# MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

# REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE UNION – DISCIPLINE – TRAVAIL



N°1928/18.

Année: 2017 - 2018

# **THESE**

Présentée en vue de l'obtention du

# DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

# MAHAN TAN ZHE MICHELLE

# CRIBLAGE ANTIOXYDANT DE QUATRE DIAZA-HETEROARYL-CHALCONES ET ANALOGUES STRUCTURAUX PAR LA METHODE DE DECOLORATION ABTS

# Soutenue publiquement le 03 JUILLET 2018

# **COMPOSITION DU JURY:**

Président : Madame SAWADOGO DUNI, Professeur Titulaire

Directeur de thèse : Monsieur OUATTARA MAHAMA, Maître de conférences agrégé

Assesseurs : Monsieur DJOHAN VINCENT, Maître de conférences agrégé

Monsieur KONAN KONAN JEAN LOUIS, Maître Assistant

# ADMINISTRATION ET PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

# I. HONORARIAT

Directeurs/Doyens Honoraires : Professeur RAMBAUD André

Professeur FOURASTE Isabelle

Professeur BAMBA Moriféré

Professeur YAPO Abbé †

Professeur MALAN Kla Anglade

Professeur KONE Moussa †

# II. ADMINISTRATION

Directeur Professeur KONE BAMBA Diéneba

Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie Professeur Ag IRIE-N'GUESSAN G.

Sous-Directeur Chargé de la Recherche Professeur Ag DEMBELE Bamory

Secrétaire Principal Madame NADO-AKPRO Marie Josette

Secrétaire Principal Adjoint Madame AKE Kouadio Api Eugénie

Documentaliste Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert

Intendant Monsieur GAHE Alphonse

Responsable de la Scolarité Madame DJEDJE Yolande

# III. PERSONNEL ET ENSEIGNANTS PERMANENTS

# 1. PROFESSEURS TITULAIRES

Mme AKE Michèle Chimie Analytique, Bromatologie

M. ATINDEHOU Eugène Chimie Analytique, Bromatologie

Mme ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L. Biochimie et Biologie Moléculaire

M. DANO DJEDJE Sébastien Toxicologie

Mme KONE BAMBA Diéneba Pharmacognosie

MM. KOUADIO Kouakou Luc Hydrologie, Santé Publique

MALAN Kla Anglade Chimie Analytique, Contrôle de Qualité

MENAN Eby Ignace Parasitologie - Mycologie

MONNET Dagui Biochimie et Biologie Moléculaire

MM. YOLOU Séri Fernand Chimie Générale

ABROGOUA Danho Pascal Pharmacologie

INWOLEY Kokou André Immunologie

YAVO William Parasitologie - Mycologie

Mme KOUAKOU SIRANSY N. Pharmacologie

# 2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M. AHIBOH Hugues Biochimie et Biologie Moléculaire

Mme AKE EDJEME N'guessan Angèle Biochimie et Biologie Moléculaire

MM. KOFFI Angely Armand Pharmacie Galénique

OGA Agbaya Stéphane Santé Publique et Economie de la Santé
OUATTARA Mahama Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
YAPI Ange Désiré Chimie Organique, Chimie Thérapeutique

ZINZENDORF Nanga Yessé Bactériologie-Virologie

KOUASSI Dinard Hématologie

LOUKOU Yao Guillaume Bactériologie-Virologie

AMARI Antoine Serge G. Législation

AMIN N'Cho Christophe Chimie Minérale, Chimie Générale

BONY François Nicaise Chimie Analytique

. DEMBELE Bamory Immunologie

DJOHAN Vincent Parasitologie -Mycologie

GBASSI K. Gildas Chimie Minérale

DALLY Laba Galénique

Mme IRIE N'GUESSAN Amenan G. Maître Assistante

M. OUASSA Timothée Bactériologie-Virologie

Mmes SACKOU KOUAKOU Julie Santé Publique

SANGARE TIGORI Béatrice Toxicologie

POLNEAU VALLEE Sandrine Mathématiques biophysique

# 3. MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

# M. DIAFOUKA François

Biochimie et Biologie de la Reproduction

# 4. MAITRES ASSISTANTS

Mme BARRO KIKI Pulchérie Parasitologie - Mycologie

M. CLAON Jean Stéphane Santé Publique

Mmes SANGARE Mahawa Biologie Générale

KOUASSI AGBESSI Thérèse Bactériologie-Virologie

Mlles DIAKITE Aïssata Toxicologie

FOFIE N'Guessan Bra Yvette Pharmacognosie

MM. MANDA Pierre Toxicologie

ADJAMBRI Adia Eusèbe Hématologie

YAYO Sagou Éric Biochimie et Biologie Moléculaire

KONAN Konan Jean Louis Biochimie et Biologie Moléculaire

N'GUESSAN Alain Galénique

Mmes AKA-ANY-GRA Armelle Adjoua S. Pharmacie Galénique

AYE YAYO Mireille Hématologie

HOUNSA Annita Emeline Epse Alla Santé Publique

VANGA ABO Henriette Parasitologie-Mycologie

YAO ATTIA Akissi Régine Santé Publique AFFI-ABOLI Mihessé Roseline Immunologie

MM. ANGORA Kpongbo Etienne Parasitologie

KASSI Kondo Fulgence Parasitologie-Mycologie

Mlle KONATE Abibatou Parasitologie-Mycologie

# 5. ASSISTANTS

MM. ADJOUNGOUA Attoli Léopold Pharmacognosie

AMICHIA Attoumou Magloire Pharmacologie

MM. BROU Amani Germain Chimie Analytique

CABLAN Mian N'Dedey Asher Bactériologie-Virologie

COULIBALY Songuigama Chimie organique, Chimie thérapeutique

M. DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Pharmacologie

Mlle DOTIA Tiepordan Agathe Bactériologie-Virologie

M. EFFO Kouakou Etienne Pharmacologie
 MM. KABRAN Tano Kouadio Mathieu Immunologie
 MIEZAN Jean Sébastien Parasitologie

TANOH-BEDIA Valérie Parasitologie

KAMENAN Boua Alexis Thierry Pharmacologie
KOFFI Kouamé Santé Publique
ADIKO Aimé Cézaire Hématologie

Mmes DONOU-N'DRAMAN Aha Emma Hématologie

KABLAN-KASSI Hermance Hématologie

M. BROU Amani Germain Pharmacie Clinique

KACOU Alain Chimie organique, chimie thérapeutique N'GUESSAN Déto Ursul Jean Paul Chimie organique, chimie thérapeutique

Mmes KONE Fatoumata

Biochimie et Biologie Moléculaire

SIBILI-KOFFI Akissi Joëlle

Biochimie et Biologie Moléculaire

MM. KOUAKOU Sylvain Landry Pharmacologie
KOUAME Dénis Rodrigue Immunologie

KPAIBE Sawa André Philippe Chimie Analytique

LATHRO Joseph Serge Bactériologie-Virologie

N'GBE Jean Verdier Toxicologie

Mmes N'GUESSAN-BLAO Amoin Rebecca J. Hématologie

N'GUESSAN Kakwokpo Clémence Pharmacie Galénique
TUO Awa Pharmacie Galénique

OUAYOGODE-AKOUBET Aminata Pharmacognosie

ALLOUKOOU-BOKA Paule Mireille Législation

APETE Sandrine Bactériologie-Virologie

M. TRE Eric Serge Chimie Analytique

Mmes VANGA ABO Henriette Parasitologie-Mycologie

YAO ATTIA Akissi Régine Santé Publique

M. YAPO Assi Vincent De Paul Biologie Générale

### 6. ATTACHES DE RECHERCHE

M. LIA Gnahoré José Arthur Pharmacie Galénique

Mmes ADIKO N'dri Mireille Pharmacognosie

OUATTARA N'gnôh Djénéba Santé Publique

# 7. IN MEMORIAM

Feu KONE Moussa Professeur Titulaire
Feu OUATTARA Lacina Professeur Titulaire
Feu YAPO Abbé Etienne Professeur Titulaire

Feu COMOE Léopold Maître de Conférences Agrégé

Feu GUEU Kaman Maître Assistant

Feu ALLADOUM Nambelbaye Assistant
Feu COULIBALY Sabali Assistant
Feu TRAORE Moussa Assistant
Feu YAPO Achou Pascal Assistant

# IV. ENSEIGNANTS VACATAIRES

# 1. PROFESSEURS

MM. DIAINE Charles Biophysique
ASSAMOI Assamoi Paul Biophysique

OYETOLA Samuel Chimie Minérale

ZOUZOU Michel Cryptogamie

# 2. MAITRES DE CONFERENCES

Mme TURQUIN née DIAN Louise Biologie VégétaleMM YAO N'Dri Pathologie Médicale

SAKO Aboubakar Physique (Mécanique des fluides)

# 3. MAÎTRE-ASSISTANT

# M. KONKON N'Dri Gilles Botanique, Cryptogamie

# 4. NON UNIVERSITAIRES

M. AHOUSSI Daniel Ferdinand Sécourisme

DEMPAH Anoh Joseph Zoologie

GOUEPO Evariste Techniques officinales

Mme KEI-BOGUINARD Isabelle Gestion

MM KOFFI Alexis Anglais

KOUA Amian Hygiène

KOUASSI Ambroise Management

KOUAKOU Tanoh Hilaire Botanique et Cryptogamie

N'GOZAN Marc Sécourisme KONAN Kouacou Diététique

Mme PAYNE Marie Santé Publique

# COMPOSITION DES DEPARTEMENTS DE L'UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

# I. <u>BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE</u>

Professeur LOUKOU Yao Guillaume Maître de Conférences Agrégé

Chef de département

Professeurs OUASSA Timothée Maître de Conférences Agrégé

ZINZENDORF Nanga Yessé Maître de Conférences Agrégé

Docteurs CABLAN Mian N'Dédey Asher Maître-Assistant

KOUASSI AGBESSI Thérèse Maître-Assistant

APETE Sandrine Assistante

DJATCHI Richmond Anderson Assistant

DOTIA Tiepordan Agathe Assistante

KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde Assistante

LATHRO Joseph Serge Assistant

# II. <u>BIOCHIMIE</u>, <u>BIOLOGIE MOLECULAIRE</u>, <u>BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION ET PATHOLOGIE MEDICALE</u>

Professeur MONNET Dagui Professeur Titulaire

Chef de Département

Professeurs HAUHOUOT ép. ATTOUNGBRE M.L. Professeur Titulaire

AHIBOH Hugues Maître de Conférences Agrégé

AKE-EDJEME N'Guessan Angèle Maître de Conférences Agrégé

Docteurs KONAN Konan Jean Louis Maître-Assistant

YAYO Sagou Eric Maître-Assistant

KONE Fatoumata Assistante

SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle Assistante

YAPO-YAO Carine Mireille Assistante

# III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Professeur SAWADOGO Duni Professeur Titulaire

Chef du Département

Professeurs INWOLEY Kokou André Professeur Titulaire

DEMBELE Bamory Maître de Conférences Agrégé

KOUASSI Dinard Maître de Conférences Agrégé

Docteurs ABOLI-AFFI Mihessé Roseline Maitre-Assistant

ADJAMBRI Adia Eusebé Maitre-Assistant

AYE-YAYO Mireille Maitre-Assistant

BAMBA-SANGARE Mahawa Maitre-Assistant

ADIKO Aimé Cézaire Assistant

DONOU-N'DRAMAN Aha Emma Assistante

KABLAN-KASSI Hermance Assistante

KABRAN Tano K. Mathieu Assistant

KOUAME Dénis Rodrigue Assistant

N'GUESSAN-BLAO A. Rebecca S. Assistante

YAPO Assi Vincent De Paul Assistant

# IV. <u>CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE</u>

Professeur MALAN Kla Anglade Professeur Titulaire

Chef de Département

Professeurs AKE Michèle Professeur Titulaire

AMIN N'Cho Christophe Maître de Conférences Agrégé

BONY Nicaise François Maître de Conférences Agrégé

GBASSI Komenan Gildas Maître de Conférences Agrégé

Docteurs BROU Amani Germain Assistant

KPAIBE Sawa Andre Philippe Assistant

TRE Eric Serge Assistant

# V. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE

Professeur OUATTARA Mahama Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

Professeur YAPI Ange Désiré Maître de Conférences Agrégé

Docteur COULIBALY Songuigama Assistant

KACOU Alain Assistant

KOUAHO Avi Kadio Tanguy Assistant

N'GUESSAN Déto Ursul JP Assistant

SICA-DIAKITE Amelanh Assistante

# VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE

Professeur MENAN Eby Ignace H. Professeur Titulaire

Chef de Département

Professeurs YAVO William Professeur Titulaire

DJOHAN Vincent Maître de Conférences Agrégé

Docteurs ANGORA Kpongbo Etienne Maître-Assistant

BARRO KIKI Pulchérie Maître-Assistant

KASSI Kondo Fulgence Maître-Assistant

KONATE Abibatou Maître-Assistant

VANGA ABO Henriette Maître-Assistant

MIEZAN Jean Sébastien Assistant

TANOH-BEDIA Valérie Assistante

# VII. PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE, COSMETOLOGIE, GESTION ET LEGISLATION PHARMACEUTIQUE

Professeur KOFFI Armand A. Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

Professeurs AMARI Antoine Serge G. Maître de Conférences Agrégé

DALLY Laba Ismaël Maître de Conférences Agrégé

Docteurs AKA ANY-GRAH Armelle A.S. Maître-Assistant

N'GUESSAN Alain Maître-Assistant

ALLOUKOU-BOKA P.-Mireille Assistante

LIA Gnahoré José Arthur Attaché de recherche

NGUESSAN Kakwokpo Clémence Assistante

N'GUESSAN-AMONKOU A. Assistante

TUO Awa Assistante

# VIII. <u>PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE, CRYPTOGAMIE,</u>

Professeur KONE BAMBA Diénéba Professeur Titulaire

Chef de Département

Docteurs ADJOUGOUA Attoli Léopold Maître-Assistant

FOFIE N'Guessan Bra Yvette Maître-Assistant

ADIKO N'dri Marcelline Attachée de recherche

AKOUBET-OUAYOGODE A. Assistante

ODOH Alida Edwige Assistante

# IX. PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE ET PHYSIOLOGIE HUMAINE

Professeurs ABROGOUA Danho Pascal Professeur Titulaire

Chef de Département

KOUAKOU-SIRANSY N'doua G. Professeur Titulaire

IRIE-N'GUESSAN Amenan G. Maître de Conférences Agrégé

Docteurs AMICHIA Attoumou M Assistant

BROU N'Guessan Aimé Assistant

DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Assistant

EFFO Kouakou Etienne Assistant

KAMENAN Boua Alexis Assistant

KOUAKOU Sylvain Landry Assistant

# X. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur POLNEAU-VALLEE Sandrine Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

Docteur KONAN Jean-Fréjus Maître-Assistant

# XI. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE

Professeur KOUADIO Kouakou Luc Professeur Titulaire

Chef de département

DANO Djédjé Sébastien Professeur Titulaire

OGA Agbaya Stéphane Maître de Conférences Agrégé

KOUAKOU-SACKOU J. Maître de Conférences Agrégé

SANGARE-TIGORI B. Maître de Conférences Agrégé

Docteurs CLAON Jean Stéphane Maître-Assistant

MANDA Pierre Maître-Assistant

DIAKITE Aissata Maître-Assistante

HOUNSA-ALLA Annita Emeline Maître-Assistante

KONAN-ATTIA Akissi Régine Maître-Assistante

OUATTARA N'gnôh Djénéba Chargée de Recherche

BEDIAKON-GOKPEYA Mariette Assistante

KOFFI Kouamé Assistant

NGBE Jean Verdier Assistant

**DEDICACES ET REMERCIEMENTS** 

# **DEDICACES**

# A L'ETERNEL DIEU TOUT PUISSANT

« GARDE-MOI, MON DIEU : J'AI FAIT DE TOI MON REFUGE,

SEIGNEUR, MON PARTAGE ET MA COUPE :

DE TOI DEPEND MON SORT. »

JE GARDE LE SEIGNEUR DEVANT MOI SANS RELACHE;

IL EST A MA DROITE : JE SUIS INEBRANLABLE.

JE N'AI PAS D'AUTRE BONHEUR QUE TOI.

TU M'APPRENDS LE CHEMIN DE LA VIE;

DEVANT TA FACE : DEBORDEMENT DE JOIE » PS 15

Que cette Thèse soit une louange à ton Saint Nom, Père Eternel et Miséricordieux »......Amen.

# A mon père MAHAN Tan Víctor,

A celui qui m'a aidé à découvrir le `savoir' le trésor inépuisable.

Merci d'avoir été toujours là pour moi, un grand soutien tout au long de mes études.

Tu as été et tu seras toujours un exemple à suivre pour tes qualités humaines, ta persévérance et ton perfectionnisme.

Des mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon respect, ma considération, ma reconnaissance et mon amour éternel.

Que Dieu te préserve des malheurs de la vie et t'accorde longue vie afin que tu puisses profiter des fruits de ce travail.

# A ma très chère mère DION Suzanne

« ....Un seul être vous manque, et tout est dépeuplé.... ».

Durant le temps passé avec nous, tu as été une mère bonne et courageuse, forte et déterminée. J'aurai tant aimé que tu sois là en ce jour pour partager ce bonheur mais hélas! Je suis fière d'être ta fille....et j'espère que de là où tu es, tu es aussi fière de moi, Maman!

Aucun hommage ne saurait transmettre à sa juste valeur ; l'amour, le dévouement et le respect que je porte pour toi. Je t'aime Maman chérie

Que ton âme repose en paíx.

# A mon très cher époux

Ton amour est un don de Dieu.

Aucune dédicace, aussi expressive qu'elle soit, ne saurait exprimer la profondeur de mes sentiments et l'estime que j'ai pour toi.

Dans tes yeux, j'ai toujours pu lire de la tendresse, tu es une étoile dans ma vie. Tu m'as toujours soutenu, compris et réconforté tu es et restera toujours ma source d'inspiration.

Merci pour ta tendresse, ton attention, ta patience et tes encouragements; Merci pour tout.

Puisse Dieu nous préserver du mal, nous combler de santé, de bonheur et nous procurer une longue vie pour le service de Dieu....

Puisse Dieu enfin faire en sorte que cette date soit pour nous le début d'un temps nouveau, plein de joie et de bonheur!

Mercí pour ta confíance et ton AMOUR. JE T'AIME.

# A mes enfants, mes précieux trésors (Marc Aurel Doness, Pahlia Marie-Liz Hemrique, Lyam-uriel Degaley)

« Un sourire d'enfant, miroir confiant de l'amour d'une maman ».

Je dis merci à Dieu pour ses adorables boutchous qu'il m'a donnés.

A vous mes enfants, je vous dis merci de me donner de la joie et de la détermination à toujours aller de l'avant.

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer l'amour que je vous porte....

Bref, vous êtes la joie de ma vie.

J'espère que ma thèse sera pour vous source de fierté et aussi un exemple à suivre.

Votre joie de vivre et vos sourires ont été pour moi le meilleur encouragement que je puisse avoir. Que Dieu vous garde et vous protège.

Je vous aime !!!

# A mon patron Dr Lamíne LACHIROY, títulaire de la pharmacie Sainte Marie des Béatitudes

Je suis heureuse et reconnaissante d'avoir un patron à multiple facettes : Leader, Mentor et Enseignant.

J'ai trouvé en vous une personne ressource qui a su me guider dans l'acquisition de mes compétences, dans l'éthique professionnelle, dans la déontologie qu'impose le métier de pharmacien, dans les décisions à prendre, dans la façon d'être humain dans un univers qui ne l'est pas toujours : l'entreprise.

Infiniment Merci pour votre professionnalisme, votre humanité et votre confiance.

# A tout le personnel de la pharmacie Sainte Marie des Béatitudes

Tout au long de ses nombreuses années, vous avez été une seconde famille au-delà d'être mes collègues de travail.

Je vous remercie pour votre soutien et votre présence pendant les moments de doute.

En témoignage des souvenirs de tous les moments passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur

Dieu vous garde!

# A mes oncles et tantes

Vous avez toujours été présents pour les bons conseils. Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle et personnelle. Veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.

# A mes frères, sœurs, cousins, cousines,

Vous avez toujours cru en moi et vous attendiez ce travail avec impatience. Le voilà, il est là!

Je vous remercie pour vos soutiens et encouragements pendant toutes ces années.

Je suis très heureuse de vous dédier ce travail qui est aussi le vôtre! Puissions-nous continuer à vivre en parfaite harmonie en ayant les uns pour les autres une tendresse et un amour sans cesse grandissants!

Merci pour tout et que Dieu vous bénisse

### A tous mes amís

La grandeur d'une personne se mesure par la qualité de ses amis. Je suis fière de vous avoir pour amis.... Merci pour votre soutien et votre assistance dans l'épreuve.

Fasse que cette amitié résiste à l'usure du temps et se perpétue dans notre vie professionnelle.

Je vous dédie cette thèse que vous m'avez aidée à réaliser.

# A tous ceux que je n'ai pu citer,

Merci également pour tout ce que vous avez fait pour moi. Que Dieu vous bénisse!!!

# **REMERCIEMENTS**



# AU PROFESSEUR OUATTARA MAHAMA

Vous avez bien voulu nous confier ce travail riche d'intérêt et nous guider à chaque étape de sa réalisation.

Votre sérieux, votre vivacité d'esprit et votre sens du devoir méritent toute notre admiration. Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations professionnelles et nous vous en sommes particulièrement reconnaissants.

Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect

### AU PROFESSEUR YAPI DESIRE

Merci pour la formation rigoureuse reçue de votre part.

Veuillez trouver ici, cher Maître, l'expression de toute ma reconnaissance et de l'infini respect que nous vous témoignons.

# Aux Docteurs COULIBALY SONGUIGAMA et N'GUESSAN JEAN PAUL

Je tiens à vous adresser mes vifs remerciements pour votre rigueur, votre dévouement et votre soutien tout au long de ce travail. Que cette thèse soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect.

Puisse Dieu vous offrir la belle et grande carrière que vous méritez!

A toute l'équipe du département de chimie organique et thérapeutique,

A mes cadets : Kapet Wilfried, Franck N'Guessan Kouakou, Jean Iouis Kikoun Ouattara et Pascaline N'Da

*Merci pour votre soutien et votre collaboration.* 

### Au Docteur KOUAKOU SYLVAIN LANDRY

Un immense et profond merci pour votre aide et pour le temps que vous avez consacré à la réalisation de ce travail. Que Dieu puisse vous offrir la belle et grande carrière que vous méritez

# A MES CHERS MAITRES ET JUGES

# A NOTRE MAITRE ET PRESIDENTE DU JURY Madame le Professeur SAWADOGO Duni

- > Docteur en Pharmacie de l'Université d'Abidjan,
- > Biologiste des hôpitaux,
- Docteur en Biologie Cellulaire option Hématologie de l'Université de Navarre, Pampelune, Espagne,
- > Professeur Titulaire en Hématologie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques à Abidjan,
- > Chef du département de Biologie générale (Histologie-Cytologie-Cytogénétique) d'Hématologie et d'Immunologie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques à Abidjan,
- > Chef de l'Unité d'hématologie du laboratoire central du CHU de Yopougon,
- > Responsable de l'enseignement d'Hématologie-Biologie au DES de Biologie.
- Membre de la Commission Nationale Permanente de Biologie Médicale (CNPBM)
- > Membre de plusieurs sociétés savantes :
  - Société Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI)
  - Société Ivoirienne d'Hématologie, Immunologie, Oncologie Transfusion Sanguine (SIHIO-TS)
  - Société Africaine Francophone d'Hématologie (SAFHEMA)
  - Société Française d'Hématologie (SFH)
  - European Hematology Association (EHA)
  - American Society of Hematology (ASH).
  - American Society of Hematologie oncology (SOHO)

# Chère Maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant spontanément de présider le jury de cette thèse.

Vos conseils et votre amour pour le travail bien fait nous ont marqué tout au long de ces années d'étude.

Permettez- nous, Chère Maître de vous exprimer notre profond respect et notre sincère gratitude.

# A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

# Monsieur le Professeur OUATTARA MAHAMA

- Maître de Conférences Agrégé de Chimie Médicinale
- > Pharmacien, Docteur ès Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Montpellier I.
- > Directeur Adjoint de la Direction de la Pharmacie, Médicament et des Laboratoires de Côte d'Ivoire (DPML)
- > Inspecteur des Bonnes Pratiques de Fabrication et de Distribution des Médicaments,
- > Membre du Comité technique consultatif «inspection pharmaceutique» de la Cellule pour l'Harmonisation de la Règlementation et la Coopération Pharmaceutique (CHRCP) de l'UEMOA
- > Expert UEMOA pour l'homologation des Médicaments Vétérinaires
- > Lauréat du prix de Recherche Santé 2003 du Ministère de la Recherche Scientifique de la République de Côte d'ivoire
- > Thématique de recherche lauréate du Prix Scientifique KOUAME Egnankou 2013 des UFR Sciences de la Santé
- > Thématique de recherche lauréate du Programme d'Appui Stratégique à la Recherche Scientifique en Côte-d'Ivoire de 2015 (PASRES)
- Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM)
- > Membre du Réseau de Substances Bioactives Ouest Africain (ReSBOA)
- > Membre de la Société de Chimie Thérapeutique de France (SCt France)
- > Président de la Société Pharmaceutique de Côte d'ivoire (SOPHACI)

# Cher Maître,

Nous vous remercions de la spontanéité et de la simplicité avec lesquelles vous avez accepté de me confier ce sujet de thèse.

Votre enseignement, mais également votre rigueur et votre ardeur au travail creusent un chemin qu'il est agréable à tout étudiant de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques de suivre.

Votre probité au travail et votre dynamisme, votre sens de responsabilité nous ont toujours impressionnés et sont pour nous un idéal à atteindre.

Nous espérons être dignes de votre confiance, et nous prions, cher Maître, d'accepter notre profonde reconnaissance et notre haute considération.

# A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE

# Monsieur le Professeur DJOHAN VINCENT

- ➤ Maître de conférences agrégé de Parasitologie
- ➤ Professeur agrégé à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques; au département de Parasitologie-Mycologie-Zoologie-Biologie animale
- Docteur en Pharmacie diplômé de l'Université Félix Houphouët Boigny d'Abidjan
- ➤ Biologiste des hôpitaux (CES de Parasitologie-Mycologie, CES d'Hématologie biologie, DEA d'entomologie médicale et vétérinaire)
- > Entomologiste médical
- ➤ Ancien interne des hôpitaux d'Abidjan (Lauréat du concours de 2001)
- Membre de la Société Ouest Africaine de Parasitologie et de Mycologie
- Membre de la Société Ivoirienne de Parasitologie et de Mycologie

# Cher Maître,

Vous nous avez honorés d'accepter avec grande sympathie de siéger parmi notre jury de thèse.

Veuillez trouver ici, Cher Maître, l'expression de notre grand respect et nos vifs remerciements.

# A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE

# Monsieur le Docteur KONAN KONAN JEAN LOUIS

- ➤ Maître-assistant au département de Biochimie, Biologie moléculaire et Biologie de la reproduction de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny
- ➤ Docteur en pharmacie
- ➤ Pharmacien biologiste à l'Institut de Cardiologie d'Abidjan
- Titulaire du DEA de biologie humaine et tropicale d'UFR Sciences médicale de l'Université Félix Houphouët Boigny
- > Titulaire du DES de Biologie clinique de UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny
- ➤ Ancien interne des Hôpitaux d'Abidjan

# Cher Maître,

Vous nous faites l'honneur d'accepter avec une très grande amabilité de siéger parmi notre jury de thèse.

Veuillez accepter ce travail Cher Maître, en gage de notre grand respect et notre profonde reconnaissance.

# Sommaire

LISTE DES FIGURES	XXXII
LISTE DES TABLEAUX	XXXIV
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE	4
CHAPITRE I: AGENTS OXYDANTS ET STRESS OXYDANT	5
I. AGENTS OXYDANTS	6
I.1. Production des radicaux libres	7
I.1.1 Production intracellulaire	7
I.1.2 Production extracellulaire	9
I.2. Différents types d'espèces réactives de l'oxygène (ERO)	10
II. PROCESSUS D'OXYDO-REDUCTION	11
III. STRESS OXYDANT	11
III.1. Définition	11
III.2. Biomolécules et dommages oxydatifs	12
III.2.1. Cas des protéines	12
III.2.2. Cas de l'ADN	12
III.2.3. Cas des lipides	13
III.3. Implication du stress oxydant dans les pathologies humaines	14
III.3.1. Stress oxydant et cancer	15
III.3.2. Stress oxydant et l'athérosclérose	15
III.3.3. Stress oxydant et vieillissement	15
III.3.4. Stress oxydant et Diabète de type 2	16
III.3.5. Stress oxydant et maladies neurodégénératives	16
CHAPITRE II:_ANTIOXYDANTS	18
I. DEFINITION	19
II. SYSTEMES ANTIOXYDANTS ENZYMATIQUES	19
III. SYSTEMES ANTIOXYDANTS NON ENZYMATIQUES	20
III.1. Systèmes antioxydants non enzymatiques endogènes (Tableau II)	20
III.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques exogènes (Tableau III)	22
CHAPITRE III: CHALCONES ET POUVOIR ANTIOXYDANT	27
I. GENERALITES SUR LES CHALCONES	28
I.1. Définition et propriétés biologiques	28
I.2. Origine	29
II. POUVOIR ANTIOXYDANT DES CHALCONES	30

II.1.	Pouvoir chélateur des métaux de transition	32
II.2.	Activités sur les radicaux libres	33
II.3.	Action sur les glutathions	34
C	HAPITRE IV : CONCEPTION DES DIAZA-HETEROARYL-PROPENONES ET ANALOG	UES
	VISEE ANTIOXYDANTE	
C	HAPITRE V: METHODES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE	
I.	TESTS BIOLOGIQUES	
II.	TESTS CHIMIQUES IN VITRO	
II.1.	7 1 3 1 3 3 7	
II.1.	1	
II.1.	1	
II.1.		
II.1.	4. Avantages du Test	45
II.2.	Test de réduction du fer (FRAP) : Ferric reducting antioxidant Power	45
II.2.	1. Principe	45
II.2.	2. Interprétation	46
II.2.	3. Limites du Test	47
II.2.	4. Avantages du Test	48
II.3.	Test ORAC: Oxygen Radical Absorbance Capacity	48
II.3.	1. Principe	48
II.3.	2. Interprétation	48
II.3.	3. Limites du Test	49
II.3.	4. Avantages du Test	49
II.4.	Test d'ABTS (Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique))	50
II.4.	1. Principe	50
II.4.	2. Interprétation	51
II.4.	3. Limites du Test	51
II.4.	4. Avantages du Test	52
DEU	JXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE	54
C	HAPITRE I <u>:</u> MATERIEL ET METHODES	55
I.	CADRE DE L'ETUDE	56
II.	MATERIEL	56
II.1.	Matériel de laboratoire	56
II.2.	Matériel chimique	57
	II.2.1. Réactifs chimiques de laboratoire	
	II 2.2 Molécule de synthèse substance antioxydante de référence et modèle moléculaire	

II.3.	Autre matériel	59
III.	METHODE D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE	59
	Principe	
	Mode opératoire	
	APITRE II <u>:</u> RESULTATS	
СН	APITRE III: DISCUSSION	68
	CLUSION ET PERSPECTIVES	
REFE	RENCES BIBLIOGRAPHIOUES	72

# LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Sites de production intracellulaire des ERO
Figure 2 : Structure chimique de la vitamine C
<b>Figure 3</b> : Structure chimique des vitamines E
<b>Figure 4</b> : Structure chimique d'un rétinoïde
<b>Figure 5</b> : Structure chimique des β-carotènes
<b>Figure 6 :</b> Structure chimique de base des flavonoïdes
<b>Figure 7</b> : structure d'un phénol simple
Figure 8: Structure générale d'une chalcone
<b>Figure 9</b> : Profil chimique des chalcones et flavanones
Figure 10 : Différentes chalcones antioxydants isolées à partir de racines
Glycyrrhiza inflata (Fabaceae)30
Figure 11 : Structure chimique de la Naringenine-chalcone
Figure 12 : Structure chimique d'une tetrahydroxychalcone
Figure 13 : Structure chimique de l'Hespéridine-chalcone
Figure 14 : Les sites de complexation des métaux par les flavonoïdes
<b>Figure 15</b> : Structure chimique d'une dihydroxychalcone
Figure 16 : Structures chimiques des Licochalcones B et D
Figure 17 : Conception et profil chimique des diaza-hétéroaryl-propénones et
analogues structuraux acrylonitriles39
Figure 18 : Profil chimique général des diaza-hétéroaryl-chalcones à visé
antioxydante40
Figure 19: Spectre d'absorption du DPPH et oxydation du radical DPPH44
Figure 20 : Réduction du complexe tripyridyltriazine ferrique en complexe
ferreux46
Figure 21 : Réaction chimique entre l'ABTS et le radical cationique ABTS 51
Figure 22 : Structure chimique du trolox

Figure 23 : 1,3 - diphenylpropénone	59
Figure 24 : Pourcentage moyen d'inhibition du radical ABTS en fonction des	
molécules testées	66
Figure 25 : Conception des diaza-hétéroaryl-chalcones (composé S1 et compos	é
S2)	70
Figure 26 : Variations structurales entreprises autour de la benzimidazolyl-	
chalcone (composé S1)	71

# LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Espèces réactives de l'oxygène	10
Tableau II : Antioxydants enzymatiques et non enzymatiques	21
Tableau III : Principaux antioxydants non enzymatiques exogènes et sources	
alimentaires associées	22
Tableau IV : Récapitulatif des principales caractéristiques des méthodes	
d'évaluation de l'activité antioxydante	53
Tableau V: Pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS des	
chalcones S1-S4, de la substance de référence et du modèle moléculaire R	64

# **ABREVIATIONS**

**AAPH** : 2,2'-Azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride

**ABTS** : Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**CAT** : Catalase

**DHC** : DiHydroxyChalcone

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

**EDTA** : Acide éthylène diamine tétra-acétique

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**ERN** : Espèces Réactives de l'Azote

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power (Capacités réductrices

ferriques d'antioxydants)

**GPx** : Glutathion peroxydase

**GSH** : Glutathion réduit

**GSSG** : Glutathion oxydé

**TAH** : Tranfert d'atome d'hydrogène

**TEAC**: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

**HBED** : Hydroxyphényl éthylène diamine diacétate

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

ORAC :Oxygen Radical Absorbance Capacity (Capacité d'Absorption

des Radicaux oxygénés).

**PMI** : Pourcentage Moyen d'Inhibition

**RL** : Radicaux Libres

**TES –TP** : Transfert d'un électron suivi d'un transfert de proton



Les cellules et tissus de notre organisme sont soumis à une importante variété d'agressions physiques (hyperthermie), chimiques (oxydation) et métaboliques (exposition aux xénobiotiques), qui débouchent sur une expression commune : le stress oxydant. Le stress oxydant est un phénomène anormal dû à la production de radicaux libres qui outrepasse les capacités de défense de l'organisme [1].

Connus pour jouer un rôle essentiel dans les systèmes biologiques tels que la phagocytose, la transmission des signaux intercellulaires, l'élimination de cellules cancéreuses par apoptose etc., les radicaux libres entraînent en concentration élevée, des dommages oxydatifs cellulaires compromettant la structure et le fonctionnement des tissus et organes [2]. De ce fait, ils sont incriminés dans la survenue d'un grand nombre de pathologies chroniques et dégénératives telles que les maladies auto-immunes, la maladie de Parkinson, l'Alzheimer, les maladies cardiovasculaires/déficiences cardiaques, le diabète, le cancer etc. [3].

L'organisme, pour lutter contre les effets délétères du stress oxydant, dispose de systèmes de défense dits antioxydants qui agissent selon des mécanismes très variés. Ils ont pour rôle de prévenir la formation de radicaux libres, de les neutraliser ou encore de réparer les dégâts occasionnés par ces derniers [4].

Les antioxydants sont un groupe hétérogène de composés endogènes ou exogènes qui regroupent des molécules à activité enzymatique (la glutathion peroxydase, la catalase); ou non enzymatique à savoir les vitamines (A, C, E), les oligo-éléments (le sélénium) et les protéines (la ferritine) [5]. Ils ont le pouvoir de diminuer les niveaux de stress oxydant et par conséquent les dommages oxydatifs induits.

En raison de leurs potentiels effets bénéfiques sur la santé humaine, les antioxydants ont suscité ces dernières décennies un engouement dans le milieu scientifique quant à la recherche de composés à propriétés antioxydantes toujours plus efficaces vis-à-vis des radicaux libres. Parmi ces composés, les chalcones, précurseurs des flavonoïdes et des isoflavonoïdes constituent une alternative intéressante pour l'élaboration de molécules à pouvoir antioxydant [6].

C'est dans ce contexte, que le Département de Chimie Thérapeutique de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques a consacré une partie de ses recherches autour des chalcones dans une perspective de recherche de potentiels candidats médicaments.

Ainsi, dans la présente étude, nous nous sommes fixés comme objectif général de contribuer à la mise au point de nouveaux composés diaza-hétéroaryl-chalcones et analogues structuraux à propriétés antioxydantes.

De façon spécifique, il s'agit pour nous de:

- ✓ déterminer l'activité antioxydante par la méthode à acide 2,2'-azino-bis (3éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS) de quatre diaza-hétéroarylchalcones et analogues structuraux
- ✓ établir une corrélation entre le profil chimique de ces composés et les activités obtenues, afin de sélectionner de futurs candidat-médicaments antioxydants.

Pour ce faire, notre travail se décline-t-il en deux parties:

- Dans la première partie, nous résumerons une étude bibliographique abordant d'abord les généralités sur les agents oxydants, le stress oxydant et leur implication dans la survenue de pathologies. Ensuite, nous passerons en revue les antioxydants existants y compris les propriétés antioxydantes des chalcones. Puis, nous terminerons cette partie par la conception des diaza-hétéroaryl-chalcones et analogues structuraux ainsi que les méthodes d'évaluation des activités antioxydantes
- La seconde partie, de type expérimentale, abordera successivement la description du cadre et type d'étude, puis le matériel et la méthode utilisée; l'analyse des résultats obtenus suivie d'une discussion de type relation structure-activité.

Notre travail s'achèvera par une conclusion ainsi que les perspectives qui en découlent.

### PREMIERE PARTIE: REVUE DE LA LITTERATURE

### CHAPITRE I AGENTS OXYDANTS ET STRESS OXYDANT

### I. AGENTS OXYDANTS

Un agent oxydant est un corps simple, un composé ou un ion qui reçoit au moins un électron d'une autre espèce chimique lors d'une réaction d'oxydoréduction. L'oxydant ayant accepté au moins un électron au cours de cette réaction est dit réduit, tandis que l'espèce chimique qui a cédé au moins un électron est dite oxydée. Parmi ces agents oxydants, l'on peut citer les radicaux libres responsables de nombreux dommages oxydatifs [7].

Dans les conditions physiologiques, l'oxygène produit des espèces réactives de l'oxygène (ERO) particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire [7].

Les espèces réactives (pouvant être de nature radicalaire ou non) se divisent en deux catégories principales : d'une part les ERO et d'autre part les espèces réactives de l'azote (ERN) [7]

Les radicaux libres constituent une proportion importante des ERO.

Les radicaux libres (RL) sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (non appariés) sur leur couche externe [7]. Ils jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire, la phagocytose et la communication cellulaire [8].

Les RL sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir leur stabilité. Ils sont capables de déclencher une réaction en chaîne lorsqu'ils attaquent la molécule stable la plus proche en lui volant son électron, et la molécule attaquée devient alors elle-même un radical libre [9-11].

Le terme de radical libre est assimilé aux espèces réactives de l'oxygène (ERO).

Parmi ces espèces, on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie. Il s'agit de radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde  $(O_2^{\bullet})$ , le radical hydroxyle ( $O_2^{\bullet}$ ), le monoxyde d'azote ( $O_2^{\bullet}$ ), le

radical peroxyde (ROO') et le radical alkoxyle (RO'). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires tels que l'oxygène singulet  ${}^{1}O_{2}$ , le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et le nitroperoxyde (ONOO<sup>-</sup>), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [13].

### I.1. Production des radicaux libres

Il existe des voies de production des RL [9,11].

### **I.1.1** Production intracellulaire

### I.1.1.1 Métabolisme de l'oxygène

La chaîne respiratoire est une source permanente de production des ERO. Selon certains auteurs, environ 1 à 7% de l'oxygène utilisé par la mitochondrie est incomplètement réduit et produit des anions superoxydes, de l'eau oxygénée et éventuellement des radicaux hydroxyles [13].

### I.1.1.2 Inflammation

L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement via les cellules phagocytaires.

Les cellules immunitaires sont activées par des stimuli endogènes et exogènes.

Cette activation s'accompagne d'une accélération de leur consommation d'oxygène entrainant la stimulation d'une enzyme membranaire, la NADPH oxydase. Celle-ci catalyse la réduction de l'oxygène en anion superoxyde qui donne à son tour du peroxyde d'hydrogène par dismutation.

L'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène participent à la libération d'hypochlorite sous l'influence d'une enzyme leucocytaire, la myéloperoxydase [8].

A côté de ces sources majeures des ERO, d'autres sources existent.

### I.1.1.3 Sources cytosoliques

Les sources cytosoliques (**Figure1**) sont constituées essentiellement de peroxysome et de xanthine oxydase.

- Le peroxysome est une source importante de la production cellulaire de peroxyde d'hydrogène [14].
- La xanthine oxydase produit l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques) [15].

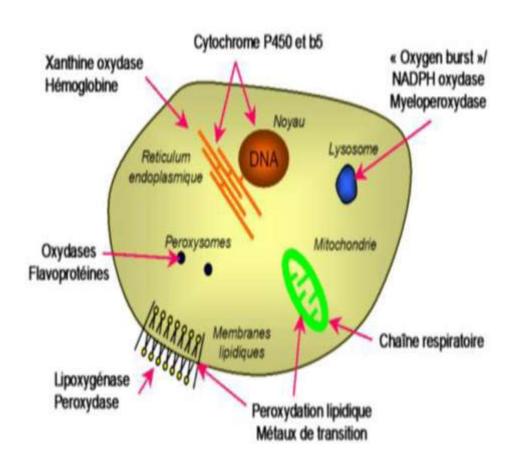


Figure 1 : Sites de production intracellulaire des ERO [16]

### I.1.2 Production extracellulaire

L'environnement et le mode de vie sont aussi responsables de la production de radicaux libres dans l'organisme.

### I.1.2.1 Production des radicaux libres liée à l'environnement

Les facteurs de l'environnement pouvant contribuer à la formation des RL sont :

- Les agents cancérigènes non génotoxiques (xénobiotiques).
- Les rayonnements UV : ceux-ci sont capables de générer des anions superoxyde ou de l'oxygène singulet. Les rayons X sont aussi capables de couper la molécule d'eau en deux radicaux par l'intermédiaire d'agents photosensibilisants [17];
- L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>) provenant des polluants industriels.
- Les poussières d'amiante et de silice sont des sources des ERO [13].

### I.1.2.2 Production des radicaux libres liée au mode de vie

Les sources de production des RL au niveau de mode vie, sont :

- Les fumées de combustion (cigarettes), la consommation de l'alcool et l'effort physique intense sont aussi des paramètres à ne pas écarter [19].
- Alimentation chimique riche en graisses saturées, en sucre. [12, 18].

### I.2. Différents types d'espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les différents types d'espèces réactives de l'oxygène sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau I : Espèces réactives de l'oxygène [20]

Nomenclature	Formule	Principales réactions	
Superoxyde	O <sub>2</sub> ··	Catalyseur de la réaction de Haber-Weiss par recyclage de Fe <sup>2+</sup> et Cu <sup>+</sup> ; formation du peroxyde d'hydrogène et peroxynitrite	
Peroxyde d'hydrogène	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Formation du radical hydroxyle; inactivation d'enzymes : oxydation de biomolécules	
Radical hydroxyle	ЮН	Capture de l'hydrogène, production de radicaux libres et peroxydes lipidiques, oxydation des thiols	
Ozone	O <sub>3</sub>	Oxydation de biomolécules, spécialement celles contenant des doubles liaisons, formations des ozonides et des aldéhydes cytotoxiques	
Oxygène singulet	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Réaction avec les doubles liaisons, formations de peroxydes, décomposition des aminoacides et nucléotides	
Oxyde nitrique	NO	Formation de peroxynitrite, réaction avec les autres radicaux	
Peroxynitrite	NO <sub>3</sub> ·	Formation du radical hydroxyle, oxydation des groupements thiols et aromatiques, conversion de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase, oxydation des biomolécules	
Hypochlorite	CIO.	Oxydation des groupements amine et sulfure, formation de chlore	
Radical	R•	Abstraction de l'hydrogène, formation de radicaux peroxyl et autres radicaux	
Radical peroxyl	RO <sub>2</sub> •	Capture de l'hydrogène, formation de radicaux, décomposition de lipides et autres biomolécules	
Hydro peroxyde	RO <sub>2</sub> H	Oxydation de biomolécules, destruction de membranes biologiques	

### II. PROCESSUS D'OXYDO-REDUCTION

Une réaction d'oxydoréduction ou réaction redox est une réaction chimique au cours de laquelle se produit un échange d'électrons. L'espèce chimique qui capte les électrons est appelée « oxydant » ; celle qui les cède, « réducteur ». La réaction ci-dessous en est un exemple [21] :

$$SO_4^{2-} \leftrightarrow SO_2 + O^{2-} + \frac{1}{2}O_2$$
 (1)

Fe<sup>2+</sup> + 
$$\frac{1}{4}$$
 O<sub>2</sub>  $\rightleftharpoons$  Fe<sup>3+</sup> +  $\frac{1}{2}$  O<sup>2-</sup> (2)

$$2Fe^{2+} + SO_4^{2-} \leftrightharpoons 2Fe^{3+} + 2O^{2-} + SO_2$$
 (3)

### III. STRESS OXYDANT

### III.1. Définition

Le stress oxydant est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs.

Ce déséquilibre a pour conséquences l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules [13, 22].

### III.2. Biomolécules et dommages oxydatifs

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires à cause du caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides [23].

Bien que les radicaux libres aient la capacité d'infliger des dommages irréversibles aux macromolécules, ils ont un rôle essentiel à jouer dans certaines fonctions biologiques telles la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire, des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques [2].

### III.2.1. Cas des protéines

Les protéines peuvent être la cible de réactions radicalaires ou oxydatives et subir des modifications sous l'action des ERO et ERN. Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le cuivre et le fer. Les protéines atteintes peuvent se fragmenter ou se dénaturer avec l'altération de leurs structures primaires et secondaires. On peut observer une oxydation des chaînes latérales des acides aminés notamment de la cystéine et de la méthionine, avec formation de ponts disulfures [24].

### III.2.2. Cas de l'ADN

Les ERO constituent la plus importante source endogène de dommages à l'ADN. Elles peuvent lui induire de nombreuses modifications telles que des lésions aux bases nucléotidiques (purines et pyrimidines), des cassures simples brin ou doubles brin de la chaîne oligonucléotidique [25]. La guanine, par exemple, peut réagir avec OH• pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui,

au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement [9]. Ces modifications peuvent avoir de graves conséquences sur la réplication du génome.

Les niveaux élevés de ces lésions ont été enregistrées dans plusieurs types tumoraux et sont grandement impliquées dans tous les étapes de cancérogenèse [26].

### III.2.3. Cas des lipides

La peroxydation des lipides est la dégradation des acides gras membranaires. Elle constitue par conséquent un indice de dommages oxydatifs effectués aux lipides. La peroxydation lipidique génère une variété de produits de décomposition relativement stables, principalement des aldéhydes, insaturés et toxiques tels le Malon-dialdéhyde, le 4-hydroxy-2-nonénal, le 2-propénal et les isoprostanes. Ces derniers peuvent être mesurés dans le plasma et l'urine comme marqueurs indirects de stress oxydant [27].

Par ailleurs, les conséquences seront différentes :

- ✓ l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires.
- ✓ l'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité de la membrane. Ceci induit une perturbation des membranes des organites cellulaires, une inactivation des enzymes membranaires et une augmentation de la perméabilité membranaire [28].

Traditionnellement, l'oxydation des lipides se comprend comme une "réaction en chaîne de radicaux libres" se faisant de manière auto catalytique. Cette oxydation

des lipides implique une série complexe de réactions chimiques qui peuvent être commodément divisées en trois étapes [29-31] :

- ✓ Initiation formation de radicaux libres,
- ✓ Propagation réactions radicalaires en chaîne,
- ✓ Résiliation ou terminaison formation de produits non radicaux.

La voie classique d'oxydation des lipides peut être décrite par le schéma réactionnel suivant [29-31]:

Initiation: 
$$LH + In^{\bullet} \rightarrow L^{\bullet} + InH$$
 (1)

Propagation: 
$$L' + O_2 \rightarrow LOO'$$
 (2)

$$LOO' + LH \rightarrow LOOH + L'$$
 (3)

Terminaison: 
$$LOO' + LOO' \rightarrow LOOL + O_2$$
 (4)

$$LOO' + L' \rightarrow LOOL$$
 (5)

$$L' + L' \rightarrow LL$$
 (6)

### III.3. Implication du stress oxydant dans les pathologies humaines.

De nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plusieurs pathologies humaines différentes allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, neurodégénératives et le diabète [32]. Le rôle du stress oxydant a été également évoqué même dans des processus physiologiques tel que le vieillissement [33, 34].

### III.3.1. Stress oxydant et cancer

La carcinogénécité du stress oxydant est principalement attribuée à la génotoxicité des ERO dans les différents processus cellulaires [35].

### III.3.2. Stress oxydant et l'athérosclérose

C'est l'oxydation de certaines lipoprotéines qui est aujourd'hui considérée comme une étape importante de l'athérogénèse. En effet, les LDL oxydées ne sont pas reconnues par les récepteurs habituels (récepteur cellulaire B/E) et sont alors catabolisées par d'autres voies. Elles vont s'accumuler dans les cellules spumeuses (macrophage gonflé de LDL oxydés) observées au stade initial de la formation de la plaque d'athérome qui implique automatiquement une réduction du diamètre de vaisseau [36].

### III.3.3. Stress oxydant et vieillissement

Le vieillissement s'accompagne d'une altération globale de l'ensemble des fonctions physiologiques et d'une sensibilité plus importante vis-à-vis de certaines maladies. La théorie radicalaire justifie cette altération par une accumulation de molécules oxydées [37].

Pour étayer cette théorie, de nombreux marqueurs biologiques du stress oxydant ont été observés au cours du vieillissement (8-oxo-guanine, dialdéhyde malonique, isoprostanes) [37]. Le transcriptome, ensemble des ARN issus de la transcription du génome, va permettre l'adaptation au long cours en réponse à un état cellulaire pro-oxydant. Au cours du vieillissement, le transcriptome va provoquer l'induction de plusieurs gènes codants pour des enzymes antioxydantes et la répression de gènes de la chaine respiratoire. Les mécanismes de réparation cellulaire tels que les protéasomes, les protéines chaperons, diverses enzymes

mais également les systèmes de réparation de l'ADN, sont moins performants avec l'âge ce qui contribue à la fixation et à l'accumulation d'anomalies [38, 39].

### III.3.4. Stress oxydant et Diabète de type 2

Le diabète de type 2 ou diabète non insulinodépendant est une maladie se caractérisant par un taux trop élevé de glucose dans le sang.

Le diabète engendre des hyperglycémies qui vont être perçues par l'organisme comme un stress oxydant [40]. Le stress oxydant est superposable à l'hyperglycémie. Ainsi, plus la glycémie est élevée et prolongée, plus le stress oxydant est intense et donc plus l'effet sera néfaste pour l'organisme. Cela va provoquer une augmentation de la dégradation du glucose qui, par accroissement du potentiel de la membrane mitochondriale, va augmenter la synthèse de radicaux libres. Outre ce phénomène, il va se produire une inhibition de la glycéraldéhyde-3- phosphate déshydrogénase responsable de la diminution de formation du cofacteur réduit NADPH,H+ essentiel à la régulation de l'hémostase [41].

### III.3.5. Stress oxydant et maladies neurodégénératives

Le stress oxydant intervient dans le processus de mort cellulaire que l'on va retrouver dans les maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson ou la maladie de Charcot.

La maladie d'Alzheimer entraine la perte des fonctions mentales et plus particulièrement de la mémoire jusqu'à la démence. Il s'agit d'une maladie incurable, sa survenue est progressive et irréversible. La protéine ß amyloïde semble être un acteur important de la survenue de cette maladie, en effet on la retrouve dans les plaques séniles caractéristiques de la maladie. Elle possède un effet toxique sur les cellules neuronales [42].

Bien que le lien de cause à effet entre stress oxydant et la maladie d'Alzheimer ne soit pas encore bien élucidé, la présence de protéines ß amyloïde est toujours associée à la présence de ROS. Il a été démontré que le stress oxydant favorise l'agrégation de béta amyloïde qui lui-même va provoquer un nouveau stress oxydant par dysfonctionnement au niveau du métabolisme neuronal et des états de certains métaux (fer et cuivre).

La maladie de Parkinson touche le système nerveux central en entrainant des troubles essentiellement moteurs. Elle va se développer de façon progressive et son évolution est irréversible. L'hypothèse développée pour cette pathologie est la mort cellulaire des neurones de la substance noire [43].

La maladie de Charcot se traduit par une dégénérescence progressive des motoneurones du cortex cérébral. Son évolution, généralement rapide, se traduit par une paralysie progressive de l'ensemble des muscles squelettiques ainsi que des muscles respiratoires. Il a été démontré que des mutations du gène codant pour la Cu, Zn-SOD ont été observées dans les formes familiales de la maladie [44].

### CHAPITRE II ANTIOXYDANTS

### I. **DEFINITION**

Toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat est appelée antioxydant [45].

Le radical arrache un électron à l'antioxydant et non pas aux constituants de nos cellules. Grâce à cette réaction, le radical libre devient stable et ne présente aucun danger, il sera éliminé naturellement par l'organisme. L'antioxydant, auquel il manque un électron, a l'avantage de ne pas se transformer en radical libre. Il devient inactif [12].

Dans le cas des polyphénols nous avons la réaction suivante :

$$ArO-H + R^{\bullet}$$
  $\longrightarrow$   $ArO^{\bullet}+RH$ 

La stabilisation du radical ArO se fera grâce à la délocalisation des électrons  $\pi$  du noyau aromatique du polyphénol ou par réaction avec un autre radical libre [46,47].

Il existe un très grand nombre de molécules antioxydantes. Elles peuvent être endogène (naturellement fabriquées par notre organisme) ou bien exogène (apportées par l'alimentation) [12, 20].

Les systèmes antioxydants se classent en systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

### II. SYSTEMES ANTIOXYDANTS ENZYMATIQUES

Les systèmes antioxydants enzymatiques les plus efficaces [20] sont :

✓ Les superoxydes dismutases (SOD) qui sont des métalloprotéines dismutant l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en eau ;

- ✓ La catalase (CAT) qui réagit avec une molécule de peroxyde d'hydrogène générant de l'eau et l'oxygène ;
- ✓ Le glutathion peroxydase (GP<sub>x</sub>) qui réduit le peroxyde d'hydrogène en eau en oxydant le glutathion réduit (GSH) en disulfure de glutathion oxydé (GSSG). Il neutralise aussi directement l'anion superoxyde et le radical hydroxyle.

Les systèmes antioxydants enzymatiques ayant une faible action sont :

- ✓ glutathion réductase,
- ✓ thioredoxine réductase,
- ✓ glutathion transférase [8].

### III. SYSTEMES ANTIOXYDANTS NON ENZYMATIQUES

Les systèmes antioxydants non enzymatiques peuvent être endogènes ou exogènes

### III.1. Systèmes antioxydants non enzymatiques endogènes (Tableau II)

Les systèmes antioxydants non enzymatiques endogènes sont :

- ✓ Le glutathion, ce dernier peut aussi participer à l'activité non-enzymatique en détoxifiant le peroxyde d'hydrogène [48].
- ✓ Les formes oxydées et réduite de l'acide lipoïque, grâce à leurs groupements thiols, sont capables de piéger les espèces réactives suivantes : HO•, RO₂•, l'HOCl et l'¹O₂ [49].
- ✓ L'acide urique qui possède des propriétés antioxydantes contre  $HO^{\bullet}$  et  $RO_{2}^{\bullet}$ , tout comme la bilirubine, les mélanines et la mélatonine [8,50].

Tableau II: Antioxydants enzymatiques et non enzymatiques [19]

Antioxydant	Phase	Action
Superoxyde dismutase (SOD)	Hydrophile	Dismute d'O2* en H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> et O <sub>2</sub>
Catalase	Hydrophile	Dismute d' H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en H <sub>2</sub> O et O <sub>2</sub>
Glutathion peroxydase (GP <sub>X</sub> )	Hydrophile ou Lipophile	Réduction de R-OOH en R-OH
Glutathion réductase (GSR)	Hydrophile	Réduction du glutathion oxydé
Glutathion-S-transférase	Hydrophile	Conjugaison de R-OOH au GSH
(GST)		(→ GS-OR)
Métallothionéines	Hydrophile	Fixation aux métaux de transition
		(=neutralisation)
Thiorédoxines	Hydrophile	Réduction R-S-S-R en R-SH
Glutathion	Hydrophile	Réduction R-S-S-R en R-SH
		Piégeur des radicaux libres
		Cofacteur de la GP <sub>X</sub> et GST
Ubiquinol	Lipophile	Piégeage des radicaux libres
		Recyclage des tocophérols
		(Vitamine E)
		Maintient les enzymes dans les
Dai: 11 ( 'A A )	T' 1'1	états réduits
Rétinoïdes (vit A) et caroténoïdes	Lipophile	Piégeage des radicaux libres  Désactivent l'oxygène singulet O <sub>2</sub>
Tocophérols (vit E)	Lipophile	Piégeage des radicaux libres
Tocopholois (VIL L)	Zipopinio	(prévient la lipopéroxydation)
		Augmenter l'absorption du
		sélénium
Sélénium	Amphiphile	Constituant de la GP <sub>X</sub> et
		Thiorédoxines

### III.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques exogènes (Tableau III)

La principale source d'approvisionnement de l'organisme en antioxydants exogènes sont les aliments soit d'origine animale, soit d'origine végétale.

**Tableau III**: Principaux antioxydants non enzymatiques exogènes et sources alimentaires associées [20]

Principaux nutriments antioxydant	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrumes, melon, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs, noix
β-carotène	Légumes et fruits
Sélénium	Poisson, œufs, viandes, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acide phénoliques	Céréale complètes, baies, cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins

Les antioxydants chimiques exogènes comprennent les vitamines C et E [51], les caroténoïdes, les composes phénoliques et les oligo-éléments [12].

La Vitamine C ou acide ascorbique (Figure2) est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E.

La vitamine C est une molécule hydrosoluble. Elle empêche l'oxydation des lipoprotéines (LDL) et assure le piégeage des ERO produites par divers systèmes

pro-oxydants (polynucléaires neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myeloperoxydases) [9,52].

Figure 2 : Structure chimique de la vitamine C

La vitamine E (Figure3) est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols. Ce sont de bons antioxydants alimentaires, connues surtout pour leur rôle physiologique chez l'Homme, comme protecteurs des structures membranaires et des lipoprotéines ou pour lutter contre le stress oxydant. Elle prévient l'apparition d'hydropéroxydes en piégeant les radicaux LOO• [9].

De plus, il faut noter que la vitamine C associée à la vitamine E régénère la forme réduite de l'α -tocophérol par une réaction de transfert d'hydrogène.

$$R_2$$
 $R_2$ 
 $Me$ 

Figure 3: Structure chimique des vitamines E.

Les caroténoïdes notamment le rétinol (Figure 4) et la β-carotène (Figure 5) sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles. L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux ROO•, HO•, O2•-, R• par simple addition électrophile et transfert d'électron. Ils protègent les lipides membranaires contre les radicaux en neutralisant l'oxygène singulet [14].

Figure 4 : Structure chimique d'un rétinoïde

**Figure 5** : Structure chimique des  $\beta$ -carotènes

Les composés flavonoiques (Figure 6), sont des métabolites secondaires des plantes caractérisées par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane. Leur capacité antioxydante réside dans leur aptitude à neutraliser les radicaux libres par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique. De façon générale, l'activité biologique des composés phénoliques et spécialement les flavonoïdes est fortement dépendante de la nature et de la position des substituants, en particulier le nombre des groupements hydroxyles [53].

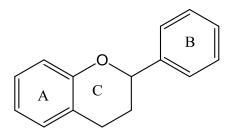


Figure 6 : Structure chimique de base des flavonoïdes

Les composés phénoliques (Figure 7) ont leur structure qui comporte un ou plusieurs groupements OH-phénoliques. Les polyphénols piègent les radicaux libres par un mécanisme de transfert de l'atome d'hydrogène. Ils jouent un rôle important et sont capables d'interagir avec les métaux de transition, notamment avec le fer et le cuivre [54]. En effet les ERO sont produits abondamment par réduction d'O2 par Fe<sup>2+</sup> ou Cu<sup>+</sup> aboutissant à la formation de superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de radicaux oxyle (réaction de Fenton). Ainsi la formation de complexes chélateurs stables et inertes est un mécanisme antioxydant.

Figure 7 : structure d'un phénol simple

Le sélénium est un oligo-élément indispensable à l'enzyme antioxydant appelée le glutathion peroxydase. De même le sélénium est capable d'interagir dans l'organisme avec de nombreux métaux (As, Pb, Hg, Cd) et est de ce fait susceptible de moduler leurs toxicités.

Il est responsable des effets anticancéreux et antivieillissement [12,20].

Le zinc joue un rôle important dans la prévention des effets toxiques dûs aux radicaux libres. En effet le zinc est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il protège également les groupements thiols des protéines et il peut inhiber les réactions de formation d'ERO induites par des métaux de transition comme le fer ou le cuivre. Le rapport Cu / Zn, (normalement inférieur à 1,5) sera un excellent indicateur de l'état de stress oxydant d'un individu. Les aliments les plus riches en zinc sont les viandes et les poissons, les céréales complètes et les légumes secs; les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 20 mg [9].

Le cuivre à concentration physiologique, est le cofacteur d'enzymes comme la super-oxyde dismutase (SOD). Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement des réactions de production d'ERO (réactions de Fenton) et peut lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant. Les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 2,5 mg. Il est présent dans le son, l'avoine, le seigle, le foie de veau [9].

## CHAPITRE III CHALCONES ET POUVOIR ANTIOXYDANT

### I. GENERALITES SUR LES CHALCONES

### I.1. Définition et propriétés biologiques

Les chalcones sont des énones aromatiques (**Figure 8**) qui appartiennent à la famille des flavonoïdes, elles peuvent exister sous forme de deux stéréoisomères Z et E. Elles sont douées de propriétés biologiques importantes telles que les activités : antibactérienne, fongicide, antitumorale et anti-inflammatoire [55]. De plus, elles sont des précurseurs dans la synthèse des flavonoïdes.

Les chalcones et les dihydrochalcones ont été étudiées pour leurs propriétés anticancéreuses [56], anti-inflammatoires [57], antioxydantes [58], analgesiques [58], antimicrobiennes [57], antiparasitaires [57], antiparasitaires [59] et antiplasmodiales [60].

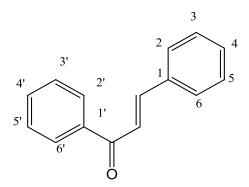


Figure 8: Structure générale d'une chalcone

Au plan structural, les chalcones et par défaut les dihydrochalcones sont uniques au sein de la famille des flavonoïdes. Dépourvus du cycle C central, les deux cycles A et B sont reliés par une chaîne tricarbonée cétonique, insaturée (saturée dans le cas des dihydrochalcones). Les cycles A et B sont équivalents aux cycles A et B des autres flavonoïdes mais leurs numérotations sont inversées (**Figure 9**)

Figure 9 : Profil chimique des chalcones et flavanones

La présence d'une double liaison conjuguée confère aux chalcones une couleur jaune. En conséquence, les dihydrochalcones sont généralement incolores. La configuration de la double liaison est généralement E dans les chalcones naturelles [60]. Ces composés sont rarement substitués sur le cycle B.

### I.2. Origine

Les chalcones pour la plus part, ont été isolées des plantes productrices de flavonoïdes. Elles peuvent se diviser en deux types, les chalcones naturelles et celles synthétiques. Par exemple, des chalcones naturelles possédant des activités antioxydantes ont été isolées de la plante *Glycyrrhiza inflata* (Fabaceae) (**Figure 10**) [61]. D'autres possédant des activités antiémétiques ont été isolées à partir des graines de *l 'Alpinia katsumadai* (Gimgiberaceae) [61,62].

**Figure 10**: Différentes chalcones antioxydants isolées à partir de racines *Glycyrrhiza inflata* (Fabaceae) [61]

### II. POUVOIR ANTIOXYDANT DES CHALCONES

Le pouvoir antioxydant des chalcones s'exprime selon divers mécanismes :

- ✓ le piégeage direct des espèces réactives oxygénées
- ✓ l'inhibition des enzymes et chélation des traces métalliques responsables de la production des espèces réactives oxygénées
- ✓ la protection des systèmes de défenses antioxydantes.

Ainsi, la naringénine-chalcone (**Figure11**), la tetrahydroxychalcone (**Figure12**) et l'hesperidine-chalcone (**Figure13**) ont montré des activités inhibitrices vis-à-vis de la xanthine oxydase qui est une source biologique importante de production de radicaux libres. Cette activité inhibitrice s'est avérée être fonction de la position et du nombre des groupements hydroxyles phénoliques de ces chalcones **[63,64]**.

Figure 11 : Structure chimique de la Naringenine-chalcone

Figure 12: Structure chimique d'une tetrahydroxychalcone

Figure 13 : Structure chimique de l'Hespéridine-chalcone

### II.1. Pouvoir chélateur des métaux de transition

Le pouvoir chélateur des métaux de transition a été étudié avec les chalcones à cycle fermé, en l'occurrence les flavonoïdes.

Ce pouvoir antioxydant peut s'exercer par la complexation des métaux de transition (exemple : le cuivre et le fer). En effet ces derniers accélèrent la formation des ERO.

Les deux points de fixation des métaux de transition par les flavonoïdes sont (**Figure 14**): les groupes OH phénoliques en position 3', 4' du cycle B (**14a**), et entre la fonction cétonique en 4 et l'hydroxyle en 3 du cycle C (**14b**) ou la fonction cétonique en 4 du cycle C et l'hydroxyle en 5 du cycle A (**14c**) [65].

Figure 14 : Les sites de complexation des métaux par les flavonoïdes

La réaction de Fenton est une réaction d'oxydation avancée qui consiste à initier des réactions de décomposition du peroxyde d'hydrogène par des sels métalliques afin de générer des espèces radicalaires :

$$Fe^{2+}(aq) + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+}(aq) + OH^{-}(aq) + HO^{\circ}$$
 [66].

Toute stratégie qui élimine ou masque le métal en question a une valeur potentiellement antioxydante. Ce rôle est naturellement rempli par des protéines telles que la transferrine (qui lie le fer) et la céruloplasmine (qui lie le cuivre). Certains métabolites comme le citrate peuvent aussi fixer les métaux. Les chélateurs de métaux emprisonnent un des acteurs indispensables à la réaction de Fenton, à savoir le métal, notamment Fe<sup>2+</sup> ou Fe<sup>3+</sup> (précurseur du Fe<sup>2+</sup> par réduction). Le complexe "chélateur-métal" peut également intervenir dans la réaction de Fenton, mais lorsque la complexation est associée à une élimination du complexe hors de l'organisme (élimination urinaire ou digestive), il en résulte une diminution ou une disparition progressive du métal pouvant être complexé.

Divers chélateurs synthétiques de métaux ont ainsi démontré leur efficacité dans des modèles de stress oxydant :

- ✓ La desferrioxamine
- ✓ L'hydroxyphényl éthylène diamine diacétate (l'HBED), analogue de l'éthylène diamine tétra-acétate (l'EDTA),
- ✓ Le Pyridoxal isonicotinyl hydrazone (PIH),
- ✓ La dexrazoxane est une bisdioxopiperazine qui est dotée de propriétés à la fois chélatrices du fer et antioxydantes [67].

### II.2. Activités sur les radicaux libres

Les chalcones sont des précurseurs des flavonoïdes avec une large gamme d'applications biologiques (agents anticancéreux, antifongiques, antibactériens et anti-inflammatoires) [55].

Plusieurs études ont établi la relation entre les propriétés antiradicalaires et la capacité à transférer l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des antioxydants aux radicaux libres tels que l'hydroxyle et l'anion superoxyde. En plus des antioxydants naturels tels que les composés phénoliques, de nombreux

efforts expérimentaux et théoriques ont été consacrés à la recherche de nouveaux antioxydants tel que les chalcones [68].

Pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* de ces chalcones, nous pouvons mesurer leur capacité de piégeage du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH). Ce type d'essai est recommandé pour les composés contenant des groupes SH, NH et OH. Deux mécanismes connus sont utilisés dans la littérature pour décrire les réactions antioxydantes:

### ➤ Mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène (TAH)

$$RXH + DPPH \rightarrow RX + YH$$
 (1)

Où X est un atome d'oxygène, de soufre, d'azote ou de carbone et Y est DPPH. La vitesse de réaction de l'antioxydant (RXH) avec le radical DPPH dépend de la barrière d'énergie d'un transfert d'atome d'hydrogène

### > Transfert d'électron unique suivi d'un transfert de proton (TES-TP)

Le deuxième mécanisme a trois étapes [68] :

$$RXH + DPPH \rightarrow RXH^{+} + DPPH^{-}$$
 (2.1)

$$RXH^{+} \longrightarrow RX^{+} + H+ \tag{2.2}$$

$$DPPH^- + H+ \longrightarrow DPPHH \tag{2.3}$$

### **II.3.** Action sur les glutathions

Les chalcones sont des précurseurs biosynthétiques des flavonoïdes et des produits finaux associés à diverses activités biologiques [69, 70]. Les chalcones sont capables :

✓ d'inhiber la synthèse de l'oxyde nitrique synthase inductible (enzyme responsable de la synthèse de l'oxyde nitrique)

- ✓ d'induire l'expression de l'hème oxygénase HO<sup>-1</sup> (isoforme de l'hème oxygénase induit en réponse à divers stress)
- ✓ de déclencher la synthèse et l'exportation du GSH [71-76].

Il a été récemment rapporté l'aptitude d'une dihydroxychalcone, naturelle (**Figure 15**) à induire une exportation et une augmentation des niveaux cellulaires de glutathion GSH [77].

Les chalcones pourraient donc être utilisés pour moduler les niveaux cellulaires de GSH [71].

Figure 15: Structure chimique d'une dihydroxychalcone

# CHAPITRE IV CONCEPTION DES DIAZAHETEROARYL-PROPENONES ET ANALOGUES A VISEE ANTIOXYDANTE

Depuis quelques années se développe dans le milieu des sciences biologiques et médicales le concept du « stress oxydant », qui serait à l'origine de plusieurs maladies qui apparaissent avec l'âge telles que le diabète, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires [13]

Il serait impliqué dans les mécanismes de mort cellulaire lors des maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson idiopathique et la sclérose latérale amyotrophique [78].

Par ailleurs, même si le stress oxydant n'est pas la seule cause de ces maladies, il jouerait un rôle d'amplificateur dans les processus pathologiques déjà enclenchés de certaines maladies [13, 37].

En effet, avec le vieillissement, les systèmes de défense antioxydante naturelle sont de moins en moins performants alors que la production de radicaux libres issus du stress oxydant, augmente. Ainsi il existerait une corrélation étroite entre l'apparition de certains cancers et le stress oxydant du fait des dommages qu'il engendre sur l'ADN, dommages qui seraient propices à la prolifération des cellules malignes. [9, 79].

Parmi les nombreuses substances anti-oxydantes qui ont été testées chez l'homme, seule la vitamine E en association avec un antiglutamate, le riluzole, aurait un effet favorable sur les maladies neurodégénératives [80].

Ainsi, malgré la bonne connaissance des phénomènes et mécanismes impliqués dans l'apparition du stress oxydant et de ses conséquences sur la santé, aucun médicament à notre connaissance, n'a été mis au point à ce jour en tant qu'antioxydant pur utilisé en thérapeutique. Dès lors, la recherche d'agents antioxydants capables de neutraliser les radicaux libres impliqués dans le stress oxydant et plus largement dans les processus de vieillissement cellulaire, est devenue un axe de recherche majeur de chimie médicinale [81, 82].

Parmi les composés à forte potentialité antioxydante, figurent les chalcones ou 1,3-diphénylpropénones. En effet, qu'elles soient d'origine naturelle ou non,

qu'elles soient acycliques ou cycliques (flavones), les chalcones sont reconnues posséder des propriétés notamment anti-inflammatoires et antioxydantes [83-87]. Parmi les chalcones naturelles, ont été rapportés les activités antioxydantes des Lichochalcones B et D (**Figure 16**) isolées de *Glycyrrhiza inflata*. Ces dernières agiraient d'une part par inhibition du système enzymatique xanthine / xanthine oxydase impliqué dans la production d'anions superoxydes et d'autre part par un piégeage direct du radical  $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyle (DPPH) [60].

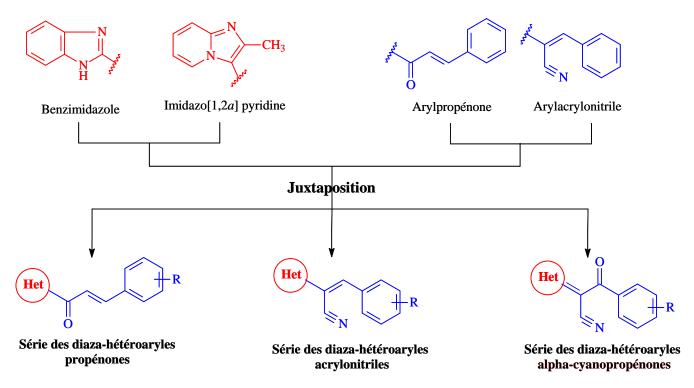
Figure 16 : Structures chimiques des Licochalcones B et D

Les activités antioxydantes de certaines chalcones de synthèses ont été également rapportées par différentes équipes de recherches [56, 88, 89].

Les dites chalcones auraient des activités antioxydantes comparables à celles des chalcones naturelles. Par ailleurs, les dérivés hydroxylés et méthylés se sont avérés être les plus puissants antioxydants [56].

Aussi, tenant compte de notre thématique de recherche autour des chalcones ou composés à profil chimique de type arylpropénone et analogues structuraux, nous nous sommes proposés d'explorer leur potentiel antioxydant. Les dits composés ou hybrides de chalcones ont été conçus suivant le concept de juxtaposition d'entités bioactives. Ils possèdent tous le profil chimique de type arylpropénone et analogues structuraux arylacrylonitriles ou aryl  $\alpha$ -cyanopropénones. De tels

enchaînements fonctionnels insaturés alpha, bêta éthyléniques ont pour supports, des diaza-hétéroaryles de nature benzimidazole ou imidazopyridine. (**Figure 17**).



Hét = Benzimidazole, *N*-benzyl benzimidazole, Imidazopyridine R = H, OH, OCH<sub>3</sub>, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, Cl, Br, F, NO<sub>2</sub>

**Figure 17** : Conception et profil chimique des diaza-hétéroaryl-propénones et analogues structuraux acrylonitriles

Ces hybrides d'arylpropénones et analogues structuraux acrylonitriles ont été développés dans notre département pour leurs propriétés anti-infectieuses notamment anthelminthiques, antipaludiques et anticandidosiques. [60, 90-93]. Compte tenu de leurs groupements fonctionnels comparables à celle des chalcones naturelles, ces composés pourraient posséder également, des activités antioxydantes à l'instar de ces dernières. C'est ce qui justifie, l'intérêt nouveau pour nos hybrides dans la perspective de contribuer à la mise au point d'un véritable médicament antioxydant indiqué pour la neutralisation du processus de

stress oxydant et de ses implications pathologiques, notamment dans le diabète, le rhumatisme, les maladies cardiovasculaires, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, et dans certains types de cancers.

Dans le cadre de notre travail de recherche nous nous sommes singulièrement intéressés à l'axe relatif à l'évaluation des activités antioxydantes des diazahétéroaryl-chalcones et leurs analogues structuraux. (**Figure 18**).

**Figure 18** : Profil chimique général des diaza-hétéroaryl-chalcones à visé antioxydante

# CHAPITRE V METHODES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Les méthodes de détermination de l'activité antioxydante utilisées pour les substances naturelles et des composés chimiques se répartissent en deux groupes : les tests biologiques et les tests chimiques [20, 53].

#### I. TESTS BIOLOGIQUES

Les tests biologiques sont des tests réalisés in vitro.

Ils sont difficilement accessibles en raison de leur caractère commercial (brevets).

Parmi ces tests nous avons :

#### ✓ Le test Kit Radicaux Libres (KRL)

Il évalue l'activité antioxydante dans le sang en mesurant le temps nécessaire pour hémolyser 50% des globules rouges exposés à l'attaque d'une solution de contrôle de radicaux libres [94].

## ✓ Le test protection antioxydante à base de cellules dans les érythrocytes (CAP-e)

Le test CAP-e est effectué en incubant d'abord les globules rouges avec un échantillon d'essai à diverses concentrations. Les cellules sont ensuite combinées avec du diacétate de dichloro-fluorescéine (DCFDA), qui est oxydé en présence de radicaux libres pour former un sousproduit fluorescent vert (DCF). Dans l'étape suivante du test, du peroxyde d'hydrogène exogène est ajouté à une concentration de 167 mM pour induire artificiellement un stress oxydant sévère. L'activité antioxydante de concentrations variables du composé d'essai est mesurée sur la base du degré d'inhibition de la fluorescence DCF, qui est une mesure indirecte et non spécifique de la production d'espèces réactives de l'oxygène [95]

#### II. TESTS CHIMIQUES IN VITRO

Pour les molécules de nature hydrophile et/ou lipophile, les tests utilisés sont :

- ✓ Le test au 2,2-Diphenyl-1-1picrylhydrazyl (DPPH)
- ✓ Le test à l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS).
- ✓ Le test Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)
- ✓ Le test mesurant l'activité antioxydante au moyen de caroténoïdes.
- ✓ Le test mesurant l'activité antioxydante contre le lysozyme.
- ✓ Le test évaluant l'activité antioxydante par le phosphomolybdate.
- ✓ Le test de piégeage du peroxyde d'hydrogène.
- ✓ Le test de piégeage des radicaux hydroxyles.

Parmi ces tests, les trois principaux sont les suivants:

- ✓ Le test du 2,2 diphenyl picrylhydrazyl (DPPH)
- ✓ Le test de l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS)
- ✓ Le test Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC).

Quant au test utilisant le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP), il ne permet que l'évaluation du pouvoir antioxydant des molécules de nature hydrophile.

Parmi ces méthodes spectrophotométriques, les plus utilisées sont [53]

#### II.1. Test au 2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

#### II.1.1. Principe

Le DPPH (2,2-Diphenyl-l-picrylhydrazyl) est un radical azoté stable qui absorbe la lumière UV et visible avec un maximum d'absorption à 517 nm. Lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène, il perd sa couleur violette et vire au jaune (**Figure 19**) [50].

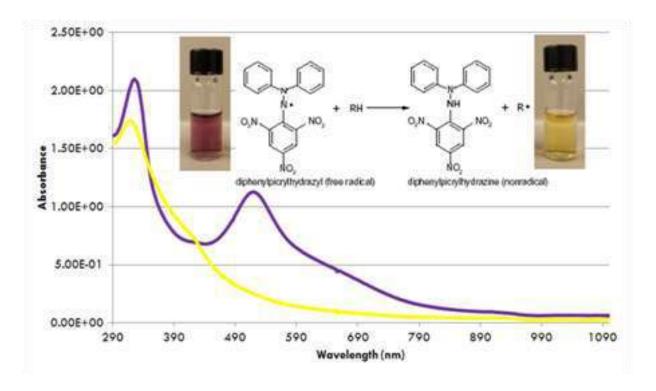


Figure 19: Spectre d'absorption du DPPH et oxydation du radical DPPH [96].

#### II.1.2. Interprétation

Le pourcentage de décoloration du DPPH est déterminé par la formule :

P= [1-(Absorbance du test/Absorbance du contrôle)] x100

Le contrôle négatif est constitué par la solution DPPH sans extrait.

Le contrôle positif (acide ascorbique) est mesuré dans les mêmes conditions que l'échantillon [20].

#### II.1.3. Limites du Test

Le test au DPPH présente plusieurs limites.

➤ Comme le DPPH est relativement stable, il peut arriver que des antioxydants normalement efficaces contre les dérivés réactifs de l'oxygène restent inertes face au DPPH [50]. De plus, certaines réactions avec le DPPH sont réversibles et peuvent mener à une sous-estimation du potentiel des produits testés.

- Certains antioxydants tels que les caroténoïdes ont des spectres qui se chevauchent avec DPPH à 515 nm et interfèrent avec les résultats [97, 98].
- Le radical DPPH ne peut être dissous que dans des solvants organiques (méthanol, éthanol, l'acétone), ce qui constitue une limitation dans l'interprétation du rôle des antioxydants [98, 99].
- ➤ Plusieurs facteurs peuvent affecter le dosage. Parmi ces facteurs nous avons le solvant, le pH, la concentration de l'échantillon et le temps de réaction
- Les antioxydants qui réagissent rapidement avec les radicaux peroxyle in vivo peuvent réagir lentement ou même être inerte au DPPH en raison des effets stériques empêchant l'accessibilité.
- ➤ Certains chercheurs ont indiqué qu'il existe une relation non linéaire entre les concentrations en antioxydants et l'activité de piégeage des radicaux DPPH [100].

#### II.1.4. Avantages du Test

- Le DPPH ne réagit pas avec les flavonoïdes ni avec les acides aromatiques ne contenant qu'une seule fonction alcool [101].
- ➤ Il produit des radicaux d'azote organiques stables caractérisés par une couleur pourpre foncé dans la gamme 515-520 nm [102].

#### II.2. Test de réduction du fer (FRAP) : Ferric reducting antioxidant Power

#### II.2.1. Principe

La méthode FRAP est une méthode servant à déterminer le pouvoir antioxydant d'un extrait en évaluant son pouvoir de réduction du cation ferrique (Fe<sup>3+</sup>).

La capacité totale en antioxydant de chaque extrait est déterminée par la méthode Hinneburg adaptée par Lamien-Meda *et al.* en 2008. Le dosage consiste à réduire

le complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ] de couleur jaune en complexe ferreux [(Fe(II)-TPTZ] de couleur bleue, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron (**Figure20**). La variation de la coloration est mesurée 700 nm [48].

$$| Fe(III)(TPTZ)_2|^{3+}$$

$$| Fe(III)(TPTZ)_2|^{2+}, \lambda_{max} = 593 \text{ nm}$$

**Figure 20** : Réduction du complexe tripyridyltriazine ferrique en complexe ferreux [47].

#### II.2.2. Interprétation

Le résultat obtenu après avoir testé l'extrait par la méthode FRAP sera comparé avec la vitamine C reconnue pour ses propriétés antioxydantes. Le paracétamol servira de témoin. Des courbes de réduction du fer de l'extrait, du paracétamol et de la vitamine C seront comparées.

- ➤ Si les courbes de l'extrait et de la vitamine C se superposent, l'extrait pourrait posséder une activité antioxydante.
- ➤ Si les courbes de l'extrait et du paracétamol (témoin négatif) se superposent, l'extrait ne possède pas d'activité antioxydante.

#### II.2.3. Limites du Test

Le test FRAP présente plusieurs limites :

- ➤ Il fut montré que certains produits de réactions entre le révélateur et le produit testé peuvent interférer avec la mesure d'absorbance. C'est le cas par exemple de la bilirubine qui se transforme en biliverdine lorsqu'oxydé, laquelle absorbe à 593 nm et mène à une surestimation du potentiel réducteur de la bilirubine [50].
- ➤ Cette méthode n'implique aucun substrat oxydable, elle ne renseigne en rien sur la capacité du produit testé à protéger quelconque substrat biologique contre l'oxydation [49].
- ➤ Cette méthode nécessite un temps de réaction plus long pour détecter certains polyphénols qui réagissent lentement. L'ordre de réactivité de nombreux antioxydants différents peut varier considérablement. Pulido et al. (2000) ont rapporté que de nombreux échantillons montrent ces longs temps de réaction, notamment: l'acide caféique, l'acide tannique, l'acide férulique, l'acide ascorbique et la quercétine [103].
- ➤ Fe<sup>2+</sup> est un «pro-oxydant» bien connu qui peut réagir avec le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pour produire un radical hydroxyle OH. C'est le radical libre le plus nocif trouvé in vivo [98].
- ➤ Ce test détermine le pouvoir réducteur total des échantillons, cependant tous les réducteurs qui réduisent Fe<sup>3+</sup> ne sont pas des antioxydants [98,104].
- ➤ Certains antioxydants tels que le glutathion (GSH), un antioxydant important in vivo, peuvent réduire efficacement les pro-oxydants mais ne sont pas capables de réduire Fe<sup>3+</sup> [98].

#### II.2.4. Avantages du Test

- ➤ Le test de FRAP est originellement conçu pour caractériser le potentiel antioxydant du plasma sanguin, il est aussi adéquat pour caractériser le potentiel de composés purs [50].
- ➤ Test simple, rapide, peu coûteux et robuste. Il ne nécessite aucun équipement spécialisé et pouvant être effectué manuellement ou automatiquement.
- ➤ Il s'agit d'un transfert total d'électrons plutôt que d'un mélange de transfert d'électron unique (TEU) et d'atome d'hydrogène (TAH). En combinaison avec d'autres méthodes, il est très utile de distinguer les mécanismes dominants des différents antioxydants.

#### II.3. Test ORAC: Oxygen Radical Absorbance Capacity

#### II.3.1. Principe

La méthode consiste à suivre la perte de fluorescence de la fluorescéine lorsqu'elle est oxydée par les radicaux peroxyles générés à partir du AAPH [2,2'-Azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride]. L'activité des composés testés, traduite par un délai de la perte de fluorescence, est comparée avec celle du Trolox pour obtenir un indice d'activité en équivalent Trolox (µmol Trolox / mg de produit testé), le Trolox étant la version hydrosoluble de la vitamine E [50].

#### II.3.2. Interprétation

La quantification se mesure en calculant l'aire sous la courbe de l'échantillon testé et en la comparant à celle du trolox. On obtient alors l'indice ORAC exprimé en µmol Trolox/ mg de produit testé.

#### II.3.3. Limites du Test

Le test de l'ORAC présente un certain nombre de limites

- ➤ Il ne mesure que la capacité antioxydante contre les radicaux peroxyle et hydroxyle et non contre toutes les espèces réactives de l'oxygène (par exemple les superoxydes et l'oxygène singulet) [98,105].
- ➤ La concentration du substrat (sonde) est souvent inférieure à la concentration en antioxydant. Cependant, dans les systèmes alimentaires, la concentration en antioxydant est beaucoup plus petite que le substrat (par exemple un lipide). Par conséquent, la capacité antioxydante mesurée dans un système alimentaire réel peut être incorrecte.

#### II.3.4. Avantages du Test

Les avantages du test ORAC sont multiples:

- ➤ Le test ORAC utilise une source biologiquement pertinente de radicaux et c'est la seule méthode qui combine à la fois le temps d'inhibition et le degré d'inhibition en une seule quantité [106, 107].
- ➤ Il a récemment été adapté pour utiliser la fluorescéine comme sonde fluorescente pour les dosages à haut débit.
- ➤ Il a été largement utilisé comme méthode de choix pour quantifier la capacité antioxydante habituellement en combinaison avec un dosage de la teneur totale en phénol.
- ➤ Il a été appliqué pour mesurer la capacité antioxydante des échantillons botaniques et biologiques [108].
- ➤ Ce test possède la capacité d'utiliser différents générateurs de radicaux libres ou oxydants, et peut mesurer de nombreux composés différents tels que des antioxydants contre les radicaux peroxyle et hydroxyle.
- ➤ Peu coûteuse et rapide.
- > Cette méthode est largement utilisée.

### II.4. Test d'ABTS (Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique))

#### II.4.1. Principe

La substance à tester est mise en contact avec les radicaux libres d'ABTS préformés et l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 734 nm. Les radicaux libres d'ABTS sont fondamentalement créés de deux manières [53] :

- A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium  $K_2S_2O_8$ : les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12 à 16 heures ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée à 0,700I0, 020 à 734 nm avant l'usage.
- A partir de l'ABTS et du chlorure du 2,2'- azolibis (2 amidino propane) (AAPH) jouant le rôle d'initiateur de réaction dans le tampon phosphate salin (PBS) à pH: 7,4. Le mélange est chauffé à 68°C. L'absorbance de la solution (bleu-vert) ajusté à 0,650I0, 020 à 734 nm.

Les réactions qui se déroulent peuvent être de type ABTS/trans 3,3',4', 5,7 – Pentahydroxyflavan (Catéchine) ou ABTS/I, 3,5 trihydroxy-benzène (Phloroglucinol) (Figure 21) [20].

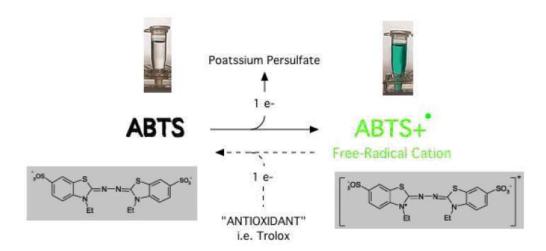


Figure 21 : Réaction chimique entre l'ABTS et le radical cationique ABTS [109].

#### II.4.2. Interprétation

L'activité antioxydante de la substance traitée est comparée à celle d'un oxydant de référence en terme d'équivalence ou en terme d'inhibition.

#### II.4.3. Limites du Test

Cette méthode présente certaines limites.

- ➤ D'abord, l'activité mesurée dépend de la durée de l'incubation et de la proportion du produit testé par rapport à la concentration en ABTS [106]. De plus, la méthode reflète davantage la capacité d'un produit testé à réagir avec l'ABTS que son potentiel antioxydant réel dans un contexte biologique. En effet, le radical artificiel ABTS réagit avec toutes les fonctions hydroxyles aromatiques, indépendamment de leur pouvoir antioxydant réel [49,101].
- Les valeurs TEAC (Capacité antioxydante équivalente en trolox) caractérisent la capacité d'un échantillon à réagir avec l'ABTS plutôt que d'inhiber le processus oxydatif.
- Le test ABTS nécessite une préparation spéciale dans laquelle ABTS doit être généré par des enzymes ou réaction chimique [99,110].

➤ L'ABTS utilisé dans le TEAC est un radical artificiel et ne se trouve pas dans un système biologique. Par conséquent, le test ne reproduit pas la situation in vivo.

#### II.4.4. Avantages du Test

- ➤ Il s'agit d'une méthode simple et rapide qui donne des résultats très fiables [111].
- ➤ L'ABTS peut être solubilisé dans les milieux aqueux et organiques et n'est pas affecté par la force ionique.
- ➤ Il peut être utilisé pour mesurer l'activité antioxydante des composés hydrophiles et lipophiles [98,99].
- ➤ Il réagit rapidement avec des antioxydants dans les 30 minutes, peut être utilisé sur une large gamme de pH.

Les caractéristiques de ces principaux tests sont résumées dans le tableau cidessous.

**Tableau IV** : Récapitulatif des principales caractéristiques des méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Tests	DPPH	ORAC	ABTS	FRAP
Caractéristiques				
Mécanismes réactionnels	-transfert d'électron majoritaire	- transfert de proton	-transfert d'électron et de proton	-transfert d'électron
Nature des molécules testées	-hydrophiles et lipophiles	- lipophiles et hydrophiles	-hydrophiles et lipophiles	-hydrophiles
Expression des résultats	-CI 50 et /ou en mg µmol équivalent Trolox®	μmol équivalent Trolox®	-CI 50 et /ou µmol équivalent Trolox®	-en mg μmol équivalent Fe <sup>+2</sup>
Avantages	- très facile à mettre en œuvre - peu couteux	- peu couteux - rapide	- très facile à mettre en œuvre - cinétique de la réaction très rapide - peu couteux	- très faciles à mettre en œuvre - peu couteux
Inconvénients	- encombrement stérique de molécules à haut poids moléculaires - interférences possible à 515 nm - forte décondense au pH et au solvant - radical inexistant <i>in vivo</i>	- ne suffit pas pour juger de la qualité antioxydante d'un produit	- produit de dégradation antioxydant - radical inexistant in vivo	- pH utilisé non physiologique - interférences possibles à 595 nm
Références	(Brand-William et al., 1995 Pinelo et al., 2004)	(Huang, Ou, Prior. 2005)	(Awika <i>et al.</i> , 2003; Arts <i>et al</i> , 2004; Osman <i>et al</i> , 2006)	(Benzie et Strain, 1996 ; Ou <i>et al</i> , 2002)

# DEUXIEME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE

## CHAPITRE I MATERIEL ET METHODES

I. **CADRE DE L'ETUDE** 

Notre étude s'est déroulée au sein de l'Unité de Formation et de Recherche des

Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët

Boigny de Cocody. Précisément dans deux départements que sont :

✓ Le département de Chimie Organique et Chimie Thérapeutique pour la

synthèse chimique et l'interprétation des résultats.

✓ Le département de pharmacologie, pharmacie clinique et thérapeutique, et

physiologie humaine pour l'évaluation de l'activité antioxydante de nos

molécules.

Nous avons réalisé une étude de type expérimentale sur quatre diaza-

hétéroarylchalcones et analogues structuraux qui s'est déroulée sur une période de

9 mois précisément de Juillet 2017 à Mars 2018.

II. **MATERIEL** 

II.1. Matériel de laboratoire

Balance de précision

Marque: OHAUS ADVENTURER

Type: AX523E

Max: 520g

d: 0.001g

Fabriqué en Belgique

Bain marie

Marque: SALVIS AG 6015

TYPE: SBK 25D

Fabriqué en Allemagne

#### Spectrophotomètre

Marque: JENWAY

**TYPE: 7315** 

S/N: 39779

Fabriqué en Ukraine

#### Vortex

Marque: NEUATION

TYPE: K-550-GE

S/N: 21647

Fabriqué en Suisse

#### **Micropipettes**

Marque: TRANSFERPETTE® S

Distributeur de volume BRAND : (500µl à 5ml)

Pipette à usage unique :  $100~\mu l$  Marque :  $TRANSFERPETTE^{®}$  S

#### II.2. Matériel chimique

#### II.2.1. Réactifs chimiques de laboratoire

- ✓ Méthanol pure
- ✓ ABTS (poudre)
- ✓ Persulfate de potassium (poudre)

### II.2.2. Molécule de synthèse, substance antioxydante de référence et modèle moléculaire

#### II.2.2.1. Molécule de synthèse

Les quatre diaza-hétéroaryl-chalcones et leurs analogues structuraux ont été synthétisés, purifiés, caractérisés et fournis par le laboratoire de chimie thérapeutique de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan sous forme de poudre.

Pour notre part, nous nous sommes focalisés sur l'évaluation de l'activité antioxydante.

#### II.2.2.2. Substance antioxydante de référence

La substance antioxydante de référence utilisée est le trolox, fourni par SIGMA ALDRICH.

Le Trolox ou acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2*H*-1-benzopyran-2-carboxylique (**Figure 22**), est l'analogue hydrosoluble de la vitamine E utilisé en biologie pour limiter les dommages dûs au stress oxydant.

Figure 22 : Structure chimique du trolox

#### II.2.2.3. Modèle moléculaire

Le modèle moléculaire ou le 1,2-diphénylepropénone (**Figure23**) a été synthétisé caractérisé et fourni par le laboratoire de chimie thérapeutique de

l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan sous forme de poudre.

Figure 23: 1,3 - diphenylpropénone

#### II.3. Autre matériel

Logiciel Microsoft Excel 2010 pour le traitement des donnés

#### III. METHODE D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Pour notre étude, nous avons utilisé la méthode ABTS car elle permet d'étudier à la fois l'activité antioxydante de substances lipophiles et hydrophiles. La méthode ABTS est très facile à mettre en œuvre, sa cinétique de réaction est rapide ; de plus cette méthode est peu couteuse.

#### **III.1 Principe**

L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)ou ABTS est utilisé pour évaluer les capacités antioxydantes en le transfomant en radical cationique ABTS<sup>\*+</sup> après addition avec du persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) [112].

Ce radical cationique de l'ABTS a la caractéristique de réagir avec la plupart des antioxydants en se comportant comme une substance oxydante [114]. Lors de ces

réactions, il perd sa couleur bleue et devient incolore .Cette perte de coloration correspond à la puissance réductrice et donc antioxydante de la substance testée. Elle peut être suivie par spectrophotométrie, le pic d'absorption du radical cationique ABTS<sup>\*+</sup> étant à 734 nm [115]. Les résultats ainsi obtenus peuvent être comparés aux capacités antioxydantes du Trolox, qui est la molécule de référence pour l'évaluation de l'activité antioxydante. Cela explique pourquoi cette méthode est aussi appelée capacité antioxydante en équivalent Trolox (Trolox équivalent antioxidant capacity : TEAC) [50, 116-118].

#### III.2. Mode opératoire

Pour l'obtention d'une solution du radical cation ABTS•+ nécessaire à notre évaluation, il a été nécessaire de préparer dans un premier temps une solution d'ABTS et une solution de persulfate de potassium qui ont été mélangées volume par volume.

#### III.2.1. Préparation des échantillons

#### ✓ Préparation de 20ml de la solution ABTS à 7mM.

Calcul de la masse à peser d'ABTS pour 20 ml de solution à 7 mM/L

m = M x C x V (m : masse, M : Masse moléculaire, C : Concentration, V : Volume)

M (ABTS): 514,62 g/mol

C: 0,007 mol/L

m = 514,62 g/mol x 0,007 mol/L x 0,02 L

 $m = 514,62 \times 7.10^{-3} \times 2.10^{-2}$ 

m = 0.072g soit 72mg

Il s'agit donc de peser 0,072g soit 72mg de ABTS pour le dissoudre dans 20mL de méthanol (Vf=20mL).

## ✓ Préparation de 20ml de la solution de potassium persulfate 2,6mM $(K_2S_2O_8)$ .

Calcul de la masse à peser de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> pour 20 ml de solution à 2,6 mM

 $m=M\ x\ C\ x\ V\ (m:$  masse, M: Masse moléculaire, C: Concentration, V: Volume)

M (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>): 270,322 g/mol

C: 0,0026 mol/L

 $m = 270,322 \text{ g/mol x } 2,6.10^{-3} \text{ mol/L x } 0,02 \text{ L}$ 

 $m = 270,322 \times 2,6.10^{-3} \times 2.10^{-2}$ 

m = 0.014g soit 14mg

Il s'agit donc de peser 0,014g soit 14mg de  $K_2S_2O_8$  pour le dissoudre dans 20mL de méthanol (Vf=20ml).

#### ✓ Préparation de 40ml de solution du radical cation ABTS

Cette préparation s'est faite par un mélange volume par volume (1:1, v/v) de notre solution d'ABTS à 7 mM et de notre solution de persulfate de potassium :

20 mL de solution ABTS à 7mM

+

20 mL de solution potassium persulfate 2,6mM

Une fois obtenue, la préparation du radical cation ABTS a été mise à l'abri de la lumière en la protégeant à l'aide d'un papier aluminium et pendant 16h.

Après ce temps, la solution obtenue est diluée avec 60mL de méthanol pur pour obtenir une absorbance variant entre 1.0 et 1,5 à 734 nm.

#### III.2.2. Essais de décoloration du radical ABTS

Une fois la solution du radical cation ABTS obtenue, les essais ont été effectués selon les étapes suivantes :

- Réalisation d'une gamme de concentration échantillon (1- 0,5 0,25 0,125 0,0625).
- Ajout dans un tube à essai de  $100~\mu L$  de l'échantillon +  $2500~\mu L$  de réactif ABTS pour chaque concentration puis incubation à l'abri de la lumière pendant 30~minutes.
- Préparation du blanc : Mélange de 100 μL de méthanol et de 2500 μL de réactif ABTS puis incubation à l'abri de la lumière pendant 30 minutes.
- Le contrôle positif est représenté par un standard d'un antioxydant : Trolox dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons : mélange de 100 μL de Trolox + 2500 μL de réactif ABTS puis incubation à l'abri de la lumière pendant 30 minutes.
- Le milieu réactionnel vire du bleu-vert à une décoloration complète
- La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel s'est faite à 734nm (spectrophotomètre UV-VIS).
- La lecture de l'absorbance a été réalisée trois (3) fois de suite pour chaque produit.

#### III.2.3. Calcul du pouvoir réducteur

Le pourcentage moyen d'inhibition a été calculé à la dose de 1mg/ml, dose à laquelle le trolox a induit 99% d'inhibition et selon la formule suivante :

Pourcentage inhibition (%) = [(Abs témoin - Abs blanc)] / (Abs témoin)] x 100

Abs blanc: l'absorbance du radical ABTS + méthanol.

Abs témoin : l'absorbance de l'échantillon ABTS radical + Extrait / standard

# CHAPITRE II RESULTATS

Le pouvoir antioxydant du modèle moléculaire chalcone ou 1,3-diphényl propénone (**composé R**) ainsi que celui des dérivés et analogues de cette chalcone (**composé S1 à S4**) ont été comparés à celle du Trolox, substance antioxydante de référence.

Le pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS des chalcones ainsi que celui du Trolox sont rapportés dans **le tableau V**.

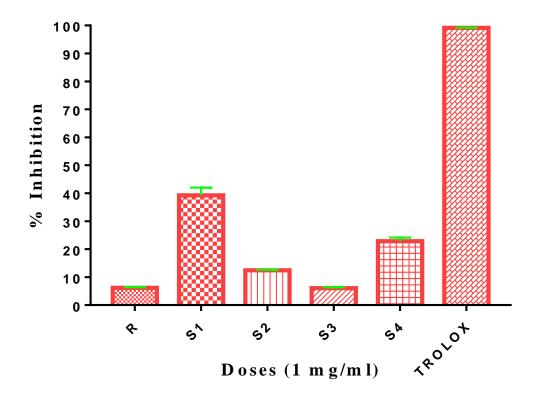
**Tableau V :** Pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS des chalcones S1-S4, de la substance de référence et du modèle moléculaire R

Composés	Structures	Pourcentage moyen d'inhibition du radical ABTS (PMI en %)	
R		$6,14 \pm 0,29$	
S1	N O	$39,\!26 \pm 2,\!74$	
S2	N CH <sub>3</sub>	$12,44 \pm 0,19$	
S3	N H	$5,86 \pm 0,29$	
S4	NH O	22,86 ± 1,29	
Trolox		99,12 ± 0,06	

#### Ces résultats montrent que :

- ➤ Le modèle moléculaire R, a induit une activité antioxydante en inhibant le radical ABTS avec un pourcentage moyen de 6,14%.
- La substance de référence utilisée, le Trolox, a présenté un pourcentage moyen d'inhibition de **99,12%**.
- Toutes les diaza-hétéroarylchalcones et leurs analogues structuraux ont induit des activités antioxydantes inférieures à celles du Trolox avec des pourcentages d'inhibition du radical ABTS comprises entre 5,86% et 39,26%.

Afin d'apprécier l'amplitude ou le pouvoir antioxydant des chalcones par rapport au Trolox et par rapport au modèle moléculaire (**composé R**), les inhibitions moyennes ont été traduites en histogrammes (**Figure 24**).



**Figure 24** : Pourcentage moyen d'inhibition du radical ABTS en fonction des molécules testées

Les résultats présentés par l'histogramme nous indiquent que :

- ➤ Toutes nos molécules de synthèse y compris la chalcone de base ou 1, 3-diphényl propénone ont un pourcentage moyen d'inhibitiondu radical ABTS en dessous de celui du trolox (substance de référence).
- > Ces composés peuvent être divisés en deux groupes :

- Ceux ayant un PMI en dessous de 20% : il s'agit des composés S2 et S3 de même que le composé R.
- Ceux ayant un PMI au-dessus de 20% : ce sont les composés S1 et S4.
- Le composé **S1** a présenté un pourcentage moyen d'inhibition du radical ABTS supérieur à celui des autres molécules de synthèse (**S2**, **S3** et **S4**) de même que celui de la chalcone de base (composé **R**).

## CHAPITRE III DISCUSSION

A la suite du criblage antioxydant du **modèle moléculaire R** et des diazahétéroaryl-chalcones ainsi que de leurs analogues structuraux, nous nous sommes consacrés dans cette autre partie de notre travail, à une discussion des résultats expérimentaux obtenus. Une telle discussion, de type relations structure-activité vise deux objectifs :

- la pertinence du concept pharmacochimique de juxtaposition d'entités bioactives comme méthode pratique d'élaboration de biomolécules d'intérêt thérapeutique,
- la détermination des éléments structuraux qui concourent à l'apparition voire à l'amélioration des activités antioxydantes recherchées.

#### Pertinence de notre stratégie pharmacochimique

La méthode pharmacochimique de conception des hybrides de chalcones par juxtaposition de deux entités chimiques permet d'établir que le remplacement du benzène en position 1 de la 1,3-diphénylpropénone (modèle moléculaire **R**) par un hétérocycle de type diazahétéroaryle (benzimidazole ou imidazopyridine) (**Figure 25**) conduit à des activités antioxydantes non négligeables. En effet, le **composé S1** (benzimidazolyl-chalcone) obtenu à partir du benzimidazole a présenté une activité antioxydante supérieure à celle du modèle moléculaire (6,14%) avec un pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS de 39.26 %.

Quant au **composé S2** (imidazopyridinyl-chalcone) obtenu à partir de l'imidazopyridine, celui-ci avec un pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS de 12% s'est montrée doublement plus efficace par rapport au modèle moléculaire (PI = 6%).

De telles performances antioxydantes 2 à 6 fois supérieure à celle du modèle moléculaire confirme également que le concept pharmacochimique utilisé pour

l'édification desdites chalcones reste pertinente pour la mise au point de molécules d'intérêt thérapeutique.

**Figure 25** : Conception des diaza-hétéroaryl-chalcones (composé S1 et composé S2)

Imidazopyridinyl-chalcone (Composé S2)

Par ailleurs, la présence d'un diazahétéroaryle de type benzimidazole (benzimidazolyl-chalcone) en position 1 de l'arylpropénone semble être plus favorable à induction de meilleures antioxydantes que l'imidazopyridine (imidazopyridinyl-chalcone).

Cependant, la performance de la benzimidazolyl-chalcone (PI = 39,26 %) étant inférieure à celle du Trolox, la substance de référence (PI = 99 %), nous avons entrepris des variations structurales autour de la benzimidazolyl-chalcone (**composé S1**) dans le but d'améliorer les activités antioxydantes recherchées.

Les pharmacomodulations (**Figure 26**) entreprises autour de la propénone du **composé S1** (benzimidazolyl-chalcone) ont consisté à :

- Remplacer la propénone par un bioisostère de fonction en l'occurrence un acrylonitrile (composé S3),
- Associer la propénone et l'acrylonitrile pour obtenir un αcyanopropénone (composé S4).

**Figure 26**: Variations structurales entreprises autour de la benzimidazolylchalcone (composé S1)

#### Variations structurales de la propénone du Composé S1

Ces nouvelles variations permettent d'établir que :

Le remplacement de la propénone par un acrylonitrile pour obéir au concept de bioisostérie fonctionnelle [119], n'a pas suffi à induire une nette amélioration des activités antioxydantes souhaitées. En effet, avec un pourcentage moyen d'inhibition de l'ABTS aux alentours de 6% du composé S3 obtenu, nous assistons au maintien des activités à un niveau équivalent à celui de la 1,3-diphenylpropénone : composé R. Comparativement au composé S1 dont il est l'analogue structural, l'introduction du groupement fonctionnel acrylonitrile a fait

chuter de façon spectaculaire les activités antioxydantes de celui-ci.

Le groupement fonctionnel acrylonitrile semble ne pas être favorable à l'amélioration des activités antioxydantes attendues.

✓ L'association de la propénone du **composé S1** et de l'acrylonitrile de son analogue S3 a conduit à l'obtention de la benzimidazolyl α-cyanopropénone ou composé S4. La présence de cet enchaînement fonctionnel à la fois de type propénone et acrylonitrile a amélioré les activités antioxydantes comparativement au modèle moléculaire R et à l'analogue structural phénylacrylonitriles (composé S3). En effet, le composé S4, possède une activité antioxydante (PI = 22,83%), environ 3 fois supérieure à celle du composé S3. Cependant, une telle performance demeure insuffisante au regard du niveau d'activité atteint avec la benzimidazolyl-chalcone (composé S1; PI = 39%)

En résumé, toutes les pharmacomodulations tant sur le noyau benzimidazolique que sur la propénone nous permettent d'aboutir à plusieurs conclusions pour un développement pharmacochimique ultérieur en série des diaza-hétéroaryles antioxydantes.

- le profil chimique benzimidazolyl-chalcone semble être un meilleur profil comparativement à l'imidazopyridinyl-chalcone
- La présence de l'enchaînement fonctionnel phénylpropénone semble être propice à l'obtention de bonnes activités antioxydantes comparativement aux enchaînements fonctionnels phénylacrylonitriles et phényl α-cyanopropénone Ainsi, sous réserve de confirmation des résultats notamment par criblage de série de diaza-hétéroaryl-chalcone ayant divers modulateurs sur l'homocyclebenzénique, nous pouvons proposer la benzymidazolyl-chalcone comme le chef de file pour la recherche de candidat médicament à visée antioxydant.

# CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail de thèse de type expérimental s'inscrit dans le cadre de la recherche pharmacochimique des substances antioxydantes à structure benzimidazolyl-chalcone pour contribuer à la lutte contre les effets délétères du stress oxydant qui serait impliqué dans de nombreux processus pathologiques.

Les activités antioxydantes de nos quatre diaza-hétéroaryl-chalcones et leurs analogues structuraux ont été évaluées par la méthode de décoloration de l'ABTS comparativement au modèle moléculaire et à la substance de référence (le trolox). Les résultats obtenus à l'issu de cette évaluation montrent que les quatre diaza-hétéroaryl-chalcones et leurs analogues structuraux possèdent effectivement un pouvoir antioxydant avec des pourcentages moyens d'inhibition du radical ABTS allant de 5, 86% à 39,26%. Quant au trolox la substance antioxydante de référence, elle a induit un pourcentage d'inhibition à 99 %.

Les études de type relation structure-activité entreprises ont permis d'établir que:

- ✓ le remplacement du noyau benzène du modèle moléculaire par un diazahétéroaryle (benzimidazole ou imidazopyridine) conduit à des activités antioxydantes non négligeables,
- ✓ la benzimidazolyl-chalcone (PI= **39,26%**) a induit une meilleure activité antioxydante que son analogue imidazopyridinyl-chalcone (PI= **12,44%**),
- ✓ la présence de l'enchaînement fonctionnel phénylpropénone semble être propice à l'obtention de bonnes activités antioxydantes comparativement aux enchaînements fonctionnels phénylacrylonitriles et phényl α-cyanopropénone.

Ces résultats nous permettent de valider le profil chimique benzimidazolylchalcone comme un nouveau pharmacophore à forte potentialité antioxydante et ouvrent ainsi de nouvelles voies d'investigation dans la recherche de substances à activité antioxydante.

## **PERSPECTIVES**

Notre étude étant essentiellement fondamentale, il serait intéressant d'entreprendre d'autres travaux complémentaires afin d'optimiser les activités antioxydantes obtenues.

Ainsi, du point de vue chimique diverses pharmacomodulations peuvent être entreprises autour du composé S1 la benzimidazolyl-chalcone telles que :

- Le remplacement de l'hétérocycle benzimidazole par d'autres isostères doués d'activités biologiques comme les pyrazines, les quinoleines etc.,
- La fonctionnalisation du noyau benzène de la chaîne phénylpropénone par des groupements hydroxyles, methoxyle ou encore des halogènes.

Au plan biologique, il serait convenable :

- D'évaluer les activités antioxydantes par d'autres méthodes pour conforter nos résultats.
- D'élucider le mécanisme antioxydant de ces hybrides de chalcones,
- D'évaluer la toxicité de la benzimidazolyl-chalcone.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **1. Goudable J. ; Favier A.** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition Clinique et Métabolisme, 1997 ,11 ; 115-120
- **2. Zou Y, Qian ZL, Li Y, Kim MM, Lee SH, Kim SK**. Antioxidant effects of phlorotannins isolated from Ishige okamurae in free radical mediated oxidative systems. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008;56(16):7001-7009.
- **3. Gutteridge JM.** Free radicals in disease processus: a compilation of cause and consequence. Free Radical Research Communication, 1993;19(3):141-158.
- **4. Pietta PG.** Flavonoid as antioxidants. Journal of natural products, 2000;63(7):1035-1042.
- **5. Halliwell B.** How to characterize a biological antioxidant. Free Radical Research Communications, 1990;9(1):1-32.
- **6. Murti Y, Goswami A, Mishra P.** Synthesis and Antioxidant Activity of Some Chalcones and Flavanoids. International Journal of PharmTech Research, 2013;5(2):811-818.
- **7. Brin AJ.** Composition cosmétique ou pharmaceutique antiradicaux libres pour application topique. EP0629397A1. [Page internet]. 1998. [Visité le 16/03/2018]. En ligne: <a href="https://patents.google.com/patent/EP0629397B1/fr">https://patents.google.com/patent/EP0629397B1/fr</a>.
- **8. Peynet J, Beaudeux J, Legrand A.** Stress oxydant et athérosclérose. In: Delattre J, Beaudeux J.L., Bonnefont-Rousselot D. Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. 2005; p45-86.
- **9.** Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP. Le stress oxydant. Revue Médicale de Liège, 2007;62(10):628-638.
- **10. Gey KF.** Vitamin E plus C and interacting conutrients required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer. Biofactor, 1998;7:113-174.
- **11. Anderson D.** Radicaux libres et antioxydants. Devlopmental Neuroscience, 1996;18(5-6):397-404.

- **12. Shiem H.** Etude de botanique et phytochimique : Approche biologique et pharmacologique d'opuntia ficus indica [Thèse]. Alger : Université des frères Mentouri et Constantine faculté des sciences de nature et de la vie, 2015;243 p.
- **13. Favier A.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 2003;103-115. Disponible sur <a href="www.andrecontrelasla.be">www.andrecontrelasla.be</a>
- **14.** Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions, 2006;1-40.
- **15. Massion P, Preise J, Balligand JL.** Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères ? Nutrition clinique et métabolisme, 2002;16:248-252.
- **16. Machlin LJ, Bendich A.** Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. The FASEB Journal, 1987;1(6):441-445.
- **17. Tamer Fouad MD.** Free Radicals, Types, Sources and Damaging Reactions. Internal Medicine Articles. [Page internet]. 2003. [Visité le 19/02/18]. Enligne:https://www.doctorslounge.com/primary/articles/freeradicals/index.ht.
- **18. Fontaine** E. Radicaux libres, stress oxydatif. [Page internet]. INSERM U1055 Grenoble. 2016 [Visité le 04/02/2018]. En ligne: <a href="http://docplayer.fr/47229685-Radicaux-libres-stress-oxydatif-eric-fontaine-inserm-u1055-grenoble.html">http://docplayer.fr/47229685-Radicaux-libres-stress-oxydatif-eric-fontaine-inserm-u1055-grenoble.html</a>
- **19. Pincemail J, Defraigne JD.** Les antioxydants : un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Symposium « antioxydant et alimentation » institut Danone. 23/10/2004;1-2.
- **20. Zohra M**. Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud-ouest de l'Algérie [Thèse]. Tlemcen, Algérie : Université Abou Berk Belkaid, 2013;170 p.

- **21.** Chopinet MH, Lizarazu D, Rocanière C. L'importance des phénomènes d'oxydo-réduction dans le verre. Comptes Rendus Chimie. 2002;5(12):939-949.
- **22. Aravodis E.** Antioxidant potential of African medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 2005;4(2):128-133.
- **23. Harris AL**. Hypoxia-a key regulatory factor in tumour growth. Nature Reviews Cancer, 2002;2(1):38-47.
- **24. Servais S.** Altérations mitochondriale et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effets de l'âge et d'une supplémentation en OMEGA-3. [Thèse] Lyon: Université Claude Bernard. Lyon1. 2004. 163 p.
- **25. Wang Y**. Bulky DNA lesions induced by reactive oxygen species. Chemical Research Toxicology, 2008; 21(2):276-281.
- **26. Trachootham D, Alexandre J, Huang P.** Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? Nature Reviews Drug Discovery, 2009;8:579–591.
- **27.** Dalle-Done L, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. Clinical Chemistry, 2006;52:601-623.
- **28.** Cassavaugh J, Lounsbury KM. Hypoxia-mediated biological control. Journal of Cellular Biochemistry, 2001;112(3):735-44.
- **29. Decker EA, McClements DJ**. Lipids. In Fennema's Food Chemistry. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2008; 4th ed. 62 p.
- **30. Frankel EN**. Methods to determine extent of oxidation. In Lipid Oxidation Dundee: The Oily Press. 1998.19 p.
- **31. Min DB, Boff JM**. Lipid oxidation of edible oil. In M. Dekker (Ed), Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology. New York: CRC Press 2002. 30 p.

- **32. Pincemail J, Bonjea K, Cayeux K, Defraigne JO**. Physiological action of antioxidant defences. Nutrition Clinique et Métabolisme, 2002;16:233-239.
- **33.** Lehucher-Michel MP, Lesgards JF, Delubac O, Stocker P, Durand P, Prost M. Stress oxydant et pathologies humaines. Bilan et perspectives préventives. La Presse médicale. 2001;30(21):1076-1081.
- **34.** Valko M, Leibfrit D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Biocell, 2007;39:44-84.
- **35.** Lee KW, Lee HJ. The roles of polyphenols in cancer chemoprevention. Biofactors, 2006;26(2):105-121.
- **36. Belkheiri N**. Dérivés phénoliques à activités Antiathérogènes: [Thèse] Université de Toulouse : Université Toulouse III-Paul Sabatier.2010.244 p.
- **37. Delattre J.** Radicaux libres et stress oxydant : Aspects biologiques et pathologiques. Londres; Paris; New York: Tec & Doc Lavoisier; 2007.548 p.
- **38. Kirkwood TBL.** Understanding the odd science of aging. Cell, 2005;120(4):437-447.
- **39. Sohal RS, Mockett RJ, Orr WC.** Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. Free Radical Biology and Medecine, 2002;33(5):575-586.
- **40. Bonnefont-Rousselot D.** Glucose and reactive oxygen species. Current Opinion Clinical Nutrution and Metabolic Care, 2002;5(5):561-568.
- **41. Bonnefont-Rousselot D.** The role of antioxidant micronutrients in the prevention of diabetic complications. Treatments in Endocrinology, 2004;3(1):41-52.
- **42. Christen Y.** Oxidative stress and Alzheimer disease. The American Journal of Clinical Nutrition, 2000;71(2):621-629.

- **43. Hwang O.** Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. Experimental Neurobiology, 2013;22(1):11-17.
- **44.** Serge P, Donaldson D, Jakowec M, kish SJ, Gutman M, Rojoklija G, et al. Brain superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in amyotrophic lateral sclerosis. Annals of Neurology, 1996;39(2):158-165.
- **45. Talbi H, Boumaza A, EL-Mostafa K, Talbi J, et Hilali A.** Evaluation de lactivité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanoiques et arqueux de la Nigella sativa L.ISSN: 2028-2508. CODEN: JMESCN. Master Environ. SCI: 2015;6(4):1111-1117.
- **46.** Košinová P, Gažák R, Duroux JL, Lazzaroni R, Křen V, Assfeld X, et al. Dimerisation process of silybin-type flavonolignans: insights from theory. European journal of chemical physics and physical Chemistry, 2011;12(6):1135-1142.
- **47. Velu SS**, **Buniyamin I**, **Ching LK**, **Feroz F**, **Noorbatcha I**, **Gee LC**, **et al.** Regio- and stereoselective biomimetic synthesis of oligostilbenoid dimers from resveratrol analogues: influence of the solvent, oxidant, and substitution. Chemistry (Weinheim an bergstrasse, Germany), 2008;14(36):11376-11384.
- **48. Karl GL, Pichette A, Legault J.** Test cellulaire basé sur l'oxydation de la DCFH-DA pour évaluer le potentiel pro et antioxydant de produits et mélanges complexes: Analyse de jus de fruits et légumes. Food Chemistry, 2009;115(2):720-726.
- **49. Frankel EN, Meyer ABS.**. The problems of using one dimensional method to evaluate multifunctional food and biological antioxidant. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000;80:1925-1940.
- **50. Huang D, Ou B, Prior RL.** The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005;53:1841-1856.

- **51. Hervy MP.** Conséquence de la douleur non soulagée. Service de Gérontologie, Hôpital BICATRE AP-HP; 4 p.
- **52.** Chavan BB, et al. Synthesis and medicinal of significane chalcones-A Review. Asian journal of biomedical and pharmaceutical sciences, 2015; p1-7.
- **53. Koné D**. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes: extraction, identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de polyphénols: étude de leur activité antioxydante [Thèse]. Metz : Universités de Bamako et Metz, 2009;188 p.
- **54. Moran JF, Klucas RV, Grayer RJ, Abian J, Becana M.** Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: prooxidant and antioxidant properties. Free Radical Biology Medecine, 1997;22(5):861-870.
- **55. Harborne JB.** The flavonoids: advances in research since 1986. Chapman & Hall/CRC, London, 1993;676 p.
- **56. Anto RJ, Sukumaran K, Kuttan G, Rao MN, Subbaraju V, Kuttan R.** Anticancer and antioxidant activity of synthetic chalcones and related compounds. Cancer letters, 1995;97(1):33-37.
- **57.** Nowakowska ZA. Review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. European journal medicinal chemistry, 2007;42:125-137.
- **58.** Heidari MR, Foroumadi A, Amirabadi A, Samzadek-Kermani A, Asinzadeh BS, Eskandarizadeh A. . Evaluation of Anti-inflammatory and Analgesic Activity of a Novel Rigid 3,4-Dihydroxy Chalcone in Mice. Annals of the New York Academy of Sciences, 2009;1171:399–406.
- **59. Zhao LM, Jin HS, Sun LP, Piao HR, Quan ZS.** Synthesis and evaluation of antiplatelet activity of trihydroxychalcone derivatives. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2005;15:5027-5029.

- **60. Ouattara M, Drissa S, Yavo W, Mamidou WK**. Synthèse et criblage antiplasmodial de quelques benzimidazolyl-chalcones. International Journal of Biological & Chemical Sciences, 2015;9(3):1697-1710.
- **61.** Haraguchi H, Ishikawaa H, Mizutani K, Tamurab Y, Kinoshitac T. Antioxidative and superoxide scavenging activities of retrochalcones in Glycyrrhiza inflata. Bioorganic & medicinal chemistry, 1998;6(3):339-347.
- **62. Hua SZ, Luo JG, Wang XB, Wang JS, Kong LY.** Two novel monoterpenechalcone conjugates isolated from the seeds of Alpinia katsumatai. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2009;19(10):2728-2730.
- **63. Mokrini R.** Mécanismes radicalaires dans la dégradation de composes phénoliques en chimie sous rayonnement : radiolyse gamma des chalcones et de l'acide ferulique en solutions alcooliques [thèse]. Limoges : Faculté de Pharmacie de l'université de Limoges. 2006;196 p.
- **64. Beiler JM, Graff M, Martin GJ**. Inhibition of liver xanthine oxidase activity in rats. The American Journal of Digestive Diseases, 1952;19:333-333.
- **65.** Laguerre M, Lecomte J, Villeneuve P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. Progress in lipid research, 2007;46(5):244-282.
- **66. Kehrer JP.** The haber-weiss reaction and mechanisms of toxicity. Toxycology, 2000;149(1):43-45.
- **67.** Weiss G, Loyevsky M, Gorleuk VR. Dexrazoxane (ICRF-187). General Pharmacology, 1999;32(1):155-158.
- **68.** Hamlaoui I, Bencheraiet R, Bensegueni R, Bencharif M. Experimental and theoretical study on DPPH radical scavenging mechanism of some chalcone quinoline derivatives. Journal of Molecular Structure, 2018;1156:385-389.

- **69.** Lawrence NJ, McGown AT. The chemistry and biology of antimitotic chalcones and related enone systems. Current pharmaceutical design, 2005;11(13):1679–1693.
- **70. Go ML, Wu X, Liu XL**. Chalcones: an update on cytotoxic and chemoprotective properties. Current medicinal & chemistry, 2005;12(4):481–499.
- 71. Kachadourian R, Pugazhenthi S, Velmurugan K, Backos DS, Franklin CC, McCord JM, et al. 2',5'-Dihydroxychalcone-induced glutathione is mediated by oxidative stress and kinase signaling pathways. Free radical biology medicine, 2011;51:1146–1154.
- **72.** Tomecková V, Guzy J, Kusnír J, Fodor K, Mareková M, Chavková Z et al. Comparison of the effects of selected chalcones, dihydrochalcones and some cyclic flavonoids on mitochondrial outer membrane determined by fluorescence spectroscopy. Journal of biochemical and biophysical methods, 2006;69(1-2):143-150.
- **73.** Foresti R, Hoque M, Monti D, Green CJ, Motterlini R. Differential activation of heme oxygenase-1 by chalcones and rosolic acid in endothelial cells. Journal of pharmacology & experimental therapeutics, 2005;312(2):686-693.
- **74. Abuarqoub H, Foresti R, Green CJ, Motterlini R**. Heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory actions of 2'-hydroxychalcone in RAW 264.7 murine macrophages. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 2006; 290(4):1092-1099.
- **75.** Sabzevari O, Galati G, Moridani MY, Siraki A, O'Brien PJ. Molecular cytotoxic mechanisms of anticancer hydroxychalcones. Chemico.-Biological Interaction, 2004;148(1-2):57-67.

- **76. Kachadourian R, Day BJ.** Flavonoid-induced glutathione depletion: potential implications for cancer treatment. Free Radical Biology & Medicine, 2006;41(1):65-76.
- 77. Brechbuhl HM, Gould N, Kachadourian R, Riekhof WR, Voelker D R, Day BJ. The breast cancer resistance protein (ABCG2/BCRP) is a novel glutathione transporter. Journal Biology Chemistry, 2010;285:16582–16587.
- **78.** Sergeant C, Hamon C, Simonoff M, Constans J, Conri C, Peuchant C. et al. Oxidative Stress in Cancer, AIDS and neurodegenerative diseases.New YorkBasel-Hong Kong: Editors: L. Montagnier, R. Olivier, C. Pasquier; Marcel Dekker. Inc, 1998;19 p.
- **79. Kang DH.** Oxidative stress, DNA damage, and breast cancer. AACN Clinical Issues, 2002;13(4):540-549.
- **80. Desport JC**, **Couratier P.** Stress oxydant et maladies neurodégénératives. Nutrition Clinique et Métabolisme, 2002;16(4):253-259.
- 81.Yushkova YV, Chernyak EI, Gatilov YV, Vasil'ev VG, Morozov SV, Grigor'ev IA. Synthesis, structure, antioxidant activity, and water solubility of trolox ion conjugates. Saudi Pharmaceutical Journal, 2018; 26(1):84-92.
- **82. Demetgül C, Beyasit N.** Synthesis, characterization and antioxidant activity of chitosan-chromone derivatives. Carbohydrate polymers, 2018;181:812-817.
- **83.** Verma S, Srivastav Ak, Panday OP. A Review on Chalcones Synthesis and their Biological Activity. PharmaTutor, 2018;6(2):22-39.
- 84. Gusman-Gutiérez SL, Nieto-Camacho A, Castillo-Arellano JI, Huerta-Salazar E, Hernandez-Pasteur G et al. Mexican Propolis: A Source of Antioxidants and Anti-Inflammatory Compounds, and Isolation of a Novel Chalcone and ε-Caprolactone Derivative. Molecules, 2018;23(2):334.

- **85. D'amelia V, Aversano R, Chiaiese P, Carputo D**. The antioxidant properties of plant flavonoids: their exploitation by molecular plant breeding. Phytochemistry Reviews, 2018;17:1-15.
- **86.** Gacche RN, Dhole NA, Kamble SG, Bandgar BP. In-vitro evaluation of selected chalcones for antioxidant activity. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2008;23(1):28-31.
- **87. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya BJ.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2002;13(10):572-584.
- 88. El-Husseiny WM, El-Sayed MA, Abdel-Aziz NI, El-Azad AS, Ahmed ER, Abdel-Aziz AA. Synthesis, antitumour and antioxidant activities of novel  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated ketones and related heterocyclic analogues: EGFR inhibition and molecular modelling study. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 2018;33(1):507-518.
- **89.** Kumar CS, Loh WS, Ooi CW, Quah CK, Fun HK. Structural correlation of some heterocyclic chalcone analogues and evaluation of their antioxidant potential. Send to Molecules, 2013;18(10):11996-2011.
- **90. Sissouma D, Ouattara M, Koné MW**. Synthesis and antifungal activities of some benzimidazolyl-chalcones, analogues of chlormidazole. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2015;9(12):418-423.
- **91. Ouattara M, Sissouma D, Koné MW, Yavo W**. Composés á structure imidazopyridinyl-arylpropénone, nouveaux agents anti-infectieux potentiels. Comptes Rendus Chimie, 2016;19(7):850-856.
- **92. Ouattara M**, **Sisssouma D**, **Koné MW**, **Menan HE**, **Touré SA**. Synthesis and anthelmintic activity of some hybrid benzimidazolyl-chalcone derivatives. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2011;10(6):767-775.

- **93. Sissoma D, Ouattara M, Koné MW, et al.** Synthesis and in vitro nematicidal activity of new chalcones vectorised by imidazopyridine. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2011;5(18):2086-2093.
- **94.** Pastorelli G, Faustini M, Corino C, Rossi R. Kit Radicaux Libres, a biological application for monitoring oxidative stress in pigs. Italian Journal of Animal Science, 2013;12(3):e70.
- **95.** Jensen S, Wu X, Patterson KM, Barnes J, Carter SG, Scherwitz L, et al. "Capacités antioxydantes et anti-inflammatoires in vitro et in vivo d'un mélange de fruits et de baies riches en antioxydants. Résultats d'une étude pilote croisée et randomisée, en double aveugle, contrôlée par placebo". Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2008;56(18):8326-8333. doi: 10.1021 / jf8016157. PMID 18717569.
- **96. Tam J**. Nanocrystalline Cellulose: A Novel, Renewable Antioxidant. Dostupnona:http://www.odec.ca/projects/2011/tamtaj/index\_files/Pa ge393. html.
- **97. Prior RL, Wu XL, Schaich K**. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005;53(10):4290-4302.
- **98.** Karadag A, Ozcelik B, Saner S. Review of methods to determine antioxidant capacities. Food Analytical Methods, 2009;2(1):41-60.
- **99. Arnao MB**. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. Trends in Food Science & Technology, 2000;11(11):419-421.
- **100.** Eklund-Jonsson C, Sandberg AS, Larsson AM. Reduction of phytate content while preserving minerals during whole grain cereal temper fermentation. Journal of Cereal Science, 2006;44(2):154-160.

- **101. Roginsky V, Eduardo AL**. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. Food Chemistry, 2005;92:235-254.
- **102.** Locatelli M, Gindro R, Travaglia F, Coïsson JD, Rinaldi M, Arlorio M. Study of the DPPH-scavenging activity: Development of a free software for the correct interpretation of data. Food Chemistry, 2009;114(3):889-897.
- **103.** Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. Journal of agricultural and food chemistry, 2000;48(8):3396-3402.
- **104.** Nilsson J, Pillai D, Onning G, Persson C, Nilsson A, Akesson B. Comparison of the 2,2'-azinobis-3-ethylbenzotiazo-line-6-sulfonic acid (ABTS) and ferric reducing anti-oxidant power (FRAP) methods to asses the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables. Molecular Nutrition & Food Research, 2005;49(3):239-246.
- **105. Apak R, Güçlü K, Ozyürek M, Karademir SE**. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004;52(26):7970-7981.
- **106. Prior RL, Hoang H, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L, et al.** Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC(FL))) of plasma and other biological and food samples. Journal of Agricultural and Food Chemistr, 2003;51(11):3273-3279.
- **107.** Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins BD. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis, 2006;19(6-7):669-675.
- **108. Prior RL, Cao G**. Flavonoids: Diet and Health Relationships. Nutrition in Clinical Care, 2000;3(5):279-288.

- **109. Sekher PA, Chan TS, O'Brien PJ, Rice-Evans CA.** Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. Biochemical Biophysical Research Communications, 2001;282:1161-1168.
- **110. Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R**. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Food Chemistry, 2007;105(3):940-949.
- **111.** Paixao N, Perestrelo R, Marques J, Camara J. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and white wines. Food Chemistry, 2007;105(1):204-214.
- **112. Huang D, Ou B, Prior RL**. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005;53(6):1841-1856.
- **113.** Sochor J, Ryvolova M, Krystofava O, Salas P, Hubalek J, Adams V et al. Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages. Molecules, 2010;(15):8618-8640.
- **114. Walker RB, Everette JD.** Comparative Reaction Rates of Various Antioxidants with ABTS Radical Cation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009;57(4):1156-1161.
- **115.** Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine, 1999;29(9-10):1231-1237.
- **116. Ross L, Barclay C, Locke SJ, Neil JM.** Autoxidation in micelles. Synergism of vitamin C with lipid-soluble vitamin E and water-soluble Trolox. Revue canadienne de chimie, 1985;63(2):366-374.
- **117. Becker EM, Nissen LR, Skibsted LH.** Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. European Food Research and Technology, 2004;219(6):561-571.

- **118. MacDonald-Wicks LK, Wood LG, Garg ML.** Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2006;86(13):2046-2056.
- 119. Graham P. Chimie pharmaceutique. De Boek, 2003, 629p.

## **RESUME**

**Justification**: Les chalcones, molécules d'origine naturelle du groupe des flavonoïdes, mais également obtenues par synthèse chimique, sont de plus en plus explorées pour leurs propriétés pharmacologiques. Ainsi, dans le contexte de la recherche d'alternatives pour la prise en charge des effets délétères causées par le stress oxydant, l'objectif de ce travail était d'explorer le pouvoir antioxydant de quatre diaza-hétéroaryl-chalcones et analogues structuraux.

**Matériel et méthode**: les quatre diaza-hétéroaryl-chalcones et analogues structuraux fournis par le département de chimie thérapeutique de l'UFR SPB d'Abidjan ont été obtenus par synthèse chimique totale et caractérisés par les méthodes spectroscopiques habituelles. La recherche de leur pouvoir antioxydant a été réalisée par la méthode de l'ABTS aux doses allant de 0,0625 à 0,1 mg/ml. La substance antioxydante de référence utilisée est le Trolox dont le pourcentage moyen d'inhibition du radical cationique ABTS est de **99,12%**.

**Résultats**: Les résultats obtenus aux doses de 1mg/ml montre que nos diazahétéro-chalcones et analogues structuraux sont tous doués d'activités antioxydantes avec des pourcentages d'inhibition du cation radicalaire ABTS allant de **5,86%** pour le phénylacrylonitrile (**composé S3**) à **39,26%** pour le benzimidazolyl-chalcone (**composé S1**). Tous nos composés ont présenté une activité antioxydante inférieure à celle du trolox.

**Conclusion**: Notre approche pharmacochimique a permis de valider le profil benzimidazolyl-chalcone comme pharmacophore antioxydant. Ces résultats nous offrent des voies de recherche en vue de la constitution d'une nouvelle classe d'antioxydant de synthèse pouvant être doublé d'une seconde activité pharmacologique.

MOTS CLE: Antioxydant, Méthode ABTS, Diaza-hétéroaryl-chalcone.