garder les échantillons respectivement à 57°C pendant 3min, 47°C pendant 13min. Après refroidissement des tubes, 2,5ml de la solution tampon phosphate saline (pH=6,3) est ajoutée aux solutions. L'absorbance est lue par le spectrophotomètre UV – visible à 416nm. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 - [(\text{DO test solution} - \text{DO control} / \text{DO test control})] \times 100$$

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées ; et les résultats sont comparés avec l'anti- inflammatoire de référence, Ibuprofène.

1.5. Test de l'inhibition de la peroxydation lipidique

L'inhibition de la peroxydation des lipides est déterminée par le dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) par l'utilisation du jaune d'oeuf comme une source riche en lipide selon la méthode de (**Wong et al., 1995**). Le jaune d'oeuf est utilisé à une concentration de 10% (p/v) dans un KCL (1,15%, p/v). Cette homogénéisation qui se fait pendant 30s, est suivie par un traitement aux ultrasons pendant 5min. 500µL de la solution jaune d'oeuf à 10% (p/v) et 100µL de chalcone solubilisés dans méthanol à différentes concentrations, sont mis dans des tubes à essai et complétés à 1ml avec de l'eau distillée, avec l'addition de 1,5ml d'acide acétique à 20% (pH=3,5) et 1,5ml de solution d'acide thiobarbiturique (TBA) (préparée avec 0,8g de TBA et 1g de dodécylsulfate de sodium SDS dans 100ml H₂O).

Ce mélange est agité dans un vortex, et chauffé à 95°C pendant 1h. Après refroidissement à température ambiante, 5ml de butanol sont ajoutés dans chaque tube, agité et centrifugé à 3000 tours pendant 10min. L'absorbance du surnageant est mesurée à 532nm en utilisant un spectrophotomètre. Un contrôle est réalisé en remplaçant la chalcone par de l'eau distillée (correspond à 100% de peroxydation). Le pourcentage d'inhibition est calculé comme suit :

$$\% \text{ D'inhibition} = 100 - \left(\frac{\text{DO du teste}}{\text{DO du control}} \times 100 \right).$$

Résultats et interprétations

1. Test de cytotoxicité de la Chalcone

Le test in vitro de cytotoxicité représentée par le pourcentage d'hémolyse des globules rouges humain (GRh) est effectué en utilisant des GRh d'un donneur sain en bonne santé. Différentes concentrations de l'acide gallique (Ac. gallique) (polyphénol de référence) et de la Chalcone sont testées. Le pourcentage de l'hémolyse est évalué, en mesurant l'absorbance de l'hémoglobine libérée des globules rouges par hémolyse, en comparaison aux concentrations en Ac. gallique équivalentes. Les résultats obtenus sont représentés dans la (figure 7).

Nos résultats montrent que la Chalcone à la concentration de 30 μM et 50 μM présente un pourcentage d'hémolyse de 26,2% et 33,7% respectivement ce qui est pratiquement similaire a celui de l'acide gallique qui est de 20% et 28,1% respectivement, cependant a la concentration de 70 μM , on constate que l'effet hémolytique de la Chalcone est passé a 49,3% versus 33,8 pour l'Acide gallique et qui est hautement significatif.

Par ailleurs, on note qu'à la concentration de 90 μM , l'effet hémolytique de la Chalcone est passé à 73,2% versus 41,2% pour l'Acide gallique, aussi pour la concentration de 110 μM la chalcone montre un pourcentage d'hémolyse de 97,3% contre 63,4% pour l'Ac. gallique.

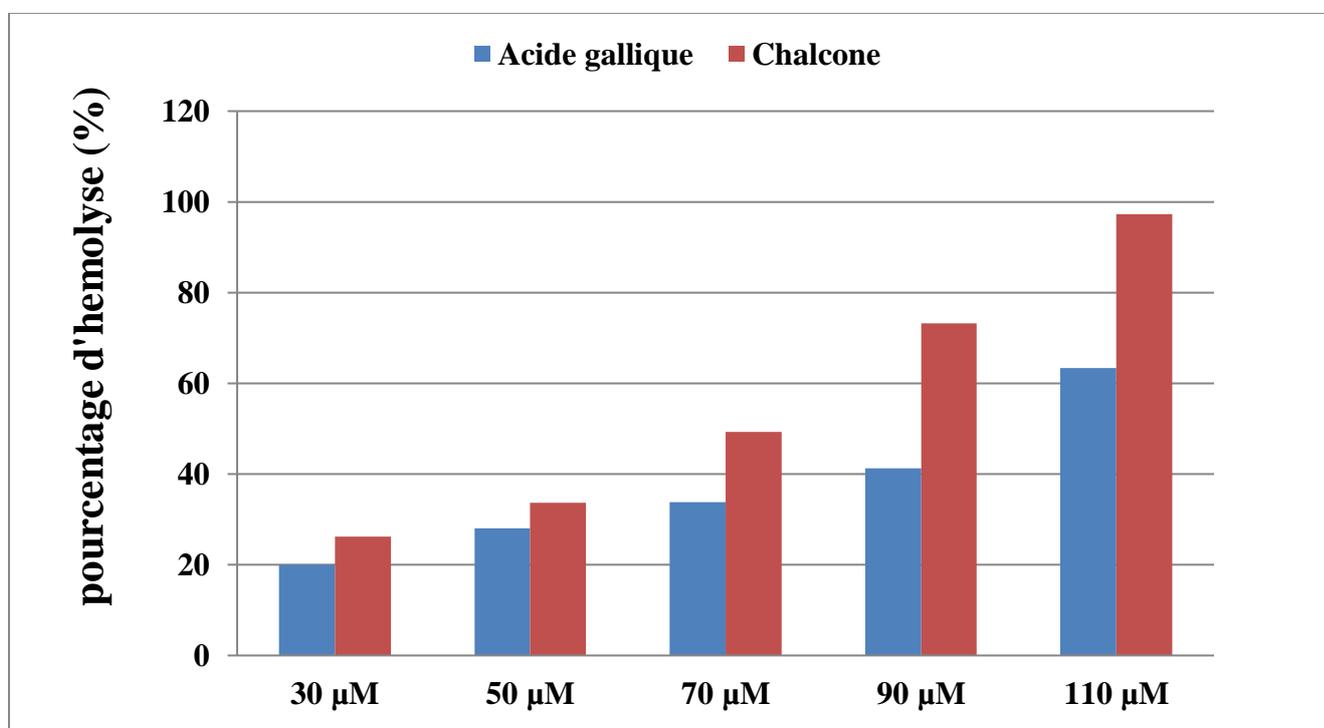


Figure 7 : Comparaison en % du taux d'hémolyse provoqué par la Chalcone et l'Ac. Gallique.

2. Test anti-hémolytique (stabilisation membranaire des globules rouges) de la Chalcone

L'étude in vitro de l'activité anti-hémolytique de la Chalcone est réalisée en utilisant la méthode de stabilisation de la membrane des GRh. L'évaluation de la stabilisation membranaire est mesurée par le taux de libération de l'hémoglobine à 560 nm pour chaque concentration de chalcone et en les comparant à deux molécules de référence, à savoir le l'Ibuprofène qui est un médicament anti-inflammatoire et anti-hémolytique et l'acide gallique étant un polyphénol à activité anti-hémolytique. Les résultats obtenus sont représentés dans la (figure 8).

Nos résultats montrent que la Chalcone a la concentration de 30 μM et 50 μM marque un pourcentage de stabilité membranaire de 38,9% et 52,5% respectivement et qui est supérieure au pourcentages de l'acide gallique et l'Ibuprofène au mêmes concentrations, Cependant on constate que lorsque on dépasse 50 μM , à la concentration de (70 μM) la Chalcone présente un effet anti-hémolytique protecteur et stabilisateur des membranes des GRh avec un pic de protection de 70,3% ce qui est hautement significatif comparé a l'acide gallique et a l'Ibuprofène, par contre a la concentration de 90 μM le pourcentage de stabilités membranaire de la chalcone diminue significativement pour atteindre un pourcentage de 21,4%.

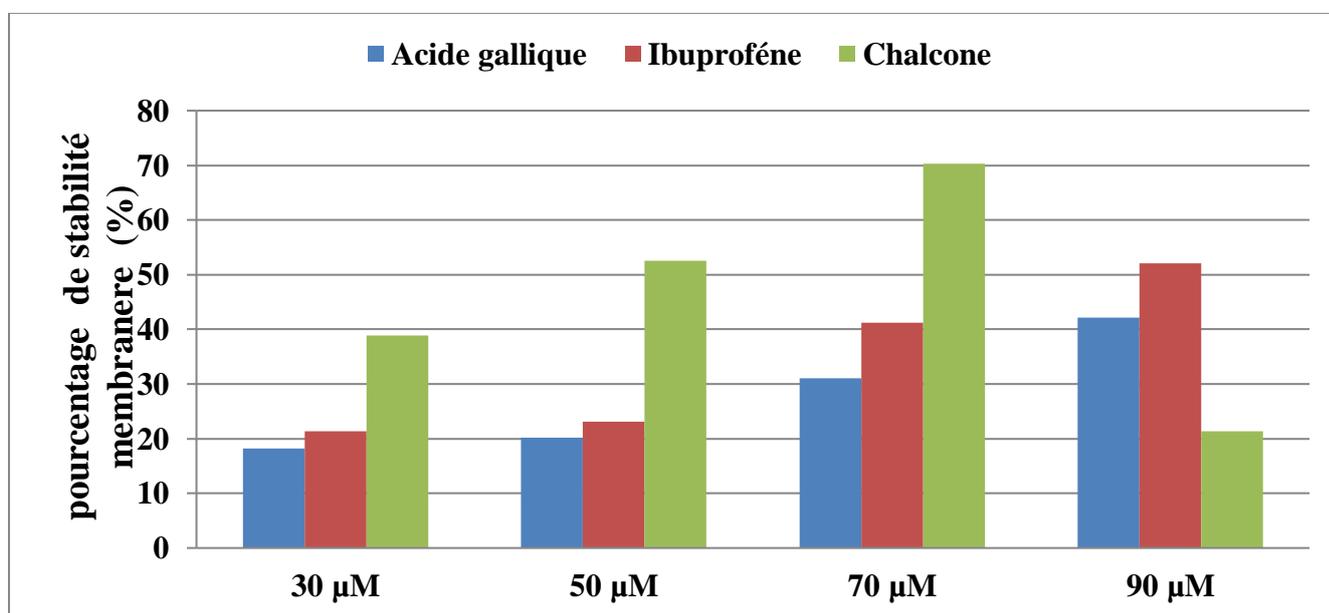


Figure 8 : Comparaison de l'activité anti-hémolytique de l'acide gallique, d'Ibuprofène et de la Chalcone.

3. Activité anti-inflammatoire de la Chalcone

La méthode de l'inhibition de la dénaturation protéique est la plus convenable pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de notre molécule. La protéine utilisée pour ces tests est le sérum albumine bovine (SBA). Les résultats de l'inhibition de la dénaturation de la SBA sont donnés dans la (figure 9).

Nos résultats montrent que le pourcentage d'inhibition protéique de la Chalcone augmente à la concentration de 30 μM et 50 μM et commence à diminuer à 70 μM et 90 μM , On constate que l'activité anti-inflammatoire et plus importante à 30 μM , elle est de 71,6% mais elle reste aussi importante avec un pourcentage de 54,2% à la concentration 50 μM versus 99,18% pour l'ibuprofène.

Cependant pour la concentration de 70 μM le pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique est de 37% comparé à l'ibuprofène qui est de 68,83%.

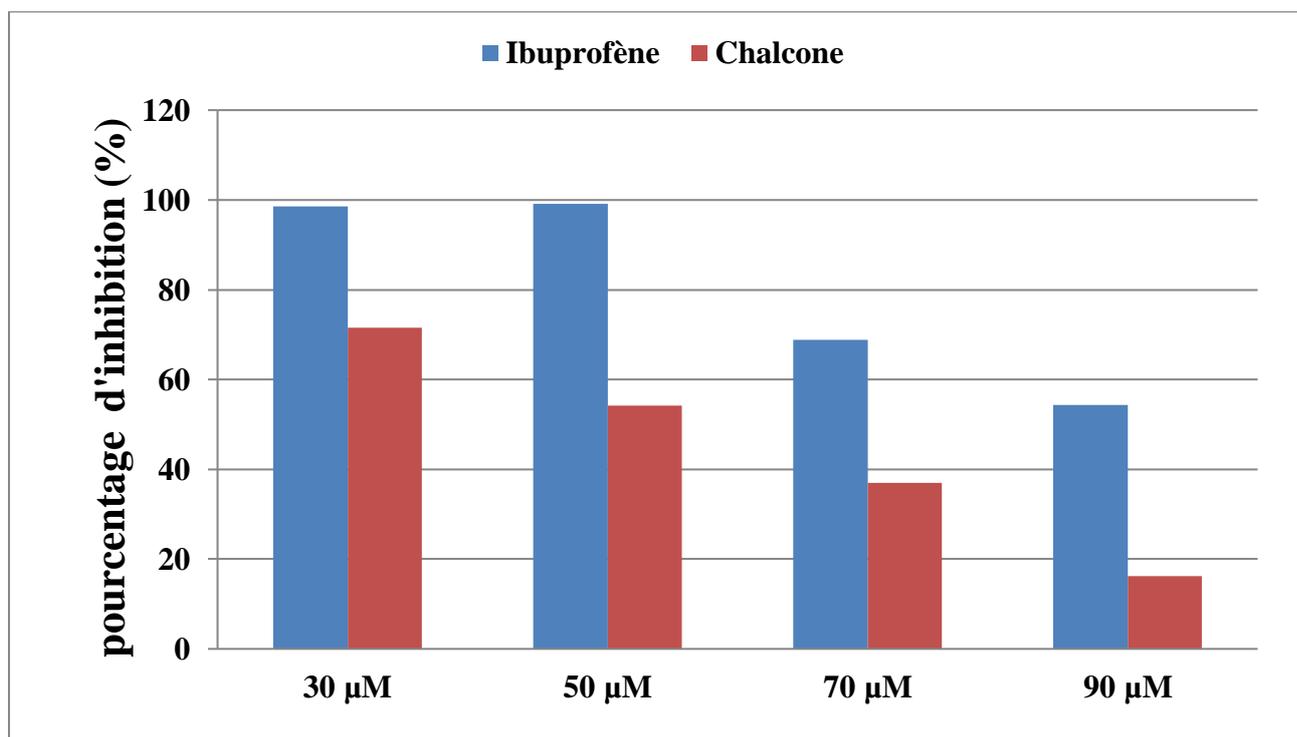


Figure 9 : Comparaison de l'inhibition de la dénaturation protéique par l'Ibuprofène et la Chalcone.

4. Test de l'inhibition de la peroxydation lipidique par la Chalcone

La capacité d'inhibition de la peroxydation lipidique de la Chalcone est déterminée par la méthode utilisant le dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) et le jaune d'oeuf comme une source riche en lipides. L'effet de la Chalcone est testé à différentes concentrations (entre 30-90 μM). Les résultats sont présentés dans la (figure 10).

Nos résultats montrent que la Chalcone représente un taux décroissant, plus la concentration de la Chalcone est faible plus l'inhibition de la peroxydation lipidique est positive, pour atteindre un taux maximal d'inhibition de 73 % à la concentration de 30 μM .

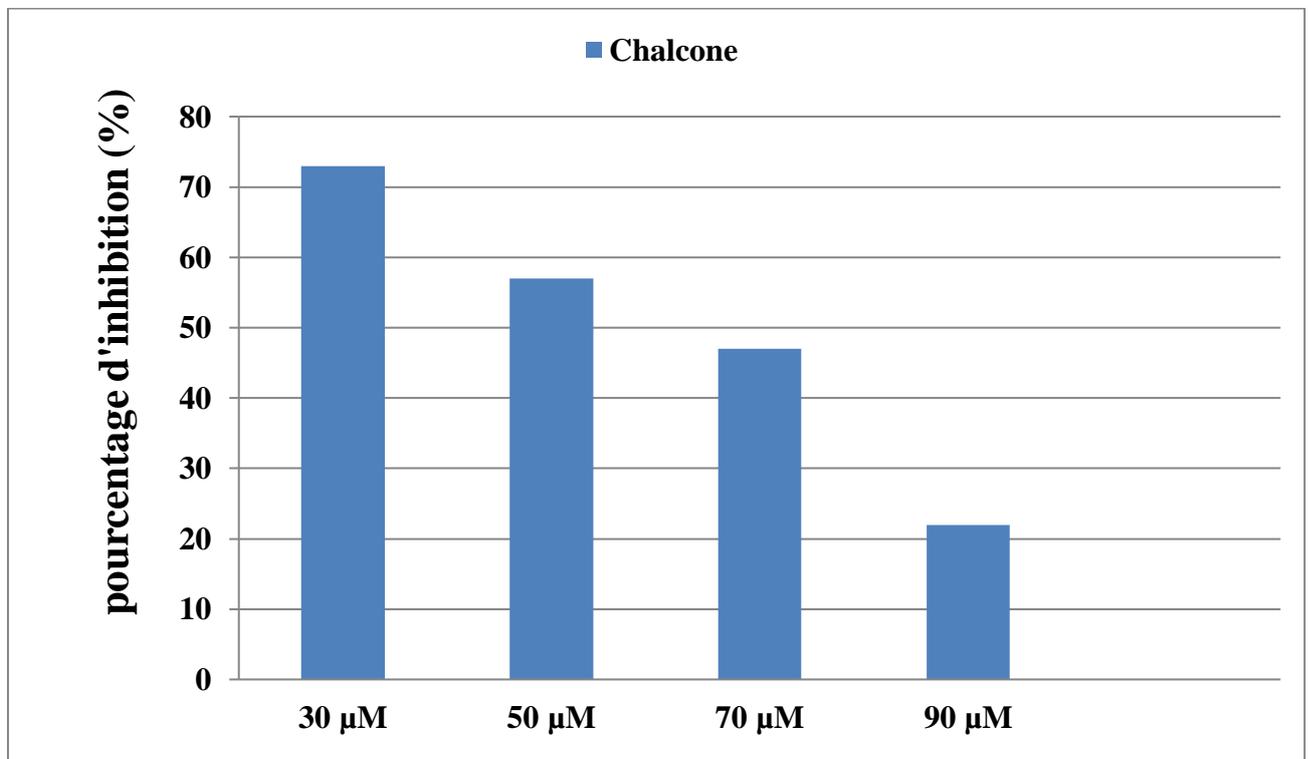


Figure 10 : Inhibition de la peroxydation lipidique par la Chalcone.

Discussion

La chalcone ou 1,3-diphényl-2-propène-1-one est une structure comprenant deux cycles aromatiques reliés entre eux par un pont carbonyle α,β insaturé à trois carbones. Elle est souvent reconnue comme un produit naturel en raison de son existence dans la nature sous diverses formes libres, complexes et hybrides (**Debarshi et al., 2019**).

De nombreuses chalcones ont été isolées à partir de sources végétales naturelles (**Sahu et al., 2012**). Cependant, les dérivés synthétiques de chalcone avec diverses substitutions au niveau des cycles benzéniques ou avec des analogues hétérocycliques ont également été préparés en laboratoire (**Gomes et al., 2017**). Du point de vue synthétique, l'avantage est la polyvalence structurelle générée par des procédures synthétiques relativement simples (**Mahapatra et al., 2017 ; Gomes et al., 2017 ; Ritter et al., 2014**). Les chalcones et leurs dérivés font l'objet d'une attention croissante en raison de leurs implication dans diverses activités biologiques telles que les agents antituberculeux, antiviraux, anti-inflammatoires, antiplaquettaires, antipaludiques, inhibiteurs de la tubuline, agents anti-leishmaniens et autres (**Polo et al., 2019**).

Bien que les plantes soient une riche source de molécules chimiques bénéfiques de diverses structures avec différentes propriétés pharmacologiques sur les systèmes biologiques (**Nisar et al., 2018 ; Valli et al., 2018**), certaines plantes peuvent être toxiques pour l'homme. Par exemple, certaines des toxicités liées à l'utilisation de substances présente dans les plantes médicinales mène a la destruction des globules rouges (**Nondo et al., 2015**).

L'étude de la cytotoxicité des extraits de plantes, *in vitro*, en utilisant les globules rouges comme modèle a été largement utilisée (**Novaes et al., 2007**). En effet, les érythrocytes représentent un bon modèle pour évaluer la cytotoxicité des molécules, organiques et inorganiques, naturelles ou synthétiques, par la mesure des dommages cellulaires, avant toute investigation sur le mécanisme d'action de différentes molécules, il est important de réaliser un test de cytotoxicité. Parmi les différents tests de cytotoxicité permettant d'évaluer une éventuelle toxicité au niveau des globules rouges, on trouve le taux d'hémolyse (**Pagano et Faggio, 2015**).

Cet essai est basé sur l'évaluation des altérations des membranes des globules rouges en présence d'une éventuelle substance et donc permet d'évaluer l'effet de différentes concentrations de biomolécules sur les érythrocytes humains (**Kumar et al., 2011**).

Toute altération au niveaux de la structure de la membrane plasmique des globules rouges entraîne des signes évidents de souffrance cellulaire. Une méthode d'évaluation de la toxicité est basée sur la mesure de l'efflux d'hémoglobine des globules rouges en suspension. L'hémolyse, et donc la perte d'hémoglobine (**Pagano et Faggio, 2015**).

Selon nos résultats on constate que l'effet cytotoxique de la chalcone à la concentration de 110 μM provoque 97,3% d'hémolyse et ne doit donc pas être utilisés à cette concentration. La chalcone provoque par contre un pourcentage d'hémolyse d'environ 26,2 % à la concentration de 30 μM et de 33,7 % à la concentration de 50 μM , aussi a la concentration de 70 μM et 90 μM le pourcentage d'hémolyse est de 49,3% et 73,2 % respectivement. Ainsi, la concentration de 30 μM semble être la moins toxique.

En effet, selon une étude précédente de (**Stepanic et al., 2019**) sur 26 composé synthétique de la chalcones qui ont été évalués par utilisation du test MTS (test de prolifération) qui résulte que les composés qui ont été préparées dans la plage de concentration de 0.2 à 100 μM n'ont montré aucun effet considérable sur le métabolisme cellulaire et la viabilité des cellules HepG2 (carcinome hépatocytaire du foie) et THP-1(ligné leucémie monocyttaire), Aucun des composés n'était cytotoxique contre les cellules HepG2. Cependant en ce qui concerne les cellules THP-1, une cytotoxicité plus forte n'a été détectée que pour les deux composés de chalcone : le dérivé 2-OH substitué 1d et le dérivé 3-OCH₃, 4-OH substitué 4f, pour lesquels l'IC 50 les valeurs étaient respectivement de 27 μM et 36 μM .

Nos résultats sont en accord avec cette étude car la chalcone que nous avons testé montre un effet cytotoxique qui augmente proportionnellement avec la concentration.

Les membranes des globules rouges contiennent des lipides riches en acides gras insaturés. Les globules rouges sont plus fréquemment exposés à l'oxygène que les autres tissus corporels et par conséquent, sont plus sensibles aux dommages oxydatifs. L'invasion de la membrane des globules rouges par les peroxydants peut entraîner une hémolyse cellulaire. De plus, l'hémoglobine dans les globules rouges est un puissant catalyseur qui peut initier la peroxydation lipidique (**Asgary, 2005**).

L'acide gallique est utilisé dans notre travail comme un polyphénol de référence. A faible concentration, l'Ac. gallique n'est pas toxique. Mais à forte concentration, il est capable de

réduire Fe^{3+} en Fe^{2+} ou Cu^{2+} en Cu^+ , et ainsi d'enclencher la réaction de Fenton avec formation du radical hydroxyle (**Kessler et al., 2002**).

Dans notre travail, l'acide gallique à 110 μM montre une toxicité de 63,4% d'hémolyse. Nos résultats montrent que la chalcone provoque un taux d'hémolyse plus important que celui provoqué par l'acide gallique. Ceci peut être dû à la composition chimique de la chalcone.

La stabilisation de la membrane des globules rouges a été étudiée pour établir le mécanisme d'action anti-hémolytique de la chalcone. Nous avons utilisé deux molécules de référence, l'acide gallique et l'ibuprofène induisent des effets anti-hémolytiques différents. En effet, nos résultats montrent que la chalcone à la concentration de 70 μM provoque un effet anti-hémolytique important, protecteur et stabilisateur des membranes des GRh d'environ 70,3%. Cependant, cet effet protecteur diminue significativement à la concentration (90 μM). L'Acide gallique possède un effet anti-hémolytique généralement faible à celui de l'ibuprofène, L'effet protecteur le plus important pour l'ibuprofène est enregistré à la concentration de 90 μM pour atteindre 52,1% de protection.

Dans notre travail, la chalcone été efficaces pour inhiber l'hémolyse, et on a constaté que la stabilité membranaire continue d'évoluer avec l'augmentation de la concentration mais diminue lorsque on dépasse la concentration de 70 μM .

Selon l'étude de (**Arokia et al., 2019**). Il a été démontré que les chalcones isolés à partir de *Glycyrrhiza glabra* avec des concentrations variables de (20 mg/ml, 40 mg/ml, 60 mg/ml et 80 mg/ml) ont montré un effet de stabilisation de la membrane en inhibant la lyse de la membrane érythrocytaire induite par l'hypotonie, dans 20 μg de chalcones, on obtient 21,56% d'inhibition de l'hémolyse. Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse augmente en fonction de la dose. L'aspirine est prise comme contrôle positif. L'extrait a montré une protection comme observé dans le médicament standard Aspirine.

Cette étude nous démontre que les chalcone protègent les GRh contre l'hémolyse proportionnellement à la concentration ce qui est en accord avec nos résultats, sauf que pour nous lorsque on a dépassé une certaine concentration l'effet anti-hémolytique a diminué.

La dénaturation des protéines est un processus dans lequel les protéines perdent leur structure tertiaire et leur structure secondaire par application d'un stress ou d'un composé externe, tel qu'un acide ou une base forte, un sel inorganique concentré, un solvant organique ou de la chaleur. La plupart des protéines biologiques perdent leur fonction biologique

lorsqu'elles sont dénaturées. La dénaturation des protéines est une cause bien documentée d'inflammation (**Leelaprakash et Mohandass, 2011**). Les agents qui peuvent empêcher la dénaturation des protéines seraient donc utiles pour le développement de médicaments anti-inflammatoire (**Chandra et al., 2012**). La majorité des médicaments cliniquement importants appartiennent à la classe des stéroïdes ou des thérapies chimiques anti-inflammatoires non stéroïdiennes tels que l'ibuprofène (**Bushra et Aslam, 2010**). Bien qu'elles aient une activité puissante, leur administration à long terme est nécessaire pour le traitement des maladies chroniques. En outre, ces médicaments ont des effets indésirables divers et graves par exemple une dose élevée d'ibuprofène provoque des perforations jéjunales, même à court terme (**Yehiyan et al., 2017**). Par conséquent, il est souhaitable que des agents d'origine naturelle ayant très peu d'effets secondaires comme certains extraits de plantes pour remplacer les thérapies chimiques (**Conforti et al., 2008**).

Selon une étude de (**Yang et al., 2020**) qui démontre les mécanismes moléculaires médié par un dérivé de chalcone FKA qui a été testé avec des concentrations croissantes (1 à 60 μM) sur l'inflammation induite par les lipopolysaccharides (LPS) dans les splénocytes primaires il a bien été constaté que cette dérive de chalcone a entraîné une diminution significative des ratios de cytokines pro- et anti-inflammatoires (IL-6/IL-10 ; TNF- α /IL-10) qui signifiant le rôle protecteur de FKA dans l'inflammation induite par le LPS dans des splénocytes primaires.

Dans notre étude la diminution de l'effet de l'inhibition de la dénaturation protéique de la chalcone avec l'augmentation de la concentration, pourrait impliquer un effet antagoniste des composés phénoliques quelle contient. Parmi ses composants, certains exerceraient un effet opposé à d'autres se manifestant lorsque leur concentration est élevée. D'un autre côté, elle pourrait être liée à la formation d'agrégats suite à la forte interaction entre l'albumine et certains composés (provoquent la précipitation de l'albumine).

Concernant l'inhibition de la peroxydation lipidique, on constate que la chalcone représente un taux d'inhibition décroissant, qui diminue par augmentation de concentration. Ceci valorise l'activité de notre molécule.

Des étude ont démontrés les effets biologiques des chalcones qui ont également été attribués à leurs activités antioxydantes (**Machala et al., 2001**). Les chalcones exercent des activités redox indirectes et directes. Ce sont des inhibiteurs de l'aldose réductase (ALR2),

une enzyme aux effets antioxydants et anti-inflammatoires (**Kucerova-Chlupacova et al., 2018 ; Srivastava et al., 2005 ; Go et al., 2005**). Il existe également des chalcones avec des activités de piégeage direct des radicaux libres (**Rossi et al., 2013 ; Machala et al., 2001**). L'activité de piégeage direct des radicaux libres des chalcones naturelles telles que le xanthohumol prénylé (**Batovska et Todorova, 2010**), la butéine non prénylée (**Batovska et Todorova, 2010 ; Cheng, 1998**), ou diverses chalcones de réglisse est bien documentée (**Hatano et al., 1997**). La présence de groupes hydroxyle libres (en C-2' dans le cycle A et d'un groupe catéchol dans le cycle B) et la double liaison α,β dans le lieu sont considérées comme des caractéristiques structurelles importantes pour une activité antiradicalaire efficace des chalcones (**Batovska et Todorova, 2010**).

De plus les résultats des travaux de (**Chen et al., 2020**) démontrent le potentiels antioxydants d'un dérivé de chalcone l'AN07 en utilisant des cellules RAW 264.7 stimulées par LPS, suite a un suivie du prétraitement de AN07 sur la génération de radicaux libres induite par le LPS et les expressions protéiques de gp91 phox (NOX2), La production de de radicaux libres induite par le LPS a été mesurée et les résultats ont indiqué que l'AN07 à 0,01-1,0 M a atténué la surproduction de radicaux libres induite par le LPS d'une manière dépendante de la concentration, qui s'accompagne d'une régulation négative de la surexpression de gp91 phox (NOX2) induite par LPS.

Dans notre travail, la chalcone à bien induit une inhibition de la peroxydation des lipides a faible concentration, marquant ainsi un pouvoir antioxydant évident.

Conclusion

La chalcone est considérée comme une structure privilégiée d'un grand intérêt pratique car ces dérivés naturels et synthétiques ont montré de nombreuses activités biologiques intéressantes avec un potentiel clinique contre diverses maladies. La chalcone a suscité un intérêt considérable pour la recherche dans de multiples disciplines.

Au cours de ces dernières années les chalcones constituent un champ de recherche très vaste, on s'attend à ce que de nouveaux médicaments à base de chalcone soient découverts en utilisant des stratégies modernes.

Dans ce travail de Master, nous avons utilisé la chalcone pour tester ces activités biologiques *in vitro*.

Nos résultats ont montré que la chalcone est cytotoxique à la concentration de 110 μM . Cependant, elle est faiblement toxique à la concentration de 30 μM puisqu'elle induit une faible hémolyse.

Les résultats de ce présent travail démontrent que la chalcone a des effets anti-hémolytique et antioxydant considérables comparativement à la molécule de composés phénoliques testée, à savoir l'acide gallique. Ainsi, elles procurent une stabilité membranaire des GRh qui a des similitudes avec d'autres membranes cellulaires, notamment la membrane du lysosome.

La chalcone a aussi révélé une inhibition efficace de la dénaturation thermique de l'albumine bovine avec des pourcentages maximaux de 71,6%. La chalcone est donc dotée d'une activité anti-inflammatoire et surtout à faible concentration.

De plus, la chalcone provoque une inhibition de la peroxydation des lipides à faible concentration. Ceci est le reflet de l'activité antioxydante de la chalcone.

Notre travail permet donc de conclure que la chalcone est une molécule qui doit être exploitée, en effet cette dernière possède une structure qui lui procure des activités anti-inflammatoires et antioxydantes à des concentrations bien déterminées. Cette structure peut être modifiée pour l'utilisation de la chalcone dans différents domaines.

A cet effet, nos résultats ouvrent de larges perspectives pour d'autres études afin de :

- Étudier plusieurs dérivés synthétiques de chalcone avec diverses substitutions
- Évaluer leur activité anti-inflammatoire *in vivo* associée à des pathologies.
- Déterminer leur mécanisme et leur mode d'action.

Références bibliographiques

Anandam, R. ; Jadav, S.S. ; Ala, V.B.; Ahsan, M.J. ; Bollikolla, H.B (2018). Synthesis of new C-dimethylated chalcones as potent antitubercular agents. *Med. Chem. Res.* 27, 1690–1704.

Arokia Rajkumar Shancy, Gayathri R, Vishnu Priya V (2019). In vitro anti-inflammatory activity of chalcones isolated from *Glycyrrhiza glabra* L. *Drug Invention Today.* Vol 11 Issue 5.

Asgary, S., Naderi, G., & Askari, N. (2005). Protective effect of flavonoids against red blood cell hemolysis by free radicals. *Experimental and clinical cardiology.* 10(2), 88–90.

Bano, S.; Javed, K. ; Ahmad, S.; Rathish, I.G.; Singh, S.; Chaitanya, M.; Arunasree, K.M. (2013). Synthesis of some novel chalcones, flavanones and flavones and evaluation of their anti-inflammatory activity. *Eur. J. Med. Chem.* 65, 51–59.

Batovska, D.I. ; Todorova, I.T (2010). Trends in utilization of the pharmacological potential of chalcones. *Curr. Clin. Pharmacol.* 5, 1–29.

Beiler J, Martin G (1951). The inhibition of xanthine oxidase by flavonoids and related compounds. *J Biol Chem.* 192:831-834

Beiler, J. M. ; Graff, M.; Martin, GJ (1952). Inhibition of liver xanthine oxidase activity in rats. *American journal of digestive diseases.* 19: 333.

Berger, M.M (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant. état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme.* 20 (1): 48-53.

Bijo M, Suresh J, Anbazhagan S, Paulraj J, Krishnan GK (2014). Heteroaryl chalcones: Mini review about their therapeutic voyage. *Bio med. Preventive Nutrition.* 4(3): 451-458.

Binbin Li, Nansong Xu, Zhengwan, Li Ma, Huahui Li, Weijie Cai, Xiumei Chen, Zunnan Huang and Zhiwei He (2019). Isobavachalcone exerts anti-proliferative and pro-apoptotic effects on human liver cancer cells by targeting the ERKs/RSK2 signaling pathway. *Oncology Reports.* 41: 3355-3366.

Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, Scheld M, Spellberg B, Bartlett J (2009). Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 1;48(1):1-12.

Bouhlali E.D.T., Sellam K., Bammou M., Alem C., Filali-zehzouti Y. (2016). In vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of selected Moroccan medicinal plants. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 6, 156-162.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie. Plantes médicinales (3ème éd.), Tec & Doc Lavoisier, Paris.

Bulmus V., Woodward M., Lin L., Murthy N., Stayton P., Hoffman A. (2003). A new pH-responsive and glutathione-reactive, endosomal membrane disruptive polymeric carrier for intracellular delivery of biomolecular drugs. *Journal of Controlled Release*. 93(2): 105-120.

Bushra, R., & Aslam, N (2010). An overview of clinical pharmacology of Ibuprofen. *Oman medical journal*. 25(3), 155–1661.

Cadenas, E. (1997). Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*. 6: 391–397.

Chandra S., Chatterjee P., Dey P., Bhattacharya S. (2012). Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(1), 178-180.

Chen M, Theander TG, Christensen SB, Hviid L, Zhai L, Kharazmi A. (1994). Licochalcone A, a new antimalarial agent, inhibits in vitro growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* and protects mice from *P. yoelii* infection. *Antimicrob. Agents Chemothe*. 38(7): 1470-1475.

Chen Y-F, Wu S-N, Gao J-M, Liao Z-Y, Tseng Y-T, Fülöp F, Chang F-R, Lo Y-C (2020). The Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Neuroprotective Properties of the Synthetic Chalcone Derivative AN07. *Molecules*. 25(12):2907.

Cheng, Z.J. ; Kuo, S.C.; Chan, S.C.; Ko, F.N.; Teng, C.M (1998). Antioxidant properties of butein isolated from *Dalbergia odorifera*. *Biochim. Biophys.* 1392, 291–299.

Conforti F., Sosa S., Marrelli M., Menichini F., Statti G.A., Uzunov D., Tubaro A., Menichini F., Della-Loggia R. (2008). In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. *Journal of Ethnopharmacology*. 116(1), 144-151.

Cuendet, M.; Guo, J.; Luo, Y.; Chen, S.-N.; Oteham, C.P.; Moon, R.C.; Van Breemen, R.B.; Marler, L.E.; Pezzuto, J.M. (2010). Cancer Chemopreventive Activity and Metabolism of Isoliquiritigenin, a Compound Found in Licorice. *Cancer Prev. Res.* 3, 221–232.

Cushnie T.P., Lamb A.J (2005). Antimicrobial activity of flavonoids, *Int J Antimicrob Agents*. 26: 343-356.

Dao TTH, Linthorst HJM, Verpoorte R (2011b). Chalcone synthase and its functions in plant resistance. *Phytochem Rev.* 10:397–412.

David Baur, Beryl Primrose Gladstone, Francesco Burkert, Elena Carrara, Federico Foschi, Stefanie Döbele, Evelina Tacconelli (2017). Effect of antibiotic stewardship on the incidence of infection and colonisation with antibiotic-resistant bacteria and *Clostridium difficile* infection: a systematic review and meta-analysis. *The lancet infectious diseases.* 17: 990-1001.

Debarshi Kar Mahapatra , Sanjay Kumar Bharti , Vivek Asati (2017). Chalcone Derivatives: Anti-inflammatory Potential and Molecular Targets Perspectives. *Curr Top Med Chem.* 17(28):3146-3169.

Debarshi Kar Mahapatra, Vivek Asati & Sanjay Kumar Bharti (2019). An updated patent review of therapeutic applications of chalcone derivatives (2014-present), *Expert Opinion on Therapeutic Patents.* 29:5, 385-406.

Dhar, D. N.; Lal, J. B (1959). The chalcones (a review). *Journal and Proceedings of the Institute of Chemistry.* 31: 297-312.

Doan T and Tran D. (2011). Synthesis, Antioxidant and Antimicrobial Activities of a Novel Series of Chalcones, Pyrazolic Chalcones, and Allylic Chalcones. *Pharmacology & Pharmacy.* Vol. 2 No. 4, pp. 282-288.

Dominguez, J. N.; Leon, C.; Rodrigues, J; Gamboa de Dominguez, N.; Gut, J.; Rosenthal, P. J (2005). Synthesis and antimalarial activity of sulfonamide chalconederivatives. *Farmaco.* 60: 307-311.

Dorvault F (1982). *L'officine*, XXIe édition, Ed. Vigot. 965.

Dyrager C, Wickstrom M, Friden-Saxin M, Friberg A, Dahlen K, Wallen EA, Gullbo J, Grotli M, Luthman K (2011). agents. *Bioorg Med Chem.* 19 : 2659–2665.

Edwards ML, Stemerick DM, Sunkara PS (1990). Chalcones: Une nouvelle classe d'agents antimitotiques. *J Med Chem.* 33 : 1948–1954.

Evranos Aksöz, B.; Ertan, R. (2011). Chemical and structural properties of chalcones I. *FABAD J. Pharm. Sci.*36, 223–242.

Feng L, Maddox MM, Alam MZ, Tsutsumi LS, Narula G, Bruhn DF, Wu X, Sandhaus S, Lee RB, Simmons CJ, Tse-Dinh YC, Hurdle JG, Lee RE, Sun D (2014). Synthesis,

structure-activity relationship studies, and antibacterial evaluation of 4-chromanones and chalcones, as well as olympicin A and derivatives. *J Med Chem.* 23;57(20):8398-420.

Ferrero-Miliani L, Nielsen O, Andersen P, Girardin S (2007). Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. *Clin Exp Immunol.* 147:227–235.

Ferreira M. L. , Rius S. P, Casati P. (2012). Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Front Plant Sci.* 28;3:222.

Fujioka H, Nakahara K, Oki T et al (2010). The first asymmetric total syntheses of both enantiomers of cryptocaryone. *Tetrahedron Lett.* 51:1945–1946.

Geissman TA (1941). Anthochlor pigments. The pigment of *Coreopsis douglasii*. *J Am Chem Soc.* 63:656–658.

Go, M.L.; Wu, X.; Liu, X.L (2005). Chalcones: An update on cytotoxic and chemopreventive properties. *Curr. Med. Chem.*12, 481–499.

Gomes MN, Muratov EN, Pereira M, Peixoto JC, Rosseto LP, Cravo PVL, Andrade CH, Neves BJ (2017). Chalcone Derivatives: Promising Starting Points for Drug Design. *Molecules.* 22(8):1210.

Gomes MN, Muratov EN, Pereira M, Peixoto JC, Rosseto LP, Cravo PVL, Andrade CH, Neves BJ (2017). Chalcone Derivatives: Promising Starting Points for Drug Design. *Molecules.* 25;22(8):1210.

Graham J. Burton , MD, DSc, Eric Jauniaux (2011). Stress oxydatif. Centre for Trophoblast Research, University of Cambridge. 287-299.

Guinard, J. L. (2000). *Biochimie végétale.* Dunod, Paris.

Halliwel, B., Gutteridge, G. M.C (1999). Free radicals in Biology and Medicine. In Oxford University Press. 534-537.

Hatano, T.; Takagi, M.; Ito, H.; Yoshida, T (1997). Phenolic constituents of liquorice. VII. A new chalcone with potent radical scavenging activity and accompanying phenolics from liquorice. *Chem. Pharm. Bull.*45, 1485–1492.

Hayat F, Salahuddin A, Umar S et al (2010). Synthesis, characterization, antiamebic activity and cytotoxicity of novel series of pyrazoline derivatives bearing quinoline tail. *Eur J Med Chem.* 45:4669–4675.

Heijnen CG, Haenen GR, Vekemans JA, Bast A (2001). Peroxynitrite scavenging of flavonoids: structure activity relationship. *Environ ToxicolPharmacol.* 10(4):199-206.

Higuchi, K.; Watanabe, T.; Tanigawa, T.; Tominaga, K.; Fujiwara, Y.; Arakawa, T. (2010). Sofalcone, a gastroprotective drug, promotes gastric ulcer healing following eradication therapy for *Helicobacter pylori*: A randomized controlled comparative trial with cimetidine, an H₂-receptor antagonist. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 25 : 155–160.

Hou Z, Chen L, Fang P, Cai H, Tang H, Peng Y, Deng Y, Cao L, Li H, Zhang B, Yan M (2018). Mechanisms of triptolide-induced hepatotoxicity and protective effect of combined use of isoliquiritigenin: possible roles of nrf2 and hepatic transporters. *Front Pharmacol.* 9:226.

Hudson BJB, Lewis JI (1983). Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils. Structural criteria for activity. *Food Chem.* 10:47-55.

Inamori Y, Baba K, Tsujibo H, Taniguchi M, Nakata K, Kozawa M (1991). Antibacterial activity of two chalcones, xanthoangelol and 4-hydroxyderricin, isolated from the root of *Angelica keiskei* KOIDZUMI. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 39: 1604-1605.

Ingarsal N, Saravanan G, Amutha P et al (2007). Synthesis, in vitro antibacterial and antifungal evaluations of 2-amino-4-(1-naphthyl)-6-arylpyrimidines. *Eur J Med Chem.* 42:517–520.

Jain D, Trivedi P (2010). Recent advances in chalcones as anti-infective agents. *Int.J. Chem. Sci.* 8: 649-654.

Jez JM, Ferrer JL, Bowman ME et al (2001). Structure and mechanism of chalcone synthase-like polyketide synthases. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 27:393–398.

Ji B, Guo W, Ma H, Xu B, Mu W, Zhang Z, Amat A, Cao L (2017). Isoliquiritigenin suppresses IL-1 β induced apoptosis and inflammation in chondrocyte-like ATDC5 cells by inhibiting NF- κ B and exerts chondroprotective effects on a mouse model of anterior cruciate ligament transection. *Int J Mol Med* 40:1709–1718.

Kanagarajan V, Thanusu J, Gopalakrishnan M (2010). Synthesis and in vitro microbiological evaluation of an array of biolabile 2-morpholino-N-(4, 6-diarylpyrimidin-2-yl) acetamides. *Eur J Med Chem.* 45:1583–1589.

Karthikeyan C; Moorthy NS; Ramasamy S; Vanam U; Manivannan E; Karunagaran D; Trivedi P (2015). Advances in chalcones with anticancer activities. *Recent Pat. Anti-Cancer Drug Discovery.* 10, 97–115.

Kessler R.C., Andrews G., Colpe L.J., Hiripi E., Mroczek D.K., Normand S.L., Zaslavsky A.M. (2002). Short screening scales to monitor population prevalence and trends in non-specific psychological distress. *Psychological Medicine*. 32(06) : 959-976.

Kinghoru, A. D.; Balandrin, M. F (1993). ACS symposium series, 534, American Chemical Society, Washington, DC. <https://herbalgram.org/resources/herbalgram/issues/32/table-of-contents/article1132/>

Kong Y, Wang K, Edler MC, Hamel E, Mooberry SL, Paige MA, Brown ML (2010). A boronic acid chalcone analog of combretastatin A-4 as a potent anti-proliferation agent. *Bioorg Med Chem*. 15;18(2):971-7.

Kostanecki SV, Tambor J (1899). Ueber die sechs isomeren monooxybenzalacetophenone (monooxychalkone). *Ber Dtsch Chem Ges*. 32:1921–1926.

Kozawa M, Morita N, Baba K et al (1978). Chemical components of the roots of *Angelica keiskei* Koidzumi. II. The structure of chalcone derivatives. *YakugakuZasshi*. 98:210–214.

Kucerova-Chlupacova, M.; Dosedel, M.; Kunes, J.; Soltsova-Prnova, M.; Majekova, M.; Stefek, M (2018). Chalcones and their pyrazine analogs: Synthesis, inhibition of aldose reductase, antioxidant activity, and molecular docking study. *Mon. Chem*.149, 921–929.

Kumar G, Karthik L, Rao KVB (2011). Hemolytic activity of Indian medicinal plants towards human erythrocytes: an in vitro study. *Elixir Appl Botany*. 40: 5534–5537.

Kumar RS, Rajesh SM, Perumal S, Banerjee D, Yogeewari P, Sriram D (2010). Novel three-component domino reactions of ketones, isatin and amino acids: synthesis and discovery of antimycobacterial activity of highly functionalised novel dispiropyrrolidines. *Eur J Med Chem*. 45(1):411-22.

Kumar S., Satapathy M.K. (2011). Medicinal plants in an Urban environment; herbaceous medicinal flora from the campus of Regional Institute of Education, Bhubaneswar, Odisha. *Int. J. Pharm. Life Sci*. 2(10):1206–1210.

Lawrence T (2009). The Nuclear Factor NF- κ B Pathway in Inflammation. *CSH Perspect Biol*. 1(6): a001651.

Leelaprakash. G, Mohan Dass. S (2011). In vitro anti-inflammatory activity of methanolic extract of *EnicostemmaAxillare*. *Int. J. Drug Dev. & Res*. 3(3):189-196.

Libby P (2007). Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev.*65:S140–S146.

Liming, N.; Meng, Charles Q.; Sikorski, J. A (2004). Recent advances in therapeutic chalcones. *Expert Opinion on Therapeutic Patents.* 14: 1669-1691.

Linlin Chen, Huidan Deng, Hengmin Cui, Jing Fang, Zhicai Zuo, Junliang Deng, Yinglun Li, Xun Wang, and Ling Zhao (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget.* 9(6): 7204–7218.

Liu Q, Lv H, Wen Z, Ci X, Peng L (2017). Isoliquiritigenin activates nuclear factor erythroid-2 related factor 2 to suppress the NOD-like receptor protein 3 inflammasome and inhibits the NF-kappaB pathway in macrophages and in acute lung injury. *Front Immunol.* 8:1518.

Liu, M.; Wilairat, P.; Croft, S. L.; Tan, A.; Lay-Choo, T.; Mei-Lin, G (2004). Structure activity relationships of antileishmanial and antimalarial chalcones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* 12: 1569.

Machala, M.; Kubínová, R.; Hořavová, P.; Suchý, V (2001). Chemoprotective potentials of homoisoflavonoids and chalcones of *Dracaena cinnabari*: Modulations of drug-metabolizing enzymes and antioxidant activity. *Phytother. Res.* 15, 114–118.

Mah S.H. (2020). Chalcones in Diets. In: Xiao J., Sarker S., Asakawa Y. (eds) *Handbook of Dietary Phytochemicals.* pp 1-52.

Mahapatra D.K., Bharti S.K., Asati V (2017). Chalcone derivatives: Anti-inflammatory potential and molecular targets perspectives. *Curr. Top. Med. Chem.* 17:3146–3169.

Mahapatra, D.K.; Bharti, S.K.; Asati, V (2015). Chalcone scaffolds as anti-infective agents: Structural and molecular target perspectives. *Eur. J. Med. Chem.*101, 496–524.

Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesì, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J. Nutr. Biochem.* 16: 577–586.

Mathiesen L, Malterud KE, Sund RB (1996). Uncoupling of respiration and inhibition of ATP synthesis in mitochondria by C-methylated flavonoids from *Myrica gale* L. *Eur J Pharm Sci.* 4:373–379.

- Matos M.J., Vazquez-Rodriguez S., Uriarte E., Santana L. (2015).** Potential pharmacological uses of chalcones: a patent review (from June 2011 – 2014) *Expert Opin. Ther. Pat.* 25:351–366.
- Mayr H, Kempf B, Ofial AR (2003).** π -Nucleophilicity in carbon-carbon bond-forming reactions. *Acc Chem Res.* 36:66–77.
- Medzhitov R (2010).** Inflammation: new adventures of an old flame. *Cell.* 140:771–776.
- Meier, D., Vázquez Hernández, M., van Geelen, L., Muharini, R., Proksch, P., Bandow, J.E., Kalscheuer, R (2019).** The plant-derived chalcone Xanthoangelol targets the membrane of Gram-positive bacteria. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* (28):3146-3169.
- Michael T. Murray ND (2020).** 85 - Glycyrrhiza glabra (Licorice). *Textbook of Natural Medicine.* 641-647.
- Miller EC, Miller JA (1979).** Milestones in chemical carcinogenesis. *SeminOncol*, 6: 445-460.
- Moussard, C (2006).** *Biochimie Structurale et métabolique*, Edition de boeck.
- Muharini R, Díaz A, Ebrahim W, Mándi A, Kurtán T, Rehberg N, Kalscheuer R, Hartmann R, Orfali RS, Lin W, Liu Z, Proksch P (2017).** Antibacterial and Cytotoxic Phenolic Metabolites from the Fruits of *Amorpha fruticosa*. *J Nat Prod.* 27;80(1):169-180.
- Nakamura S, Watanabe T, Tanigawa T, Shimada S, Nadatani Y, Miyazaki T, Iimuro M, Fujiwara Y (2018).** Isoliquiritigenin ameliorates indomethacin-induced small intestinal damage by inhibiting NOD-like receptor family, pyrin domain-containing 3 inflammasome activation. *Pharmacology.* 101:236–245.
- Nathan C, Ding A (2010).** Nonresolving inflammation. *Cell.* 140:871–882.
- Ni, L.; Meng, C.Q. ; Sikorski, J.A. (2004).** Recent advances in therapeutic chalcones. *Expert Opin. Ther. Pat.* 14, 1669–1691.
- Nisar, M. F., He, J., Ahmed, A., Yang, Y., Li, M., & Wan, C. (2018).** Chemical Components and Biological Activities of the Genus *Phyllanthus*: A Review of the Recent Literature. *Molecules (Basel, Switzerland).* 23(10), 2567.
- Nondo, Ramadhani & Moshi, Mainen & Kazyoba, Paul & Zofou, Denis & Njouendou, Jelil & Wanji, Samuel & Ngemenya, Moses & Kidukuli, Abdul & Masimba, John & Titanji, Vincent (2015).** Evaluation of the cytotoxic activity of extracts from medicinal plants

used for the treatment of malaria in Kagera and Lindi regions, Tanzania. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol. 5. 007-012.

Novaes M.R., Novaes L.C.G., Melo A.L., Recôva V.L. (2007). Avaliação da toxicidade aguda do cogumelo *Agaricus sylvaticus*. *Comun Ciênc Saúde*. 18(3), 1227-1236.

Obara H, Onodera J (1979). Structure of carthamin. *Chem Lett*. 8:201–204.

Oyedapo O.O., Akinpelu B.A., Akinwunmi K.F., Adeyinka M.O., Sipeolu F.O. (2010). Red blood cell membrane stabilizing potentials of extracts of *Lantana camara* and its fractions. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 2, 46-51.

Pagano Maria and Faggio Caterina (2015). The use of erythrocyte fragility to assess xenobiotic cytotoxicity. *Cell BiochemFunct*. 33: 351–355.

Patil CB, Mahajan SK, Katti SA (2009). Chalcone-A versatile molecule. *J Pharm Sci Res*. 1:11–22.

Peng F, Du Q, Peng C, Wang N, Tang H, Xie X, Shen J, Chen J (2015). A review: the pharmacology of isoliquiritigenin. *Phytother Res*. 29:969–977.

Polo Efraín , Arellano Nicol , Peñaloza Luis Prent-, Morales Bayuelo Alejandro , Henao José Henao, Galdámez Antonio , Gutiérrez Margarita (2019). Ultra sound-assisted synthesis of novel chalcone, heterochalcone and bis-chalcone derivatives and the evaluation of their antioxidant properties and as acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*. 90, 103034.

Rammohan, A., Reddy, J.S., Sravya, G. (2020). Chalcone synthesis, properties and medicinal applications : a review. *Environ Chem Lett*. 18 :433-458.

Reddy VM, Reddy KR (2010). Synthesis and biological evaluation of some novel-3-(5-substituted benzimidazole-2-yl)-5-aryl isoxazolines. *Chin Chem Lett*. 21:1145–1148.

Rezk, B. M.; Haenen Guido, R. M. M.; van der Vijgh Wim, J. F.; Bast, A (2002). The antioxidant activity of phloretin: the disclosure of a new antioxidant pharmacophore in flavonoids. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 295: 9-13.

Richwagen N, Lyles JT, Dale BLF, Quave CL (2019). Antibacterial Activity of *Kalanchoe mortagei* and *K. fedtschenkoi* Against ESKAPE Pathogens. *Front Pharmacol*. 6;10:67.

Nakagawa-Goto K, Bastow KF, Wu JH et al (2005). Total synthesis and bioactivity of unique flavone desmosdumotin B and its analogs. *Bioorg Med Chem Lett*. 15: 3016-3019.

Ritter M., Martins R.M., Dias D., Pereira C.M.P (2014). Recent advances on the synthesis of chalcone with antimicrobial activities: A brief review. *Lett. Org. Chem.* 11:498–508.

Rodrigues J, Abramjuk C, Vasquez L, Gamboa N, Dominguez J, Nitzsche B, Hopfner M, Georgieva R, Baumler H, Stephan C, Jung K, Lein M, Rabien A (2011). New 4-maleamic acid and 4-maleamide: les peptidyl chalcones en tant que médicaments multi-cibles potentiels pour le cancer de la prostate humaine. *Pharm Res.* 28 : 907–919.

Rossi, M.; Caruso, F.; Crespi, E.J.; Pedersen, J.Z.; Nakano, G.; Duong, M.; McKee, C.; Lee, S.; Jiwrajka, M.; Caldwell, C.; et al (2013). Probing antioxidant activity of 2'-hydroxychalcones: Crystal and molecular structures, in vitro antiproliferative studies and in vivo effects on glucose regulation. *Biochimie.* 95, 1954–1963.

Sadique J., Al-Rqobah W.A., Bughait M.F., El-Gindy A.R. (1989). The bio-activity of certain medicinal plants on the stabilization of RBC membrane system. *Fitoterapia.* 60: 525-532.

Sahu NK, Balbhadra SS, Choudhary J, Kohli DV (2012). Exploring pharmacological significance of chalcone scaffold: a review. *Curr Med Chem.* 19(2):209-25.

Schnekenburger M, Diederich M (2015). Nutritional Epigenetic Regulators in the Field of Cancer: New Avenues for Chemopreventive Approaches. *Epigenetic Cancer Therapy.* P393-425.

Sebti, S.; Solhy, A.; Smahi, A.; Kossir, A.; Oumimoun, H (2002). Dramatic activity enhancement of natural phosphate catalyst by lithium nitrate. An efficient synthesis of chalcones. *Catal. Commun.* 3 : 335–339.

Selvam TP, Karthick V, Kumar PV et al (2013). Antiepileptic activity of novel 2-(substitutedbenzylidene)-7-(4-fluorophenyl)-5-(furan-2-yl)-2H-thiazolo[3,2-a]pyrimidin-3(7H)-one derivatives. *Lett Drug Des Discovery.* 10:204–211.

Sinha, S. ; Batovska, D.I. ; Medhi, B.; Radotra, B.D.; Bhalla, A.; Markova, N.; Sehgal, R (2019). In vitro anti-malarial efficacy of chalcones: Cytotoxicity profile, mechanism of action and their effect on erythrocytes. *Malar. J.* 18, 421–431.

Srivastava, S.K. ; Ramana, K.V. ; Bhatnagar, A (2005). Role of aldose reductase and oxidative damage in diabetes and the consequent potential for therapeutic options. *Endocr. Rev.* 26, 380–392.

Stepanić, V., Matijašić, M., Horvat, T., Verbanac, D., Kučerová-Chlupáčová, M., Saso, L., & Žarković, N. (2019). Antioxidant Activities of Alkyl Substituted Pyrazine Derivatives of Chalcones-In Vitro and In Silico Study. *Antioxidants*. 8(4), 90.

Syahri, J.; Yuanita, E.; Nurohmah, B.A.; Armunanto, R.; Purwono, B (2017). Chalcone analogue as potent anti-malarial compounds against *Plasmodium falciparum*: Synthesis, biological evaluation, and docking simulation study. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*7, 675–679.

Tsai, W.J., et Wen-Chi Hsin, Chien-Chih Chen (1996). Antiplatelet Flavonoids from Seeds of *Psoralea corylifolia*. *Chinese Medicine*. 59: 671-672.

Tuncel S, Fournier-dit-Chabert J, Albrieux F, Ahsen V, Ducki S, Dumoulin F (2012). Vers la dualité des agents photodynamiques et antiangiogéniques: Conception et synthèse d'un conjugué phtalocyanine-chalcone. *Org Biomol Chem*. 10 : 1154–1157.

Valli, M., Russo, H.M., & Bolzani, V. (2018). The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. 1, 763-778.

Ventura, T.L.B.; Calixto, S.D.; Abraham-Vieira, B.A.; de Souza, A.M.T.; Mello, M.V.P.; Rodrigues, C.R.; Miranda, L.S.M.; de Souza, R.O.C.; Leal, I.C.R.; Lasunskaiia, E.B.; et al (2015). Antimycobacterial and anti-inflammatory activities of substituted chalcones focusing on an anti-tuberculosis dual treatment approach. *Molecules*. 20, 8072–8093.

Viana, G. S. B.; Bandeira, M. A. M.; Matos, F. J. A (2003). Analgesic and anti-inflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruonurundeuva*Allemão. *Phytomedicine*.10: 189-195.

Wang L, Yang R, Yuan B, Liu Y, Liu C (2015). The antiviral and antimicrobial activities of licorice, a widely-used Chinese herb. *Acta Pharm Sin B*. 5:310–315.

Wang, M.; Qin, H.L.; Leng, J.; Amjad, M.W.; Raja, M.A.G.; Hussain, M.A.; Bukhari, S.N.A. (2018). Synthesis and biological evaluation of new tetramethylpyrazine-based chalcone derivatives as potential anti-Alzheimer agents. *Chem. Biol. Drug Des*. 92, 1859–1866.

WHO (2017). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics.

- Williams L.A.D., Connar A.O., Latore L., Dennis O., Ringer S., Whittaker J.A. (2008).** The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (Immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the Early Stages of the Drug Discovery Process. *West Indian Med J.* 57 (4), 327- 331.
- Wong J.W., Hashimoto K., Shibamoto T. (1995).** Antioxidant activity of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2707-2712.
- Wong, E. (1968).** The role of chalcones and flavanones in flavonoid biosynthesis. *Phytochemistry.* 7, 1751–1758.
- Xu D, Chen M, Ren X, Ren X, Wu Y (2014).** Leonurine ameliorates LPS-induced acute kidney injury via suppressing ROS-mediated NF-kappaB signaling pathway. *Fitoterapia* 97:148–155.
- Yang, H. L., Yang, T. Y., Gowrisankar, Y. V., Liao, C. H., Liao, J. W., Huang, P. J., & Hseu, Y. C. (2020).** Suppression of LPS-Induced Inflammation by Chalcone Flavokawain A through Activation of Nrf2/ARE-Mediated Antioxidant Genes and Inhibition of ROS/NFκB Signaling Pathways in Primary Splenocytes. *Oxidative medicine and cellular longevity.* 3476212.
- Yehyan A, Barman S, Varia H, Pettit S (2017).** Short-course high-dose ibuprofen causing both early and delayed jejunal perforations in a non-smoking man. *BMJ Case Rep.* 22;2017:bcr2017223644.
- Yoshimasa, N.; Shigeo, W.; Nobuyuki, M.; Hiroyuki, K.; Toshihiko, O (2003).** Dihydrochalcones: evaluation as novel radical scavenging antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 51: 3309-3312.
- Yun Tang, Chan Wang, Yanmei Wang, Jiong Zhang, Fang Wang, Li Li, Xianglong Meng, Guisen Li, Yi Li, and Li Wang (2018).** Isoliquiritigenin attenuates LPS-induced AKI by suppression of inflammation involving NF-κB pathway. *Am J TranslRes.* 10(12): 4141–4151.
- Yuvaraj AR, Rahman ML, Yusoff MM et al (2016).** Photoinhibition effect from strong electron withdrawing nitro group in N-[(E)-(4-bromophenyl)methylidene]-4-nitroaniline. *Chemistry of. Adv Mater.* 1:1–5.

Zhang L, Sun D, Bao Y, Shi Y, Cui Y, Guo M (2017). Nerolidol protects against LPS-induced acute kidney injury via inhibiting TLR4/NF-kappaB signaling. *Phytother Res.* 31:459–465.

Zhang W, Wang G, Zhou S (2018). Protective effects of isoliquiritigenin on LPS-induced acute lung injury by activating PPAR-gamma. *Inflammation.* 41(4) : 1290-1296.

Zhou B, Xing C (2015). Diverse Molecular Targets for Chalcones with Varied Bioactivities. *Med. Chem.* 5, 388–404.

Zhou Y, Hong Y, Huang H (2016). Triptolide Attenuates Inflammatory Response in Membranous Glomerulo-Nephritis Rat via Downregulation of NF- κ B Signaling Pathway. *Kidney and Blood Pressure Res.* 41:901–910.

Zhuang C, Zhang W, Sheng C, Zhang Wa, Xing CH, and Miao Z (2017). Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chem. Rev.* 117: 7762–7810.