



Année : 2017 – 2018

N°1925/18

THESE

Présentée en vue de l'obtention du

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

OUATTARA KIKOUN JEAN-LOUIS VIANNEY

**DETERMINATION DU POUVOIR ANTIOXYDANT DE
QUELQUES IMIDAZOPYRIDINYL-CHALCONES PAR LA
METHODE ABTS**

Soutenue publiquement le 25 juin 2018

COMPOSITION DU JURY :

Président	: Monsieur MALAN KLA ANGLADE , Professeur titulaire
Directeur de thèse	: Monsieur OUATTARA MAHAMA , Maître de conférences agrégé
Assesseurs	: Monsieur AMIN N'CHO CHRISTOPHE , Maître de conférences agrégé Madame KONATE ABIBATOU , Maître-assistante

**ADMINISTRATION ET PERSONNEL
ENSEIGNANT DE L'UFR
SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET
BIOLOGIQUES**

I. HONORARIAT

Directeurs/Doyens Honoraires :

Professeur RAMBAUD André
Professeur FOURASTE Isabelle
Professeur BAMBA Moriféré
Professeur YAPO Abbé †
Professeur MALAN Kla Anglade
Professeur KONE Moussa †
Professeur ATINDEHOU Eugène

II. ADMINISTRATION

Directeur

Professeur KONE-BAMBA Diénéba

Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie

Professeur IRIE N'guessan Amenan

Sous-Directeur Chargé de la Recherche

Professeur DEMBELE Bamori

Secrétaire Principal

Madame NADO-AKPRO Marie Josette

Documentaliste

Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert

Intendant

Monsieur GAHE Alphonse

Responsable de la Scolarité

Madame DJEDJE Yolande

III. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

PROFESSEURS TITULAIRES

M. ABROGOUA Danho Pascal

Pharmacie Clinique

Mmes AKE Michèle

Chimie Analytique, Bromatologie

ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L.

Biochimie et Biologie Moléculaire

M. DANO Djédjé Sébastien

Toxicologie

INWOLEY Kokou André

Immunologie

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

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

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

M.	YAPI Ange Désiré	Chimie organique, chimie thérapeutique
	ZINZENDORF Nanga Yessé	Bactériologie-Virologie

MAITRES ASSISTANTS

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

ASSISTANTS

M.	ADIKO Aimé Cézaire	Immunologie
	AMICHIA Attoumou Magloire	Pharmacologie
Mmes	AKOUBET-OUAYOGODE Aminata	Pharmacognosie
	ALLOUKOU-BOKA Paule-Mireille	Législation
	APETE Sandrine	Bactériologie-Virologie
	BEDIAKON-GOKPEYA Mariette	Santé publique
	BLAO-N'GUESSAN Amoin Rebecca J.	Hématologie
M.	BROU Amani Germain	Chimie Analytique
	BROU N'Guessan Aimé	Pharmacie clinique
	COULIBALY Songuigama	Chimie organique, chimie thérapeutique
M.	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Pharmacologie
	DJATCHI Richmond Anderson	Bactériologie-Virologie
Mmes	DONOU-N'DRAMAN Aha Emma	Hématologie
	DOTIA Tiepordan Agathe	Bactériologie-Virologie
M.	EFFO Kouakou Etienne	Pharmacologie
Mme	KABLAN-KASSI Hermance	Hématologie
M.	KABRAN Tano Kouadio Mathieu	Immunologie
	KACOU Alain	Chimie organique, chimie thérapeutique
	KAMENAN Boua Alexis Thierry	Pharmacologie
	KOFFI Kouamé	Santé publique
	KONAN Jean Fréjus	Biophysique
Mme	KONE Fatoumata	Biochimie et Biologie moléculaire
M.	KOUAHO Avi Kadio Tanguy	Chimie organique, chimie thérapeutique
	KOUAKOU Sylvain Landry	Pharmacologie
	KOUAME Denis Rodrigue	Immunologie
	KOUAME Jérôme	Santé publique
	KPAIBE Sawa Andre Philippe	Chimie Analytique
Mme	KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde	Bactériologie-Virologie

M.	LATHRO Joseph Serge	Bactériologie-Virologie
	MIEZAN Jean Sébastien	Parasitologie-Mycologie
	N'GBE Jean Verdier	Toxicologie
	N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul	Chimie organique, chimie thérapeutique
Mmes	N'GUESSAN Kakwokpo Clémence	Pharmacie Galénique
	N'GUESSAN-AMONKOU Anne Cynthia	Législation
	ODOH Alida Edwige	Pharmacognosie
	SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle	Biochimie et Biologie moléculaire
	SICA-DIAKITE Amelanh	Chimie organique, chimie thérapeutique
	TANOI-BEDIA Valérie	Parasitologie-Mycologie
M.	TRE Eric Serge	Chimie Analytique
Mme	TUO Awa	Pharmacie Galénique
M.	YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale
Mme	YAPO-YAO Carine Mireille	Biochimie

CHARGEES DE RECHERCHE

Mmes	ADIKO N'dri Marcelline	Pharmacognosie
	OUATTARA N'gnôh Djénéba	Santé publique

ATTACHE DE RECHERCHE

M.	LIA Gnahoré José Arthur	Pharmacie Galénique
----	-------------------------	---------------------

IN MEMORIAM

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

ENSEIGNANTS VACATAIRES

PROFESSEURS

M.	DIAINE Charles	Biophysique
	OYETOLA Samuel	Chimie Minérale

MAITRES DE CONFERENCES

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

MAITRE-ASSISTANT

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

NON UNIVERSITAIRES

MM.	AHOUSI Daniel Ferdinand	Secourisme
	COULIBALY Gon	Activité sportive
	DEMPAH Anoh Joseph	Zoologie
	GOUEPO Evariste	Techniques officinales
Mme	KEI-BOGUINARD Isabelle	Gestion

MM	KOFFI ALEXIS	Anglais
	KOUA Amian	Hygiène
	KOUASSI Ambroise	Management
	N'GOZAN Marc	Secourisme
	KONAN Kouacou	Diététique
Mme	PAYNE Marie	Santé Publique

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

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

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

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

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

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 Jean-Paul	Assistant
	SICA-DIAKITE Amelanh	Assistante

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

PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE, COSMETOLOGIE, GESTION ET LEGISLATION PHARMACEUTIQUE

Professeur	KOFFI Armand A.	Maître de Conférences Agrégé
		Chef de Département
Professeurs	AMARI Antoine Serge G.	Maître de Conférences Agrégé
	DALLY Laba Ismaël	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	AKA ANY-GRAH Armelle A.S.	Maître-Assistant

N'GUESSAN Alain	Maître-Assistant
ALLOUKOU-BOKA P.-Mireille	Assistante
LIA Gnahoré José Arthur	Attaché de recherche
NGUESSAN Kakwokpo Clémence	Assistante
N'GUESSAN-AMONKOU A. Cynthia	Assistante
TUO Awa	Assistante

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	Chargée de recherche
	AKOUBET-OUAYOGODE Aminata	Assistante
	ODOH Alida Edwige	Assistante

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

PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHÉMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

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

SANTÉ 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 Dieu Tout puissant

Toi qui
représente
la lumière
de mon existence.

Que de grâces reçues de ta part.

A toi le très Haut, le très Grand, le Clément,

l'Omniscient, le Tout Puissant,

le très Miséricordieux,

merci d'avoir permis à ce parcours d'aboutir à son terme.

Que l'Honneur et la Gloire te reviennent d'éternité en éternité.

A ma très chère mère OUATTARA KLINTCHO GEORGETTE,

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le
symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et
l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et
de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour
mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour
exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner
depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus
qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et
leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse
Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon feu père, OUATTARA MIGABONAN JOSEPH,

Homme modeste, humble, l'admiration que j'ai pour toi est sans limite. L'amour que tu as toujours porté à tes enfants, la dignité, l'éducation et le sens de l'honneur nous servent de modèle. Ce travail est le tien. *Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais décevoir ta mémoire .***Cette thèse, t'est dédiée à titre posthume.**

A mes frères et sœurs,

Qui êtes pour moi, modèles, soutien et source de motivation... Merci Franck d'avoir toujours éclairé le chemin pour moi, de m'avoir toujours soutenu et encouragé dans mes décisions, d'être devenu un second père pour nous. Merci Marie-Michelle, Aude et Nathan pour cette affection et cet amour qui nous fait être une famille unie, pour la bénédiction que vous représentez à mes yeux.

A Mes amis de la faculté,

En souvenir des moments merveilleux que nous avons passés 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 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.

Que Dieu vous bénisse!!!

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

AUX DOCTEURS COULIBALY SONGUIGAMA ET N'GUESSAN JEAN PAUL

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

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 TOUT LE PERSONNEL DU DEPARTEMENT DU LABORATOIRE DE
PHARMACOLOGIE**

Je n'oublie pas de remercier les membres d'équipes du laboratoire de Pharmacologie en l'occurrence Docteurs Djadji, Effo, Kamenan et de façon plus particulière Mr Donald surtout pour son précieux apport au cours des multiples manipulations au sein du laboratoire.

**A MES CHERS MAITRES
ET JUGES**

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE JURY
Monsieur le Professeur MALAN KLA ANGLADE

- ✓ Professeur titulaire de chimie analytique à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques
- ✓ Doyen honoraire à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques
- ✓ Directeur du Laboratoire National de la Santé Publique
- ✓ Responsable du DESS de contrôle de qualité des médicaments, aliments, et produits cosmétiques
- ✓ Membre de l'Académie Nationale de Pharmacie de France ;
- ✓ Membre de l'académie des sciences, des cultures, des arts et de la diaspora (ASCAD)
- ✓ Membre de la Société des Experts Chimistes de France ;
- ✓ Officier dans l'ordre national de la Côte d'Ivoire ;
- ✓ Commandeur dans l'ordre du mérite de l'enseignement supérieur
- ✓ Chevalier dans l'ordre de la Santé Publique
- ✓ Expert de l'OMS.

Cher Maître,

Malgré vos charges, vous avez accepté spontanément de présider notre jury de thèse

Vous êtes un exemple et une source de motivation qui nous pousse à vouloir être des pharmaciens aussi brillants que vous.

Nous avons eu la chance et le plaisir de profiter de vos enseignements limpides, ainsi que de vos conseils avisés.

Nous en sommes à la fois honorés et reconnaissants

Qu'il nous soit permis de vous exprimer ici notre vive gratitude et notre profond respect.

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 ;
- ✓ Docteur ès Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Montpellier I (France) ;
- ✓ 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 Réglementation et de 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 des Sciences de la Santé ;
- ✓ Thématique de recherche lauréate du Programme d'Appui Stratégique à la Recherche Scientifique en Côte-d'Ivoire de 2015 (PASRES) ;
- ✓ Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM) ;
- ✓ Membre du Réseau de Substances Bioactives Ouest Africain (ReSBOA) ;
- ✓ Membre de la Société de Chimie Thérapeutique de France (SCT France).
- ✓ Président de la Société Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI) ;

Cher maître,

Notre admiration pour vous est d'autant plus grande que vous savez associer vos responsabilités administratives et celles d'enseignant.

Vous avez initié ce travail pour lequel vous n'avez ménagé ni vos efforts, ni votre temps.

Auprès de vous, nous avons toujours trouvé réconfort moral, et les conseils pour supporter les coups durs que nous réserve la vie.

Ce travail est aussi le fruit de vos efforts. Trouvez ici l'expression de nos vifs remerciements et profond respect.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le Professeur AMIN N'CHO CHRISTOPHE

- ✓ Professeur agrégé en Chimie Analytique, Bromatologie à l'Université Félix Houphouët- Boigny
- ✓ Chef de service adjoint du laboratoire d'hygiène de l'Institut National d'Hygiène Publique (INHP)
- ✓ Docteur en pharmacie diplômé de l'Université de Cocody
- ✓ Docteur ès sciences pharmaceutiques et biologiques de l'Université Montpellier 1
- ✓ Titulaire DESS contrôle qualité des médicaments, aliments et produits cosmétiques, du DEA en conception, réalisation, valorisation du médicament issu de la pharmacopée africaine option chimie analytique et bromatologie, du CES de biochimie clinique, du CES d'hématologie-biologie, du CES d'immunologie générale et médicale, de la maîtrise professionnalisée option santé publique de l'université Félix Houphouët-Boigny.
- ✓ Ancien Interne des Hôpitaux
- ✓ Membre de la (SOACHIM) Société Ouest Africaine de Chimie
- ✓ Membre de la (SOPHACI) Société Pharmaceutique de Côte d'Ivoire

Cher maître,

Nous avons été sensibles à vos qualités d'enseignant doublées de vos qualités humaines.

Nous admirons la simplicité, le calme et l'enthousiasme avec lesquelles vous nous avez toujours reçu et conseillé.

Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre reconnaissance pour le grand honneur que vous nous faites de compter parmi nos juges.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Madame le Docteur KONATE ABIBATOU

- ✓ Maître-assistante à l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, au Département de Parasitologie-Mycologie-Zoologie-Biologie animale ;
- ✓ Docteur en Pharmacie, diplômé de l'Université Félix Houphouët Boigny d'Abidjan ;
- ✓ Biologiste des hôpitaux (CES de Parasitologie-Mycologie, CES d'Immunologie, CES de Bactériologie-virologie, CES d'Hématologie Biologie, CES de Biochimie clinique, DEA Biologie Humaine et Tropicale option Parasitologie) ;
- ✓ Responsable de l'unité de Parasitologie du Laboratoire central du Centre Hospitalier Universitaire de Yopougon ;
- ✓ Ancien Interne des hôpitaux d'Abidjan ;
- ✓ Membre de la Société Africaine de Parasitologie ;
- ✓ Membre de la Société Ivoirienne de Parasitologie et de Mycologie.

Chère maître,

Nous avons été sensibles à vos qualités d'enseignante doublées de vos qualités humaines.

Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre reconnaissance pour le grand honneur que vous nous faites de compter parmi nos juges.

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES.....	XXIX
LISTE DES TABLEAUX	XXX
LISTE DES ABBREVIATIONS.....	XXXI
INTRODUCTION	1
PREMIÈRE PARTIE : REVUE DE LA LITTÉRATURE	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	16
II.1. Définition	16
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. Tests biologiques	35
V.2. Tests chimiques	36
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE	47
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES	48
I. CADRE DE L'ETUDE	48
II. MATERIEL	48
II.1. Matériel de laboratoire.....	48
II.2. Matériel chimique.....	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
II.1. Pertinence de notre stratégie pharmacochimique	60
II.2. Eléments structuraux d'optimisation d'activités	62
CONCLUSION & PERSPECTIVES	63
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	63

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Sites de production intracellulaire des ERO	7
Figure 2 : Structure chimique de la vitamine C	20
Figure 3 : Structure chimique des vitamines E.	20
Figure 4 : Structure chimique d'un rétinoïde.	21
Figure 5 : Structure chimique des β -carotènes.	21
Figure 6 : Structure chimique de base des flavonoïdes.	22
Figure 7 : Structure chimique du phénol.	22
Figure 8 : Structure générale d'une chalcone.	24
Figure 9 : Profil chimique des chalcones et flavanones.	24
Figure 10 : Différentes chalcones antioxydantes isolées à partir de <i>Glycyrrhiza inflata</i> (Fabaceae).	25
Figure 11 : Structure chimique de la naringenine-chalcone.	26
Figure 12 : Structure chimique d'une tetrahydroxychalcone.	26
Figure 13 : Structure chimique de l'héspéridine-chalcone.	27
Figure 14 : Sites de complexation des métaux par les flavonoïdes.	28
Figure 15 : Structure chimique d'une dihydroxychalcone.	31
Figure 16 : Structures chimiques des licochalcones B et D.	32
Figure 17 : Conception et profil chimique des diaza-hétéroaryl propénones et analogues structuraux acrylonitriles.	33
Figure 18 : Profil chimique général des imidazopyridinyl-arylpropénones à visée antioxydante.	34
Figure 19 : Spectre d'absorption du DPPH et oxydation du radical DPPH	37
Figure 20 : Réduction du complexe tripyridyltriazine ferrique en complexe ferreux.	39
Figure 21 : Réactions chimiques entre l'ABTS et le radical cationique ABTS.	44
Figure 22 : Photographie du spectrophotomètre utilisé.	49
Figure 23 : Structure de la 1,3-diphénylpropénone.	51
Figure 24 : Structure chimique du Trolox.	51
Figure 25 : Histogramme de la variation du pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction des molécules testées.	58
Figure 26 : Conception de l'imidazopyridinyl-chalcone (composé S2).	60
Figure 27 : Variations structurales entreprises autour de l'imidazopyridinyl-chalcone (composé S2).	61

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Présentation des espèces réactives de l'oxygène .	9
Tableau II : Antioxydants endogènes	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 ABTS des imidazopyridinyl-chalcones et du Trolox.	57

LISTE DES ABBREVIATIONS

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

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 anti oxydantes [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, la sclérose latérale amyotrophique) [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 de maladies infectieuses comme le sida [2].

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

C'est dans ce contexte que le département de chimie organique et chimie thérapeutique de l'UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny en collaboration avec le département de pharmacologie

s'intéressent à la mise au point de quelques hybrides de chalcones. Ces dernières ont montré dans un précédent travail des activités antalgiques non négligeables [7]. Dès lors, l'objectif général de ce travail est d'explorer le pouvoir antioxydant des imidazopyridinyl-chalcones afin d'identifier un chef de file pour cette série. De façon spécifique, il s'agit pour nous de :

- ✓ Déterminer l'activité antioxydante par la méthode à l'acide 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS) de quelques imidazopyridinyl-chalcones.
- ✓ Etablir une corrélation entre le profil chimique des dérivés imidazopyridinyl-chalcones et les activités antioxydantes obtenues.

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

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

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

PREMIÈRE PARTIE : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I. AGENTS OXYDANTS ET STRESS OXYDANT

I.1. Agents oxydants

Un agent oxydant est un corps simple, un composé ou un ion qui reçoit au moins un électron d'une autre espèce chimique lors d'une réaction d'oxydoréduction. L'oxydant ayant accepté au moins un électron au cours de cette réaction est dit réduit, tandis que l'espèce chimique qui a cédé au moins un électron est dite oxydée. Parmi ces agents oxydants retrouvés dans l'organisme humain, l'on peut citer les radicaux libres responsables de nombreux dommages oxydatifs [8].

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

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

Les radicaux libres constituent une proportion importante des ERO. Les radicaux libres (RL) sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires (non appariés) sur leur couche externe [8]. Ils jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire, la phagocytose et la communication cellulaire [9]. Les radicaux libres 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 souvent 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^{\cdot}) et le radical alkoxyle (RO^{\cdot}). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires tels que

l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde (ONOO^-), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [2].

I.1.1. Production des radicaux libres

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

I.1.1.1. Production intracellulaire

✓ Métabolisme de l'oxygène

La chaîne respiratoire est une source permanente de production des ERO. Selon certains auteurs, environ 1 à 7% de l'oxygène utilisé par la mitochondrie est incomplètement réduit et produit des anions superoxydes, de l'eau oxygénée et éventuellement des radicaux hydroxyles [2].

✓ Inflammation

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

Les cellules immunitaires sont activées par des stimuli endogènes et exogènes. Cette activation s'accompagne d'une accélération de leur consommation d'oxygène entraînant la stimulation d'une enzyme membranaire, la NADPH oxydase. Cette enzyme catalyse la réduction de l'oxygène en anion superoxyde. Ce dernier donne le peroxyde d'hydrogène par dismutation.

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

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

✓ Sources cytosoliques

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

- Les peroxysomes constituent 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].

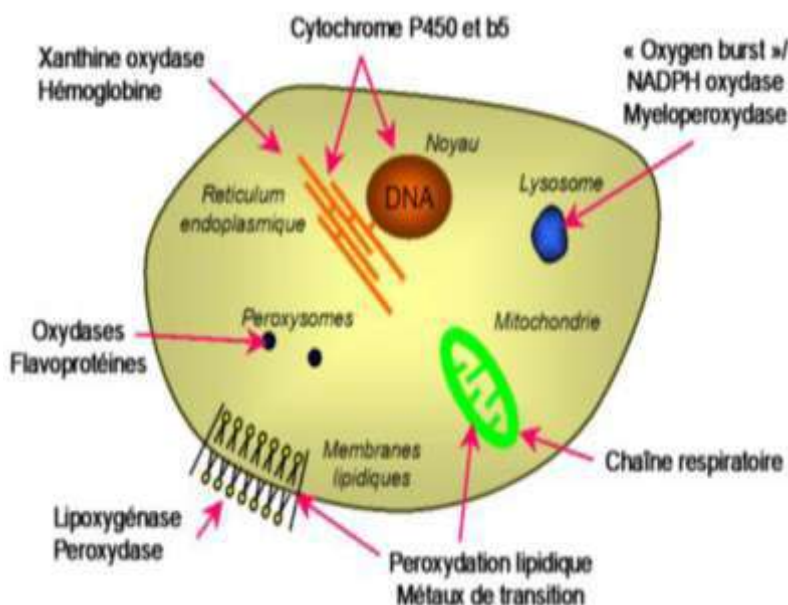


Figure 1: Sites de production intracellulaire des ERO [15].

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 rayonnements UV : ceux-ci sont capables de générer des anions superoxyde ou de l'oxygène singulet. Les rayons X sont aussi capables de couper la molécule d'eau en deux radicaux par l'intermédiaire d'agents 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 qui sont aussi des sources d'ERO [2].

✓ Production des radicaux libres liés au mode de vie

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

- Les fumées de combustion provenant des cigarettes, la consommation de l'alcool et l'effort physique intense sont aussi des paramètres à ne pas écarter [17].
- Une alimentation déséquilibrée, trop riche en graisses saturées, en sucres ou contenant trop de substances chimiques [6,13].

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

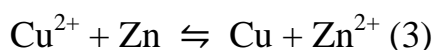
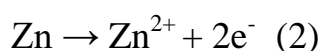
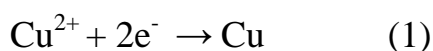
Les différents types d'espèces réactives de l'oxygène sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Tableau I : Présentation des espèces réactives de l'oxygène [18].

Nomenclature	Formules	Principales réactions
Superoxyde	$\text{O}_2^{\cdot -}$	Catalyseur de la réaction de Haber-Weiss par recyclage du Fe^{2+} et du 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	$\cdot\text{OH}$	Capture d'hydrogène, production de radicaux libres et peroxydes lipidiques, oxydation des thiols.
Ozone	O_3	Oxydation de biomolécules, spécialement celles contenant des doubles liaisons, formation des ozonides et des aldéhydes cytotoxiques.
Oxygène singulet	$^1\text{O}_2$	Réaction avec les doubles liaisons, formation de peroxydes, décomposition des aminoacides et nucléotides.
Oxyde nitrique	NO	Formation de peroxynitrite, réaction avec les autres radicaux.
Ion peroxynitrite	$\text{NO}_3^{\cdot -}$	Formation du radical hydroxyle, oxydation des groupements thiols et aromatiques, conversion de la xanthine déshydrogénase en xanthine oxydase, oxydation des biomolécules.
Hypochlorite	$\text{ClO}^{\cdot -}$	Oxydation des groupements amine et sulfure, formation de chlore.
Radical peroxyde	RO_2^{\cdot}	Capture d'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 conséquences 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 de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires à cause du caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides [21].

Bien que les radicaux libres aient la capacité d'infliger des dommages irréversibles aux macromolécules, ils ont un rôle essentiel à jouer dans certaines fonctions

biologiques telles que la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire, des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques [22].

I.3.2.1. Cas des protéines

Les protéines peuvent être la cible de réactions radicalaires ou oxydatives et subir des modifications sous l'action des ERO et des 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 le radical OH^\bullet 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 dans le vieillissement [10].

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

I.3.2.3. Cas des lipides

La peroxydation des lipides est la dégradation des acides gras membranaires. Elle constitue par conséquent un indice de dommages oxydatifs effectués aux lipides. La peroxydation lipidique génère une variété de produits de décomposition relativement stables, principalement des aldéhydes, insaturés et toxiques tels que le malondialdéhyde, 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 aboutira 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].

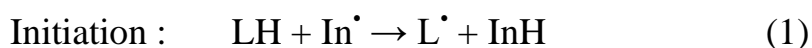
Traditionnellement, l'oxydation des lipides se comprend comme une "réaction en chaîne de radicaux libres" se faisant de manière auto catalytique. Cette oxydation des lipides implique une série complexe de réactions chimiques qui peuvent être commodément divisées en trois étapes [28-30] :

Initiation - formation de radicaux libres,

Propagation - réactions radicalaires en chaîne,

Résiliation ou terminaison - formation de produits non radicalaires.

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 plus d'une centaine de 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 cancérogénicité du stress oxydant est principalement attribuée à la génotoxicité des ERO dans les différents processus cellulaires [34].

I.3.3.2. Stress oxydant et l'athérosclérose

L'oxydation de certaines lipoprotéines est aujourd'hui considérée comme une étape importante de l'athérogénèse. En effet, les LDL oxydées ne sont pas reconnues par leurs récepteurs habituels 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 du vaisseau sanguin [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 ce qui contribue à la fixation et à l'accumulation d'anomalies [37,38].

I.3.3.4. Stress oxydant et diabète de type 2

Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant est une maladie marquée 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 alors 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 d'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) [42].

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].

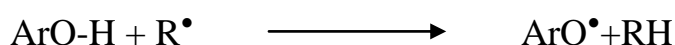
La maladie de Charcot se traduit par une dégénérescence progressive des motoneurones du cortex cérébral. Son évolution, généralement rapide, se traduit par une paralysie progressive de l'ensemble des muscles squelettiques ainsi que des muscles respiratoires. Il a été démontré que des mutations du gène 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].

En présence d'un antioxydant, le radical libre arrache un électron à l'antioxydant et non aux constituants de nos cellules. Grâce à cette réaction, le radical libre devient stable et ne présente aucun danger, il sera éliminé naturellement par l'organisme. L'antioxydant, auquel il manque un électron, a l'avantage de ne pas se transformer en radical libre. Il devient inactif [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' O_2 ;
- ✓ Le glutathion peroxydase (GP_X) qui réduit le peroxyde d'hydrogène en eau en oxydant le glutathion sous forme réduite en glutathion oxydé. Il neutralise aussi directement l'anion superoxyde et le radical hydroxyle.

Les systèmes antioxydants enzymatiques ayant une faible action sont :

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

II.3. Systèmes antioxydants non enzymatiques

II.3.1. Systèmes antioxydants non enzymatiques endogènes

Les systèmes antioxydants non enzymatiques endogènes sont :

- ✓ Le glutathion, ce dernier peut aussi participer à l'activité non-enzymatique en détoxifiant le peroxyde d'hydrogène [47].
- ✓ Les formes oxydée et réduite de l'acide lipoïque, grâce à leurs groupements thiols, sont capables de piéger les espèces réactives suivantes : $HO\bullet$, $RO_2\bullet$, l' $HOCl$ et l' 1O_2 [48].
- ✓ L'acide urique qui possède des propriétés antioxydantes contre $HO\bullet$ et $RO_2\bullet$, 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 l' O_2^{\bullet} en H_2O_2 et O_2
Catalase	Hydrophile	Dismute l' H_2O_2 en H_2O 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 glutathion réduit (\rightarrow GS-OR)
Métallothionéines	Hydrophile	Fixation aux métaux de transition (=neutralisation)
Thioredoxines	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 1O_2
Tocophérols (vit E)	Lipophile	Piégeage des radicaux libres (prévient LPO) Augmente l'absorption du sélénium
Sélénium	Amphiphile	Constituant de la GPX et des thioredoxines

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

Les principaux systèmes antioxydants non enzymatiques exogènes sont consignés dans le tableau ci-dessous.

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

Principaux nutriments antioxydant	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrumes, melon, fraise, kiwi, choux, 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	Céréales complètes, baies, cerises.
Tanins	Lentilles, thé, raisins

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

La Vitamine C (figure 2) ou acide ascorbique est un puissant réducteur et joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. Elle empêche l'oxydation des lipoprotéines et assure le piégeage des ERO produites par divers systèmes pro-oxydants : polynucléaires neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydases [10,51].

Figure 2 : Structure chimique de la vitamine C

La vitamine E (figure 3) est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols. Ce sont de bons antioxydants alimentaires, mais surtout ils jouent des rôles physiologiques importants chez l'Homme. Ils servent comme protecteurs des structures membranaires et des lipoprotéines en luttant contre le stress oxydant. Aussi, la vitamine E prévient l'apparition d'hydropéroxydes en piégeant les radicaux LOO^{\bullet} [10].

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].

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

Figure 3 : Structure chimique des vitamines E.

Les caroténoïdes notamment le rétinol et le β -carotène (figures 4 et 5) : sont des pigments issus des plantes et microorganismes, et sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles. L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux

ROO•, HO•, O₂•⁻, R• par simple addition électrophile et transfert d'électron. Ils protègent les lipides membranaires contre les radicaux en neutralisant l'oxygène singulet [14].

Figure 4 : Structure chimique d'un rétinoïde.

Figure 5 : Structure chimique des 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 des flavonoïdes est fortement dépendante de la nature et de la position des substituants, en particulier le nombre des groupements hydroxyles [52].

Figure 6 : Structure chimique de base des flavonoïdes.

Les composés phénoliques (figure 7) comportent dans leur structure un ou plusieurs groupements OH-phénoliques. Ils piègent les radicaux libres par un mécanisme de transfert de l'atome d'hydrogène (H-atom transfer ou HAT). Ils jouent un rôle important et sont capables d'interagir avec les métaux de transition, notamment avec le fer et le cuivre. En effet les ERO sont produits abondamment par réduction d'O₂ par le Fe²⁺ ou le Cu⁺ aboutissant à la formation de superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de radical hydroxyle (réaction de Fenton). Ainsi la formation de complexes chélateurs stables et inertes est un mécanisme antioxydant [53].

Figure 7 : Structure chimique du phénol.

Le sélénium est un oligo-élément indispensable au glutathion peroxydase. Aussi, 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 d'effets anticancéreux et antiviellissement [10,13,18].

Le zinc joue un rôle important dans la prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres. En effet le zinc est un cofacteur essentiel de la superoxyde dismutase.

Il protège également les groupements thiols des protéines et il peut inhiber les réactions de formation d'ERO induites par des métaux de transition comme le fer ou le cuivre. Le rapport 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 est le cofacteur d'enzymes comme la superoxyde dismutase (SOD). Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement des réactions de production d'ERO (réactions de Fenton) et peut, lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant. Les apports journaliers recommandés sont de l'ordre de 2,5 mg. Il est présent dans le son, l'avoine, le seigle, le foie de veau [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 stéréo-isomères *Z* et *E*, dont les stéréo-isomères *E* sont les plus abondants. 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 les dihydrochalcones sont uniques au sein de la famille des flavonoïdes. Ils sont dépourvus du cycle C central, les deux cycles A et B sont reliés par une chaîne tricarbonée cétonique (**9a**) insaturée et saturée dans le cas des dihydrochalcones (**9b**). Les cycles A et B sont équivalents aux cycles A et B des autres flavonoïdes (**Figure 9**).

Figure 9 : Profil chimique des chalcones et flavanones.

La présence d'une double liaison conjuguée confère aux chalcones une couleur jaune. 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 [59].

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* (Fabaceae) (**figure 10**). D'autres chalcones possédants des activités antiémétiques ont été isolées à partir des graines de *Alpinia katsumadai* (Zingiberaceae) [60,61].

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

III.2. Pouvoir antioxydant des chalcones

Les chalcones déploient leurs mécanismes antioxydants de trois manières :

- ✓ 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.

Ces divers mécanismes permettent d'attester les propriétés antioxydantes de diverses chalcones [62]. 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 de chélation des métaux de transition des chalcones a surtout été étudié et décrit avec les chalcones à cycle fermé que sont les flavonoïdes. Ce pouvoir antioxydant s'exerce par la complexation des métaux de transition (exemple : le cuivre et le fer). En effet, ces derniers accélèrent la formation des ERO. Pour les flavonoïdes, les différents points de fixation des ions de transition sont (**figure 14**) :

- ✓ Les groupements OH phénoliques en position 3'et 4' du cycle B (14 a)
 - ✓ La fonction cétonique en 4 et l'hydroxyle en 3 du cycle C (14 b)
 - ✓ La fonction cétonique en 4 du cycle C et l'hydroxyle en 5 du cycle A (14 c)
- [64].

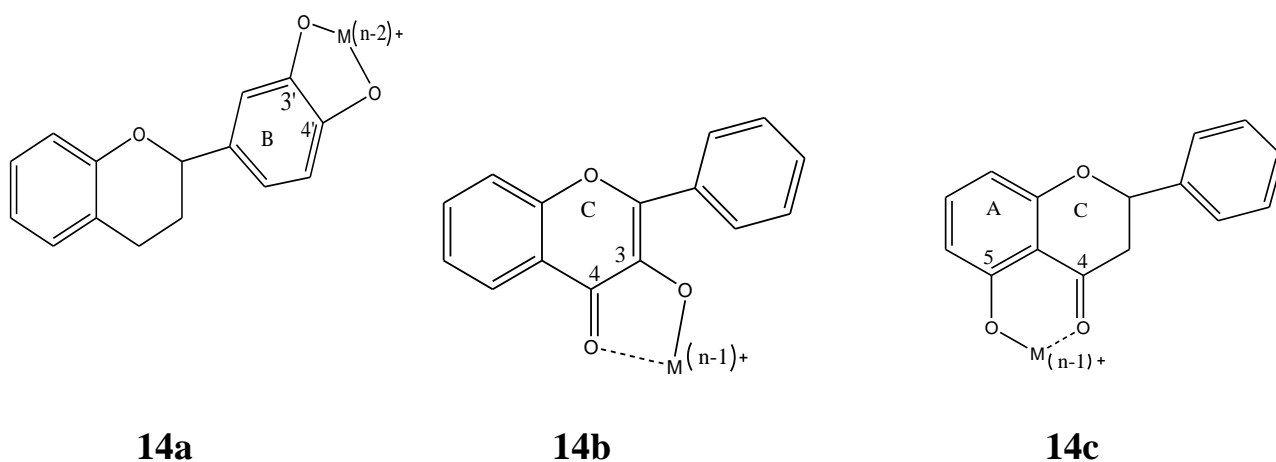
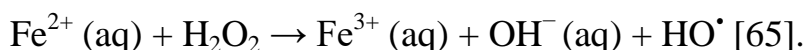


Figure 14 : Sites de complexation des métaux par les flavonoïdes.

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



Toute stratégie qui élimine ou masque le métal en question a une valeur potentiellement antioxydante. Ce rôle est naturellement rempli par des protéines telles que la transferrine (qui lie le fer) et la céruloplasmine (qui lie le cuivre). Certains métabolites comme le citrate peuvent aussi fixer les métaux. Les chélateurs de métaux emprisonnent un des acteurs indispensables à la réaction de Fenton, à savoir le métal, notamment 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 :

- 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].

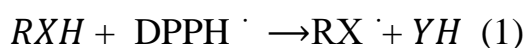
III.2.2. Activités sur les radicaux libres

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 groupements SH, NH et OH. Deux mécanismes connus sont utilisés dans la littérature pour décrire les réactions antioxydantes [67]:

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



Où X est un atome d'oxygène, d'azote, de soufre 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

- ✓ Mécanisme de 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 (**figure 15**) naturelle 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 GSH [70].

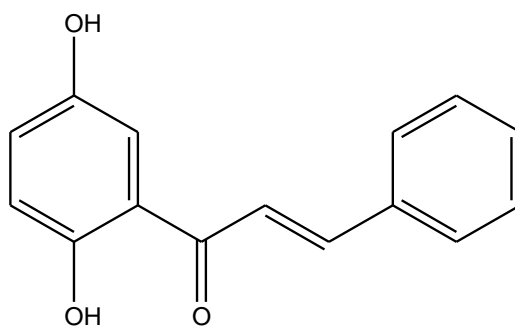


Figure 15 : Structure chimique d'une dihydroxychalcone.

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

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

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

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

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

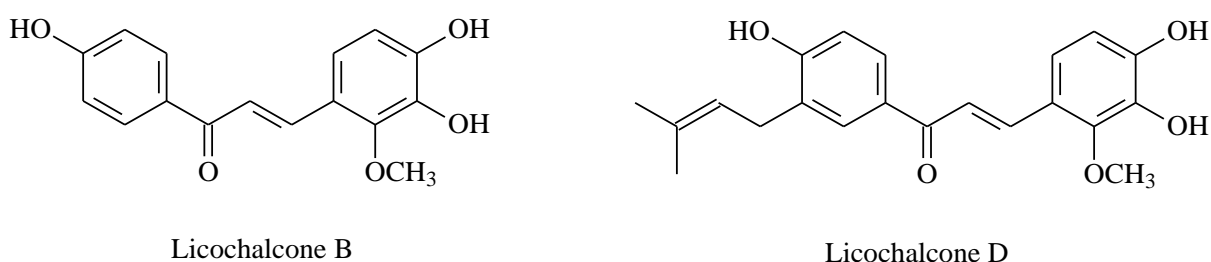


Figure 16 : Structures chimiques des licochalcones B et D.

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**).

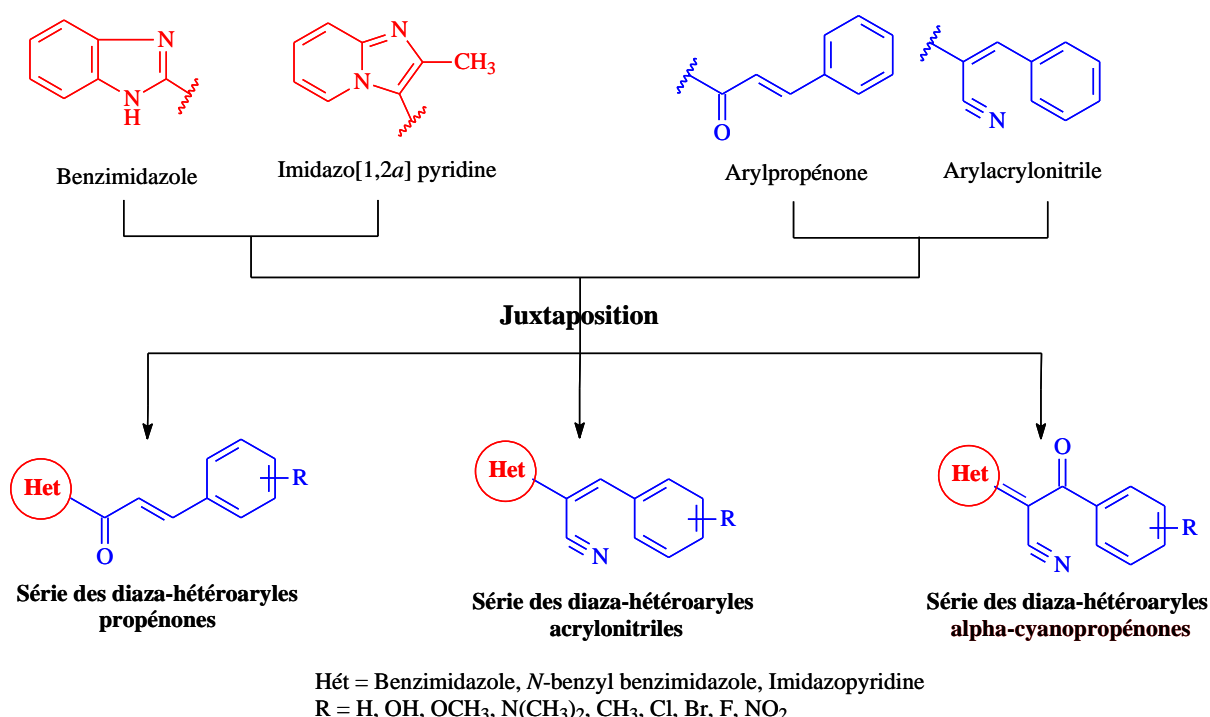


Figure 17 : Conception et profil chimique des diaza-hétéroaryl propénones et analogues structuraux acrylonitriles.

Ces hybrides d'arylpropénones et analogues structuraux acrylonitriles ont été développés dans notre département pour leurs propriétés anti-infectieuses notamment anthelminthiques, antipaludiques et anticandidosiques. [59,89-92].

Compte tenu de leurs groupements fonctionnels comparables à celui 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 activités antioxydantes des imidazopyridinyl-arylpropénone (**figure 18**).

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

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

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

V.1. Tests biologiques

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

- Le test du Kit Radicaux Libres (KRL) : Il évalue l'activité 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 de protection antioxydante à base de cellules dans les érythrocytes (PAC-E) : Le test PAC-E est effectué en incubant d'abord les globules rouges avec un échantillon d'essai à diverses concentrations. Les cellules sont ensuite combinées avec du diacétate de dichloro-fluorescéine (DCFDA), qui est oxydé en présence de radicaux libres pour former un sous-produit fluorescent vert (DCF). Dans l'étape suivante du test, du peroxyde d'hydrogène exogène est ajouté à une concentration de 167 mM pour induire artificiellement un stress oxydant sévère. L'activité antioxydante de concentrations variables du composé d'essai est mesurée sur la base du degré d'inhibition de la fluorescence DCF, qui est une mesure indirecte et non spécifique de la production d'espèces réactives de l'oxygène [94].

V.2. Tests chimiques

Ce sont des tests qui se réalisent au laboratoire (*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-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS).
- ✓ Le test Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC).
- ✓ Le test mesurant l'activité antioxydante au moyen de caroténoïdes.
- ✓ Le test mesurant l'activité antioxydante contre le lysozyme.
- ✓ Le test évaluant l'activité antioxydante par le phosphomolybdate.
- ✓ Le test de piégeage du peroxyde d'hydrogène.
- ✓ Le test de piégeage des radicaux hydroxyles.

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

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

- Le test de l'acide 2,2-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-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).
- Le test Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC).

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

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

V.2.1.1. Principe

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

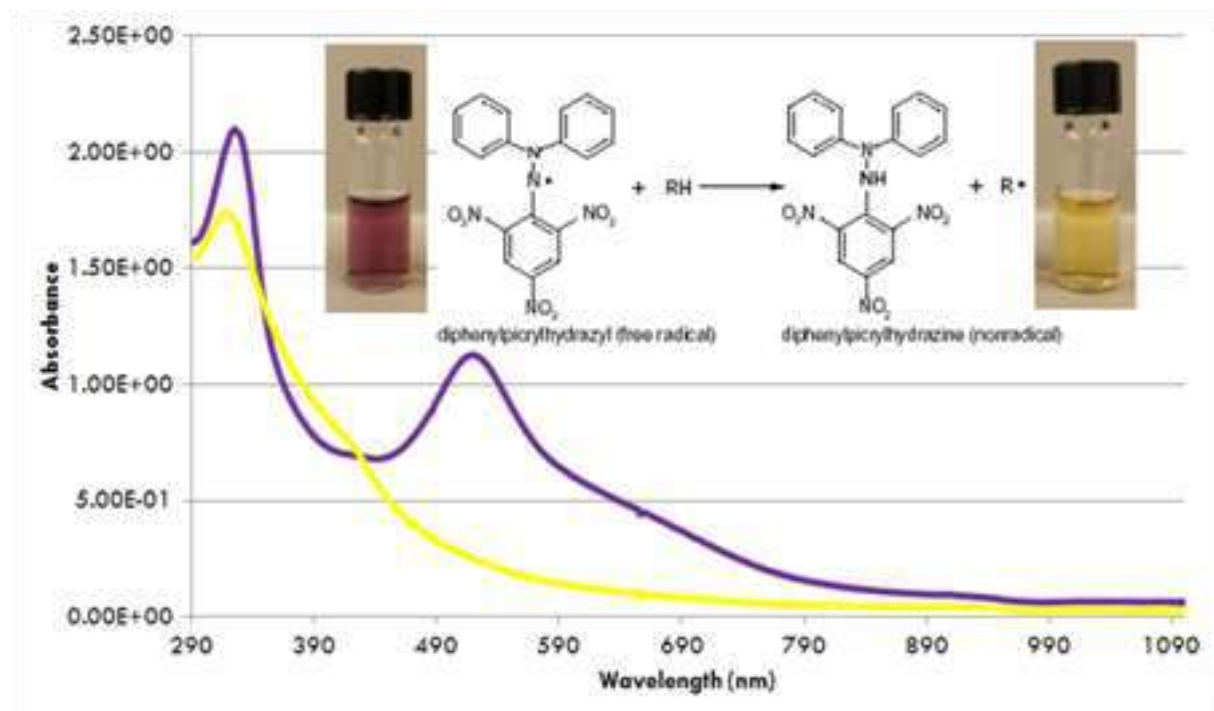


Figure 19 : Spectre d'absorption du DPPH et oxydation du radical DPPH [95].

V.2.1.2. Interprétation

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

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

Le contrôle négatif est constitué par la solution DPPH sans extrait. Le contrôle positif (acide ascorbique) est mesuré dans les mêmes conditions que l'échantillon [18].

V.2.1.3. Limites du Test

Le test au DPPH présente plusieurs limites :

- Le DPPH étant relativement stable, il peut arriver que des antioxydants normalement efficaces contre les dérivés réactifs de l'oxygène restent inertes face au DPPH [49]. De plus, certaines réactions avec le DPPH sont réversibles et peuvent mener à une sous-estimation du potentiel des produits testés.
- Certains antioxydants tels que les caroténoïdes ont des spectres qui se chevauchent avec le DPPH à 515 nm et interfèrent avec les résultats [96,97].
- Le radical DPPH ne peut être dissous que dans des solvants organiques (méthanol, éthanol, acétone), ce qui constitue une limitation dans l'interprétation du rôle des antioxydants [97,98].
- Plusieurs facteurs peuvent affecter le dosage tels que le solvant, le pH, la concentration de l'échantillon et le temps de réaction.
- Les antioxydants qui réagissent rapidement avec les radicaux peroxy *in vivo* peuvent réagir lentement ou même être inertes 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].

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

V.2.1.4. Avantages du Test

- Le DPPH ne réagit pas avec les flavonoïdes ni avec les acides aromatiques ne contenant qu'une seule fonction alcool [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 [47,49].

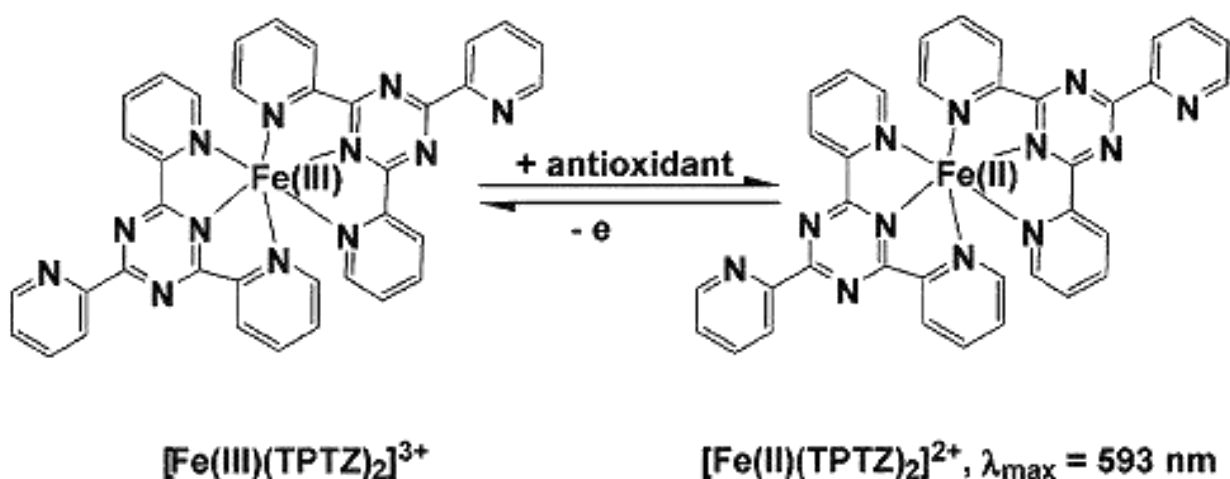


Figure 20 : Réduction du complexe tripyridyltriazine ferrique en complexe ferreux [49].

V.2.2.2. Interprétation

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

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

V.2.2.3. Limites du Test

Le test FRAP présente plusieurs limites

- Il fut montré que certains produits issus des réactions entre le révélateur et le produit testé peuvent interférer avec la mesure d'absorbance. C'est le cas par exemple de la bilirubine qui se transforme en biliverdine lorsqu'elle est oxydée. Cette dernière absorbe à 593 nm et mène à une surestimation du potentiel réducteur de la bilirubine [49].
- Cette méthode n'implique aucun substrat oxydable, elle ne renseigne donc en rien sur la capacité du produit testé à protéger un 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 ont rapporté que de nombreux échantillons montrent ces longs temps de réaction, notamment l'acide caféique, l'acide tannique, l'acide ferulique, l'acide ascorbique et la quercétine [102].

- Le Fe^{2+} est un «pro-oxydant» bien connu qui peut réagir avec le peroxyde d'hydrogène 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 le 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 également de nombreux avantages :

- Cette méthode est originellement conçue pour caractériser le potentiel antioxydant du plasma sanguin, elle est aussi adéquate pour caractériser le potentiel antioxydant de composés purs [49].
- C'est un test simple, rapide, peu coûteux et ne nécessitant aucun équipement spécialisé et pouvant être effectué manuellement ou automatiquement.
- Il s'agit d'un transfert total d'électrons plutôt que d'un mélange de transfert d'électron unique (TEU) et de transfert d'atome hydrogène (TAH). En combinaison avec d'autres méthodes, il est très utile pour distinguer les mécanismes dominants des différents antioxydants.

V.2.3. Test ORAC: Oxygen Radical Absorbance Capacity

V.2.3.1. Principe

La méthode consiste à suivre la perte de fluorescence (ex. : 485 / X em.: 530nm) de la fluorescéine lorsqu'elle est oxydée par les radicaux peroxydes générés à partir du 2,2'-Azobis(2-méthylpropionamidine) dihydrochloride (AAPH). L'activité des composés

testés, traduite par un délai de perte de fluorescence, est comparée avec celle du Trolox pour obtenir un indice d'activité en équivalent Trolox ($\mu\text{mol Trolox} / \text{mg de produit testé}$), le Trolox étant la version hydrosoluble de la vitamine E [49].

V.2.3.2. Interprétation

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

V.2.3.3. Limites du Test

Le test ORAC présente un certain nombre de limites :

- Il ne mesure que la capacité antioxydante contre les radicaux 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 de ce test sont multiples :

- C'est un test qui utilise une source de radicaux biologiquement pertinente 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 récemment été adapté pour utiliser la fluorescéine comme sonde fluorescente pour les dosages à haut débit.

- Il a été largement utilisé comme méthode de choix pour quantifier la capacité antioxydante, habituellement en combinaison avec un dosage de la teneur totale en phénol.
- Il a été appliqué pour mesurer la capacité antioxydante des échantillons botaniques et biologiques [107].
- Ce test possède la capacité d'utiliser différents générateurs de radicaux libres ou oxydants, et peut mesurer de nombreux composés différents tels que des antioxydants contre les radicaux peroxy et hydroxyle.
- Sa mise en œuvre est peu coûteuse et rapide.
- Cette méthode est largement utilisée.

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

V.2.4.1. Principe

La substance à tester est mise en contact avec les radicaux libres d'ABTS préformés et l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 734 nm. Les radicaux libres d'ABTS sont fondamentalement créés de deux manières [52] :

- A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium $K_2S_2O_8$: les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12 à 16 heures ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est lue 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) est lue à 734 nm.

Les réactions qui se déroulent peuvent être de type ABTS/trans 3,3',4',5,7 – Pentahydroxyflavan (Catéchine) ou ABTS/I,3,5 trihydroxy-benzène (Phloroglucinol) (**figure21**) [18].

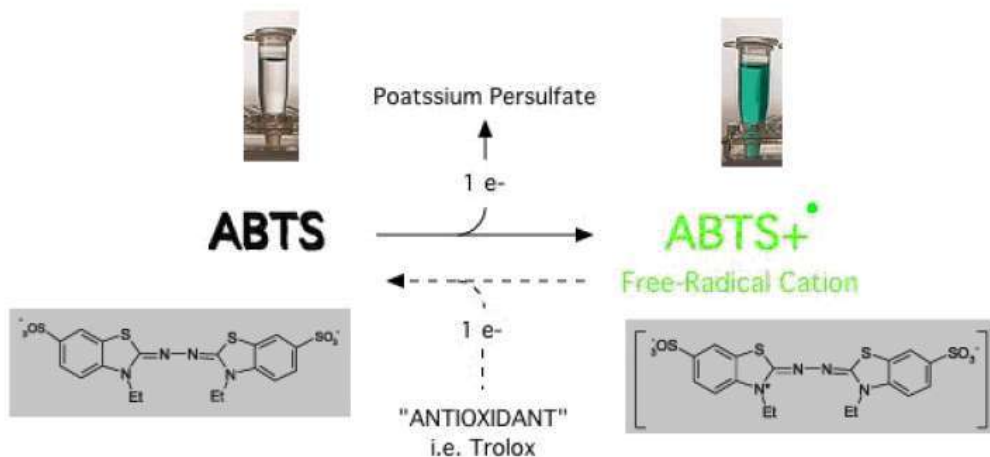


Figure 21 : Réactions chimiques entre l'ABTS et le radical cationique ABTS [108].

V.2.4.2. Interprétation

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

V.2.4.3. Limites du Test

Cette méthode présente certaines limites.

D'abord, l'activité mesurée dépend de la durée de l'incubation et de la proportion du produit testé par rapport à la concentration en ABTS [105]. De plus, la méthode reflète davantage la capacité d'un produit testé à réagir avec l'ABTS que son potentiel antioxydant réel dans un contexte biologique. En effet, le radical artificiel ABTS réagit avec toutes les fonctions hydroxyles aromatiques, indépendamment de leur pouvoir antioxydant réel [48,100].

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

C'est un test qui nécessite une préparation spéciale dans laquelle le radical ABTS doit être généré par des enzymes ou par une réaction chimique [98,109].

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

V.2.4.4. Avantages du Test

Ce test présente de multiples avantages :

- 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. C'est un test qui peut être utilisé pour mesurer l'activité antioxydante des composés hydrophiles et lipophiles [97,98].
- Il réagit rapidement avec des antioxydants dans les 30 minutes, peut être utilisé sur une large gamme de pH et peut être automatisé pour l'utilisation de microplaques.

Les caractéristiques de ces principaux tests sont résumées dans le tableau ci-dessous (**Tableau IV**).

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

Tests Caracté- ristiques	DPPH	ORAC	ABTS	FRAP
Mécanismes réactionnels	-transfert d'électron majoritaire	- transfert de proton	-transfert d'électron et de proton	-transfert d'électron
Nature des molécules testées	-hydrophiles ou lipophiles	- lipophiles ou hydrophiles	-hydrophiles ou lipophiles	-hydrophiles
Expression des résultats	-CI 50 et /ou en mg 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 possibles à 515 nm - forte dépendance au pH et au solvant - radical inexistant <i>in vivo</i>	- ne suffit pas pour juger de la qualité 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 EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

I. CADRE DE L'ETUDE

Notre étude s'est déroulée à l'Unité de Formation et de Recherche Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, précisément :

- ✓ au département de chimie organique et chimie thérapeutique pour la synthèse chimique l'interprétation des résultats et la rédaction de la thèse.
- ✓ au département de pharmacologie, pharmacie clinique et thérapeutique, et physiologie humaine pour l'évaluation des activités antioxydantes.

Il s'agit d'une étude expérimentale qui s'est déroulée sur une durée de 9 mois, de juillet 2017 à mars 2018.

II. MATERIEL

II.1. Matériel de laboratoire

Balance de précision

Marque : OHAUS[®] ADVENTURER

Type : AX523E

Capacité maximale : 520g

Sensibilité : 0.001g

Fabriquée en Belgique

Bain marie

Marque : SALVIS[®] AG 6015

Type : SBK 25D

Fabriquée en Allemagne

Spectrophotomètre UV-Visible

Marque : JENWAY®

Type: 7315

Numéro de série : 39779

Fabriqué en Angleterre.



Figure 22 : Photographie du spectrophotomètre utilisé.

Vortex

Marque : NEVATION®

TYPE: K-550-GE

Numéro de série : 21647

Fabriqué en Suisse.

Micropipettes

1-Marque : TRANSFERPETTE® S

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

3-Pipette à usage unique : 100 µL marque : TRANSFERPETTE® S.

II.2. Matériel chimique

II.2.1. Réactifs chimiques de laboratoire

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

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

II.2.2.1. Molécules de synthèse

L'imidazopyridinyl-chalcone et ses dérivés qui ont été utilisés pour l'évaluation des activités antioxydantes ont été synthétisés, caractérisés et fournis sous forme de poudre par le département de chimie organique et thérapeutique de l'Unité de Formation et de Recherche des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan.

II.2.2.2. Modèle moléculaire

Le modèle moléculaire ou le 1,2-diphénylpropénone (**figure 23**) a été synthétisé, caractérisé et fourni par le département de chimie organique et chimie thérapeutique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologique d'Abidjan sous forme de poudre.

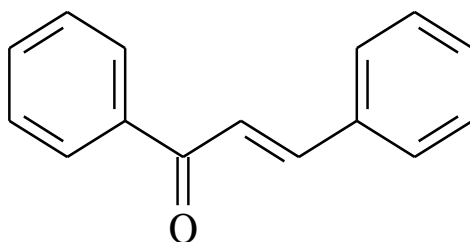


Figure 23 : Structure de la 1,3-diphénylpropénone.

II.2.2.3. Substance de référence antioxydante

Le Trolox (MERCK SIGMA-ALDRICH) ou acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique (**figure 24**), est un analogue hydrosoluble de la vitamine E utilisé en biologie pour limiter les dommages dus au stress oxydant.

La capacité antioxydante en équivalent Trolox (exprimée en TEAC) donne une mesure de la force antioxydante d'une substance en unités d'équivalent Trolox, par exemple en μM pour 100 g [49].

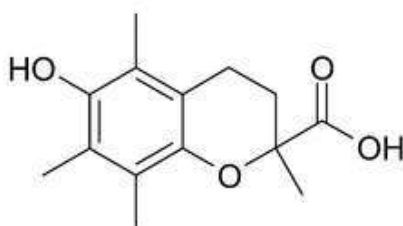


Figure 24 : Structure chimique du Trolox.

II.3. Autre matériel

Logiciel Microsoft Excel 2010.

III. METHODE D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

III.1. Principe

L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) ou ABTS est utilisé pour évaluer les capacités antioxydantes des substances naturelles ou chimiques. Pour cela il doit être transformé en radical cationique ($\text{ABTS}^{\bullet+}$), de couleur bleue, par addition avec du persulfate de Sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$) [111]. Ce radical cationique de l'ABTS a la caractéristique de réagir avec la plupart des antioxydants en se comportant comme une substance oxydante [112]. 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 [113]. 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). [49,114-116].

III.2. Mode opératoire

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

III.2.1. Préparation des échantillons

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

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

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

M (ABTS) : 514,62 g/mol

C : 0,007 mol/L

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

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

m = 0,072g soit 72mg

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

➤ 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 préparer 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

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

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

m = 0,014g soit 14mg

Il s'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 et pendant 16h.

Après ce temps, la solution obtenue est diluée avec 60mL de méthanol pour obtenir une absorbance variant entre 1,0 et 1,5 à 734 nm.

III.2.2. Essais de décoloration du radical ABTS

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

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

III.2.3. Calcul du pouvoir réducteur

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

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

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

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

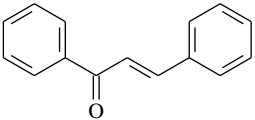
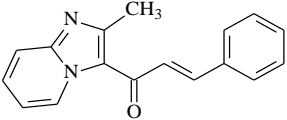
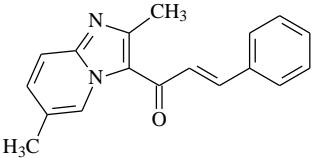
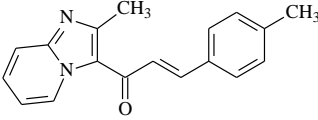
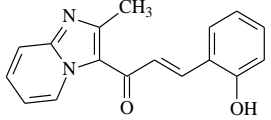
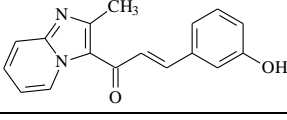
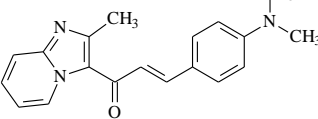
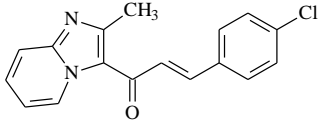
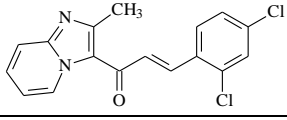
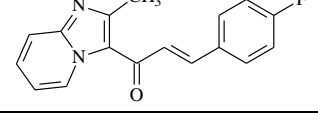
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

I. RESULTATS

Le pouvoir antioxydant du modèle moléculaire chalcone ou 1,3-diphényl propénone (**composé R**) ainsi que celui de l'imidazopyridinyl-chalcone (**composé S2**) et de ses dérivés (**V1 à V8**) ont été comparés à celle du Trolox, substance antioxydante de référence.

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

Tableau V : Pourcentage (%) moyen d'inhibition du cation radicalaire ABTS des imidazopyridinyl-chalcones et du Trolox.

Composé	Structure	Pourcentage moyen d'inhibition du radical ABTS
R		6,14 ± 0,29
S2		12,44 ± 0,19
V1		7,74 ± 0,13
V2		8,92 ± 0,04
V3		91,62 ± 0,04
V4		99,84 ± 0,10
V5		97,45 ± 0,10
V6		43,15 ± 2,96
V7		40,24 ± 2,03
V8		42,99 ± 9,67
Trolox		99,12 ± 0,06

Ces résultats montrent que:

- ✓ Le modèle moléculaire (**composé R**), a induit une activité antioxydante en inhibant le radical ABTS avec un pourcentage moyen de 6%.
- ✓ La substance de référence (le Trolox) a présenté un pourcentage moyen d'inhibition du radical ABTS de 99%.
- ✓ Toutes les chalcones (**composés S2, V1-V8**) ont induit des activités antioxydantes allant de 7% (**composé V1**) à 99% (**composé V4**).

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

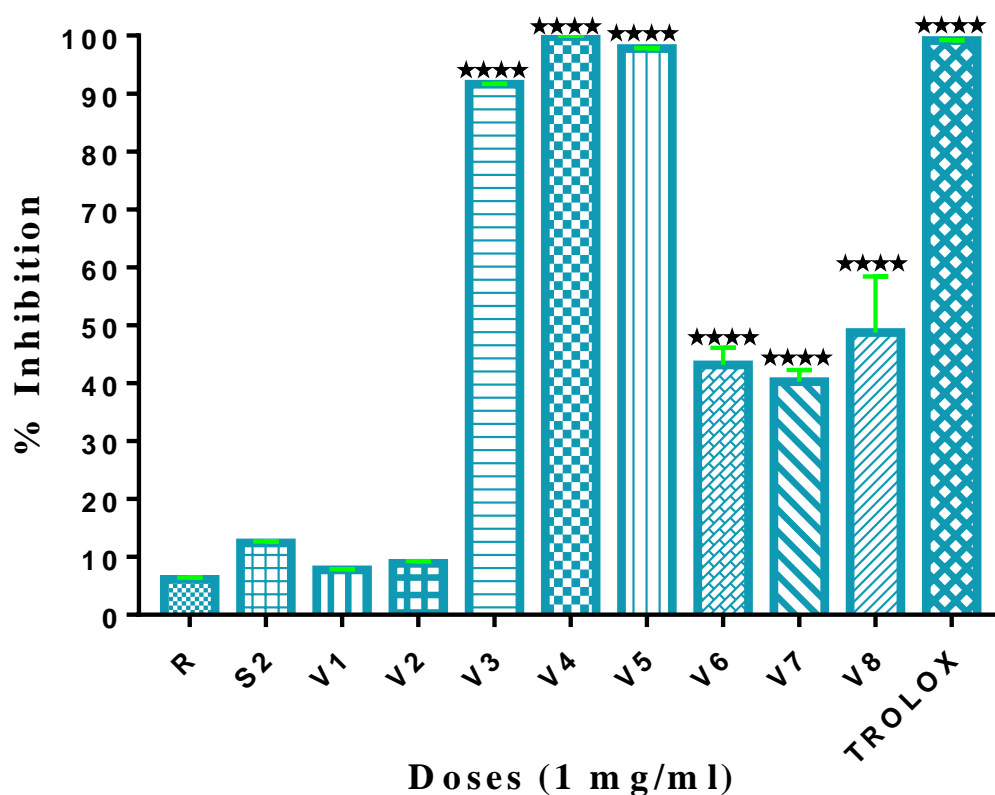


Figure 25 : Histogramme de la variation du pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction des molécules testées.

Les résultats présentés par ce graphique montrent que l'imidazopyridinyl-chalcone (**composé S2**) et tous ses dérivés ont induit des activités antioxydantes qui peuvent être réparties en trois grands groupes selon le pourcentage moyen d'inhibition du radical ABTS qu'elles ont exprimé :

- ✓ Le premier groupe correspond à l'ensemble des chalcones dont le pourcentage d'inhibition du radical ABTS est inférieur à 13%. Il s'agit du modèle moléculaire (**composé R**), ainsi que des **composés V1, V2 et S2**.
- ✓ Le second groupe comprend les chalcones dont le pourcentage d'inhibition moyen du radical ABTS est compris entre 40 et 44%. Ce sont les trois dérivés halogénés de l'imidazopyridinyl-chalcone (**composés V6, V7 et V8**).
- ✓ Le troisième groupe rassemble les chalcones ayant présenté des pourcentages d'inhibition du radical ABTS supérieurs à 91%.
Ce sont les dérivés hydroxylés (**composés V3, V4**) et diméthylamine (**composé V5**) de l'imidazopyridinyl-chalcone.

II. DISCUSSION

A la suite du criblage en série des imidazopyridinyl-arylpropénones nous avons consacré cette partie de notre travail à une discussion des résultats expérimentaux obtenus.

Cette 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 de nouveaux hybrides de chalcones par la juxtaposition d'entités chimiques bioactives [117] permet d'établir que le remplacement du benzène en position 1 de la 1,3-diphénylpropénone (**composé R**) par un hétérocycle imidazopyridine (**figure 26**) a permis d'induire des activités antioxydantes non négligeables. En effet le **composé S2**, avec un pourcentage d'inhibition du radical cation ABTS de 12% a montré un pouvoir antioxydant deux fois supérieur à celui du modèle moléculaire (pourcentage d'inhibition de 6%). Ce résultat corrobore les potentialités anti-oxydantes intrinsèques du noyau imidazopyridine (bioisostère du noyau benzimidazole) et du motif arylpropénone des chalcones [56,118]. Une telle performance antioxydante de l'imidazopyridinyl-chalcone doublement supérieure à celle du modèle moléculaire confirme la pertinence de ce concept pharmacochimique comme une méthode efficace pour l'élaboration de molécules d'intérêt thérapeutique.

Figure 26 : Conception de l'imidazopyridinyl-chalcone (**composé S2**).

Au vu de cette activité antioxydante non négligeable de l'imidazopyridinyl-chalcone ou **composé S2** par rapport à celle de notre modèle moléculaire, il était opportun d'entreprendre d'autres modulations chimiques autour celle-ci dans le but d'améliorer ses activités antioxydantes. Une telle entreprise pourrait également nous permettre de mettre en évidence les éléments structuraux favorables à l'amélioration desdites activités. Pour cela, deux types de variations structurales ont été entreprises sur le **composé S2** à savoir :

- La C₅ méthylation de l'hétérocycle imidazopyridine.
- L'introduction de divers modulateurs (méthyle, hydroxyles, diméthylamine, halogènes) sur l'homocycle benzénique de l'arylpropénone (**figure 27**).

Figure 27 : Variations structurales entreprises autour de l'imidazopyridinyl-chalcone (**composé S2**).

II.2. Eléments structuraux d'optimisation d'activités

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

II.2.1. Variations structurales au niveau de l'hétérocycle imidazopyridinyle

Pour améliorer les activités antioxydantes du **composé S2** la première variation structurale entreprise a consisté à introduire un groupement méthyle en position 5 de l'hétérocycle imidazopyridine. Cette variation structurale a été entreprise en se référant aux études de relations structure-activité réalisées autour des substances médicamenteuses à noyau imidazopyridine. En effet, lesdites études stipulent que les positions 5 et/ou 6 de cet hétérocycle constituent des sites de métabolisation potentiels et leur blocage par un substituant contribuerait à une amélioration de l'activité globale de la molécule [119]. Malheureusement, le dérivé C₅-méthylé (**Composé V1**) obtenu a présenté une baisse de l'activité antioxydante avec un pourcentage d'inhibition moyen du radical ABTS de 7,74 %. Une telle activité près de deux fois moindre que celle du **composé S2** (pourcentage d'inhibition 12,44%) démontre que la modulation de l'imidazopyridine en position 5 par un groupement méthyle est défavorable aux activités antioxydantes. Un tel résultat a motivé de nouvelles variations structurales, cette fois ci au niveau l'homocycle benzénique de l'enchaînement arylpropénone.

II.2.2. Variations structurales autour de l'homocycle benzénique de l'arylpropénone

Les variations structurales entreprises autour de l'homocycle benzénique de l'arylpropénone du **composé S2** ont permis d'établir que :

- ✓ L'introduction d'un groupement méthyle faiblement électrodonneur en position 4 de l'homocycle benzénique conduit à une baisse du pouvoir antioxydant. En effet,

le dérivé 4-méthylé (**composé V2**) avec un pourcentage moyen d'inhibition de 8,92% s'est avéré moins performant que son analogue non méthylé, le **composé S2** (pourcentage moyen d'inhibition = 12%). Comme précédemment la présence d'un groupement méthyle sur l'hétérocycle imidazopyridine ou sur l'homocycle benzénique semblerait défavorable à l'amélioration des activités antioxydantes en série des imidazopyridinyl-chalcones.

- ✓ La présence d'un groupement fortement électrodonneur de type hydroxyle, en position 2 de l'homocycle benzénique conduit à une amélioration significative des propriétés antioxydantes. Le dérivé 2-hydroxylé (**composé V3**) issu de cette variation a présenté l'une des meilleures performances antioxydantes avec un pourcentage d'inhibition moyen de 91,62%. Par ailleurs, le déplacement de ce groupement hydroxyle de sa position isomérique 2 à la position 3 conduit à une exaltation des performances antioxydantes du dérivé 3-hydroxylé (**composé V4**). Ce dérivé (**composé V4**) avec un pourcentage d'inhibition de 99,84 % s'est avéré plus performant que le Trolox, la substance antioxydante de référence. Il en ressort que le groupement hydroxyle est un excellent modulateur des activités antioxydantes en série imidazopyridinyl-chalcone ce qui justifierait la présence de ce groupement dans la structure chimique du Trolox et de la vitamine C qui sont des substances antioxydantes de référence. Cette importance du groupement hydroxyle dans l'amélioration des propriétés antioxydantes a été également décrite dans la littérature par plusieurs auteurs [120, 121].
- ✓ Le remplacement de l'hydroxyle par un autre groupement fortement électrodonneur de type N,N-diméthylamine conduit là aussi à une exaltation des activités antioxydantes. Le dérivé 4-diméthylamine (**composé V5**) avec un pourcentage d'inhibition de 97,45% a présenté une performance antioxydante presque superposable à celle du Trolox. Le groupement diméthylamine à l'instar

du groupement hydroxyle serait également favorable à l'amélioration des activités antioxydantes.

De tels résultats révèlent l'importance de la présence d'un groupement fortement électrodonneur sur l'homocycle benzénique dans l'optimisation des activités antioxydantes en série imidazopyridinyl-chalcone.

- ✓ L'introduction d'un atome d'halogène de type chlore en position 4 de l'homocycle benzénique, de même que sa duplication en position 2 conduit à une légère augmentation des activités antioxydantes comparativement au **composé S2**. Ces dérivés chlorés avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 43% se sont avérés deux fois moins performants que leurs analogues hydroxylés et diméthylamines.

Le remplacement du chlore par un autre atome d'halogène de type fluor, a conduit à un maintien des activités antioxydantes. Le dérivé fluoré (**composé V8**) a présenté un pouvoir antioxydant superposable à ceux de ses analogues chlorés avec un pourcentage d'inhibition de 42,99%.

Il ressort de ce dernier groupe de pharmaco-modulations que les atomes d'halogènes comme le chlore ou le fluor ne sont pas d'excellents modulateurs des activités antioxydantes en série imidazopyridinyl-chalcone.

Au total dans la série des imidazopyridinyl-chalcones, il ressort que l'amélioration des activités antioxydantes passe par l'introduction de groupements fortement électrodonneurs de type hydroxyle ou diméthylamine sur l'homocycle benzénique.

Aussi, pour un développement en tant que substances antioxydantes nous pouvons proposer les chalcones hydroxylées (**composé V3 et V4**) et diméthylamine (**composé V5**).

CONCLUSION & PERSPECTIVES

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

Les activités antioxydantes de nos imidazopyridinyl-chalcones ont été évaluées par la méthode ABTS comparativement au modèle moléculaire et au Trolox la substance de référence.

Les résultats obtenus à l'issue de cette évaluation montrent que toutes les chalcones testées ont des activités antioxydantes allant de 7,74 à 99,62%.

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

- ✓ Le profil chimique imidazopyridinyl-chalcone possède des potentialités antioxydantes.
- ✓ L'amélioration des activités antioxydantes nécessite la présence de groupements fortement électrodonneurs (hydroxyles ou diméthylamine) sur l'homocycle benzénique.

Ainsi les dérivés hydroxylés et diméthylamine avec des pourcentages respectifs d'inhibition de 91,62 ; 99,84 et 97,45 ont présenté les meilleures activités antioxydantes.

Ces résultats permettent de valider le profil chimique imidazopyridinyl-chalcone comme pharmacophore à forte potentialité antioxydante et ouvrent ainsi de nouvelles voies d'investigation dans la recherche de nouvelles substances à activités antioxydantes.

Au terme de cette étude, il paraît nécessaire de poursuivre les travaux de pharmacochimie dans le but d'optimiser les activités antioxydantes obtenues. Dans cette perspective, diverses variations structurales peuvent être envisagées autour de l'imidazopyridinyl-chalcone. Il s'agira :

- ✓ D'introduire d'autres modulateurs de type électroattracteurs sur l'homocycle benzénique.
- ✓ De remplacer la propénone par des isostères de type acrylonitrile.
- ✓ De remplacer l'homocycle benzénique par d'autres hétérocycles (furane, thiazole,...)
- ✓ De remplacer également l'hétérocycle imidazopyridine par le benzimidazole ou le benzothiazole.

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Sies H.** Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental physiology*. 1997 ; 82(2) : 291-5.
2. **Favier A.** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 2003 ; 108 : 103-15.
3. **Massion P, Preise J, Balligand JL.** Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères. *Nutrition clinique et métabolisme*. 2002 ; 16(4) : 248-52.
4. **Barlow SM.** Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. *Food antioxidants*, Hudson B.J.F. Amsterdam : Elsevier ; 1990. pp. 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. **Koné 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 JL, Bonnefont-Rousselot D. Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. 2005 ; pp. 45-86.
10. **Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP.** Le stress oxydant. *Rev Med Liège*. 2007 ; 62(10) : 628-38.

- 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. *Biofactors*. 1998 ; 7(1-2) : 113-74.
- 12. Anderson D.** Radicaux libres et antioxydants. *Int J 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. [Visité le 08/12/2017]. En ligne : <https://bu.umc.edu.dz/theses/biologie/HAL6732.pdf>
- 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 ; 160(1) : 1-40.
- 15. Machlin LJ, Bendich A.** Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutriments. *The FASEB Journal*. 1987 ; 1(6) : 441-5.
- 16. Tamer FMD.** Free Radicals, Types, Sources and Damaging Reactions. *Internal Medicine Articles*. [Page internet]. 2003. [Visité le 19/02/18]. En ligne : <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 » 23/10/2004, Bruxelles : Institut Danone ; 2004.
- 18. Zohra M.** Etude phytochimique et Activités Biologiques de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud-ouest de l'Algérie [Thèse]. Tlemcen, Algérie : Université Abou Berk Belkaid ; 2013. 170 p. [Visité le 14/01/2018]. En ligne : <http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/2393/3/These-Mohammedi-zohra-2013.pdf>.

- 19. Chopinet MH, Lizarazu D, Rocanière C.** L'importance des phénomènes d'oxydo-réduction dans le verre. *Comptes Rendus Chimie*. 2002 ; 5(12) : 939-49.
- 20. Aravodis E.** Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 2005 ; 4(2) : 128-33.
- 21. Harris AL.** Hypoxia-a key regulatory factor in tumor growth. *Nat Rev 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) : 7001-9.
- 23. Servais S.** Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effets de l'âge et d'une supplémentation en OMEGA-3 [Thèse]. Lyon : Université Claude Bernard. Lyon1. 2004. 163 p. [Visité le 04/11/2017]. En ligne : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00012031/document>.
- 24. Wang Y.** Bulky DNA lesions induced by reactive oxygen species. *Chem Res Toxicol*. 2008 ; 21(2) : 276-81.
- 25. Trachootham D, Alexander J, Huang P.** Targeting cancer cells by ROS mediated mechanism: a radical therapeutic approach?. *Nature reviews Drug discovery*. 2009 ; 8(7) : 579-91.
- 26. Dalle-Done L, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A.** Biomarkers of oxidative damage in human disease. *ClinChem*. 2006 ; 52(4) : 601-23.
- 27. Cassavaugh J, Lounsbury 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, Bonjean K, Cayeux K, Defraigne JO.** Physiological action of antioxidant defenses. Nutrition Clinique et Métabolisme. 2002 ; 16(4) : 233-9.
- 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) : 1076-81.
- 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(1) : 44-84.
- 34. Lee KW, Lee HJ.** The roles of polyphenols in cancer chemoprevention. Biofactors. 2006 ; 26(2) : 105-21.
- 35. Belkheiri N.** Dérivés phénoliques à activités Antiathérogènes [Thèse]. Toulouse : Université Toulouse III-Paul Sabatier ; 2010. 244 p. [Visité le 01/12/2017]. En ligne : http://thesesups.ups-tlse.fr/961/1/Belkheiri_Nadji_.pdf.
- 36. Delattre J, Beaudeux JL, Bonnefont-Rousselot D.** Radicaux libres et stress oxydant : Aspects biologiques et pathologiques. Londres; Paris; New York : Tec & Doc Lavoisier ; 2007. 584 p.
- 37. Kirkwood TBL.** Understanding the odd science of aging. Cell. 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. 2002 ; 33(5) : 575- 86.
- 39. Bonnefont-Rousselot D.** Glucose and reactive oxygen species. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 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.* 2000 ; 71(2) : 621- 9.
- 42. Hwang O.** Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease. *Exp Neurobiol.* 2013 ; 22(1) : 11- 7.
- 43. Przedborski S, Donaldson D, Jakowec M, Kish SJ, Guttman M, Rosoklija G, et al.** Brain superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol.* 1996 ; 39(2) :158- 65.
- 44. Talbi H, Boumaza A, El-Mostafa K, Talbi J, 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 : JMESCN. *Master Environ. SCI.* 2015 ; 6(4) : 1111-7
- 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.* 2011 ; 12(6) :1135-42.
- 46. Velu SS, Buniyamin I, Ching LK, Feroz F, Noorbatches I, Gee LC, et al.** Regio- and stereoselective biomimetic synthesis of oligostilbenoid dimers from resveratrol analogues: influence of the solvent, oxidant, and substitution. *Chem Weinh Bergstr Ger.* 2008 ; 14(36) : 11376-84.
- 47. Karl GL.** Test cellulaire basé sur l'oxydation de la DCFH-DA pour évaluer le potentiel pro et antioxydant de produits et mélanges complexes: Analyse de jus de fruits et légumes. *Food Chemistry.* 2009 ; 115(2) : 720-6.
- 48. Frankel EN, Meyer AS.** The problems of using one dimensional method to evaluate multifunctional food and biological antioxidant. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2000 ; 80(13) : 1925-41.
- 49. Huang D, Ou B, Prior RL.** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2005 ; 53(6) : 1841-56.

- 50. Hervy MP.** Conséquence de la douleur non soulagée. Centre National de Ressources de lutte contre la Douleur. [Page internet]. 2009. [Visité le 20/02/2018]. En ligne : <http://cnrd.fr/Consequences-de-la-douleur-non-963>.
- 51. Chavan BB, Gadekar AS, Mehta PP, Vawhal PK, Kolsure AK, Chabukswar AR.** Synthesis and medicinal of significance chalcones-A Review. Asian journal of biomedical and pharmaceutical sciences. 2016 ; 6(56) : 1-7.
- 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. [Visité le 03/03/2018]. En ligne : <http://docnum.univ-lorraine.fr/public/UPV-M/Theses/2009/Kone.Donatien.SMZ0914.pdf>.
- 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. London : Chapman & Hall/CRC ; 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 lett. 1995 ; 97(1) : 33-7.
- 56. Nowakowska Z.** A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. Eur. J. Med. Chem. 2007 ; 42(2) : 125-37.
- 57. Heidari MR, Foroumadi A, Amirabadi A, Samzadeh- Kermani A, Azimzadeh 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(1) : 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(22) : 5027-9.
- 59. Ouattara M, Drissa S, Yavo W, Mamidou WK.** Synthèse et criblage antiplasmodial de quelques benzimidazolyl-chalcones. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 2015 ; 9(3) : 1697-710.
- 60. Haraguchi H, Ishikawa H, Mizutani K, Tamura Y, Kinoshita T.** Antioxidative and superoxide scavenging activities of retrochalcones in *Glycyrrhiza inflata*. *Bioorganic & medicinal chemistry.* 1998 ; 6(3) : 339-47.
- 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) : 2728-30.
- 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. [Visité le 29/11/17]. En ligne : aurore.unilim.fr/theses/nxfile/default/05da88bf-d6ce-4890.../2006LIMO300A.pdf.
- 63. Beiler JM, Graff M, Martin GJ.** Inhibition of liver xanthine oxidase activity in rats. *American journal of digestive diseases.* 1952 ; 19(10) : 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) : 244-82.
- 65. Kehrer JP.** The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology.* 2000 ; 149(1) : 43-50.
- 66. Weiss G, Loyevsky M, Gorleuk VR.** Dexrazoxane (ICRF-187). *Gen Pharm.* 1999 ; 32 : 155-8.

- 67. Hamlaoui I, Bencheraiet R, Bensegueni R, Bencharif M.** Experimental and theoretical study on dpph radical scavenging mechanism of some chalcone quinoline derivatives. *Journal of Molecular Structure*. 2018 ; 1156 : 385-9.
- 68. Lawrence NJ, McGown AT.** The chemistry and biology of antimitotic chalcones and related enone systems. *Curr. Pharm. Des.* 2005 ; 11(13) : 1679-93.
- 69. Go ML, Wu X, Liu XL.** Chalcones: an update on cytotoxic and chemoprotective properties. *Curr. Med. Chem.* 2005 ; 12(4) : 481-99.
- 70. Kachadourian R, Pugazhenti S, Velmurugan K, Backos DS, Franklin CC, McCord JM et al.** 2',5'-Dihydroxychalcone-induced glutathione is mediated by oxidative stress and kinase signaling pathways. *Free Radical Biol. Med.* 2011 ; 51(6) : 1146-54.
- 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) : 143-50.
- 72. Foresti R, Hoque M, Monti D, Green CJ, Motterlini R.** Differential activation of heme oxygenase-1 by chalcones and rosmolic acid in endothelial cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005 ; 312(2) : 686-93.
- 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(4) : 1092-9.
- 74. Sabzevari O, Galati G, Moridani MY, Siraki A, O'Brien PJ.** Molecular cytotoxic mechanisms of anticancer hydroxychalcones. *Chem Biol Interact.* 2004 ; 148(1-2) : 57-67.

- 75. Kachadourian R, Day BJ.** Flavonoid-induced glutathione depletion: Potential implications for cancer treatment. *Free Radical Biol. Med.* 2006 ; 41(1) : 65-76.
- 76. Brechbuhl HM, Gould N, Kachadourian R, Riekhof WR, Voelker DR, Day BJ.** The breast cancer resistance protein (ABCG2/BCRP) is a novel glutathione transporter. *J Biol Chem.* 2010 ; 285: 16582–7.
- 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) : 540-9.
- 79. Desport JC, Couratier P.** Stress oxydant et maladies neurodégénératives. *Nutrition clinique et métabolisme.* 2002 ; 16(4) : 253-9.
- 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. Demetgül C, Beyazit N.** Synthesis, characterization and antioxidant activity of chitosan-chromone derivatives. *Carbohydrate polymers.* 2018 ; 181 : 812-7.
- 82. Verma S, Srivastava AK, Pandey OP.** A Review on Chalcones Synthesis and their Biological Activity. *PharmaTutor.* 2018 ; 6(2) : 22-39.
- 83. Guzmán-Gutiérrez SL, Nieto-Camacho A, Castillo-Arellano JI, Huerta-Salazar E, Hernández-Pasteur G, Silva-Miranda M, 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 NA, Kamble SG, Bandgar BP.** In-vitro evaluation of selected chalcones for antioxidant activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2008 ; 23(1) : 28-31.
- 86. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2002 ; 13(10) : 572-84.
- 87. El-Husseiny WM, El-Sayed MAA, Abdel-Aziz NI, El-Azab AS, Ahmed ER, Abdel-Aziz AAM.** Synthesis, antitumour and antioxidant activities of novel α , β -unsaturated ketones and related heterocyclic analogues: EGFR inhibition and molecular modelling study. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*. 2018 ; 33(1) : 507-18.
- 88. Kumar CS, Loh WS, Ooi CW, Quah CK, Fun HK.** Structural correlation of some heterocyclic chalcone analogues and evaluation of their antioxidant potential. *Molecules*. 2013 ; 18 (10) :11996-12011.
- 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) : 418-23.
- 90. Ouattara M, Sissouma D, Koné MW, Yavo W.** Composés à structure imidazopyridinyl-arylpropénone, nouveaux agents anti-infectieux potentiels. *Comptes Rendus Chimie*. 2016 ; 19(7) : 850-6.
- 91. Ouattara M, Sissouma D, Koné MW, Menan HE, Touré SA, Ouattara L.** Synthesis and anthelmintic activity of some hybrid benzimidazolyl-chalcone derivatives. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2011 ; 10(6) : 767-75.

- 92. Sissouma D, Ouattara M, Koné MW, Menan HE, Adjou A, Ouattara L.** Synthesis and in vitro nematocidal activity of new chalcones vectorised by imidazopyridine. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2011 ; 5(18) : 2086-93.
- 93. Pastorelli G, Faustini M, Corino C, Rossi R.** Kit Radicaux Libres, a biological application for monitoring oxidative stress in pigs. *Italian Journal of Animal Science*. 2013 ; 12(3) : e70.
- 94. Jensen GS, Wu X, Patterson KM, Barnes J, Carter SG, Scherwitz L, et al.** Capacités antioxydantes et anti-inflammatoires in vitro et in vivo d'un mélange de fruits et de baies riches en antioxydants. Résultats d'une étude pilote croisée et randomisée, en double aveugle, contrôlée par placebo. *J Agric Food Chem*. 2008 ; 56(18) : 8326-33. doi : 10.1021 / jf8016157 . PMID 18717569.
- 95. Tam J.** Nanocrystalline Cellulose: A Novel, Renewable Antioxidant. [Page internet]. Tamj : odec. 2012. [Visité le 01/03/2018]. En ligne : <http://www.odec.ca/projects/2012/tamtaj/index.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) : 4290–302.
- 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) : 419–21.
- 99. Eklund-Jonsson C, Sandberg AS, Larsson AM.** Reduction of phytate content while preserving minerals during whole grain cereal tempe fermentation. *Journal of Cereal Science*. 2006 ; 44(2) : 154–60.

- 100. Roginsky V, Lissi EA.** Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*. 2005 ; 92(2) : 235-54.
- 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) : 889-97.
- 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) : 3396-402.
- 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, Jacob R.** Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC(FL))) of plasma and other biological and food samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003 ; 51(11) : 3273-9.
- 106. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins 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) : 669-75.
- 107. Prior RL, Cao G.** Flavonoids: Diet and Health Relationships. *Nutrition in Clinical Care*. 2000 ; 3(5) : 279-88.

- 108. Pannala AS, Chan TS, O'Brien PJ, Rice-Evans CA.** Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 ; 282(5) : 1161-8.
- 109. Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R.** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry.* 2007 ; 105(3) : 940-9.
- 110. Paixao N, Perestrelo R, Marques J, Camara J.** Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose and white wines. *Food Chemistry.* 2007 ; 105(1) : 204-14.
- 111. Huang D, Ou B, Prior RL.** « The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2006 ; 53(6) : 1841-56.
- 112. Walker RB, Everette JD.** « Comparative Reaction Rates of Various Antioxidants with ABTS Radical Cation », *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2009 ; 57(4) : 1156-61.
- 113. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine.* 1999 ; 26(9-10) : 1231-7.
- 114. Barclay LRC, Locke SJ, MacNeil JM.** Autoxidation in micelles : Synergism of vitamin C with lipid-soluble vitamin E and water-soluble Trolox. *Revue canadienne de chimie.* 1985 ; 63(2) : 366-74.
- 115. Becker EM, Nissen LR, Skibsted LH.** Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. *European Food Research and Technology.* 2004 ; 219(6) : 561-71.
- 116. 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) : 2046-56.
- 117. Patrick G.** *Chimie pharmaceutique : De boek*, 2003, 629 P.

- 118. Kamil A, Akhtar S, Jahan S, Karim A, Rafiq K, Hassan S.** Benzimidazol derivatives : active class of antioxidants. International journal of scientific and engineering research. 2013 ; 4(8) : 1674-85.
- 119. Richeval C, Rifflet A, Humbert L, Imbenotte M, Houssin R, Lhermitte M.** Élargissement de la fenêtre de détection du zolpidem par la recherche de ses métabolites urinaires dans le cadre de la soumission chimique. In Annales de Toxicologie Analytique. 2008 ; 20(2) : 79-83.
- 120. Sivakumar PM, Prabhakar PK, Doble M.** Synthesis, antioxidant evaluation, and quantitative structure–activity relationship studies of chalcones. Medicinal Chemistry Research. 2011 ; 20(4) : 482-92.
- 121. Asif M.** A review on recent advances and potential pharmacological activities of versatile chalcone molecule. Chemistry International. 2016 ; 2(1) : 1-18.

Résumé

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

Matériel et méthode : Les dérivés imidazopyridinyl-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 0,0625 à 1mg/ml. La substance de référence antioxydante utilisée pour ce test est le Trolox dont le pourcentage d'inhibition du radical ABTS est de 99%.

Résultats : Les résultats obtenus aux doses de 1mg/ml, montrent que nos hybrides chalcones sont doués d'activités antioxydantes avec des pourcentages d'inhibition du radical cationique ABTS allant de 7% pour la 2,5-diméthylimidazopyridinyl-phénylpropénone à 99% pour la 2-méthylimidazopyridinyl-3'-hydroxyphénylpropénone. L'activité antioxydante de cette dernière s'est avérée aussi élevée que celle du Trolox.

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

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