



Année : 2017 – 2018



UFR Sciences  
Pharmaceutiques  
et Biologiques

N°1929/18

## THESE

Présentée en vue de l'obtention du  
**DIPLOME D'ETAT DE  
DOCTEUR EN PHARMACIE**

Par

**DOUGBOYOU ABRAHAM WILFRIED KAPET**

**EVALUATION PAR LA METHODE ABTS DU POUVOIR  
ANTIOXYDANT D'UNE SERIE DE BENZYL  
BENZIMIDAZOLYL-CHALCONE**

*Soutenue publiquement le 04 Juillet 2018*

### **COMPOSITION DU JURY :**

Président	: <b>Monsieur MONNET DAGUI</b> , Professeur titulaire
Directeur de thèse	: <b>Monsieur OUATTARA MAHAMA</b> , Maître de conférences agrégé
Assesseurs	: <b>Madame IRIE-N'GUESSAN G</b> , Maître de conférences agrégé <b>Madame KOUASSI AGBESSI THERESE</b> , Maître-assistante

**ADMINISTRATION ET PERSONNEL  
ENSEIGNANT DE L'UFR 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 IRIE N'guessan Amenan
Sous-Directeur Chargé de la Recherche	Professeur SAWADOGO Duni
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**

### **1. PROFESSEURS TITULAIRES**

M. ABROGOUA Danho Pascal	Pharmacie Clinique
Mmes 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 Analytique, contrôle de qualité
	MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie
	MONNET Dagui	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme	SAWADOGO Duni	Hématologie
M.	YAVO William	Parasitologie - Mycologie

## **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
Mme	SANGARE TIGORI Béatrice	Toxicologie
M.	YAPI Ange Désiré	Chimie organique, chimie thérapeutique

ZINZENDORF Nanga Yessé

Bactériologie-Virologie

### **3. MAITRES ASSISTANTS**

M.	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

#### 4. ASSISTANTS

M.	ADJAMBRI Adia Eusebé	Hématologie
	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
	TANOAH-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

## **5. CHARGES DE RECHERCHE**

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

## **6. IN MEMORIAM**

Feu KONE Moussa	Professeur Titulaire
Feu OUATTARA Lacina	Professeur Titulaire
Feu YAPO Abbé Etienne	Professeur Titulaire
Feu COMOIE Léopold	Maître de Conférences Agrégé
Feu POLNEAU-VALLEE Sandrine	Mathématiques-Statistiques

Feu GUEU Kaman	Maître Assistant
Feu ALLADOUM Nambelbaye	Assistant
Feu COULIBALY Sabali	Assistant
Feu TRAORE Moussa	Assistant
Feu YAPO Achou Pascal	Assistant

#### **IV. ENSEIGNANTS VACATAIRES**

##### **1. PROFESSEURS**

M.	DIAINE Charles	Biophysique
	OYETOLA Samuel	Chimie Minérale

##### **2. MAITRES DE CONFERENCES**

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

##### **3. MAITRE-ASSISTANT**

M.	KONKON N'Dri Gilles	Botanique, Cryptogamie
----	---------------------	------------------------

##### **4. NON UNIVERSITAIRES**

MM.	AHOUSSE 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-A	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-ATTOUNGBRE	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 Emma	Assistante
	KABLAN-KASSI Hermance	Assistante
	KABRAN Tano K. Mathieu	Assistant
	KOUAME Denis Rodrigue	Assistant
	N'GUESSAN-BLAO A. Rebecca	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
Docteur	COULIBALY Songuigama	Assistant
	KACOU Alain	Assistant
	KOUAHO Avi Radio Tanguy	Assistant
	N'GUESSAN Déto Ursul JP	Assistant
	SICA-DIAKITE Amelanh	Assistante

## **VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE**

Professeur	MENAN Eby Ignace H.	Professeur Titulaire
		Chef de Département
Professeurs	YAVO William	Professeur Titulaire
	DJOHAN Vincent	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	ANGORA Kpongbo Etienne	Maître-Assistant
	BARRO KIKI Pulchérie	Maître-Assistant

KASSI Kondo Fulgence	Maître-Assistant
KONATE Abibatou	Maître-Assistant
VANGA ABO Henriette	Maître-Assistant
MIEZAN Jean Sébastien	Assistant
TANOHO-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
	NGUESSAN Kakwokpo Clémence	Assistante
	N'GUESSAN-AMONKOU A.	Assistante
	TUO Awa	Assistante
	LIA Gnahoré José Arthur	Attaché de recherche

**VIII. PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE, CRYPTOLOGIE,**

Professeur	KONE BAMBA Diénéba	Professeur Titulaire
		Chef de Département

Docteurs	ADJOUGOUA Attoli Léopold	Maître-Assistant
	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Maître-Assistant
	ADIKO N'dri Marcelline	chargée de recherche
	AKOUBET-OUAYOGODE A.	Assistante
	ODOH Alida Edwige	Assistante

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

Professeurs	ABROGOUA Danho Pascal	Professeur Titulaire
		Chef de Département
	KOUAKOU-SIRANSY N'doua G.	Professeur Titulaire
	IRIE-N'GUESSAN Amenan G.	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	AMICHIA Attoumou M	Assistant
	BROU N'Guessan Aimé	Assistant
	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Assistant
	EFFO Kouakou Etienne	Assistant
	KAMENAN Boua Alexis	Assistant
	KOUAKOU Sylvain Landry	Assistant

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

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

## **XI. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE**

Professeur	KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire
		Chef de département
	DANO Djédjé Sébastien	Professeur Titulaire
	OGA Agbaya Stéphane	Maître de Conférences Agrégé
	KOUAKOU-SACKOU J.	Maître de Conférences Agrégé
	SANGARE-TIGORI B.	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CLAON Jean Stéphane	Maître-Assistant
	MANDA Pierre	Maître-Assistant
	DIAKITE Aissata	Maître-Assistante
	HOUNSA-ALLA Annita Emeline	Maître-Assistante
	KONAN-ATTIA Akissi Régine	Maître-Assistante
	OUATTARA N'gnôh Djénéba	Chargée de Recherche
	BEDIAKON-GOKPEYA Mariette	Assistante
	KOFFI Kouamé	Assistant
	NGBE Jean Verdier	Assistant



## **DEDICACES**

## *A L'Eternel notre Dieu*

*Toi mon appui, toi l'ami fidèle, reçois gloire, honneur et  
adoration aux siècles des siècles  
Merci infiniment pour ton soutien car sans toi, je ne serais  
jamais arrivé au terme de mon parcours académique.*

## *A mon Papa BEN*

Je remercie le Seigneur Jésus de m'avoir donné un père tel que toi. Dans ma santé fragile d'enfant tu as toujours été là pour moi. Merci papa de m'avoir guidé tout au long de mon parcours académique par tes conseils, tes mots d'encouragement et ton affection.

Papa, Dieu te bénisse et te garde

## *A ma maman VIRGINIE*

Wow quelle femme !! Quelle mère aimante !!

Hommage à toi maman pour ton dévouement à me voir réussir vaille que vaille.  
Je te suis reconnaissant maman pour ton amour, tu t'es toujours souciée de mon bien être.

Dieu te bénisse maman, merci pour tes prières et merci de m'avoir conduit à Christ dès mon plus jeune âge.

## *A mes frangins NELLY, ISAAC, ANGE*

Dieu m'a fait grâce de faire partie de la même famille que vous. Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection. Vous êtes pour moi des frangins sur qui je peux compter.

Dieu vous bénisse pour votre joie que vous savez si bien communiquer.

## *A mes oncles, cousins et tantes*

Que Dieu vous bénisse pour votre appui depuis mes années au primaire jusqu'à la soutenance de cette thèse.

## *A l'Eglise des Assemblées de Dieu, Angré Temple le Chandelier*

J'exprime ma profonde gratitude au collège Pastoral avec pour 1<sup>er</sup> responsable Le Pasteur Noufé pour le soutien spirituel et les conseils dont j'ai bénéficié pour grandir dans la foi.

Je ne pourrai oublier le grand Frère **Olivier Kouamé** et mes gigas frères **Justin Zébé, Armel Nahin, Jean Bath** ; que Dieu vous bénisse.

Remerciement spécial à la chorale Ménorah avec à sa tête le maître **Lawson**.

*A l'ensemble de la 34<sup>e</sup> promotion de l'UFR des Sciences  
Pharmaceutiques et Biologiques*

Le parcours a été difficile mais ensemble nous sommes arrivés. Merci à chacun de vous et que le Seigneur bénisse vos carrières.

*Au couple EROUBINOU*

Chers maîtres...que dis-je, chers parents, je vous suis vraiment reconnaissant pour votre appui, vos conseils et votre rigueur dans le travail. Grand merci à vous pour avoir guidé mes premiers pas de stagiaire en officine de pharmacie.

Dieu vous bénisse.

*A tous mes amis et connaissances*

Merci à vous de faire partie de ma vie. C'est aussi grâce à vous que j'y suis arrivé. Je pense à **Gilles Aleba, Hénoc Djazé, Paul Kohi et Carine Séa**

Je voudrais également remercier et féliciter spécialement :

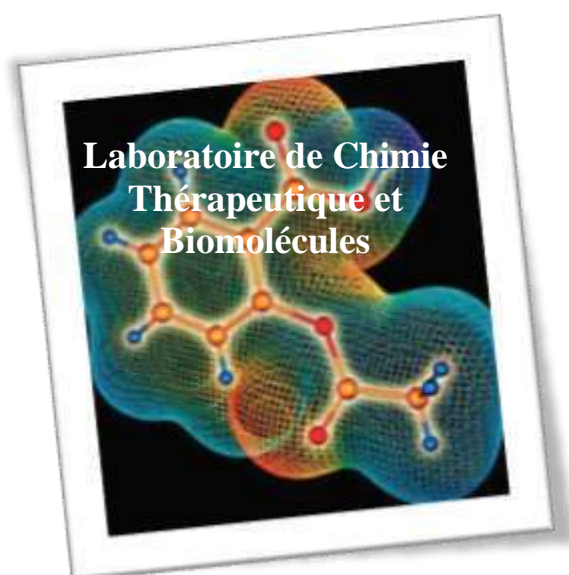
**Franck N'Guessan Kouakou, Jean louis Kikoun Ouattara et Pascaline N'Da** pour leur détermination dans le travail, leur sympathie et leur disponibilité. Que

Dieu Bénisse vos futures carrières.

*A tous ceux que je n'ai pas cités*

Ce n'est pas un oubli...je vous dédie également ce travail

## **REMERCIEMENTS**



***AU PROFESSEUR OUATTARA MAHAMA***

Je voudrais vous exprimer toute ma reconnaissance pour votre contribution à la réussite de ce travail. Votre très grande humilité, vaillance et votre quête insatiable de l'amour du savoir m'ont dirigé vers des réflexions qui m'ont permis d'assimiler davantage les composantes de ce projet. Il vous revient le mérite de nous avoir prodigué un enseignement profitable et une formation complète. Soyez assuré de mon profond respect et de ma vive reconnaissance pour m'avoir fait bénéficier de votre expérience, de votre rigueur scientifique et professionnelle.

***Aux Docteurs COULIBALY SONGUIGAMA et N'GUESSAN JEAN PAUL***

Je souhaite également souligner ma reconnaissance à l'égard du Dr N'Guessan Jean Paul et du Dr. Coulibaly pour leur temps et l'aide qu'ils m'ont apportés. Je suis certain que vous serez d'éminents chercheurs qui traverseront toute une galaxie de connaissances scientifiques dans votre carrière professionnelle. Un

grand merci au Dr Coulibaly qui s'est grandement impliqué dans la rédaction de ce travail.

**À toute l'équipe du département de chimie organique et thérapeutique.**

Merci pour votre soutien et votre collaboration.



***AU DOCTEUR KOUAKOU LANDRY***

Les remerciements sont minimes pour vous signifier toute ma gratitude pour votre intégrale implication dans ce travail. Vous m'avez initié aux techniques de la recherche scientifique ainsi qu'à l'art de la manipulation en pharmacologie expérimentale. Permettez-moi de vous rappeler que ce travail est aussi le vôtre car vous êtes pour cette thèse ce que représente la boîte noire pour un avion. Que Dieu vous accorde assez de grâce aussi bien dans votre vie professionnelle que dans la vie active. Merci et merci encore Docteur.

***A TOUT LE PERSONNEL DU LABORATOIRE DE PHARMACOLOGIE***

Grand merci à tous pour l'aide que vous m'avez apportée



## **A NOS MAITRES ET JUGES**

## **A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY**

### ***Monsieur le Professeur MONNET DAGUI***

- *Professeur Titulaire de Biochimie Clinique et Générale à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques*
- *Chef du département de Biochimie Générale à l'UFR Sciences pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan à l'Université Félix Houphouët-Boigny*
- *Chef de service de la pharmacie du CHU de Cocody*
- *Directeur du Diplôme d'Etudes Spécialisée (DES) de biologie clinique*
- *Membre de plusieurs sociétés savantes*
- *Ancien Directeur de la Pharmacie de la Santé Publique (PSP)*
- *Ancien Directeur de l'Ecole Préparatoire des Sciences de la Santé (EPSS)*

*Cher Maître,*

*Je vous remercie d'avoir accepté de présider le jury de ma thèse.*

*Je voudrais aussi vous remercier pour votre simplicité, votre disponibilité et le sens du travail bien fait qui sont pour moi aujourd'hui un exemple à suivre dans la vie professionnelle.*

**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 du Médicament et des Laboratoires de Côte d'Ivoire, chargé de l'inspection pharmaceutique.*
- *Inspecteur des Bonnes Pratiques de Fabrication et Distribution des Médicaments à usage humain,*
- *Membre du Comité technique consultatif « inspection pharmaceutique » de la cellule pour l'harmonisation de la réglementation et la coopération pharmaceutique (CHRCF) 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 (SCI France)*
- *Président de la Société Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI)*

*Cher Maître,*

*Pour vos qualités scientifiques et humaines qui font de vous un grand Maître*

*Pour m'avoir apporté votre aide à la rédaction de cette thèse,*

*Pour le temps accordé à l'accomplissement de ce travail et qui m'as permis de le mener à bien,*

*Je vous prie de trouver ici, l'expression de ma respectueuse reconnaissance ainsi que l'expression de mes remerciements, de mon infinie gratitude et de mon admiration.*

*Que Dieu vous bénisse.*

## **A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE**

***Madame le Professeur N'GUESSAN-IRIE Gèneviève***

- *Maître de Conférences Agrégé en Pharmacologie*
- *Enseignante-Chercheure en Pharmacologie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny*
- *Vice-doyen chargé de la pédagogie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Felix Houphouët-Boigny*
- *Docteur de l'Université Felix Houphouët-Boigny en Pharmacologie*
- *DES de Pharmacothérapeutique*
- *DEA de Physiologie Animale*
- *CES de Parasitologie*
- *CES d'Immunologie*
- *CES d'Hématologie-Biologie*
- *Pharmacien au Service de Pharmacie, Centre Hospitalier Universitaire de Cocody-Abidjan*
- *Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan*
- *Membre de la SOPHACI (Société Pharmaceutique de Côte d'Ivoire)*
- *Membre de la SOPHATOX-Burkina (Société de Pharmacologie et de Toxicologie du Burkina)*
- *Membre de la SFE (Société Française d'Ethnopharmacologie)*

*Chère Maître,*

*Nous vous avons toujours admirées pour votre ardeur au travail, votre simplicité et votre disponibilité.*

*Que ce travail soit pour nous l'occasion de vous témoigner notre grande admiration et notre profond respect.*

**A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE**

**Madame le Docteur KOUASSI AGBESSI THERESE**

- *Docteur en pharmacie*
- *Maître-assistante au département de Bactériologie Virologie à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques*
- *Pharmacien biologiste (CES biochimie clinique, CES hématologie, CES parasitologie, CES Bactériologie)*
- *Titulaire d'un DEA de Biologie Humaine Tropicale*
- *Responsable de l'unité de biologie à l'INHP (Institut National d'Hygiène Publique)*
- *Premier prix d'infectiologie en 1992*
- *Lauréat du concours d'internat (1989-1990)*

*Chère Maître*

*Vous avez accepté avec courtoisie ainsi qu'avec beaucoup de sympathie de juger ce travail.*

*Veillez trouver ici cher maître, l'expression de notre profond respect et notre gratitude pour votre disponibilité et votre humilité.*

*Que Dieu vous bénisse*

## SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES.....	XXX
LISTE DES TABLEAUX.....	XXXII
LISTE DES ACRONYMES.....	XXXIII
INTRODUCTION .....	1
 PREMIÈRE PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE.....	 4
 I. AGENTS OXYDANTS ET STRESS OXYDANT .....	 5
I.1. Agents oxydants .....	5
I.2. Processus d'oxydo-réduction .....	11
I.3. Stress oxydant .....	11
II. ANTIOXYDANTS .....	17
II.1. Définition .....	17
II.2. Systèmes antioxydants enzymatiques.....	18
II.3. Systèmes antioxydants non enzymatiques.....	18
III. CHALCONES ET POUVOIR ANTIOXYDANT .....	24
III.1. Chalcones : généralités .....	24
III.2. Pouvoir antioxydant des chalcones. ....	27
IV. CONCEPTION ET PROFIL CHIMIQUE DES DIAZAHETEROARYL- PROPENONE ET ANALOGUES A VISEE ANTIOXYDANTE.....	31
V. METHODES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI OXYDANTE .....	<b>Erreur !</b>
<b>Signet non défini.....</b>	<b>35</b>
V.1. Les tests biologiques.....	35

V.2. Les tests chimiques.....	36
<b>DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>Erreur !</b>
Signet non défini.	48
<b>CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
I. CADRE DE L'ETUDE .....	Erreur ! Signet non défini.
II. MATERIEL .....	Erreur ! Signet non défini.
II.1. Matériel de laboratoire.....	Erreur ! Signet non défini.
II.2. Matériel chimique .....	Erreur ! Signet non défini.
II.3. Autre matériel .....	52
III. METHODE D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	Erreur !
Signet non défini.....	52
III.1. Principe.....	Erreur ! Signet non défini.
III.2. Mode opératoire.....	Erreur ! Signet non défini.
<b>CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>57</b>
I. RESULTATS... ..	57
II. DISCUSSION .....	60
II.1. Pertinence de notre stratégie pharmacochimique .....	60
II.2. Eléments structuraux d'optimisation d'activités .....	62
<b>CONCLUSION &amp; PERSPECTIVES .....</b>	<b>66</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>69</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> Sites de production intracellulaire des ERO .....	8
<b>Figure 2 :</b> Structure chimique de la vitamine C.....	20
<b>Figure 3 :</b> Structure chimique des vitamines E.....	21
<b>Figure 4 :</b> Structure chimique d'un rétinoïde. ....	22
<b>Figure 5 :</b> Structure chimique des $\beta$ -carotènes.....	22
<b>Figure 6 :</b> Structure chimique de base des flavonoïdes.....	22
<b>Figure 7 :</b> Structure chimique du phénol. ....	23
<b>Figure 8 :</b> Structure générale d'une chalcone.....	25
<b>Figure 9 :</b> Profil chimique des chalcones et flavanones.....	25
<b>Figure 10 :</b> Différentes chalcones antioxydantes isolées à partir de <i>Glycyrrhiza inflata</i> .....	26
<b>Figure 11 :</b> Structure chimique de la Naringenine-chalcone.....	27
<b>Figure 12 :</b> Structure chimique d'une tetrahydroxychalcone. ....	27
<b>Figure 13 :</b> Structure chimique de l'Hespéridine-chalcone.....	28
<b>Figure 14 :</b> Sites de complexation des métaux par les flavonoïdes.....	28
<b>Figure 15 :</b> Structure chimique d'une dihydroxychalcone. ....	31
<b>Figure 16 :</b> Structure chimique des licochalcones B et D. ....	33
<b>Figure 17 :</b> Spectre d'absorption du DPPH et oxydation du radical DPPH.....	34
<b>Figure 18 :</b> Profil chimique général des benzimidazolyl-arylpropénones à visée antioxydante.....	35
<b>Figure 19 :</b> Spectre d'absorption du DPPH et oxydation du radical DPPH .....	38
<b>Figure 20 :</b> Réduction du complexe tripyridyltriazine ferrique en complexe ferreux. ..	40
<b>Figure 21 :</b> Réaction chimique entre l'ABTS et le radical cationique ABTS.....	44
<b>Figure 22 :</b> Photographie du spectrophotomètre utilisé. ....	50
<b>Figure 23 :</b> Structure chimique du 1,3-diphénylpropénone.....	51
<b>Figure 24 :</b> Structure chimique du Trolox. ....	52
<b>Figure 25:</b> Variation du pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction des molécules testées. ....	59



<b>Figure 26</b> : Conception de la benzimidazolyl-chalcone ( <b>composé S1</b> ). .....	61
<b>Figure 27</b> : Variations structurales entreprises autour de la benzimidazolyl-chalcone ( <b>composé S1</b> ).....	62

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Espèces réactives de l'oxygène .....	10
<b>Tableau II</b> : Antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. ....	19
<b>Tableau III</b> : Principaux antioxydants non enzymatiques exogènes et sources alimentaires associées.....	20
<b>Tableau IV</b> : récapitulatif des principales caractéristiques des méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante. ....	47
<b>Tableau V</b> : Pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS des benzyl benzimidazolyl-chalcones et des substances de référence. ....	57

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

AAPH	: 2,2'- Azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride
ABTS	: Acide 2,2 –azino –bis – 3 ethylbenzothiazoline- 6 sulfonique
ADN	: Acide Désoxyribonucléique
CAT	: Catalase
DHC	: Dihydroxychalcone
DPPH	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EDTA	: Acide éthylène diamine tétra-acétique
ERO	: Espèces réactives de l'oxygène
TPTZ	: Tripyridyltriazine ferrique
FRAP	: Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (Ferric reducing/antioxidant power)
GSH	: Glutathion réduit
GSSG	: Glutathion oxydé
TAH	: Transfert d'atome d'hydrogène
HBED	: Hydroxyphényl éthylène diamine diacétate
NADPH	: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
HO-1	: Hème oxygénase
ORAC	: Oxygen Radical Absorbance Capacity (Capacité d'Absorption des Radicaux Oxygénés)
RL	: Radicaux Libres
TES –TP	: Transfert d'un électron suivi d'un transfert de proton

# **INTRODUCTION**

Le stress oxydant est un état anormal dans lequel se trouve parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui outrepassent leurs capacités antioxydantes [1]. L'excès de radicaux libres non neutralisés par les moyens de défense de l'organisme est très dommageable pour les biomolécules essentielles [2].

Dans plusieurs maladies graves, notamment celles liées au vieillissement, le stress oxydant est le facteur déclenchant originel, c'est le cas des cancers, des pathologies oculaires (cataracte et dégénérescence maculaire) et des maladies neurodégénératives (Alzheimer) [2].

Dans de nombreuses autres maladies, le stress oxydant est secondaire à l'établissement de la pathologie, mais participe à ses complications immunitaires ou vasculaires ; c'est le cas du diabète, de la maladie de Parkinson et des maladies infectieuses comme le SIDA. [2].

Pour lutter contre les effets délétères du stress oxydant, l'organisme a recours à plusieurs systèmes endogènes de défense regroupés sous le terme de défenses antioxydantes [3]. Cependant, lorsque ces systèmes sont dépassés, il est nécessaire d'apporter à l'organisme des substances exogènes capables de neutraliser l'excès de radicaux libres résultant du stress oxydant. De plus, certains antioxydants actuellement utilisés, surtout comme additifs alimentaires notamment le Butylhydroxytoluène (B.H.T) et le Butylhydroxyanisole (B.H.A), ne sont pas dépourvus de toxicité [4]. Parmi les molécules exogènes à propriétés antioxydantes, les chalcones, précurseurs des flavonoïdes et des isoflavonoïdes constituent une alternative intéressante pour l'élaboration de molécules à pouvoir antioxydant [3]. Cet intérêt se justifie par le fait que, les chalcones ont des propriétés biologiques importantes telles que les activités : antibactérienne, fongicide, antitumorale et anti-inflammatoire [5] avec des effets indésirables moindres [6]. C'est dans ce contexte que le département de chimie thérapeutique et chimie organique de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de

l'Université FHB en collaboration avec le département de pharmacologie de la même UFR, s'intéressent à la mise au point de quelques hybrides de chalcones. Ces dernières ont montré dans un précédent travail des activités antalgiques non négligeables [7]. Dès lors, l'objectif général de ce travail est d'explorer le pouvoir antioxydant des hybrides de chalcones afin d'identifier un chef de file en série des benzyl benzimidazolyl-chalcones.

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

- ✓ Déterminer l'activité antioxydante par la méthode à l'acide 2,2 –azino – bis – 3 ethylbenzothiazoline- 6 sulfonique de la série benzyl benzimidazolyl-chalcone (ABTS).
- ✓ Etablir une corrélation entre le profil chimique des benzyl benzimidazolyl-chalcones et les activités antioxydantes obtenues, afin de sélectionner la meilleure molécule à propriété antioxydante.

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

- ✓ Dans la première partie, nous aborderons d'abord les généralités sur les agents oxydants, le stress oxydant et leur implication dans la survenue de certaines pathologies. Ensuite nous passerons en revue les antioxydants existants ainsi que les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante. Puis nous terminerons cette partie par la conception des diaza- hétéroaryl-chalcones et leurs analogues structuraux.
- ✓ Dans la seconde partie, de type expérimental, nous aborderons successivement :
  - La description du cadre et type d'étude, puis le matériel et la méthode utilisée.
  - L'analyse des résultats obtenus, suivie d'une discussion de type relation structure-activité.

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

*Première partie :*  
**REVUE DE LA LITTÉRATURE**

## **I. AGENTS OXYDANTS ET STRESS OXYDANT**

### **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 dit réduit, tandis que l'espèce chimique qui a cédé au moins un électron est dite oxydée. Parmi ces agents oxydants, l'on peut citer les radicaux libres responsables de nombreux dommages oxydatifs [8].

Dans les conditions physiologiques, l'oxygène produit des espèces réactives de l'oxygène (ERO) particulièrement toxiques pour l'intégrité cellulaire [8].

Les espèces réactives (pouvant être de nature radicalaire ou non) se divisent en deux catégories principales : d'une part les ERO et d'autre part les espèces réactives de l'azote (ERN) [8].

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 [8]. Ils jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire, la phagocytose et la communication cellulaire [9]. 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 [10-12]. Le terme de radical libre est souvent assimilé aux espèces réactives de l'oxygène (ERO).



Parmi ces espèces, un ensemble restreint de ces composés jouent un rôle particulier en physiologie. Il s'agit des radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ), le monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ), le radical peroxyde ( $ROO^{\bullet}$ ) et le radical alkoxyde ( $RO^{\bullet}$ ). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires tels que l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ), 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 [2].

### **I.1.1. Production des radicaux libres**

Il existe des voies de production des RL. Ils résultent du métabolisme de l'oxygène [10,13].

#### **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 [2].

##### **✓ Inflammation**

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

Les cellules immunitaires sont activées par des stimuli endogènes et exogènes. Cette activation s'accompagne d'une accélération de leur consommation d'oxygène 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.

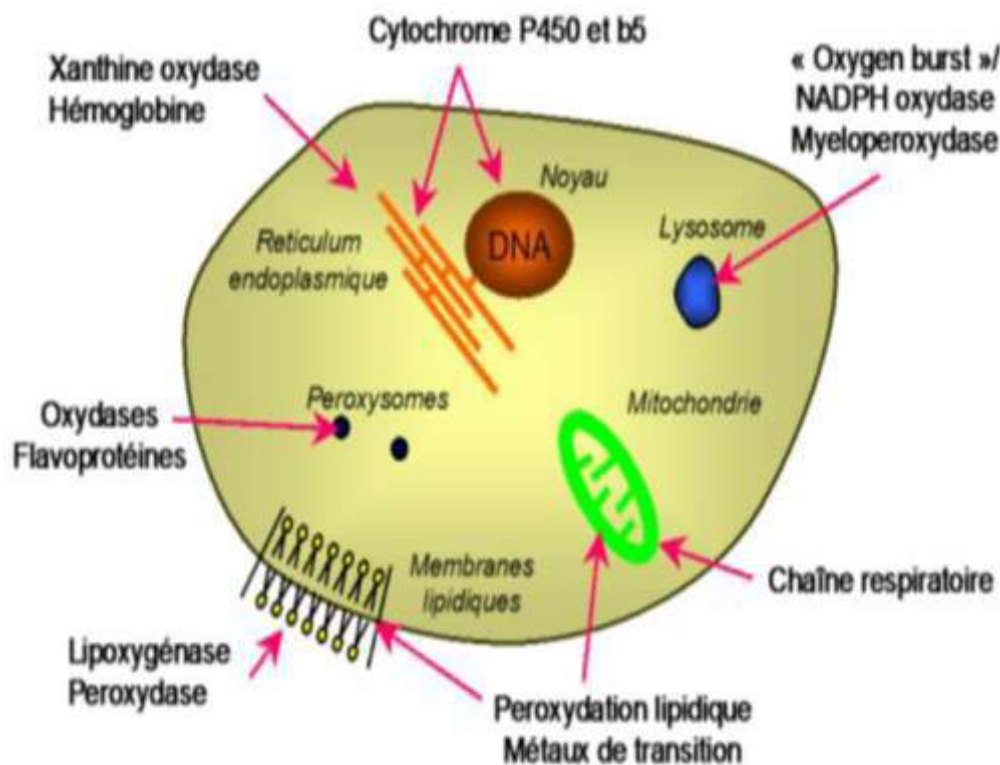
L'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène participent à la libération d'hypochlorite sous l'influence d'une enzyme leucocytaire, la myéloperoxydase [9].

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 xanthine oxydase :

- Le peroxysome est une source importante de la production cellulaire de peroxyde d'hydrogène [14].
- La xanthine oxydase produit l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et les enzymes du réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques) [3].



**Figure 1:** Sites de production intracellulaire des ERO [15].

#### 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 agents cancérigènes non génotoxiques (xénobiotiques)
- Les rayonnements UV : ceux-ci sont capables de générer des anions superoxyde ou de l'oxygène singulet. Les rayons X sont aussi capables de couper la molécule d'eau en deux radicaux par l'intermédiaire d'agents photosensibilisants [16].
- Les poussières d'amiante et de silice sont des sources des ERO [2].

- L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>) provenant des polluants industriels.

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

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

- Les fumées de combustion provenant des cigarettes, la consommation de l'alcool et l'effort physique intense sont aussi des paramètres à ne pas écarter [17].
- Les aliments riches en graisses saturées et en sucre. [6,13].

### I.1.2. Différents types d'espèces réactives de l'oxygène (Tableau I)

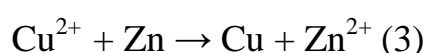
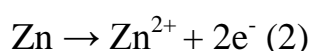
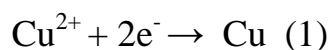
Les différents types d'espèces réactives de l'oxygène sont consignés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau I** : Espèces réactives de l'oxygène [18]

Nomenclature	Formule	Principales réactions
Superoxyde	$\text{O}_2^{\cdot-}$	Catalyseur de la réaction de Haber-Weiss par recyclage de $\text{Fe}^{2+}$ et $\text{Cu}^+$ ; formation du peroxyde d'hydrogène et peroxynitrite
Peroxyde d'hydrogène	$\text{H}_2\text{O}_2$	Formation du radical hydroxyle ; inactivation d'enzymes : oxydation de biomolécules
Radical hydroxyle	$\cdot\text{OH}$	Capture de l'hydrogène, production de radicaux libres et peroxydes lipidiques, oxydation des thiols
Ozone	$\text{O}_3$	Oxydation de biomolécules, spécialement celles contenant des doubles liaisons, formations des ozonides et des aldéhydes cytotoxiques
Oxygène singulet	$^1\text{O}_2$	Réaction avec les doubles liaisons, formations de peroxydes, décomposition des aminoacides et nucléotides
Oxyde nitrique	$\text{NO}$	Formation de peroxynitrite, réaction avec les autres radicaux
Ion peroxynitrite	$\text{NO}_3^{\cdot-}$	Formation du radical hydroxyle, oxydation des groupements thiols et aromatiques, conversion de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase, oxydation des biomolécules
Hypochlorite	$\text{ClO}^{\cdot-}$	Oxydation des groupements amine et sulfure, formation de chlore
Radical	$\text{R}^{\cdot}$	Capture de l'hydrogène, formation de radicaux peroxy et autres radicaux
Radical peroxyde	$\text{RO}_2^{\cdot}$	Capture de l'hydrogène, formation de radicaux, décomposition de lipides et autres biomolécules
Hydro peroxyde	$\text{RO}_2\text{H}$	Oxydation de biomolécules, destruction de membranes biologiques
Ions fer et cuivre	$\text{Cu}^{2+}\text{Fe}^{3+}$	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 [19] :



## **I.3. Stress oxydant**

### **I.3.1. Définition**

Le stress oxydant est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs. Ce déséquilibre a pour conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules [2,20].

### **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 [21]. Bien que les radicaux libres aient la capacité d'infliger des dommages irréversibles aux macromolécules, ils ont un rôle essentiel à jouer dans certaines fonctions biologiques telles que la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire, des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés

organiques. Toutefois, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques [22].

### **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 [23].

### **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 doubles brins de la chaîne oligonucléotidique [24]. La guanine, par exemple, peut réagir avec  $\text{OH}\cdot$  pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG). Celle-ci, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine. Cette association entraînera des mutations au sein de l'ADN et conduira à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et dans le processus du vieillissement [10].

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 la cancérogenèse [25].

### **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, principalement des aldéhydes insaturés et toxiques tels que le malon-dialdéhyde, le 4-hydroxy-2-nonénal, le 2-propénal et les isoprostanes. Ces derniers peuvent être mesurés dans le plasma et l'urine comme marqueurs indirects de stress oxydant [26].

Par ailleurs, les conséquences seront différentes :

- ✓ L'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires.
- ✓ L'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité de la membrane. Ceci une perturbation des membranes des organites cellulaires, une inactivation des enzymes membranaires et une augmentation de la perméabilité membranaire [27].

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 [28-30] :

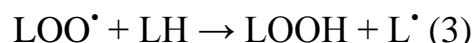
- ✓ Initiation - formation de radicaux libres,
- ✓ Propagation - réactions radicalaires en chaîne,
- ✓ Résiliation ou terminaison - formation de produits non radicaux.

La voie classique d'oxydation des lipides peut être décrite par le schéma réactionnel suivant [28-30]:

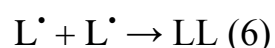
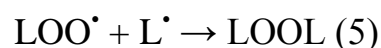
- ✓ Initiation :  $\text{LH} + \text{In}^\bullet \rightarrow \text{L}^\bullet + \text{InH} \quad (1)$



✓ Propagation :  $L^{\bullet} + O_2 \rightarrow LOO^{\bullet}$  (2)



✓ Terminaison :  $LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet} \rightarrow LOOL + O_2$  (4)



### **I.3.3. Implication du stress oxydant dans les pathologies humaines.**

De nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plusieurs pathologies humaines différentes allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, neurodégénératives et le diabète [31]. Le rôle du stress oxydant a été également évoqué même dans des processus physiologiques tel que le vieillissement [32, 33].

#### **I.3.3.1. Stress oxydant et cancer**

La carcinogénéité du stress oxydant est principalement attribuée à la génotoxicité des ERO dans les différents processus cellulaires [34].

#### **I.3.3.2. Stress oxydant 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 [35].

#### **I.3.3.3. Stress oxydant et vieillissement**

Le vieillissement s'accompagne d'une altération globale de l'ensemble des fonctions physiologiques et d'une sensibilité plus importante vis-à-vis de certaines maladies. La théorie radicalaire justifie cette altération par une accumulation de molécules oxydées [36].

Pour étayer cette théorie, de nombreux marqueurs biologiques du stress oxydant ont été observés au cours du vieillissement (8-oxo-guanine, dialdéhyde malonique, isoprostanes) [36]. Le transcriptome, ensemble des ARN issus de la transcription du génome, va permettre l'adaptation au long cours en réponse à un état cellulaire pro-oxydant. Au cours du vieillissement, le transcriptome va provoquer l'induction de plusieurs gènes codants pour des enzymes antioxydantes et la répression de gènes de la 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 [37, 38].

#### **I.3.3.4. Stress oxydant et diabète de type 2**

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

Le diabète engendre des hyperglycémies qui vont être perçues par l'organisme comme un stress oxydant [39]. Le stress oxydant est superposable à

l'hyperglycémie. Ainsi, plus la glycémie est élevée et prolongée, plus le stress oxydant est intense et donc plus l'effet sera néfaste pour l'organisme. Cela va provoquer une augmentation de la dégradation du glucose qui, par accroissement du potentiel de la membrane mitochondriale, va augmenter la synthèse de radicaux libres. Outre ce phénomène, il va se produire une inhibition de la glycéraldéhyde-3- phosphate déshydrogénase responsable de la diminution de formation du cofacteur réduit  $\text{NADPH, H}^+$  essentiel à la régulation de l'hémostase [40].

### **I.3.3.5. Stress oxydant et maladies neurodégénératives**

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

La maladie d'Alzheimer 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  $\beta$  amyloïde semble être un acteur important de la survenue de cette maladie, en effet elle est retrouvée dans les plaques séniles caractéristiques de la maladie. Elle possède un effet toxique sur les cellules neuronales [41].

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

La maladie de Parkinson touche le système nerveux central en 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 [42].

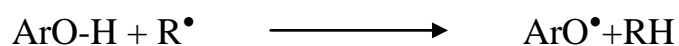
La maladie de Charcot se traduit par une dégénérescence progressive des motoneurones du cortex cérébral. Son évolution, généralement rapide, se traduit par une paralysie progressive de l'ensemble des muscles squelettiques ainsi que des muscles respiratoires. Il a été démontré que des mutations du gène codant pour la Cu, Zn-SOD ont été observées dans les formes familiales de la maladie [43].

## **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 [44].

Le radical arrache un électron à l'antioxydant et non pas aux constituants de nos cellules. Grace 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 [13]. Dans le cas des polyphénols nous avons la réaction suivante :



La stabilisation du radical  $\text{ArO}^{\bullet}$  se fera grâce à la délocalisation des électrons  $\pi$  du noyau aromatique du polyphénol ou par réaction avec un autre radical libre [45,46].

Il existe un très grand nombre de molécules antioxydantes. Elles peuvent être endogène (naturellement fabriquées par notre organisme) ou bien exogène (apportées par l'alimentation) [13, 18].

Les systèmes antioxydants se classent en systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (**Tableau II**).

## **II.2. Systèmes antioxydants enzymatiques**

Les systèmes antioxydants enzymatiques les plus efficaces [18] sont :

- ✓ Les superoxydes dismutases (SOD) qui sont des métalloprotéines dismutant l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en eau ;
- ✓ La catalase (CAT) qui réagit avec une molécule de peroxyde d'hydrogène générant de l'eau et l'oxygène;
- ✓ Le glutathion peroxydase (GP<sub>x</sub>) qui réduit le peroxyde d'hydrogène en eau en oxydant le glutathion (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 [2].

## **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 [47].

- ✓ Les formes oxydée et réduite de l'acide lipoïque, grâce à leurs groupements thiols, sont capables de piéger les espèces réactives suivantes : HO•, RO<sub>2</sub>•, HOCl et l'<sup>1</sup>O<sub>2</sub> [48].
- ✓ L'acide urique qui possède des propriétés antioxydantes contre HO• et RO<sub>2</sub>•, tout comme la bilirubine, les mélanines et la mélatonine [9,49].

**Tableau II** : Antioxydants enzymatiques et non enzymatiques [17].

Antioxydant	Phase	Action
Superoxyde dismutase (SOD)	Hydrophile	Dismute d'O <sub>2</sub> <sup>*</sup> en H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> et O <sub>2</sub>
Catalase	Hydrophile	Dismute d' H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en H <sub>2</sub> O et O <sub>2</sub>
Glutathion peroxydase (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 <sup>1</sup> O <sub>2</sub>
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)

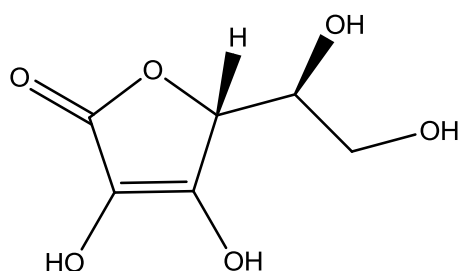
**Tableau III:** Principaux antioxydants non enzymatiques exogènes et sources alimentaires associées [18].

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

Les antioxydants chimiques exogènes comprennent les vitamines C et E [50], les caroténoïdes, les composés phénoliques et les oligo-éléments [13].

**La Vitamine C (Figure 2)** ou acide ascorbique est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E.

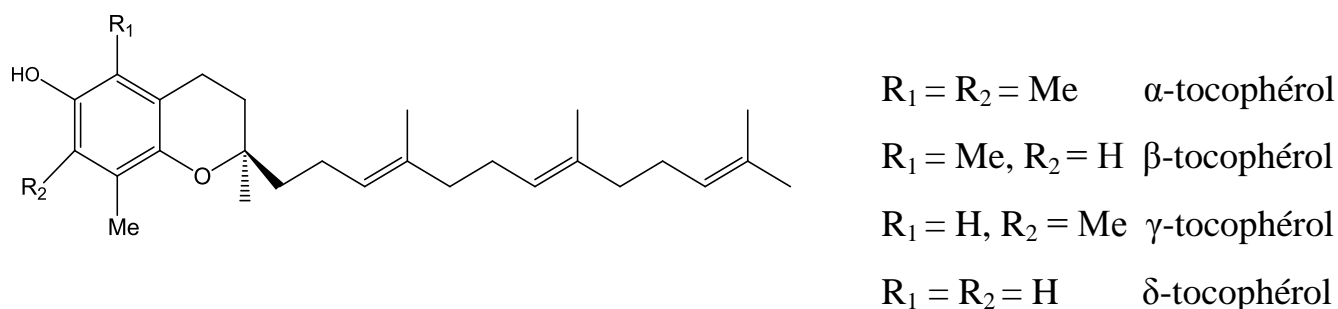
Elle empêche l'oxydation des lipoprotéines (LDL) et assure le piégeage des ERO produites par divers systèmes pro-oxydants : polynucléaires neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydases [10,51].



**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, mais ils jouent surtout des rôles physiologiques importants chez l'homme. Ils servent comme protecteurs des structures membranaires et des lipoprotéines en luttant contre le stress oxydant. Aussi, la vitamine E prévient l'apparition d'hydropéroxydes en piégeant les radicaux  $\text{LOO}\cdot$  [10].

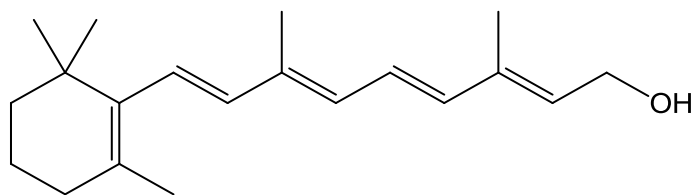
De plus, il faut noter que la vitamine C associée à la vitamine E régénère la forme réduite de l' $\alpha$ -tocophérol par une réaction de transfert d'hydrogène [10].



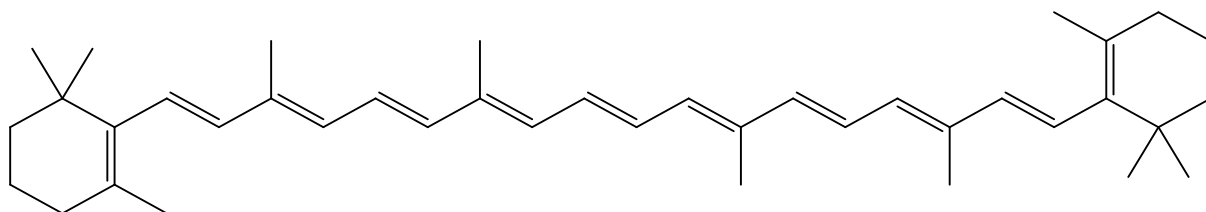
**Figure 3 :** Structure chimique des vitamines E.

**Les caroténoïdes** notamment **le rétinol (Figure 4)** et **le  $\beta$ -carotène (Figure 5)** : sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles. L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux  $\text{ROO}\cdot$ ,  $\text{HO}\cdot$ ,  $\text{O}_2\cdot^-$ ,  $\text{R}\cdot$  par simple addition électrophile et transfert d'électron. Ils protègent les lipides membranaires contre les radicaux en neutralisant l'oxygène singulet [14].



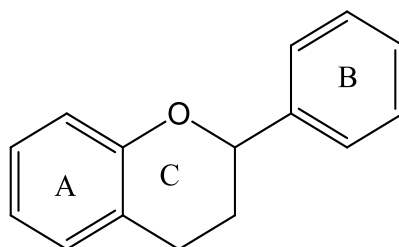


**Figure 4** : Structure chimique d'un rétinoïde.



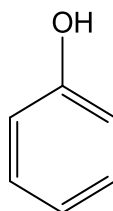
**Figure 5** : Structure chimique des β-carotènes.

**Les flavonoïdes (Figure 6)** sont des métabolites secondaires des plantes, caractérisées par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane. Leur capacité antioxydante réside dans leur aptitude à neutraliser les radicaux libres par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique. De façon générale, l'activité biologique des flavonoïdes est fortement dépendante de la nature et de la position des substituants, en particulier le nombre des groupements hydroxyles [52].



**Figure 6** : Structure chimique de base des flavonoïdes.

**Les composés phénoliques (Figure 7)** constituent une classe de métabolites secondaires. Leur structure comporte 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 [53]. En effet les ERO sont produits abondamment par réduction d'O<sub>2</sub> par Fe<sup>2+</sup> ou Cu<sup>+</sup> aboutissant à la formation de superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de radical hydroxyle (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 antioxydant appelée le glutathion peroxydase. De même que le sélénium est capable d'interagir dans l'organisme avec de nombreux métaux (As, Pb, Hg, Cd), il est de ce fait susceptible de moduler leurs toxicités. Il est responsable des effets anticancéreux et antiviellissement [13,18].

**Le zinc** joue un rôle important dans la prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres ; le zinc est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il protège également les groupements thiols des protéines et il peut inhiber les réactions de formation d'ERO induites par des métaux de transition comme le fer ou le cuivre. Le rapport Cu / Zn, (normalement inférieur à 1,5) sera un excellent indicateur de l'état de stress oxydant d'un individu. Les aliments les plus riches

en zinc sont les viandes et les poissons, les céréales complètes et les légumes secs; les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 20 mg [10].

**Le cuivre** à concentration physiologique, est le cofacteur d'enzymes comme la super-oxyde dismutase (SOD). Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement de 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].

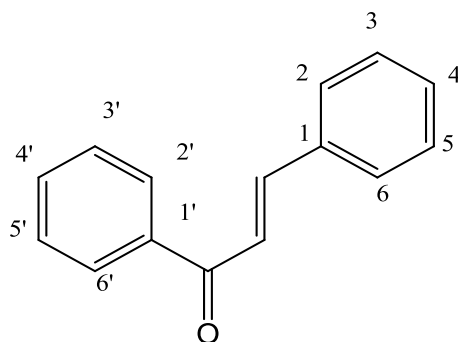
### **III. CHALCONES ET POUVOIR ANTIOXYDANT**

#### **III.1. Chalcones : généralités**

##### **III.1.1. Définition et propriétés biologiques**

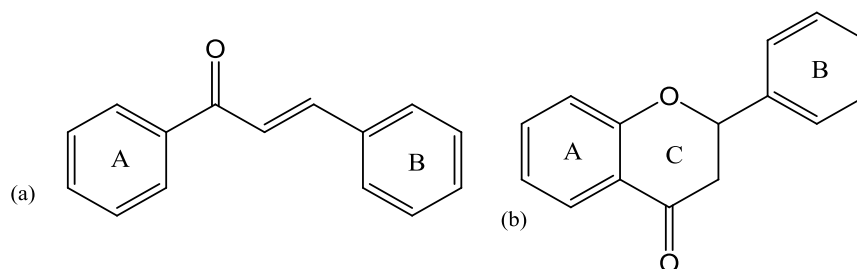
Les chalcones sont des énones aromatiques (**Figure 8**) qui appartiennent à la famille des flavonoïdes, elles peuvent exister sous forme de deux stéréoisomères *Z* et *E*, dont les stéréoisomères *E* sont les plus abondantes. Les chalcones ont des propriétés biologiques importantes telles que les activités [54]: antibactérienne, fongicide, antitumorale et anti-inflammatoire, de plus, elles sont des précurseurs dans la synthèse des flavonoïdes.

Les chalcones et les dihydrochalcones ont été étudiées pour leurs propriétés anticancéreuses [55], anti-inflammatoires [56], antioxydantes [57], analgésiques [57], antimicrobiennes [56], antiparasitaires [56], antiagrégants plaquettaires [58] et antiplasmodiales [59].



**Figure 8 :** Structure générale d'une chalcone.

Les chalcones et 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 (**9b**), insaturée (saturée dans le cas des dihydrochalcones (**9b**)). Les cycles A et B sont équivalents aux cycles A et B des autres flavonoïdes (**Figure 9**)



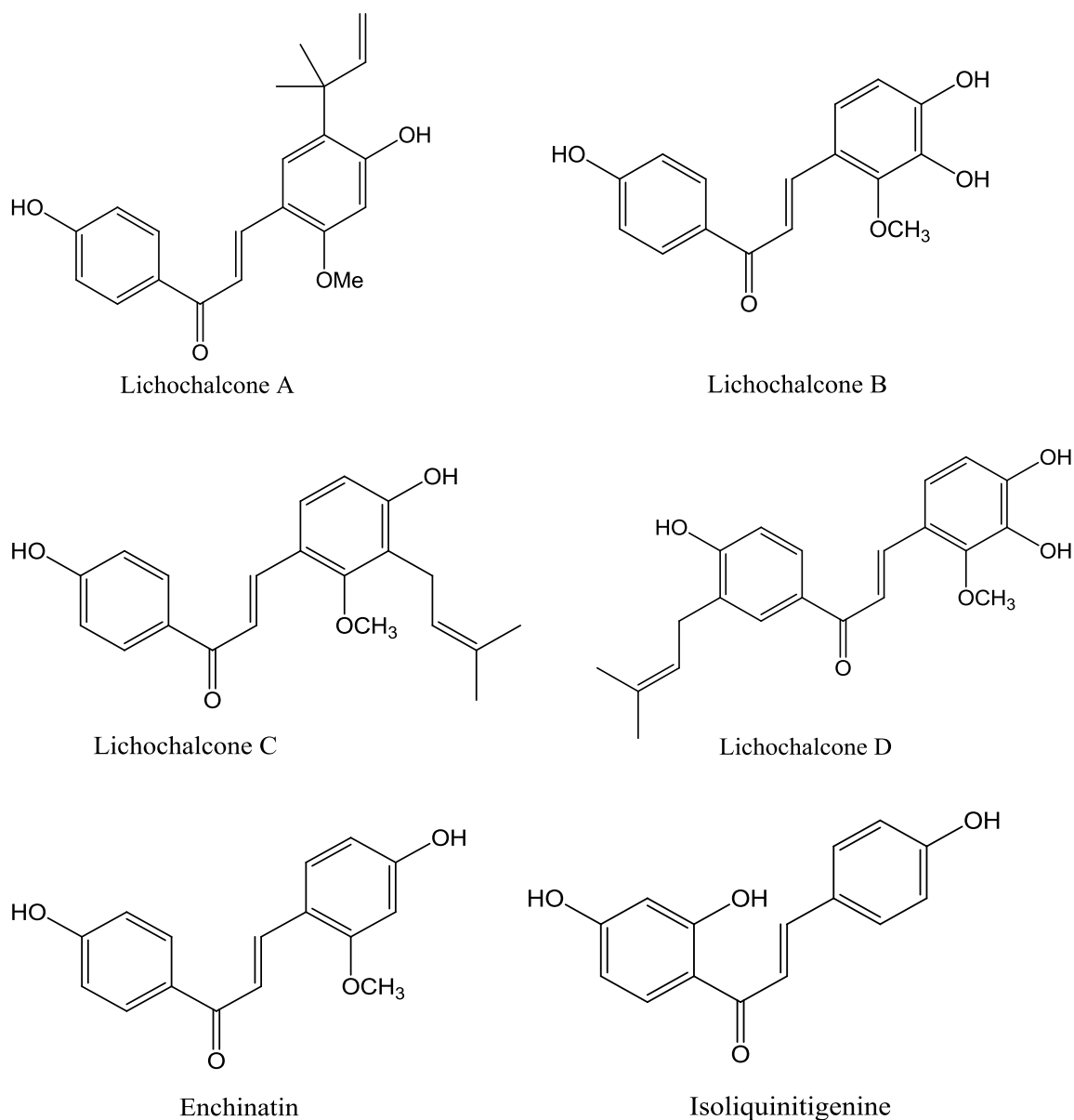
**Figure 9 :** Profil chimique des chalcones et flavanones.

La présence d'une double liaison conjuguée confère aux chalcones une couleur jaune, par contre les dihydrochalcones sont généralement incolores. La configuration de la double liaison est généralement de type E dans les chalcones naturelles [59]. 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, les chalcones naturelles possédant des activités antioxydantes ont été isolées des racines de *Glycyrrhiza inflata* (Fabaceae) [60]. **(Figure 10)** ; d'autres possédant des activités antiémétiques ont été isolées à partir des graines de *l'Alpinia katsumadai* (Zingiberaceae) [60, 61].



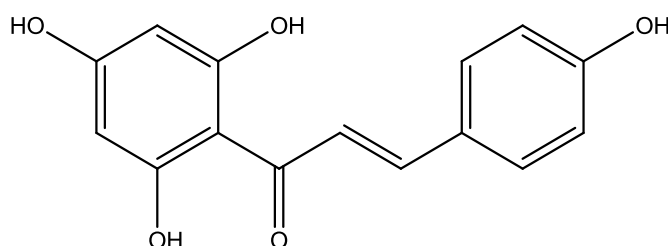
**Figure 10** : Différentes chalcones antioxydantes isolées à partir de *Glycyrrhiza inflata* (Fabaceae) [60].

### III.2. Pouvoir antioxydant des chalcones.

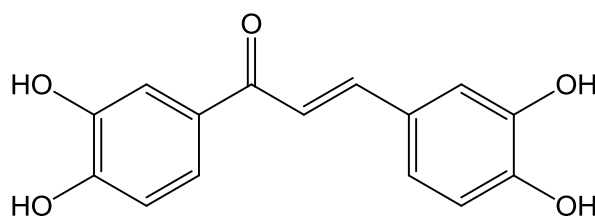
Le pouvoir antioxydant des chalcones s'exprime selon divers mécanismes :

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

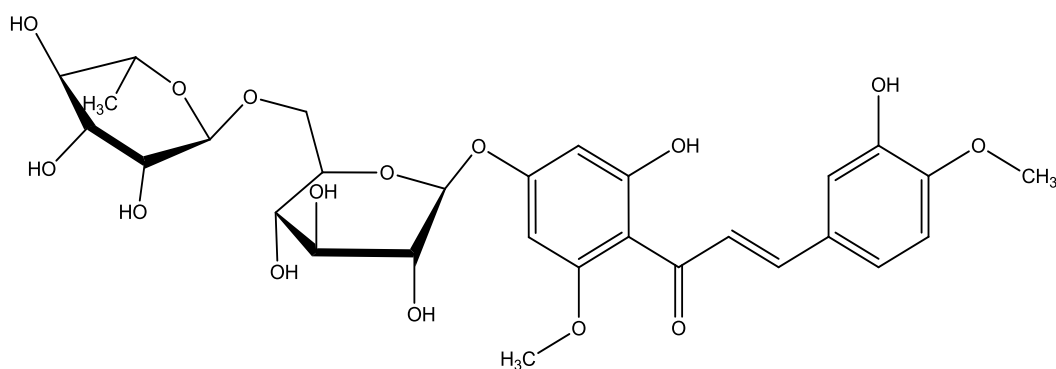
Ces mécanismes permettent d'attester les propriétés antioxydantes de diverses chalcones [62]. Ainsi, la naringénine-chalcone (**Figure 11**), la tétrahydroxychalcone (**Figure 12**) et l'hesperidine-chalcone (**Figure 13**) ont montré des activités inhibitrices vis-à-vis de la xanthine oxydase qui est 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 [62,63].



**Figure 11 :** Structure chimique de la naringénine-chalcone.



**Figure 12 :** Structure chimique d'une tétrahydroxychalcone.



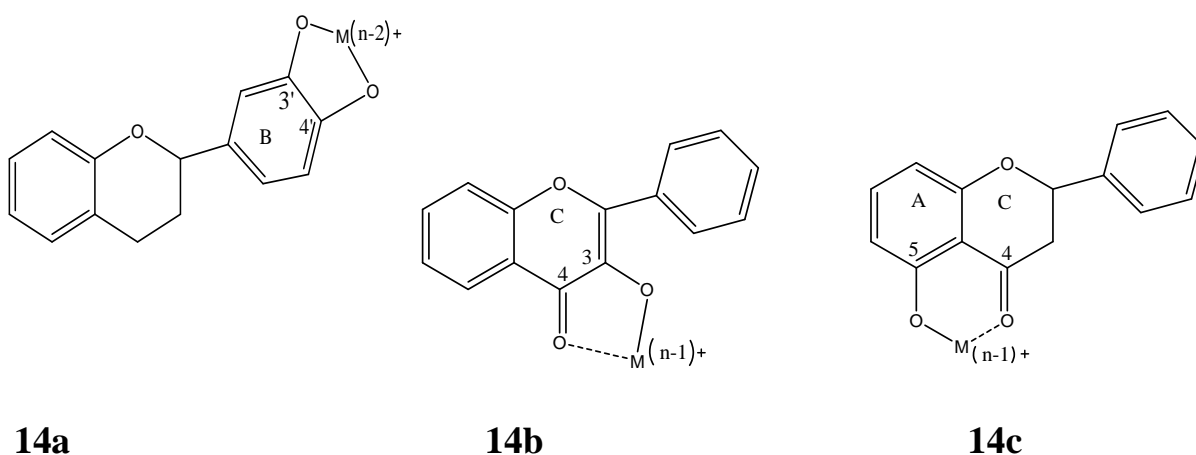
**Figure 13 :** Structure chimique de l'hésperidine-chalcone.

### 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, en l'occurrence les flavonoïdes.

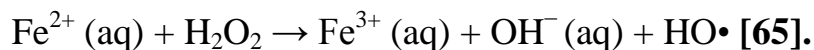
Ils présentent différents points de fixation des ions de transition (**Figure 14**) :

- ✓ Les groupements hydroxyles en position 3', 4' du cycle B (**14a**),
- ✓ Entre la fonction cétonique en 4 et l'hydroxyle en 3 du cycle C (**14b**)
- ✓ Ou la fonction cétonique en 4 du cycle C et l'hydroxyle en 5 du cycle A (**14c**) [64].



**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 antioxydante. Ce rôle est naturellement rempli par des protéines telles que la transferrine (qui lie le fer) et la céruloplasmine (qui lie le cuivre). Certains métabolites comme le citrate peuvent aussi fixer les métaux. Les chélateurs de métaux emprisonnent un des acteurs indispensables à la réaction de Fenton, à savoir le métal, notamment  $\text{Fe}^{2+}$  ou  $\text{Fe}^{3+}$  (précurseur du  $\text{Fe}^{2+}$  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 oxydant tel que :

- ✓ La desferrioxamine
- ✓ L'hydroxyphényl éthylène diamine diacétate (l'HBED) analogue de l'éthylène diamine tétra-acétate (l'EDTA)
- ✓ Le Pyridoxal isonicotinyl hydrazone (PIH),
- ✓ La dexrazoxane est une bisdioxopiperazine qui est dotée de propriétés à la fois chélatrices du fer et antioxydantes [66].



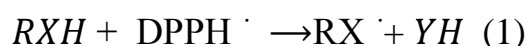
### III.2.2. Activités sur les radicaux libres

Les chalcones sont des précurseurs des flavonoïdes avec une large gamme d'applications biologiques (agents anticancéreux, antifongiques, antibactériens et anti-inflammatoires) [54].

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 efforts expérimentaux et théoriques ont été consacrés à la recherche de nouveaux antioxydants tels que les chalcones [67].

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

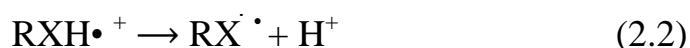
#### ✓ Mécanisme de transfert d'atome d'hydrogène (TAH)



Où X est un atome d'oxygène, de soufre, d'azote ou de 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 s'effectue en trois étapes [67]:



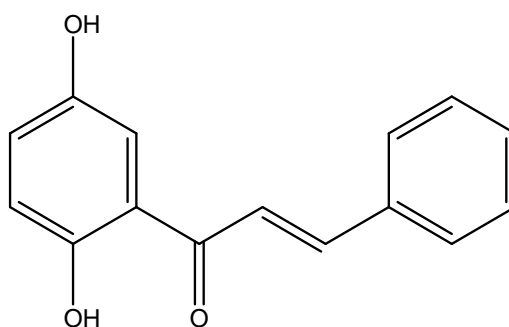
### III.2.3. Action sur le glutathion

Les chalcones sont des précurseurs biosynthétiques des flavonoïdes et des produits finaux associés à diverses activités biologiques [68,69]. Les chalcones sont capables :

- ✓ D'inhiber la synthèse de l'oxyde nitrique synthase inductible (enzyme responsable de la synthèse de l'oxyde nitrique)
- ✓ D'induire l'expression de l'hème oxygénase HO<sup>-1</sup> (isoforme de l'hème oxygénase induit en réponse à divers stress)
- ✓ De déclencher la synthèse et l'exportation du GSH [70,71-75].

Il a été récemment rapporté l'aptitude d'une dihydroxychalcone naturelle (**Figure 15**) à induire une exportation et une augmentation des niveaux cellulaires de glutathion (GSH) [76].

Les chalcones pourraient donc être utilisées pour moduler les niveaux cellulaires de GSH [70].



**Figure 15** : Structure chimique d'une dihydroxychalcone.

## IV. CONCEPTION DES DIAZA-HETEROARYL-PROPENONES ET ANALOGUES A VISEE ANTIOXYDANTES.

Depuis quelques années se développe dans le milieu des sciences biologiques et médicales le concept du « stress oxydant », qui serait à l'origine de plusieurs

maladies qui apparaissent avec l'âge telles que le diabète, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires [2]

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 [77].

Par ailleurs, même si le stress oxydant n'est pas la seule cause de ces maladies, il jouerait un rôle d'amplificateur dans les processus pathologiques déjà enclenchés de certaines maladies [2, 36].

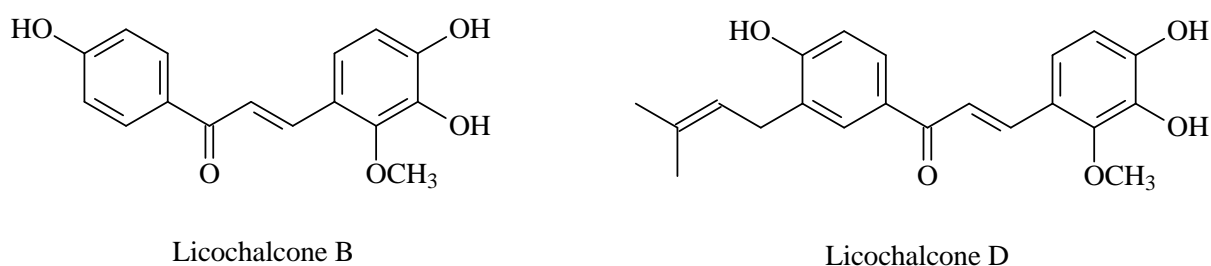
En effet, avec le vieillissement, les systèmes de défense antioxydante naturelle sont de moins en moins performants alors que la production de radicaux libres issus du stress oxydant, augmente. Ainsi il existerait une corrélation étroite entre l'apparition de certains cancers et le stress oxydant du fait des dommages qu'il engendre sur l'ADN, dommages qui seraient propices à la prolifération des cellules malignes. [10, 78].

Parmi les nombreuses substances antioxydantes qui ont été testées chez l'homme, seule la vitamine E en association avec un antiglutamate, le riluzole, aurait un effet favorable sur les maladies neurodégénératives [79].

Ainsi, malgré la bonne connaissance des phénomènes et mécanismes impliqués dans l'apparition du stress oxydant et de ses conséquences sur la santé, aucun médicament à notre connaissance, n'a été mis au point à ce jour en tant qu'antioxydant pur utilisé en thérapeutique. Dès lors, la recherche d'agents antioxydants capables de neutraliser les radicaux libres impliqués dans le stress oxydant et plus largement dans les processus de vieillissement cellulaire, est devenue un axe de recherche majeur de chimie médicinale [80, 81].

Parmi les composés à forte potentialité antioxydante, figurent les chalcones ou 1,3-diphénylpropénones. En effet, qu'elles soient d'origine naturelle ou non, qu'elles soient acycliques ou cycliques (flavones), les chalcones sont reconnues posséder des propriétés notamment anti-inflammatoires et antioxydantes [82-86].

Parmi les chalcones naturelles, ont été rapportées les activités antioxydantes des Licochalcones B et D (**Figure 16**) isolées de *Glycyrrhiza inflata* (Fabaceae). Ces dernières agiraient d'une part par inhibition du système enzymatique xanthine / xanthine oxydase impliqué dans la production d'anions superoxydes et d'autre part par un piégeage direct du radical  $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyle (DPPH) [60].

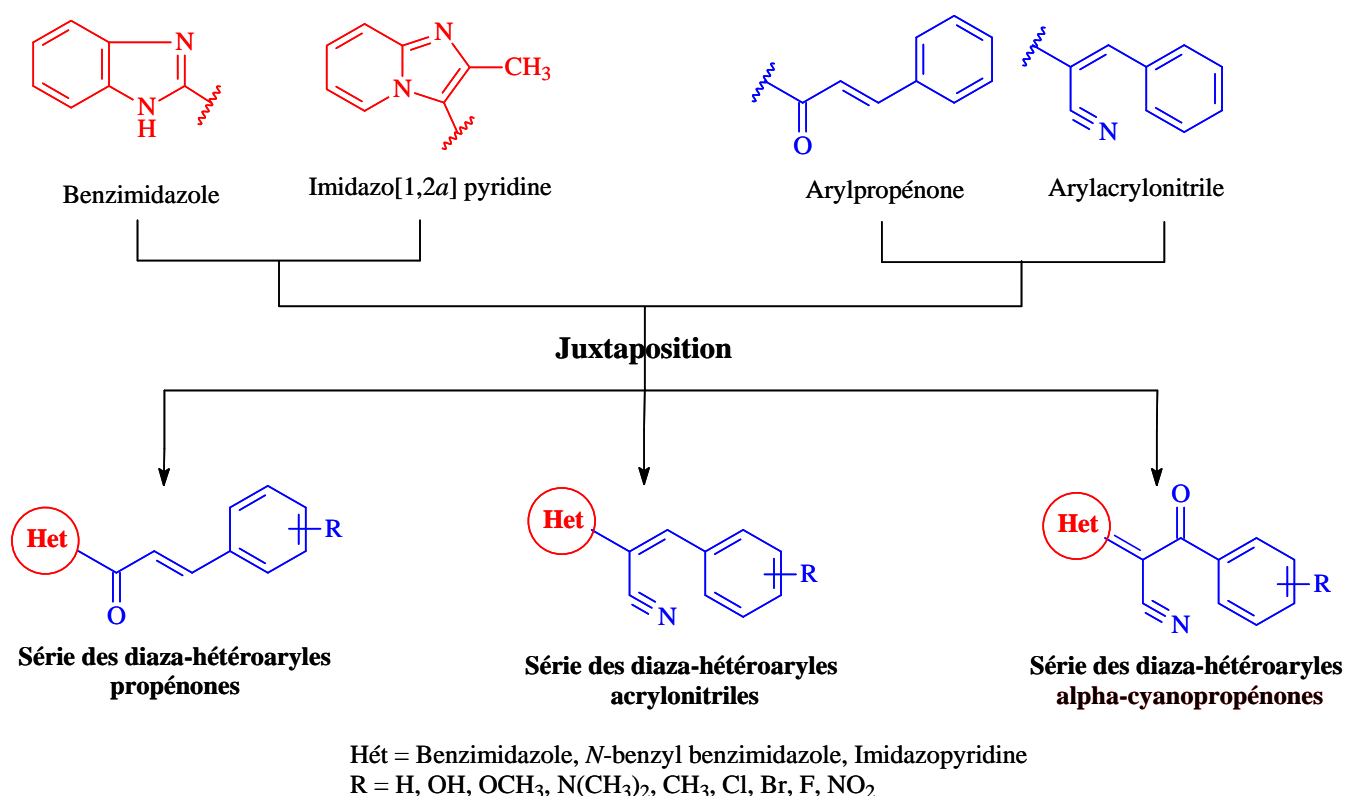


**Figure 16:** Structures chimiques des licochalcones B et D.

Les activités antioxydantes de certaines chalcones de synthèses ont été également rapportées par différentes équipes de recherches [55, 87, 88].

Lesdites chalcones auraient des activités antioxydantes comparables à celles des chalcones naturelles. Par ailleurs, les dérivés hydroxylés et méthylés se sont avérés être les plus puissants antioxydants [55].

Aussi, tenant compte de notre thématique de recherche autour des chalcones ou composés à profil chimique de type arylpropénone et analogues structuraux, nous nous sommes proposés d'explorer leur potentiel antioxydant. 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 ou aryl  $\alpha$ -cyanopropénones. De tels enchainements fonctionnels insaturés alpha, beta éthyléniques ont pour supports, des diaza-hétéroaryles de nature benzimidazole ou imidazopyridine. (**Figure 17**).

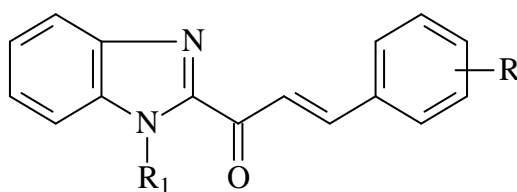


**Figure 17:** Conception et profil chimique des diaza-hétéroaryl propénones et analogues structuraux acrylonitriles.

Ces hybrides d'arylpropénones et analogues structuraux acrylonitriles ont été développés dans notre département pour leurs propriétés anti-infectieuses notamment anthelminthiques, antipaludiques et anticandidosiques. [59, 89- 92]. Compte tenu de leurs groupements fonctionnels comparables à celle des chalcones naturelles, ces derniers pourraient posséder également, des activités antioxydantes à l'instar de ces dernières. C'est ce qui justifie, l'intérêt nouveau pour nos hybrides dans la perspective de contribuer à la mise au point d'un véritable médicament antioxydant indiqué pour la neutralisation du processus de stress oxydant et de ses implications pathologiques, notamment dans le diabète,

le rhumatisme, les maladies cardiovasculaires, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, et dans certains types de cancers.

Dans le cadre de notre travail de recherche nous nous sommes singulièrement intéressé à l'axe relatif à l'évaluation des activités antioxydantes des benzyl benzimidazolyl arylpropénone ou benzyl benzimidazolyl-chalcones (Figure 18).



R<sub>1</sub> : H, Benzyle

**Figure 18:** Profil chimique général des benzimidazolyl-arylpropénones à visée antioxydante.

## V. METHODES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI OXYDANTE

Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante des substances naturelles et des composés chimiques se répartissent en 2 groupes : les tests biologiques et les tests chimiques [18, 52].

### V.1. Tests biologiques

Les tests biologiques sont des tests réalisés *in vitro*. Ils sont difficilement accessibles en raison de leur caractère commercial (brevets). Parmi ces tests nous avons :

- ✓ **Le test Kit Radicaux Libres (KRL)**, Il évalue l'activité antioxydante dans le sang en mesurant le temps nécessaire pour hémolyser 50% des

globules rouges exposés à l'attaque d'une solution de contrôle de radicaux libres [93].

- ✓ **Le test protection antioxydante 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 oxydant sévère. L'activité antioxydante de concentrations variables du composé d'essai est mesurée sur la base du degré d'inhibition de la fluorescence DCF, qui est une mesure indirecte et non spécifique de la production d'espèces réactives de l'oxygène [94] .

## **V.2. Tests chimiques**

Les tests chimiques sont également réalisés *in vitro*. Pour les molécules de nature hydrophile et/ou lipophile, les tests utilisés sont :

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

Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP), ne permet que l'évaluation de l'activité antioxydante des molécules de nature hydrophile.

Parmi ces méthodes spectrophotométriques, les plus utilisées sont [75] :

- ✓ Le test de l'acide 2,2 -azino -bis - 3 ethylbenzothiazoline- 6 sulfonique (ABTS) ;
- ✓ Le test du 2,2 diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) ;
- ✓ Le test utilisant le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP = Ferric reduccing antioxidant power) ;
- ✓ Le test Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC).

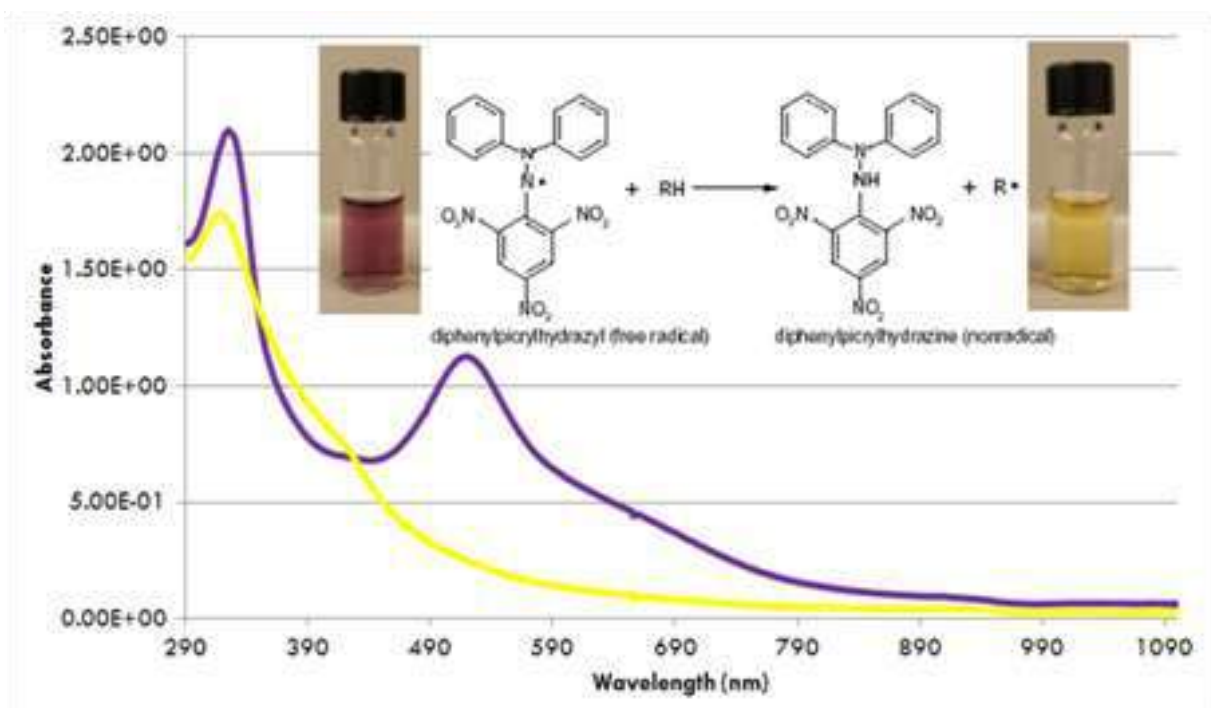
Nous allons passer en revue les principes, avantages et limites des principaux tests utilisés pour la détermination des activités antioxydantes.

### **V.2.1. Test au 2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)**

#### **V.2.1.1. Principe**

Le 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 (**Figure19**) au jaune [49].





**Figure 19 :** Spectre d'absorption du DPPH et oxydation du radical DPPH [95].

### V.2.1.2. Interprétation

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

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

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 [18].

### 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 au DPPH [49]. 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 [96, 97]
- ✓ 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 [97, 98].
- ✓ 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 [99].

#### **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 [100].
- ✓ Il produit des radicaux d'azote organiques stables caractérisés par une couleur pourpre foncé dans la gamme 515-520 nm [101].

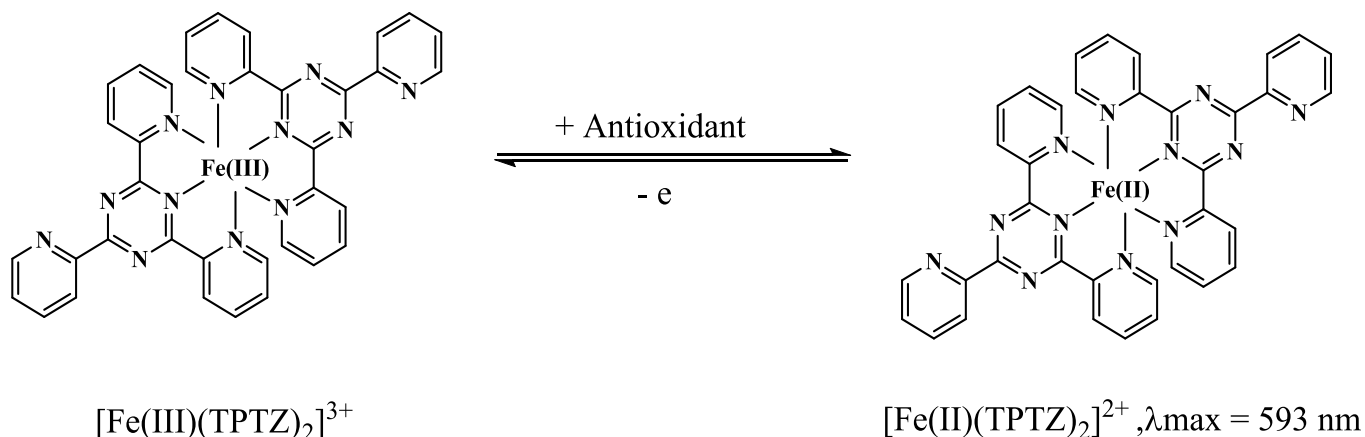
### **V.2.2. Test de réduction du fer (FRAP) : Ferric reducing antioxidant Power**

#### **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 ( $\text{Fe}^{3+}$ ).

La capacité totale en antioxydant de chaque extrait est déterminée par la méthode Hinneburg adaptée par Lamien- Meda *et al.* Le dosage consiste à réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ] de couleur jaune

en complexe ferreux [(Fe(II)-TPTZ)] de couleur bleue, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron (**Figure 20**). La variation de la coloration est mesurée 593 nm [47].



**Figure 20 :** Réduction du complexe tripyridyltriazine ferrique en complexe ferreux [46].

#### 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 antioxydantes. 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 antioxydante.
- ✓ Si les courbes de l'extrait et du paracétamol (témoin négatif) se superposent, l'extrait ne possède pas d'activité antioxydante.

#### V.2.2.3. Limites du Test

La méthode au FRAP présente plusieurs limites :

- ✓ Il fut montré que certains produits de réactions entre le révélateur et le produit testé peuvent interférer avec la mesure d'absorbance. C'est le cas par exemple de la bilirubine qui se transforme en biliverdine lorsqu'elle

est oxydée. Cette dernière absorbe à 593 nm et mène à une surestimation du potentiel réducteur de la bilirubine [49].

- ✓ Cette méthode n'implique aucun substrat oxydable, elle ne renseigne en rien sur la capacité du produit testé à protéger un quelconque substrat biologique contre l'oxydation [48].
- ✓ Cette méthode nécessite un temps de réaction plus long pour détecter certains polyphénols qui réagissent lentement. L'ordre de réactivité de nombreux antioxydants différents peut varier considérablement. Pulido et al. 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 [102].
- ✓ Le  $\text{Fe}^{2+}$  est un «pro-oxydant» bien connu qui peut réagir avec le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) pour produire un radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ ). C'est le radical libre le plus nocif trouvé *in vivo* [97].
- ✓ Ce test détermine le pouvoir réducteur total des échantillons, cependant tous les réducteurs qui réduisent le  $\text{Fe}^{3+}$  ne sont pas des antioxydants [97,103].
- ✓ 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  $\text{Fe}^{3+}$  [97].

#### **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 antioxydant de composés purs [49].

- ✓ Ce test est simple, rapide, peu coûteux et robuste. Il ne nécessite aucun équipement spécialisé et peut être effectué manuellement ou automatiquement.
- ✓ Il s'agit d'un transfert total d'électrons plutôt que d'un mélange de transfert d'électron unique (TEU) et d'atome d'hydrogène (TAH). En combinaison avec d'autres méthodes, il est très utile de distinguer les mécanismes dominants des différents antioxydants.

### **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 chlorure de 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 [49].

#### **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  $\mu\text{mol Trolox} / \text{mg}$  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 antioxydante contre les radicaux peroxyde et hydroxyle et non contre toutes les espèces réactives de l'oxygène (par exemple les superoxydes et l'oxygène singulet) [97,104].

- ✓ La concentration du substrat (sonde) est souvent inférieure à la concentration en antioxydant. Cependant, dans les systèmes alimentaires, la concentration en antioxydant est beaucoup plus petite que le substrat (par exemple un lipide). Par conséquent, la capacité antioxydante mesurée dans un système alimentaire réel peut être incorrecte.

#### **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 [105, 106].
- ✓ Il a récemment été adapté pour utiliser la fluorescéine comme sonde fluorescente pour les dosages à haut débit.
- ✓ Il a été largement utilisé comme méthode de choix pour quantifier la capacité antioxydante habituellement en combinaison avec un dosage de la teneur totale en phénol.
- ✓ Il a été appliqué pour mesurer la capacité antioxydante des échantillons botaniques et biologiques [107].
- ✓ 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.
- ✓ Peu coûteuse et rapide.
- ✓ Cette méthode est largement utilisée.

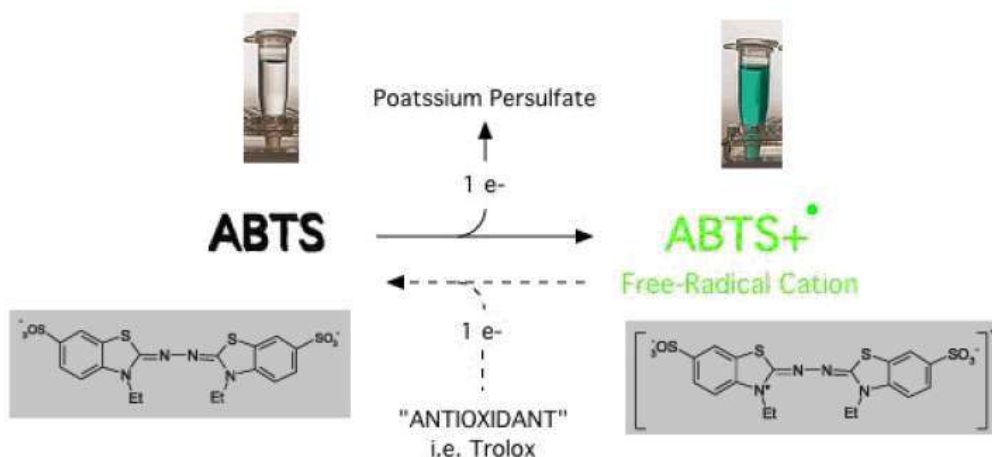
## V.2.4. Test à l'ABTS (Acide 2,2 –azino –bis – 3 ethylbenzothiazoline- 6 sulfonique)

### 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 [52] :

- ✓ 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 est lue.
- ✓ A partir de l'ABTS et chlorure de 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.

Les réactions qui se déroulent peuvent être de type ABTS/trans 3,3',4',5,7 – Pentahydroxyflavan (Catéchine) ou ABTS/I,3,5 trihydroxy-benzène (Phloroglucinol) [18] ( **Figure 21**).



**Figure 21 :** Réaction chimique entre l'ABTS et le radical cationique ABTS [108].

#### **V.2.4.2. Interprétation**

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

#### **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 [105]. 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 [48, 100].
- ✓ Les valeurs TEAC (Capacité antioxydante équivalente en trolox) caractérisent la capacité d'un échantillon à réagir avec l'ABTS plutôt que d'inhiber le processus oxydatif.
- ✓ Le test ABTS nécessite une préparation spéciale dans laquelle ABTS doit être généré par des enzymes ou réaction chimique [98,109].
- ✓ 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**

Les avantages de cette méthode sont :

- ✓ méthode simple et rapide qui donne des résultats très fiables [110].
- ✓ L'ABTS peut être solubilisé dans les milieux aqueux et organiques et n'est pas affecté par la force ionique. Il peut être utilisé pour mesurer l'activité antioxydante des composés hydrophile et lipophiles [97, 98].



- ✓ 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**).

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

Tests Caractéristiques	DPPH	ORAC	ABTS	FRAP
<b>Mécanismes réactionnels</b>	-transfert d'électron Majoritaire	- transfert de proton	-transfert d'électron et de proton	-transfert d'électron
Nature des molécules testées	-hydrophiles et lipophiles	- lipophiles et hydrophiles	-hydrophiles et lipophiles	-hydrophiles
Expression des résultats	-CI 50 et /ou en mg $\mu$ mol équivalent Trolox®	$\mu$ mol équivalent Trolox®	-CI 50 et /ou $\mu$ mol équivalent Trolox®	-en mg $\mu$ mol équivalent $\text{Fe}^{+2}$
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 possible à 515 nm - forte dépendance au pH et au solvant - radical inexistant <i>in vivo</i>	- ne suffit pas pour juger de la qualité antioxydante d'un produit	- produit de dégradation antioxydant - radical inexistant <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 des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, précisément :

- au département de chimie organique et thérapeutique pour la synthèse chimique, l'interprétation des résultats et la rédaction de la thèse.
- au département de pharmacologie, pharmacie clinique et thérapeutique, et physiologie humaine pour l'évaluation de l'activité antioxydante de nos molécules.

Notre étude de type expérimental 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

Type : AX523E

Capacité maximale : 520g

Sensibilité : 0.001g

Fabriqué en Belgique

##### **✓ Bain marie**

Marque : SALVIS AG 6015

TYPE: SBK 25D

Fabriqué en Allemagne

✓ **Spectrophotomètre (Figure 22)**

Marque: JENWAY

TYPE: 7315

Numéro de série : 39779

Fabriqué au Royaume-Uni



**Figure 22** : Photographie du spectrophotomètre utilisé.

✓ **Vortex**

Marque: NEUATION

TYPE: K-550-GE

Numéro de série: 21647

Fabriqué en Suisse

✓ **Micropipettes**

1-Marque : TRANSFERPETTE® S

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

3-Pipette à usage unique : 100 µl Marque : TRANSFERPETTE® S

## **II.2. Matériel chimique**

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

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

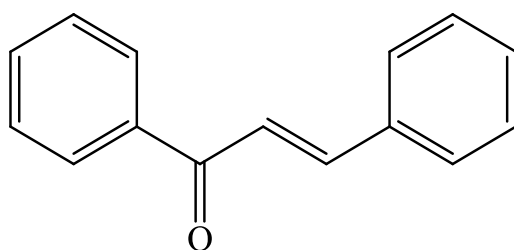
### **II.2.2. Molécule de synthèse, modèle moléculaire et substance antioxydante de référence**

#### **II.2.2.1. Molécule de synthèse**

Les dérivés benzyl benzimidazolyl-chalcones ont été synthétisés, purifiés, caractérisés et fournis sous forme de poudre par le département de chimie organique et thérapeutique de l'UFR SPB.

#### **II.2.2.2. Modèle moléculaire**

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

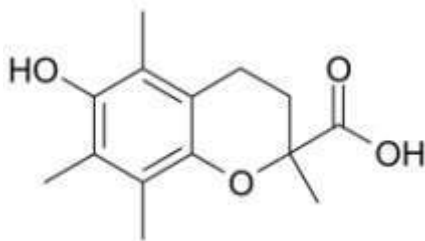


**Figure 23** : Structure chimique du 1, 3-diphénylpropénone.

### II.2.2.3. Substance antioxydante de référence

La substance antioxydante de référence utilisée était le trolox.

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 oxydant.



**Figure 24** : Structure chimique du Trolox.

### II.3. Autre matériel

Logiciel Microsoft Excel 2010

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

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

### III.1. Principe

L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) ou ABTS est utilisé pour évaluer les capacités antioxydantes 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 ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) [111].



Ce radical cationique de l'ABTS a la caractéristique de réagir avec la plupart des antioxydants en se comportant comme une substance oxydante [113]. Lors de ces réactions, il perd sa couleur bleue et devient incolore. Cette perte de coloration correspond à la puissance réductrice et donc antioxydante de la substance testée. Elle peut être suivie par spectrophotométrie, le pic d'absorption du radical cationique ABTS étant à 734 nm [114]. Les résultats ainsi obtenus peuvent être comparés aux capacités antioxydantes du Trolox, équivalent hydrophile de la vitamine E et la molécule de référence pour l'évaluation de l'activité antioxydante. Cela explique pourquoi cette méthode est aussi appelée capacité antioxydante en équivalent Trolox (Trolox equivalent antioxidant capacity : TEAC) [49, 115-117].

### **III.2. Mode opératoire**

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

#### **III.2.1. Préparation des échantillons**

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

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

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

M (ABTS) : 514,62 g/mol

C : 0,007 mol/L

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

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



**m = 0,072g soit 72mg**

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

✓ **Préparation de 20ml de la solution de potassium persulfate 2,6mM (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>).**

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

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

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

C: 0,0026 mol/L

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

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

**m = 0,014g soit 14mg**

Il s'est agi de peser 0,014g soit 14mg de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> pour le dissoudre dans 20mL de méthanol pur (Vf=20ml).

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

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

20 mL de solution ABTS à 7mM

+

20 mL de solution potassium persulfate 2,6mM

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

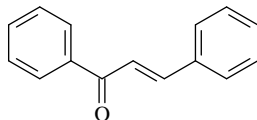
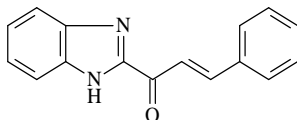
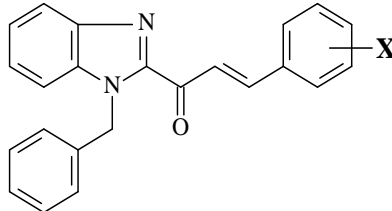
## CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

### I.RESULTATS

Le pouvoir antioxydant du modèle moléculaire chalcone ou 1,3-diphényl propénone (**composé R**) ainsi que celui de la benzimidazolylchalcone (**composé S1**) et de ses dérivés *N*-benzylés (**composés U1 à U10**) ont été comparés à celle du Trolox, substance antioxydante de référence.

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

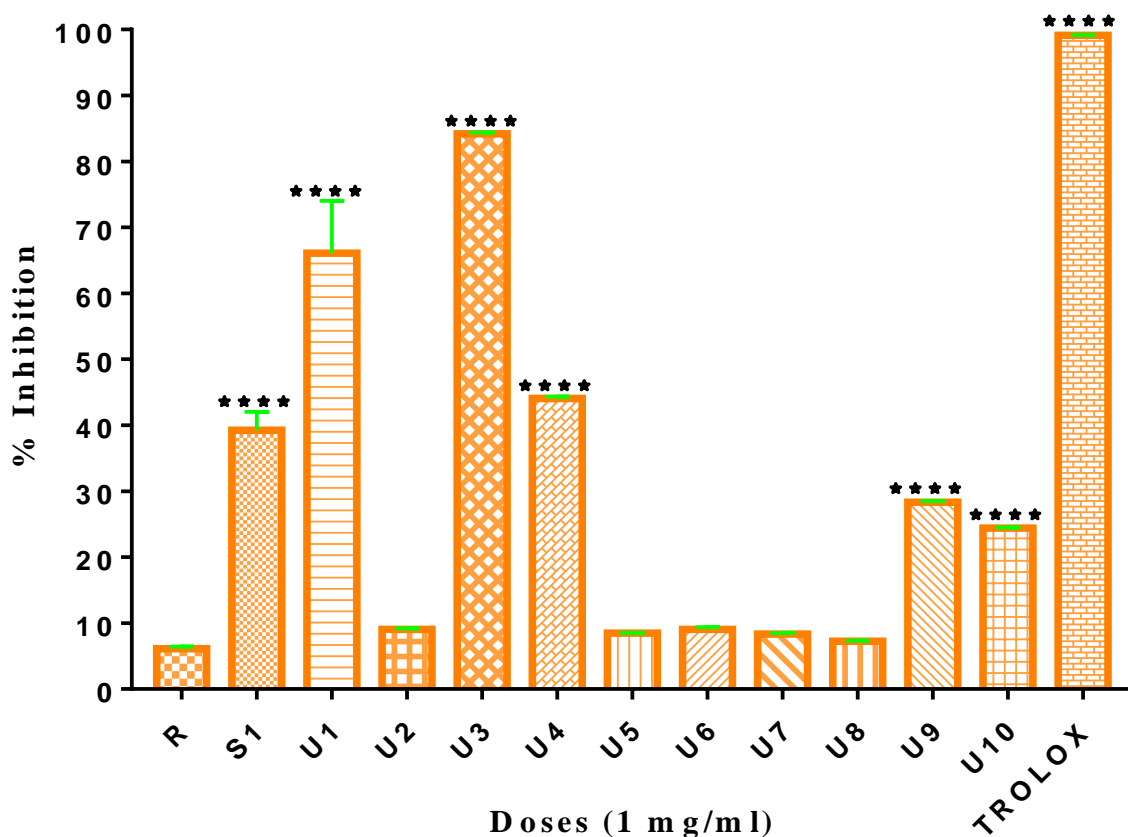
**Tableau V:** Pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS des benzyl benzimidazolyl-chalcones et du trolox.

Composé	Structure		Pourcentage moyen d'inhibition du radical ABTS
R			6,14 ± 0,29
S1			39,26 ± 2,74
		X	
U1		H	66,09 ± 7,91
U2		4-CH <sub>3</sub>	9,04 ± 0,14
U3		2-OH	84,20 ± 0,18
U4		3-OH	44,08 ± 0,27
U5		3-OCH <sub>3</sub>	8,58 ± 0,04
U6		4-OCH <sub>3</sub>	9,00 ± 0,34
U7		4-Br	8,58 ± 0,14
U8		4-Cl	7,33 ± 0,09
U9		3-NO <sub>2</sub>	28,19 ± 0,19
U10		4-NO <sub>2</sub>	24,35 ± 0,09
Trolox			99,12 ± 0,06

Ces résultats montrent que :

- ✓ Le modèle moléculaire R, a induit une activité antioxydante en inhibant le radical ABTS avec un pourcentage moyen de 6%.
- ✓ Le **composé S1** a induit une activité antioxydante en inhibant le radical ABTS avec un pourcentage moyen de 39%.
- ✓ La substance de référence utilisée (le trolox) a présenté un pourcentage moyen d'inhibition de 99%.
- ✓ Toutes les benzyl benzimidazolyl-chalcones ont induit des activités antioxydantes inférieures à celles du Trolox avec des pourcentages moyens d'inhibition compris entre 7 et 84%

Afin d'apprécier l'amplitude ou le pouvoir antioxydant des chalcones par rapport au Trolox et par rapport au modèle moléculaire (**composé R**), les inhibitions moyennes ont été traduites en histogrammes (**Figure 25**).



**Figure 25:** Variation du % d'inhibition du radical ABTS en fonction des molécules testées.

Les résultats présentés par l'histogramme montrent que:

- ✓ Deux (02) chalcones à savoir les **composés U1 et U3**, ont induit un pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS supérieur à 50%.
- ✓ Neuf (09) chalcones à vecteur benzimidazole ont induit un pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS inférieur à 50 %. Il s'agit des **composés S1, U2, et U4-U10**
- ✓ Le modèle moléculaire (**composé R**), a induit lui aussi une activité antioxydante en inhibant le radical ABTS avec un pourcentage moyen de 6%.

- ✓ La substance de référence (le Trolox) a présenté un pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS de l'ordre de 99%.

## II. DISCUSSION

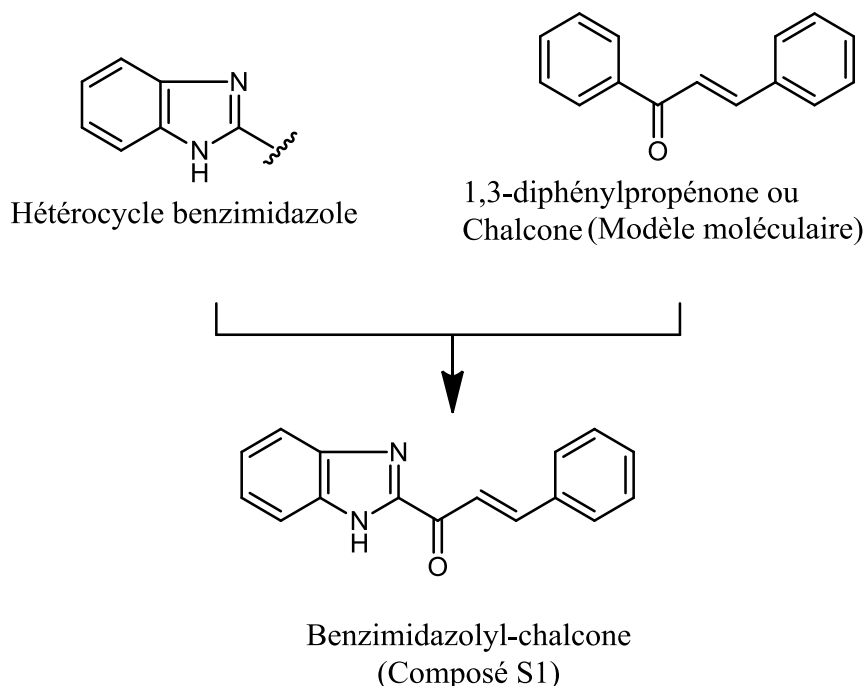
A la suite de l'évaluation des activités antioxydantes des benzyl benzimidazolyl-chalcones par la méthode ABTS, nous nous sommes consacrés dans cette autre partie de notre travail, à une discussion des résultats expérimentaux obtenus.

Une telle discussion de type relations structure-activité vise deux objectifs :

- ✓ la pertinence du concept pharmacochimique d'hybridation moléculaire comme méthode pratique d'élaboration de nouvelles molécules d'intérêt thérapeutique,
- ✓ la détermination des éléments structuraux qui concourent à l'apparition, voire à l'amélioration, des activités antioxydantes recherchées.

### II.1. Pertinence du concept pharmacochimique

La méthode pharmacochimique de conception des hybrides de chalcones par juxtaposition d'entités chimiques permet d'établir que le remplacement du benzène en position 1 de la 1,3-diphénylpropénone (**composé R**), utilisé comme modèle moléculaire, par l'hétérocycle benzimidazole (**Figure 26**) a permis d'induire des activités antioxydantes non négligeables. En effet, le **composé S1** ou benzimidazolyl-chalcone issu de notre stratégie pharmacochimique, a présenté une activité antioxydante supérieure à celle du modèle moléculaire (6%) avec un pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS de 39 %. Une telle performance antioxydante 6 fois supérieure à celle du modèle moléculaire confirme une fois de plus que les concepts pharmacochimiques utilisés pour la conception desdites chalcones reste pertinente pour la mise au point de molécules d'intérêt thérapeutique.



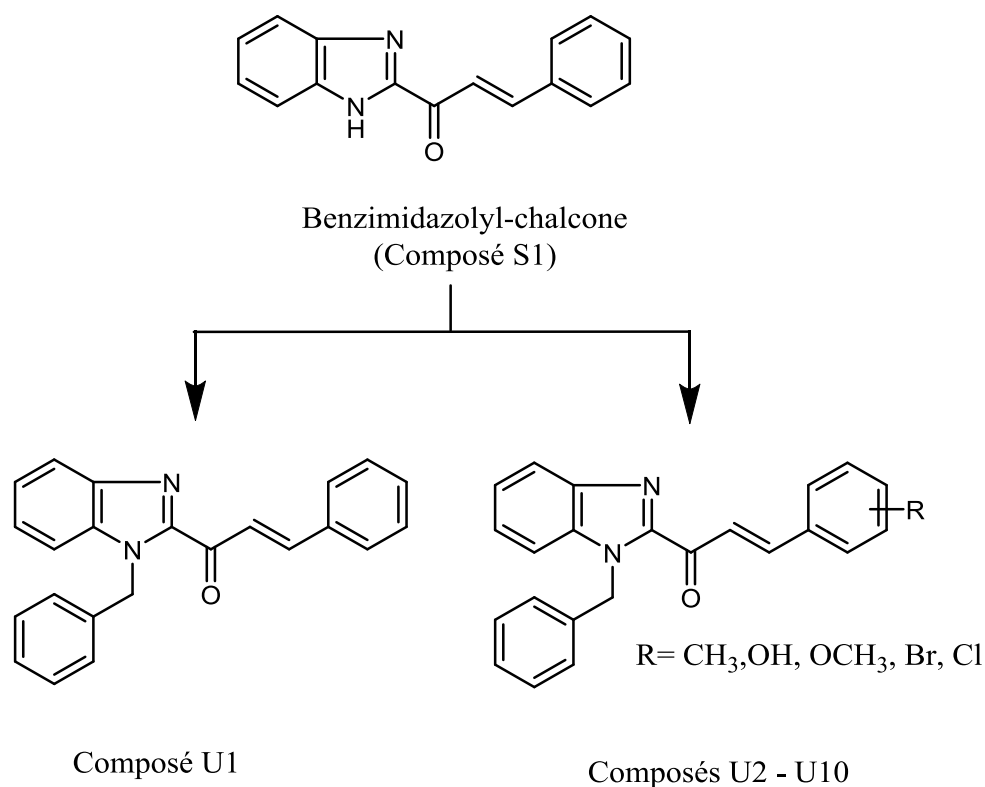
**Figure 26:** Conception de la benzimidazolyl-chalcone (**composé S1**).

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

Pour cela, deux types de modulations chimiques ont été entreprises à savoir (**Figure 27**) :

- ✓ le blocage de l'atome d'azote pyrrolique de l'hétérocycle benzimidazolé par un groupement benzyle,
- ✓ l'introduction de divers modulateurs de type électrodonneurs (alkyle, hydroxyle, méthoxyle ou halogène) ou électroattracteurs (nitro) tout en conservant le groupement *N*-benzyle en position 1 du benzimidazole.





**Figure 27 :** Variations structurales entreprises autour de la benzimidazolyl-chalcone (**composé S1**).

## II.2. Eléments structuraux d'optimisation des activités antioxydantes

Dans le but d'établir les éléments structuraux favorables à l'amélioration des activités antioxydantes nous avons réalisés deux types de variations structurales à savoir:

### II.2.1. Variation au niveau de l'azote pyrrolique du benzimidazole

La variation structurale entreprise au niveau de l'atome d'azote en position 1 du benzimidazole permet d'établir que le blocage de l'azote pyrrolique par un groupement *N*-benzyle, conduit à une amélioration significative de l'activité antioxydante 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 % largement supérieur à celui du dérivé non *N*-benzyle (**composé S1**). Cette variation structurale autour de l'azote pyrrolique du

benzimidazole semble être propice à une amélioration des activités antioxydantes à l'inverse de la série chimique des benzimidazolés anthelmintiques où une telle variation est défavorable [118].

Le dérivé *N*-benzylé (**composé U1**) a présenté un pouvoir antioxydant 1,6 fois supérieur à celui de la benzimidazolyl-chacone mais inférieur à celui du Trolox. D'où la nécessité de poursuivre les variations structurales au niveau de l'homocycle benzénique du **composé U1** tout en gardant la *N*-benzylation.

### II.2.2. Variation au niveau de l'homocycle benzénique

Les variations structurales entreprises autour de l'homocycle benzénique du **composé U1** permettent d'établir que:

- ✓ l'introduction d'un groupement faiblement électrodonneur de type méthyle en position 4 de l'homocycle benzénique (**Composé U2**) conduit à une réduction des activités antioxydantes.
- ✓ la présence d'un groupement fortement électrodonneur de type hydroxyle en position 2 de l'homocycle benzénique (**Composé U3**) a conduit une augmentation remarquable des activités antioxydantes. Le dérivé 2-hydroxylé avec un pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS de 84 % a induit une performance antioxydante 1,3 fois 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 %.

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

- ✓ le remplacement de l'hydroxyle par un groupement méthoxyle moyennement électrodonneur conduit à une baisse du pouvoir antioxydant quel que soit les positions isomériques (3 et 4) sur l'homocycle benzénique. Les dérivés méthoxylés (**Composé U5** et **U6**) ont présenté un pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS de l'ordre de 9 %. Cette performance antioxydante 5 à 10 fois inférieure à celle de leurs analogues hydroxylés montre que les groupements méthoxyles ne sont pas favorables à une amélioration des activités antioxydantes en série des benzyl benzimidazolyl-chalcones.
- ✓ l'introduction d'atome d'halogène de type brome (**Composé U7**) ou chlore (**Composé U8**) conduit comme précédemment à une baisse de l'activité antioxydante, avec des pourcentages moyens d'inhibition du cation radicalaire ABTS de l'ordre de 8 %. 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 antioxydantes en série des benzimidazolyl-chalcones.
- ✓ la présence d'un groupement électroattracteur de type nitro (NO<sub>2</sub>) en position 3 ou 4 de l'homocycle benzénique conduit à une diminution de l'efficacité antioxydante. En effet, les dérivés nitrés (**Composé U9** et **U10**) avec des pourcentages moyens d'inhibition du cation radicalaire ABTS respectifs de 28 et 24% se sont avérés moins performants que le **Composé U1** (pourcentage moyen d'inhibition 66%). Les groupements fortement électroattracteurs comme le nitro ne sont pas de bons modulateurs des performances antioxydantes dans cette série chimique.

Au total dans la série des benzyl benzimidazolyl-chalcones, il ressort que l'amélioration des activités antioxydantes passe par l'introduction d'un groupement hydroxyle en position isomérique 2 sur l'homocycle benzénique.

Ainsi pour un développement en tant que substance antioxydante nous pouvons proposer le **composé U3**.

## **CONCLUSION-PERSPECTIVES**

## CONCLUSION

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

L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée par la méthode de l'ABTS comparativement au modèle moléculaire et à la substance antioxydante de référence.

Les résultats obtenus à l'issue de cette évaluation, montrent que les chalcones présentent des activités antioxydantes allant de 7 à 84%.

Les études de relation structure activité entreprises ont permis d'établir que l'amélioration de l'activité antioxydante nécessite la présence de groupement hydroxyle en position 2 de l'homocycle benzénique. Ainsi le dérivé hydroxylé (**composé U3**) avec un pourcentage d'inhibition de 84% présente la meilleure activité antioxydante. Elles ont également permis de montrer que :

- ✓ le profil chimique benzyl benzimidazolyl-chalcone possède des potentialités antioxydantes.
- ✓ l'amélioration des activités antioxydantes a nécessité la présence de groupements hydroxyles en position 2.

Ces résultats nous permettent de valider le profil chimique (benzyl benzimidazolyl-chalcone) comme nouveau pharmacophore à forte activité antioxydante et ouvrent ainsi de nouvelles voies d'investigations dans la recherche de substances à activité antioxydante.

## PERSPECTIVES

Au terme de cette étude, il nous paraît nécessaire de poursuivre les travaux de recherche pharmacochimique dans le but d'optimiser les activités antioxydantes obtenus.

Dans cette perspective, diverses variations structurales peuvent être envisagées autour des benzyl benzimidazolyl-chalcones. Il s'agira :

- ✓ introduire d'autres modulateurs sur l'homocycle benzénique
- ✓ remplacer la propénone par un isostère de type acrylonitrile
- ✓ remplacer le benzimidazole par son analogue imidazopyridine.

Au plan biologique, il serait convenable d'élucider le mécanisme antioxydant de ces hybrides de chalcones et en évaluer également la toxicité.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**



1. **Sies H.** Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental physiology*, 1997 ; 82(2): 291-5
2. **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 » 103-12
3. **Massion P, Preise J, Balligand JL.** Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères. *Nutrition clinique et métabolisme*, 2002; 16: 248-4
4. **Barlow SM.** Toxicological aspects of antioxydants used as food addives. In: *Food antioxydants*, Hudson B.J.F. (ed.), Elsevier ,Amsterdam ,1990; 253-54.
5. **Rahman MA.** Chalcone: a valuable insight into the recent advances and potential pharmacological activities. *Chem Sci J*, 2011 ; 29: 1-16.
6. **Fontaine E.** Radicaux libres, stress oxydant .INSERM U1055 Grenoble, 63 P.
7. **Kone FYM.** Thèse: Evaluation de l'activité analgésique et antioxydante d'une benzimidazo- para- diméthyl amine chalcone. UFR [sciences pharmaceutiques et biologiques]: Université Felix Houphouët Boigny ; 2017.
8. **Brin AJ.** Composition cosmétique ou pharmaceutique antiradicaux libres pour application topique. EP0629397A1, 1998 ; 16p.
9. **Peynet J, Beaudeau J, Legrand A.** Stress oxydant et athérosclérose. In: **Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont-Rousselot D.** Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques, 2005 ; 45-41.
10. **Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP** Le stress oxydant. *rev. Med. Liège* 2007; 62(10) : 628 ; 11 P .

- 11. Gey KF** Vitamin E plus C and interacting conutrients required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer biofactor, 1998; 7:113-61.
- 12. Anderson D.** Radicaux libres et antioxydants. Dev Neurosci, 1996 ; 18(5-6) :397-7
- 13. Shiem H.** Etude botanique et phytochimique : Approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus indica*. Université des frères Mentouri et Constantine facultés des sciences de la nature et de la vie, thèse de biotechnologies végétales, 2014/2015 P.
- 14. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions, 2006; 1-40.
- 15. Machlin LJ, Bendich A.** Free radical tissue damage: protective role of antioxydant nutriments. The FASEB Journal, 1987; 1(6): 441-4.
- 16. Tamer F.** Free Radicals, Types, Sources and Damaging Reactions. Internal Medicine Articles. 2003
- 17. Pincemail J, Defraigne JD** Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène, Symposium « antioxydant et alimentation » institut Danone. 23/10/2004 ; 1-2.
- 18. Zohra M.** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud-ouest de l'Algérie. Université Abou Berk Belkaid. Thèse de biologie, 2012/2013 ; 170 P.
- 19. Chopinet MH, Lizarazu D, Rocanière C.** L'importance des phénomènes d'oxydo-réduction dans le verre. Comptes Rendus Chimie, 2002; 5(12): 939-10.

- 20. Aravodis E.** Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 2005; 128-5.
- 21. Harris AL.** Hypoxia-a key regulatory factor in tumor growth. *Nat Rev Cancer*.2002; 2(1): 38-9.
- 22. Zou Y, Qian ZL, Li Y, Kim MM, Lee SH, Kim SK.** Antioxidant Effects of Phlorotannins Isolated from *Ishige okamurae* in Free Radical Mediated Oxidative Systems. *J Agric Food Chem*.2008.
- 23. 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 de Doctorat. Université Claude Bernard. Lyon1. 2004.
- 24. Wang Y.** Bulky DNA lesions induced by reactive oxygen species. *Chem Res Toxicol*.2008; 21: 276-5.
- 25. Trachootham D, Alexander J, Huang P.** (2009).Targeting cancer cells by ROS mediated mechanism: a radical therapeutic approach? *Nat. Rev.* 2009; 8: 579–12.
- 26. Dalle-Done L, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A.** Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 2006; 52: 601-22.
- 27. Cassavaugh J, Lounsberry KM.** Hypoxia-mediated biological control. *Cell Biochem.* 2001; 112(3): 735-44.
- 28. Decker EA, McClements DJ.** Lipids. In Fennema's Food Chemistry. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.2008. 4th ed;155–61
- 29. Frankel EN.** Methods to determine extent of oxidation. In *Lipid Oxidation* Dundee: The Oily Press.1998; 79–18

- 30. Min DB, Boff JM.** Lipid oxidation of edible oil. In M. Dekker (Ed.), Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology. New York 2002.
- 31. Pincemail J, Bonjea K, Cayeux K, Defraigne JO,** Physiological action of antioxidant defences. Nutrition Clinique et Métabolisme. 2002 ; 16: 233-6.
- 32. 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):1076-5.
- 33. Valko M, Leibfrit D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J.** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Biocell. 2007; 39:44-40.
- 34. Lee KW, Lee HJ.** The roles of polyphenols in cancer chemoprevention. Biofactors, 2006 ; 26(2): 105-16
- 35. Belkheiri N.** Dérivés phénoliques à activités Antiathérogènes (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).2010.
- 36. Delattre J.** Radicaux libres et stress oxydant : Aspects biologiques et pathologiques. Londres; Paris; New York: Tec & Doc Lavoisier; 2007.
- 37. Kirkwood TBL.** Understanding the odd science of aging. Cell. 25 févr 2005; 120(4):437-47.
- 38. 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
- 39. Bonnefont-Rousselot D.** Glucose and reactive oxygen species. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. sept 2002;5(5):561-8.
- 40. Bonnefont-Rousselot D.** The role of antioxidant micronutrients in the prevention of diabetic complications. Treat Endocrinol. 2004;3(1):41-11.

- 41. Christen Y.** Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr.* févr 2000;71(2):621S -8S.
- 42. Hwang O.** Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. *Exp Neurobiol.* mars 2013;22(1):11-7.
- 43. 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.* Ann Neurol. 1996; 39(2):158-65.
- 44. Talbi H, Boumaza A, El-mostafa K, Talbi J, Hilali A .** Evaluation de l'activité antioxydante et composition physico-chimique des extraits méthanoliques et aqueux de *Nigella sativa* L.ISSN : 2028-2508. CODEN : JMESC. Master Environ. SCI. 6(4) (2015) 1111-6.
- 45. Košinová P, Gažák R, Duroux JL, Lazzaroni R, Křen V, Assfeld X, et al.** Dimerisation process of silybin-type flavonolignans: insights from theory. *Chemphyschem Eur J Chem Phys Phys Chem.* 2011;12(6):1135-42.
- 46. Velu SS, Buniyamin I, Ching LK, Feroz F, Noorbachta 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):11376-84
- 47. 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):720-6
- 48. 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; 80:1925-15.

- 49. Huang, Ou, Prior.** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53:1841-15.
- 50. Hervy MP** Conséquence de la douleur non soulagée. Service de Gériatologie, Hôpital BICATRE AP-HP ; 4P.
- 51. Chavan BB, Gadekar AS, PP Mehta, PK Vawhal, Kolsure AK, Chabukswar AR .** Synthesis and medicinal of significance chalcones-A Review. *Asian journal of biomedical and pharmaceutical sciences*. 2015; 1-7.
- 52. Koné D.** Enquête ethnobotanique de six plantes maliennes: extraction, identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leurs activités antioxydantes. 2009; thèse Metz.
- 53. 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.
- 54. Harborne J.B.** The flavonoids: advances in research since 1986. Chapman & Hall/CRC, London. 1993; 676p
- 55. 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):33-7.
- 56. Nowakowska Z.A.** Review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *Eur. J. Med. Chem*. **2007**; 42:125-12.
- 57. 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; 1171:399-7.

- 58. Zhao LM, Jin HS, Sun LP, Piao HR, Quan ZS.** Synthesis and evaluation of antiplatelet activity of trihydroxychalcone derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**; 15:5027-2.
- 59. Ouattara M, Drissa S, Yavo W, Mamidou WK.** Synthèse et criblage antiplasmodial de quelques benzimidazolyl-chalcones. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **2015**; 9(3):1697-13.
- 60. Haraguchi, Hiroyuki, Ishikawa, Harumi, Mizutani, Kenji, et al.** Antioxidative and superoxide scavenging activities of retrochalcones in *Glycyrrhiza inflata*. *Bioorganic & medicinal chemistry.* **1998**; 6(3):339-8.
- 61. 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
- 62. 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.
- 63. Beiler, JM, Graff M, Martin GJ.** Inhibition of liver xanthine oxidase activity in rats. *American journal of digestive diseases.* **1952**, 19:333.
- 64. 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), 244-38.
- 65. James P, Kehrer** « The Haber – Weiss reaction and mechanisms of toxicity », ELSEVIER. **2000**
- 66. Weiss G, Loyevsky M, Gorleuk VR.** Dexrazoxane (ICRF-187). *Gen Pharm* **1999**; 32:155-8.

- 67. 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
- 68. Lawrence NJ, McGown AT.** The chemistry and biology of antimitotic chalcones and related enone systems. *Curr. Pharm. Des.* 2005; 11:1679–14.
- 69. Go ML, Wu X, Liu XL.** Chalcones: an update on cytotoxic and chemoprotective properties. *Curr. Med. Chem.* 2005; 12:481–18.
- 70. 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; 51:1146–8.
- 71. Tomecková V, Guzy J, Kusnír J, Fodor K, Mareková M, Chavková Z, et al.** Comparison of the effects of selected chalcones, dihydrochalcones and some cyclic flavonoids on mitochondrial.
- 72. 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: 686–7.
- 73. 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; 290:1092–7.
- 74. Sabzevari O, Galati G, Moridani MY, Siraki A, O'Brien PJ.** Molecular cytotoxic mechanisms of anticancer hydroxychalcones. *Chem.-Biol. Interact.* 2004; 148:57–10.



- 75. Kachadourian R, Day BJ.** Flavonoid-induced glutathione depletion: Potential implications for cancer treatment. *Free Radical Biol. Med.* 2006, 41, 65 –11.
- 76. 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; 285:16582–5.
- 77. 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 York/Basel-Hong Kong, 409-18
- 78. Kang DH.** Oxidative stress, DNA damage, and breast cancer. *AACN Advanced Critical Care.* 2002; 13(4):540-9.
- 79. Desport JC, Couratier P.** Stress oxydant et maladies neurodégénératives. *Nutrition clinique et métabolisme.* 2002; 16(4):253-6.
- 80. 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):84-8.
- 81. Demetgül C, Beyazit N.** Synthesis, characterization and antioxidant activity of chitosan-chromone derivatives. *Carbohydrate polymers.* 2018; 181:812-5.
- 82. Verma S, Srivastava AK, Pandey OP.** A Review on Chalcones Synthesis and their Biological Activity. *PharmaTutor.* 2018; 6 (2):22-39.
- 83. 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  $\epsilon$ -Caprolactone Derivative. *Molecules.* 2018; 23(2):334.

- 84. 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.
- 85. 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):28-3.
- 86. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2002; 13(10):572-12.
- 87. El-Husseiny WM, El-Sayed MAA, Abdel-Aziz NI, El-Azab AS, Ahmed ER, Abdel-Aziz AAM.** Synthesis, antitumour and antioxidant activities of novel  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated ketones and related heterocyclic analogues: EGFR inhibition and molecular modelling study. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*. 2018; 33(1):507-11.
- 88. 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):11996-15.
- 89. 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):418-5.
- 90. Ouattara M, Sissouma D, Koné MW, Yavo W.** Composés à structure imidazopyridinyl-arylpropénone, nouveaux agents anti-infectieux potentiels. *Comptes Rendus Chimie*. 2016; 19 (7):850-6.

- 91. 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):767-8.
- 92. 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.
- 93. 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.
- 94. Jensen GS, Wu X, Patterson KM, Barnes J, Carter SG, Scherwitz L, et al.** Capacités antioxydantes et anti-inflammatoires in vitro et in vivo d'un mélange de fruits et de baies riches en antioxydants. Résultats d'une étude pilote croisée et randomisée, en double aveugle, contrôlée par placebo. *J Agric Food Chem*. 2008 ; 56 (18): 8326-8333. doi : 10.1021 / jf8016157 . PMID 18717569.
- 95. Tam J.** Nanocrystalline Cellulose: A Novel, Renewable Antioxidant. Dostupnona: [http://www.odec.ca/projects/2011/tamtaj/index\\_files/Page393.html](http://www.odec.ca/projects/2011/tamtaj/index_files/Page393.html).
- 96. 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):4290–12.
- 97. Karadag A, Ozcelik B, Saner S.** Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*. 2009; 2(1):41–19.

- 98. 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):419–2.
- 99. 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):154–6.
- 100. Roginsky, Vitaly, Lissi, Eduardo A.** Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, *Food Chemistry*. 2005; 92:235-9.
- 101. Locatelli M, Gindro R, Travaglia F, Coïsson JD, Rinaldi M, Arlorio M.** Study of the DPPH-scavenging activity: Development of a free software for the correct interpretation of data. *Food Chemistry*. 2009; 114(3): 889–8.
- 102. 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):3396-6
- 103. Nilsson J, Pillai D, Onning G, Persson C, Nilsson A, Akesson B.** Comparison of the 2,2'-azinobis-3-ethylbenzotiazo-line-6-sulfonic acid (ABTS) and ferric reducing anti-oxidant power (FRAP) methods to assess the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2005; 49(3):239–46.
- 104. 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):7970–81.
- 105. 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):3273–9.

**106. 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):669–6.

**107. Prior RL, Cao G.** Flavonoids: Diet and Health Relationships. *Nutrition in Clinical Care*, 2000; 3(5):279–9.

**108. 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; 282:1161-7.

**109. Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R.** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*. 2007; 105(3):940–9.

**110. 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):204–10.

**111. Huang D, Boxin O, Prior RL,** « The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006; 53(6): 1841-15.

**112. 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):8618-32.

**113. Walker RB, Everette JD.** « Comparative Reaction Rates of Various Antioxidants with ABTS Radical Cation », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009; 57(4):1156-5

- 114. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999; 26(9-10):1231-6.
- 115. 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*. 1985; 63(2):366-8
- 116. Becker EM, Nissen LR, Skibsted LH.** Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology*. 2004; 219(6):561-10.
- 117. 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):2046-10.
- 118. Association française des enseignants de chimie thérapeutique (AFECT).** *Traité de chimie thérapeutique. Principaux antifongiques et antiparasitaires*. Condé-sur-Noireau : Tec & Doc Lavoisier. 1998; 5:544p.

## Résumé

**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 oxydant, l'objectif de ce travail était d'explorer le pouvoir antioxydant des benzyl benzimidazolyl-chalcones.

**Matériel et méthode** : Les dérivés benzyl benzimidazolyl-chalcones fournis par le département de chimie thérapeutique de l'UFR SPB d'Abidjan, 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 antioxydante de référence utilisée pour ce test est le Trolox dont le pourcentage d'inhibition du radical ABTS est de 99%.

**Résultats** : Les résultats obtenus aux doses de 1mg/ml, montrent que nos hybrides chalcones sont doués d'activités antioxydantes avec des pourcentages d'inhibition du radical cationique ABTS allant de 7% pour le **composé U8** à 84% pour le **composé U3**.

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

**Mots clés** : Antioxydant, Méthode ABTS, Benzimidazole, Chalcone