



N° 1922/18

Année : 2017 – 2018

THESE

Présentée en vue de l'obtention du

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

KOUAKOU N'GUESSAN BAGNAN FRANCK

**Evaluation des activités antioxydantes par la méthode
ABTS de cinq benzimidazolyl-chalcones**

Soutenue publiquement le 19 juin 20018

COMPOSITION DU JURY :

Président	: Madame KOUAKOU SIRANSY GISELE, Professeur titulaire
Directeur	: Monsieur OUATTARA MAHAMA, Maître de conférences agrégé
Assesseurs	: Monsieur GBASSI KOMENAN GILDAS, Maître de conférences agrégé Madame TIGORI SANGARE BEATRICE, Maître de conférences agrégé

**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 †

II. ADMINISTRATION

Directeur

Professeur KONE BAMBA Diéneba

Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie

Professeur Ag IRIE-N'GUESSAN G.

Sous-Directeur Chargé de la Recherche

Professeur Ag DEMBELE Bamory

Secrétaire Principal

Madame NADO-AKPRO Marie Josette

Secrétaire Principal Adjoint

Madame AKE Kouadio Api Eugénie

Documentaliste

Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert

Intendant

Monsieur GAHE Alphonse

Responsable de la Scolarité

Madame DJEDJE Yolande

III. PERSONNEL ET ENSEIGNANTS PERMANENTS

1. PROFESSEURS TITULAIRES

M. ABROGOUA Danho Pascal

Pharmacologie

Mme AKE Michèle

Chimie Analytique, Bromatologie

Mme ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L.

Biochimie et Biologie Moléculaire

M. DANO DJEDJE Sébastien

Toxicologie

INWOLEY Kokou André

Immunologie

Mme KONE BAMBA Diéneba

Pharmacognosie

M. KOUADIO Kouakou Luc

Hydrologie, Santé Publique

Mme KOUAKOU SIRANSY N.

Pharmacologie

MALAN Kla Anglade	Chimie Analytique, Contrôle de Qualité
MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie
MONNET Dagui	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme. SAWADOGO Duni	Hématologie
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, Bromatologie
DALLY Laba Ismael	Pharmacie Galénique
DEMBELE Bamory	Immunologie
DJOHAN Vincent	Parasitologie –Mycologie
GBASSI K. Gildas	Chimie Physique Générale
Mme IRIE N'GUESSAN Amenan G.	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
OUATTARA Mahama	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
OUASSA Timothée	Bactériologie-Virologie
Mmes POLNEAU VALLEE Sandrine	Mathématiques biophysique
SANGARE TIGORI Béatrice	Toxicologie
M. YAPI Ange Désiré	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
ZINZENDORF Nanga Yessé	Bactériologie-Virologie

3. MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

M. DIAFOUKA François Biochimie et Biologie de la Reproduction

4. MAITRES ASSISTANTS

M.	ADJAMBRI Adia Eusebé	Hématologie
	ADJOUNGOUA Attoli Léopold	Pharmacognosie
Mmes	ABOLI-AFFI Mihessé Roseline	Immunologie
	AKA ANY-GRAH Armelle Adjoua S.	Pharmacie Galénique
	ALLA-HOUNSA Annita Emeline	Sante 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

5. ASSISTANTS

M.	ADIKO Aimé Cézaire	Immunologie
	AMICHIA Attoumou Magloire	Pharmacologie
Mmes	AKOUBET-OUAYOGODE Aminata	Pharmacognosie
	ALLOUKOU-BOKA Paule-Mireille	Législation
	APETE Sandrine	Bactériologie-Virologie
	BEDIAKON-GOKPEYA Mariette	Santé publique
	BLAO-N'GUESSAN Amoin Rebecca J.	Hématologie
M.	BROU Amani Germain	Chimie Analytique, Bromatologie
	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, Bromatologie
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
	TANOHO-BEDIA Valérie	Parasitologie-Mycologie
M.	TRE Eric Serge	Chimie Analytique, Bromatologie
Mme	TUO Awa	Pharmacie Galénique
M.	YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale
Mme	YAPO-YAO Carine Mireille	Biochimie

6. ATTACHES DE RECHERCHE

Mmes	ADIKO N'dri Mireille	Pharmacognosie
M	LIA Gnahoré José Arthur	Pharmacie Galénique
Mme	OUATTARA N'gnôh Djénéba	Santé Publique

7. IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa	Professeur Titulaire
Feu OUATTARA Lacina	Professeur Titulaire
Feu YAPO Abbé Etienne	Professeur Titulaire
Feu COMOË Léopold	Maître de Conférences Agrégé
Feu GUEU Kaman	Maître Assistant
Feu ALLADOUM Nambelbaye	Assistant
Feu COULIBALY Sabali	Assistant
Feu TRAORE Moussa	Assistant
Feu YAPO Achou Pascal	Assistant

IV. ENSEIGNANTS VACATAIRES

1. PROFESSEURS

MM.	DIAINE Charles	Biophysique
	OYETOLA Samuel	Chimie Minérale

2. MAITRES DE CONFERENCES

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

3. MAÎTRE-ASSISTANT

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

4. NON UNIVERSITAIRES

M.	AHOUSI Daniel Ferdinand	Sécourisme
	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
	KOUAKOU Tanoh Hilaire	Botanique et Cryptogamie
	N'GOZAN Marc	Sécourisme
	KONAN Kouacou	Diététique
Mme	PAYNE Marie	Santé Publique

COMPOSITION DES DEPARTEMENTS DE L'UFR
SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

I. BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

Professeur	LOUKOU Yao Guillaume	Maître de Conférences Agrégé
		Chef de département
Professeurs	OUASSA Timothée	Maître de Conférences Agrégé
	ZINZENDORF Nanga Yessé	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CABLAN Mian N'Dédey Asher	Maître-Assistant
	KOUASSI AGBESSI Thérèse	Maître-Assistant
	APETE Sandrine	Assistante
	DJATCHI Richmond Anderson	Assistant
	DOTIA Tiepordan Agathe	Assistante
	KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde	Assistante
	LATHRO Joseph Serge	Assistant

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

Professeur	MONNET Dagui	Professeur Titulaire
		Chef de Département
Professeurs	HAUHOUOT ép. ATTOUNGBRE M.L.	Professeur Titulaire
	AHIBOH Hugues	Maître de Conférences Agrégé
	AKE-EDJEME N'Guessan Angèle	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	KONAN Konan Jean Louis	Maître-Assistant
	YAYO Sagou Eric	Maître-Assistant
	KONE Fatoumata	Assistante

SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle Assistante

YAPO-YAO Carine Mireille Assistante

III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Professeur	SAWADOGO Duni	Professeur Titulaire
		Chef du Département
Professeurs	INWOLEY Kokou André	Professeur Titulaire
	DEMBELE Bamory	Maître de Conférences Agrégé
	KOUASSI Dinard	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	ABOLI-AFFI Mihessé Roseline	Maitre-Assistant
	ADJAMBRI Adia Eusebé	Maitre-Assistant
	AYE-YAYO Mireille	Maitre-Assistant
	BAMBA-SANGARE Mahawa	Maitre-Assistant
	ADIKO Aimé Cézaire	Assistant
	DONOU-N'DRAMAN Aha Emma	Assistante
	KABLAN-KASSI Hermance	Assistante
	KABRAN Tano K. Mathieu	Assistant
	KOUAME Denis Rodrigue	Assistant
	N'GUESSAN-BLAO A. Rebecca S.	Assistante
	YAPO Assi Vincent De Paul	Assistant

IV. CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

Professeur	MALAN Kla Anglade	Professeur Titulaire
		Chef de Département
Professeurs	AKE Michèle	Professeur Titulaire

	AMIN N'Cho Christophe	Maître de Conférences Agrégé
	BONY Nicaise François	Maître de Conférences Agrégé
	GBASSI Komenan Gildas	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	BROU Amani Germain	Assistant
	KPAIBE Sawa Andre Philippe	Assistant
	TRE Eric Serge	Assistant

V. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE

Professeur	OUATTARA Mahama	Maître de Conférences Agrégé
		Chef de Département
Professeur	YAPI Ange Désiré	Maître de Conférences Agrégé
Docteur	COULIBALY Songuigama	Assistant
	KACOU Alain	Assistant
	KOUAHO Avi Kadio Tanguy	Assistant
	N'GUESSAN Déto Ursul JP	Assistant
	SICA-DIAKITE Amelanh	Assistante

VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE

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

KONATE Abibatou	Maître-Assistant
VANGA ABO Henriette	Maître-Assistant
MIEZAN Jean Sébastien	Assistant
TANOH-BEDIA Valérie	Assistante

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

Professeur	KOFFI Armand A.	Maître de Conférences Agrégé
		Chef de Département
Professeurs	AMARI Antoine Serge G.	Maître de Conférences Agrégé
	DALLY Laba Ismaël	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	AKA ANY-GRAH Armelle A.S.	Maître-Assistant
	N'GUESSAN Alain	Maître-Assistant
	ALLOUKOU-BOKA P.-Mireille	Assistante
	LIA Gnahoré José Arthur	Attaché de recherche
	NGUESSAN Kakwokpo Clémence	Assistante
	N'GUESSAN-AMONKOU A.	Assistante
	TUO Awa	Assistante

VIII. PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE, CRYPTOLOGAMIE,

Professeur	KONE BAMBA Diénéba	Professeur Titulaire
		Chef de Département
Docteurs	ADJOUGOUA Attoli Léopold	Maître-Assistant
	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Maître-Assistant

ADIKO N'dri Marcelline	Attachée de recherche
AKOUBET-OUAYOGODE A.	Assistante
ODOH Alida Edwige	Assistante

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

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

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

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

XI. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE

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



DEDICACES

A l'Eternel mon Dieu Tout-Puissant

L'Eternel est mon berger, je ne manquerai de rien. Psaume 23 V1

Seigneur tu me connais et ta sainte présence m'environne.

Tu marches devant moi ; tu gardes mes pas ; ta main me soutient.

Si je t'oubliais et si tout s'effondrait devant mes yeux ; je sais Seigneur que tu resterais là car je sais que tu m'aimes.

Merci pour ton amour à mon égard. Merci d'avoir tout accompli pour moi et d'avoir tracé un chemin pour moi.

MERCI POUR TOUT ET GLOIRE TE SOIT RENDUE.

A MON PERE KOUAKOU KOUAKOU VALENTIN

Papa, tu as toujours veillé sur mes frères et moi et nous as toujours soutenus tout au long de nos parcours scolaires. Tu consacrais du temps à nous encadrer, nous conseiller sur la manière d'étudier et la nécessité de se reposer.

Aujourd'hui, je suis heureux de te présenter le fruit de tous tes conseils.

Merci papa pour tes sacrifices, ton soutien et tes efforts déployés pour mettre à notre disposition tous les outils nécessaires à notre réussite. J'espère toujours mériter ta confiance et être une fierté pour toi.

Que Dieu tout puissant te donne la santé, une longue vie et te bénisse.

A MA MÈRE N'GUESSAN AMLAN CAROLINE

Maman, j'ai le sourire aux lèvres pendant que je t'écris ces mots parce que tu es une mère formidable. Seul Dieu sait combien de fois tu as souffert et tu t'es sacrifiée pour moi et seul Dieu pourra te récompenser pour ces efforts. Merci pour toutes les prières adressées pour moi afin que j'arrive jusque-là.

Dieu te bénisse abondamment maman ; qu'il te donne une santé de fer et une longue vie. Merci pour tout, maman chérie. Saches que je t'aime.

A MES FRÈRES ET A MES SŒURS

KOUAKOU ALLA SAMUEL, KOUAKOU KOFFI AUGUSTE

KOUAKOU AMOIN ESTELLE, KOUAKOU AJFOUE VIVIANE,

KOUAKOU KONAN AJFO MELAINE

Merci pour vos prières et pour vos soutiens à mon égard. Que le seigneur vous aide dans vos différents projets.

Que Dieu vous bénisse et vous aide dans toutes vos entreprises

A MES AMIS DE LA FACULTÉ

En souvenir des moments merveilleux que nous avons passé et aux liens solides qui nous unissent. Un grand merci pour votre soutien, vos encouragements, votre aide. Avec toute mon affection et estime, je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur, autant dans votre vie professionnelle que privée. Je prie Dieu pour que notre amitié et fraternité soient éternelles

A MES TUTEURS YAO INNOCENT ET PASTEUR GOLI

Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi durant ces nombreuses années d'études. Vous avez été « le père et la mère pour moi à Abidjan », les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Vous m'avez toujours accompagné dans les moments les plus délicats de ma vie. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite que Dieu vous bénisse.

A mon oncle BOLOU KOUADIO JACQUES ET A SON EPSE

Pour vos encouragements qui m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours. Je suis sûr que vous êtes fiers de moi aujourd'hui. Merci pour tous les moyens mis à ma disposition pour la réussite de cette thèse. Vous êtes pour moi une source inépuisable de sagesse. J'implore Dieu pour qu'il vous garde en bonne santé.

A MR. JEAN KONAN BANNY ET MR. CHARLE KONAN BANNY

Merci pour tous les moyens mis ma disposition pour la réussite de cette thèse. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, que Dieu vous bénisse vous donne longue vie.

Aux étudiants de LA 34ième promotion

Je garde de très bons souvenirs de vous. Merci pour votre soutien. Je remercie particulièrement MR OUATTARA JEAN LUIS, MR DOUGBOYOU WILLIAM KAPET ET Mme N'GUESSAN N'DA PASCALINE.

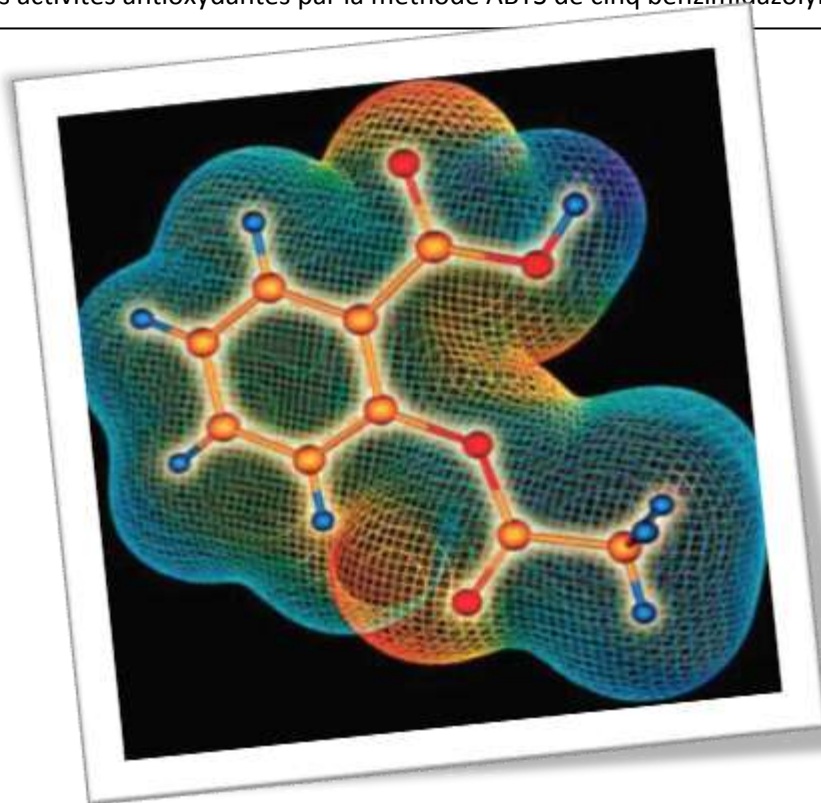
Que DIEU ait sa main sur la carrière de chacun de nous.

A tous ceux que je n'ai pas cités

Je voudrais en fin exprimer ma sincère reconnaissance envers toutes les personnes qui m'ont aidé tout au long de ce travail pour leur sympathie, aide et encouragement.

A tout le monde merci du fond du cœur.

REMERCIEMENTS



AU PROFESSEUR OUATTARA MAHAMA

Je voulais 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.

AU PROFESSEUR YAPI DESIRE

Merci pour la formation rigoureuse reçue de votre part.

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

Aux Docteurs COULIBALY SONGUIGAMA et N'GUESSAN JEAN PAUL

Je souhaite également exprimé ma reconnaissance envers mes conseillers, Dr. Jean Paul et Dr. Coulibaly pour leur temps et l'aide qu'ils m'ont apporté. Je suis certain que vous serez d'éminents chercheurs qui traverseront toute une galaxie de connaissances scientifiques dans votre carrière professionnelle.

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

Merci pour votre soutien et votre collaboration.

AU DOCTEUR KOUAKOU LANDRY

Des remerciements sont minimes pour vous signifier toute ma gratitude pour votre intégrale implication dans ce travail. Votre simplicité a brisé toutes les barrières entre nous et m'a aidé à avancer au travers de discussions toujours pertinentes. 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 MES CHERS MAITRES ET
JUGES**

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE JURY

Madame le Professeur KOUAKOU SIRANSY GISELE

- *Professeur titulaire en pharmacologie ;*
- *Titulaire d'une thèse de doctorat unique en pharmacologie de l'université Félix Houphouët-Boigny ;*
- *Titulaire d'un DEA en physiologie animale ;*
- *Membre de la Société Française de la Pharmacologie et de la thérapeutique ;*
- *Pharmacien hospitalier au CHU de Cocody ;*
- *Ancien interne des hôpitaux ;*
- *Membre de la Société Française d'Ethnopharmacologie ;*
- *Membre de la Société de Pharmacologie et de Toxicologie du Burkina Faso ;*
- *Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie.*
- *Vice-Présidente de la Société Savante Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI*

Chère Maître,

Nous sommes marqués par votre grande modestie et très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider notre jury de thèse.

Nous avons eu le privilège de bénéficier de vos qualités d'enseignant méticuleux et rigoureux, durant notre parcours universitaire. Vous avez toujours suscité notre admiration.

Nous vous prions de trouver ici, chère Maître, l'expression de notre profonde gratitude.

Que la grâce de Dieu soit sur vous.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Monsieur le Professeur OUATTARA MAHAMA

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

Cher maître,

Par votre professionnalisme, votre dynamisme, votre amour du travail bien fait, et votre esprit critique, vous avez su nous guider dans la réalisation de cette œuvre. Plus qu'un professeur, vous êtes pour nous, une père et un modèle à suivre dans notre vie. Merci pour les conseils et le soutien que vous nous avez apportés, sans cesse, tout au long de ce travail.

Ces quelques mots exprimeront difficilement toute notre reconnaissance et la fierté de vous avoir, pour toujours, comme maître.

Que le Seigneur vous bénisse et vous comble de ses grâces inépuisables.

Que DIEU vous bénisse.

NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE

Monsieur le Professeur GBASSI KOMENAN GILDAS

- *Professeur agrégé de Chimie Physique Générale à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan ;*
- *Chef du service Contrôle des Aliments, Eaux, et Boissons au Laboratoire National de la Santé Publique (LNSP) ;*
- *Titulaire d'un Doctorat en Chimie de l'Université de Strasbourg (France) ;*
- *Titulaire d'un Master en Science du Médicament de l'Université de Strasbourg(France);*
- *Titulaire d'un DEA en Chimie Physique de l'Université Félix Houphouët-Boigny ;*
- *Titulaire d'un DESS en Contrôle de qualité de l'Université Félix Houphouët-Boigny ;*
- *Titulaire d'un Doctorat en Pharmacie de l'Université Félix Houphouët-Boigny ;*
- *Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM) ;*
- *Membre de la Société Savante Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI) ;*
- *Membre du Réseau des Chercheurs en Génie des Procédés de l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF).*

Cher Maître,

C'est avec un immense honneur et une grande joie que nous vous comptons parmi les membres de ce jury. Merci pour l'enseignement de qualité et tous les conseils dont nous avons bénéficié.

Que Dieu vous bénisse.

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE

Madame le Professeur SANGARE-TIGORI BEATRICE

- *Professeur en Toxicologie (UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny)*
- *Docteur en pharmacie*
- *Titulaire d'un Doctorat (PhD) en Toxicologie*
- *Experte en Toxicologie et Produits Pharmaceutiques auprès les Tribunaux de Côte d'Ivoire*
- *Pharmacien analyste au Laboratoire National de Santé Publique (LNSP)*
- *Titulaire du Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) de Valorisation de la Pharmacopée Africaine (UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny)*
- *Titulaire du DESS de Toxicologie (UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny)*
- *Membre de la Société Savante Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI).*
- *Membre de la Société Ivoirienne de Toxicologie (SITOX)*
- *1er Prix de Communication Orale au IVe Congrès International de Toxicologie de Rabat (2012)*

Chère Maître,

Merci pour la promptitude avec laquelle vous avez accepté de juger notre travail. Cela confirme votre humilité, votre disponibilité et votre simplicité.

Veuillez trouver ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Que Dieu vous bénisse.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	XXXI
LISTE DES FIGURES	XXXII
LISTE DES TABLEAUX	XXXII
LISTE DES PHOTOS	XXXII
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	10
I.3 Stress oxydant	10
II. ANTIOXYDANTS	15
II.1 Définition	15
II.2 Systèmes antioxydants enzymatiques	16
II.3 Systèmes antioxydants non enzymatiques	17
III. CHALCONES ET POUVOIR ANTIOXYDANT	23
III.1 Généralités sur les chalcones	23
III.2 Pouvoir antioxydant des chalcones.	26
IV. CONCEPTION DES DIAZAHETEROARYL-PROPENONE ET ANALOGUES A VISEE ANTIOXYDANTE	31
V. METHODES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTI OXYDANTE	35
V.1 Les tests biologiques	35
V.2 Les tests chimiques <i>in vitro</i> :	36
DEUXIEME PARTIE : Etude expérimentale	47
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES	48
I. CADRE DE L'ETUDE	48
II. MATERIELS	48
II.1 Matériel de laboratoire	48
II.2 Réactifs chimiques de laboratoire	50

II. 3 Autre matériel	51
III. METHODE D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE	52
III.1 Principe.....	52
III.2 Mode opératoire	52
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION	56
I. RESULTATS	56
II.DISCUSSION.....	59
CONCLUSION	63
PERSPECTIVES.....	65
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	66

LISTE DES ABREVIATIONS

AAPH	: 2,2'-Azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride
ABTS	: Acide 2,2 –azino –bis – 3 ethylben-zothiazoline- 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
ERN	: Espèces réactives de l'azote
[(Fe(III)-TPTZ]	: tripyridyltriazine ferrique
FRAP	: Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (Ferric reducing/antioxidant power)
GPx	: Glutathion peroxydase
GSH	: Glutathion réduit
GSSG	: Glutathion oxydé
TAH	: transfert d'atome d'hydrogène)
TEAC	: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
HBED	: Hydroxyphényl éthylène diamine diacétate
NADPH	: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
ORAC	: Oxygen Radical Absorbance Capacity (Capacité d'Absorption des Radicaux oxygénés).
PIH	: Pyridoxal isonicotinyl hydrazone
RL	: Radicaux Libres
TES –TP	: Transfert d'un électron suivi d'un transfert de proton

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Espèces réactives de l'oxygène	9
Tableau II : Antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.....	18
Tableau III : Principaux antioxydants non enzymatiques exogènes et sources alimentaires associées.....	19
Tableau IV : Récapitulatif des principales caractéristiques des méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.	46
Tableau V : Pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire d' ABTS, des benzimidazolyl chalcones, de la substance de référence et du modèle moléculaire	56

LISTE DES PHOTOS

PHOTO 1 : Spectrophotomètre UV-Visible.....	49
---	----

INTRODUCTION

Le stress oxydant est un état anormal dans lequel se trouvent parfois nos cellules ou certains 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 neutralisé 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 propriété antioxydante, 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 suivantes : 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 Felix Houphouët Boigny, en collaboration avec le département de pharmacologie, s'intéressent à la mise au point de quelques hybrides de chalcones à visée antioxydante. 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 de cinq benzimidazolyl-chalcones afin d'identifier un chef de file en série des benzimidazolyl-chalcones. De façon spécifique, il s'agit pour nous de :

- ✓ Déterminer l'activité antioxydante de cinq benzimidazolyl-chalcones sur les cations radicalaires à l'acide 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6 sulfonique (ABTS.)
- ✓ Etablir une corrélation entre le profil chimique des dérivés de la benzimidazolyl-chalcone 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. Enfin 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 LITTERATURE

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 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 volant son électron, et la molécule attaquée devient alors elle-même un radical libre [10-12]. Le terme de radical libre est assimilé aux espèces réactives de l'oxygène (ERO).

Parmi ces espèces, un ensemble restreint de composés jouent un rôle particulier en physiologie. Il s'agit des radicaux primaires à savoir l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$), le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}), le radical

peroxyde (ROO^\bullet) et le radical alkoxy (RO^\bullet). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires tels que l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde (ONOO^-), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [2].

I.1.1 Production des radicaux libres

Il existe des voies de production des RL. Ils résultent du métabolisme de l'oxygène [10,12].

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 la 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].

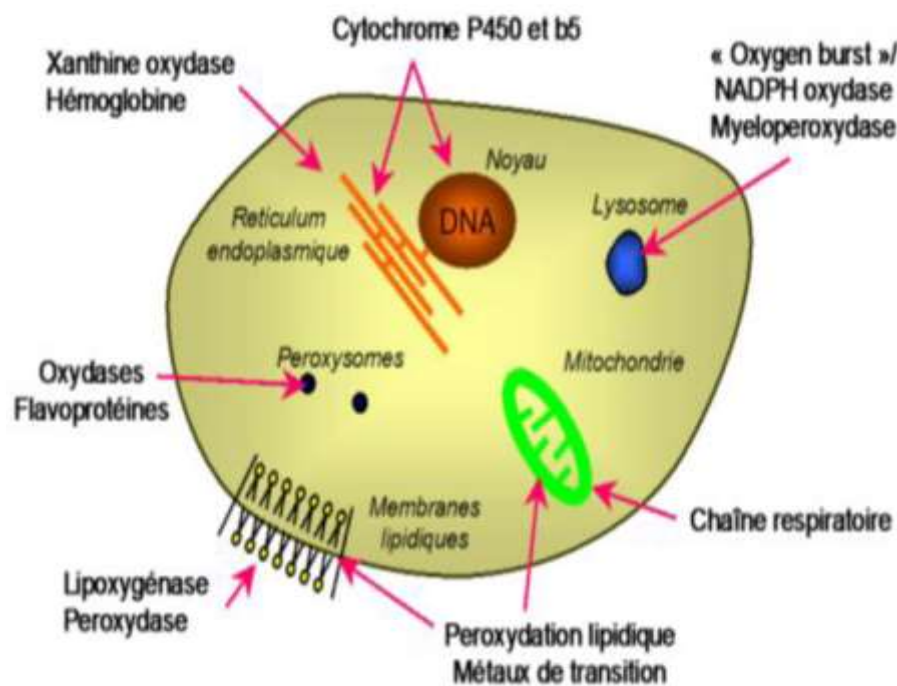


Figure 1 : Sites de production intracellulaire des ERO [15]

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 superoxydes ou de l'oxygène singulet. Les rayons X sont aussi capables de couper la molécule d'eau en deux radicaux par l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants [16]
- L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂) provenant des polluants automobiles et industriels
- Les poussières d'amiante et de silice sont des sources des ERO [2].

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

Les sources de production des radicaux libres liées au 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].
- Alimentation riche en graisses saturées, en sucre [6,13].

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

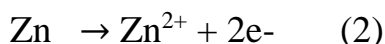
Les différents types d'espèces réactives de l'oxygène sont consignés dans le tableau ci-dessous

Tableau I : Les espèces réactives de l'oxygène [18]

Nomenclature	Formules	Principales réactions
Superoxyde	$\text{O}_2^{\bullet -}$	Catalyseur de la réaction de Haber-Weiss par recyclage de Fe^{2+} et Cu^+ ; formation du peroxyde d'hydrogène et peroxynitrite.
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Formation du radical hydroxyle ; inactivation d'enzymes : oxydation de biomolécules.
Radical hydroxyle	$\bullet\text{OH}$	capture de l'hydrogène, production de radicaux libres et peroxydes lipidiques, oxydation des thiols.
Ozone	O_3	Oxydation de biomolécules, spécialement celles contenant des doubles liaisons, formations des ozonides et des aldéhydes cytotoxiques.
Oxygène singulet	$^1\text{O}_2^{\bullet -}$	Réaction avec les doubles liaisons, formations de peroxydes, décomposition des aminoacides et nucléotides.
Oxyde nitrique	NO	Formation de peroxynitrite, réaction avec les autres radicaux.
Peroxynitrite	$\text{NO}_3^{\bullet -}$	Formation du radical hydroxyle, oxydation des groupements thiols et aromatiques, conversion de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase, oxydation des biomolécules.
Hypochlorite	$\text{ClO}^{\bullet -}$	Oxydation des groupements amine et sulfure, formation de chlore.
Radical alkyl	R^{\bullet}	Abstraction de l'hydrogène, formation de radicaux peroxy et autres radicaux.
Radical peroxyde	RO_2^{\bullet}	capture de l'hydrogène, formation de radicaux, décomposition de lipides et autres biomolécules.
Hydro peroxyde	RO_2H	Oxydation de biomolécules, destruction de membranes biologiques.

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 la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire, des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, en concentration élevée, ils deviennent hautement cytotoxiques [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 brin 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) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement [10].

Ces modifications peuvent avoir de graves conséquences sur la réplication du génome. Les niveaux élevés de ces lésions ont été enregistrés dans plusieurs types tumoraux et sont grandement impliqués dans toutes les étapes de la cancérogenèse [25].

I.3.2.3 Cas des lipides

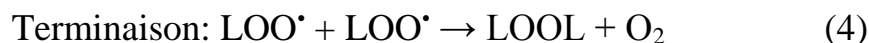
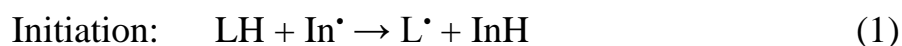
La peroxydation des lipides est la dégradation des acides gras membranaires. Elle constitue par conséquent un indice de dommages oxydatifs effectués sur les lipides. La peroxydation lipidique génère une variété de produits de décomposition relativement stables, principalement des aldéhydes insaturés 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 induit 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]:



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 carcinogénéicité 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.

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. Cela 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 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 β amyloïde semble être un acteur important de la survenue de cette maladie. En effet on la retrouve dans les plaques séniles caractéristiques de la maladie. Elle possède un effet toxique sur les cellules neuronales [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 β amyloïde est toujours associée à la présence des ERO. Il a été démontré que le stress oxydant favorise l'agrégation de β 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].

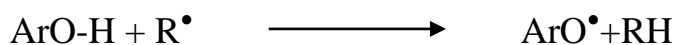
II. ANTIOXYDANTS

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. Grâce à cette réaction, le radical libre devient stable et ne présente

aucun danger, il sera éliminé naturellement par l'organisme. L'antioxydant auquel il manque un électron, a l'avantage de ne pas se transformer en radical libre. Il devient inactif [13]. Dans le cas des polyphénols nous avons la réaction suivante :



La stabilisation du radical ArO^\bullet se fera grâce à la délocalisation des électrons π 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 endogènes (naturellement fabriquées par notre organisme) ou bien exogènes (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_x) qui réduit le peroxyde d'hydrogène en eau en oxydant le glutathion réduit (GSH) en disulfure de glutathion oxydé (GSSG). Il neutralise aussi directement l'anion superoxyde et le radical hydroxyle.

Les systèmes antioxydants enzymatiques ayant une faible action sont :

- ✓ glutathion réductase,
- ✓ thioredoxine réductase,
- ✓ glutathion transférase [9].

II.3 Systèmes antioxydants non enzymatiques

Les systèmes antioxydants non enzymatiques peuvent être endogènes ou exogènes.

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 oxydées et réduites de l'acide lipoïque, grâce à leurs groupements thiols, sont capables de piéger les espèces réactives suivantes : $\text{HO}\bullet$, $\text{RO}_2\bullet$, HOCl et $^1\text{O}_2$ [48].
- ✓ L'acide urique qui possède des propriétés antioxydantes contre $\text{HO}\bullet$ et $\text{RO}_2\bullet$, 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 ₂ [*] en H ₂ O ₂ et O ₂
Catalase	Hydrophile	Dismute d' H ₂ O ₂ en H ₂ O et O ₂
Glutathion peroxydases (GPX)	Hydrophile Ou Lipophile	Réduction de R-OOH en R-OH
Glutathion réductase (GSR)	Hydrophile	Réduction du glutathion oxydé
Glutathion-S-transférase (GST)	Hydrophile	Conjugaison de R-OOH au GSH (→ GS-OR)
Métallothionéines	Hydrophile	Fixation aux métaux de transition (=neutralisation)
Thiorédoxines	Hydrophile	Réduction R-S-S-R en R-SH
Glutathion	Hydrophile	Réduction R-S-S-R en R-SH Piégeur des radicaux libres Cofacteur de la GPX et GST
Ubiquinol	Lipophile	Piégeage des radicaux libres Recyclage des tocophérols (Vitamine E) Maintient les enzymes dans les états réduits
Rétinoïdes (vit A) et caroténoïdes	Lipophile	Piégeage des radicaux libres Désactivent l'oxygène singulet ¹ O ₂
Tocophérols (vit E)	Lipophile	Piégeage des radicaux libres (préviens LPO) Augmenter 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 antioxydant	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrumes, melon, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs, noix
β -carotène	Légumes et fruits
Sélénium	Poisson, œufs, viandes, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acide phénoliques	Céréale complètes, baies, cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins

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

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

La vitamine C est une molécule hydrosoluble. Elle empêche l'oxydation des LDL (lipoprotéines) et assure le piégeage des ERO produites par divers systèmes pro-oxydants (polynucléaires neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myeloperoxydases) [10,51].

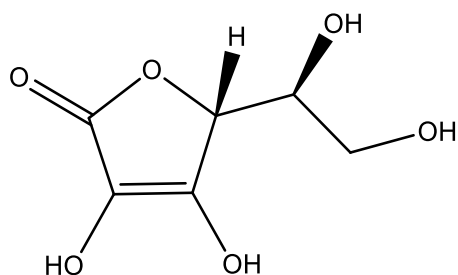
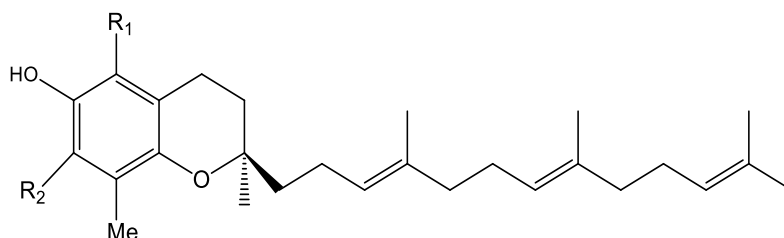


Figure 2 : Structure chimique de la vitamine C.

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 surtout leur rôle physiologique chez l'Homme, comme protecteurs des structures membranaires et des lipoprotéines ou pour lutter contre le stress oxydant. Elle prévient l'apparition d'hydropéroxydes en piégeant les radicaux $\text{LOO}\cdot$.

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



$\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{Me}$ α -tocophérol

$\text{R}_1 = \text{Me}, \text{R}_2 = \text{H}$ β -tocophérol

$\text{R}_1 = \text{H}, \text{R}_2 = \text{Me}$ γ -tocophérol

$\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$ δ -tocophérol

Figure 3 : Structure chimique des vitamines E.

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

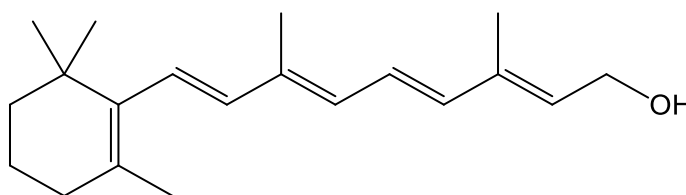


Figure 4 : Structure chimique d'un rétinoïde

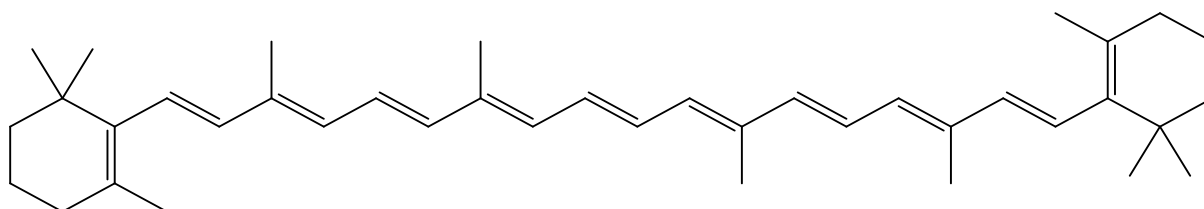


Figure 5 : Structure chimique des β -carotènes

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 composés phénoliques et spécialement

les flavonoïdes est fortement dépendante de la nature et de la position des substituants, en particulier le nombre des groupements hydroxyles [52].

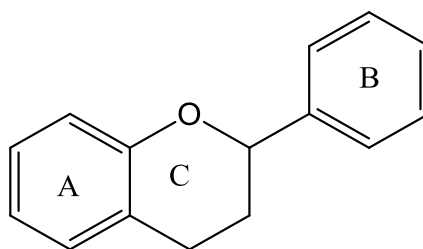


Figure 6 : Structure chimique de base des flavonoïdes

Les composés phénoliques (Figure 7) ont leurs structures qui comportent un ou plusieurs groupements OH-phénoliques. Les polyphénols piègent les radicaux libres par un mécanisme de transfert de l'atome d'hydrogène. Ils jouent un rôle important et sont capables d'interagir avec les métaux de transition, notamment avec le fer et le cuivre [53]. En effet les ERO sont produits abondamment par réduction d' O_2 par le Fe^{2+} ou le Cu^+ aboutissant à la formation de superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de radicaux oxyle (réaction de Fenton). Ainsi la formation de complexes chélateurs stables et inertes est un mécanisme antioxydant.

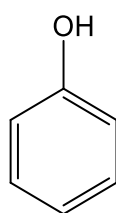


Figure 7 : structure d'un phénol

Le sélénium est un oligo-élément indispensable à l'enzyme antioxydant appelée le glutathion peroxydase. De même le sélénium est capable d'interagir dans

l'organisme avec de nombreux métaux (As, Pb, Hg, Cd) et est de ce fait susceptible de moduler leurs toxicités.

Il est responsable des effets anticancéreux et antvieillissement [13,18].

Le zinc joue un rôle important dans la prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres. En effet le zinc est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il protège également les groupements thiols des protéines et il peut inhiber les réactions de formation d'ERO induites par des métaux de transition comme le fer ou le cuivre. Le rapport Cu / Zn (normalement inférieur à 1,5) sera un excellent indicateur de l'état de stress oxydant d'un individu. Les aliments les plus riches en zinc sont les viandes et les poissons, les céréales complètes et les légumes secs; les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 20 mg [10].

Le cuivre à concentration physiologique est le cofacteur d'enzymes comme (SOD). Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement des réactions de production d'ERO (réactions de Fenton) et peut, lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant. Les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 2,5 mg. Il est présent dans le son, l'avoine, le seigle, le foie de veau [10].

III. CHALCONES ET POUVOIR ANTIOXYDANT

III.1 Généralités sur les chalcones

III.1.1 Définition et propriétés biologiques

Les chalcones sont des énones aromatiques (**Figure 8**) qui appartiennent à la famille des flavonoïdes. Elles peuvent exister sous forme de deux stéréoisomères *Z* et *E*, dont les stéréoisomères *E* sont les plus abondantes. Les chalcones ont des propriétés biologiques importantes telles que les activités antibactériennes, fongicides, antitumorales et anti-inflammatoires [54]. 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].

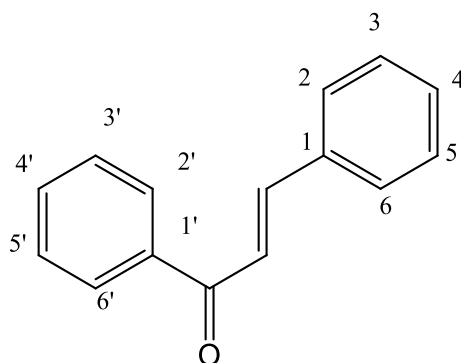


Figure 8: Structure générale d'une chalcone

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

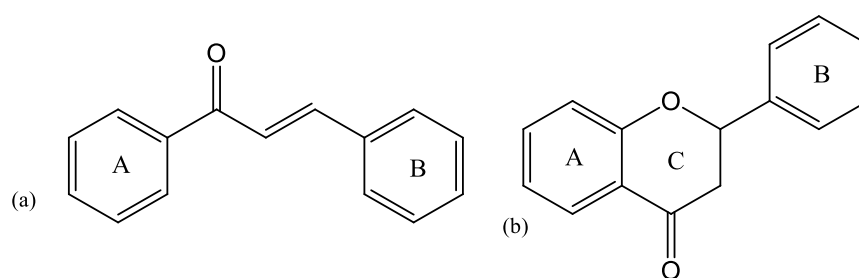


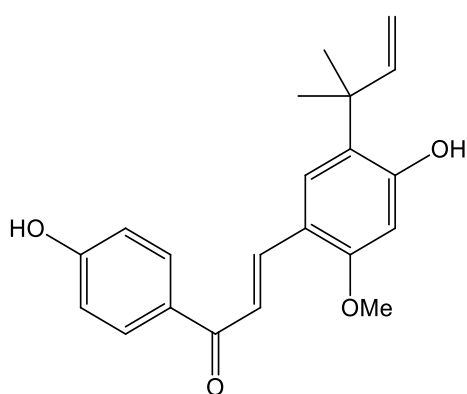
Figure 9: Profil chimique des chalcones (a) et flavanones (b)

La présence d'une double liaison conjuguée confère aux chalcones une couleur jaune. En conséquence, les dihydrochalcones sont généralement incolores. La configuration de la double liaison est généralement E dans les chalcones naturelles [59]. Ces composés sont rarement substitués sur le cycle

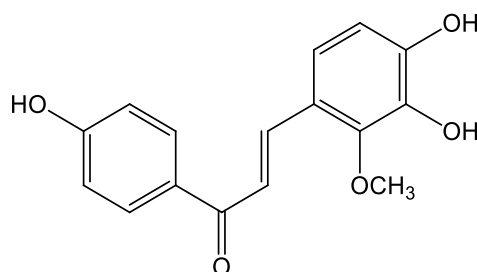
B.

III.1.2 Origine

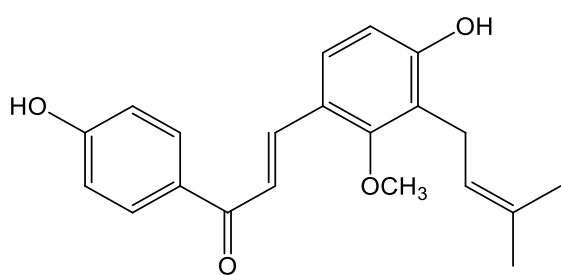
Les chalcones, pour la plupart, ont été isolées des plantes productrices de flavonoïdes. Elles peuvent se diviser en deux types : les chalcones naturelles et les chalcones de synthèse. Par exemple, des chalcones naturelles possédant des activités antioxydantes ont été isolées des racines de *Glycyrrhiza inflata* (**Figure 10**) [60]. D'autres possédants des activités antiémétiques ont été isolées à partir des graines de *Alpinia katsumadai*[61].



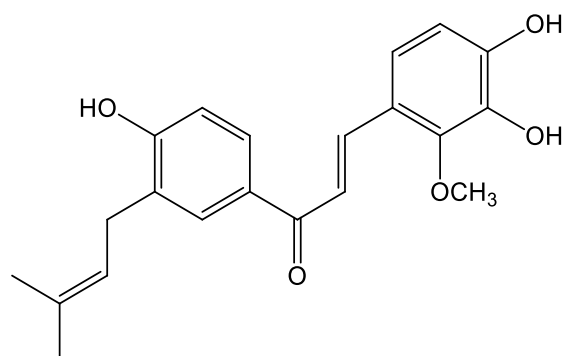
Lichochalcone A



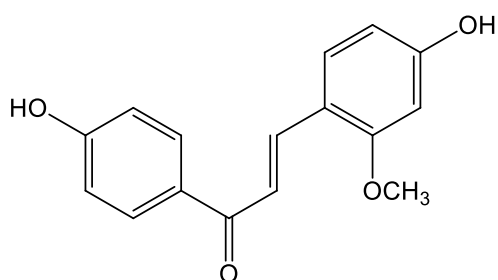
Lichochalcone B



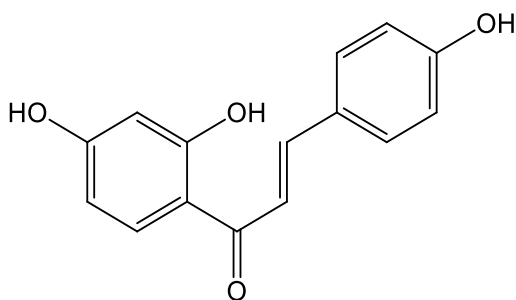
Lichochalcone C



Lichochalcone D



Enchinatin



Isoliquinitigenine

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

III.2 Pouvoir antioxydant des chalcones.

Les mécanismes permettant d'attester les propriétés antioxydantes des chalcones sont [62]:

- le piégeage direct des espèces réactives oxygénées ;
- l'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production des espèces réactives oxygénées ;
- la protection des systèmes de défense antioxydante.

Ainsi la naringénine-chalcone (**figure 11**), la tetrahydroxychalcone (**figure 12**) et l'hesperidine-chalcone (**figure 13**) ont montré des activités inhibitrices vis-à-vis de la xanthine oxydase qui est une source biologique importante de production de radicaux libres. Cette activité inhibitrice s'est avérée être fonction de la position et du nombre des groupements hydroxyles phénoliques de ces chalcones [62,63].

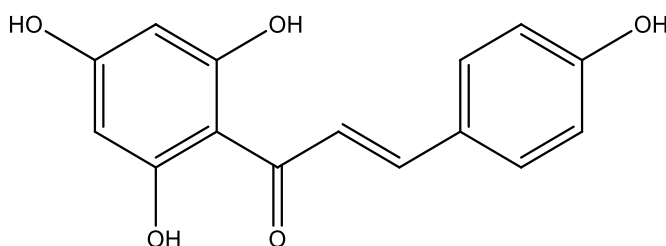


Figure 11 : Structure chimique de la naringénine-chalcone

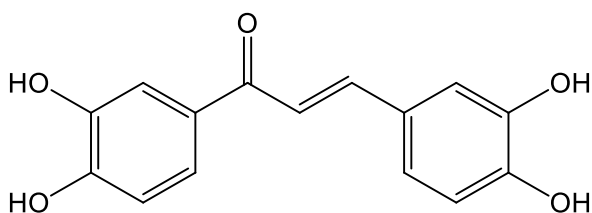


Figure 12 : Structure chimique d'une tetrahydroxychalcone

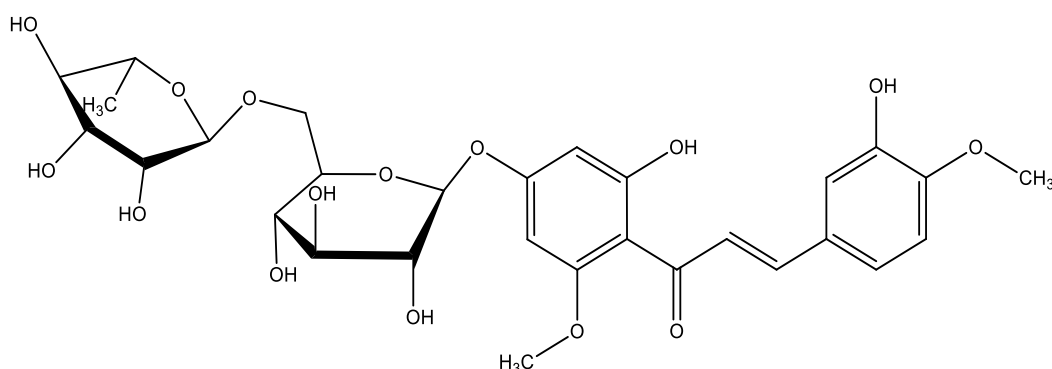


Figure 13 : Structure chimique de l' hespéridine-chalcone

III.2.1. Pouvoir chélateur des métaux de transition

Le pouvoir chélateur des métaux de transition a été étudié avec les chalcones à cycle fermé notamment les flavonoïdes. Ce pouvoir antioxydant peut s'exercer par la complexation des métaux de transition (exemple : le cuivre et le fer). En effet, ces derniers accélèrent la formation des ERO. Les deux points de fixation des ions de transition par les flavonoïdes sont (**Figure 14**) : les groupes OH phénoliques en position 3', 4' du cycle B (**14 a**), et entre la fonction cétonique en 4 et l'hydroxyle en 3 du cycle C (**14 b**) ou la fonction cétonique en 4 du cycle C et l'hydroxyle en 5 du cycle A (**14 c**) [64].

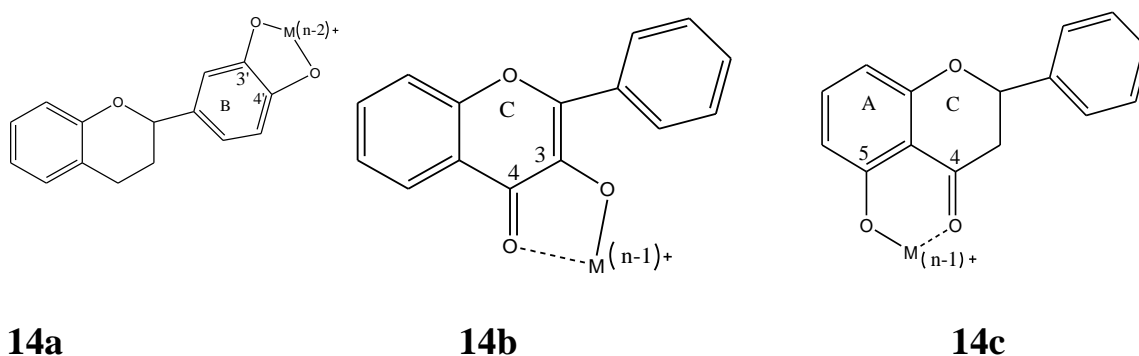
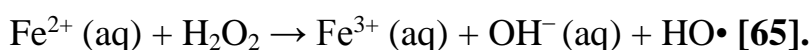


Figure 14 : Les sites de complexation des métaux par les flavonoïdes

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



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

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

- La desferrioxamine

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

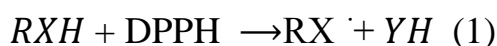
III.2.2 Activités sur les radicaux libres

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 anti-radicalaires 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.

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

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



Où X est soit 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 a 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⁻¹ (isoforme de l'hème oxygénase induit en réponse à divers stress)
- ✓ de déclencher la synthèse et l'exportation du GSH [70-75].

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

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

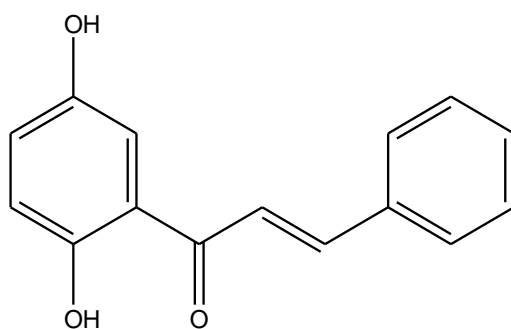


Figure 15 : structure chimique d'une dihydroxychalcone.

IV. CONCEPTION DES DIAZAHETEROARYL-PROPENONE ET ANALOGUES A VISEE ANTIOXYDANTE

Depuis quelques années se développe dans le milieu des sciences biologiques et médicales le concept du « stress oxydant », qui serait à l'origine de plusieurs maladies qui apparaissent avec l'âge telles que le diabète, les rhumatismes, les maladies cardiovasculaires [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*. Ces dernières agiraient d'une part par inhibition du système enzymatique xanthine / xanthine oxydase impliqué dans la production d'anions superoxydes et d'autre part par un piégeage direct du radical α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyle (DPPH) [60].

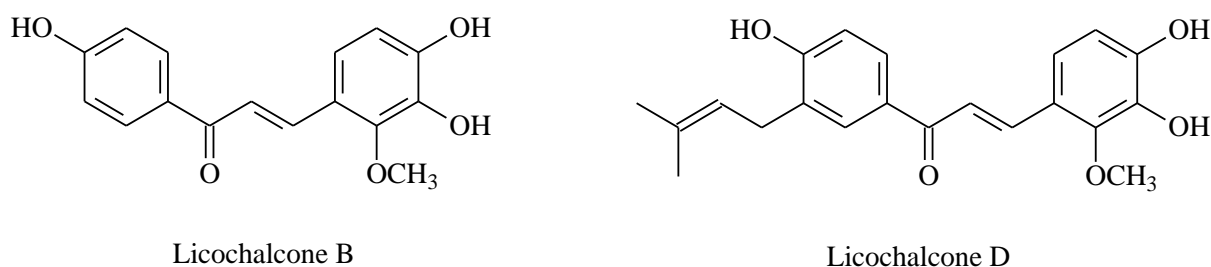


Figure 16: Structures chimiques des Licochalcones B et D

Les activités antioxydantes de certaines chalcones de synthèse 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 α -cyanopropénones. De tels enchainements fonctionnels insaturés alpha, beta éthyléniques ont pour supports, des diaza-hétéroaryles de nature benzimidazole ou imidazopyridine (**Figure 17**).

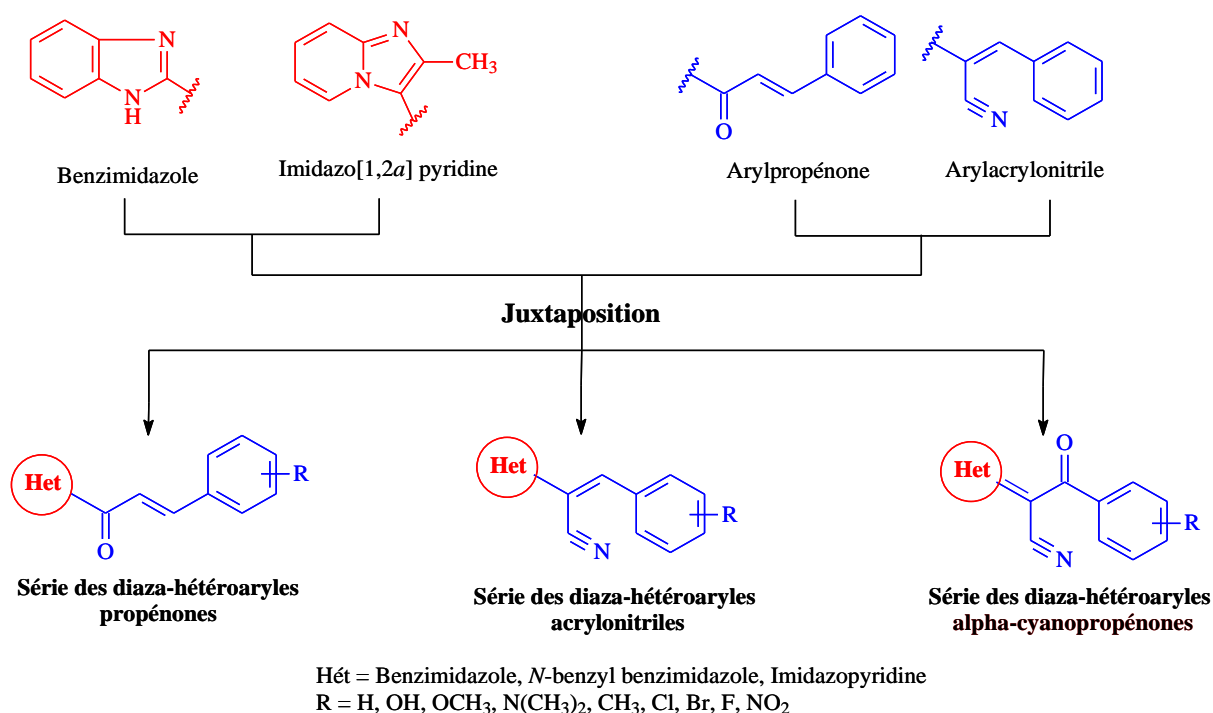


Figure 17: Conception et profil chimique des diaza-hétéroaryl propénones et analogues structuraux acrylonitriles

Ces hybrides d'arylpropénones et analogues structuraux acrylonitriles ont été développés dans notre département pour leurs propriétés anti-infectieuses notamment anthelminthiques, antipaludiques et anti-candidosiques [59,89 - 92]. Compte tenu de leur groupement fonctionnel comparable 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 oxydatif et de ses implications pathologiques, notamment dans le diabète, le rhumatisme, les maladies cardiovasculaires, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, et dans certains types de cancers.

Dans le cadre de notre travail de recherche nous nous sommes singulièrement intéressés à l'axe relatif à l'évaluation des pouvoir antioxydant des benzimidazolyl-arylpropénones, ou encore appelées benzimidazolyl-chalcones (**Figure 18**).

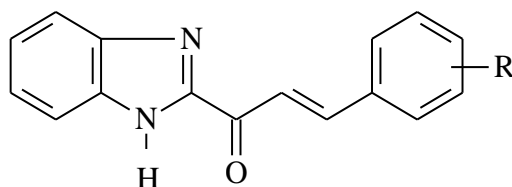


Figure 18: Profil chimique des benzimidazolyl-arylpropénones à visée antioxydante ou benzimidazolyl-chalcones .

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

Les méthodes de détermination de l'activité antioxydante utilisées pour les substances naturelles et composés chimiques se répartissent en deux groupes.

Pour ce qui concerne les substances chimiques on a: 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 (CAP-e)** : Le test CAP-e est effectué en incubant d'abord les globules rouges avec un échantillon d'essai à diverses concentrations. Les cellules sont ensuite combinées avec du diacétate de dichloro-fluorescéine (DCFDA), qui est oxydé en présence de radicaux libres pour former un sous-produit fluorescent vert (DCF). Dans l'étape suivante du test, du peroxyde d'hydrogène exogène est ajouté à une concentration de 167 mM pour induire artificiellement un stress oxydatif sévère. L'activité 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 *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-ethylbenzothiazoline-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.

Parmi ces tests les trois Principaux sont les suivants

- ✓ Le test au 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ;
- ✓ Le test à l'Acide 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-sulfonique (ABTS) ;
- ✓ Le test Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC).

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

Parmi ces méthodes spectrophotométriques, les plus utilisées sont [52] :

- 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 reducing antioxidant power.

Nous allons passer en revue les principes, les interprétations, les limites et les avantages de ces principaux tests utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante.

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

V.2.1.1 Principe

Le DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical azoté stable qui absorbe la lumière UV et visible avec un maximum d'absorption à 517 nm. Lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène, il perd sa couleur violette et vire au jaune (Figure 19) [49].

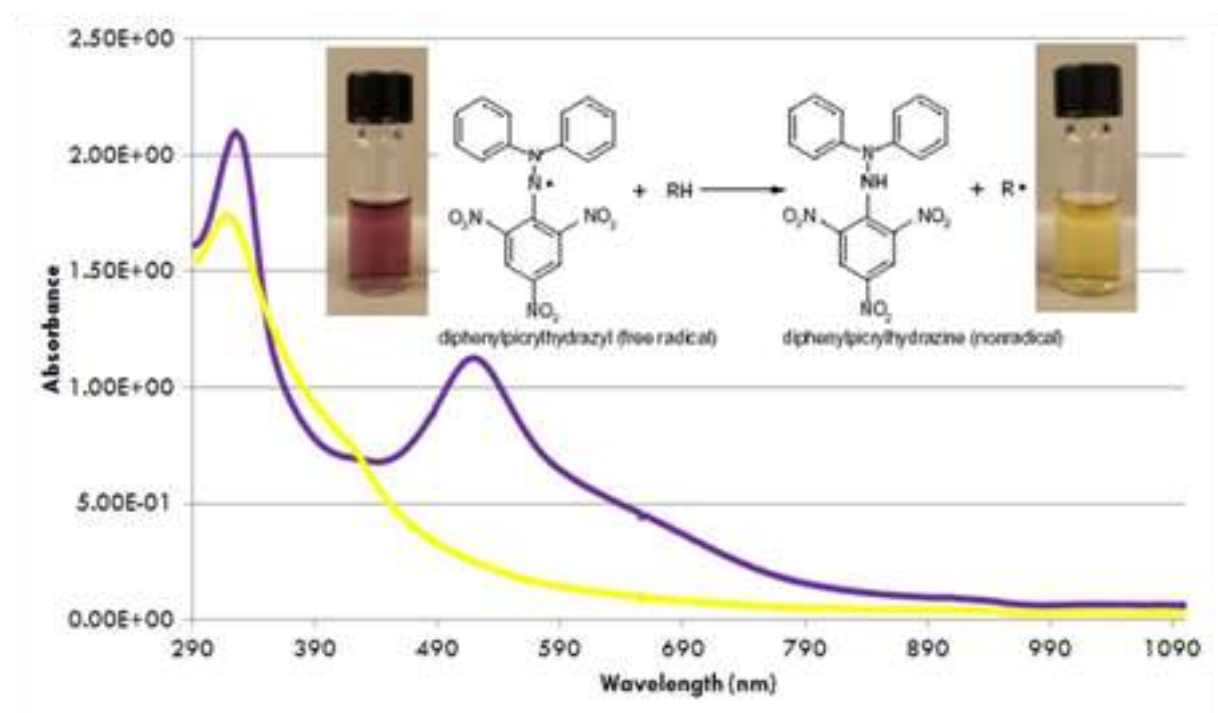


Figure 19: Spectre d'absorption du DPPH et oxydation du radical DPPH [95].

V.2.1.2 Interprétation

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

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

où 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 dissout 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. Parmi ces facteurs nous avons : le solvant, le pH, la concentration de l'échantillon et le temps de réaction.
- Les antioxydants qui réagissent rapidement avec les radicaux 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 (Fe^{3+}).

La capacité totale en antioxydant de chaque extrait est déterminée par la méthode Hinneburg adaptée par Lamien- Meda *et al.* en 2008. Le dosage consiste à réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique $[(\text{Fe(III)}-\text{TPTZ})]$ de couleur jaune en complexe ferreux $[(\text{Fe(II)}-\text{TPTZ})]$ de couleur bleue, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron (**figure 20**). La variation de la coloration est mesurée 593 nm [47].

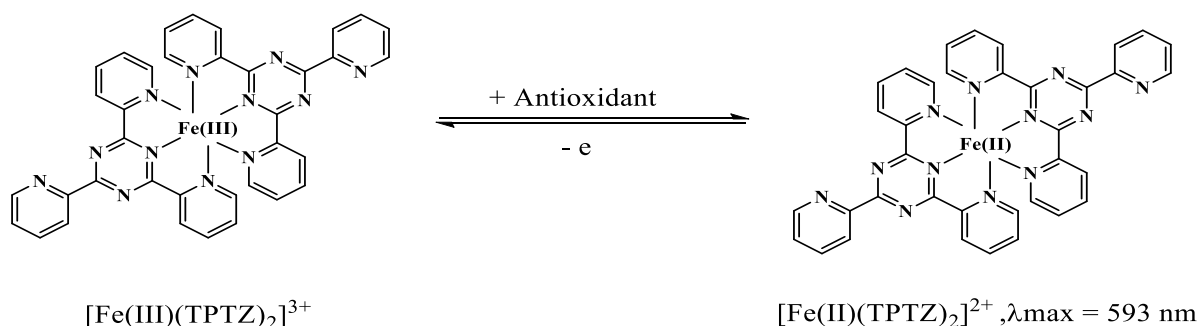


Figure 20 : réduction du complexe tripyridyltriazine ferrique en complexe ferreux [46].

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. 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

Le test FRAP présente plusieurs limites :

- Il fut montré que certains produits de réactions entre le révélateur et le produit testé peuvent interférer avec la mesure d'absorbance. C'est le cas par exemple de la bilirubine qui se transforme en biliverdine lorsqu'elle est oxydée. Cette dernière absorbe à 593 nm et mène à une surestimation du potentiel réducteur de la bilirubine [49].

-Du fait que cette méthode n'implique aucun substrat oxydable, elle ne renseigne donc en rien sur la capacité du produit testé à protéger quelconque substrat biologique contre l'oxydation [48].

-Ce test nécessite un temps de réaction plus long pour détecter certains polyphénols qui réagissent lentement. L'ordre de réactivité de nombreux antioxydants différents peut varier considérablement. Pulido et al. (2000) ont rapporté que de nombreux échantillons montrent ces longs temps de réaction, notamment: l'acide caféique, l'acide tannique, l'acide férulique, l'acide ascorbique et la quercétine [102].

- Le Fe^{2+} est un «pro-oxydant» bien connu qui peut réagir avec le H_2O_2 pour produire un radical hydroxyle (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 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 Fe^{3+} [97].

V.2.2.4 Avantages du Test

Le test FRAP présente de nombreux avantages :

- Ce test est originellement conçu pour caractériser le potentiel antioxydant du plasma sanguin, il est aussi adéquat pour caractériser le potentiel de composés purs [49].
- Test simple, rapide, peu coûteux et robuste ne nécessitant aucun équipement spécialisé et pouvant être effectué manuellement ou automatiquement.
- Il s'agit d'un transfert total d'électrons plutôt que d'un mélange de transfert unique d'électron (TEU) et de transfert 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 AAPH [2,2'-Azobis(2-méthylpropionamidine) dihydrochloride]. 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) [49].

V.2.3.2 Interprétation

La quantification se mesure en calculant l'aire sous la courbe de l'échantillon testé et en le comparant à celle du trolox. On obtient alors l'indice ORAC exprimé en $\mu\text{mol Trolox/ mg}$ de produit testé.

V.2.3.3 Limites du Test

Le test ORAC présente un certain nombre de limites :

- Il ne mesure que la capacité antioxydante contre les radicaux peroxy 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 :

- Le test ORAC utilise une source biologiquement pertinente de radicaux et c'est la seule méthode qui combine à la fois le temps d'inhibition et le degré d'inhibition des radicaux libres en une seule quantité [105,106].
- Il a été récemment 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 a la capacité d'utiliser différents générateurs de radicaux libres ou oxydants, et peut mesurer de nombreux composés différents tels que des antioxydants contre les radicaux peroxy et hydroxyle.
- Sa mise en œuvre est peu coûteuse et rapide.
- Cette méthode est largement utilisée.

V.2.4 Test d'ABTS (Acide 2,2 –azino –bis – 3 ethylben-zothiazoline- 6 sulfonique)

V2.4.1 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 ainsi obtenue est ajustée entre 1 et 1,5 à 734 nm avant l'usage.
- A partir de l'ABTS et du chlorure du 2,2'- azolibis (2 – amidino – propane) (AAPH) jouant le rôle d'initiateur de réaction dans le tampon phosphate salin (PBS) à pH : 7,4. Le mélange est chauffé à 68°C. L'absorbance de la solution (bleu-vert) ajusté entre 1 et 1,5 à 734 nm.

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

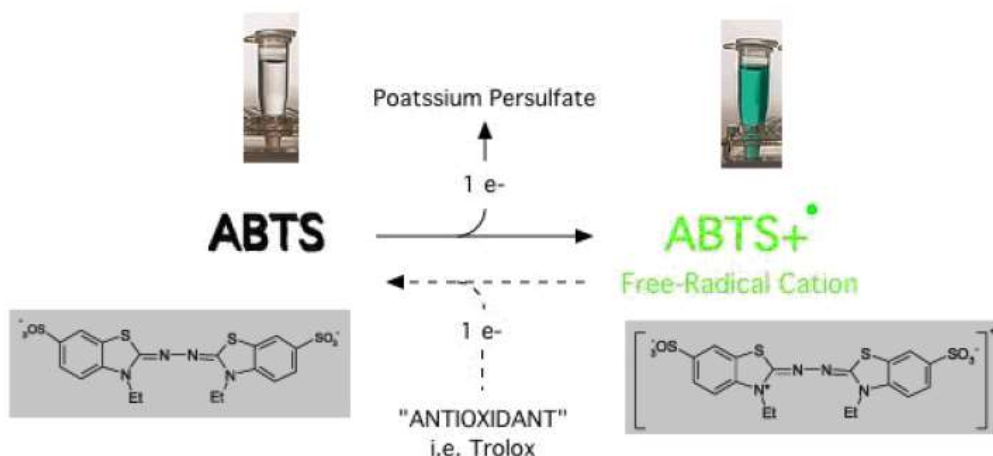


Figure 21 : Réaction chimique de l'ABTS [108].

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.

Il 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*.

V2.4.4 Avantages du Test

Les avantages du test ABTS sont :

- C'est une 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 hydrophiles ou lipophiles [97,98].
- Il réagit rapidement avec des antioxydants dans les 30 minutes et peut être utilisé sur une large gamme de pH

Les caractéristiques de ces principaux tests sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau IV : Récapitulatif des principales caractéristiques des méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant.

Tests	DPPH	ORAC	ABTS	FRAP
Caractéristiques				
Mécanismes réactionnels	-transfert d'électron Majoritaire	- transfert de proton	-transfert d'électron et de proton	-transfert d'électron
Nature des molécules testées	-hydrophiles ou lipophiles	- lipophiles ou hydrophiles	-hydrophiles ou lipophiles	-hydrophile
Expression des résultats	-CI 50 et /ou en mg μ mol équivalent Trolox®	μ mol équivalent Trolox®	-CI 50 et /ou μ mol équivalent Trolox®	-en mg μ mol équivalent Fe ⁺²
Avantages	- très facile à mettre en œuvre - peu couteux	- peu couteux - rapide	- très facile à mettre en œuvre - cinétique de la réaction très rapide - peu couteux	- très faciles 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)

DEUXIEME PARTIE :
Etude expérimentale

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

I. CADRE DE L'ETUDE

Notre étude s'est déroulée au sein de l'Unité de Formation et de Recherche des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, précisément dans deux départements que sont:

- ✓ Le département de Chimie Thérapeutique et Chimie Organique.
pour la synthèse chimique l'interprétation des résultats et la rédaction de la thèse
- ✓ Le département de pharmacologie, pharmacie clinique et thérapeutique, et physiologie humaine pour l'évaluation des activités antioxydantes de nos molécules.

Nous avons réalisé une étude de type expérimentale sur 5 dérivés de la benzimidazolyl-chalcone qui s'est déroulée sur une période de 9 mois précisément de juillet 2017 à mars 2018.

II. MATERIELS

II.1 Matériel de laboratoire

Balance de précision

Marque : OHAUS ADVENTURER®

TYPE : AX523E

MAX : 520g

d: 0.001g

Fabriqué en Belgique

Bain marie

Marque : SALVIS AG® 6015

TYPE : SBK 25D

Fabriqué en Allemagne



PHOTO 1 : Spectrophotomètre UV-Visible

Marque: JENWAY®

TYPE: 7315

S/N : 39779

Fabriqué en Ukraine

Vortex

Marque: NEUATION®

TYPE: K-550-GE

S/N: 21647

Fabriqué en suisse

Micropipettes

- ✓ Marque : TRANSFERPETTE® S
- ✓ Distributeur de volume BRAND : (500µL à 5ml)
- ✓ Pipette à usage unique : 100 µL Marque : TRANSFERPETTE® S

II.2 Réactifs chimiques de laboratoire

II.2.1 Réactifs chimiques

- ✓ Méthanol
- ✓ Poudre d'ABTS (2,2'-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
- ✓ Persulfate de potassium

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

II.2.2.1 Molécule de synthèse

Les 5 dérivés de la benzimidazolyl-chalcone ont été synthétisés, caractérisés et fournis par le laboratoire de chimie thérapeutique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques d'Abidjan sous forme de poudre. Pour notre part, nous nous sommes focalisés sur l'évaluation de l'activité antioxydante.

II.2.2.2 Substance antioxydante de référence

La substance antioxydante de référence est le trolox fourni par SIGMA ALDRICH. Le Trolox ou acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2*H*-1-benzopyran-2-carboxylique (**Figure 22**), est l'analogue hydrosoluble de la vitamine E utilisé en biologie pour limiter les dommages dus au stress oxydant.

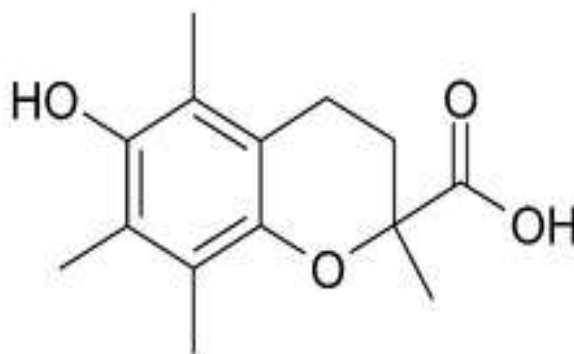


Figure 22 : Structure chimique du Trolox

II.2.2.3 Modèle moléculaire

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

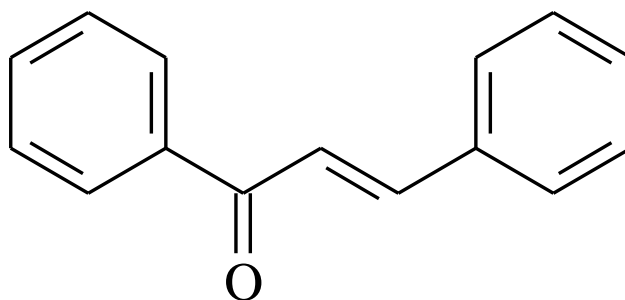


Figure 23 : Structure chimique du 1,3- diphénylpropénone

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 couteuse.

III.1 Principe

L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) ou ABTS est utilisé pour évaluer les capacités antioxydantes en le transformant en radical cationique ($ABTS^{\bullet+}$), après adition du persulfate de Potassium ($K_2S_2O_8$) [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, qui est la molécule de référence pour l'évaluation de l'activité antioxydante. Cela explique pourquoi cette méthode est aussi appelée capacité antioxydante en équivalent Trolox (Trolox equivalent antioxidant capacity : TEAC) [49,115-117].

III.2 Mode opératoire

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

III.2.1 Préparation des échantillons

➤ Préparation de 20mL de la solution ABTS à 7mM.

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

$m = M \times C \times V$ (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'agit donc de peser 0,072g soit 72mg de ABTS pour le dissoudre dans 20mL de méthanol pur ($V_f = 20\text{mL}$).

➤ Préparation de 20mL de la solution de potassium persulfate 2,6mM ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$).

Calcul de la masse à peser de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 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 ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) : 270,322 g/mol

C: 0,0026 mol/L

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

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

m = 0,014g soit 14mg

Il s'agit donc de peser 0,014g soit 14mg de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ pour le dissoudre dans 20mL de méthanol pur ($V_f = 20\text{mL}$).

➤ Préparation de 40mL de solution du radical cation ABTS

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

20 mL de solution ABTS à 7mM

+

20 mL de solution potassium persulfate 2,6mM

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

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

III.2.2 Essais de décoloration du radical ABTS^{•+}

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

- Réalisation d'une gamme de concentration échantillon (1- 0,5 - 0,25 - 0,125 - 0,0625).
- Ajout dans un tube à essai 100 µL de l'échantillon + 2500 µL de réactif ABTS pour chaque concentration puis incubation à l'abri de la lumière pendant 30 minutes.
- Préparation du blanc : Mélange de 100 µL de méthanol et de 2500 µL de réactif ABTS puis incubation à l'abri de la lumière pendant 30 minutes.
- Le contrôle positif est représenté par un standard d'un antioxydant : Trolox dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons : mélange de 100 µL de Trolox + 2500 µL de réactif ABTS puis incubation à l'abri de la lumière pendant 30 minutes.
- Le milieu réactionnel vire du bleu-vert à une décoloration complète

- La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel s'est faite à 734nm dans le visible (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 :

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

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

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

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

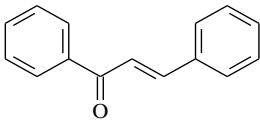
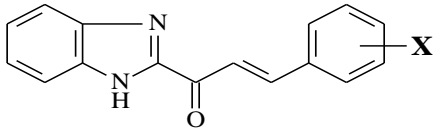
I. RESULTATS

I.1 Présentation des résultats

L'activité antioxydant du modèle moléculaire chalcone ou 1,3-diphényl propénone (**composé R**) ainsi que celui de la benzimidazolyl-chalcone (**S1**) et de ses dérivés (**T1 à T4**) ont été comparés à celle du témoin positif ou Trolox, substance antioxydante de référence.

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

Tableau V : Pourcentage moyen d'inhibition du cation radicalaire d'ABTS, des benzimidazolyl chalcones, du témoin positif et du modèle moléculaire

Composés	Structures	Pourcentages moyen d'inhibition du radical ABTS
R		6,14 ± 0,29
S1		X
T1		H
T2		3-OH
T3		4-OCH ₃
T4		4-N(CH ₃) ₂
		4-Br
Trolox ou témoin positif		99,12 ± 0,06

Ces résultats montrent que :

*Le modèle moléculaire (**R**) a induit un pouvoir antioxydant en inhibant le radical ABTS avec un pourcentage moyen de **6%**.

*La substance de référence utilisée (le trolox) a présenté un pourcentage moyen d'inhibition de **99%**.

* Tous les 5 dérivés du benzimidazolylchalcone ont donné un pourcentage moyen d'inhibition du radical ABTS allant de **35%** à **50%**. Ces pourcentages d'inhibition sont supérieurs à celui du modèle moléculaire **6%** et inférieur à celui du témoin positif qui est de **99%**.

Afin d'apprécier l'amplitude ou l'activité antioxydante des chalcones par rapport au témoin positif ou trolox et par rapport au modèle moléculaire (**composé R**), les inhibitions moyennes ont été traduites en histogrammes (**Figure 24**).

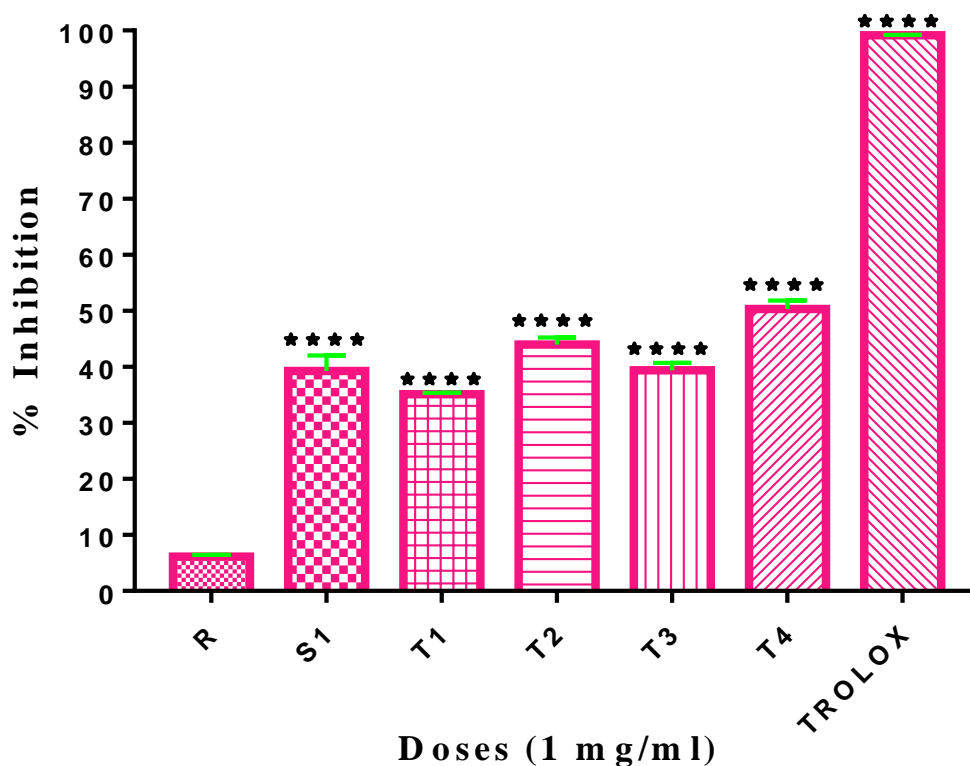


Figure 24 : Pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction des molécules testées avec

Ces mêmes résultats présentés sous forme d'histogramme montrent que les amplitudes traduisant les activités antioxydantes de nos composés représentent approximativement la moitié de l'activité antioxydante du témoin positif et plus de 6 fois celle du composé R ou modèle moléculaire.

II. DISCUSSION

A la suite de l'évaluation de l'activité antioxydantes par la méthode ABTS des cinq benzimidazolyl chalcones, nous nous sommes consacrés dans cette autre partie de notre travail, à une discussion des résultats expérimentaux obtenus. Une telle discussion, de type relations structure-activité vise deux objectifs :

- ✓ La pertinence du concept pharmacochimique de juxtaposition d'entités bioactives comme méthode pratique d'élaboration de 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 de notre stratégie pharmacochimique

La méthode pharmacochimique de conception des hybrides de chalcones par juxtaposition de deux entités chimiques permet d'établir que le remplacement du benzène en position 1 de la 1,3-diphénylpropénone utilisé comme modèle moléculaire (**R**) par l'hétérocycle benzimidazole (**Figure 23**), 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 (P moyen d'inhibition = **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.

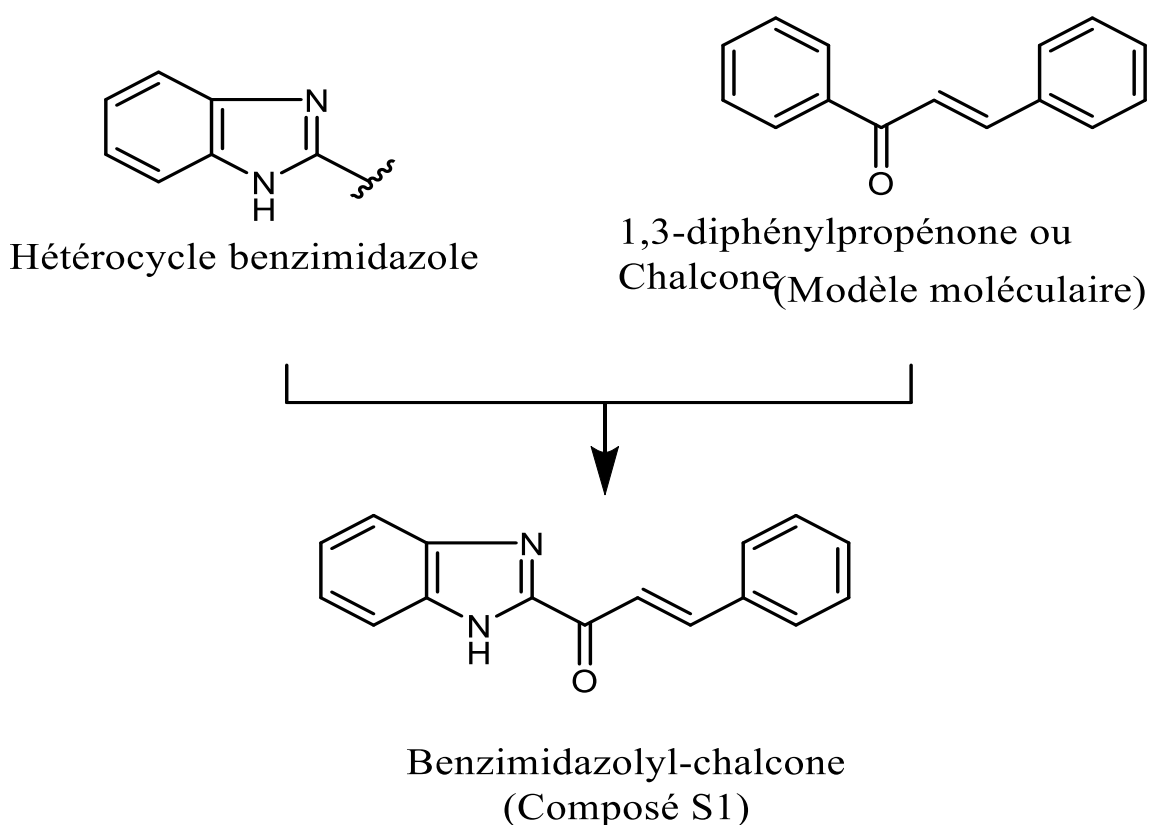


Figure 25: Conception de la benzimidazolyl-chalcone (**composé S1**)

Cependant, cette performance reste inférieure à celle du trolox (P moyen d'inhibition = **99%**).

Au vu de cette activité antioxydante non négligeable du **composé S1** par rapport à celle de notre modèle moléculaire, il était opportun d'entreprendre d'autres modulations chimiques autour de l'homocycle benzénique de la benzimidazolyl-chalcone ou **composé S1** dans le but d'améliorer son activité antioxydante. Une telle entreprise pourrait également nous permettre d'établir les éléments structuraux favorables à l'amélioration de l'activité. Pour cela, divers modulateurs de types hydroxyle, méthoxyle, diméthylamine et brome ont été introduits sur l'homocycle benzénique.

II.2 Eléments structuraux pour l'amélioration de l'activité antioxydante

II.2.1 Introduction du groupement hydroxyle sur l'homocycle benzenique

L'introduction d'un groupement hydroxyle en position méta sur l'homocycle benzénique du **composé S1** a conduit à une diminution de son activité antioxydante. En effet le pourcentage moyen d'inhibition est passé de **39%** à **35%**. Cette activité antioxydante bien que supérieure à celle du modèle moléculaire ou **composé R** (P moyen d'inhibition = **6%**) reste plus faible que celle du trolox (P moyen d'inhibition = **99%**). Le groupement hydroxyle ne semble pas propice pour l'amélioration des activités antioxydantes recherchées.

II.2.2 Introduction du groupement méthoxyle sur l'homocycle benzénique.

La substitution de l'homocycle benzénique du **composé S1** par le méthoxyle a permis d'obtenir le **composé T2**. Cette tentative d'optimisation de l'activité antioxydante a permis une légère amélioration de l'activité antioxydante du **composé S1**. En effet le **composé T2** obtenu a présenté une activité antioxydante de P moyen d'inhibition = **43%**. De plus le **composé T2** avec ce pourcentage d'inhibition a conduit à une activité antioxydante 7 fois supérieur au pourcentage d'inhibition du modèle moléculaire. Cependant cette activité reste inférieure à celle de notre substance de référence le Trolox (P moyen d'inhibition = **99%**).

II.2.3 Introduction du groupement diméthylamine sur l'homocycle benzénique.

La présence d'un groupement diméthylamine en position para de l'homocycle benzénique du **composé S1** a conduit au **composé T3** qui a présenté une activité antioxydante de l'ordre de **39%**. Cette tentative d'optimisation n'a donc pas été fructueuse parce que l'efficacité du **composé T3** est équivalente à celle du

composé S1. Même si cette activité est supérieure à celle du modèle moléculaire (P moyen d'inhibition = **6%**) elle reste inférieure à celle du Trolox(P moyen d'inhibition = **99%**).

II.2.4 Introduction d'un atome d'halogène sur l'homocycle benzénique.

L'introduction d'un dérivé halogéné de type brome a permis l'obtention d'une meilleure activité antioxydante comparativement au **composé S1**. En effet le **composé T4** obtenu s'est particulièrement illustré avec un pourcentage d'inhibition du radical d'ABTS de l'ordre de **50%**. Cette activité est supérieure à celle du modèle moléculaire (P moyen d'inhibition = **6%**) et est la meilleure activité de la série des benzimidazolyl-chalcones testée. Toutefois elle demeure insuffisante comparativement à activité antioxydante du trolox (P moyen d'inhibition = **99%**).

Les divers modulateurs électro-donneurs de types hydroxyle, méthoxyle, diméthylamine et brome ont été introduits sur l'homocycle benzénique du **composé S1**. Les études de relations structures activités entreprises en série des benzénimidazolyl-chalcones ont permis d'établir que pour l'obtention d'une activité antioxydante remarquable, les substituants appropriés sont : l'atome de brome et le groupement méthoxyle. En effet les dérivés correspondant ont tous deux présentés des pourcentages d'inhibitions supérieurs à **40%**. Sous réserve d'une confirmation, il semblerait que l'ajout d'un substituant en position para de l'homocycle benzénique du **composé S1** serait plus favorable à l'amélioration de l'activité antioxydante du **composé S1** par rapport à la position méta.

CONCLUSION

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

L'évaluation de l'activité antioxydante de la benzimidazolyl-chalcones ou **composé S1** issu de la conception de juxtaposition d'éléments bioactifs par le test d'ABTS a montré une activité antioxydante de l'ordre de **39%** par rapport à la chalcone de base (**composé R**) qui a montré une activité de l'ordre de **6%**.

Ces résultats nous permettent de valider le profil chimique du **composé S1** comme molécule d'intérêt thérapeutique. Quant à la recherche de l'amélioration de l'activité antioxydante du **composé S1**, il s'avère que parmi les dérivés de ce composé seuls les **composés T2** et **T4** ont permis d'améliorer son activité antioxydante car ils ont présenté des pourcentages d'inhibitions supérieurs au pourcentage d'inhibition du **composé S1**. Le dérivé bromé a présenté la meilleure activité et est présenté comme molécule lead pour un développement pharmacochimique ultérieur de nouvelles molécules utilisées pour améliorer l'activité dans cette série. Cependant, ces pourcentages demeurent faibles par rapport au pourcentage d'inhibition du trolox ou substance de référence. Même si ces dérivés ont permis d'atteindre une activité antioxydante supérieure à celle du modèle moléculaire, ils se sont avérés insuffisants vis-à-vis de la performance antioxydante du trolox. Par ailleurs, l'ajout d'un substituant en position para de l'homocycle benzénique serait plus favorable à l'amélioration de l'activité antioxydante du composé S1 par rapport à la position méta.

PERSPECTIVES

L'évaluation de l'activité antioxydante a été faite suivant une seule méthode parmi tant d'autres. Il nous paraît donc nécessaire de poursuivre ces travaux de recherche par la réalisation d'autres méthodes d'évaluations antioxydantes comme : la méthode au DPPH, la méthode FRAP ou la méthode ORAC afin de confirmer les résultats obtenus avec la méthode d'ABTS.

Au plan biologique, Rechercher d'autres activités pharmacologiques (anti-inflammatoires, antalgiques...)

D'un point de vue chimique, il serait intéressant d'entreprendre d'autres pharmaco-modulations telles que :

- L'introduction d'autres modulateurs sur l'homocycle benzénique notamment des groupements électro-attracteurs ;
- Le remplacement du benzimidazole par un isostère de type imidazopiridine, benzoxazole ou benzothiazole ;
- Le remplacement de la chaîne propénone par un isostère de type acrylonitrile ;
- La *N*-benzylation de l'azote pyrrolique du benzimidazole pour obtenir le benzylbenzimidazole.

Ainsi, sous réserve d'autres pharmacomodulations pouvant être effectuées sur le noyau benzénique, nous pouvons proposer le dérivé bromé comme chef de file pour la recherche de molécule à visée antioxydante.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Sies H.** Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental physiology*. 1997;82(2):291-295.
2. **Favier A.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 2003;103-115. Disponible sur www.andrecontreclas.be.
3. **Massion P, Preise J, Balligand JL.** Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères. *Nutrition clinique et métabolisme*. 2002;16:248-252.
4. **Barlow SM.** Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. *Food antioxidants*, Hudson B.J.F. Amsterdam : Elsevier ; 1990. 253-307.
5. **Rahman MA.** Chalcone: a valuable insight into the recent advances and potential pharmacological activities. *Chemical Sciences Journal*. 2011 ; 29, 1-16.
6. **Fontaine E.** Radicaux libres, stress oxydatif. [Page internet]. INSERM U1055 Grenoble. 2016 [Visité le 04/02/2018]. En ligne : <http://docplayer.fr/47229685-Radicaux-libres-stress-oxydatif-eric-fontaine-inserm-u1055-grenoble.html>.
7. **Kone FYM.** Thèse: Evaluation de l'activité analgésique et antioxydante d'une benzimidazo- para- diméthyl amine chalcone [thèse]. Abidjan : UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques, Université Felix Houphouet Boigny ; 2017.103 P.
8. **Brin AJ.** Composition cosmétique ou pharmaceutique antiradicaux libres pour application topique, EP0629397A1. [Page internet]. 1998. [Visité le 16/03/2018]. En ligne : <https://patents.google.com/patent/EP0629397B1/fr>.
9. **Peynet J, Beaudeau J, Legrand A.** Stress oxydant et athérosclérose. In: Delattre J, Beaudeau J.L., Bonnefont-Rousselot D. Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. 2005 ; P 45-86.

- 10. Haleng J, Pincemail J, Defraigne J.O, Charlier C, Chapelle JP.** Le stress oxydant. *Rev. Med. Liège*. 2007;62(10):628-638.
- 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;7:113-174.
- 12. Anderson D.** Radicaux libres et antioxydants. *Dev Neurosci*. 1996;18(5-6):397-404.
- 13. Shiem H.** Etude de botanique et phytochimique : Approche biologique et pharmacologique d'opuntia ficus indica [Thèse]. Alger : Université des frères Mentouri et Constantine faculté des sciences de nature et de la vie; 2015.243 p.
- 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 antioxidant nutriments. *The FASEB Journal*. 1987;1(6):441-445.
- 16. Tamer Fouad MD.** Free Radicals, Types, Sources and Damaging Reactions. *Internal Medicine Articles*. [Page internet]. 2003. [Visité le 19/02/18].Enligne :<https://www.doctorslounge.com/primary/articles/freeradicals/index.htm>.
- 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 Biologique de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud-ouest de l'Algérie [Thèse]. Tlemcen, Algérie : Université Abou Berk Belkaid ; 2013.170 p.

- 19. Chopinet MH, Lizarazu D, Rocanière C.** L'importance des phénomènes d'oxydo-réduction dans le verre. *Comptes Rendus Chimie*. 2002;5(12):939-949.
- 20. Aravodis E.** Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 2005;128-133.
- 21. Harris AL.** Hypoxia-a key regulatory factor in tumor growth. *Nature Reviews Cancer*. 2002;2(1):38-47.
- 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;56(16):7001-7009.
- 23. Servais S.** Altérations mitochondriale et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effets de l'âge et d'une supplémentation en OMEGA-3. [Thèse] Lyon : Université Claude Bernard. Lyon1. 2004. 163 p.
- 24. Wang Y.** Bulky DNA lesions induced by reactive oxygen species. *Chem Res Toxicol*. 2008; 21:276-281.
- 25. Trachootham D, Alexander J, Huang P.** Targeting cancer cells by ROS mediated mechanism: a radical therapeutic approach *Nature. Reviews drug discovery*. 2009; 8: 579–591.
- 26. Dalle-Done L, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A.** Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem*. 2006;52:601-623
- 27. Cassavaugh J, Lounsbery 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. 62 p.
- 29. Frankel EN.** Methods to determine extent of oxidation. In *Lipid Oxidation* Dundee: The Oily Press. 1998.19 p.
- 30. Min DB, Boff JM.** Lipid oxidation of edible oil. In M. Dekker (Ed), *Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology*. New York: CRC Press 2002. 30 p.

- 31. Pincemail J, Bonjea K, Cayeux K, Defraigne JO.** Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 2002 ;16:233-239.
- 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):1076-1081.
- 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;39:44-84.
- 34. Lee KW, Lee HJ.** The roles of polyphenols in cancer chemoprevention. *Biofactors*. 2006 ;26(2):105-121.
- 35. Belkheiri N.** Dérivés phénoliques à activités Antiathérogènes: [Thèse] Université de Toulouse : Université Toulouse III-Paul Sabatier.2010.244 p.
- 36. Delattre J.** Radicaux libres et stress oxydant : Aspects biologiques et pathologiques. Londres; Paris; New York: Tec & Doc Lavoisier; 2007.548 p.
- 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- 52.
- 41. Christen Y.** Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr*. févr 2000;71(2):621- 629.
- 42. Hwang O.** Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. *Exp Neurobiol*. mars 2013;22(1):11- 17.
- 43. Serge P, Donaldson D, Jakowec M, kish SJ, Gutman M, Rojoklija G, et al** Brain superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*. 1996;39(2):158- 65.

- 44. Talbi H, Boumaza A, EL-mostafa K, Talbi J, et Hilali A.** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanoïques et aqueux de la *Nigella sativa* L. ISSN : 2028-2508. CODEN : JMESC. Master Environ. SCI. 2015;6(4):1111-1117.
- 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*. 18 avr 2011;12(6):1135-42.
- 46. Velu SS, Buniyamin I, Ching LK, Feroz F, Noorbachia 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):720-726.
- 48. Frankel EN, Meyer ABS.** The problems of using one dimensional method to evaluate multifunctional food and biological antioxidant. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2000;80:1925-1940.
- 49. Huang D, Ou B, Prior RL.** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53:1841-1856.
- 50. Hervy MP.** Conséquence de la douleur non soulagée. Service de Gériatrie, Hôpital BICATRE AP-HP ; 4 p.
- 51. Chavan BB, et al.** Synthesis and medicinal of significant chalcones-A Review. *Asian journal of biomedical and pharmaceutical sciences*. 2015; p1-7.
- 52. Koné D.** Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes: extraction, identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de polyphénols: étude de leur activité antioxydante [Thèse]. Metz : Universités de Bamako et Metz; 2009.188 p.

- 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 JB.** The flavonoids: advances in research since 1986. Chapman & Hall/CRC, London, 1993;676 p.
- 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 ZA.** review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *Eur. J. Med. Chem.* 2007;42:125-137.
- 57. Heidari MR, Foroumadi A, Amirabadi A, Samzadek-Kermani A, Asinzadeh BS, Eskandarizadeh A. .** Evaluation of Anti-inflammatory and Analgesic Activity of a Novel Rigid 3,4-Dihydroxy Chalcone in Mice. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2009;1171:399–406.
- 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;15:5027-5029.
- 59. Ouattara M, Drissa S, Yavo W, Mamidou WK.** Synthèse et criblage antiplasmodial de quelques benzimidazolyl-chalcones. *Int. J. Biol. Chem. Sci,* June 2015;9(3):1697-1710.
- 60. Haraguchi H, Ishikawa H, Mizutani K, Tamoura Y, Kinoshita T.** Antioxidative and superoxide scavenging activities of retrochalcones in *Glycyrrhiza inflata*. *Bioorganic & medicinal chemistry.* 1998;6(3):339-347.
- 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):2728-2730.
- 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 p.

63. Beiler JM, Graff M, Martin GJ. Inhibition of liver xanthine oxidase activity in rats. American journal of digestive diseases. 1952;19:333-333

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):244-282.

65. Kehrer JP. The haber-veiss reaction and mechanisms of toxicity. Toxicology. 2000;149(1):43-45

66. Weiss G, Loyevsky M, Gorleuk VR. Dexrazoxane (ICRF-187). Gen Pharm 1999;32:155-158.

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. 2018;1156:385-389.

68. Lawrence NJ, McGown AT. The chemistry and biology of antimitotic chalcones and related enone systems. Curr. Pharm. Des. 2005;11:1679–1693.

69. Go ML, Wu X, Liu XL. Chalcones: an update on cytotoxic and chemoprotective properties. Curr. Med. Chem. 2005;12:481–499.

70. Kachadourian R, Pugazhenth S, Velmurugan K, Backos DS, Franklin CC, McCord JM, et al. 2',5'-Dihydroxychalconeinduced glutathione is mediated by oxidative stress and kinase signaling pathways. Free Radical Biol. Med. 2011;51:1146–1154.

71. Tomecková V, Guzy J, Kusnir J, Fodor K, Mareková M, Chavková Z et al. Comparison of the effects of selected chalcones, dihydrochalcones and some cyclic flavonoids on mitochondrial outer membrane determined by fluorescence spectroscopy. Journal of biochemical and biophysical methods. 2006;69(1-2):143-150.

- 72. Foresti R, Hoque M, Monti D, Green CJ, Motterlini R.** Differential activation of heme oxygenase-1 by chalcones and rosolic acid in endothelial cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005;312:686–693.
- 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:C1092–1099.
- 74. Sabzevari O, Galati G, Moridani MY, Siraki A, O'Brien PJ.** Molecular cytotoxic mechanisms of anticancer hydroxychalcones. *Chem.-Biol. Interact.* 2004;148:57–67.
- 75. Kachadourian R, Day BJ.** Flavonoid-induced glutathione depletion: Potential implications for cancer treatment. *Free Radical Biol. Med.* 2006;41:65–76.
- 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;285:16582–16587.
- 77. Sergeant C, Hamon C, Simonoff M, Constans J, Conri C, Peuchant C. et al.** *Oxidative Stress in Cancer, AIDS and neurodegenerative diseases.* New York/Basel-Hong Kong : Editors : L. Montagnier, R. Olivier, C. Pasquier; Marcel Dekker. Inc. 1998;19 p.
- 78. Kang DH.** Oxidative stress, DNA damage, and breast cancer. *AACN Advanced Critical Care.* 2002;13(4):540-549.
- 79. Desport JC, Couratier P.** Stress oxydant et maladies neurodégénératives. *Nutrition clinique et métabolisme.* 2002;16(4):253-259.
- 80. Yushkova YV, Chernyak EI, Gatilov YV, Vasil'ev VG, Morozov SV, Grigor'ev IA.** Synthesis, structure, antioxidant activity, and water solubility of trolox ion conjugates. *Saudi Pharmaceutical Journal.* 2018; 26(1):84-92.
- 81. Demetgul C, Beyasit N.** Synthesis, characterization and antioxidant activity of chitosan-chromone derivatives. *Carbohydrate polymers.* 2018;181:812-817.

- 82. Verma S, Srivastav Ak, Panday OP.** A Review on Chalcones Synthesis and their Biological Activity. *PharmaTutor*. 2018;6(2):22-39.
- 83. Gusman-Gutiérrez SL, Nieto-Camacho A, Castillo-Arellano JI, et al.** Mexican Propolis: A Source of Antioxidants and Anti-Inflammatory Compounds, and Isolation of a Novel Chalcone and ϵ -Caprolactone Derivative. *Molecules*. 2018;23(2):334.
- 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 N A, Kamble SG, Bandgar BP.** In-vitro evaluation of selected chalcones for antioxidant activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2008;23(1):28-31.
- 86. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya BJ.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2002;13(10):572-584
- 87. El-Husseiny WM, El-Sayed MA, Abdel-Aziz NI, El-Azad AS, Ahmed ER, Abdel-Aziz AA.** Synthesis, antitumour and antioxidant activities of novel α , β -unsaturated ketones and related heterocyclic analogues: EGFR inhibition and molecular modelling study. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*. 2018;33(1):507-518.
- 88. Kumar CS, Loh WS, Ooi CW, Quah CK, Fun HK.** Structural correlation of some heterocyclic chalcone analogues and evaluation of their antioxidant potential. *Send to Molecules*. 2013 Sep 26;18(10):11996-2011.
- 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):418-423.

- 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):850-856.
- 91. Ouattara M, Sissouma D, Koné MW, Menan HE, Touré SA.** Synthesis and anthelmintic activity of some hybrid benzimidazolyl-chalcone derivatives. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2011;10(6):767-775.
- 92. Sissouma D, Ouattara M, Koné MW, et al.** 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 S, Wu X, Patterson KM, Barnes J, Carter SG, Scherwitz L, et al.** "Capacités antioxydantes et anti-inflammatoires in vitro et in vivo d'un mélange de fruits et de baies riches en antioxydants. Résultats d'une étude pilote croisée et randomisée, en double aveugle, contrôlée par placebo". *J Agric Food Chem*. 2008;56(18):8326-33. 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/P](http://www.odec.ca/projects/2011/tamtaj/index_files/Page393.html)age393. 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):4290–4302.
- 97. Karadag A, Ozcelik B, Saner S.** Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Analytical Methods*. 2009;2(1):41–60.
- 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):419–421.

- 99. Eklund-Jonsson C, Sandberg AS, Larsson AM.** Reduction of phytate content while preserving minerals during whole grain cereal temper fermentation. *Journal of Cereal Science*. 2006;44(2):154–160.
- 100. Roginsky VL, Eduardo A.** Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, *Food Chemistry*. 2005;92:235-254.
- 101. Locatelli M, Gindro R, Travaglia F, Coisson JD, Rinaldi M, Arlorio M.** Study of the DPPH-scavenging activity: Development of a free software for the correct interpretation of data. *Food Chemistry*. 2009;114(3):889–897.
- 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):3396-3402.
- 103. Nilsson J, Pillai D, Onning G, Persson C, Nilsson A, Akesson B.** Comparison of the 2,2'-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and ferric reducing anti-oxidant power (FRAP) methods to assess the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2005;49(3):239–46.
- 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, et al.** Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC(FL))) of plasma and other biological and food samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003;51(11):3273–9.
- 106. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins BD.** Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2006;19(6-7):669–675.

- 107. Prior RL, Cao G.** Flavonoids: Diet and Health Relationships. *Nutrition in Clinical Care*. 2000;3(5):279–288.
- 108. Sekher PA, Chan TS, O'Brien PJ, Rice-Evans CA.** Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;282:1161-1168.
- 109. Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R.** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*. 2007;105(3):940–949.
- 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):204–214.
- 111. Dejian H, Boxin O, Ronald LP.** « The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006;53(23):1841-1856.
- 112. Jiris 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 *Molecules*. 2010;(15):8618-8640.
- 113. Walker RB, Everette JD.** « Comparative Reaction Rates of Various Antioxidants with ABTS Radical Cation », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009;57(4):1156-1161
- 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;29(9-10):1231-1237.
- 115. Lawrence R, Coates B, Steven J, Locke JMM.** Autoxidation in micelles. Synergism of vitamin C with lipid-soluble vitamin E and water-soluble Trolox », *Revue canadienne de chimie*. 1985;63(2):366-374

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

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):2046-2056.

RESUME

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

Matériel et méthodes : Les 5 dérivés de la 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 est le Trolox dont le pourcentage d'inhibition du radical cationique ABTS est de **99%**.

Résultats : Les résultats obtenus aux doses de 1mg/ml, montrent que nos benzimidazolyl-chalcones sont doués d'activités antioxydantes avec des pourcentages d'inhibitions du radical cationique ABTS allant de **35%** pour le dérivé 3-hydroxy (**composé T2**) à **50%** pour le dérivé 4-bromé (**composé T4**). Tous nos composés ont présenté une activité antioxydante inférieure à celle du trolox.

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

Mots clés : Antioxydant, Méthode ABTS, Benzimidazol, Chalcone.