

*République Algérienne Démocratique et Populaire*

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*



Université Mohamed Seddik Ben Yahia De Jijel

Faculté Des Sciences Exactes Et Informatique

Département De Chimie



# PROJET DE FIN D'ETUDE

*En vue de l'obtention du Diplôme de*

**MASTER ACADEMIQUE**

Filière : Science de la matière

Spécialité : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

## Thème

**ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DE  
QUELQUES DÉRIVES DE 4,5,6,7-TETRAHYDRO-1,3-  
BENZOTHIAZOLE**

Présenté par :

🍏 FRIKHA Messaoud 🍏 BOUFEDECHE Anis

Devant le jury composé de :

*Président : M.C.B. BOUNAR Hania*

*UNIVERSITE DE JIJEL*

*Examineur : M.A.A. TABTI Naouel*

*UNIVERSITE DE JIJEL*

*Encadreur : M.C.B. HARROUCHE Kamel*

*UNIVERSITE DE JIJEL*

🍷 Promotion 2018/2019 🍷



chi Phar. 05/129

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mohamed Seddik Ben Yahia De Jijel

Faculté Des Sciences Exactes Et Informatique  
Département De Chimie



# PROJET DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du Diplôme de

**MASTER ACADEMIQUE**

Filière : Science de la matière

Spécialité : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

## Thème

**ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DE  
QUELQUES DÉRIVES DE 4,5,6,7-TETRAHYDRO-1,3-  
BENZOTHIAZOLE**

Présenté par :

🍏 FRIKHA Messaoud 🍏 BOUFEDECHE Anis

Devant le jury composé de :

Président : M.C.B. BOUNAR Hania

UNIVERSITÉ DE JIJEL

Examineur : M.A.A. TABTI Naouel

UNIVERSITÉ DE JIJEL

Encadreur : M.C.B. HARROUCHE Kamel

UNIVERSITÉ DE JIJEL

🍏 Promotion 2018/2019 🍏



# Remerciements

Tout d'abord, nous remercions **ALLAH** le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous voudrions exprimer nos sincères remerciements et notre reconnaissance à Monsieur **HARROUCHE Kamel**, maitre de conférences à l'université de Jijel, d'avoir proposé et dirigé ce travail, Merci beaucoup pour les conseils et l'attention avisée qu'il a apportée et pour l'atmosphère conviviale qu'il a crée pour réaliser ce mémoire.

Nous remercions vivement madame **BOUNAR Hania**, maitre de conférences a l'Université de Jijel, qui nous fait l'honneur de présider ce jury.

Nous remercions vivement madame **TABTI Naouel**, maitre de conférences à l'université de Jijel, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous voudrions exprimer nos sincères remerciements aux responsables du laboratoire de phytochimie et de pharmacologie (LPP) de la faculté des sciences exactes et informatique de l'université de Jijel, qu'ils ont facilité la réalisation de ce travail.

Nous remercions également **M<sup>elle</sup> HABILA Safia** et **M<sup>elle</sup> LAHOUEL Asma** Enseignantes à l'Université de Jijel, pour l'aide qu'elles nous ont apportée au cours de la réalisation des tests biologique.

Nous remercions également toute la communauté du département de chimie de la faculté des sciences exactes et informatique de l'université de Jijel : enseignants, administrateurs, étudiants, comme nous saluons chaleureusement tous nos compagnons de mémoire. **Merci Beaucoup.**

# *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire.*

*A ma famille.*

*A mes proches.*

*A mes amis de travail.*

*A tous ceux qui m'ont accompagnée durant le long cheminement de mes études.*

**MESSAOUD**

# *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire,*

*A mes deux adorables et agréables parents, mon guide dans ma vie, le symbole de*

*tendresse mon chère mère et le généreux père*

*A mes deux chères sœurs : Amina et Halima*

*A mes deux chers frères : Hichem et Abderraouf*

*A mon meilleur ami Belamri Elhoussine*

*A mes collègues de laboratoire Aichouna Roufida, Alioua Imen, Boubendir  
Nessrine, Bouquerne Bouchra, Boukhaloua Bouchra et de département de la  
biologie Abdi Selma*

*A mes amis d'études Talib Malik, Boukaabache Chouib, Bourougaa Loutfi,  
Laouici Adil, Layoul Idris, Bouamra Alarbi, Frikha Mssaoude, Zamour  
Houcine, Younes Zaki, Boudraa Khalid et Bensouilah Ahmed.*

*A toute mes amies et mes collègues le long de mes études*

**Anis**

## Liste des abréviations

ABTS :	Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique
DPPH :	2,2 Diphenyl-1-picryl hydrazyl
FRAP:	Ferric reducing-antioxidant power
min :	Minute
mg :	Milligramme.
ml :	Millilitre
mmol:	Millimole
nm :	Nanomètre
Ab :	Absorbance
%:	Pourcentage
µl:	Microlitre
µg:	Microgramme
M :	Molaire
EC <sub>50</sub> :	Median effective concentration
Fe <sup>3+</sup> :	Fer ferrique
Fe <sup>2+</sup> :	Fer ferreux
°C :	Température en degré Celsius
ADN :	Acide désoxyribo-Nucléique
EOA :	Espèces oxygénées activées
EAR	Espèces azotées radicalaires
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> :	Anion superoxyde
OH <sup>•</sup> :	Radical hydroxyle
OH :	Groupe hydroxyle
ONOO <sup>-</sup> :	Peroxy-nitrite
AH :	Molécule antioxydante

A <sup>•</sup> :	Radical libre
BHA :	Butylhydroxyanisole
BHT :	Butylhydroxytoluène
PG :	Gallate propylée
TBHQ :	Tétrabutylhydroquinone
e <sup>-</sup> :	Electron
ABAP :	2,2' - azo-bis (2 - amidino- propane)
DMPD :	Dichlorhydrate de N, N-diméthyl-p-phénylène diamine
LPP :	Laboratoire de phytochimie et de pharmacologie
TCA :	Trichloracétiqueacide

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b>	Les Molécules de la série I testés .....	<b>Page 21</b>
<b>Tableau 02</b>	Les Molécules de la série II testés .....	<b>Page 22</b>
<b>Tableau 03</b>	Préparation de la solution mère et les solutions filles .....	<b>Page 24</b>
<b>Tableau 04</b>	Absorbance des composés de la série I et II à 1 mg/ml(FRAP).....	<b>Page 28</b>
<b>Tableau 05</b>	Valeurs de $EC_{0.40}$ des produits de la série I et II .....	<b>Page 30</b>
<b>Tableau 06</b>	Absorbance des composés de la série I et II à 1 mg/ml(DPPH).....	<b>Page 32</b>
<b>Tableau 07</b>	Valeurs de $EC_{50}$ des produits de la série I et II .....	<b>Page 34</b>
<b>Tableau 08</b>	Absorbance des composés de la série I et II à 1 mg/ml(ABTS).....	<b>Page 36</b>
<b>Tableau 09</b>	valeurs de $EC_{50}$ des produits de la série I et II.....	<b>Page 38</b>

## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b>	<i>mécanisme de piégeage des radicaux libre par les antioxydants.....</i>	<b>Page 02</b>
<b>Figure 02 :</b>	<i>Balance radicaux libres /antioxydants.....</i>	<b>Page 03</b>
<b>Figure 03 :</b>	<i>Les phases de l'oxydation.....</i>	<b>Page 05</b>
<b>Figure 04 :</b>	<i>Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production.....</i>	<b>Page 06</b>
<b>Figure 05 :</b>	<i>Structure de la vitamine E.....</i>	<b>Page 08</b>
<b>Figure 06 :</b>	<i>Structure de l'acide ascorbique.....</i>	<b>Page 08</b>
<b>Figure 07 :</b>	<i>Structure de la <math>\beta</math>-carotène.....</i>	<b>Page 09</b>
<b>Figure 08 :</b>	<i>Structures chimiques des antioxydants naturels.....</i>	<b>Page 11</b>
<b>Figure 09 :</b>	<i>Structures chimiques de quelques antioxydants synthétiques.....</i>	<b>Page 12</b>
<b>Figure 10 :</b>	<i>Schéma de la réaction de test du pouvoir réducteur du <math>Fe^{3+}</math> en <math>Fe^{2+}</math> .....</i>	<b>Page 13</b>
<b>Figure 11 :</b>	<i>Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl-1-picryl hydrazyl).....</i>	<b>Page 14</b>
<b>Figure 12:</b>	<i>Génération du radical-cation <math>ABTS^{\bullet+}</math> avec le persulfate de potassium et sa réaction avec un antioxydant (AOH) .....</i>	<b>Page 15</b>
<b>Figure 13 :</b>	<i>Structures chimiques du thiazole et du benzothiazole.....</i>	<b>Page 16</b>
<b>Figure 14 :</b>	<i>Formation de benzothiazoles métallés et piégeage électrophile.....</i>	<b>Page 17</b>
<b>Figure 15 :</b>	<i>quelques activités thérapeutiques des dérivés de benzothiazole.....</i>	<b>Page 17</b>
<b>Figure 16 :</b>	<i>Structure chimique du Riluzole.....</i>	<b>Page 18</b>
<b>Figure 17 :</b>	<i>Structures chimiques du 2-(4-aminophényl)benzothiazole et du 6-méthylamido-2-aminobenzothiazole.....</i>	<b>Page 18</b>
<b>Figure 18 :</b>	<i>Structure chimique de (E)-5-(1-(benzo[d]thiazol-2-ylimino)ethyl)-4-(furan-2-yl)-6-methyl-3,4-dihydropyrimidine-2(1H)-thione-éthane (1:1) .</i>	<b>Page 19</b>

## Liste des schémas

<b>Schéma 01:</b>	<i>Schéma de synthèse des molécules de la série I</i> .....	<b>Page 21</b>
<b>Schéma 02:</b>	<i>Schéma de synthèse des molécules de la série II</i> .....	<b>Page 22</b>

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des schémas

Introduction général et objectif de travail ..... 1

Etude Bibliographique

Chapitre I

<b>I. Notion de stress oxydant et de l'activité antioxydante</b> .....	2
I.1. Les radicaux libres.....	2
I.2. Le stress oxydant .....	3
I.3. Généralité sur l'oxydation et les antioxydants .....	5
I.3.1. Les antioxydants .....	6
I.3.1.1. Définition des antioxydants .....	6
I.3.1.2. Principaux antioxydants.....	7
a-Antioxydants endogènes .....	7
b-Antioxydants exogènes .....	7
I.3.2. Classification des antioxydants.....	9
I.3.2.1. Classification selon le mécanisme d'action .....	9
a- Les antioxydants primaires ou radicalaires ou vrais: Qui permettent l'interruption de la chaîne auto catalytique .....	9
b- Les antioxydants secondaires ou préventifs .....	10
I.3.2.2. Classification des antioxydants suivant la nature chimique.....	10
a- Antioxydants naturels .....	10
b- Antioxydants synthétiques .....	11
c- Antioxydants synergiques .....	12

I.4. Quelques méthodes d'étude de l'activité antioxydante .....	13
I.4.1. Test de la réduction du fer FRAP ( Ferric reducing-antioxidant power).....	13
I.4.2. Test de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	13
I.4.3. Test de piégeage du radical-cation ABTS .....	14
I.4.4. Méthode DMPD (dichlorhydrate de N, N-diméthyl-p-phénylène diamine).....	15
I.4.5. Activité de chélation des métaux .....	15
<b>II. Généralités sur les dérivés de benzothiazole .....</b>	<b>16</b>
II.1. Introduction .....	16
II.2. Potentiel thérapeutique de quelques dérivés de benzothiazole .....	17
<b>Partie expérimentale</b>	
<b>I. Généralité sur les produits étudiés .....</b>	<b>20</b>
<b>II. Matériels et méthodes .....</b>	<b>23</b>
II.1. Matériels.....	23
II.1.1. Solvants et réactifs utilisés .....	23
II.1.2. Matériels et outils .....	23
II.2. Méthodes .....	24
II.2.1. Préparation des solutions .....	24
II.2.2. Test de pouvoir réducteur (FRAP) .....	24
II.2.3. Test de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) .....	26
II.2.4. Test de piégeage du radical-cation ABTS .....	26
Mode opératoire .....	27
<b>III. Résultats et discussion .....</b>	<b>28</b>
III.1.1. Résultats .....	28
III.1.2. Discussion .....	30
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>40</b>

**Référence bibliographiques**

**Résumé**

*Introduction  
générale et  
objectif du  
travail*

### **Introduction générale et objectif du travail**

Les composés hétérocycliques jouent un rôle très important dans la chimie organique ainsi que dans la chimie médicinale. Plusieurs molécules hétérocycliques contenant des atomes d'azote et de soufre possèdent une activité thérapeutique où un léger changement dans la fraction hétérocyclique conduit à un changement thérapeutique majeur.

Les benzothiazoles constituent une classe importante des hétérocycles et possèdent de ce fait de nombreuses activités pharmacologiques telle que l'activité antitumorale, antimicrobienne, anti-inflammatoire, anticonvulsante, ils ont aussi des activités antivirales, antidiabétiques et antioxydants.

Notre travail constitue une continuité des travaux réalisés autour des dérivés de benzothiazole et de tetrahydrobenzothiazoles portant une fonction urée, thiourée ou sulfonylurée. Dans ce mini projet de recherche nous avons testé une douzaine de molécules dérivé de 4,5,6,7-tetrahydro-1,3-benzothiazole sur leur activité antioxydante par l'utilisation des méthodes suivantes : Test de réduction de fer (FRAP), Test de Piégeage du radical libre DPPH et Test de piégeage du radical-cation ABTS.

Ce mémoire est devisé en deux parties détaillées, une partie bibliographique et une partie expérimentale avec une conclusion générale et référence bibliographique.

Dans la première partie on présente une recherche bibliographique concernant, les radicaux libres, le stress oxydatif, les principaux antioxydants naturels et synthétiques et une approche sur l'étude de l'activité antioxydante, les dérivés de benzothiazole et leur potentiel thérapeutique.

Dans la seconde partie, on aborde tous les travaux expérimentaux réalisés au cours de ce travail, y compris les matériels utilisés dans l'évaluation de l'activité antioxydante, les résultats obtenus et discussion afin de pouvoir tirer une conclusion générale.

*Etude*

*Bibliographique*

# *Chapitre I*

*Notion de stress  
oxydant et de  
l'activité  
antioxydante*

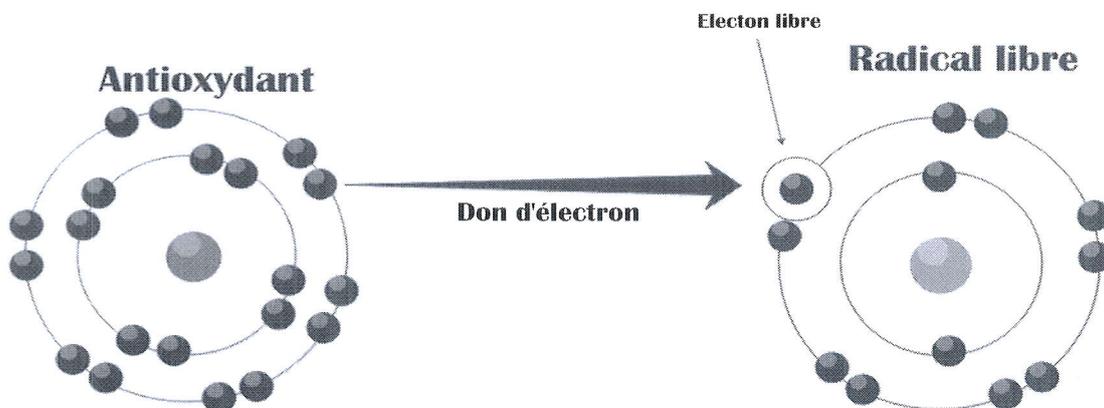
## I. Notion de stress oxydant et de l'activité antioxydante

### I.1. Les radicaux libres

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques, nommés radicaux libres organiques [1].

Un radical libre est une espèce chimique, neutre ou chargée, caractérisée par un électron libre dit (célibataire) sur son orbitale externe. L'électron célibataire est conventionnellement représenté par un point (•) [2]. Les radicaux libres peuvent se former lorsque l'oxygène interagit avec certaines molécules. Ces dernières sont très instables, ils réagissent rapidement avec d'autres composants pour acquérir de la stabilité capturant ainsi l'électron qui leur est nécessaire. Une réaction en chaîne débute lorsqu'ils attaquent la molécule stable la plus proche en lui «volant» son électron, la transformant elle-même en radical libre [3].

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques à dose raisonnable qui sont utiles pour l'organisme, ils possédant des propriétés bénéfiques indispensables à l'homéostasie cellulaire. Lorsque la production devient excessive ou résulter de phénomènes toxiques, l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants généralement par piégeage par des composés facilement oxydables (Figure 01)[4].



*Figure 01 : mécanisme de piégeage des radicaux libre par les antioxydants.*

Des niveaux élevés de radicaux libres peuvent endommager des biomolécules telles que les lipides, les protéines, les enzymes et l'ADN dans les cellules et les tissus, entraînent de nombreuses maladies, notamment le cancer, les maladies cardiovasculaires, la cataracte, l'asthme, l'hépatite, les lésions hépatiques et les maladies de l'immunodéficience [5].

### I.2. Le stress oxydant

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence en faible quantité comme les médiateurs tissulaires ou les résidus des réactions énergétiques ou de défense, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (Figure 02) [4].

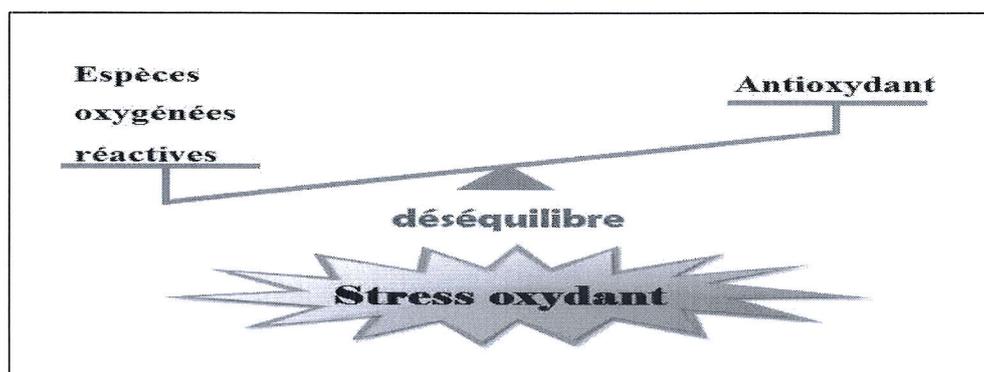


Figure 02: Balance radicaux libres /antioxydants [6].

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme [7]. La pollution, le tabagisme, une consommation excessive d'alcool, la prise de pilule contraceptive, l'exposition immodérée au soleil ou à des radiations sans protection suffisante, la pratique du sport de haut niveau et l'inflammation chronique sont, par exemple, autant de sources de production d'EOA [8]. Le rôle des EOA est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité et jouent un rôle de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des

facteurs de transcription. Citons aussi le processus de fécondation, au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'EOA pour percer la paroi membranaire de l'ovule [7].

### **Conséquences de stress oxydant**

Le stress oxydant est un phénomène impliqué dans maintes maladies. Car ce stress sera, selon les cas, localisé à un tissu et à un type cellulaire particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et s'associera avec d'autres facteurs pathogènes ou des anomalies génétiques spécifiques et individuelles [9]. Par la création de molécules biologiques chimiquement et irréversiblement anormales et la surexpression de certains gènes, le stress oxydant sera la cause initiale essentielle de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse pulmonaire aigu, œdème pulmonaire [10].

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogenèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions [4].

La toxicité d'EOA s'exerce également sur les protéines. Les EOA sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine. Les EOA sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des EOA. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN, mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont « réparées » entraînent à long terme des altérations géniques [11].

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires [4].

### I.3.Généralité sur l'oxydation et les antioxydants

L'oxydation est générée par des radicaux libres, espèces chimiques neutres ou chargées instables qui ne cherchent qu'à récupérer un électron dans leur environnement pour retrouver un état plus stable. Ces deux propriétés font que les réactions d'oxydation sont très rapides et se propagent en cascade.

Les espèces moléculaires cibles de l'oxydation sont avant tous les corps gras comme les phospholipides des membranes cellulaires, mais aussi les protéines. Dans le cas des enzymes, l'oxydation entraîne une modification ou perte de l'activité biologique de la molécule, ce qui provoque des désorganisations cellulaires parfois irréversibles entraînant la mort de la cellule. Il en est de même quand l'oxydation touche l'ADN ou une partie du système traduction/transduction (figure 03) [12].

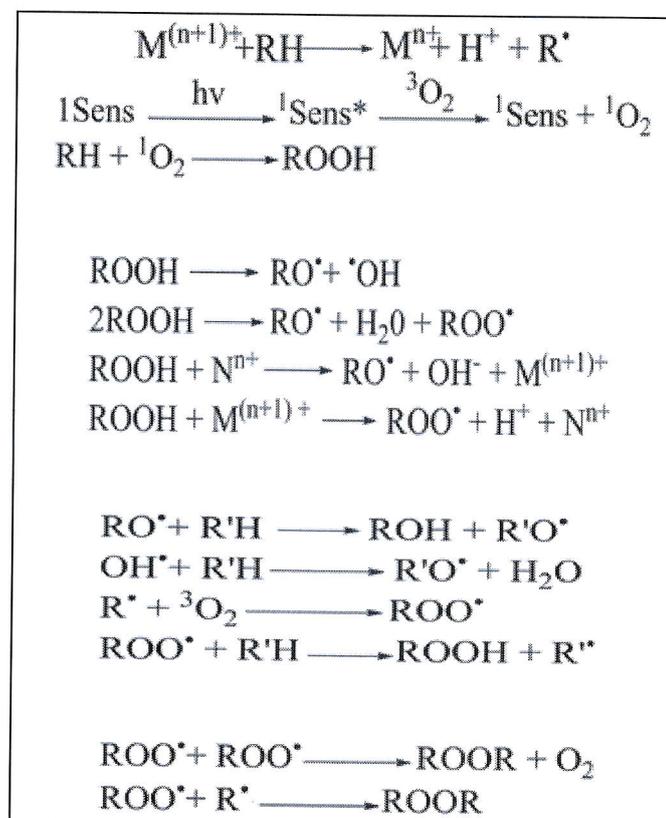


Figure 03 : Les phases de l'oxydation.

**I.3.1. Les antioxydants :**

Les dommages cellulaires causés par les radicaux libres semblent être un facteur majeur de la pathogenèse d'au moins 50 maladies. Heureusement, la formation de radicaux libres est contrôlée naturellement par divers composés bénéfiques appelés antioxydants. C'est lorsque la disponibilité en antioxydants est limitée que ces dommages peuvent devenir cumulatifs et débilitants [13].

**I.3.1.1. Définition des antioxydants**

Selon le règlement européen les antioxydants sont définis comme des substances qui prolongent la durée de conservation des denrées alimentaires en les protégeant des altérations provoquées par l'oxydation, telles que le rancissement des matières grasses et les modifications de couleur.

D'autre part les antioxydants peuvent être définis comme des composés qui inhibent ou retardent l'oxydation d'autres molécules en inhibant l'initiation ou propagation de réactions en chaîne oxydantes [14]. Les antioxydants ont acquis une grande importance en raison de leur potentiel en tant qu'agents prophylactiques et thérapeutiques dans de nombreuses maladies [15].

Les antioxydants piègent les radicaux libres en inhibant les réactions à l'intérieur des cellules provoquées par les molécules de dioxygène et de peroxyde, aussi appelées espèces oxygénées radicalaires (EOR) et espèces azotées radicalaires (EAR) (Figure 04) [16].

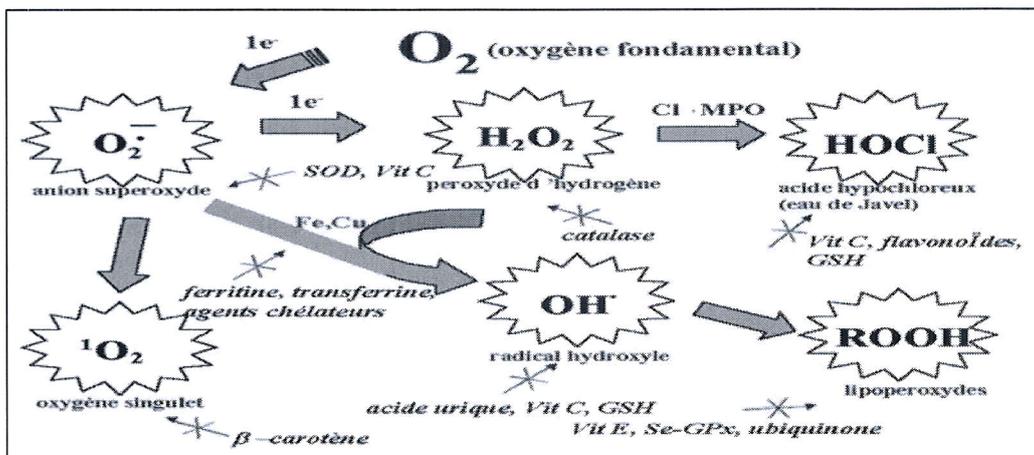


Figure 04 : Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production

**I.3.1.2.Principaux antioxydants**

L'organisme dispose d'un vaste réseau d'antioxydants ou de défense qui ne se limite pas seulement par les vitamines C et E. D'une part, une multitude d'antioxydants proprement dits sont synthétisés par l'organisme ou le plus souvent apportés par notre alimentation [8]. Un antioxydant alimentaire idéal doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, non toxique, n'entraîne ni coloration ni odeur ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques et stable dans le produit fini [17]. L'organisme possède deux sources d'antioxydant pour la protection contre les (EOA), qui sont les antioxydants attribuables à la synthèse par l'organisme (antioxydants endogènes) et les antioxydants attribuable à l'alimentation (antioxydants exogènes) [18].

**a-Antioxydants endogènes**

Les principaux mécanismes de défenses sont constitués soit par des enzymes, le superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydases et la glutathion réductase ou par des protéines antioxydants et certains minéraux comme le glutathion (GSH), bilirubine l'acide urique. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge [19].

**b-Antioxydants exogènes**

Ils sont apportés par l'alimentation où se trouvent les oligo-éléments et les vitamines :

**b.1.Les oligo-éléments:**

Sont une classe de nutriments et éléments minéraux exemples le Sélénium, zinc, Silicium...etc.

**b.2. Les vitamines :****➤ La vitamine E (alpha tocophérol) :**

Elle est présente dans tous les organes, à l'exception du cerveau. Elle intervient directement au niveau des membranes biologiques où elle piège les radicaux libres avant qu'ils n'atteignent leurs cibles. Elle corrige également les conséquences d'un déficit en

sélénium, et prolonge la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement et la diminution de l'athérosclérose (Figure 05) [20].

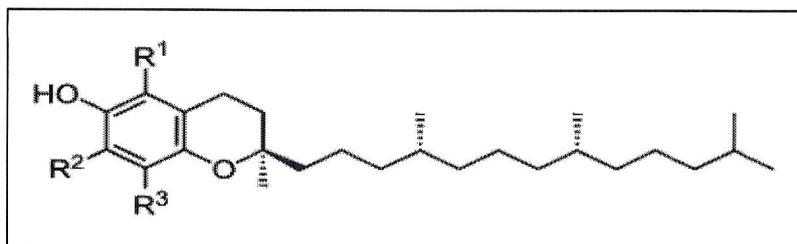


Figure05 : Structure de la vitamine E.

➤ **La vitamine C (acide ascorbique) :**

La vitamine C est un antioxydant puissant (Figure 06), Elle participe avec la vitamine E et l'enzyme glutathion peroxydase dans les réactions de neutralisation des radicaux libres [11]. La vitamine C agit principalement en piégeant directement les ROS (majoritairement l'O<sub>2</sub><sup>•</sup> et l'ONOO<sup>-</sup>) [21]. Il est présent dans les légumes, le chou, le poivron, les agrumes [22]. Elle joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E [7].

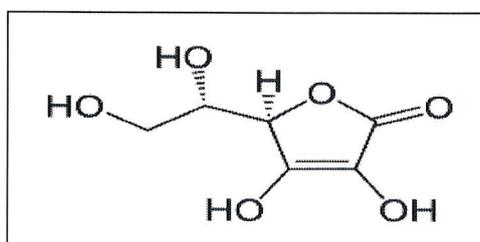
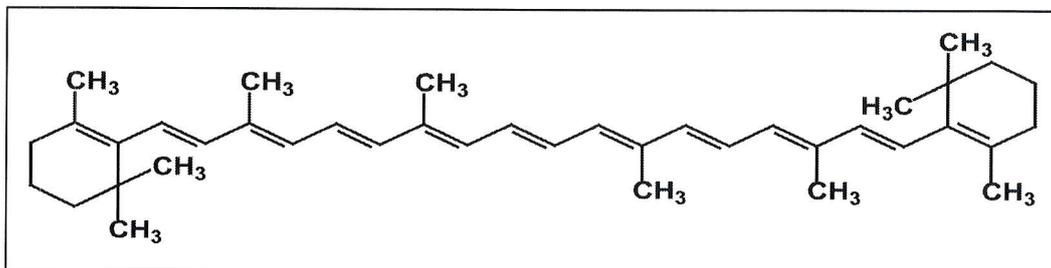


Figure06 : Structure de l'acide ascorbique

➤ **Le β-carotène :**

Le β-carotène, précurseur de la vitamine A, est apporté par l'alimentation. Elle est douée de plusieurs capacités, elle capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, elle a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Elle protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante en s'opposant à la génotoxicité de nombreux agents (Figure 07) [23].

Il est présent dans les légumes verts, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards, la papaye [24].



*Figure07: Structure de la  $\beta$ -carotène.*

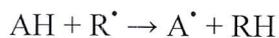
### I.3.2. Classification des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés selon leur mécanisme d'action ou selon leur nature chimique.

#### I.3.2.1. Classification selon le mécanisme d'action

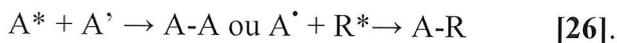
Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent agir à deux niveaux : En prévenant la formation de radicaux libres oxygénés ou en épurant les radicaux libres oxygénés. En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire [25].

**a– Les antioxydants primaires ou radicalaires ou vrais:** Qui permettent l'interruption de la chaîne auto catalytique :



La molécule AH est antioxydante si le radical formé  $A^{\bullet}$  est plus stable.

La stabilité du radical  $A^{\bullet}$  peut s'expliquer par sa conversion en composés non radicalaires



**b- Les antioxydants secondaires ou préventifs:** Qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres.

Ce sont soit des substances décomposant les hydro peroxydes en alcool, en thiols (glutathion, acides aminés soufrés) ou en disulfures, soit des protecteurs vis-à-vis des UV, comme les carotènes, les chélatants des métaux promoteurs d'oxydation type fer et cuivre (comme l'acide citrique et les lécithines) ou en fin des séquestrasse d'oxygène comme l'acide ascorbique [26].

### **I.3.2.2. Classification des antioxydants suivant la nature chimique**

Plusieurs antioxydants synthétiques et quelques composés naturels (tocophérol, acide ascorbique, Béta-carotène) sont officiellement autorisés pour l'utilisation dans l'alimentation. Leur présence s'avère également nécessaire au sein des produits pharmaceutiques et de cosmétiques afin d'éviter leur dégradation [27].

La recherche de nouveaux antioxydants naturels est l'objectif de nombreux industriels et scientifiques. Dans la littérature, des milliers de publications ayant pour sujet les antioxydants naturels ainsi que leur effet sur l'organisme humain peuvent être consultées [28-32].

Les antioxydants sont classés dans trois catégories différentes (naturelles, synthétiques et synergiques) [12].

#### **a- Antioxydants naturels :**

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants in vivo. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E...etc [33]. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (Figure 08) [34].

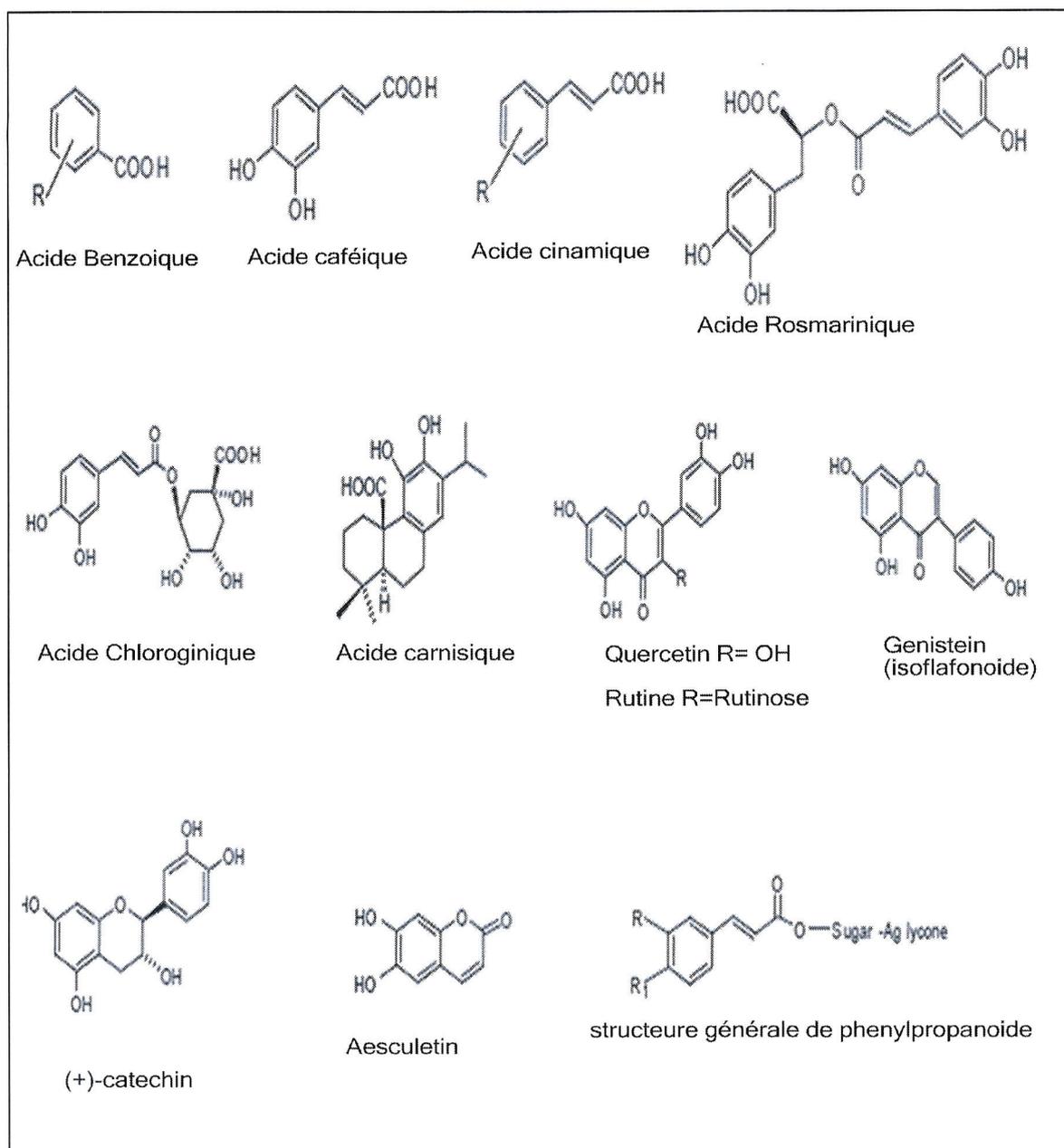
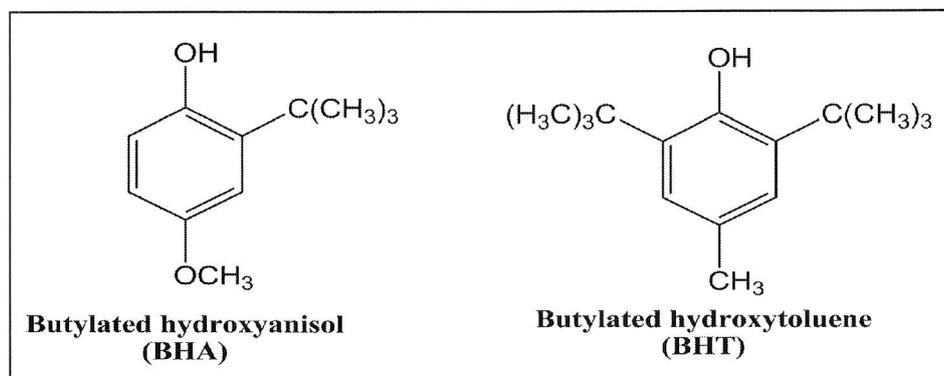


Figure 08 : Structures chimiques des quelques antioxydants naturels.

**b- Antioxydants synthétiques :**

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels (Figure 09) [35]. En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la

sécrétion des enzymes microsomaux du foie et des organes extra hépatiques [36]. Le BHT présenterait des effets carcinogènes chez le rat [37].



*Figure 09: Structures chimiques de quelques antioxydants synthétiques.*

### c- Antioxydants synergiques :

Les antioxydants synergiques sont des substances qui ne sont guère actives en tant qu'antioxydants, mais dont les propriétés antioxydantes apparaissent surtout en présence des autres antioxydants. Il en est ainsi des lécithines, des acides citrique et tartrique, des acides aminés, de certains flavonoïdes. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux comme le fer ou le cuivre, dont on connaît bien l'effet pro-oxydant à faible dose. Cependant, ce n'est peut-être pas la seule explication, car plusieurs de ces produits sont d'assez mauvais chélatants. Certains produits ont un effet inhibiteur de la décomposition des hydroperoxydes, et d'autres semblent régénérer des antioxydants, comme les tocophérols ou les dérivés de l'acide ascorbique à partir de leurs formes oxydées [34].

#### I.4. Quelques méthodes d'étude de l'activité antioxydante

##### I.4.1. Test de la réduction du fer FRAP ( Ferric reducing-antioxidant power)

La méthode décrite mesure la capacité de réduction ferrique du plasma (FRAP). À faible pH, lorsqu'un complexe de ferritripyridyltriazine (FeIII-TPTZ) est réduit à la forme ferreuse (FeII), une couleur bleue intense se forme. La réaction est non spécifique et toute demi-réaction peut se produire. Une réaction qui présente un potentiel rédox moins positif, dans les conditions de la réaction, que la demi-réaction FeIII / FeII-TPTZ entraînera une réduction de FeIII-TPTZ. Les conditions d'essai favorisent la réduction du complexe et donc le développement de la couleur, à condition qu'un réducteur (antioxydant) soit présent (Figure 10) [38,39].

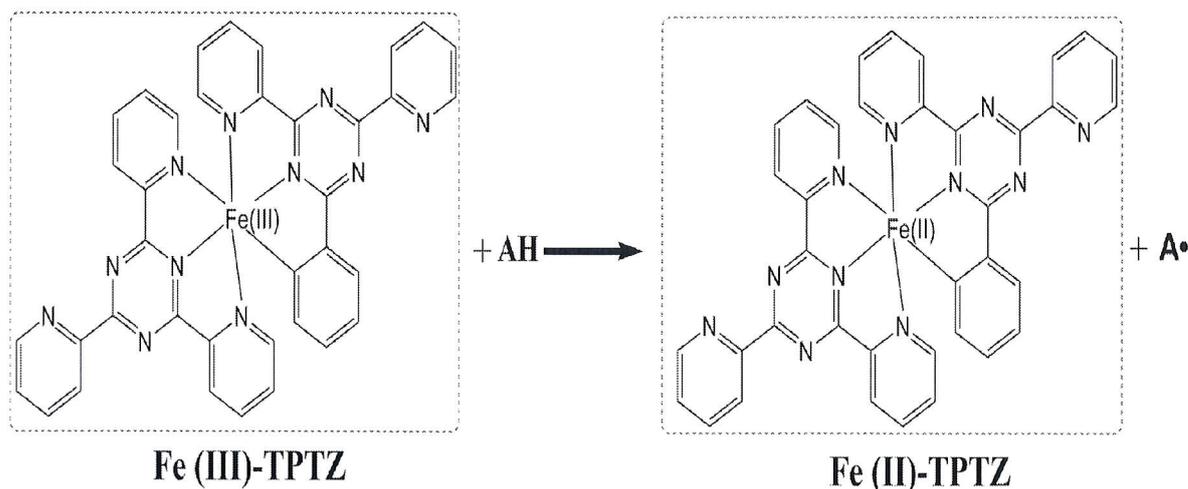
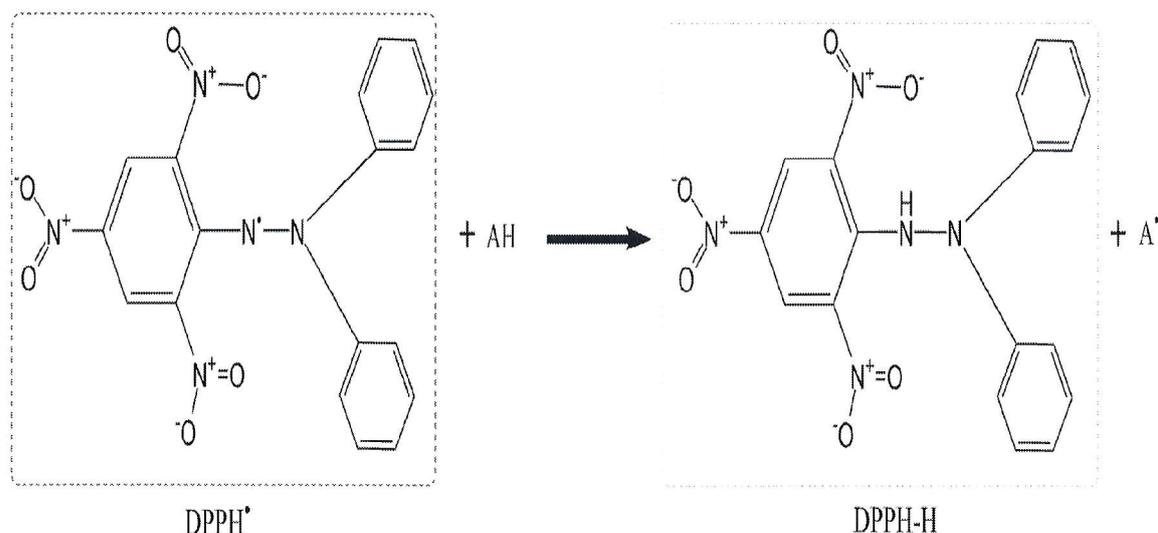


Figure 10: Schéma de la réaction de test du pouvoir réducteur du  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$ .

##### I.4.2. Test de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Le DPPH est un radical libre stable à base d'azote dont la couleur violette se change en jaune après réduction par le procédé de transfert d'hydrogène ou d'électron. Les substances capables d'exécuter cette réaction peuvent être considérées comme des antioxydants et donc des capteurs de radicaux libres. Sous la forme radicalaire, la molécule DPPH a une absorbance à 517 nm qui disparaît après l'acceptation d'un radical électronique ou hydrogène d'un composé antioxydant pour devenir une molécule diamagnétique stable (Figure 11) [40].



**Figure 11:** Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl-1-picryl hydrazyl).

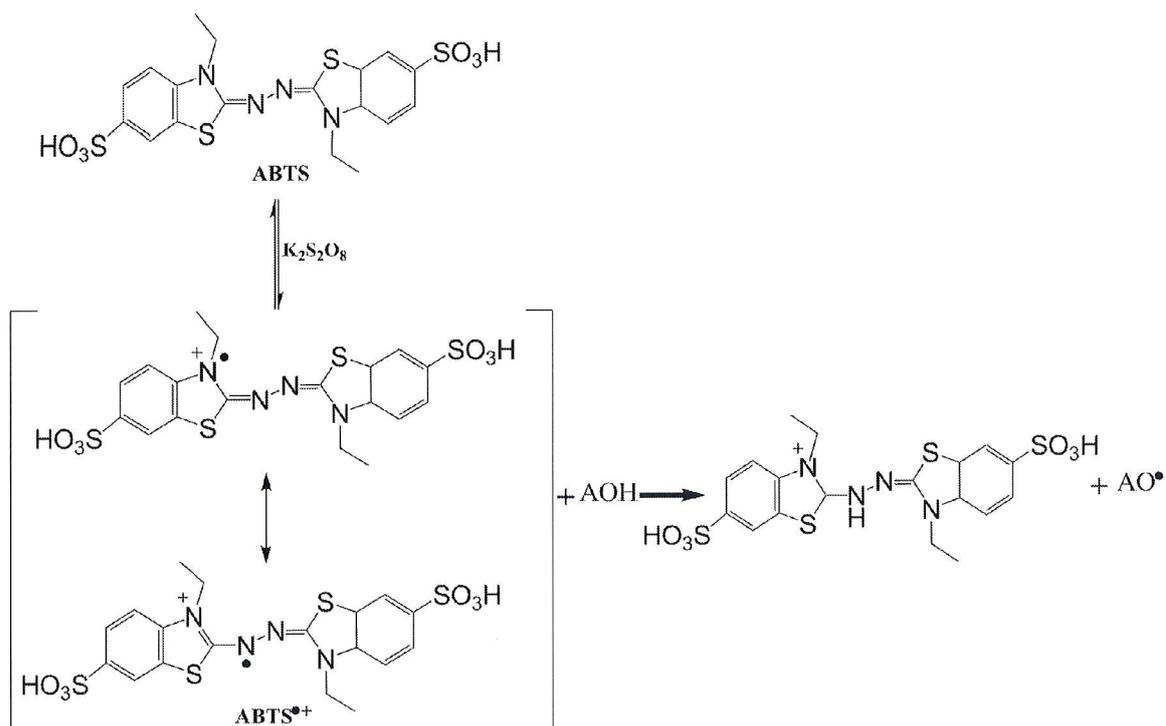
#### I.4.3. Test de piégeage du radical-cation ABTS

La méthode du radical ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Elle est basée sur la capacité des composés à piéger le radical-cation  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)). Le radical est formé par oxydation de l'ABTS bleu avec différents composés.

Le composé à tester est ajouté au radical préformé, l'absorbance résiduelle du radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  est mesurée à 734 nm après 1, 4 ou 6 minute(s) d'incubation.

Le radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  est formé par arrachement d'un électron ( $e^-$ ) à un atome d'azote de l'ABTS. En présence d'un antioxydant donneur de  $\text{H}^{\bullet}$ , le radical d'azote concerné piège un  $\text{H}^{\bullet}$ , conduisant à l' $\text{ABTSH}^+$ , ce qui entraîne la décoloration de la solution (Figure12) [41,42].





**Figure 12:** Génération du radical-cation  $ABTS^{\bullet+}$  avec le persulfate de potassium et sa réaction avec un antioxydant (AOH).

#### I.4.4. Méthode DMPD (dichlorhydrate de N, N-diméthyl-p-phénylène diamine)

La méthode de décoloration par cation radicalaire DMPD a été mise au point pour mesurer l'activité antioxydante dans des échantillons alimentaires et biologiques. Cet essai est basé sur la réduction de la solution tamponnée de DMPD coloré dans un tampon acétate et du chlorure ferrique. La procédure implique la mesure de la diminution de l'absorbance du DMPD en présence de capteurs à son maximum d'absorption de 505 nm. L'activité a été exprimée en pourcentage de réduction du DMPD [43].

#### I.4.5. Activité de chélation des métaux

La ferrozine peut former un complexe de couleur rouge en formant des chélates avec  $Fe^{2+}$ . Cette réaction est limitée en présence d'autres agents chélateurs et entraîne une diminution de la couleur rouge des complexes ferrozine- $Fe^{2+}$ . La mesure de la réduction de la couleur détermine l'activité chélatante qui doit entrer en compétition avec la ferrozine pour les ions ferreux [44]. La chélation des ions ferreux est estimée à l'aide de la méthode de (Dinis et al) [45].

# *Chapitre II*

*Généralité sur les  
dérivés de  
benzothiazole*

*Partie  
expérimentale*

## II. Généralités sur les dérivés de benzothiazole

### II.1.Introduction

Les composés hétérocycliques jouent un rôle très important dans la chimie organique ainsi que dans la chimie médicinale. Plusieurs molécules hétérocycliques possèdent une activité thérapeutique où un léger changement dans la fraction hétérocyclique conduit à un changement thérapeutique majeur [46].

Un composé hétérocyclique est un composé qui possède une structure cyclique avec au moins deux types différents d'atomes dans le cycle. Il s'agit généralement de carbone et d'un hétéroatome tel l'azote, l'oxygène et le soufre. Les composés hétérocycliques sont très largement répandus dans la nature et sont essentiels à la vie de différentes manières. Un certain nombre de dérivés hétérocycliques contenant de l'azote, de l'oxygène et de soufre ont servi comme modèle pour la conception des médicaments [47].

Le benzothiazole (1) appartient à la famille du 1,3-azole. Sa structure est une combinaison de deux cycles à six et à cinq chaînons, le premier est le benzène et le deuxième est le thiazole, hétérocycle aromatique à cinq chaînons contenant dans le cycle un atome d'azote et un atome de soufre. et il est également connu que les deux cycles sont responsables de l'activité thérapeutique. Le thiazole (2) a d'abord été décrit par Hantzsch et Waber en 1887. Popp a confirmé sa structure en 1889. La numérotation des thiazoles et benzothiazoles commence à partir de l'atome de soufre (Figure 13) [48].

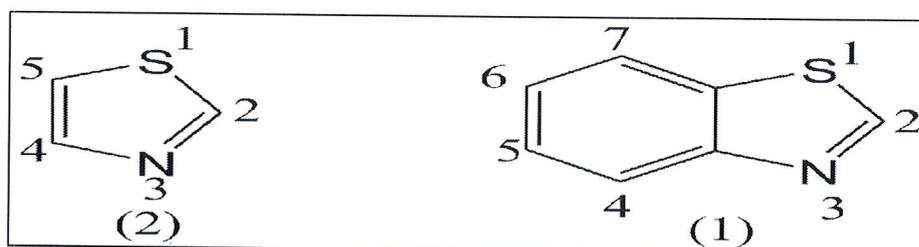
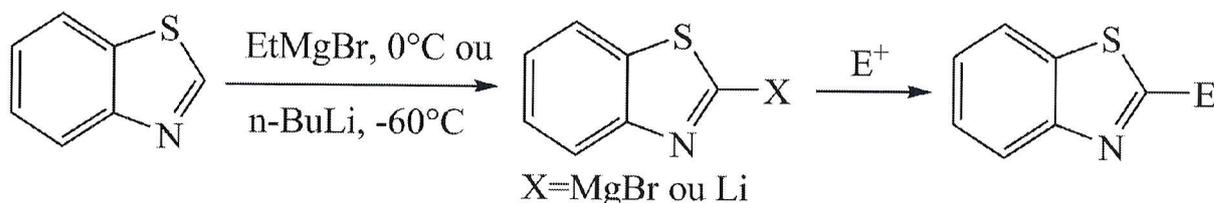


Figure 13 : Structures chimiques du thiazole et du benzothiazole.

Le benzothiazole est un liquide incolore, légèrement visqueux, ayant un point de fusion de 2 °C et un point d'ébullition de 227-228 ° C. sa densité est de 1,238 g / ml. Il a un caractère basique faible. Le proton en position 2 du noyau benzothiazole a un caractère acide, il est facilement arraché par des bases fortes [59]. Ceci peut s'expliquer par le

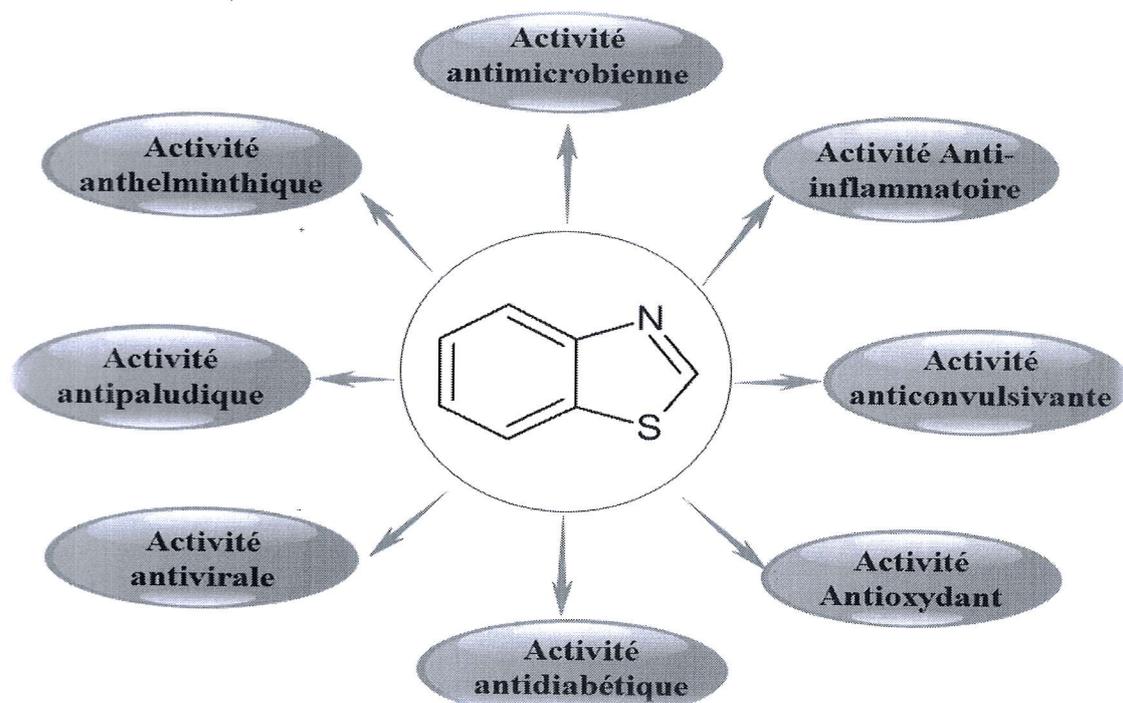
caractère inductif attracteur des hétéroéléments qui l'entoure. La déprotonation du benzothiazole peut se faire par exemple avec les alkyllithiums ou des réactifs de Grignard. Les benzothiazoles lithiés ou les magnésiens qui en résultent peuvent réagir avec une large gamme d'électrophiles (Figure 14) [50].



*Figure 14 : Formation de benzothiazole métallé et piégeage électrophile.*

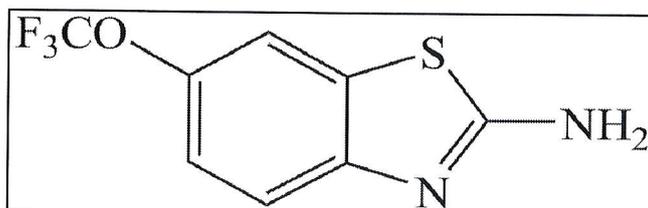
## II.2. Potentiel thérapeutique de quelques dérivés de benzothiazole:

Le benzothiazole et ses dérivés sont des composés chimiques essentiels qui ont une énorme application dans le domaine de la recherche, en particulier dans la chimie de synthèse ainsi que dans la chimie pharmaceutique, en raison de leurs activités pharmacologiques puissantes et significatives. Les activités les plus importantes des dérivés du benzothiazoles sont représentées dans la figure 15[48].



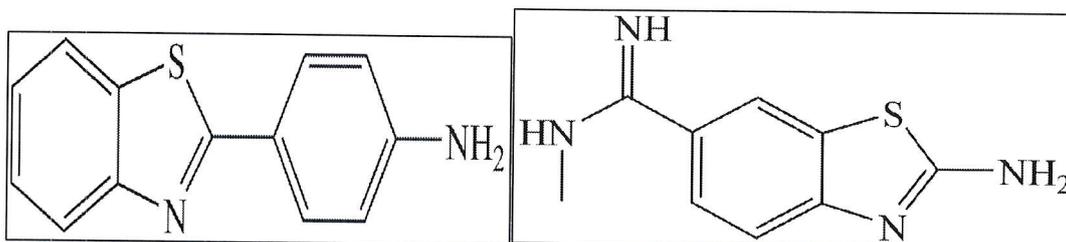
*Figure 15 : quelques activités thérapeutiques des dérivés de benzothiazole.*

Plusieurs dérivés du 2-aminobenzothiazole ont été synthétisés dans années cinquante. Ces dérivés présentent des rôles potentiels dans la relaxation musculaire. Dans l'année 1996, le **Riluzole** (Figure 16) a été découvert et ces interactions avec les récepteurs au glutamate à été mis en évidence.



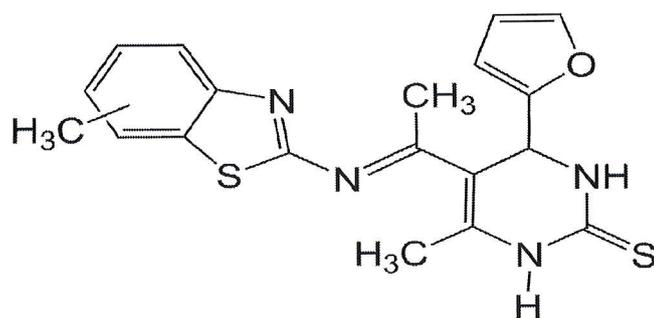
*Figure 16 : Structure chimique du Riluzole.*

Quelques dérivés du 2-(4-aminophényl)benzothiazole et de 6-amidino-2-benzothiazoles ont montrés des propriétés antitumorales in vitro. En effet ces dérivés inhibent la croissance des cellules tumorales et des fibroblastes (Figure 17) [51,52].



*Figure 17 : Structures chimiques du 2-(4-aminophényl)benzothiazole et du 6-méthylamido-2-aminobenzothiazole.*

Certains dérivés du benzothiazole ont été synthétisés et évalués sur leur activité antibactérienne (contre des cultures bactériennes Gram positives et Gram négatives). Ces composés présentaient une bonne activité antibactérienne (Figure 18) [53].



*Figure 18 : structure chimique de (E)-5-(1-(benzo[d]thiazol-2-ylimino)ethyl)-4-(furan-2-yl)-6-methyl-3,4-dihydropyrimidine-2(1H)-thione-éthane (1:1).*

Diverses autres activités pharmacologiques incorporant le motif benzothiazole ont été décrites dans la littérature. Parmi ces activités on peut citer les effets : anti-inflammatoires [54], anti-convulsivants [55], antipaludiques [56], anti-helminthiques [57], anti-diabétiques [58], antivirales [59] et Antioxydants [60].

## Partie expérimentale

Au cours de ce travail, nous avons évalué l'activité antioxydante de douze molécules de dérivés de 4,5,6,7-tetrahydro-1,3-benzothiazole portant une fonction urée, thiourée ou sulfonylurée en position 2 par l'utilisation des méthodes suivantes : réduction de fer (FRAP), test de piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup> (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et le test de piégeage du radical-cation ABTS<sup>•+</sup> [acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)]. Ces dérivés sont résultants d'une modification moléculaire de l'hétérocycle benzothiazole par le remplacement d'un cycle aromatique à six chaînons par un autre cycle équivalent saturé. Ils ont été synthétisés par Harrouche et al [61]. Afin d'établir le profil pharmacologique de ces dérivés. Cette étude pharmacologique a été effectuée au niveau de laboratoire de phytochimie et de pharmacologie (LPP) de la faculté des sciences exactes et informatique de l'université de Jijel.

### I. Généralité sur les produits étudiés :

Les tests d'évaluation de l'activité antioxydants sont réalisés sur les dérivés de tetrahydrobenzothiazoles portant des fonctions urées ou thiourée en position 2 (série I) et les dérivés de tetrahydro-benzothiazoles portant une fonction sulfonylurée (série II). Les schémas de synthèse de ces dérivés sont représentés ci-dessous [62] :

**Série I :** Cette série concerne les dérivés de 4,5,6,7-tetrahydro-1,3-benzothiazole portant une fonction urée ou thiourée en position 2. La réaction consiste à faire réagir une cétone cyclique (cyclohexanone) avec la thiourée en présence d'iode, sans solvant à 110°C pendant 12h. À la fin de la réaction l'hétérocycle est régénéré de leur iodhydrate par un traitement avec une solution saturée du carbonate de sodium.

La réaction de 2-aminotetrahydrobenzothiazole intermédiaire obtenu avec les isocyanates et les isothiocyanates dans le dichlorométhane permet de fixer les fonctions urées et thiourées voulues.

Le schéma réactionnel pour la synthèse de cette série de molécule est représenté ci-dessous (Schéma 01) :

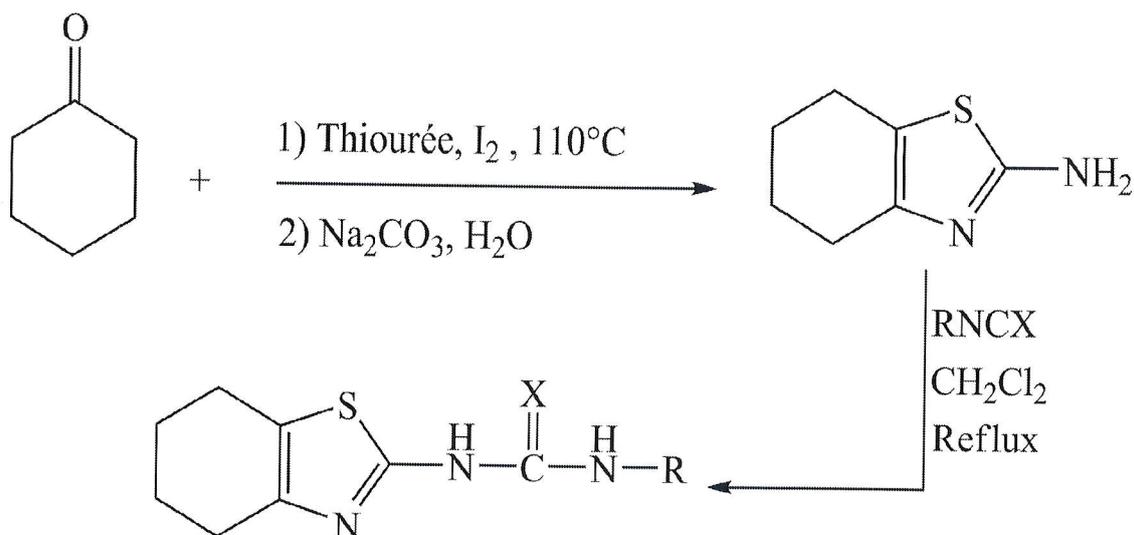
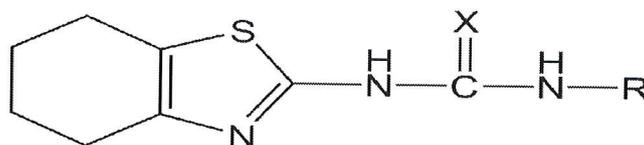


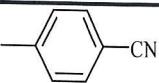
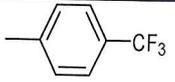
Schéma 01: Synthèse des molécules de la série I.

Les 10 molécules de cette série sur lesquelles on a réalisé l'étude de l'activité antioxydante sont représentées dans le Tableau 01 suivant :

Tableau 01 : les Molécules de la série I testés.

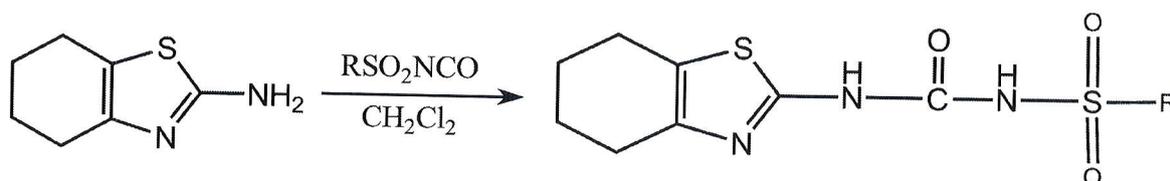


Molécule	X	-R	Formule brute
H21	S		$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$
H23	S	$-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{S}_2$
H24	O	$-\text{C}(\text{CH}_3)_3$	$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{OS}$
H26	O		$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{OS}$
H27	O		$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{OS}$
H28	O		$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{OS}$

H29	O		C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>3</sub> OS
H210	S		C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> S <sub>2</sub>
H211	O		C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> OS
H212	O	-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	C <sub>11</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> OS

**Série II :** Cette série de molécules représente les dérivés de tetrahydrobenzothiazoles portant une fonction sulfonylurée. La réaction consiste à faire réagir des sulfonyl-isocyanate avec les 2-aminotetrahydrobenzothiazoles précédemment mentionnés.

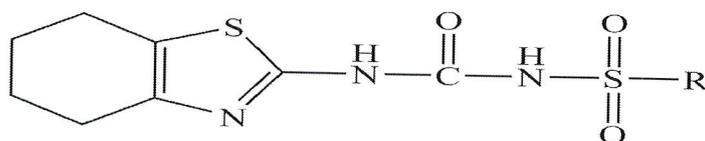
Le schéma réactionnel pour la synthèse des sulfonylurée est le suivant :

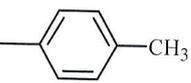
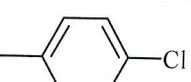


*Schéma 02 : Schéma de synthèse des molécules de la série II.*

Le tableau 02 représente les dérivés de tetrahydrobenzothiazoles portant une fonction sulfonylurée en position 2.

**Tableau 02 :** Les Molécules de la série II testés



Molécule	-R	Formule brute
H22		C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub>
H25		C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub>

## II. Matériels et méthodes

### II.1. Matériels

#### II.1.1. Solvants et réactifs utilisés

Méthanol : solvant

Ethanol : solvant

Tampon phosphate : pour fixé le pH à 6.6

$K_3Fe(CN)_6$  : Réactif

$FeCl_3 \cdot 6H_2O$  : Réactif

Acide trichloroacétique : Réactif

2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH): Réactif

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

Persulfate de potassium: Réactif

Acide ascorbique : référence.

Eau distillée.

#### II.1.2. Matériels et outils :

##### Outils, verreries et appareillages utilisés

Spectrophotomètre UV-visible

Etuve

Balance analytique (précision  $10^{-4}$  g)

Micropipettes (200 $\mu$ l et 1000 $\mu$ l)

Cuvettes de spectrophotomètre en quartz

Tubes en verre

Fioles (100 et 500 ml)

Béchers

Flacons en verre ambré

Embouts pour micropipettes

Eppendorf

Papiers aluminium

Spatules

### II.2. Méthodes :

De nombreuses méthodes permettant d'évaluer le pouvoir antioxydant des molécules ont été décrites dans la littérature. Dans ce travail, nous avons utilisées les trois essais suivants : Essai sur le pouvoir antioxydant par la réduction de fer (FRAP), essai de Piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1picrylhydrazyl, DPPH<sup>•</sup>, et l'essai de piégeage du radical-cation l'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique), ABTS<sup>+•</sup>.

#### II.2.1. Préparation des solutions :

Les composés à tester, sous forme de poudre, ont été solubilisés dans le méthanol. Dans une première étape, une solution mère de concentration de 1mg/ml à été préparée. Toutes les molécules ont été testées à cette concentration (1 mg/ml) sur les trois essais choisis. Des solutions diluées ont été préparées par la suite à partir de la solution mère pour les composés montrant une activité à la concentration de 1mg/ml afin de déterminer les concentrations à 50 % de l'effet maximal (EC<sub>50</sub>). Les solutions diluées ainsi préparées allant de 0.01 à 0.8 mg/ml suivant l'effet observés.

**Tableau 03 :** préparation de la solution mère et les solutions filles.

Solution à tester	S <sub>m</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>	S <sub>7</sub>
Concentration (mg/ml)	1	0.01	0.05	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8
Volume totale (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1

#### II.2.2. Test de pouvoir réducteur (FRAP) :

L'évaluation de l'activité antioxydante par la réduction de fer est une méthode facile et reproductible, elle est très utilisée pour distinguer les composés les plus actifs. L'acide ascorbique est un puissant antioxydant, il est utilisé comme témoin.

### Mode opératoire :

L'activité réductrice d'un composé est évaluée par la réaction d'oxydo-réduction entre la molécule et les ions métalliques de transition, notamment le fer. Le ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  fournit des ions ferriques ( $Fe^{+3}$ ) qui seront réduits en fer ferreux ( $Fe^{+2}$ ) par les antioxydants présents. Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode décrite par (Oyaizu 1986) avec quelques modifications ; Un millilitre de l'échantillon à différentes concentrations dilué dans le méthanol est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate (0,2 M ; pH : 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1 %, puis on incube les tubes à 50 °C pendant 20 minutes. Après refroidissement des tubes à température ambiante, 2,5 ml d'acide trichloracétique (ATC, TCA ; trichloracétiqueacide) à 10 % sont ajoutés pour stopper la réaction. 2,5 ml de ce mélange sont récupérés et combinés à 2,5 ml d'eau distillée. Nous additionnons ensuite au mélange 500  $\mu$ l d'une solution de chlorure de fer ( $FeCl_3, 6H_2O$ ) à 0,1 % fraîchement préparée. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience dans les mêmes conditions. Le test est répété 3 fois [63].

### II.2.3. Test de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) :

La méthode de l'évaluation de l'activité antioxydante par piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) stable à base d'azote est très utilisée pour distinguer les composés les plus actifs. La couleur violette du DPPH se change en jaune après réduction par le procédé de transfert d'hydrogène ou d'électron. L'acide ascorbique est un puissant antioxydant, il est utilisé comme témoin.

#### Mode opératoire :

Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque produit est ajouté à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (60µM) fraîchement préparée. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1950 µl de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite pour chaque concentration à 515 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique, dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration, le test est répété 3 fois [64].

Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % : est déterminé en appliquant la formule suivante :

$$I(\%) = [(AC - AT) / AC] \times 100$$

AC : absorbance du contrôle négatif

AT : absorbance de l'échantillon

### II.2.4. Test de piégeage du radical-cation ABTS :

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du radical-cation ABTS est basée sur la capacité des composés antioxydants à piéger le radical-cation  $ABTS^{\bullet+}$ , elle est très utilisée pour distinguer les composés les plus actifs. L'acide ascorbique est un puissant antioxydant, il est utilisé comme témoin.

### Mode opératoire :

Le potentiel antioxydant radicalaire des dérivés de tetrahydrobenzothiadiazole a été mesuré en utilisant le test de piégeage par le cation radicalaire ABTS<sup>•+</sup> suivant la méthode décrite par **Re et al [65]**. Avec de mineurs modifications. Le radical cation ABTS<sup>•+</sup> a été formé par la réaction entre (7 mM) ABTS dans l'eau et (2,45 mM) de persulfate de potassium (1: 1), conservée dans l'obscurité à la température ambiante pendant 12 à 16 h avant utilisation. La solution ABTS<sup>•+</sup> a en suite été diluée avec de l'éthanol pour obtenir une absorbance de 0,700 à 734 nm. Après addition de 100 µl d'échantillon ou (acide ascorbique comme contrôle positif) à différentes concentrations a 900 µl de la solution ABTS<sup>•+</sup> diluée, l'absorbance a été mesurée après 10 min d'incubation à température ambiante (20 ± 2 °C). Toutes les déterminations ont été répétées trois fois.

L'activité de piégeage des radicaux ABTS (%) : est déterminé en appliquant la formule suivante :

$$I(\%) = [1 - (AT / AC)] \times 100$$

**AC** : absorbance du contrôle négatif.

**AT** : absorbance de l'échantillon.

### III. Résultats et discussion

#### III.1. Test de pouvoir réducteur (FRAP) :

##### III.1.1. Résultats :

Dans ce travail nous avons mesuré l'absorbance des composés à une concentration de 1 mg/ml pour faire une présélection des composés qui présentent une absorbance plus ou moins importante.

Le tableau 04 suivant présente les absorbances des deux séries de composés obtenues pour une concentration de 1 mg/ml.

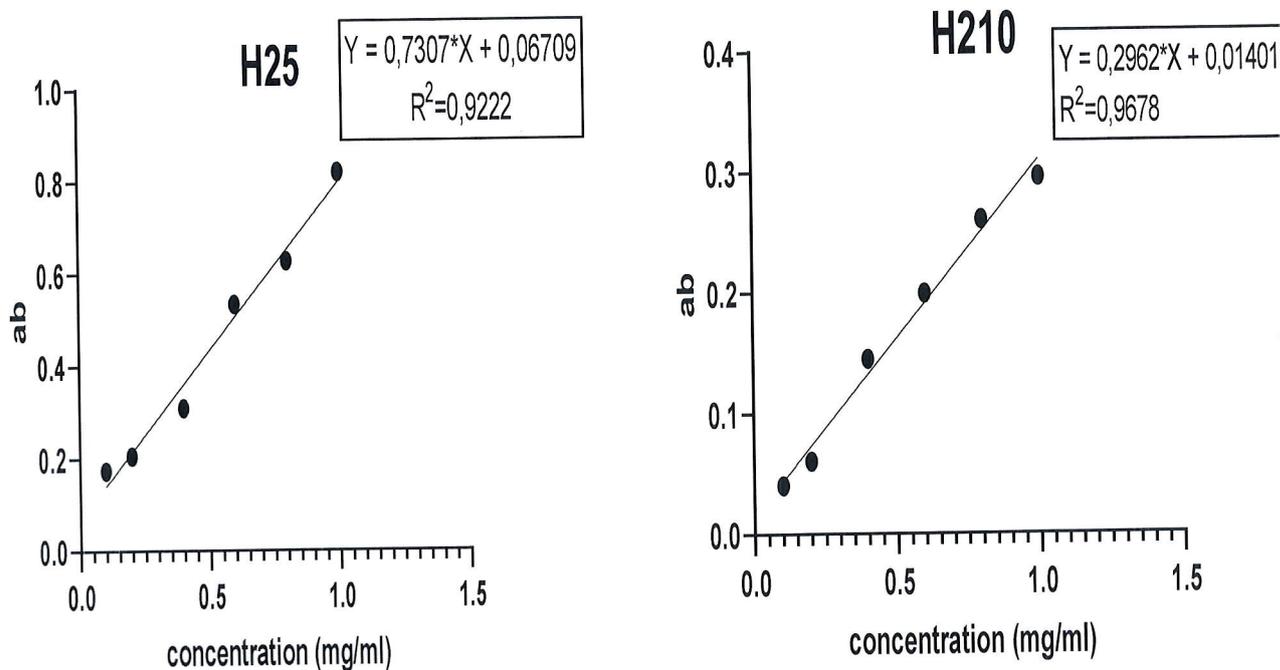
**Tableau 04 :** La lecture des Absorbances des composés de la série I et II à 1 mg/ml.

produits	Absorbance		
	1	2	3
<b>H21</b>	0,143	0,149	0,174
<b>H22</b>	0,176	0,222	0,243
<b>H23</b>	0,204	0,216	0,216
<b>H24</b>	0,257	0,217	0,256
<b>H25</b>	0,643	0,612	0,638
<b>H26</b>	0,213	0,230	0,249
<b>H27</b>	0,089	0,074	0,094
<b>H28</b>	0,146	0,155	0,134
<b>H29</b>	0,257	0,275	0,218
<b>H210</b>	0,415	0,409	0,434
<b>H211</b>	0,181	0,225	0,188
<b>H212</b>	0,235	0,235	0,222

A une concentration de 1 mg/ml il y a seulement 01 composé de la série I (H210) et 01 composé de la série II (H25) qui présentent une absorbance supérieure à 0,4, Cependant à cette concentration l'acide ascorbique (produit de référence) est plus actif par rapport à ces composés ( $Ab > 3$ ).

Pour explorer les résultats obtenus, la manière la plus commune utilisée par la majorité des auteurs est de tracer les graphes des absorbances obtenues en fonctions des différentes concentrations utilisées pour les différents dérivés de tetrahydrobenzothiazole et de déterminer la concentration qui mène l'absorbance à une valeur fixe ( $Ab = 0.4$ ). L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des composés testés.

La figure 19 suivante montre la variation des absorbances des deux composés H25 et H210 et de l'acide ascorbique en fonction de la concentration.



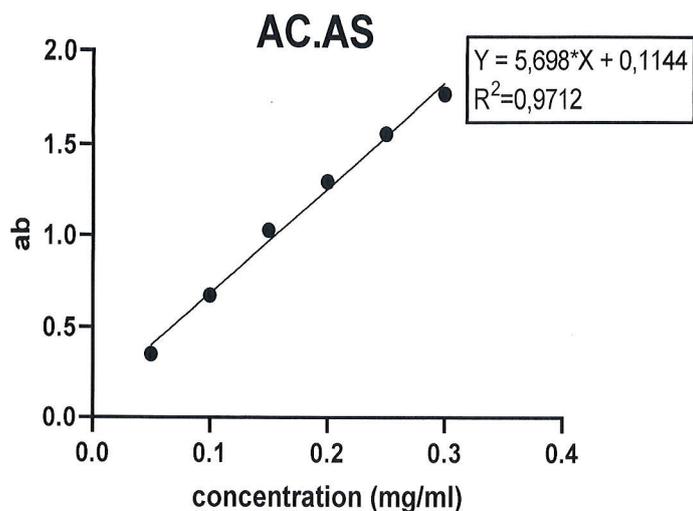


Figure19 : Droite d'étalonnage du FRAP des composés H25, H210 et AC.

### III.1.2. Discussion :

Dans notre travail, nous avons testé, par la méthode de FRAP, pour les dérivés de tetrahydrobenzothiazole, et les résultats obtenus nous ont permis de tracer des courbes pour chaque produit actif. D'après ces résultats, nous remarquons que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons.

La réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en couleur bleu vert du fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ).

A partir de ces graphes nous avons déterminé la valeur d' $EC_{0.4}$  (C.à.d. la concentration efficace à une absorbance de 0.4) afin de pouvoir comparer l'activité de ces composés entre eux et avec la référence (l'acide ascorbique). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 05 : les valeurs de  $EC_{0.40}$  des produits de la série I et II.

Molécule	$EC_{0.40}$ (mg/ml)	$EC_{0.40}$ (mmol)
H25	0,456	1,226
H210	1,300	4,134
Ac.As	0,050	0,284

Les résultats obtenus pour ces deux produits montrent que leur activité antioxydant est nettement inférieure à celle de la référence, acide ascorbique. Pour ce dernier la réduction est presque totale à partir d'une concentration de 0,50 mg/ml.



### III.2. Test de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) :

#### III.2.1. Résultats :

Les absorbances des composés mesurées à une concentration de 1 mg/ml permettent de faire une présélection de ceux qui présentent une activité.

Le tableau suivant présente les absorbances des deux séries de composés obtenus pour une concentration de 1 mg/ml.

**Tableau 06** : Absorbance des composés de la série I et II à 1 mg/ml.

produits	Absorbance		
	1	2	3
H21	0,048	0,040	0,038
H22	0,452	0,479	0,359
H23	0,481	0,486	0,472
H24	0,479	0,476	0,472
H25	0,043	0,043	0,052
H26	0,456	0,490	0,500
H27	0,496	0,498	0,510
H28	0,358	0,467	0,058
H29	0,468	0,488	0,482
H210	0,063	0,053	0,053
H211	0,480	0,488	0,491
H212	0,471	0,452	0,476
Témoin	0,631	0,610	0,623

Visuellement on remarque qu'il y a seulement 03 composés ayant au moins un pourcentage d'inhibition de 50 % à la concentration 1mg/ml. Il s'agit de H21, H25 et H210.

A cet effet nous avons préparé des dilutions pour ces 03 composés les plus actifs et l'acide ascorbique pour déterminer leurs  $EC_{50}$ . Les résultats des tests sont représentés dans la figure 20 montrant les pourcentages d'inhibition calculés en fonction des concentrations utilisées.

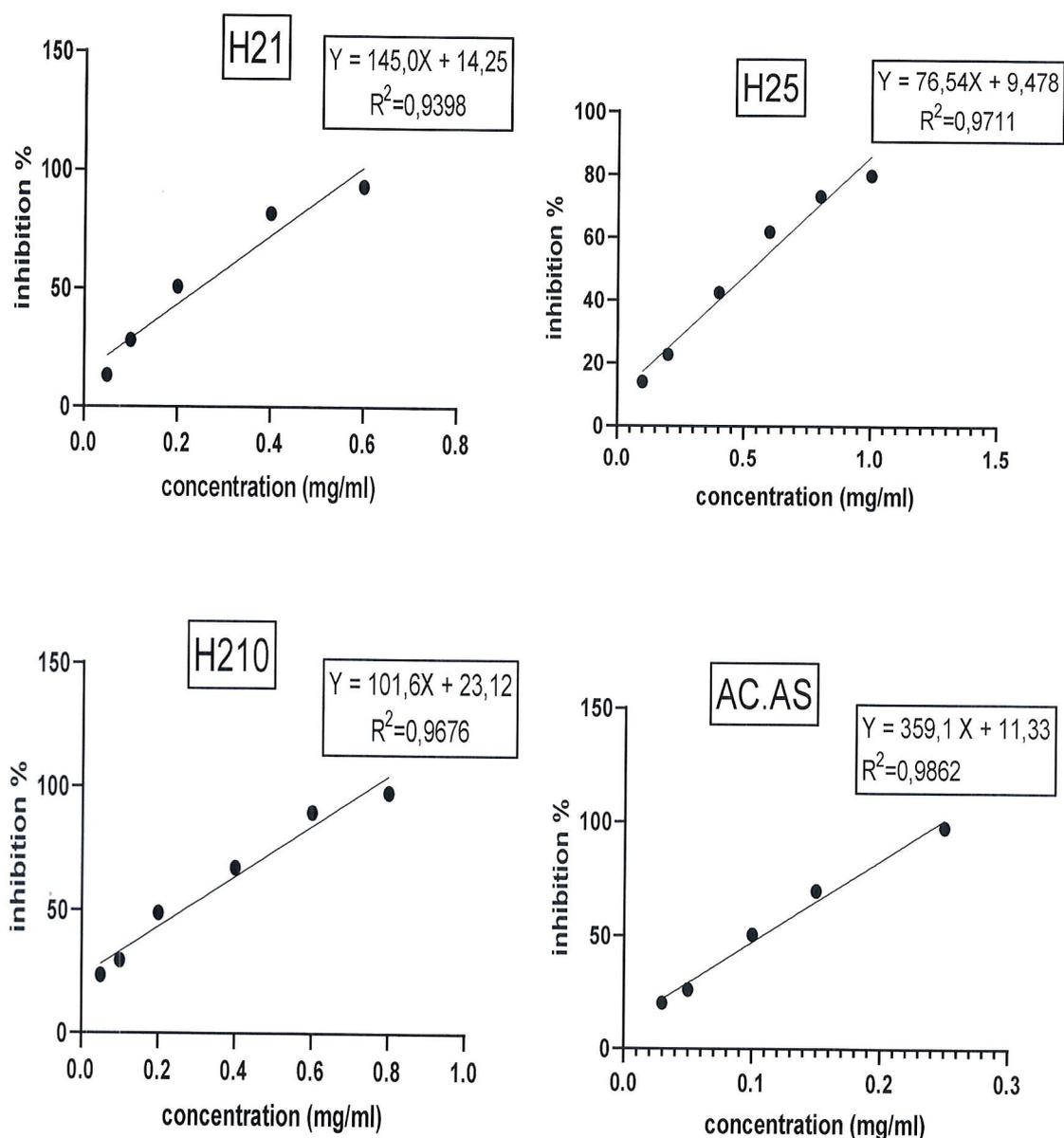


Figure 20 : Droites d'étalonnage du DPPH ( $I\% = f(\text{conc})$ ) de AC, H21, H25, H210.

A partir de ces graphes nous avons déterminé les valeurs d'EC<sub>50</sub>. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 07** : les valeurs de EC<sub>50</sub> des produits de la série I et II.

Molécule	EC <sub>50</sub> (mg/ml)	EC <sub>50</sub> (mmol)
H21	0,246	0,736
H25	0,529	1,424
H210	0,264	0,840
Ac.As	0,106	0,601

### III.2.2. : Discussion :

Les résultats présentés sur le tableau 07 montrent que les composés H21, H25, H210 donnent des résultats positifs avec le de Test de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Les deux composés H21 et H210 de la série I présentent une activité proche de celle de l'acide ascorbique 0,736 et 0,840 mmol respectivement contre 0,601 mmol pour l'acide ascorbique. Le composé H25 de la série II lui aussi a une activité remarquable par rapport à celle de l'acide ascorbique 1.424 mmol.

Si nous classons nos produits selon la puissance piégeage du radical par rapport à l'acide ascorbique avec EC<sub>50</sub> (mmol), nous obtiendrons l'ordre suivant : acide ascorbique (0,601) > H21 (0,736) > H210 (0,840) > H25 (1,424).

Le reste des composés (H22, H23, H24, H26, H27, H28, H29, H211, H212) ont des activités antioxydantes relativement faibles par rapport à l'acide ascorbique.

Une simple étude structure-activité pour ces composés montre que le pouvoir antioxydant des analogues tetrahydrobenzothiazoles de la première série est du surtout à la présence de la fonction thiourée. Cette dernière lorsqu'elle est lié au noyau thiazole peut s'exister sous la forme thiol (-SH). Ce qui explique la possibilité de transfert d'électron ou d'hydrogène en présence d'un composé qui porte un radical comme le DPPH. Le groupement lié à la fonction thiourée de l'autre coté lui aussi peut favoriser la formation des thiols surtout lorsque ils sont électroattracteur comme le cas ici où le H21 porte un

groupe nitrophényle et le H210 un groupe cyanophényle (les deux groupes sont attracteur par effet mésomère). On remarque bien que les tetrahydrobenzothiazoles de cette série et qui portent une fonction urée n'ont pas d'effet dans ce test quelque soit la nature de groupe attaché à la fonction urée. On peut constater donc que la présence de la fonction thiourée est nécessaire pour avoir une activité antioxydante et que la présence d'un groupe électroattracteur favorise cette activité. Par ailleurs un des deux composés de la deuxième série montre une activité antioxydante. Cela est du à la présence de la fonction sulfonyl très attracteur qui rend le proton NH-SO<sub>2</sub> labile. Mais cet effet attracteur de la fonction sulfonyl semble n'est pas le seul responsable de l'activité. Sur les deux composés testés l'activité est remarquée lorsque la fonction sulfonylurée est lie à un groupe attracteur par effet inductif (chlorophényle), H25, est pas d'activité lorsqu'il s'agit d'un groupe donneur (méthylphényle), H22.

### III.3. Test de piégeage du radical-cation ABTS :

#### III.3.1. Résultats :

Dans ce travail nous avons mesuré l'absorbance des composés à une concentration de 1 mg/ml pour faire une présélection des composés qui présentent une absorbance.

Le tableau suivant présente les absorbances des deux séries de composés obtenus pour une concentration de 1 mg/ml.

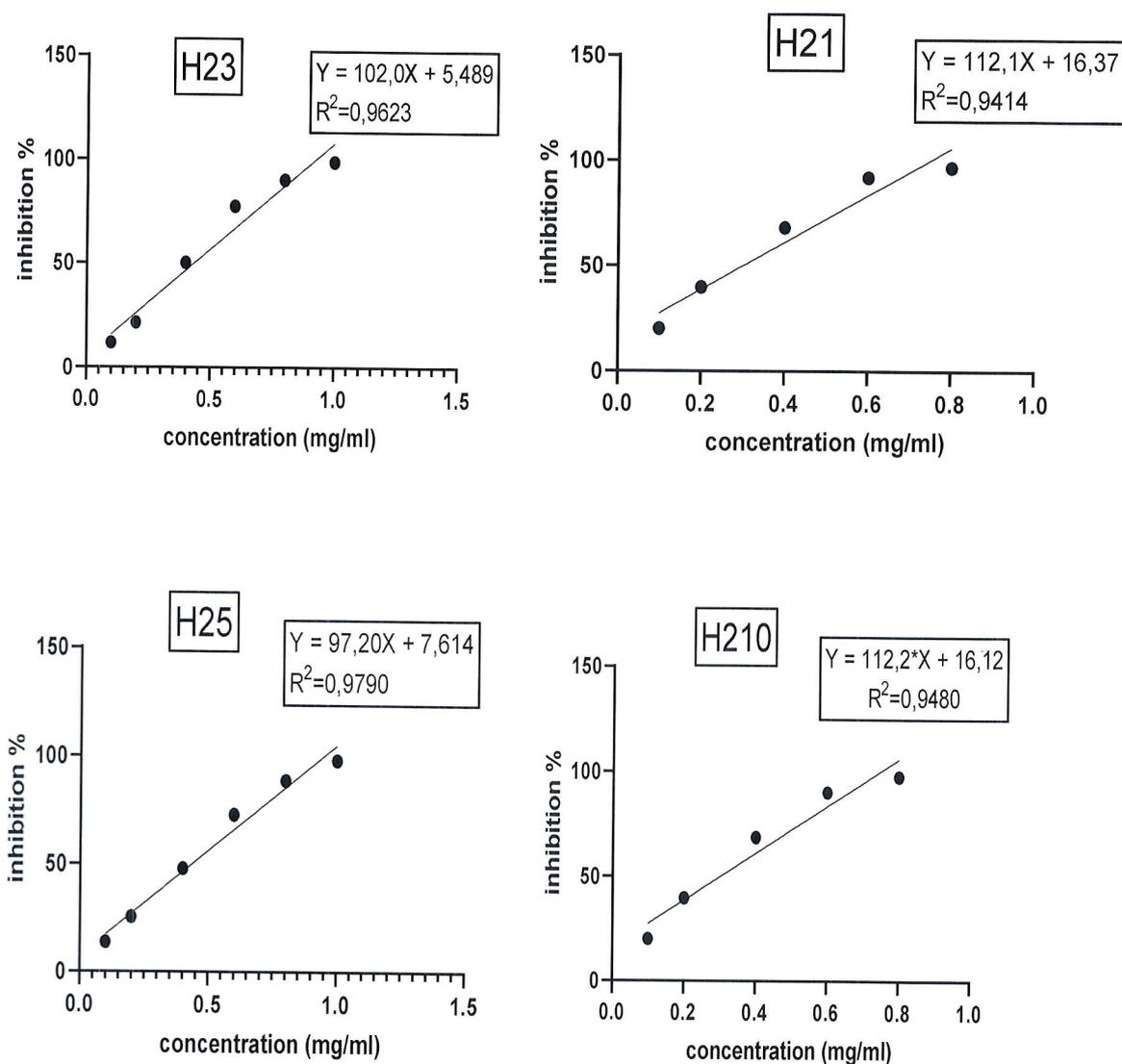
**Tableau 08 :** Absorbance des composés de la série I et II à 1 mg/ml.

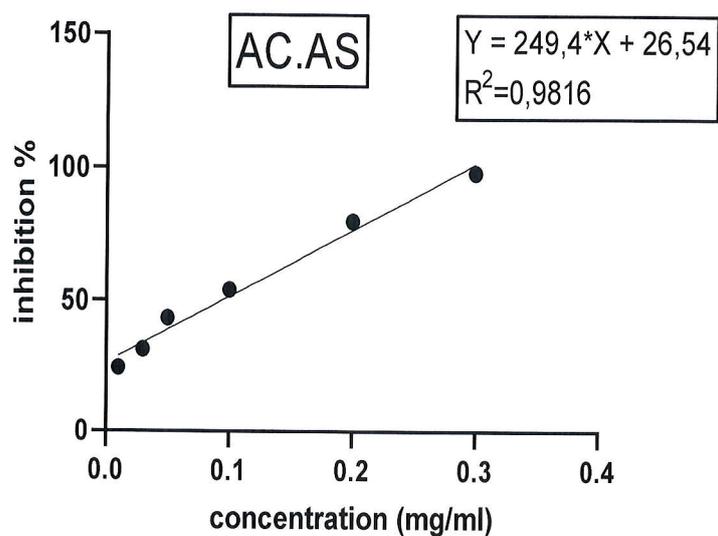
produits	Absorbance		
	1	2	3
<b>H21</b>	0,028	0,038	0,052
<b>H22</b>	0,375	0,450	0,458
<b>H23</b>	0,043	0,052	0,036
<b>H24</b>	0,370	0,392	0,385
<b>H25</b>	0,002	0,000	0,003
<b>H26</b>	0,388	0,380	0,376
<b>H27</b>	0,304	0,320	0,300
<b>H28</b>	0,297	0,312	0,316
<b>H29</b>	0,391	0,371	0,327
<b>H210</b>	0,000	0,000	0,002
<b>H211</b>	0,351	0,360	0,340
<b>H212</b>	0,360	0,365	0,374
<b>Témoin</b>	0,547	0,565	0,552

A une concentration de 1 mg/ml il y a seulement 03 composé de la série I (H21, H23 et H210) et 01 composé de la série II (H25) qui présentent une absorbance inférieure à 0.3 (environ 50% d'effet à cette concentration). Cependant à cette concentration l'acide ascorbique (produit de référence) est plus actif par rapport à ces composés.

A cet effet nous avons préparé des dilutions pour ces composés plus actifs.

Les résultats des tests de piégeage du radical-cation  $ABTS^{•+}$  sont représentés dans la figure 15 montrant les pourcentages d'inhibition calculés en fonction des concentrations utilisées.





**Figure 21 :** Droites d'étalonnage du ABTS ( $I\% = f(\text{conc})$ ) de AC, H21, H23, H25, H210.

A partir de ces graphes nous avons déterminé la valeur de  $EC_{50}$ . Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 09 suivant :

**Tableau 09 :** Valeurs de  $EC_{50}$  des produits de la série I et II.

Molécule	$EC_{50}(\mu\text{g/ml})$	$EC_{50}(\text{mmol})$
H21	0.300	0.898
H23	0.436	1.700
H25	0.436	1.173
H210	0.302	0.961
AC.AS	0.094	0.533

### III.3.2. Discussion :

Les résultats présentés sur le tableau (09), montrent que les composés H21, H23 H25, H210 donnent des résultats positifs avec le de Test de piégeage du radical-cation ABTS. Si nous classons nos produits selon la puissance de piégeage le radical par rapport à l'acide ascorbique en fonction de  $EC_{50}$  (mmol), nous obtiendrons l'ordre suivant : acide ascorbique (0.533) > H21 (0.898) > H210 (0.961) > H25 (1.173) > H23 (1.70).

Les composés de la série I ayant présenté un effet avec le test de DPPH, H21 et H210 présente aussi une activité avec le test de l'ABTS. Cette activité est proche de celle de l'acide ascorbique : H21,  $EC_{50} = 0.898$  mmol et H210,  $EC_{50} = 0.961$  mmol et  $EC_{50} = 0.533$  mmol pour l'acide ascorbique. Cependant dans cette série le composé H23 lui aussi une activité plus au moins remarquable par rapport à l'acide ascorbique avec ( $EC_{50} = 1.70$  mmol).

Le composé H23 est un tetrahydrobenzothiazole qui porte une fonction thiourée cela confirme les résultats obtenus avec le test de DPPH. La faible activité de ce composé (H23) par rapport au H21 et H210 est due peut être au groupe lie à la fonction thiourée qui est un groupe donneur d'électron (isopropyle) pour le H23 et un groupe attracteur (nitrophényle pour H21) et (cyanophényle pour H210).

Le composé H25 de la série II lui aussi à une activité remarquable par rapport à l'acide ascorbique et confirme le résultat obtenu avec le test de DPPH précédemment discuté.

Le reste des composés (H22, H24, H26, H27, H28, H29, H211, H212) ont des activités antioxydantes faibles par rapport à l'acide ascorbique.



*Conclusion*

*Générale*

### Conclusion générale

Au cours de ce travail, nous avons présenté une recherche bibliographique contenant une généralité sur les radicaux libres, le stress oxydatif, les principaux antioxydants naturels et synthétiques suivi d'une approche sur l'étude expérimentale de l'activité antioxydante des dérivés de tetrahydrobenzothiazole.

Nous nous sommes intéressés principalement à l'évaluation du pouvoir antioxydant de quelques composés de l'hétérocycle 4,5,6,7-tetrahydro-1,3-benzothiazole portant une fonction urée, thiourée ou sulfonylurée par l'utilisation des méthodes suivantes : Test de réduction de fer (FRAP), Test de Piégeage du radical libre DPPH et Test de piégeage du radical-cation ABTS.

Dans un premier temps de cette étude nous avons effectué le test de réduction de fer (FRAP) dont une douzaine de molécules tetrahydrobenzothiazole portant une fonction urée, thiourée ou sulfonylurée en position 2 ont été testés. Les résultats obtenus montrent que les deux composés H25 et H210 possèdent un effet antioxydant, mais relativement faible par rapport à celui de l'acide ascorbique 1.226 et 4.134 mmol respectivement contre 0.284 mmol pour l'acide ascorbique.

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos produits par la méthode de piégeage de radical libre DPPH a mis en évidence que les tetrahydrobenzothiazoles portant la fonction thiourée (H21 et H210) pour la série I et un composé de la série II (H25) qui porte une fonction sulfonylurée ont un pouvoir antioxydant important. L'activité enregistrée pour ces trois composés est proche de celle de l'acide ascorbique, antioxydant de référence.

Les résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant des dérivés de tetrahydrobenzothiazole par la méthode de piégeage du radical-cation ABTS, confirment ceux obtenus par le test de DPPH pour les composés H21, H25, H210. En plus un autre composé de la série I (H23) est qui porte une fonction thiourée a montré aussi un effet dans ce test.

Les composés H22, H24, H26, H27, H28, H29, H211 et H212 ont un pouvoir antioxydant moins important par rapport aux composés précédents et à l'acide ascorbique.

L'étude structure-activité pour ces composés montre que le pouvoir antioxydant des analogues tétrahydrobenzothiazoles de la première série est du surtout à la présence de la fonction thiourée (H21, H23 et H210). Les composés portant une fonction urée n'ont pas d'effet pour les trois tests étudiés quelque soit la nature de groupe attaché à la fonction urée.

L'activité antioxydante est favorisée lorsque le groupement lié à la fonction thiourée est électroattracteur comme le cas de H21 qui porte un groupe nitrophényle et le H210 qui porte un groupe cyanophényle (les deux groupes sont attracteur par effet mésomère). Cette activité devient faible lorsque le groupement lié à la fonction thiourée est électrodonneur (H23).

Ces résultats expérimentaux montrent la probabilité d'existence de la fonction thione (C=S) de la thiourée sous la forme thiol (-SH). Ce qui explique la possibilité de transfert d'électron ou d'hydrogène en présence d'un composé qui porte un radical comme le DPPH ou l'ABTS.

Pour les composés de la deuxième série l'activité antioxydante est due à la présence de la fonction sulfonyl très attracteur qui rend le proton NH-SO<sub>2</sub> labile. Mais cette activité dépend du groupe lié à la fonction sulfonyl. Sur les deux composés testés l'activité est remarquée lorsque la fonction sulfonylurée est liée à un groupe inductif attracteur (chlorophényle, H25) et pas d'activité (H22) lorsqu'il s'agit d'un groupe donneur comme (méthylphényle).

## Référence bibliographiques

- [1] **Meziti A., kormasKA.,Pancucci-Papadopoulou., MA et Thessalou-leg M.**(2007). Bacterial phylotypes associated with the digestive tract of the sea urchin *Paracentrotuslividus* and the ascidian *Microcosmus* sp. *Russ. J. Mar. Biol.* 33: 84-91.
- [2] **Patrick Lacolley DB et Chantal B.** (2008). Biologie et pathologie de coure et des vaisseaux.
- [3] **Tanguy M et Begué-Simon AM.** (2009). Antioxydants Première partie: les antioxydants dans l'alimentation. *Médecine.* 5(6): 256-260.
- [4] **Favier A.** (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.
- [5] **Loganayaki N., Siddhuraju P etManian S.** (2011). Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of phenolic extracts from *Helicteresisora* L. and *Ceibapentandra* L. *J Food Sci Technol.*
- [6] **Shoji H., Shimizu T., Shinohara K et al.** (2004). Suppressive effects of breast milk on oxidative DNA damage in very low birthweight infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* éd. pp. 89: F136–8.
- [7] **Haleng J et al.** (2007). "Le stress oxydant." *Revue médicale de Liège.* 62(10): 628-38.
- [8] **Defraigne JO et Pincemail J.** (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités.
- [9] **Pryor WA.** (1987). The involvement of free radicals in chemical carcinogenesis. **In:** Anti carcinogenesis and radiation protection. *New-York: Plenum Press.* pp. 71-80.
- [10] **Favier A.** (2006). Stress oxydant et pathologies humaines *.Ann Pharm Fr.* 64: 390-396.
- [11] **Christelle KR.** (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. pp. 166-147.

[12] **Rolland Y.** (2004). Antioxydants naturels végétaux. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*. 11(6): 419-424.

[13] **Halliwell B.** (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?. *Lancet*. 344: 721-724.

[14] **Velioglu YS., Mazza G., Gao L et Oomah B.D.** (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 4113.

[15] **Pryor WA.** (1991). The antioxidant nutrient and disease prevention what do we know and what do we need to find out? *American Journal of Clinical Nutrition*. 53: 391.

[16] **Frédéric L.** (1985). *Contribution à l'étude du stress oxydant cellulaire chez le chien de traîneau en course de sprint*. Diss. vetagro sup.

[17] **Hellal Z.** (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.

[18] **Neve J et Joël P.** (2008). "Antioxydants alimentaires: vitamines, oligoéléments et non-nutriments." *Aliments fonctionnels*. Paris: Lavoisier. p. 203-41.

[19] **Mika A., Minibayeva F., Beckett R et Lüthje S.** (2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews*. (3):173-193.

[20] **Maydani M.** (2000). Vitamine E and prevention of heart disease in high risk patients. *Nutrition Reviews*. 58: 278-281.

[21] **Daddouh F.** (2016). L'effet combiné de la vitamine C (acide ascorbique) et de la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) contre la toxicité du nickel chez les souris (*Mus musculus*). Diss. Université Badji Mokhtar. Annaba.

[22] **Jeannequin B., Françoise D et Marie Josèphe AC.** (2005). Fruits et légumes: caractéristiques et principaux enjeux. Editions. Quae.

- [23] **Allard J., Royall D., Kurian R., Muggli R etJeejeebhoy K.** (1994). Effects of  $\beta$ -carotene supplementation on lipid peroxidation in humans, *AmjClimNutr*, 59: 884 – 90.
- [24] **Traoré MC.** (2006). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au Mali. Diss. Thèse de Pharmacie, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie, Université de Bamako. Mali.
- [25] **Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z et Jore D.** (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*. pp. 91.
- [26] **Atti I.** (2014). Evaluation des activités antioxydant et antiradicalaire d'un mélange d'épices « Ras el hanout ». Université kasdiMerbah Ouargla.
- [27] **Bossokpi IPL.** (2002). *Etude des activités biologiques de FagaranthoxyloïdesLam.(Rutaceae)* (Doctoral dissertation, Thèse de pharmacie, Université de Bamako, Bamako).
- [28] **Barlow SM.** (1990). Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. Ed. Hudson BJJ. *Food Antioxidants*. pp. 253-307.
- [29] **Namiki M.** (1990). Antioxidants/Antimutagens in Food.CRC.*critical reviews in Food Science and Nutrition*. pp. 29-273-300.
- [30] **Wanasundara UN etShahidi F.** (1994). Stabilization of canola oil with flavonoids. *Food Chemistry*. 50: 393-396.
- [31] **Larsonr A.** (1997). Naturally occurring antioxidants.Ed. Boca raton.
- [32] **Pietta PG.** (2000). Flavonoids as antioxidants.*Journal of natural products*. pp. 63-1035-1042.
- [33] **Moure A., Cruz JM., Franco D., Dominguez JM et Sineiro J.** (2001). Natural antioxydants from residual sources.*Food Chemistry*. pp. 72- 145-171.
- [34] **Christelle KR.** (2006). "Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires." *Nutrition clinique et métabolisme* 20.4 :165-177.

- [35] **El Kalamouni C.** (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Diss.
- [36] **Yu R., Mandlekar S et Tony kong AN.** (2000). Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole induced toxicity : induction of apoptosis through direct release of cytochrome c. *Molecular pharmacology*. 58: 431-437.
- [37] **Barlow SM.** (1990). Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. Ed. Hudson B.J.F. *Food Antioxidants*. pp. 253-307.
- [38] **Ito N., Fukushima S et Tsuda H.** (1985). Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and other antioxidants.
- [39] **Benzie IF et Strain JJ.** (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*. 239(1): 70-76.
- [40] **Chougui N., Mohedeb S., Hammoui Y., Louaileche H., Mouloudj Y et Tamendjari A.** (2013). Physico-chemical characterisation and antioxidant activity of some *Opuntia ficus-indica* varieties grown in North Algeria.
- [41] **Jonathan P et Adjmani PA.** (2015). Antioxidant and free radical scavenging activity of iron chelators. *Toxicology Reports*.
- [42] **Congo K., Lopes MF., Oliveira PH., Matos H., Basso S et Reis A.** (2012). Outcomes of choledochal cysts with or without intrahepatic involvement in children after extrahepatic cyst excision and Roux-en-Y hepaticojejunostomy. *Annals of hepatology*. 11(4): 536-543.
- [43] **Ceriello A., Bortolotti N., Falletti E., Taboga C., Tonutti L., Crescentini A., Bartoli, E.** (1997). Total radical-trapping antioxidant parameter in NIDDM patients. *Diabetes Care*. 20(2): 194-197.
- [44] **Fogliano V., Verde V., Randazzo G., Ritieni A.** (1999). Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring antioxidant capacity of wines. *J. Agric. Food Chemistry*. 47: 1035-1040.
- [45] **Soler-Rivas C., Espin JC et Wichers HJ.** (2000). An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of food stuffs. *Phytochemistry, Anal.* 11: 330-338.



[46] **Dinis TCP., Madeira VMC., Almeida LM.** (1994). Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyradical scavengers. *Arch. Biochem. Biophys.* 315: 161–169.

[47] **Ashish S., Abhinav PM., Suresh C et Ashutosh B.** (2019). Benzothiazole derivative. *A review on its pharmacological importance towards synthesis of lead ijpsr.* 10(4): 1553-1566.

[48] **Achson A.** (2009). An introduction to the chemistry of heterocyclic compounds. 3rd ed. Willy-Intersciences. India.

[49] **Dondoni A., Formaglio P., Marra A et Massi A.** (2001). Selectivity in the SmI<sub>2</sub>-induced deoxygenation of thiazolylketoses for formyl C-glycoside synthesis and revised structure of C-ribofuranosides.

[50] **Rodrigue LY.** (2009). Etude des interactions des dérivés de la Thioflavine T avec les agrégats amyloïdes. pp. 78.

[51] **Forlani L., De Maria P., Foresti E et Pradella, G.** (1981). Reactivity of 2-aminothiazole toward 2,4-dinitrofluorobenzene. Products and structures. *The Journal of Organic Chemistry.* 46(16): 3178–3181.

[52] **Bradshaw TD., Bibby MC., Double JA., Fichtne 1., Copper PA., Alley MC., Donohue S., Stinson SP., Tomaszewski JE., Sausville EA et Stevens MFG.** (2002). Preclinical Evaluation of Amino Acid Prodrugs of Novel Antitumor 2-(4-Amino-3-Methylphenyl)Benzothiazoles. *Mol. Cancer Therapeutics.* 1: 239-246.

[53] **Waghamode KT et Shinde PK.** (2017). Synthesis, characterization and antibacterial activity of substituted benzothiazole derivatives. *International Journal of Scientific and Research Publications.* 7(8): 365-370.

[54] **Sadhasivam G et Kulanthai K.** (2015). Synthesis, characterization, and evaluation of anti-inflammatory and anti-diabetic activity of new benzothiazole derivatives. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.* 7(8): 425-431.

[55] **Siddiqui N., Alam SM., Sahu M., NaimMJ., ShaharYarM et Alam O.** (2017). Design, synthesis, anticonvulsant evaluation and docking study of 2-[(6-substituted

benzo[d]thiazol-2-ylcarbamoyl methyl]-1-(4-substituted phenyl) isothio-ureas. .  
*Bioorganic Chemistry*. pp. 1-3.

[56] **Sarkar S., Asim A., Siddiqui AA., Saha SJ., De R., Mazumder S., Banerjee C., Iqbal MS., Nag S., Adhikari S et Bandyopadhyaya U.** (2016). Antimalarial activity of small molecule benzothiazolehydrazones. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 60(7): 4217-4228.

[57] **Amnerkar ND., Bhongade BA et Bhusari KP.** (2015). Synthesis and biological evaluation of some 4-(6-substituted-1,3-benzothiazol-2-yl)amino-1, 3-thiazole-2-amines and their Schiff bases. *Arabian Journal of Chemistry*. 8(4): 545-552.

[58] **Kumar S., Rathore DS., Garg G., Khatri K., Saxena R et Sahu SK.** (2016). Synthesis and evaluation of some 2-((benzo thiazol-2-ylthio) methyl)-5-phenyl-1, 3, 4-oxadiazole derivatives as antidiabetic agents. *Asian Pacific Journal of Health Sciences*. 3(4): 65-74.

[59] **Nagarajan S., Crescenzo G., Getman D., Lu H., Sikorski J., Walker J., McDonald J., Houseman K., Kocan G., Kishore N., Mehta P., Shippy C et Blystone L.** (2003). Discovery of Novel Benzothiazolesulfonamides as potent inhibitors of HIV-1 Protease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 11: 4769-4777.

[60] **Amin S et Parle A.** (2018). Synthesis, characterization and antioxidant activity of 2-aryl benzothiazole derivatives. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 10(5): 3-8.

[61] **Harrouche K.** (2016). Conception, synthèse, caractérisation et évaluation pharmacologique de benzothiadiazines, de benzothiazoles et de tetrahydrobenzothiazoles portant des groupements urée, thiourée ou sulfonylurée comme vasorelaxants et comme inhibiteurs de la sécrétion de l'insuline chez le rat, thèse de doctorat, Dep.chimie, Univ, Mohamed seddik Ben yahia, Jijel.

[62] **Harrouche K., Renard JF., Bouider N., de Tullio P., Goffin E., Lebrun P., Faury G., Pirotte B et Khelili S.** (2016). Synthesis, characterization and biological evaluation of benzothiazoles and tetrahydrobenzothiazoles bearing urea or thiourea moieties as vasorelaxants and inhibitors of the insulin releasing process. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 115: 352-360.

[63] **Chung YC., Chen SJ., Hsu CK., Chang CT., Chou ST.** (2005). *Studies on the antioxidant activity of Graptopetalum paraguayense. walther. Food Chem.* 91: 419-24.

[64] **Brand-Williams W., Cuverlier ME et Berset C.** (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.* 28: 25-30.

[65] **Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans MC.** (1999). *Free Radic. Biol. Med.* 26 : 1231-1237.

## Résumé

Le but de notre étude est d'évaluer l'activité antioxydante de quelques dérivés de tetrahydrobenzothiazole portant une fonction urée, thiourée ou sulfonylurée, par l'utilisation des méthodes suivantes : test de réduction de fer (FRAP), test de Piégeage du radical libre DPPH et test de piégeage du radical-cation ABTS. Les résultats obtenus montrent que les composés H25 et H210 possèdent un effet antioxydant faible par rapport à l'acide ascorbique dans le test de FRAP. Ces deux composés H25 et H210 ont un effet proche de celui de l'acide ascorbique pour le test de DPPH. Le H21 a montré aussi un effet important pour ce test. Le résultat de ces trois composés est confirmé par le test de l'ABTS. En plus dans ce dernier test le H23 a présenté un effet mais relativement faible. L'étude de la relation structure-activité pour ces composés a montré que le pouvoir antioxydant dépend surtout de la présence de la fonction thiourée (H21, H23 et H210) pour la série I avec de préférence qu'elle soit attaché à un groupement électroattracteur. Pour la série II la fonction sulfonylurée est de préférence liée à un groupe électroattracteur pour avoir une activité antioxydante.

**Mots clé :** radicaux libre, stress oxydant, activité antioxydante, FRAP, DPPH, ABTS.

## Abstract

The aim of our study is to evaluate the antioxidant activity of some tetrahydrobenzothiazole derivatives carrying a urea, thiourea or sulphonylurea function, by the use of the following methods: iron reduction test (FRAP), free radical trapping test DPPH and ABTS radical-cation trapping test. The results obtained show that the compounds H25 and H210 have a weak antioxidant effect compared with ascorbic acid in the FRAP test. These two compounds H25 and H210 have a similar effect of that of ascorbic acid for the DPPH test. H21 also showed an important effect for this test. The result of these three compounds is confirmed by the ABTS test. In addition in this last test the H23 has shown an effect but relatively weak. The study of the structure-activity relationship for these compounds has shown that the antioxidant power depends mainly on the presence of the thiourea function (H21, H23 and H210) for the series I with preferably being attached to an electroattractor group. For Series II the sulphonylurea function is preferably linked to an electron-withdrawing group to have antioxidant activity.

**Key words:** free radicals, oxidative stress, antioxidant activity, FRAP, DPPH, ABTS.

## المخلص

الغرض من دراستنا هو تقييم نشاط مضادات الأكسدة لبعض مشتقات 3,1-tetrahydro-7,6,5,4-benzothiazole تحمل وظيفة يوريا، ثيوريا أو وظيفة سلفونيل يوريا في الموضوع 2، هذه المشتقات أجريت عليها اختبارات بواسطة استخدام الطرق التالية: طريقة ارجاع الحديد (FRAP)، و اختبارين لمحاصرة الجذور الحرة DPPH و ABTS. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المركبات H25 و H210 لها تأثير مضاد للأكسدة ضعيف مقارنةً بـ حمض الأسكوربيك في اختبار FRAP. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المركبات H25 و H210 لها تأثير قريب من تأثير حمض الأسكوربيك في اختبار DPPH. أظهر H21 أيضًا تأثيرًا مهمًا لهذا الاختبار. تم تأكيد نتيجة هذه المركبات الثلاثة بواسطة اختبار ABTS. بالإضافة إلى ذلك في هذا الاختبار الأخير، أظهر H23 تأثيرًا ولكنه ضعيف نسبيًا. أظهرت دراسة العلاقة بين الهيكل والنشاط لهذه المركبات أن قدرة مضادات الأكسدة تعتمد بشكل أساسي على وجود وظيفة ثيوريا (H21) و H23 و H210 للسلسلة I مع التفضيل في ربطها بمجموعة جاذب كهربائي. بالنسبة إلى السلسلة II، من الأفضل ربط وظيفة السلفونيل يوريا بمجموعة سحب الإلكترون للقيام بنشاط مضاد للأكسدة.

**الكلمات الأساسية:** الجذور الحرة، الإجهاد التأكسدي، نشاط مضادات الأكسدة، FRAP، DPPH، ABTS.