

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE
UNION – DISCIPLINE – TRAVAIL



Année : 2017 - 2018

N°.....

THESE

présentée en vue de l'obtention du

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

KABRAN Richmond-Félicité Ehia

*Relations Structure-Activité antioxydante
en série de quelques
benzimidazolyl-chalcones*

Soutenue publiquement le 21 Août 2018

COMPOSITION DU JURY :

Président : Monsieur DANO DJEDJE SEBASTIEN, Professeur Titulaire
Directeur : Monsieur OUATTARA MAHAMA, Maître de Conférences Agrégé
Assesseurs : Madame AKE-EDJEME N'GUESSAN ANGELE, Maître de Conférences Agrégé
Monsieur KONE SOLEYMANE, Maître de conférences

**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 †
	Professeur ATINDEHOU Eugène

II. ADMINISTRATION

Directeur	Professeur KONE-BAMBA Diénéba
Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie	Professeur Ag IRIE-N'GUESSAN
Sous-Directeur Chargé de la Recherche	Professeur Ag DEMBELE Bamory
Secrétaire Principal	Madame NADO-AKPRO Marie Josette
Documentaliste	Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert
Intendant	Monsieur GAHE Alphonse
Responsable de la Scolarité	Madame DJEDJE Yolande

III. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

III.1 PROFESSEURS TITULAIRES

M. ABROGOUA Danho Pascal	Pharmacie Clinique
Mme AKE Michèle	Chimie Analytique, Bromatologie
ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L.	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. DANO Djédjé Sébastien	Toxicologie
INWOLEY Kokou André	Immunologie
Mme KONE BAMBA Diéneba	Pharmacognosie

M.	KOUADIO Kouakou Luc	Hydrologie, Santé Publique
Mme	KOUAKOU-SIRANSY Gisèle	Pharmacologie
M.	MALAN Kla Anglade	Chimie Ana., contrôle de qualité
	MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie
	MONNET Dagui	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme	SAWADOGO Duni	Hématologie
M.	YAVO William	Parasitologie – Mycologie

III.2 MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M.	AHIBOH Hugues	Biochimie et Biologie moléculaire
Mme	AKE-EDJEME N’guessan Angèle	Biochimie et Biologie moléculaire
M.	AMARI Antoine Serge G.	Législation
	AMIN N’Cho Christophe	Chimie analytique
	BONY François Nicaise	Chimie Analytique
	DALLY Laba Ismael	Pharmacie Galénique
	DEMBELE Bamory	Immunologie
	DJOHAN Vincent	Parasitologie - Mycologie
	GBASSI K. Gildas	Chimie Physique Générale
Mme	IRIE-N’GUESSAN Amenan	Pharmacologie
M.	KOFFI Angely Armand	Pharmacie Galénique
Mme	KOUAKOU-SACKOU Julie	Santé Publique
M.	KOUASSI Dinard	Hématologie
	LOUKOU Yao Guillaume	Bactériologie - Virologie
	OGA Agbaya Stéphane	Santé publique et Economie de la santé
	OUASSA Timothée	Bactériologie - Virologie

OUATTARA Mahama	Chimie organique, Chimie thérapeutique
Mmes POLNEAU-VALLEE Sandrine	Mathématiques - Statistiques
SANGARE TIGORI Béatrice	Toxicologie
M. YAPI Ange Désiré	Chimie organique, chimie thérapeutique
ZINZENDORF Nanga Yessé	Bactériologie - Virologie

III.3 MAITRES ASSISTANTS

M. ADJAMBRI Adia Eusebé	Hématologie
ADJOUNGOUA Attoli Léopold	Pharmacognosie
Mmes ABOLI-AFFI Mihessé Roseline	Immunologie
AKA ANY-GRAH Armelle Adjoua S.	Pharmacie Galénique
ALLA-HOUNSA Annita Emeline	Santé Publique
M. ANGORA Kpongbo Etienne	Parasitologie - Mycologie
Mmes AYE-YAYO Mireille	Hématologie
BAMBA-SANGARE Mahawa	Biologie Générale
BARRO-KIKI Pulchérie	Parasitologie - Mycologie
M. CABLAN Mian N'Ddey Asher	Bactériologie - Virologie
CLAON Jean Stéphane	Santé Publique
Mmes DIAKITE Aïssata	Toxicologie
FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Pharmacognosie
M. KASSI Kondo Fulgence	Parasitologie - Mycologie
Mme KONAN-ATTIA Akissi Régine	Santé publique
M. KONAN Konan Jean Louis	Biochimie et Biologie moléculaire
Mmes KONATE Abibatou	Parasitologie - Mycologie
KOUASSI-AGBESSI Thérèse	Bactériologie-Virologie

M.	MANDA Pierre	Toxicologie
	N'GUESSAN Alain	Pharmacie Galénique
Mme	VANGA ABO Henriette	Parasitologie - Mycologie
M.	YAYO Sagou Eric	Biochimie et Biologie moléculaire

III.4 ASSISTANTS

M.	ADIKO Aimé Cézaire	Immunologie
	AMICHIA Attoumou Magloire	Pharmacologie
Mmes	AKOUBET-OUAYOGODE Aminata	Pharmacognosie
	ALLOUKOU-BOKA Paule-Mireille	Législation
	APETE Sandrine	Bactériologie - Virologie
	BEDIAKON-GOKPEYA Mariette	Santé publique
	BLAO-N'GUESSAN Amoin Rebecca J.	Hématologie
M.	BROU Amani Germain	Chimie Analytique
	BROU N'Guessan Aimé	Pharmacie clinique
	COULIBALY Songuigama	Chimie organique, chimie thérapeutique
M.	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Pharmacologie
	DJATCHI Richmond Anderson	Bactériologie - Virologie
Mmes	DONOU-N'DRAMAN Aha Emma	Hématologie
	DOTIA Tiepordan Agathe	Bactériologie - Virologie
M.	EFFO Kouakou Etienne	Pharmacologie
Mme	KABLAN-KASSI Hermance	Hématologie
M.	KABRAN Tano Kouadio Mathieu	Immunologie
	KACOU Alain	Chimie organique, chimie thérapeutique
	KAMENAN Boua Alexis Thierry	Pharmacologie

KOFFI Kouamé	Santé publique
KONAN Jean Fréjus	Biophysique
Mme KONE Fatoumata	Biochimie et Biologie moléculaire
M. KOUAHO Avi Kadio Tanguy	Chimie organique, chimie thérapeutique
KOUAKOU Sylvain Landry	Pharmacologie
KOUAME Denis Rodrigue	Immunologie
KOUAME Jérôme	Santé publique
KPAIBE Sawa Andre Philippe	Chimie Analytique
Mme KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde	Bactériologie - Virologie
M. LATHRO Joseph Serge	Bactériologie - Virologie
MIEZAN Jean Sébastien	Parasitologie - Mycologie
N'GBE Jean Verdier	Toxicologie
N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul	Chimie organique, chimie thérapeutique
Mmes N'GUESSAN Kakwokpo Clémence	Pharmacie Galénique
N'GUESSAN-AMONKOU Anne Cynthia	Législation
ODOH Alida Edwige	Pharmacognosie
SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle	Biochimie et Biologie moléculaire
SICA-DIAKITE Amelanh	Chimie organique, chimie thérapeutique
TANOH-BEDIA Valérie	Parasitologie - Mycologie
M. TRE Eric Serge	Chimie Analytique
Mme TUO Awa	Pharmacie Galénique
M. YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale
Mme YAPO-YAO Carine Mireille	Biochimie

III.5 CHARGES DE RECHERCHE

Mme ADIKO N'dri Marcelline	Pharmacognosie
Mme OUATTARA N'gnôh Djénéba	Santé publique
M. LIA Gnahoré José Arthur	Pharmacie Galénique

III.7 IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa	Professeur Titulaire
Feu YAPO Abbé Etienne	Professeur Titulaire
Feu COMOIE 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

IV.1 PROFESSEURS

M. DIAINE Charles	Biophysique
OYETOLA Samuel	Chimie Minérale

IV.2 MAITRES DE CONFERENCES

M. KOUAKOU Tanoh Hilaire	Botanique et Cryptogamie
YAO N'Dri Athanase	Pathologie Médicale

IV.3 MAITRE-ASSISTANT

M. KONKON N'Dri Gilles Botanique, Cryptogamie

IV.4 NON UNIVERSITAIRES

MM. AHOUSI Daniel Ferdinand	Secourisme
COULIBALY Gon	Activité sportive
DEMPAH Anoh Joseph	Zoologie
GOUEPO Evariste	Techniques officinales
Mme KEI-BOGUINARD Isabelle	Gestion
MM KOFFI ALEXIS	Anglais
KOUA Amian	Hygiène
KOUASSI Ambroise	Management
N'GOZAN Marc	Secourisme
KONAN Kouacou	Diététique
Mme PAYNE Marie	Santé Publique

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

I. BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

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 BIOCHIMIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE, BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION ET PATHOLOGIE MEDICALE

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 Denis Rodrigue

Assistant

N'GUESSAN-BLAO A. Rebecca S.

Assistante

YAPO Assi Vincent De Paul

Assistant

IV CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

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
Docteurs	COULIBALY Songuigama	Assistant
	KACOU Alain	Assistant
	KOUAHO Avi Kadio Tanguy	Assistant
	N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul	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
	TANOHI-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. Cynthia Assistante

TUO Awa Assistante

VIII PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE
VEGETALE, CRYPTO GAMIE

Professeur KONE BAMBA Diénéba Professeur Titulaire
Chef de Département

Docteurs ADJOU GOUA Attoli Léopold Maître-Assistant

FOFIE N'Guessan Bra Yvette Maître-Assistant

ADIKO N'dri Marcelline Chargée de recherche

AKOUBET-OUAYOGODE Aminata 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

XI PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHÉMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur	POLNEAU-VALLEE Sandrine	Maître de Conférences Agrégé
		Chef de Département
Docteur	KONAN Jean-Fréjus	Assistant

XII-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

A l'éternel Dieu

Psaumes 23 : « l'éternel est mon berger je ne manquerai de rien... »

Tu me protèges, me combles de grâces, m'entoures de ton amour si précieux. Tout ce travail n'aurait pu être sans ton aide. Merci d'être toujours présent dans ma vie.

Tu es et tu resteras le seul Dieu dans ma vie.

A ma mère Ahlijah Amah Marthe,

Maman, ta générosité, ta douceur, ton amour, ta rigueur ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Puisse Dieu te combler de grâce et de santé.

A ma muse, ma prunelle, ma fille, Kouamé Kpah Aimée Nolwenn,

Puisse Dieu être ton guide tout au long de ta vie.

Je glorifie le nom de Dieu de m'avoir donné une fille si adorable.

Je t'aime.

A mon père Kabran Assoumou,

Tes sages conseils, ton attention, ton soutien, ta détermination m'ont permis de réaliser ce travail. Cette œuvre est la tienne.

A ma deuxième maman, Mme Kabran Marie

Merci pour ton soutien.

A ma sœur Kabran Laetitia Epse Atsé, et à mon frère Kabran Franck Achille,

Merci pour tout votre soutien. Plus qu'une sœur et un frère vous avez joué le rôle d'un père et d'une mère également. Merci pour tout.

A mon chéri, Nouaman Marcellin,

J'ai pu trouver en toi, non seulement un chéri, mais aussi un ami, un frère et même un père. Tes conseils, ta patience et ton soutien m'ont beaucoup aidé lors de la rédaction de cette œuvre. Puisse Dieu être le socle de notre amour, et qu'il le consolide.

Merci mon chéri.

A mes amis (es) proches Aké Christelle Perpétue, Fadiga Ka Idrissa et Kedjebo Innocente.

J'ai trouvé en vous une famille. Notre parcours du tronc commun à la fin de notre cycle Universitaire a été parsemé de difficultés. Mais aujourd'hui, Dieu récompense nos efforts par cette œuvre qui est aussi la vôtre. Puisse Dieu nous ouvrir les portes de la réussite.

A tous les étudiants de la 33^{ème} promotion,

C'est un plaisir pour moi d'avoir fait ce parcours académique avec vous. Je suis heureuse car j'ai trouvé en vous une véritable famille.

A mon patron Dr Charles Sika, Directeur Général de Pharm'Afrik West and Central Africa

Je suis heureuse de découvrir avec vous l'univers du travail. Vous êtes plus un leader qu'un patron. Je vous remercie pour votre humanisme et pour tout le soutien que vous m'avez apporté lors de la rédaction de cette thèse.

A tous mes oncles, tantes, amis, cousins, cousines, nièces, neveux et au personnel de Pharm'Afrik

Je vous dis sincèrement merci.



REMERCIEMENTS

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**

*J'ai été marquée par votre encadrement, votre rigueur, votre simplicité
et votre courtoisie. Je vous remercie pour ce soutien et vous souhaite
une brillante carrière professionnelle. Puisse Dieu lui-même vous
guider.*

A Dr Adouko Eunice.

*Ta sympathie, ta disponibilité, ta gentillesse font de toi une personne
spéciale. Merci Dr Adouko pour cette aide dont j'ai bénéficié.
Merci Infiniment.*

AU DOCTEUR KOUAKOU LANDRY

Merci pour le soutien lors de l'élaboration de cette thèse

**A MES CHERS MAITRES
ET JUGES**

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Monsieur le Professeur DANO DJEDJE SEBASTIEN

- *Professeur titulaire de toxicologie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Félix Houphouët Boigny,*
- *Chef du Laboratoire de toxicologie et d'hygiène agro-industrielle de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques,*
- *Président de l'Association des Toxicologues Africains (ATA)*
- *Président fondateur de la Société Ivoirienne de Toxicologie (SITOX-CI)*
- *Membre de la Société Française de Toxicologie (SFT)*
- *Membre de la Société Française de Toxicologie Analytique (SFTA)*
- *Membre de l'Association pour la Recherche en Toxicologie (ARET)*
- *Expert Toxicologue près la cour d'Appel d'Abidjan,*
- *Officier dans l'ordre national de Cote d'Ivoire,*
- *Commandeur dans l'ordre du mérite agricole,*
- *Commandeur dans l'ordre du mérite de l'éducation nationale et de la recherche scientifique,*
- *Commandeur dans l'ordre du mérite de la solidarité*

Honorable Maître,

Vous m'avez fait l'honneur de présider cette thèse et de juger mon travail malgré vos lourdes responsabilités. Je vous remercie pour votre disponibilité.

Veillez trouver l'expression de mon profond respect et de ma sincère gratitude pour votre confiance. Sachez que je suis fière et heureuse d'être comptée parmi vos élèves. J'espère que ce travail répondra à vos attentes.

Je prie que les bénédictions de l'Eternel Dieu de gloire ne tarissent jamais à l'endroit de votre famille et vous.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Monsieur le Professeur OUATTARA MAHAMA

- *Professeur Agrégé de Chimie Médicinale*
- *Pharmacien, Docteur en Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Montpellier I.*
- *Directeur Adjoint de la Direction de la Pharmacie, Médicament et des Laboratoires de Côte d'Ivoire, chargé de l'inspection pharmaceutique*
- *Inspecteur des Bonnes Pratiques de Fabrication et de Distribution des Médicaments à usage humain,*
- *Membre du Comité technique consultatif «inspection pharmaceutique» de la Cellule pour l'Harmonisation de la Règlementation et la Coopération Pharmaceutique (CHRCP) de l'UEMOA*
- *Membre de la Liste des Experts du Médicament Vétérinaire (LEMV) de l'UEMOA*
- *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,

Vous avez accepté malgré vos occupations d'assurer l'encadrement de cette thèse. Vous avez été pour nous un guide, un modèle. Merci pour votre attention et vos sages conseils. Nous avons été marqués par votre simplicité, votre disponibilité, votre humilité, et vos exceptionnelles qualités professionnelles et humaines.

Veillez trouver ici, cher Maître, l'expression de notre infinie gratitude et de notre profond respect. Que DIEU vous comble de ses bénédictions

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE

Madame AKE-EDJEME N'GUESSAN ANGÈLE

- *Professeur agrégé de Biochimie et Biologie moléculaire à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny- Cocody, Abidjan*
- *Doctorat d'Université de Reims Champagne Ardenne (France)*
- *DEA de conception, réalisation et évaluation de médicaments issus de la pharmacopée traditionnelle*
- *CES de Biochimie Clinique*
- *Responsable chargée de la formation à l'Unité Biochimie Clinique et Hématologie à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire*
- *Pharmacienne Biologiste des hôpitaux à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire et au CHU de Cocody*
- *Membre de l'Observatoire de la Résistance aux Anti-infectieux en Côte d'Ivoire (ORMICI)*
- *Membre de la Société Médicale d'Afrique Noire de Langue Française*

Chère Maître,

C'est un honneur pour nous de vous compter parmi nos juges. Votre simplicité et votre amour du travail nous ont marqué tout au long de notre formation académique.

Recevez ici, chère Maître l'expression de notre gratitude et de notre profond respect.

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE

Monsieur le Professeur KONE SOLEYMANE

- *Titulaire d'une thèse de Doctorat de troisième cycle de l'Université de Cocody-Abidjan : option Spectrochimie Moléculaire*
- *Titulaire d'une thèse de Doctorat d'Etat en sciences physique de l'Université de Cocody-Abidjan : option chimie-physique (Modélisation Moléculaire)*
- *Titulaire d'un DEA des Sciences Physiques des Structures ; option chimie organique*
- *Responsable de la Licence de Chimie à l'UFR SSMT de l'Université de Cocody-Abidjan*
- *Responsable des travaux pratiques de chimie générale de MPCT 1^{ère} année*
- *Membre du conseil de l'UFR SSMT de l'Université de Cocody-Abidjan*
- *Membre de la commission des examens de l'UFR SSMT*
- *Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM)*
- *Secrétaire générale adjoint de la Société Ouest Africaine de Chimie section Côte d'Ivoire (SOACHIM-CI)*
- *Trésorier adjoint de la Société Ouest Africaine de Chimie section Côte d'Ivoire (SOACHIM-CI)*

Cher Maître

Vous avez accepté sans hésiter d'être membre de notre jury. Nous vous en sommes très reconnaissants. Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

SOMMAIRE

	Pages
LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES.....	XXVI
LISTE DES FIGURES.....	XXVIX
LISTE DES TABLEAUX.....	XXVI
INTRODUCTION	1
 Première partie	 5
I. AGENTS OXYDANTS ET STRESS OXYDATIF	6
I.1 Agents oxydants.....	6
I.2 Processus d'oxydo-réduction.....	11
I.3 Stress oxydatif	11
II ANTI-OXYDANTS	17
II.1 Définition.....	17
II.2 Systèmes antioxydants enzymatiques.....	18
II.3 Systèmes antioxydants non enzymatiques	18
III CHALCONES ET POUVOIR ANTI-OXYDANT	24
III.1 Généralités sur les chalcones.....	24
III.2 Pouvoir antioxydant des chalcones.....	27
IV CONCEPTION DES DIAZAHETEROARYLES	32
V METHODE DE DETERMINATION DE L'ACTIVITE ANTI-OXYDANTE	34
V.1 Les tests biologiques.....	34
V.2 Les tests chimiques.....	35
 Deuxième partie	 46
Chapitre I : MATERIEL ET METHODE	47

I CADRE DE L'ETUDE	47
II MATERIEL.....	47
II.1 Matériel de laboratoire.....	47
II.2 Matériel chimique.....	49
III METHODE D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI-OXYDANTE	50
III.1 Principe.....	50
III.2 Mode opératoire.....	51
 Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	54
I RESULTATS.....	54
II DISCUSSION.....	56
II.1 Pertinence de notre stratégie pharmacochimique.....	56
II.2 Eléments structuraux pour l'amélioration de l'activité anti-oxydante.....	58
 CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	67
 RFERENCES.....	69

LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES

AAPH	: Chlorure du 2,2'- azolibis (2 – amidino – propane)
ABTS	: Acide 2,2 –ozino –bis – 3 ethylben-zothiazoline- 6 sulfonique
CAT	: Catalase
ADN	: Acide Désoxyribonucléique
DHC	: Dihydroxychalcone
DPPH	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EDTA	: Acide éthylène diamine tétra-acétique
ERO	: Espèces Réactives de l'Oxygène
FRAP	: Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (Ferric reducing/antioxidant power)
TAH	: Transfert d'Atome d'Hydrogène
HBED	: Hydroxyphényl éthylène diamine diacétate
NADP	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
ORAC	: Oxygen Radical Absorbance Capacity (capacité d'absorption des radicaux oxygénés).
PBS	: Tampon phosphate salin
PIH	: Pyridoxal isonicotinyl hydrazone
RL	: Radicaux Libres
TES –TP	: Transfert d'un Electron Suivi d'un Transfert de Proton

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Sites de production intracellulaire des espèces réactives de l'Oxygène ..	8
Figure 2 : Structure chimique de la vitamine C	21
Figure 3: Structure chimique des vitamines E.....	21
Figure 4: Structure chimique d'un rétinoïde	22
Figure 5: Structure chimique des β -carotènes.....	22
Figure 6: Structure chimique de base des flavonoïdes	22
Figure 7: Structure chimique du phénol.....	23
Figure 8: Structure générale d'une chalcone	24
Figure 9: Profil chimique des chalcones et flavanones	25
Figure 10: Différentes chalcones anti-oxydantes isolées à partir de <i>Glycyrrhiza inflata</i>	26
Figure 11: Structure chimique de la naringenine-chalcone	27
Figure 12: Structure chimique d'une tetrahydroxychalcone	27
Figure 13: Structure chimique de l'héspéridine-chalcone	28
Figure 14: Sites de complexation des métaux par les flavonoïdes	28
Figure 15: Structure chimique d'une dihydroxychalcone	31
Figure 16: Conception et profil chimique des diaza-hétéroaryl arylacrylonitrile à visée anti-oxydante	32
Figure 17 : Profil chimique des benzimidazolyl arylacrylonitriles à visée anti-oxydante	33
Figure 18: Profil chimique des <i>N</i> -benzyl benzimidazolyl phénylpropénone et benzimidazolyl phénylpropénone à visée anti-oxydante	34
Figure 19: Spectre d'absorption du DPPH et oxydation du radical DPPH	36
Figure 20: Réduction du complexe tripyridyltriazine ferrique en complexe ferreux.....	38
Figure 21: Réaction chimique entre l'ABTS et le radical cationique ABTS	43

Figure 22 : Photographie du spectrophotomètre.....	48
Figure 23: Structure chimique de la 1,3-diphénylpropénone.....	49
Figure 24: Structure chimique du Trolox.....	50
Figure 25: Conception de la benzimidazolyl-chalcone (composé S1).....	57
Figure 26 : Sites de modulations sur la benzimidazolyl chalcone.....	58
Figure 27 : Modulations réalisées autour du composé S1	60
Figure 28: Isostérie des groupements fonctionnels	63

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Espèces réactives de l'oxygène	10
Tableau II: Antioxydants endogènes.....	19
Tableau III: Principaux antioxydants non enzymatiques exogènes et sources alimentaires associées	20
Tableau IV: Récapitulatif des principales caractéristiques des méthodes de détermination de l'activité anti-oxydante.	45
Tableau V: Pourcentages moyens d'inhibition du cation radicalaire ABTS des dérivés du benzyimidazolyl-chalcone, analogues acrylonitriles et de la substance de référence.	55

INTRODUCTION

Depuis quelques années se développe dans le milieu des sciences biologiques et médicales le concept du « stress oxydatif », qui serait à l'origine de plusieurs maladies qui apparaissent avec l'âge telles que le diabète, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires [1].

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 [2].

Par ailleurs, même si le stress oxydatif n'est pas la seule cause de ces maladies, il jouerait un rôle d'amplificateur dans les processus pathologiques déjà enclenchés de certaines maladies [1, 3].

En effet, avec le vieillissement, les systèmes naturels de défense anti-oxydant sont de moins en moins performants alors que la production de radicaux libres issus du stress oxydatif augmente. Ainsi il existerait une corrélation étroite entre l'apparition de certains cancers et le stress oxydatif du fait des dommages qu'il engendre sur l'ADN, dommages qui seraient propices à la prolifération des cellules malignes. [4,5].

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 [6].

Ainsi, malgré la bonne connaissance des phénomènes et mécanismes impliqués dans l'apparition du stress oxydatif 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 oxydatif et plus largement

dans les processus de vieillissement cellulaire, est devenu un axe de recherche majeur de chimie médicinale [7,8].

Parmi les composés à forte potentialité anti-oxydant, 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 anti-oxydants [9-13].

Parmi les chalcones naturelles, ont été rapportés les activités anti-oxydants des Licochalcones B et D isolées de *Glycyrrhiza inflata* [14]. 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 α , α -diphényl- β -picrylhydrazyle (DPPH) [14].

Les activités anti-oxydants de certaines chalcones de synthèse ont été également rapportées par différentes équipes de recherches [15, 16,17].

Lesdites chalcones auraient des activités anti-oxydants comparables à celles des chalcones naturelles. Par ailleurs, les dérivés hydroxylés et méthylés se sont avérés être les plus puissants antioxydants [15].

C'est dans ce contexte que le département de chimie thérapeutique et chimie organique de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny en collaboration avec le département de pharmacologie se sont intéressés à la mise au point de quelques hybrides de chalcones. Ces dernières ont montré dans de précédents travaux des activités anti-oxydantes et antalgiques non négligeables [10]. Ainsi, l'objectif de notre étude est de contribuer à l'identification d'un « hit moléculaire » à pouvoir antioxydant à partir des relations structure activité établies en séries de quelques benzimidazolyl-chalcones et analogues structuraux.

De façon spécifique il s'agira pour nous de :

- ✓ Déterminer les activités anti-oxydantes par la méthode ABTS des benzimidazolyl-chalcones.
- ✓ Etablir les éléments structuraux à l'origine de l'introduction, voire de l'amélioration des activités anti-oxydante.

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

- ✓ La première partie, est consacrée d'une part aux généralités sur les agents oxydants, le stress oxydatif et leur implication dans la survenue de certaines pathologies. D'autre part à la revue les antioxydants existants ainsi que les méthodes d'évaluation de l'activité anti-oxydante.
- ✓ La seconde partie, de type expérimental, présente successivement :
 - La description du cadre et du type d'étude, puis le matériel et la méthode utilisée ;
 - L'analyse des résultats obtenus, suivie d'une discussion de type relations structure-activité ;

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

Première partie
REVUE DE LA LITTÉRATURE

I AGENTS OXYDANTS ET STRESS OXYDATIF

I.1 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 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 [19].

Dans les conditions physiologiques, l'oxygène produit des espèces réactives de l'oxygène (ERO) particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire [19].

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 (ERA) [19].

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 [19]. Ils jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire, la phagocytose et la communication cellulaire [20]. 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 arrachant son électron, et la molécule attaquée devient alors elle-même un radical libre [4, 11,12]. Le terme de radical libre est souvent assimilé aux espèces réactives de l'oxygène (ERO).

Parmi ces espèces, on distingue un ensemble restreint de composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}), le radical peroxyde (ROO^{\cdot}) et le radical alkoxyde (RO^{\cdot}). Les autres radicaux libres, dits

radicaux secondaires tels que l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde (ONOO^-) se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [1].

I.1.1 Production des radicaux libres

Il existe des voies de production des radicaux libres. Ils résultent du métabolisme de l'oxygène [4,23].

I.1.1.1 Production intracellulaire

▪ 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 [1].

▪ 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 entraînant la stimulation d'une enzyme membranaire, la NADPH oxydase. Cette enzyme catalyse la réduction de l'oxygène en anion superoxyde. Ce dernier donne le 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 [20].

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

▪ Sources cytosoliques

Les sources cytosoliques (**Figure 1**) sont constituées essentiellement des peroxysomes et de la xanthine oxydase.

- Le peroxysome est une source importante de la production cellulaire de peroxyde d'hydrogène [24].

- 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) [25].

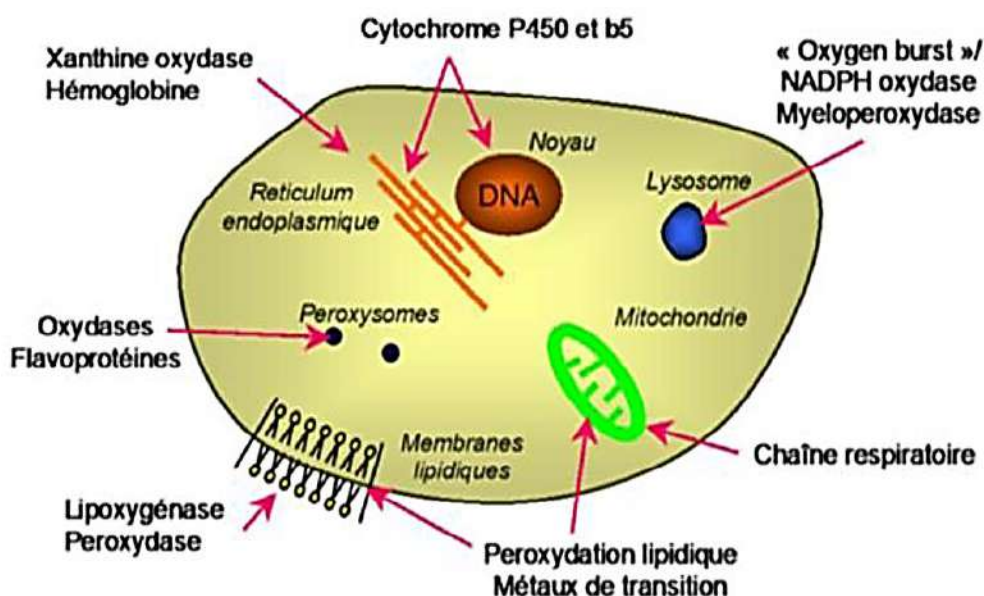


Figure 1: Sites de production intracellulaire des espèces réactives de l'Oxygène [26]

I.1.1.2 Production extracellulaire

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

▪ Production des radicaux libres liés aux facteurs environnementaux

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

- Les rayonnements UV : ceux-ci sont capables de générer des anions superoxydes 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 [27].
- Les poussières d'amiante et de silice sont des sources des ERO [1].
- L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂) provenant des polluants automobiles et industriels.

▪ **Production des radicaux libres liés au mode de vie**

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

- Les fumées de combustion provenant des cigarettes. La consommation de l'alcool et l'effort physique intense sont des paramètres à ne pas écarter [28].
- Une alimentation riche en graisses saturées et en sucre [23].
- Les produits phytosanitaires.

I.1.2 Les différents types d'espèces réactives de l'oxygène (ERO)

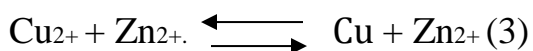
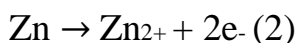
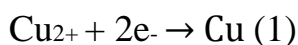
Les différents types d'espèces réactives à l'oxygène sont représentés dans le tableau ci-après (**Tableau I page 16**):

Tableau I : Espèces réactives de l'oxygène [29]

ERO	Formules	Principales réactions
Superoxyde	$O_2^{\bullet-}$	Catalyseur de la réaction de Haber-Weiss par recyclage de Fe^{2+} et Cu^+ ; formation du peroxyde d'hydrogène et peroxynitrite
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Formation du radical hydroxyle ; inactivation d'enzymes : oxydation de biomolécules
Radical hydroxyle	$\bullet OH$	Capture de l'hydrogène, production de radicaux libres et peroxydes lipidiques, oxydation des thiols
Ozone	O_3	Oxydation de biomolécules, spécialement celles contenant des doubles liaisons, formation des ozonides et des aldéhydes cytotoxiques
Oxygène singulet	1O_2	Réaction avec les doubles liaisons, formation de peroxydes, décomposition des aminoacides et nucléotides
Oxyde nitrique	NO	Formation de peroxynitrite, réaction avec les autres radicaux
Ion Peroxynitrite	NO_3^-	Formation du radical hydroxyle, oxydation des groupements thiols et aromatiques, conversion de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase, oxydation des biomolécules
Hypochlorite	ClO^-	Oxydation des groupements amine et sulfure, Formation de chlore
Radical alkyle	R^\bullet	Capture de l'hydrogène, formation de radicaux peroxy et autres radicaux
Radical peroxy	RO_2^\bullet	Capture de l'hydrogène, formation de radicaux, décomposition de lipides et autres biomolécules
Hydroperoxyde	RO_2H	Oxydation de biomolécules, destruction de membranes biologiques
Ions fer et cuivre	$Cu^{2+} Fe^{3+}$	Formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton et Haber-Weiss

I.2 Processus d'oxydo-réduction

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 [30] :



I.3 Stress oxydatif

I.3.1 Définition

Le stress oxydatif 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 conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules [1,31].

I.3.2 Biomolécules et dommages oxydatifs

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes des 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. [33]

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 telle la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire, des

signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, en concentration élevée, ils deviennent hautement cytotoxiques [33].

I.3.2.1 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 [34].

I.3.2.2 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 double brin de la chaîne oligonucléotidique [35].

La guanine, par exemple, peut réagir avec $\text{OH}\cdot$ pour former la 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine (8-OH-dG). Celle-ci, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine. Cette association entraîne des mutations au sein de l'ADN et conduit à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et dans le processus du vieillissement [4].

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 toutes les étapes de cancérogenèse [36].

I.3.2.3 Cas des lipides

La peroxydation des lipides est la dégradation des acides gras membranaires. Elle constitue par conséquent un indice de dommages oxydatifs effectués sur les lipides. La peroxydation lipidique génère une variété de produits de décomposition relativement stables. Ce sont principalement des aldéhydes insaturés et toxiques tels le Malonatediethyl, le 4-hydroxy-2-nonénal, le 2-propénal et les isoprostanes. Ces molécules peuvent être mesurés dans le plasma et l'urine comme marqueurs indirects de stress oxydatif [37].

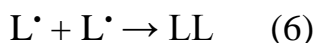
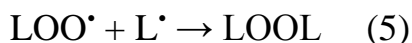
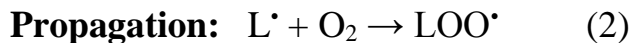
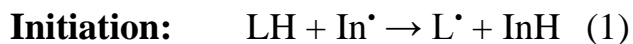
Par ailleurs, les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (Low Density Lipoprotein) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires.

L'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane, en induisant une perturbation des membranes des organites cellulaires, une inactivation des enzymes membranaires et une augmentation de la perméabilité membranaire [38].

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 [39-41] :

- 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 [39-41]:



I.3.3 Implication du stress oxydatif dans les pathologies humaines.

De nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydatif 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 [42]. Le rôle du stress oxydatif a été également évoqué dans des processus physiologiques tel que le vieillissement [43, 44].

I.3.3.1 Stress oxydatif et cancer

La carcinogénécité du stress oxydant est principalement attribuée à la génotoxicité des ERO dans les différents processus cellulaires [45]. Il a également été démontré que le stress oxydatif augmente dans les tumeurs. En effet, les cellules cancéreuses présentent souvent de multiples altérations génétiques et un stress oxydatif très élevé notamment dans les stades de tumeurs avancés [36].

I.3.3.2 Stress oxydatif et 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 LDLox) observées au stade initial de la formation de la plaque d'athérome qui implique automatiquement une réduction du diamètre de vaisseau [46].

I.3.3.3 Stress oxydatif 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. Pour étayer cette théorie, de nombreux marqueurs biologiques du stress oxydatif ont été observés au cours du vieillissement (8-oxo-guanine, dialdéhyde malonique, isoprostanes) [3].

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 anti-oxydantes et la répression de gènes de la chaîne 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 [47,48].

I.3.3.4 Stress oxydatif et diabète de type 2

Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant est une maladie se caractérisant par une hyperglycémie chronique.

Le diabète engendre des hyperglycémies qui vont être perçues par l'organisme comme un stress oxydatif [49]. Le stress oxydatif est superposable à

l'hyperglycémie. Ainsi, plus la glycémie est élevée et prolongée, plus le stress oxydatif 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 [50].

I.3.3.5 Stress oxydatif et maladies neurodégénératives

Le stress oxydatif 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 entraîne 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 β 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 [51].

Bien que le lien de cause à effet entre le stress oxydatif et la maladie d'Alzheimer ne soit pas encore bien élucidé, la présence de protéines β amyloïde est toujours associée à la présence des ERO. Il a été démontré que le stress oxydatif favorise l'agrégation de β amyloïde qui elle-même va provoquer un nouveau stress oxydatif 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 entraînant 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 [52].

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 [53].

II ANTIOXYDANTS

II.1 Définition

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 [54].

Le radical arrache un électron à l'antioxydant et non 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 [23]. Dans le cas des polyphénols nous avons la réaction suivante :



La stabilisation du radical $\text{ArO}\cdot$ se fera grâce à la délocalisation des électrons π du noyau aromatique du polyphénol ou par réaction avec un autre radical libre [56,57]. Il existe un très grand nombre de molécules anti-oxydantes. Elles peuvent être endogène (naturellement fabriquées par notre organisme) ou bien exogènes (apportées par l'alimentation) [23,29].

Les systèmes antioxydants sont soit enzymatiques ou non enzymatiques (**Tableau II page 19**).

II.2 Systèmes antioxydants enzymatiques

Les systèmes antioxydants enzymatiques les plus efficaces [29] 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_x) qui réduit le peroxyde d'hydrogène en eau en oxydant le glutathion (GSH) en disulfure de glutathion (GSSG). Il neutralise aussi directement l'anion superoxyde et le radical hydroxyle.

Les systèmes antioxydants enzymatiques ayant une faible action sont :

- Le glutathion réductase,
- La thioredoxine réductase,
- Le glutathion transférase [20].

II.3 Systèmes antioxydants non enzymatiques

II.3.1 Systèmes antioxydants non enzymatiques endogènes

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 [57] ;
- Les formes oxydées et réduites de l'acide lipoïque, grâce à leurs groupements thiols, sont capables de piéger les espèces réactives suivantes : HO•, RO₂•, l'HOCl et l'¹O₂ [58] ;
- L'acide urique qui possède des propriétés anti-oxydantes contre HO• et RO₂•, tout comme la bilirubine, les mélanines et la mélatonine [20,59].

Tableau II: Antioxydants endogènes [28]

Antioxydant	Phase	Action
Superoxyde dismutase (SOD)	Hydrophile	Dismute d'O ₂ en H ₂ O ₂ et O ₂
Catalase	Hydrophile	Dismute d' H ₂ O ₂ en H ₂ O et O ₂
Glutathion peroxydases (GPX)	Hydrophile Ou Lipophile	Réduction de R-OOH en R-OH
Glutathion réductase (GSR)	Hydrophile	Réduction du glutathion oxydé
Glutathion-S-transférase (GST)	Hydrophile	Conjugaison de R-OOH au GSH (→ 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 GPX et GST
Ubiquinol	Lipophile	Piégeage des radicaux libres Recyclage des tocophérols (Vitamine E) Maintient les enzymes dans les états réduits
Rétinoïdes (vit A) et caroténoïdes	Lipophile	Piégeage des radicaux libres Désactivent l'oxygène singulet ¹ O ₂
Tocophérols (vit E)	Lipophile	Piégeage des radicaux libres (prévient LPO) Augmente l'absorption du sélénium
Sélénium	Amphiphile	Constituant de la GPX et Thiorédoxines

II.3.2 Systèmes antioxydants non enzymatiques exogènes (Tableau III)

Les différents systèmes antioxydants non enzymatiques exogènes sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Tableau III: Principaux antioxydants non enzymatiques exogènes et sources alimentaires associées [29]

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 [60], les caroténoïdes, les composés phénoliques et les oligo-éléments [23].

La Vitamine C ou acide ascorbique (**Figure 2**) est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. Elle empêche l'oxydation des lipoprotéines et assure le piégeage des ERO produites par divers systèmes pro-oxydants polynucléaires neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myeloperoxydases [4,61].

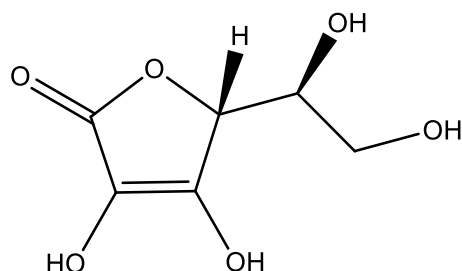
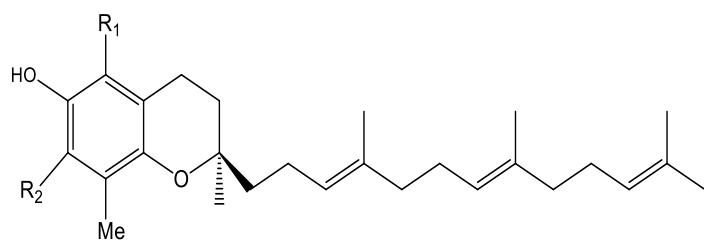


Figure 2 : Structure chimique de la vitamine C

La vitamine E (Figure 3) est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols. Ce sont de bons antioxydants alimentaires, ils ont surtout un rôle physiologique chez l'homme comme protecteurs des structures membranaires et des lipoprotéines ou pour lutter contre le stress oxydatif. La vitamine E prévient l'apparition d'hydropéroxydes en piégeant les radicaux $\text{LOO}\bullet$ [4].

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 [4].



$R_1 = R_2 = \text{Me}$	α -tocophérol
$R_1 = \text{Me}, R_2 = \text{H}$	β -tocophérol
$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{Me}$	γ -tocophérol
$R_1 = R_2 = \text{H}$	δ -tocophérol

Figure 3: Structure chimique des vitamines E

Les caroténoïdes notamment le **rétinol (Figure 4)**, le **β -carotène (Figure 5)**, la **lutéine** et le **lycopène** sont des pigments issus des plantes et microorganismes et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles. L'activité anti-oxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux $\text{ROO}\bullet$, $\text{HO}\bullet$, $\text{O}_2\bullet^-$, $\text{R}\bullet$ par simple addition

électrophile et par transfert d'électron. Ils protègent les lipides membranaires contre les radicaux en neutralisant l'oxygène singulet [24].

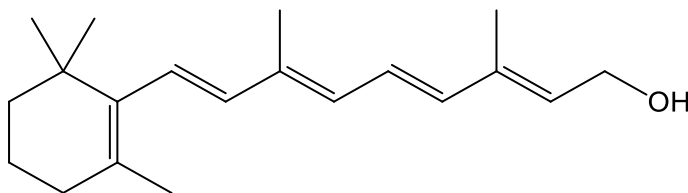


Figure 4: Structure chimique d'un rétinoïde

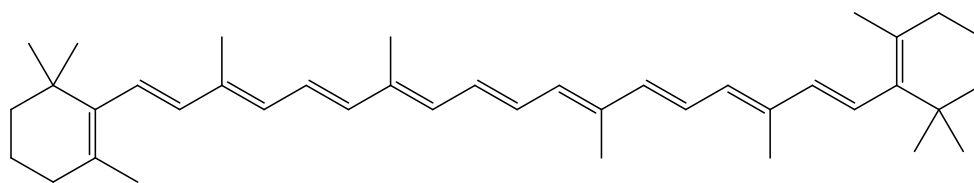


Figure 5: Structure chimique des β-carotènes

Les flavonoïdes (Figure 6) sont des métabolites secondaires des plantes caractérisées par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane. Leur capacité anti-oxydante 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 [62].

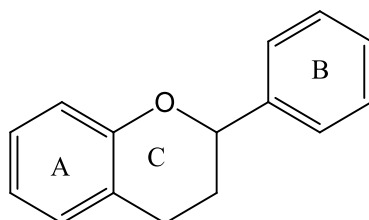


Figure 6: Structure chimique de base des flavonoïdes

Les composés phénoliques (Figure 7) comportent dans leur structure un ou plusieurs groupements OH-phénoliques. Les polyphénols piègent les radicaux libres par un mécanisme de transfert de l'atome d'hydrogène (H-Atom Transfer ou HAT). Ils jouent un rôle important et sont capables d'interagir avec les métaux de transition notamment avec le fer et le cuivre [63]. En effet, les ERO sont produites abondamment par la réduction d'O₂ par le Fe²⁺ ou le Cu⁺ aboutissant à la formation de superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de radicaux oxyde (réaction de Fenton). Ainsi la formation de complexes chélateurs stables et inertes est un mécanisme antioxydant.

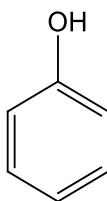


Figure 7: Structure chimique du phénol

Le sélénium est un oligo-élément indispensable à l'enzyme anti-oxydante 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 antvieillessement [23,29].

Le zinc joue un rôle important dans la prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres. En effet, le zinc est un cofacteur essentiel de la SOD (Super Oxyde Dismutase). 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 de masse Cu / Zn, (normalement inférieur à 1,5) sera un excellent indicateur de l'état de stress oxydatif 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 [4].

Le cuivre à concentration physiologique est le cofacteur d'enzymes comme la 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 [10].

III CHALCONES ET POUVOIR ANTIOXYDANT

III.1 Généralités sur les chalcones

III.1.1 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*. Les dont les stéréoisomères *E* sont les plus abondants. Les chalcones ont des propriétés biologiques importantes telles que les activités antibactériennes, fongicides, antitumorales et anti-inflammatoires. De plus, elles sont des précurseurs dans la synthèse des flavonoïdes [64].

Les chalcones et les dihydrochalcones ont été étudiées pour leurs propriétés anticancéreuses [15], anti-inflammatoires [65], anti-oxydantes [66], analgésiques [66], antimicrobiennes [65], antiparasitaires [65], antiagrégants plaquettaires [67] et antiplasmodiales [68].

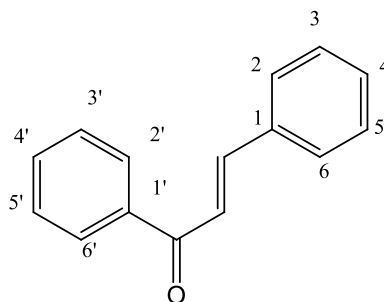


Figure 8: Structure générale d'une chalcone

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 (**Figure 9**).

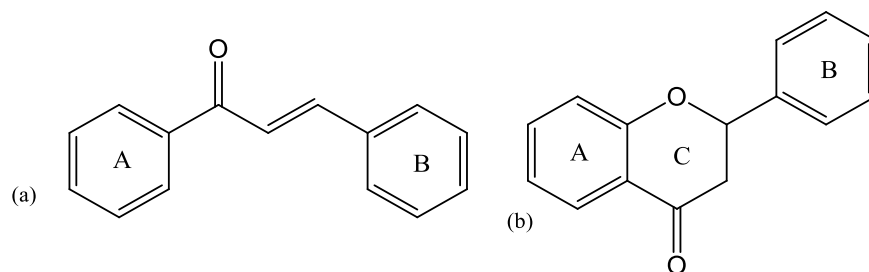


Figure 9: Profil chimique des chalcones et flavanones

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 [68]. Ces composés sont rarement substitués sur le cycle B.

III.1.2 Origine

Les chalcones pour la plupart, ont été isolées des plantes productrices de flavonoïdes. Elles peuvent se diviser en deux types : les chalcones naturelles et les chalcones de synthèse. Par exemple, des chalcones naturelles possédant des activités anti-oxydantes ont été isolées de la plante *Glycyrrhiza inflata* (**Figure 10**). D'autres possédant des activités antiémétiques ont été isolées à partir des graines de *Alpinia katsumadai* [14, 69].

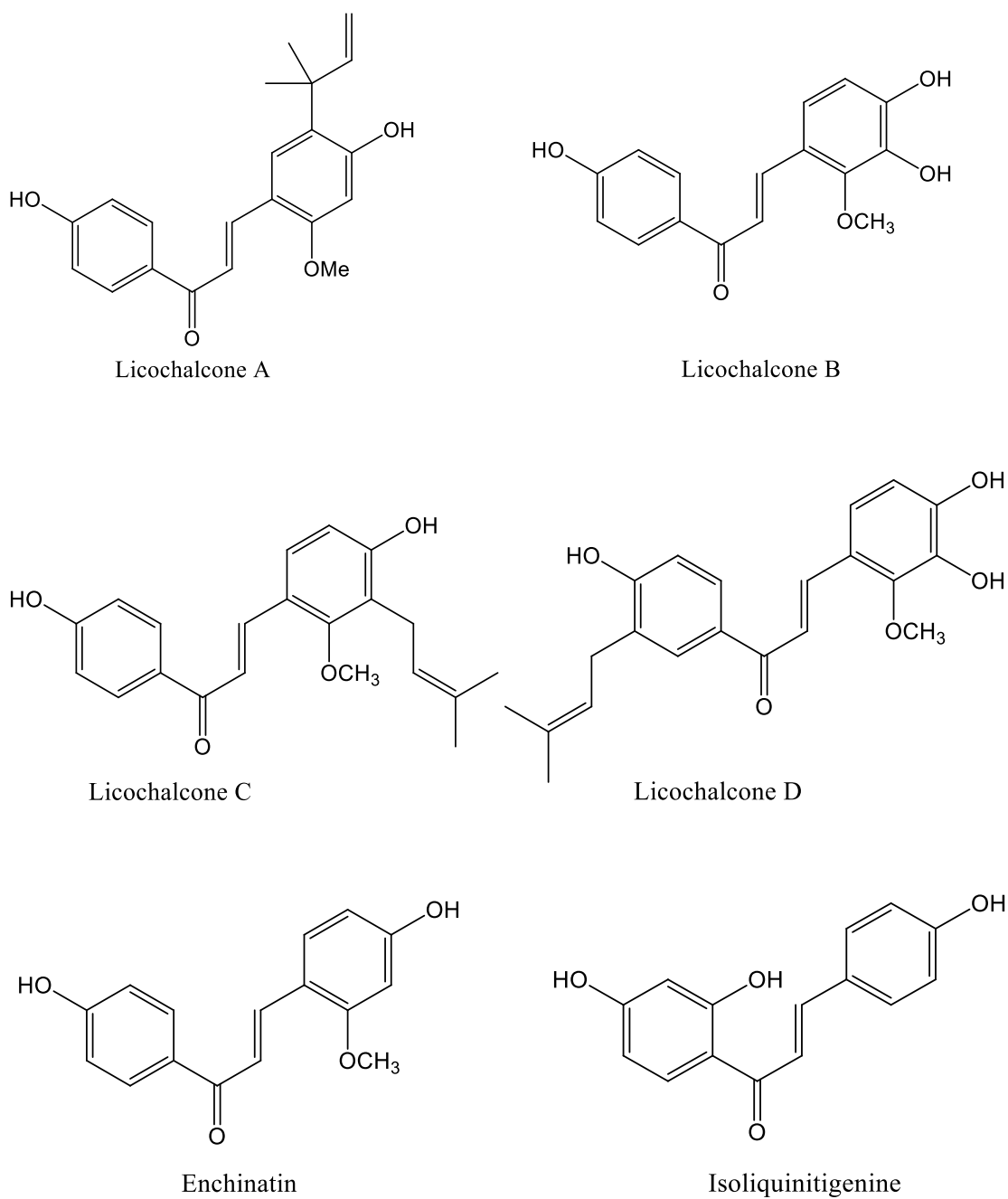


Figure 10: Différentes chalcones anti-oxydantes isolées à partir de *Glycyrrhiza inflata* [14]

III.2. Pouvoir antioxydant des chalcones.

Le pouvoir antioxydant des chalcones s'effectue à travers divers mécanismes que sont :

- Le piégeage direct des espèces réactives oxygénées.
- L'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production des espèces réactives oxygénées
- La protection des systèmes de défenses anti-oxydantes.

Ces mécanismes permettent d'attester les propriétés anti-oxydantes de diverses chalcones [70]. Ainsi, la naringénine-chalcone (**Figure 11**), la tetrahydroxychalcone (**Figure 12**) et l'hesperidine-chalcone (**Figure 13**) 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 [70,71].

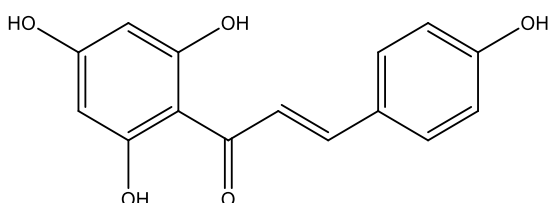


Figure 11: Structure chimique de la naringénine-chalcone

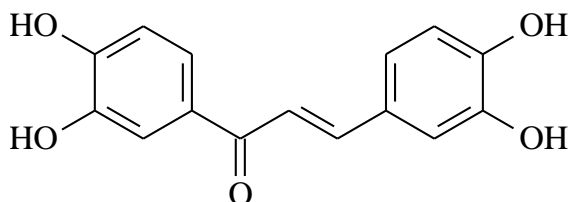


Figure 12: Structure chimique d'une tetrahydroxychalcone

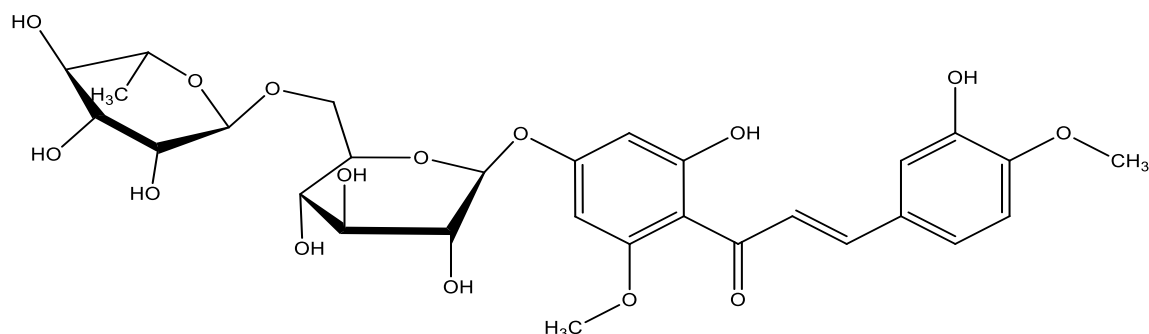


Figure 13: Structure chimique de l'hespéridine-chalcone

III.2.1 Pouvoir chélateur des métaux de transition

Le pouvoir chélateur des métaux de transition a surtout été étudié et décrit avec les chalcones à cycles fermés notamment avec les flavonoïdes.

Pour les flavonoïdes, les différents points de fixation des ions de transition sont (**Figure 14**) :

- Les groupements hydroxyles en position 3', 4' du cycle B (**14 a**)
 - La fonction cétonique en 4 et l'hydroxyle en 3 du cycle C (**14 b**) ou
 - La fonction cétonique en 4 du cycle C et l'hydroxyle en 5 du cycle A (**14 c**)
- [72].

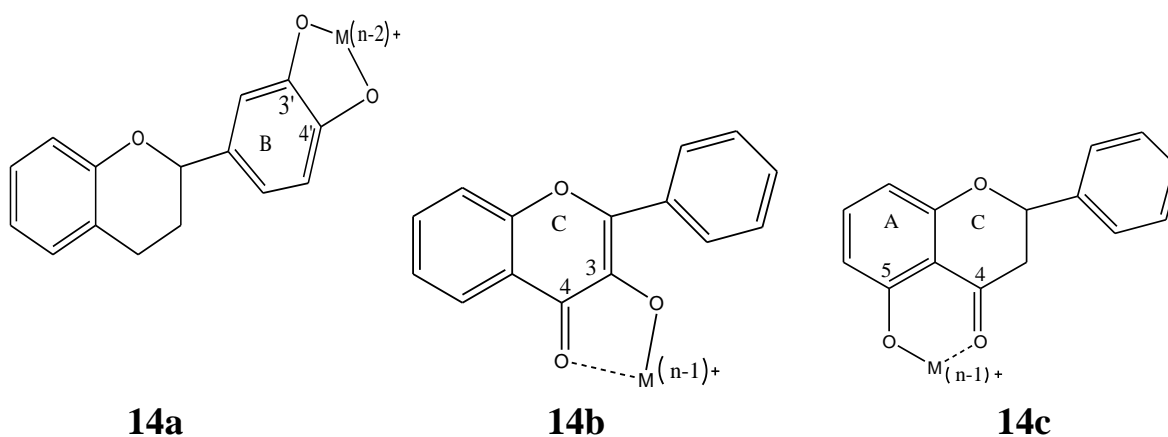
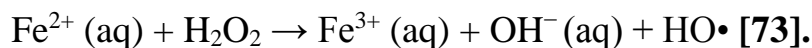


Figure 14: Sites de complexation des métaux par les flavonoïdes

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 :



Toute stratégie qui élimine ou masque le métal en question a une valeur potentiellement anti-oxydante. 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 le Fe^{2+} ou le Fe^{3+} (précurseur du Fe^{2+} 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 oxydatif. Parmi ces derniers l'on peut citer :

- La desferrioxamine ;
- L'hydroxyphényl éthylène diamine diacétate (HBED), analogue de l'éthylène diamine tétra-acétate (EDTA) ;
- Le pyridoxal isonicotinyl hydrazone (PIH) ;
- La dexrazoxane est une bisdioxopiperazine qui est dotée de propriétés à la fois chélatrices du fer et anti-oxydantes [74].

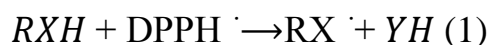
III.2.2 Activités sur les radicaux libres

Les chalcones sont des précurseurs des flavonoïdes avec une large gamme d'applications biologiques (Agents anticancéreux, antifongiques, antibactériens et anti-inflammatoires) [64].

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 le radical hydroxyle et l'anion superoxyde. En plus des antioxydants naturels tels que les composés phénoliques, de nombreux travaux expérimentaux et théoriques ont été consacrés à la recherche de nouveaux antioxydants tels que les chalcones [75].

Pour évaluer l'activité anti-oxydante *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 anti-oxydantes :

- **Mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène (TAH)**



Où X est un atome d'oxygène, soufre, azote ou carbone et Y est le 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 se fait en trois étapes [75] :



III.2.3 Action sur le glutathion

Les chalcones sont des précurseurs biosynthétiques des flavonoïdes et des produits finaux associés à diverses activités biologiques [76,77]. 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⁻¹ (isoforme de l'hème oxygénase induit en réponse à divers stress).
- de déclencher la synthèse et l'exportation du GSH [78-83].

Il a été récemment rapporté l'aptitude d'une dihydroxychalcone naturelle (**Figure 15**), à induire une exportation et une augmentation des niveaux cellulaires de GSH [84]. Les chalcones pourraient donc être utilisées pour moduler les niveaux cellulaires de GSH [78].

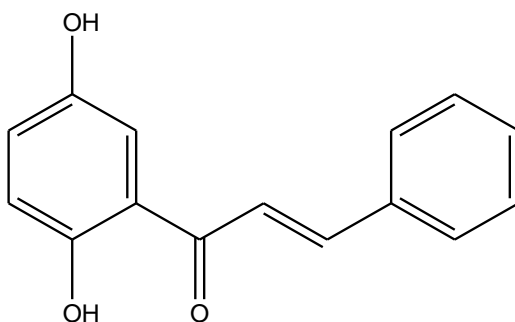


Figure 15: Structure chimique d'une dihydroxychalcone

IV. CONCEPTION DES DIAZAHÉTÉROARYL-PROPENONE ET ANALOGUES A VISEE ANTI-OXYDANTE

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.

Lesdits 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. De tels enchainements fonctionnels insaturés alpha, beta éthyléniques ont pour supports, des diaza-hétéroaryles de nature benzimidazole (**Figure 16**).

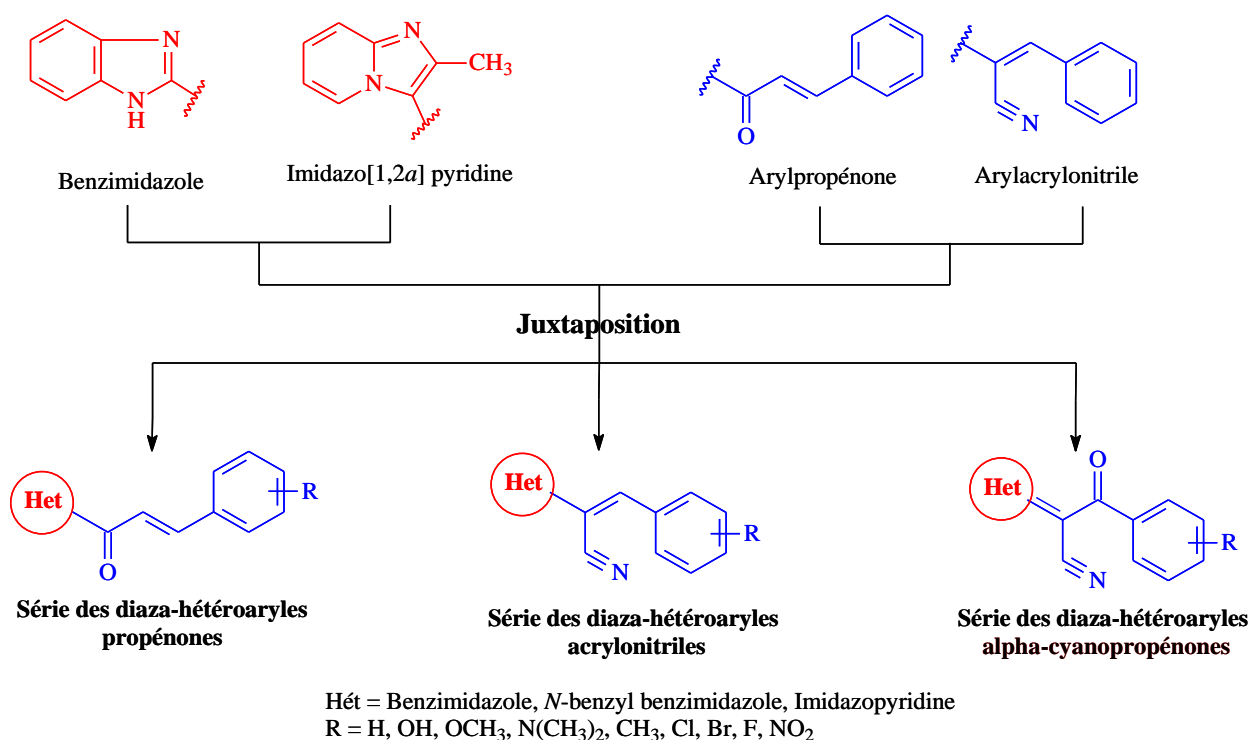


Figure 16: Conception et profil chimique des diaza-hétéroaryl arylacrylonitrile à visée anti-oxydante

Ces hybrides d'arylpropénones et analogues structuraux acrylonitriles ont été développés dans notre département pour leurs propriétés anti-infectieuses notamment anthelminthiques, antipaludiques et anticandidosiques [68, 85-88].

Compte tenu de leurs groupements fonctionnels comparables à celui des chalcones naturelles, ces derniers pourraient posséder également, des activités anti-oxydantes 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 oxydatif 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 intéressés à l'axe relatif à l'évaluation des activités anti-oxydantes des molécules suivantes :

- «benzimidazolyl-arylacrylonitriles » (**Figure 17**)
- « benzylimidazolyl-phénylpropénone » et « benzyl-benzimidazolyl phénylpropénone » (**Figure 18**)

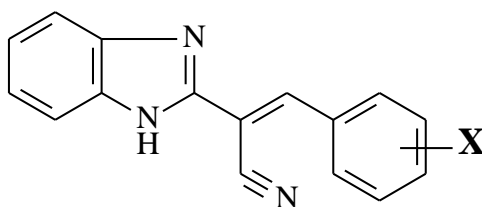
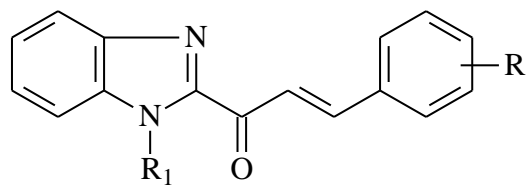


Figure 17 : Profil chimique des benzimidazolyl arylacrylonitriles à visée anti-oxydante



R₁ : H, Benzyle

Figure 18: Profil chimique des *N*-benzyl benzimidazolyl phénylpropénone et benzimidazolyl phénylpropénone à visée anti-oxydante

V METHODE DE DETERMINATION DE L'ACTIVITE ANTI OXYDANTE

Les méthodes de détermination de l'activité anti-oxydante utilisées pour les substances naturelles et les composés chimiques se répartissent en 2 groupes : les tests biologiques et les tests chimiques [29,62].

V.1 Les 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 pouvons citer :

- **Le test du Kit Radicaux Libres (KRL) :** Il évalue l'activité anti-oxydante 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 [89].
- **Le test de protection anti-oxydante à base de cellules dans les érythrocytes (PAC-e) :** Le test PAC-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 sous-produit 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 oxydatif sévère. L'activité anti-oxydante de concentration variable 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 [90].

V.2 Les tests chimiques

Les tests chimiques sont réalisés au laboratoire (*in vitro*). Pour les molécules de nature hydrophile et lipophile, les tests utilisés sont :

- Le test au 2,2– diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ;
- Le test à l'acide 2,2 –ozino –bis – 3 ethylben-zothiazoline- 6 sulfonique (ABTS) ;
- Le test Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC);
- Le test mesurant l'activité anti-oxydante au moyen de caroténoïdes ;
- Le test mesurant l'activité anti-oxydante contre le lysozyme ;
- Le test évaluant l'activité anti-oxydante par le phosphomolybdate ;
- Le test de piégeage du peroxyde d'hydrogène ;
- Le test de piégeage des radicaux hydroxyles.

Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) ne permet d'évaluer l'activité anti-oxydante que des molécules de nature hydrophile.

Parmi toutes ces méthodes spectrophotométriques, les plus utilisées sont [62] :

- Le test de l'acide 2,2 –ozino –bis – 3 ethylben-zothiazoline- 6 sulfonique (ABTS) ;
- Le test au 2,2– diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) ;
- Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) = Ferric reducing antioxydant power.

Nous donnerons dans la suite de notre travail, les principes, les interprétations, les avantages et les limites de ces principaux tests utilisés pour la détermination de ces activités anti-oxydantes.

V.2.1 Test au 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

V.2.1.1 Principe

Le test au 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 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**) [59].

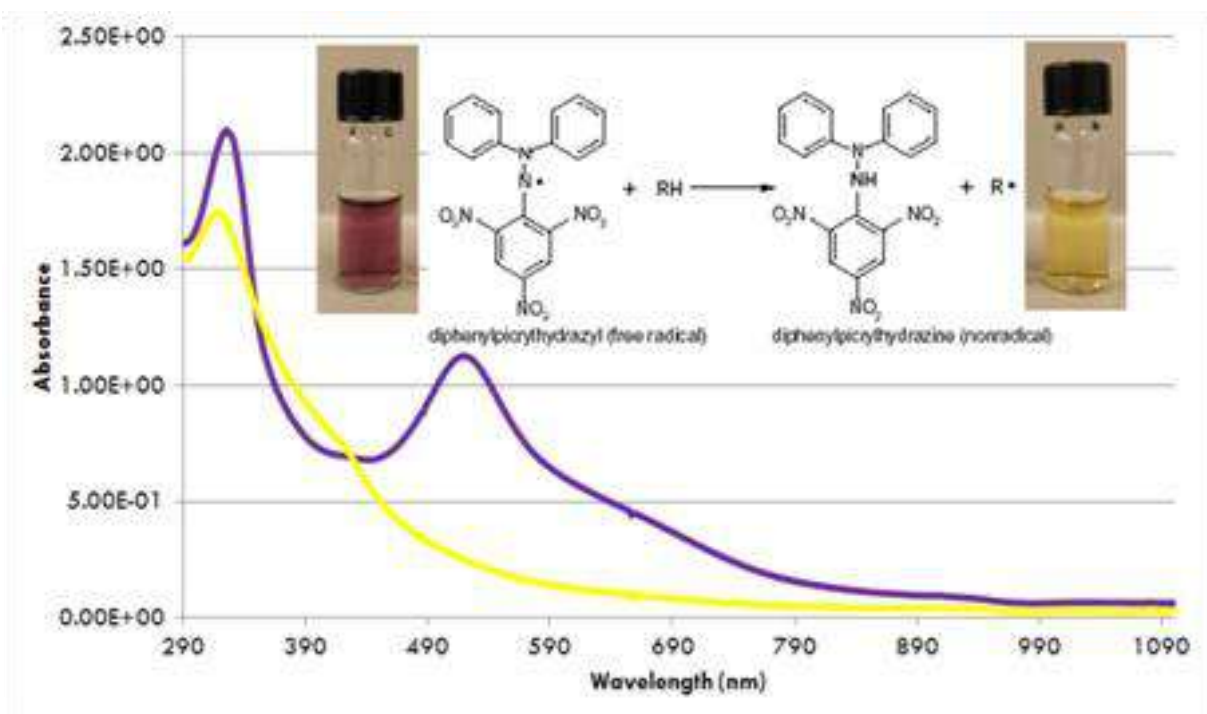


Figure 19: Spectre d'absorption du DPPH et oxydation du radical DPPH [91]

V.2.1.2. Interprétation

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

$$P = [1 - (\text{Absorbance du test} / \text{Absorbance du contrôle})] \times 100$$

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 [29].

V.2.1.3 Limites du Test

Le test au DPPH présente plusieurs limites :

- Le DPPH étant relativement stable, il peut arriver que des antioxydants normalement efficaces contre les dérivés réactifs de l'oxygène restent inertes face à celui-ci [59]. 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 le DPPH à 515 nm et interfèrent avec les résultats [92, 93]
- Le radical DPPH ne peut être dissous que dans des solvants organiques (méthanol, éthanol, acétone), ce qui constitue une limitation dans l'interprétation du rôle des antioxydants [93, 94].
- Plusieurs facteurs peuvent affecter le dosage tels que le solvant, le pH, la concentration de l'échantillon et le temps de réaction.
- Les antioxydants qui réagissent rapidement avec les radicaux peroxy *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 [95].

Quoique le test au DPPH présente ces limites, il possède également plusieurs avantages.

V.2.1.4 Avantages du test

- Le DPPH ne réagit pas avec les flavonoïdes ni avec les acides aromatiques ne contenant qu'une seule fonction alcool [96].
- Il produit des radicaux d'azote organiques stables caractérisés par une couleur pourpre foncé dans la gamme 515-520 nm [97]

V.2.2 Test de réduction du fer (FRAP) : Ferric reducing antioxidant Power

V.2.2.1 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^{3+}).

La capacité totale en antioxydants 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 $[(\text{Fe(III)}-\text{TPTZ})]$ de couleur jaune en complexe ferreux $[(\text{Fe(II)}-\text{TPTZ})]$ de couleur bleue, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron (**Figure 20**). La variation de la coloration est mesurée à 593 nm [57].

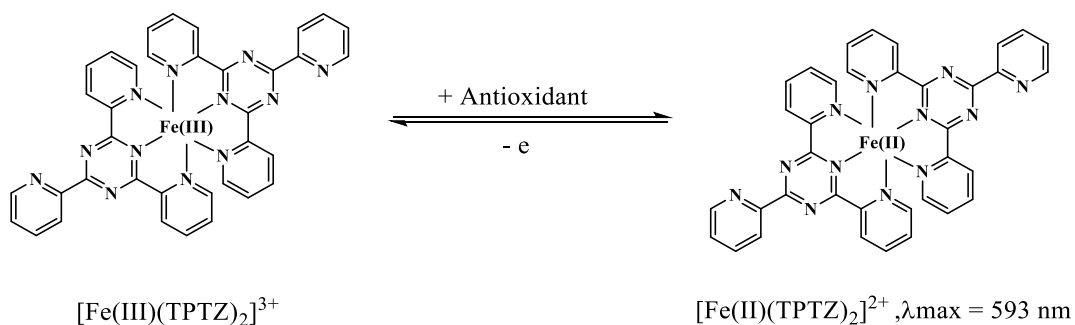


Figure 20: Réduction du complexe tripyridyltriazine ferrique en complexe ferreux

V.2.2.2 Interprétation

Le résultat obtenu après avoir testé l'extrait par la méthode FRAP sera comparé avec la vitamine C reconnue pour ses propriétés anti-oxydantes. Le paracétamol servira de témoin négatif. 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 anti-oxydante.
- Si les courbes de l'extrait et du paracétamol (témoin négatif) se superposent, l'extrait ne possède pas d'activité anti-oxydante.

V.2.2.3 Limites du Test

La méthode au FRAP présente plusieurs limites :

- Il fut montré que certains produits issus des réactions entre le révélateur et le produit testé pouvaient interférer avec la mesure d'absorbance. C'est le cas par exemple de la bilirubine qui se transforme en biliverdine lorsqu'elle est oxydée. Cette dernière absorbe à 593 nm et mène à une surestimation du potentiel réducteur de la bilirubine [59].
- Cette méthode n'implique aucun substrat oxydable, elle ne renseigne donc en rien sur la capacité du produit testé à protéger un quelconque substrat biologique contre l'oxydation [58].
- Le test FRAP 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 [98].
- Le Fe^{2+} est un «pro-oxydant» bien connu qui peut réagir avec le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) pour produire un radical hydroxyle (OH^\bullet). C'est le radical libre le plus nocif trouvé *in vivo* [93].
- Ce test détermine le pouvoir réducteur total des échantillons, cependant tous les réducteurs qui réduisent le Fe^{3+} ne sont pas des antioxydants [93,99].

- 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 le Fe^{3+} [93].

V.2.2.4 Avantages du Test

Le test FRAP présente également de nombreux avantages :

- Ce test est originellement conçu pour caractériser le potentiel antioxydant du plasma sanguin, il est aussi adéquat pour caractériser le potentiel de composés purs [59].
- C'est un test simple, rapide, peu coûteux et ne nécessitant 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 de transfert d'atome hydrogène (TAH). En combinaison avec d'autres tests, il est très utile pour distinguer les mécanismes dominants des différents antioxydants.

V.2.3. Test ORAC: Oxygen Radical Absorbance Capacity

V.2.3.1. Principe

La méthode consiste à suivre la perte de fluorescence de la fluorescéine lorsqu'elle est oxydée par les radicaux peroxydes générés à partir du 2,2'-azobis (2 – amidino – propane) (AAPH). L'activité des composés testés, traduite par un délai de la perte de fluorescence, est comparée à celle du Trolox pour obtenir un indice d'activité en équivalent Trolox ($\mu\text{mol Trolox} / \text{mg de produit testé}$), le Trolox étant la version hydrosoluble de la vitamine E [59].

V.2.3.2 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 $\mu\text{mol Trolox/ mg}$ de produit testé.

V.2.3.3 Limites du Test

Le test ORAC présente un certain nombre de limites :

- Il ne mesure que la capacité anti-oxydante contre les radicaux peroxy et hydroxyle et non contre toutes les espèces réactives de l'oxygène (par exemple les superoxydes et l'oxygène singulet) [93,100].
- 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 anti-oxydante mesurée dans un système alimentaire réel peut être incorrecte.

V.2.3.4 Avantages du Test

Les avantages du test ORAC sont multiples :

- C'est le seul test qui combine à la fois le temps d'inhibition et le degré d'inhibition des radicaux libres en une seule étape. [101,102].
- 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 anti-oxydante habituellement en combinaison avec un dosage de la teneur totale en phénol.
- Il a été appliqué pour mesurer la capacité anti-oxydante d'échantillons botaniques et biologiques [103].

- 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 peroxy et hydroxyle.
- Sa mise en œuvre est peu coûteuse et rapide.
- Cette méthode est largement utilisée.

V.2.4 Test à l'ABTS ou Acide 2,2 –ozino –bis – 3 ethylben-zothiazoline- 6 sulfonique

V.2.4.1 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 [62] :

- 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 lue à 734 nm.
- 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) est lue à 734 nm.

Les réactions qui se déroulent peuvent être de type ABTS/trans 3,3',4',5,7 – Pentahydroxyflavan (Catéchine) ou ABTS/1,3,5 trihydroxy-benzène (Phloroglucinol) (**Figure 21**)[29].

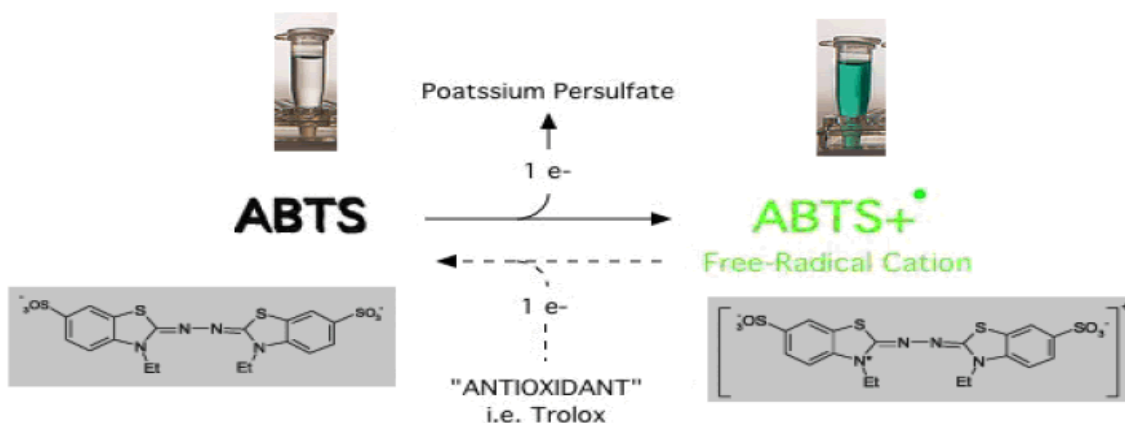


Figure 21: Réaction chimique entre l'ABTS et le radical cationique ABTS [104].

V.2.4.2 Interprétation

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

V.2.4.3 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 [101]. 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 [58,96].

Les valeurs TEAC (Capacité anti-oxydante équivalente en trolox) caractérisent la capacité d'un échantillon à réagir avec l'ABTS plutôt que d'inhiber le processus oxydatif.

Il nécessite une préparation spéciale dans laquelle le radical ABTS doit être généré par des enzymes ou par une réaction chimique [94,105].

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*.

V.2.4.4 Avantages du Test

L'ABTS présente de multiples avantages :

- C'est une méthode simple et rapide qui donne des résultats très fiables [106].
- L'ABTS peut être solubilisé dans les milieux aqueux et organiques et n'est pas affecté par la force ionique. C'est un test qui peut être utilisé pour mesurer l'activité anti-oxydante des composés hydrophiles et lipophiles [93,94].
- Il réagit rapidement avec des antioxydants dans les 30 minutes, peut être utilisé sur une large gamme de pH et peut être automatisé pour l'utilisation de microplaques.
- Les caractéristiques de ces principaux tests sont résumées dans le tableau ci-dessous (**Tableau IV page 45**).

Tableau IV: Récapitulatif des principales caractéristiques des méthodes de détermination de l'activité anti-oxydante.

TESTS	DPPH	ORAC	ABTS	FRAP
CARATERISTIQUES				
Mécanismes réactionnels	-transfert d'électron Majoritaire	-transfert de proton	-transfert d'électron et de proton	-transfert d'électron
Nature des molécules testées	-hydrophiles ou lipophiles	-lipophiles ou hydrophiles	hydrophiles ou 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 ⁺²
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 facile à mettre en œuvre - peu couteux
Inconvénients	- encombrement stérique de molécules à haut poids moléculaires - interférences possibles à 515 nm - forte dépendance au pH et au solvant - radical inexistant <i>in vivo</i>	- ne suffit pas pour juger de la qualité anti-oxydante d'un produit	- produit de dégradation antioxydant - radical inexistant <i>in vivo</i>	- pH utilisé non physiologique -interférences possibles à 595 nm
Références	(Brand-William <i>et al.</i> , 1995 Pinelo <i>et al.</i> , 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)

Deuxième 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 Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, précisément :

- Au département de Chimie Thérapeutique et Chimie organique ;
- Au département de pharmacologie, pharmacie clinique et thérapeutique, et physiologie humaine pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante de nos molécules.

Cette étude de type expérimentale s'est déroulée sur une période de 9 mois (De Juillet 2017 à Mars 2018).

II. MATERIEL

II.1 Matériel de laboratoire

- **Balance de précision**

Marque : OHAUS ADVENTURER, Belgique

Type : AX523E

Capacité maximale : 520g

Sensibilité : 0,001g

- **Bain marie**

Marque : SALVIS AG 6015, Allemagne

TYPE: SBK 25D

- **Vortex**

Marque: NEUATION, Suisse

TYPE: K-550-GE

Numéro de série : 21647

- **Micropipettes**

Marque : TRANSFERPETTE® S

Distributeur de volume BRAND : (500µL à 5mL)

Pipette à usage unique : 100 µL Marque : TRANSFERPETTE® S

- **Spectrophotomètre (Figure 22)**

- Marque : JENWAY, Angleterre

- Type : 7315

- Numéro de série : 39779



Figure 22 : Photographie du spectrophotomètre

II.2 Matériel chimique

II.2.1 Réactifs chimiques de laboratoire

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

II.2.2 Molécule de synthèse et substance anti-oxydante de référence

II.2.2.1 Molécule de synthèse

Les benzylimidazolyl-chalcone et leurs analogues acrylonitriles analogues ont été synthétisés, purifiés, caractérisés et fournis sous forme de poudre par le département de chimie et thérapeutique chimie organique de l'UFR SPB.

II.2.2.2 Modèle moléculaire

Le modèle moléculaire ou la 1,3-diphénylpropénone (**Figure 23**) a été synthétisé, caractérisé et fourni par le laboratoire de chimie thérapeutique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques d'Abidjan sous forme de poudre.

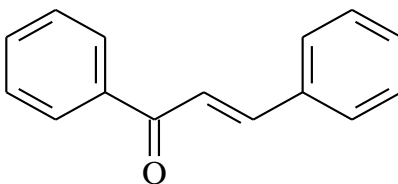


Figure 23: Structure chimique de la 1,3-diphénylpropénone

II.2.2.3 Substance anti-oxydante de référence

La substance anti-oxydante de référence utilisée est le Trolox, fourni par Sigma Aldrich. Le Trolox ou acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique (**Figure 24**), est l'analogue hydrosoluble de la vitamine E utilisé en biologie pour limiter les dommages dus au stress oxydatif.

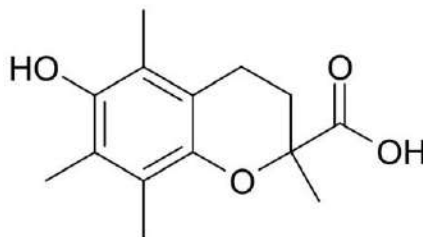


Figure 24: Structure chimique du Trolox

III- METHODE D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI-OXYDANTE

Pour notre étude, nous avons utilisé la méthode ABTS car elle permet d'étudier à la fois l'activité anti-oxydante 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 coûteuse.

III.1 Principe

L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) ou ABTS est utilisé pour évaluer les capacités anti-oxydantes de substances naturelles ou chimiques. Pour cela, il est transformé en radical cationique ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) de couleur bleue après addition avec du persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) [115].



Ce radical cationique de l'ABTS a la caractéristique de réagir avec la plupart des antioxydants en se comportant comme une substance oxydante [109]. Lors de ces réactions, il perd sa couleur bleue et devient incolore. Cette perte de coloration correspond à la puissance réductrice et donc anti-oxydante de la substance testée. Elle peut être suivie par spectrophotométrie, le pic d'absorption du radical cationique $\text{ABTS}^{\bullet+}$ étant à 734 nm [110]. Les résultats ainsi obtenus peuvent être comparés aux

capacités anti-oxydantes du Trolox, équivalent hydrophile de la vitamine E et molécule de référence pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante.

Ceci explique pourquoi cette méthode est aussi appelée capacité anti-oxydante en équivalent Trolox (Trolox equivalent antioxidant capacity : TEAC). [59, 111-113].

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 préparer 20 ml de solution à 7 mM/L

$$m = M \times C \times V \text{ (m : masse, M : Masse moléculaire, C : Concentration, V : Volume)}$$

$$M \text{ (ABTS): } 514,62 \text{ g/mol}$$

$$C: 0,007 \text{ mol/L}$$

$$m = 514,62 \text{ g/mol} \times 0,007 \text{ mol/L} \times 0,02 \text{ L}$$

$$m = 514,62 \times 7 \cdot 10^{-3} \times 2 \cdot 10^{-2}$$

$$\mathbf{m = 0,072g \text{ soit } 72mg}$$

Il s'agit donc de peser 0,072g soit 72mg de ABTS pour le dissoudre dans 20mL de méthanol ($V_f=20\text{mL}$).

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

Calcul de la masse à peser de $K_2S_2O_8$ pour préparer 20 ml de solution à 2,6 mM/L

$$m = M \times C \times V \text{ (m : masse, M : Masse moléculaire, C : Concentration, V : Volume)}$$

$$M (K_2S_2O_8): 270,322 \text{ g/mol}$$

$$C: 0,0026 \text{ mol/L}$$

$$m = 270,322 \text{ g/mol} \times 2,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L} \times 0,02 \text{ L}$$

$$m = 270,322 \times 2,6 \cdot 10^{-3} \times 2 \cdot 10^{-2}$$

$$\mathbf{m = 0,014g \text{ soit } 14mg}$$

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

- *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 pendant 16h.

Après ce temps, la solution obtenue est diluée avec 60mL de méthanol 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 µL de l'échantillon + 2500 µL 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 mesurée 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 du radical ABTS et selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage inhibition (\%)} = [(\text{Abs témoin} - \text{Abs blanc}) / (\text{Abs témoin})] \times 100$$

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

Abs blanc : l'absorbance de l'échantillon ABTS radical + Extrait / standard hydrophiles.

Il s'agit d'une méthode facile à mettre en œuvre avec une cinétique de réaction rapide. De plus, la méthode ABTS est peu coûteuse.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

I. RESULTATS

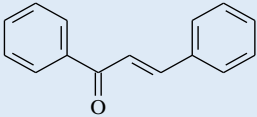
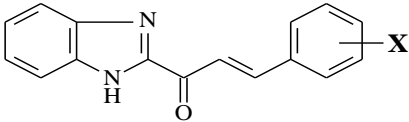
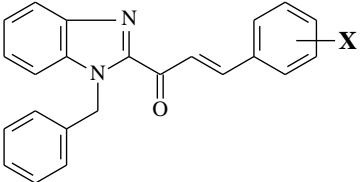
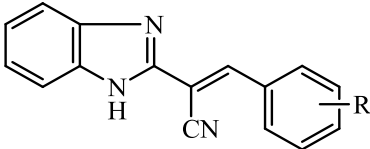
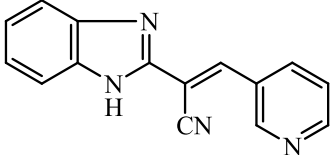
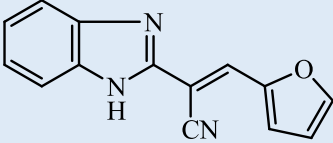
Le pouvoir antioxydant du modèle moléculaire 1,3-diphénylpropénone (chalcone), des benzylimidazolyl chalcone ainsi que de leurs analogues acrylonitriles ont été comparés à celui du Trolox utilisé comme substance de référence.

Les pourcentages moyens d'inhibition du cation radicalaire ABTS de ces composés ont été regroupés dans le **Tableau V à la page 55**.

Ces résultats montrent que :

- Le modèle **moléculaire R**, a induit une activité anti-oxydante en inhibant le radical ABTS avec un pourcentage moyen de **6,14%**.
- le **composé S1** a induit une activité anti-oxydante avec un pourcentage moyen d'inhibition de **39,26%**
- le **Trolox** utilisé comme substance de référence a présenté un pourcentage moyen d'inhibition de **99,12 %**
- les dérivés **benzylimidazolyl chalcone (T1-T4)** ont un pourcentage moyen d'inhibition compris entre **35-51%**
- les dérivés **N-Benzylimidazolyl (U1-U10)** ont un pourcentage moyen d'inhibition compris entre **7-84%**
- les **dérivés acrylonitriles (W1-W4)** ont un pourcentage moyen d'inhibition compris entre **6-25%**.

Tableau V: Pourcentages moyens d'inhibition du cation radicalaire ABTS des dérivés du benzylimidazolyl-chalcone, analogues acrylonitriles et de la substance de référence.

Composés	Structures	Pourcentages moyens d'inhibition du radical ABTS (%)
R		6,14 ± 0,3
S1		X
T1		H
T2		3-OH
T3		4-OCH ₃
T4		4-N(CH ₃) ₂
U1		4-Br
U2		H
U3		4-CH ₃
U4		2-OH
U5		3-OH
U6		3-OCH ₃
U7		4-OCH ₃
U8		4-Br
U9		4-Cl
U10		3-NO ₂
W1		4-NO ₂
W2		H
W3		4-CH ₃
W4		4-OH
W5		4-OCH ₃
W6		4-N(CH ₃) ₂
W7		4-NO ₂
W8		H
TROLOX		7,68 ± 0,1
		99,12 ± 0,1

II DISCUSSION

À la suite du criblage antioxydant du **composé R** et des **benzimidazolyl-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 relation structure-activité vise deux objectifs :

- La pertinence du concept pharmacochimique d'analogie fonctionnelle comme méthode pratique d'élaboration de molécules d'intérêt thérapeutique,
- La détermination des éléments structuraux qui concourent à l'apparition voire à l'amélioration de l'activité anti-oxydante recherchée.

II.1 Pertinence de notre stratégie pharmacochimique

La méthode pharmacochimique de conception de nouveaux candidat-médicaments par suite d'une juxtaposition d'entités bioactives [24] a permis d'édifier le **composé S1** ou benzimidazolyl-chalcone. L'évaluation des activités anti-oxydantes de ce dernier permet d'établir que l'introduction du groupement fonctionnel phénylpropénone des chalcones en position 2 de l'hétérocycle benzimidazolique (**Figure 25**), a induit des activités anti-oxydantes non négligeables.

En effet, le **composé S1**, a présenté un pourcentage d'inhibition du radical ABTS de **39,26%**. Comparativement au modèle moléculaire ou 1,3-diphénylpropénone (**PMI = 6 %**), ce composé est 6 fois plus efficace.

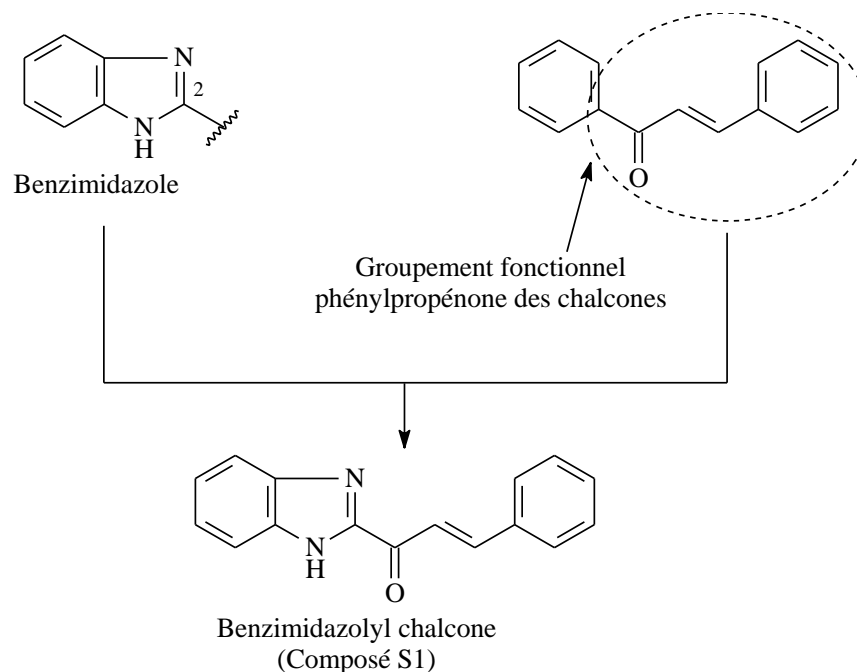


Figure 25: Conception de la benzimidazolyl-chalcone (**composé S1**)

Ce résultat corrobore les potentialités antioxydant du noyau benzimidazole et du groupement arylpropénone des chalcones. Par ailleurs, ledit résultat révèle que l'ajout du noyau benzimidazole, est indispensable à l'amélioration de l'activité antioxydante.

Au vu de cette performance anti-oxydante du **composé S1** par rapport à celle de la chalcone mais qui demeure inférieure à celle du Trolox, il était opportun d'entreprendre d'autres modulations chimiques dans le but d'améliorer son pouvoir antioxydant.

Une telle entreprise pourrait également nous permettre d'établir les éléments structuraux favorables à l'amélioration desdites activités. Pour cela, les variations structurales ont été entreprises à trois niveaux de la benzyimidazolyl chalcone (**composé S1**) à savoir (**Figure 26**) :

- 1- Autour de son homocycle benzénique par introduction de divers modulateurs
- 2- Sur l'azote pyrrolique de son noyau benzimidazole par introduction d'un groupement benzyle
- 3- Au niveau du groupement phénylpropénone en le remplaçant par un isostère de type phénylacrilonitrile.

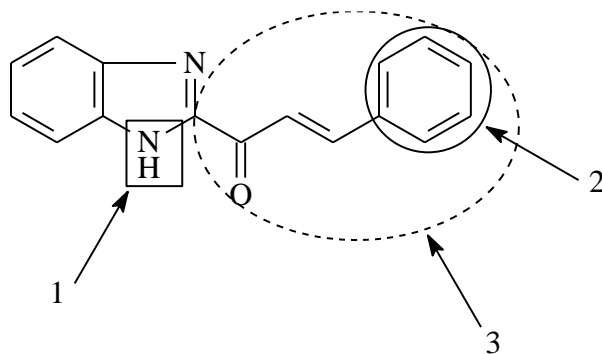


Figure 26 : Sites de modulations sur la benzimidazolyl chalcone

II.2. Eléments structuraux pour l'amélioration de l'activité anti-oxydante

II.2.1. Variations structurales entreprises autour de l'homocycle benzénique du composé S1

Ces variations structurales permettent d'établir que:

- ✓ L'introduction d'un groupement hydroxyle en position méta sur l'homocycle benzénique du **composé S1** a conduit à une diminution de son activité anti-oxydante. En effet, le pourcentage moyen d'inhibition est passé de **39,26%** à **35,07%**. Cette activité anti-oxydante bien que supérieure à celle du modèle moléculaire ou **composé R** (PMI = **6,14%**).
- ✓ La substitution de l'homocycle benzénique du **composé S1** par le méthoxyle a permis d'obtenir le **composé T2**. Cette tentative d'optimisation de l'activité

anti-oxydante a permis une légère amélioration de l'activité anti-oxydante du **composé S1**. En effet, le **composé T2** obtenu a présenté un pourcentage moyen d'inhibition (PMI = **43,97%**) supérieur à celui du **composé S1**.

- ✓ La présence d'un groupement diméthylamine en position para de l'homocycle benzénique du **composé S1** a conduit au **composé T3** qui a présenté une activité anti-oxydante de l'ordre de **39,26%**. Cette tentative d'optimisation n'a donc pas été fructueuse parce que l'activité du **composé T3** est équivalente à celle du **composé S1**.
- ✓ L'introduction d'un dérivé halogéné de type brome a permis l'obtention d'une meilleure activité anti-oxydante comparativement au **composé S1**. En effet le **composé T4** a présenté un pourcentage d'inhibition du radical d'ABTS de l'ordre de **50,31%**. Cette activité est supérieure à celle du modèle moléculaire (P moyen d'inhibition = **6%**) et est la meilleure activité de la série des benzimidazolyl-chalcones testée.

Il ressort de toutes les modulations réalisées autour de l'homocycle benzénique en série des benzimidazolyl-chalcones que l'obtention d'une bonne activité anti-oxydante est assujettie soit à :

- L'introduction d'un groupement méthoxy en position 4 : **composé T2** (PMI = **43,97%**)
- L'introduction d'un atome de brome en position en 4 : **composé T4** (PMI=**50,31%**)

Même si ces modulateurs ont permis d'atteindre une efficacité anti-oxydante supérieure à celle du **composé S1**, ils se sont avérés insuffisants vis-à-vis du pouvoir antioxydant du **Trolox**.

II.2.2. Variations structurales en série des N-benzylbenzimidazolyl chalcone

Ces variations structurales ont consistées à réaliser tour à tour à :

- ✓ bloquer l'atome d'azote pyrrolique de l'hétérocycle benzimidazolé du **composé S1** par un groupement benzyle (modulation 1, **Figure 27**),
- ✓ Introduire divers modulateurs de type électrodonneurs (alkyle, hydroxyle, méthoxyle ou halogène) ou électroattracteurs (nitro) sur l'homocycle benzénique du **composé S1** (modulation 2, **Figure 27**).

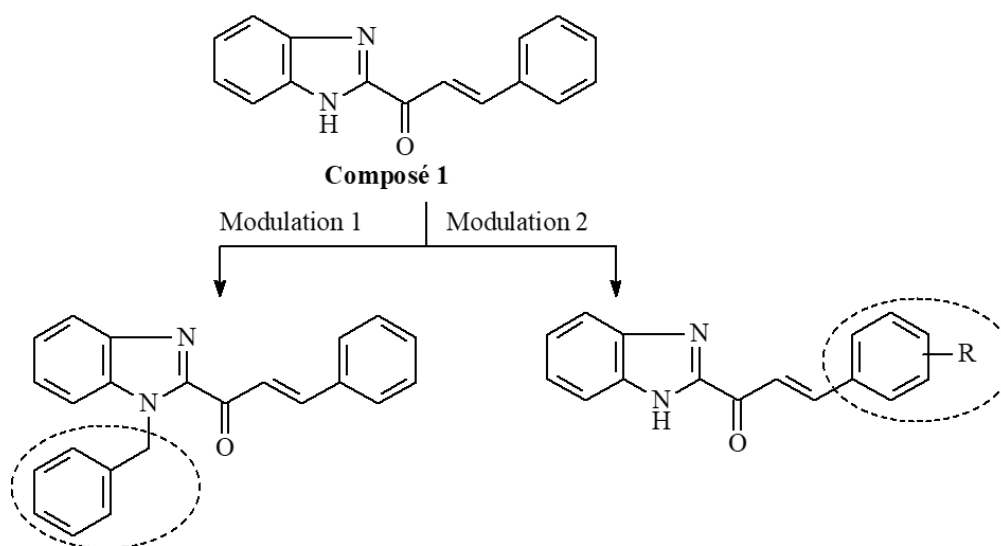


Figure 27 : Modulations réalisées autour du composé S1

Les études de relations structure activité ont permis d'établir que :

- ✓ Le blocage de l'azote pyrrolique par un groupement benzyle, conduit à une amélioration significative de l'activité anti-oxydante recherchée. En effet, le **composé U1** obtenu à la suite de cette variation structurale présente un pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS de **66,09%** supérieur à celui du **composé S1**.

En effet, le dérivé *N*-benzylé (**composé U1**) a présenté un pouvoir antioxydant 1,6 fois supérieur à celui de la benzimidazolyl-chacone mais qui reste inférieur à celui du Trolox d'où la nécessité de poursuivre les variations structurales au niveau de l'homocycle benzénique du **composé U1**.

- ✓ L'introduction d'un groupement alkyle de type méthyle en position 4 de l'homocycle benzénique (**Composé U2**) conduit à une réduction des activités anti-oxydantes. En effet, le **Composé U2** avec un pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS de **9,04%** a présenté un pouvoir antioxydant nettement inférieur à celui du **Composé U1** (pourcentage moyen d'inhibition de 66%).
- ✓ La présence d'un groupement électrodonneur de type hydroxyle en position 2 de l'homocycle benzénique (**Composé U3**) a conduit à une augmentation de l'activité anti-oxydante. Le dérivé 2-hydroxylé avec un pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS de **84,20%** a induit une performance anti-oxydante supérieure à celle du **Composé U1**. Par ailleurs, le déplacement isomérique de l'hydroxyle de la position 2 à la position 3 (**Composé U4**) conduit à une baisse du pouvoir antioxydant avec un pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS de **44,08%**.

Notons également que les **composés U3 et U4** obtenus ont présentés un meilleur pouvoir antioxydant par rapport au **composé S1**.

Ces résultats révèlent l'importance du groupement hydroxyle et de sa position isomérique dans l'amélioration des activités anti-oxydantes. Ils justifient en partie la présence des groupements hydroxyles dans la structure moléculaire de certaines substances anti-oxydantes comme le Trolox, la vitamine C.

- ✓ Le remplacement de l'hydroxyle par un groupement méthoxyle électrodonneur conduit à une baisse du pouvoir anti-oxydant pour les positions isomériques (3 et 4) sur l'homocycle benzénique. Les dérivés méthoxylés (**Composé U5** et **U6**) ont présenté respectivement un pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS de l'ordre de 8,58% et 9,00%. Cette performance anti-oxydante inférieure à celle de leurs analogues hydroxylés mais également inférieur à celle du **composé S1** montre que les groupements méthoxyles ne sont pas favorables à une amélioration des activités anti-oxydantes dans cette série des benzimidazolyl-chalcones.
- ✓ L'introduction d'atome d'halogène en position 4 de type brome (**Composé U7**) ou chlore (**Composé U8**) conduit comme précédemment à une baisse de l'activité anti-oxydante, avec des pourcentages moyens d'inhibition du cation radicalaire ABTS de l'ordre de **7,33 %**. Avec une performance 8 fois inférieure à celle du **Composé U1**, les atomes d'halogènes comme le brome et chlore ne semblent pas être de bons performeurs des activités anti-oxydantes en série des benzimidazolyl-chalcones lorsqu'ils sont en position 4.
- ✓ La présence d'un groupement électroattracteur de type nitro (NO₂) en position 3 ou 4 de l'homocycle benzénique conduit à une diminution de l'efficacité anti-oxydante. En effet, les dérivés nitrés (**Composé U9** et **U10**) avec des pourcentages moyens d'inhibition du cation radicalaire ABTS respectifs de **28,19%** et **24,35%** se sont avérés également moins performants que le **Composé U1** (pourcentage moyen d'inhibition **66,09 %**). Les groupements fortement électroattracteurs comme le nitro en position 3 ou 4 ne sont pas de bons modulateurs des performances anti-oxydants dans cette série chimique.

De l'ensemble des variations entreprises en série des *N*-benzylbenzimidazolyl chalcone, il ressort que : le blocage de l'atome d'azote pyrrolique par un groupement

benzyl doublé de l'introduction d'un groupement hydroxyle en position 2 de l'homocycle benzénique (**Composé U3**), est favorable à l'obtention d'une meilleure activité anti-oxydante. En effet, le **composé U3** (P = 84,20%) présente un meilleur pouvoir antioxydant comparativement au **composé S1** (PMI= 39%), mais reste inférieur à celui du Trolox.

II.2.3. Variations structurales entreprises autour du groupement phénylpropénone

Les pharmacomodulations entreprises autour de la phényl propénone du **composé S1** ont consisté à (**Figure 28**) :

- ✓ Remplacer la phénylpropénone par une phénylacrylonitrile
- ✓ Remplacer la phénylpropénone par une 3-pyridinylacrylonitrile
- ✓ Remplacer phénylpropénone par le noyau 2-furylacrylonitrile

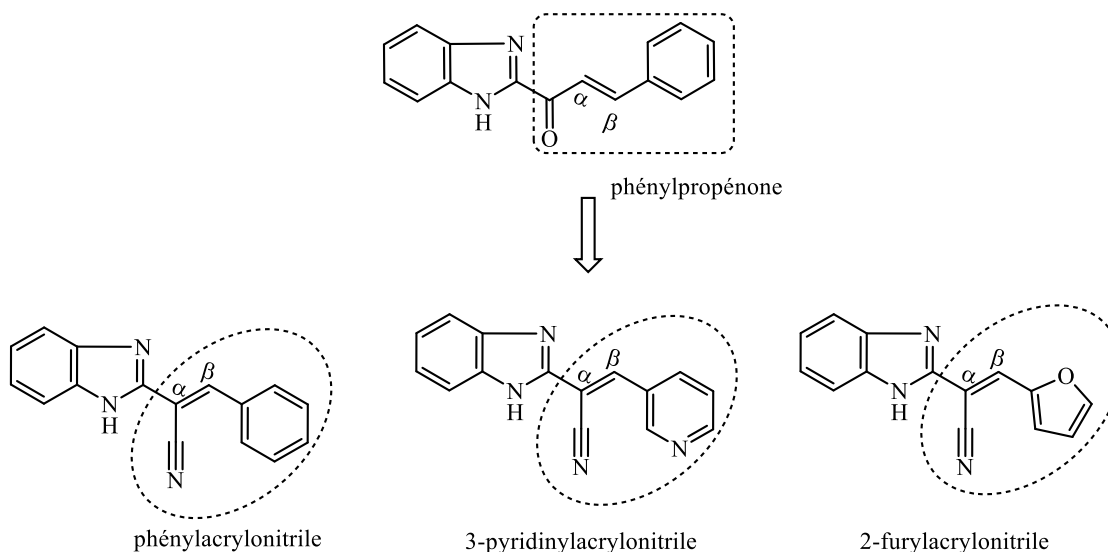


Figure 28: Isostérie des groupements fonctionnels

Ces nouvelles variations ont permis d'établir que :

- ✓ Le remplacement de la phénylpropénone du **composé S1** par la phénylacrylonitrile a conduit au **composé W1** qui a présenté un pourcentage d'inhibition du radical ABTS de **5,86%**. Cette variation n'a pas permis d'améliorer le potentiel antioxydant du **composé S1**. En effet, le pourcentage d'inhibition du cation radicalaire ABTS du **composé W1** (**PMI = 5.86%**) est inférieur au **composé S1**.
- ✓ Le remplacement de la phénylpropénone du **composé S1** par le noyau 3-pyridinylacrylonitrile a permis une augmentation de l'activité anti-oxydante de l'ordre de **25%(par rapport au composé W1)**. Cette nette amélioration de l'activité anti-oxydante s'est traduite par un pourcentage moyen d'inhibition du radical ABTS correspondant à environ 5 fois celui du **composé W1**.
- ✓ Le remplacement de la phénylpropénone du **composé S1** par le noyau 2-furylacrylonitrile nous a permis d'obtenir le **composé W8** ayant un pourcentage moyen d'inhibition du radical ABTS de **7%**. Ce pourcentage est 1,4 fois supérieur à celui du **composé W1** mais reste inférieur à celui du **composé S1**.

Nous déduisons de l'ensemble de ces trois variations autour de la phényl propénone du **composé S1**, que le meilleur pouvoir de réduction du cation radicalaire a été obtenu par la benzimidazolyl pyridinyl acrylonitrile (**composé W7**). Cependant, son pouvoir antioxydant (**PMI= 25,75%**) reste inférieur à ceux du **composé S1** et de la molécule de référence le **Trolox**.

Ainsi dans le but d'optimiser le pouvoir antioxydant en série des benzimidazolyl arylacrylonitriles, nous nous sommes proposé d'introduire divers modulateurs sur

l'homocycle benzénique du **composé W1**. Ces dernières modulations nous ont permis d'établir que :

- ✓ L'introduction d'un groupement méthyle en position 4 (**composé W2**) a conduit à une activité anti-oxydante légèrement améliorée. Cette activité de l'ordre de **9,28%** est 1,8 fois supérieure à celle du **composé W1**.
- ✓ L'introduction d'un autre groupement électrodonneur de type hydroxyle en position 4 (**composé W3**) a donné un pourcentage moyen d'inhibition du radical ABTS de **6,49%** ; à activité légèrement supérieure à celui du **composé W1**.
- ✓ La présence d'un groupement méthoxylé en position 4 (**composé W4**) a donné un pourcentage moyen d'inhibition de l'ordre de **6,84%**. Nous assistons au maintien de l'activité anti-oxydante à un niveau équivalent à celui du dérivé hydroxylé (**Composé W3**), soit une activité 1,2 fois supérieure à celle du **composé W1**.
- ✓ La para-substitution de l'homocycle benzénique du **composé S1** par un groupement électrodonneur de type *N*-diméthylamine (**composé W5**) a donné un pourcentage moyen d'inhibition de l'ordre de **8,37%**. Cette activité est en effet 1,6 fois supérieure à celle du **composé W1**.
- ✓ L'introduction d'un groupement nitro sur l'homocycle benzénique (**composé W6**) a abouti à une augmentation de l'activité anti-oxydante de l'ordre de **19,19%**. En effet, le pourcentage d'inhibition du radical ABTS est 3,8 fois supérieur à celui du **composé W1**

De toutes les modulations entreprises, en série des benzimidazolyl arylacrilonitriles il en ressort que :

- La présence du groupement phénylpropénone semble être propice à l'obtention d'une meilleure activité anti-oxydante comparativement à sa fonction bioisostère

phénylacrylonitrile.

- L'introduction de modulateurs chimiques électroattracteurs sur l'homocycle benzénique paraît être plus favorable à l'amélioration de l'activité anti-oxydante comparativement aux groupements électrodonneurs.
- Le remplacement du benzène par le noyau pyridinique a nettement amélioré l'activité anti-oxydante.
- La présence d'un hétérocycle pentagonal semble être moins propice à l'amélioration de l'activité anti-oxydante comparativement à la présence d'un hétérocycle hexagonal.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

Ce travail de thèse, s'inscrit dans le cadre de la recherche pharmacochimique de substances anti-oxydantes à structure benzimidazolyl-chalcone afin de contribuer à la lutte contre le stress oxydatif impliqué dans de nombreux processus pathologiques. Les activités anti-oxydantes des benzimidazolyl-chalcones et de leurs isostères acrylonitriles, ont été évaluées par la méthode ABTS comparativement à la chalcone et à la substance de référence (le Trolox). Au final, les études de Relations Structure Activité entreprises autour du **composé S1 (benzylimidazolyl chalcone)** ont permis d'établir que l'amélioration de son activité anti-oxydante nécessite:

- Le blocage de l'atome d'azote pyrrolique du noyau benzimidazole par le groupement benzyle (**Composé U1**)
- Le blocage de l'atome d'azote pyrrolique du noyau benzylimidazole par le groupement benzyle doublé de l'introduction d'un groupement hydroxyle en position 2 de l'homocycle benzénique du **composé S1 (Composé U3)**.
- Le maintien de l'enchainement phénylpropénone du **composé S1** doublé de l'introduction d'un groupement hydroxyl phénolique en position isomérique 2 (**Composé U3**).

En effet, son remplacement par une fonction isostère de type acrylonitrile ne permet pas d'améliorer l'activité anti-oxydante.

Ainsi pour un développement pharmacochimique ultérieur en tant que substance anti-oxydante de synthèse, nous pouvons proposer comme chef de file, le **composé U3** pour la mise au point des molécules à pouvoir antioxydant pour le traitement des effets délétères causés par le stress oxydatif. Cependant, au vu du résultat obtenu, le **composé U1** pourrait également être utilisé comme pharmacophore.

PERSPECTIVES

D'un point de vue biologique, il serait opportun de :

- Réévaluer les chalcones analysées à l'aide d'autres méthodes d'évaluation de l'activité anti-oxydante telles que la méthode FRAP, la méthode DPPH, ou la méthode ORAC afin de comparer les résultats obtenus.
- Rechercher d'autres activités pharmacologiques telles que les activités analgésiques, anti-inflammatoires sur nos molécules ;
- Évaluer la toxicité de ces hybrides de chalcones.
- Faire un balayage des modulations

REFERENCES

1. **Favier A.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. 2003 ; numéro spécial « La chimie dans les sciences médicales » 103-115.
2. **Sergeant C, Hamon C, Simonoff M, Constans J, Conri C, Peuchant C, et al.** 1998. Oxidative Stress in Cancer, AIDS and neurodegenerative diseases. Editors: L. Montagnier, R. Olivier, C. Pasquier; Marcel Dekker. Inc. New YorkBasel-Hong Kong, 409-427
3. **Delattre J.** Radicaux libres et stress oxydant : Aspects biologiques et pathologiques. Londres; Paris; New York: Tec & Doc Lavoisier; 2007. 584p.
4. **Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP** Le stress oxydant. Rev. Med. Liège. 2007; 62 (10): 628-638. .
5. **Kang DH.** Oxidative stress, DNA damage, and breast cancer. *AACN Advanced Critical Care*, 2002, vol. 13, no 4, p. 540-549.
6. **Desport JC, Couratier P.** Stress oxydant et maladies neurodégénératives. *Nutrition clinique et métabolisme*, 2002, vol. 16, no 4, p. 253-259.
7. **Yushkova YV, Chernyak EI, Gatilov YV, Vasilev VG, Morozov SV, Grigorev IA.** Synthesis, structure, antioxidant activity, and water solubility of trolox ion conjugates. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2018, 26(1), 84-92.
8. **Demetgül C, Beyazit N.** Synthesis, characterization and antioxidant activity of chitosan-chromone derivatives. *Carbohydrate polymers*. 2018 ; 181 : 812-817.
9. **Verma S, Srivastava AK, Pandey OP.** A Review on Chalcones Synthesis and their Biological Activity. *PharmaTutor*. 2018 ; 6 (2) : 22-39.
10. **Guzmán-Gutiérrez SL, Nieto-Camacho A, Castillo-Arellano JI, 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.

- 11. 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.
- 12. 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.
- 13. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2002 ; 13 (10) : 572-584.
- 14. Haraguchi, Hiroyuki, Ishikawa, Harumi, Mizutani, Kenji, et al.** Antioxidative and superoxide scavenging activities of retrochalcones in *Glycyrrhiza inflata*. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 1998;6(3): 339-347.
- 15. Anto RJ, Sukumaran K, Kuttan G, Rao MN, Subbaraju V, Kuttan R.** Anticancer and antioxidant activity of synthetic chalcones and related compounds. *Cancer let*. 1995; 97(1):33-37.
- 16. El-Husseiny WM, El-Sayed MAA, Abdel-Aziz NI, El-Azab AS. Ahmed ER, Abdel-Aziz AAM.** Synthesis, antitumour and antioxidant activities of novel α , β -unsaturated ketones and related heterocyclic analogues: EGFR inhibition and molecular modelling study. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*. 2018 ; 33 (1) : 507-518.
- 17. Kumar CS, Loh WS, Ooi CW, Quah CK, Fun HK.** Structural correlation of some heterocyclic chalcone analogues and evaluation of their antioxidant potential. *Molecules*. 2013 ; 18 (10) :11996-12011.
- 18. Kone FYM.** Thèse: Evaluation de l'activité analgésique et anti-oxydante d'une benzimidazo- para- diméthyl amine chalcone. UFR [sciences pharmaceutiques et biologiques]: Felix Houphouët Boigny. 2013.

- 19. Brin AJ.** Composition cosmétique ou pharmaceutique antiradicaux libres pour application topique. EP0629397A1. 1998 ; [Visité le 16/03/2018]. En ligne : <https://patents.google.com/patent/EP0629397B1/fr>.
- 20. Peynet J, Beaudeux J, Legrand A.** Stress oxydant et athérosclérose. In: Delattre J, Beaudeux JL, Bonnefont-Rousselot D. Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. 2005; 45-86.
- 21. 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(1-2):113-174.
- 22. Anderson D.** Radicaux libres et antioxydants. Int J Dev Neurosci. 1996 ; 18(5-6) :397-404.
- 23. Shiem H.** Etude de botanique et phytochimique : Approche biologique et pharmacologique d'opuntia ficus indica. Université des frères Mentouri et Constantine faculté des sciences de nature et de la vie, thèse de biotechnologies végétales.2015.243.
- 24. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions. 2006; 160(1): 1-40
- 25. Massion P, Preise J, Balligand JL.** Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères. Nutrition clinique et métabolisme. 2002; 16 (4): 248-252.
- 26. Machlin LJ, Bendich A.** Free radical tissue damage: protective role of antioxydant nutriments. The FASEB Journal. 1987; 1(6): 441-445.
- 27. Tamer FMD.** Free Radicals, Types, Sources and Damaging Reactions. Internal Medicine Articles. 2003. [Visité le 19/02/18]. En ligne : <https://www.doctorslounge.com/primary/articles/freeradicals/index.html>.

- 28. Pincemail J, Defraigne JD** Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène, Symposium « antioxydant et alimentation » 23/10/2004, Bruxelles : institut Danone. 23/10/2004 ; 1-2.
- 29. Zohra M.** Etude phytochimique et Activités Biologique de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud-ouest de l'Algérie; [Thèse]. Tlemcen, Algérie : Université Abou Berk Belkaid. 2013. 170 p. En ligne : <http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/2393/3/These-Mohammedi-zohra-2013.pdf>.
- 30. Chopinet MH, Lizarazu D, Rocanière C.** L'importance des phénomènes d'oxydo-réduction dans le verre. Comptes Rendus Chimie. 2002; 5(12), 939-949.
- 31. Aravodis E.** Antioxidant potential of African medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 2005; 128-133.
- 32. Harris AL.** Hypoxia-a key regulatory factor in tumor growth. Nat Rev Cancer. 2002; 2(1): 38-47.
- 33. Zou Y, Qian ZL, Li Y, Kim MM, Lee SH, Kim S.K.** Antioxidant Effects of Phlorotannins Isolated from *Ishige okamurae* in Free Radical Mediated Oxidative Systems. J Agric Food Chem. 2008 ; 56(16) :7001-7009.
- 34. Servais S.** Altérations mitochondriales 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. En ligne : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00012031/document>.
- 35. Wang Y.** Bulky DNA lesions induced by reactive oxygen species. Chem Res Toxicol. 2008; 21(2) 276-281.
- 36. Trachootham D, Alexander J, Huang P.** Targeting cancer cells by ROS mediated mechanism: a radical therapeutic approach? Nature reviews drug discovery. 2009; 8: 579–591.
- 37. Dalle-Done L, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A.** Biomarkers of oxidative damage in human disease. Clin Chem 2006; 52(4): 601-623.

- 38. Cassavaugh J, Lounsbury KM.** Hypoxia-mediated biological control. *Cell Biochem.* 2001; 112(3):735-744.
- 39. Decker EA, McClements DJ.** Lipids. In Fennema's Food Chemistry. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.2008. 4th ed.62p.
- 40. Frankel EN.** Methods to determine extent of oxidation. In *Lipid Oxidation* Dundee: The Oily Press.1998: 79–97.
- 41. 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.
- 42. Pincemail J, Bonjea K, Cayeux K, Defraigne JO,** Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme.* 2002 ; 16(4) : 233-239.
- 43. 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.
- 44. 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(1): 44-84.
- 45. Lee KW, Lee HJ.** The roles of polyphenols in cancer chemoprevention. *Biofactors,* 2006 ; 26(2), 105-121
- 46. Belkheiri N.** Dérivés phénoliques à activités Antiathérogènes [Thèse]. Université Toulouse III-Paul Sabatier.2010.244p
- 47. Kirkwood TBL.** Understanding the odd science of aging. *Cell.* 2005; 120(4):437-447.
- 48. Sohal RS, Mockett RJ, Orr WC.** Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radic Biol Med.* 1 sept 2002; 33(5):575-86
- 49. Bonnefont-Rousselot D.** Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* Sept 2002; 5(5):561-568.

- 50. Bonnefont-Rousselot D.** The role of antioxidant micronutrients in the prevention of diabetic complications. *Treat Endocrinol.* 2004; 3(1):41-52.
- 51. Christen Y.** Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr.* févr 2000;71(2):621 -629.
- 52. Hwang O.** Role of Oxidative Stress in Parkinson's disease. *Exp Neurobiol.* Mars 2013; 22(1):11-17.
- 53. Przedborski S, Donaldson D, Jakowec M, Kish SJ, Guttman M, Rosoklija G, et al.** Brain superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.*1996; 39(2):158-165.
- 54. Talbi H, Boumaza A, El-mostafa K, Talbi J, Hilali A .** Evaluation de l'activité anti-oxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanoliques et aqueux de la *Nigella sativa* L.ISSN : 2028-2508. CODEN : JMESC�. Master Environ. SCI. 6(4) (2015) 1111-1117.
- 55. Košinová P, Gažák R, Duroux JL, Lazzaroni R, Křen V, Assfeld X, et al.** Dimerisation process of silybin-type flavonolignans: insights from theory. *Chemphyschem.* 18 avr 2011; 12(6):1135-1142.
- 56. Velu SS, Buniyamin I, Ching LK, Feroz F, Noorbachha I, Gee LC, et al.** Regio- and stereoselective biomimetic synthesis of oligostilbenoid dimers from resveratrol analogues: influence of the solvent, oxidant, and substitution. *Chem Weinh Bergstr Ger.* 2008;14(36):11376-11384
- 57. Karl GL.** 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
- 58. Frankel EN, Meyer, Anne BS.** The problems of using one dimensional method to evaluate multifunctional food and biological antioxidant. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2000; 80: 1925-1941.

- 59. Huang, Ou, Prior.** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53: 1841-1856.
- 60. Hervy MP** Conséquence de la douleur non soulagée. Centre National de Ressources de lutte contre la Douleur. 2009. En ligne : <http://cnrd.fr/Consequences-de-la-douleur-non-963>.
- 61. Chavan BB, Gadekar AS, PP Mehta, PK Vawhal, Kolsure AK, Chabukswar AR** . Synthesis and medicinal of significane chalcones-A Review. *Asian journal of biomedical and pharmaceutical sciences*, 2016; 6(56):1-7.
- 62. Koné D.** Enquête ethnobotanique de six plantes maliennes: extraction, identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leurs activités anti-oxydantes. [Thèse]. Metz : Universités de Bamako et Metz. 2009 ; 188 p.
- 63. 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 Radic Biol Med*. 1997; 22(5):861-70.
- 64. Harborne JB.** The flavonoids: advances in research since 1986.london: Chapman & Hall/CRC.1993:676.
- 65. Nowakowska Z.A.** review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *Eur. J. Med. Chem* 2007; 42(2) : 125-137.
- 66. Heidari MR, Foroumadi A, Amirabadi 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.
- 67. Zhao LM, Jin HS, Sun LP, Piao HR, Quan ZS.** Synthesis and evaluation of antiplatelet activity of trihydroxychalcone derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2005; 15(22):5027-5029.

- 68. Ouattara M, Drissa S, Yavo W, Mamidou WK.** Synthèse et criblage antiplasmodial de quelques benzimidazolyl-chalcones. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* June 2015; 9(3): 1697-710.
- 69. Hua SZ, Luo JG, Wang XB, Wang JS, Kong LY,** Two novel monoterpene-chalcone conjugates isolated from the seeds of *Alpinia katsumatai*. *Bioorg. Med. Chem Lett*, 2009; 19(10): 2728-30.
- 70. Mokrini R.** Mécanismes radicalaires dans la dégradation de composés 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.
- 71. Beiler, JM, Graff M, Martin GJ.** Inhibition of liver xanthine oxidase activity in rats. *American journal of digestive diseases*. 1952, 19: 333.
- 72. 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.
- 73. James P, Kehrer** « *The Haber – Weiss reaction and mechanisms of toxicity* », *ELSEVIER*, 2000
- 74. Weiss G, Loyevsky M, Gorleuk VR.** Dexrazoxane (ICRF-187). *Gen Pharm* 1999; 32:155-8.
- 75. 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*. 2017, doi : 10.1016/j.molstruc.2017.11.118
- 76. Lawrence NJ, McGown AT.** The chemistry and biology of antimitotic chalcones and related enone systems. *Curr. Pharm. Des.* 2005, 11, 1679–1693.
- 77. Go ML, Wu X, Liu XL.** Chalcones: an update on cytotoxic and chemoprotective properties. *Curr. Med. Chem.* 2005, 12, 481–499.

- 78. Kachadourian R, Pugazhenth 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 Biol. Med.* 2011, 51, 1146–1154.
- 79. Tomecková V, Guzy J, Kusnir J, Fodor K, Mareková M, Chavková Z, et al.** Comparison of the effects of selected chalcones, dihydrochalcones and some cyclic flavonoids on mitochondrial
- 80. Foresti R, Hoque M, Monti D, Green CJ, Motterlini R.** Differential activation of heme oxygenase-1 by chalcones and rosmolic acid in endothelial cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005, 312, 686–693.
- 81. 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. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2006, 290, C1092–1099.
- 82. Sabzevari O, Galati G, Moridani MY, Siraki A, O'Brien PJ.** Molecular cytotoxic mechanisms of anticancer hydroxychalcones. *Chem.-Biol. Interact.* 2004;148:57–67.
- 83. Kachadourian R, Day BJ.** Flavonoid-induced glutathione depletion: Potential implications for cancer treatment. *Free Radical Biol. Med.* 2006, 41, 65 –76.
- 84. 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. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 16582–16587.
- 85. 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.
- 86. Ouattara M, Sissouma D, Koné MW, Yavo W.** Composés à structure imidazopyridinyl-arylpropénone, nouveaux agents anti-infectieux potentiels. *Comptes Rendus Chimie.* 2016 ; 19 (7) : 850-856.

- 87. Ouattara M, Sissouma D, Koné MW, Menan HE, Touré SA, Ouattara L.** Synthesis and anthelmintic activity of some hybrid benzimidazolyl-chalcone derivatives. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2011 ; 10 (6) : 767-775.
- 88. Sissouma D, Ouattara M, Koné MW, Menan HE, Adjou A, Ouattara L.** Synthesis and in vitro nematocidal activity of new chalcones vectorised by imidazopyridine. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011 ; 5 (18) : 2086-2093.
- 89. 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.
- 90. Jensen GS, Wu X, Patterson KM, Barnes J, Carter SG, Scherwitz L, et al.** Capacités anti-oxydantes 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. *J Agric Food Chem*. 2008 ; 56 (18): 8326-8333. doi : 10.1021 / jf8016157. PMID 18717569.
- 91. Tam J.** Nanocrystalline Cellulose: A Novel, Renewable Antioxidant. Dostupnona: http://www.odec.ca/projects/2011/tamtaj/index_files/Pagee393.html.
- 92. 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.
- 93. Karadag A, Ozcelik B, Saner S.** Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*, 2009;2(1): 41–60.
- 94. 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.

- 95. Eklund-Jonsson C, Sandberg AS, Larsson AM.** Reduction of phytate content while preserving minerals during whole grain cereal tempe fermentation. *Journal of Cereal Science*, 2006; 44(2): 154–160.
- 96. Roginsky, Vitaly, Lissi, Eduardo A.** Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, *Food Chemistry*, 2005; 92. pp. 235-254.
- 97. Locatelli M, Gindro R, Travaglia F, Coisson 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.
- 98. 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
- 99. Nilsson J, Pillai D, Onning G, Persson C, Nilsson A, Akesson B.** Comparison of the 2,2'-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and ferric reducing anti-oxidant power (FRAP) methods to assess the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2005; 49(3): 239–46.
- 100. 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.
- 101. Prior RL, Hoang H, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L, Jacob R.** 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 Chemistry*, 2003; 51(11): 3273–3279.
- 102. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins Byrne D.** 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.

103. Prior RL, Cao G. Flavonoids: Diet and Health Relationships. *Nutrition in Clinical Care*, 2000; 3(5): 279–288.

104. Sekher Pannala A, Chan TS, O'Brien PJ, Rice-Evans CA. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001; 282: 1161-1168.

105. Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 2007; 105(3):940–949.

106. 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.

107. Huang D, Boxin O, Prior RL, « The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, n° 6, 23 mars 2006, p. 1841-1856.

108. Jiri S, Marketa R, Olga K, Petr S, Vojtech J, Libuse T, et al. Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages, 2010, *Molecules* (15): 8618-8640.

109. Walker RB, Everette JD. « Comparative Reaction Rates of Various Antioxidants with ABTS Radical Cation », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57, no 4, 25 février 2009: 1156-1161

110. 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*, vol. 26, no 9-10, mai 1999, p. 1231-1237.

111. Ross L, Barclay C, Jeffrey S, Locke, MacNeil JM. Autoxidation in micelles. Synergism of vitamin C with lipid-soluble vitamin E and water-soluble Trolox », *Revue canadienne de chimie*, vol. 63, no 2, 1985: 366-374

112. Becker EM, Nissen LR, Skibsted LH. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology*, 2004; 219(6), 561-571.

113. 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.

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 causés par le stress oxydatif, l'objectif de ce travail était de contribuer à l'identification d'un « hit moléculaire » à pouvoir antioxydant à partir des Relations Structure Activité en série des benzimidazolyl-chalcones.

Matériel et méthode : Les analogues de la benzylimidazolyl-chalcone, fournis par le département de chimie thérapeutique de l'UFR SPB d'Abidjan sous forme de poudre pure, ont été préalablement obtenus par synthèse chimique totale et caractérisés par les méthodes spectroscopiques habituelles.

La recherche du pouvoir antioxydant a été réalisée par la méthode ABTS aux doses allant de 0,625 à 1mg/ml. La substance anti-oxydante de référence utilisée pour ce test est le Trolox dont le pourcentage d'inhibition de radical ABTS est de 99% à la concentration de 1mg/ml. L'identification du hit moléculaire a été déterminée à partir des Relations Structure Activité anti-oxydante des benzylimidazolyl-chalcone.

Résultats : Les variations structurales entreprises nous ont permis d'identifier les **composés U1 et U3** comme « hits moléculaires » à activité anti-oxydante. Celles-ci ont présentés respectivement, un pourcentage moyen d'inhibition de **66,09%** et **84,20%**.

Conclusion : Notre approche pharmacochimique a permis d'établir que le maintien de l'enchainement phénylpropénone associé au blocage de l'azote pyrolique du benzimidazole par un groupement benzyle pourrait constituer un pharmacophore dans l'élaboration de nouvelles molécules douées de pouvoir antioxydant.

Mots clés : Antioxydant, Méthode ABTS, Benzimidazole, Chalcone