

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie
Département : Biologie Moléculaire et
Cellulaire



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم: البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie

Thème

**Evaluation de l'activité antioxydante in vitro des dérivés
de benzothiazole nouvellement synthétisés**

Membres de Jury

Présidente : Mme CHERBAL Asma

Examinatrice : Mm BENSEM Moufida

Encadreur : Dr LAHOUEL Asma

Présenté par :

BOULAL Houria

BOUZELIFA Souaad

GUETTICHE Nor Elhouda

Année Universitaire 2018-2019

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Remerciements

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à Allah le tout puissant, Merci de nous avoir accordé la force et la patience d'aller jusqu'au bout de notre rêve et le bonheur d'achever ce travail.

*Nous à exprimons nos sincères remerciements à notre encadreur **Dr, Lahouel Asma** qui a guidé, suivi le déroulement et l'exécution de ce travail de recherche, en nous prodiguant tout aide possible, et en nous consacrant son temps précieuse. Merci pour votre compréhension, votre disponibilité et pour votre encadrement.*

*Nous exprimons notre grande considération et nos remerciements au **Professeur Harouche Kamel** pour nous donne la chance de travailler sur les molécules qui a synthétisée.*

*C'est avec très grande plaisir que nous remercions infiniment **Mme Bensam**, d'avoir accepté juger notre travail, qu'elle trouve ici notre profonde gratitude*

*Nous voudrions exprimer également notre sincère reconnaissance à **Mme Cherbal** qui nous fait honneur d'accepter évaluer notre travail.*

*Nous tenons à remercier l'équipe de laboratoire de **pharmacologie et phytochimie** et de laboratoire de **biologie** pour leurs aides et patience.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements au **Dr Habilla Safia** pour son aide conseils, durant notre travail.*

Nous tenons à remercier tous les profs qui nous enseignent dans tous notre parcours scolaires depuis le primaire jusqu'à l'université.

Merci à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail !



Dédicaces

*Avant tout nous remercions dieu le tout puissant qui nous a procuré de la volonté,
de la santé et du courage pour mener à terme ce modeste travail.*

Je dédie ce modeste travail :

*A mes chers parents que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments
A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère **ZOHRA** qui ma
apporté son appui durant toutes mes années d'étude. Pour son affection, sa patience, sa
compréhension, sa disponibilité*

*A mon cher père **MOULOUD** mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller
toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras, mon guide, il est ma source d'encouragement et
sécurité. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices et les efforts que
vous n'êtes jamais cessé de me donner.. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour
mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous m'avez donné
pour mon éducation et ma formation.*

*A mes très Chères sœurs, à mes très Chers frères, et à mes nièces, mes meilleures amies, celles avec
lesquelles je partage tous et qui mes toujours aider. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour,
l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour vous*

*A mon très Cher binôme, en témoignage d'amitié sincère qui nous a liées et des bons moments
passés ensemble. Merci du fond du cœur*

*Je dédie ce modeste travail à toute ma cher famille mes chers amis, ainsi qu'à toute l'équipe du
laboratoire de l'université de Jijel .Aussi toutes les personnes qui m'ont soutenu
durant la réalisation de ce travail depuis le début jusqu'à la fin.*

HOURIA





Dédicace

Louange à ALLAH, le tout Miséricordieux, le très Miséricordieux de m'avoir aidé à finir ce modeste travail de recherche

J'ai le plaisir de dédier Ce modeste travail et ma profonde gratitude :

Aux deux personnes que j'aime de tout mon cœur et qui m'ont toujours entouré, encouragé, motivé et qui m'ont donné l'espoir, l'amour, la force. Et qui me poussent à devenir meilleure, et Je vous rends que dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie.

Ma très chère Mère, mon amie, ma confidente et mon haut exemple celle qui a œuvré pour ma réussite, et qui a été toujours la pour moi .Merci pour tous les sacrifices consentis et tes précieux conseils, pour ton assistance et ta présence dans ma vie ;

Mon très Cher Père, mon guide, mon collègue, il est ma source d'encouragement. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi;

A mes frères et sœurs, mes bases de reconnaissance et mes enseignements .vous m'aviez toujours aidé et croyez ces lignes sont insuffisantes pour exprime mon profond amour et mon hommage pour les honorables services soutenus, pour leurs conseils ;

A mes fidèles binômes qui sont été mes collègues et aussi mes sœurs, Mercie pour toute la joie et pour tous les moments à partager ;

A toutes les personnes qui m'ont aidé, soutenue et qui n'ont cessé de m'encourager ; Une mention spéciale pour mes amis que j'aime.



«Souaâd »





Dédicace

Allah soit loué, grâce à quoi les bénédictions sont faites. Merci
Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la
force d'y croire, la patience et la foi d'aller jusqu'au bout du parcours.

Je dédie ce travail à :

*Le premier à mettre un livre dans mes mains à l'esprit de la miséricorde « Mon cher
père », j'espère que vous serez satisfait de moi.*

*Au cœur qui donne sans limites et sans s'arrêter, qui s'est sacrifié pour mon bonheur et ma
réussite à Ma chère Maman,*

A mon inspiration à mon frère Zohir

A la personne qui me croit plus que moi à mon frère Hicham

A mes adorables binômes Souaad et Houria, je leur souhaite beaucoup de réussite.

*Et finalement, A toute ma famille, mes amis, et à ceux qui me soutiennent de près ou
de loin.*

Merci pour tout !



Nor Elhouda



SOMMAIRE

Liste d'abréviations.....	III
Liste des figures.....	IV
Liste des tableaux.....	V
Introduction.....	01

Partie bibliographique

1. Espèces réactives à l'oxygène.....	03
2. Le système antioxydant.....	05
3. Le stress oxydatif.....	06
4. Stress oxydant cause ou conséquence d'une pathologie ?.....	09
5. Thérapie antioxydante ; mythe ou nécessité ?.....	15
6. Benzothiazole et activité antioxydante	17

Partie expérimentale

1.1. Matériels chimiques.....	20
1.2. Matériel biologique.....	21
2. Méthodes d'évaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante.....	21
2.1. Activité de piégeage du radical DPPH.....	21
2.2. L'activité piégeur du radical ABTS.....	22
2.3. Capacité de neutralisation du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).....	22
2.4. Test de chélation de fers.....	23
2.5. Test de la réduction du fer FRAP (Ferricreducing-antioxidant power).....	23
2.6. Prévention de l'oxydation du glutathion (GSH).....	24
2.7. Dosage de la peroxydation lipidique et du glutathion réduit (GSH) Tissulaire.....	24
2.7.1. Sacrifice et prélèvement des cerveaux.....	24
2.7.2. Dosage de la peroxydation lipidique.....	25
2.7.3. Dosage du glutathion réduit (GSH) tissulaire.....	25
2.8. Etude <i>in silico</i> de la perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique et prédiction des paramètres pharmacocinétique.....	26
2.9. Analyse Statistique.....	26

Résultats

1. Activité de piégeage radical DPPH.....	27
2. Activité de piégeage radical des ABTS.....	29

3. Capacité de neutralisation du peroxyde d'hydrogène.....	30
4. Chélation de fer	31
5. Test de pouvoir réducteur de fer FRAP (Ferricreducing-antioxidant power)	32
6. Inhibition de l'oxydation du glutathion (GSH).....	32
7.1. Inhibition de peroxydation lipidique.....	33
7. 2.L'influence des molécules testés sur les variations de la teneur en GSH cérébral.....	34
8. Etude <i>in silico</i> de la perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique et prédiction des paramètres pharmacocinétique.....	34
Discussion.....	36
Conclusion.....	41
Références.....	42
Annexes.....	55

Liste des abréviations

AA : Acide ascorbique
ABTS : Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
AGPI : Acides gras polyinsaturés
AGPI : Acides gras polyinsaturés ABTS
ATP : Adénosine triphosphate
AVC : Accidents vasculaires cérébraux
BHE : La barrière hémato-encéphalique
BTA : Benzothiazole
CAT : Catalase
COX : Cyclooxygénases
DNPH : Di NitroPhényl Hydrazine.
DPPH : 2,2 Diphenyl-1-picryl hydrazyl
EC₅₀ : Concentration effective médiane
EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique
ERO : Espèces réactives de l'oxygène
GPx : Glutathion peroxydase
GSH : Glutathion
GSSG : Glutathion oxydé
LOX : Lipoxygénases
MA : Maladie d'Alzheimer
MPO : Myéloperoxydases
NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide
NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NADPH oxydase : Nicotinamide adénine dinucléotides phosphate oxydase
NO : Nitric oxide
NOS : Nitrique oxyde synthase
Q : Quercétine
SNC : Système nerveux central
SOD : Superoxydes dismutases
TBA : Acide Thio Barbiturique.
TCA : Acide Tri Chloroacétique
TNB : Thionitrobenzoïque.
XO : Xanthine oxydases

Liste des figures

Figures	Titre	page
01	La production mitochondriales des ERO au cours de la phosphorylation oxydatif et les mécanismes antioxydant	04
02	Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires	06
03	Les origines des espèces réactives	08
04	Mécanisme de toxicité de l'ozone et des particules atmosphériques dans les voies aériennes	09
05	Les six voies biochimiques de glucose qui permet la formation des ERO	11
06	Les deux voies protéolytiques de la protéine APP et les fragments générés.	13
07	Structure de la metformine (diméthylbiguanide)	16
08	Structure de la vitamine E	17
09	La structure de base du benzothiazole	18
10	Les structures de base des molécules de la série 1 et 2 de la benzothiazole	19
11	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH)	21
12	Formation du radical ABTS•+	22
13	Schéma de la réaction de test du pouvoir réducteur du Fe ³⁺ en Fe ²⁺ .	24
14	L'activité scavenger du radical libre DPPH des molécules H75, H74 et H58 et AA.	28
15	L'activité de piégeage du radical libre ABTS des molécules H75, H74, H58 et AA.	29
16	L'activité de neutralisation du peroxyde d'hydrogène des molécules testés et d'AA à des concentrations de 300 et 500 µg/ml.	31
17	Activité de chélation de fer de molécules testées et l'EDTA à la concentration de (1000µg/ml).	31
18	La concentration de GSH en (µg/ml) incubé pendant 24h avec les molécules testées et l'AA à la concentration de (500µg/ml).	33
19	Activité d'inhibition de la peroxydation lipidique par les molécules H75, H74, H58 et l'Q à la concentration de (1000µg/ml).	33
20	La concentration de GSH tissulaire en (mg/ml) préservé par les molécules H75, H74, H58, AA et l'Q à la concentration de (1000µg/ml).	34

Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
01	La structure et le nom chimique des dérivées de benzothiazole utilisé dans cette étude	20
02	Les concentrations effectrices à 50% de test du DPPH des molécules H75, H74, H58, H54, H46, H31 et AA	28
03	Les concentrations effectrices à 50% de test d'ABTS des molécules H75, H74, H58, H54, H46, H31 et AA	30
04	pouvoir réducteur de molécules testées par la méthode de FRAP	32
05	Les résultats de l'étude de la perméabilité des molécules à travers la barrière hémato-encéphalique (BBB+ ou BBB-) et prédiction des paramètres pharmacocinétique.	35

Introduction

L'énorme développement dans divers domaines de la vie, notamment économique affecte lourdement le mode de vie humain, des nouveaux emplois ont été créés, alors que d'autres ont disparu. Nos choix ont changé et nos habitudes en matière de santé et de nutrition ont changé. Mais tant que ce développement a son côté positif, ses aspects sérieux sont devenus évidents, notamment l'amplification de la prévalence des pathologies liées au vieillissement tel que le cancer, les maladies neurodégénératives et le diabète. Ces maladies possèdent le stress oxydant comme un facteur commun de leurs pathogénèse et complications. Les êtres humains sont exposés quotidiennement à divers facteurs de stress oxydatif omniprésent dans l'environnement, y compris les rayons UV, les allergènes et divers polluants tels que, la fumée de cigarette et des hydrocarbures aromatiques polycyclique (HAP), qui peuvent amplifier la production des radicaux libres (Bouayed & Bohn, 2010).

Les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydatif et les antioxydants sont devenus des termes couramment utilisés dans les discussions modernes des mécanismes de plusieurs maladies (Pincemail et Defraigne, 2004). Mais, malgré les études qui visent à définir leur rôle exact dans la physiopathologie de ces maladies, la question reste à savoir si le stress oxydant est la cause ou la conséquence de la maladie. Soit des pathologies neurodégénératives, cardiovasculaires ou métaboliques, le stress oxydant est un des acteurs principaux qu'on ne peut pas le négliger.

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre la génération des ERO et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières (Haleng et al., 2007). Pour échapper aux effets de ce stress, il est nécessaire de rétablir l'équilibre prooxydant / antioxydant afin de préserver les performances physiologiques de l'organisme. Parce que nous avons peu d'influence sur les niveaux d'antioxydants endogènes, il serait raisonnable d'augmenter la quantité d'antioxydants exogènes, afin de renforcer les propriétés défensives des organismes contre le stress oxydatif de l'environnement. De ce point de vue, Il est important de faire une collaboration entre la Chimie et la Biologie. Il concerne plus précisément, la synthèse d'antioxydants nouveaux.

Ce travail vise à examiner l'effet antioxydant probable d'un groupe des molécules chimiques nouvellement synthétisées « Dérivés de Benzothiazoles » qui peuvent présenter une thérapie prospective. Le benzothiazole (BTA) et ses dérivés sont des composés chimiques hétérocycliques très importants en pharmacologie. Ils ont plusieurs propriétés pharmacologiques, anticancéreux, antimicrobienne.. etc (Keri et al., 2015 ; Haroun et al., 2018; Tariq et al, 2018). La diversité et la

flexibilité structurales de ses dérivés et la présence des fonctions thiols et hydroxyles dans ces radicaux, est le noyau qui nous pousse vers ce travail de recherche.

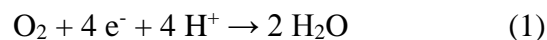
La première partie de ce travail porte sur une mise au point bibliographique des radicaux libres et leur origine physiologique. Et puis, nous nous intéresserons aux systèmes de défenses antioxydants. Après avoir rappelé quelques généralités sur le stress oxydant et sa relation avec les pathologies. On a fait également une projection sur la thérapie antioxydante et leur importance. Enfin, nous suger l'effet antioxydant probable d'un groupe des molécules chimiques nouvellement synthétisées « Dérivés de Benzothiazoles ».

La deuxième partie de ce travail est consacrée pour l'évaluation de l'action de ces molécules ; en se basant sur les résultats biologiques obtenus au laboratoire à travers huit tests en liaison avec leurs propriétés antioxydantes. En plus, on a fait une étude *in silico* de la perméabilité des dérivés de benzothiazole à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE) et la prédiction de leurs paramètres pharmacocinétiques relatif à la loi de Lipinski.

1. Espèces réactives à l'oxygène

Habituellement, un atome est composé d'un noyau central entouré de paires d'électrons. Cependant, certains atomes et molécules ont des électrons non appariés et sont appelés radicaux libres (Yoshikawa & Naito, 2002). À l'état naturel, l'oxygène, qui comporte naturellement deux électrons célibataires sur la couche périphérique, est très instable avec une très forte tendance à « oxyder » les composés (Leverve, 2009). Ce dernier est réduit et forme des intermédiaires radicalaires, très réactives connus sous le nom des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces radicaux libres sont généralement instables et hautement réactifs car les électrons non appariés ont tendance à former des paires avec d'autres électrons. Ils sont produits de manière continue dans les cellules au cours du métabolisme aérobie.

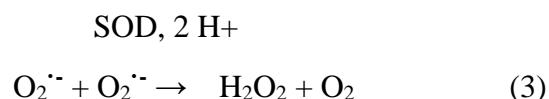
La majeure partie de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente (addition de 4 électrons, réaction (1)) conduisant à la production d'eau. Cette réaction est catalysée par le cytochrome oxydase, accepteur terminal d'électrons présents dans le complexe IV de la chaîne de transport des électrons située dans la membrane interne mitochondriale (Gardès-Albert et al., 2003).



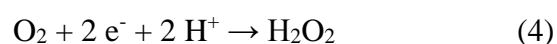
Ainsi, environ 2 % de l'oxygène consommé au niveau mitochondrial sont transformés en radicaux superoxydes $\text{O}_2\cdot$ lors de la première réduction électronique de l'oxygène [Migdal et Serres, 2011], au niveau de l'ubiquinone (coenzyme Q) selon la réaction 2.



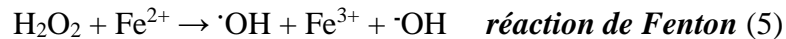
De même, la NADH-déshydrogénase située dans la membrane mitochondriale interne (Figure 01), et la NADPH oxydase présente au niveau des cellules vasculaires endothéliales intervient aussi dans la génération de l'anion superoxyde (Griendling et al., 2000). La dégradation de ces radicaux est contrôlée par des systèmes de défense, les antioxydants, qui s'adaptent au taux de radicaux présents. Ainsi, le taux des radicaux superoxydes est régulée par des métalloenzymes, les superoxydes dismutases (SOD), qui catalysent leur dismutation en peroxyde d'hydrogène, H_2O_2 (Gardès-Albert et al., 2003).



Par ailleurs, la membrane mitochondriale externe renferme une monoamine oxydase capable de catalyser la désamination oxydative de certaines amines, avec production simultanée de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (réaction 4).



Le peroxyde d'hydrogène peut avoir plusieurs destinées. En présence de métaux, en particulier de fer (Fe^{2+}), elle est transformée en radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$ par la réaction de Fenton (réaction 5).



Ce dernier est extrêmement réactif et va oxyder très rapidement les molécules voisines, formant parfois d'autres radicaux libres (Lane, 2003 ; Gardès-Albert & Jore, 2005). Le H_2O_2 peut aussi subir des réactions de détoxification catalysées par l'enzyme héminique catalase (CAT) (réaction 6), la glutathion peroxydase (GPx) (réaction 7) ou les peroxyrédoxines. De même, plusieurs composés, notamment les vitamines E et C, peuvent interagir avec les radicaux et éviter leur accumulation (Barouki, 2006).

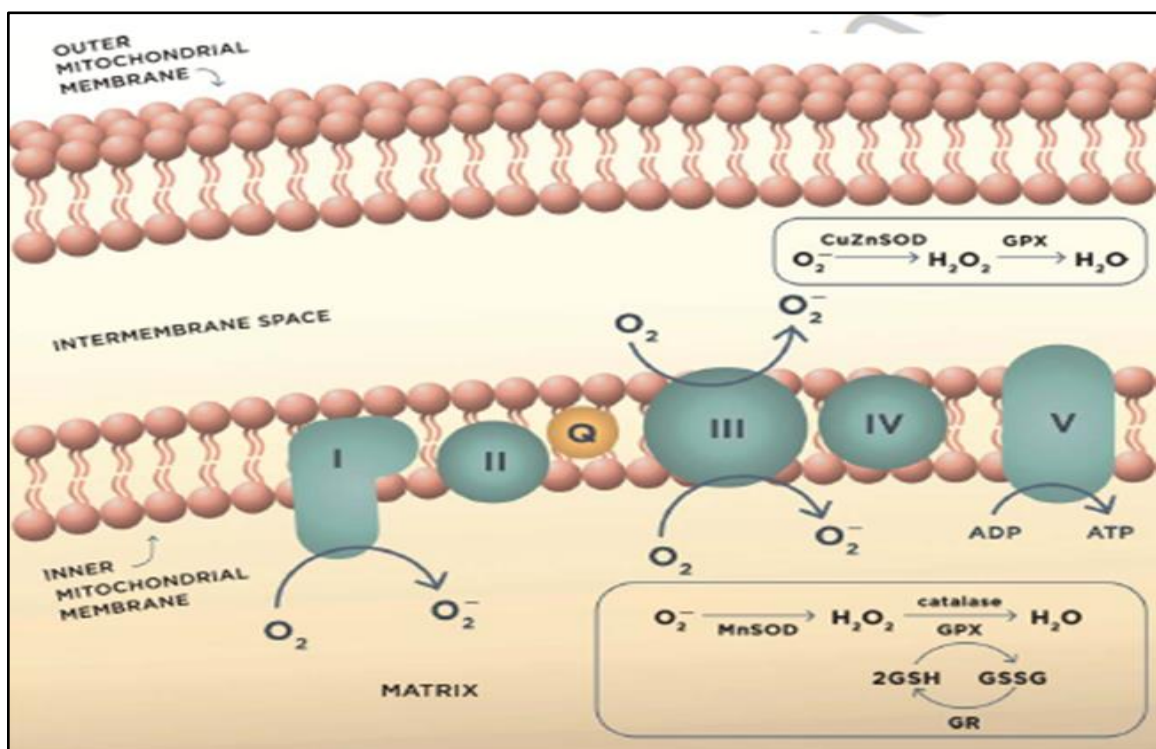
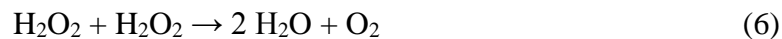


Figure 01: La production mitochondriale des ERO au cours de la phosphorylation oxydative et les mécanismes antioxydants. Les complexes I et III de la chaîne des transferts des électrons sont les sites majeurs de la production de l'anion super oxyde lors de la respiration aérobie. (Tönnies & Trushina, 2016)

En parallèle de la production d'ERO par le complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire, il y a d'autres sources enzymatiques des ERO au niveau subcellulaire comme les xanthines oxydases (XO), les cyclooxygénases (COX) et les lipoxygénases (LOX), les oxyde

nitrique synthase (NOS) et la NADPH oxydase. La nicotinamide adénine dinucléotides phosphate oxydase s'agit d'une enzyme multicomplexe située dans la membrane plasmique d'une cellule activée [Touyzet al., 2019], il existe dans plusieurs types cellulaires (neutrophiles, endothéliales, fibroblastes, mésangiaux, les ostéoclastes, les chondrocytes et les muscles lisses). Le réticulum endoplasmique intervient également dans la production des ERO par les complexes du cytochrome P450 utilisés pour détoxifier les composés chimiques hydrophobes toxiques d'organisme (Noori, 2012). D'une autre part, les enzymes de la voie de l'acide arachidonique, les peroxysomes, les lysosomes sont également capables de produire $O_2^{\cdot-}$ (Delattre, 2005 ; Migdal & Serres, 2011).

Les ERO interviennent dans plusieurs fonctions physiologiques dans le système vasculaire, immunitaire, neuronal et métabolique, telle que l'anion superoxyde H_2O_2 qui activent plusieurs voies de signalisation comme la voie P53, JNK et P38 MAPK. Ces composés jouent un rôle crucial au cours de l'inflammation et de l'équilibre entre la croissance, l'apoptose et la sénescence cellulaires. La production des ERO est stimulée par des hormones, des facteurs de croissance et des cytokines (Morel & Barouki, 1998 ; Barouki, 2006). L'exemple le plus pertinent du rôle physiologique des ERO est celui de la défense antimicrobienne (bactéricidie dépendante de l'oxygène) (Stasia, 2007). Juste après la phagocytose du pathogène, les phagocytes augmentent considérablement leur consommation d'oxygène et passent d'un état quiescent à un état activé.

L'oxygène est réduit par la NOX2 phagocytaire en radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$, qui est lui-même bactéricide, et par formation d'autres espèces comme H_2O_2 . Ce dernier à son tour, en présence de métaux de transition, peut donner naissance au puissant radical hydroxyle $\cdot OH$. En parallèle, les myéloperoxydases (MPO), en milieu acide, catalysent l'oxydation des ions halogénures par H_2O_2 pour former l'acide hypochloreux (HOCl) (Migdal & Serres, 2011).

2. Le système antioxydant

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable une capacité de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (Shimizu, 2004), y compris un grand nombre de substances enzymatiques et non enzymatique (des petites molécules hydro- ou liposolubles). Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires (Cano et al., 2006).

Une barrière endogène composée de plusieurs enzymes clés lutte contre ces radicaux libres et autre espèces oxydants est présent dans l'organisme naturellement, on parle du « système antioxydant endogène enzymatique ». Le peroxyde dismutase (SOD) est l'un de ces enzymes qui diminue la durée de vie de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$ en premier lieu en le transforme en H_2O_2 . D'une autre part, la catalase transforme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en simple molécule d'eau. La glutathion peroxydase (GPx) aussi intervient comme l'un des composés de ce système en détruisant le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques.

En parallèle de ces enzymes, un groupes des molécules piègeurs des radicaux libres est présente formant « système antioxydant endogène non enzymatique » : le glutathion (GSH), l'acide urique, les protéines à groupement thiols, ubiquinone, ...etc (Manallah, 2012) et les antioxydants de source extérieurs comme certain vitamines vit E, Cet A et les polyphénols.... (Figure 02).

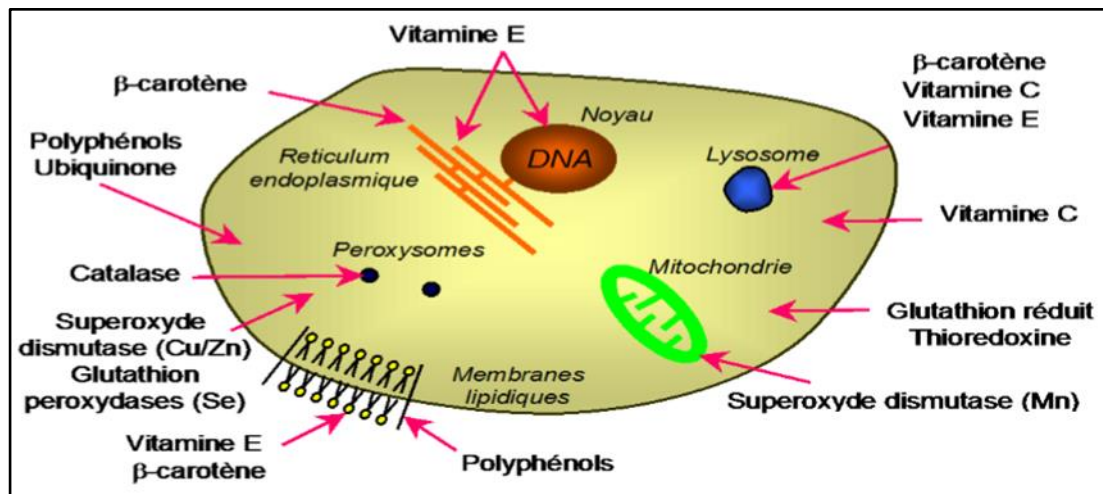


Figure 02: Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires

(L J Machline et al., 1987)

3. Le stress oxydatif

La concentration des ERO dans la cellule est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par le système antioxydant. Cependant, cette homéostasie peut être rompue, soit par une production excessive d'ERO, soit par une diminution des capacités antioxydantes. On parle donc de stress oxydatif. Ce dernier correspond à un déséquilibre entre la génération des ERO et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières (Haleng et al., 2007).

Selon leur nature, les réactions des ERO avec des biomolécules telles que les lipides, les protéines et l'ADN produisent différents types de radicaux secondaires, tel que des radicaux dérivés

du sucre, des bases et des acides aminés. L'ADN est une cible privilégiée pour les ERO. La guanine, par exemple, peut réagir avec $\cdot\text{OH}$ pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement (Haleng et al., 2007).

Les protéines peuvent subir des dommages directs et indirects à la suite d'une interaction avec les ERO, entraînant une peroxydation, une modification de leur structure tertiaire, une dégradation protéolytique, des liaisons croisées protéine-protéine et une fragmentation (Kunwar & Priyadarsini, 2011). Sur les acides aminés contenant un atome de soufre tels que la cystéine et la méthionine, l'oxydation par les radicaux libres conduit à la formation de ponts disulfures, donc à l'agrégation de plusieurs molécules de protéines. Les ERO sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. Par ailleurs, le radical $\text{HO}\cdot$, mais aussi l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$, s'attaquent également aux protéines des tissus de soutien, comme le collagène du tissu conjonctif. L'oxydation des acides aminés conduit à une modification de la conformation spatiale et à une altération de la fonction protéique (Dean, 1997). Les protéines oxydées perdent leur capacité à se fixer correctement sur un récepteur ou à fixer spécifiquement un ligand, altérant la signalisation cellulaire (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Les produits d'oxydation des protéines sont généralement des carbonyles tels que les aldéhydes et les cétones (Kunwar & Priyadarsini, 2011).

Les ERO attaquent également les lipides, en engendrant la peroxydation lipidique. Le radical hydroxyle est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés (AGPI). Le radical lipidique réagit avec une molécule d'oxygène pour former un radical peroxyde ($\text{ROO}\cdot$), suffisamment réactif pour arracher un H^+ à un AGPI voisin, propageant. Il en résulte une altération de la fluidité membranaire qui conduit inévitablement à la mort cellulaire. Les peroxydes générés seront neutralisés par la glutathion peroxydase ou continueront à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonéal) dont les activités pro-athérogènes sont bien connues (Haleng et al., 2007).

Les causes essentielles de ce stress oxydant sont soit d'origine nutritionnelle dans les cas de carences en vitamines et oligo-éléments, ou inversement de surcharges en facteurs prooxydants (fer, acides gras), soit d'origine accidentelle (inflammation, exposition à des xénobiotiques prooxydants...), soit d'origine génétique. Le plus souvent, l'association de ces différents facteurs aboutira au mécanisme pathogène (Favier, 2003).

Diverses conditions peuvent entraîner un stress oxydant (Figure 03). Parmi les causes d'un stress abiotique, on peut notamment citer les UV. En effet, s'ils sont connus pour induire des dommages directs de l'ADN comme des dimères de pyrimidine pouvant mener à des mutations délétères (Ananthaswamy & Pierceall, 1990; Brash et al., 1991), les UV sont également responsables de la production de ERO dans divers compartiments cellulaires (Black, 1987). En ce qui concerne la température, il a été montré que des chocs thermiques aussi bien vers des températures élevées (Davidson et al., 1996) que des températures faibles (Prasad et al., 1994) étaient à l'origine d'une surproduction des ERO (Flanagan et al., 1998). Dans les deux cas, cela serait lié directement à la chaîne respiratoire mitochondriale.

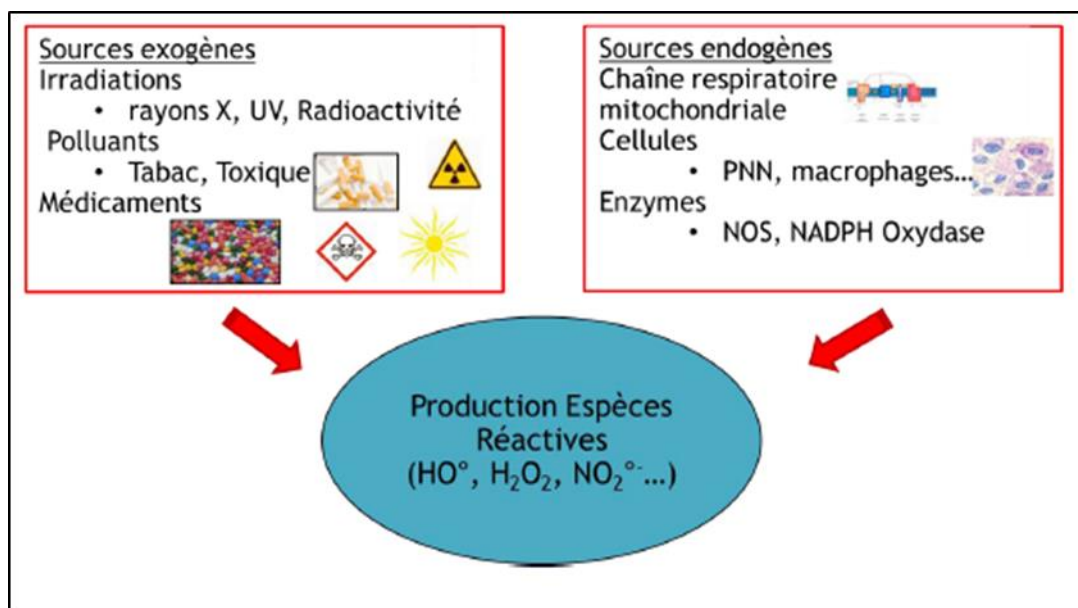


Figure 03: Les origines des espèces réactives (*Poisson-Moreau de Lizorieux, 2014*)

Le lien entre pollution et stress oxydant est maintenant bien étayé. De nombreuses études ont montrées que l'exposition à une pollution de l'air augmente les marqueurs de stress oxydant et ses atteintes cellulaires caractéristiques. L'inflammation participe à ces lésions. La pollution peut se définir comme la dégradation d'un écosystème par introduction, souvent humaine, de substances ou de radiations chimiques, nucléaires, sonores et/ou lumineuse qui peuvent touchées préférentiellement les sols, l'eau et/ou l'air et bien sur les êtres vivants (Geny et al., 2019). Parmi les mécanismes de la pollution qui peuvent toucher les êtres vivant, il y a l'exemple de la pollution atmosphérique par l'ozone. Ce dernier et les particules atmosphériques agissent par des mécanismes cellulaires et moléculaires voisins. L'ozone, peu hydrosoluble, réagit fortement avec les anti-oxydants présents en abondance dans le liquide périciliaire tels que la vitamine C (Vit C), l'acide urique (Ac urique) et le glutathion réduit (GSH) donnant du glutathion oxydé (GSSG). Cependant des réactions avec les enzymes peuvent se produire, conduisant à leur inactivation, ainsi qu'avec

des lipides polyinsaturés générant des espèces cytotoxiques et pro-inflammatoires. L'ozone favorise fortement la migration des polynucléaires neutrophiles à la surface de l'épithélium respiratoire par la synthèse de chimio-attractants qui résulte de l'activation de voies de signalisation cellulaires sensibles aux oxydants. L'activation des neutrophiles va conduire à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui vont affaiblir davantage les défenses anti-oxydantes du fluide périciliaire et provoquer un stress cellulaire associé à la réponse pro-inflammatoire. Cependant, ces réactions sont à l'origine du remodelage bronchique (Figure 04) (Baeza & Marano, 2007).

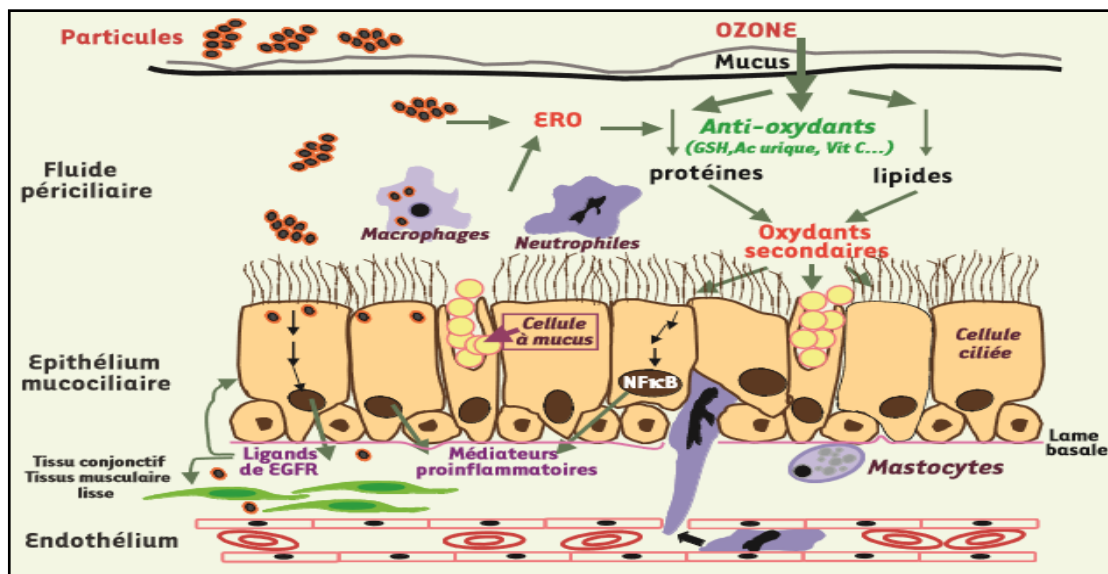


Figure 04 : Mécanisme de toxicité de l'ozone et des particules atmosphériques dans les voies aériennes (Baeza & Marano, 2007).

4. Stress oxydant cause ou conséquence d'une pathologie ?

Le stress oxydant apparaît comme un état anormal de l'organisme, qui assure un terrain favorable pour l'acquisition des plusieurs pathologies humaines qui sont différents de terme de gravité et des conséquences médicales.

Dans plusieurs maladies graves, notamment celles liées au vieillissement, le stress oxydant est fortement suspecté d'être le facteur déclenchant originel. C'est le cas des cancers, des pathologies oculaires, des maladies neurodégénératives (Favier, 2006), des maladies métaboliques [Kumar et al., 2015] et des maladies cardiovasculaires (Bonfont-Rousselot et al., 2002). Dans de nombreuses autres maladies, le stress oxydant est secondaire à l'établissement de la pathologie, mais participe à ses complications immunitaires ou vasculaires (Favier, 2006).

Le stress oxydant, peut diminuer la biodisponibilité du NO• dans l'endothélium vasculaire, ce qui conduit à leur dysfonctionnement. Il peut aussi et simultanément, être la conséquence de l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL), qui peuvent provoquer l'athérosclérose. (Bonnetfont-Rousselot et al., 2002). Ce dernier a une part importante dans la physiopathologie des maladies cardiovasculaires (MCV), en particulier dans les syndromes coronariens aigus (SCA) (Baudin & Cohen, 2009 ; Khelil et al., 2010). En outre, l'athérosclérose coronaire constitue la principale étiologie commune de ces SCA (Kerkeni et al., 2008 ; Rousselot et al., 2002). Bien que le stress oxydant comme un facteur de risque indépendant de l'athérosclérose implique dans la genèse et la progression de l'insuffisance cardiaque (IC) chronique (Dhalla et al., 1996; Khelil et al., 2010 ; Rickenbacher, 2001). D'autres perturbations biologiques sont observées à la suite d'un stress oxydant tel que la baisse de la fluidité des membranes, anomalies de récepteurs, diminution de la sensibilité à l'insuline (Favier, 2006), comme dans le cas du diabète. Cependant, une grande part des études montrent que le stress oxydant comme l'un des conséquences qui favorise la complication de la pathologie.

L'état d'hyperglycémie chronique du diabète sucré conduit à un stress oxydant. Plusieurs mécanismes semblent impliqués dans la genèse de ce stress oxydant : auto-oxydation du glucose, glycation des protéines, surproduction de radicaux superoxyde au niveau de la mitochondrie et de la NAD(P)H oxydase, voie des polyols (Bonnetfont-Rousselot et al., 2004) . Cette dernière est basée sur une famille d'enzymes aldo-céto réductase pouvant utiliser comme substrats une grande variété de composés carbonylés et les réduire par la NADPH en leurs alcools sucres respectifs (polyols). Les études suggèrent que le glucose est converti en sorbitol par l'enzyme aldose réductase, le sorbitol étant ensuite oxydé en fructose par l'enzyme sorbitol déshydrogénase (SDH), où le NAD⁺ servant de cofacteur.

L'aldose réductase se trouve dans des tissus tels que les cellules nerveuses, rétinienne, du cristallin, de glomérule et vasculaires (Ramasamy & Goldberg, 2010). Dans la plupart de ces tissus, l'absorption du glucose est médiée par les GLUT indépendants de l'insuline ; les concentrations de glucose intracellulaire augmentent donc parallèlement à l'hyperglycémie. Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer comment la voie polyol induite par l'hyperglycémie pourrait endommager les tissus impliqués. Le plus suggéré est une augmentation du stress redox due à la consommation de NADPH. Puisque le NADPH est un cofacteur nécessaire à la régénération du glutathion réduit (GSH), et que le GSH est un éliminateur important des ERO, cela pourrait induire ou exacerber le stress oxydatif intracellulaire (Giacco & Brownlee , 2010).

Les cellules β pancréatiques expriment abondamment le transporteur de glucose à K_m élevé GLUT2 et présentent ainsi une absorption de glucose très importante lorsqu'elles sont exposées à une concentration élevée de glucose. De plus, en raison de l'expression relativement faible d'enzymes antioxydantes telles que la catalase et la glutathion peroxydase, les cellules β pancréatiques peuvent être assez sensibles à l'attaque des ERO. Ainsi, il est probable que le stress oxydatif joue un rôle majeur dans la détérioration des cellules β chez les diabétiques de type 2 (Kajimoto & Kaneto, 2004).

La voie de l'hexosamine génère des ERO par la réaction de glycation, car sous hyperglycémie, la production de divers sucres réducteurs, tels que le glucose, le glucose-6-phosphate et le fructose, augmente par le biais de la glycolyse et de la voie des polyols. Tous ces sucres réducteurs sont connus pour favoriser les réactions de glycation de diverses protéines. En effet, il a été suggéré que le déficit mitochondrial, qui provoque l'induction de ERO, est un mécanisme potentiel causant une altération de la première phase de la sécrétion d'insuline simulée par le glucose retrouvée au début du diabète [Sakai et al., 2003]. En outre, les ERO sont également produites par la voie de l'hexosamine. L'activation de la voie conduit à une détérioration de la fonction des cellules β en provoquant un stress oxydatif (Kajimoto & Kaneto, 2004 ; Kaneto et al., 2001) (Figure 05).

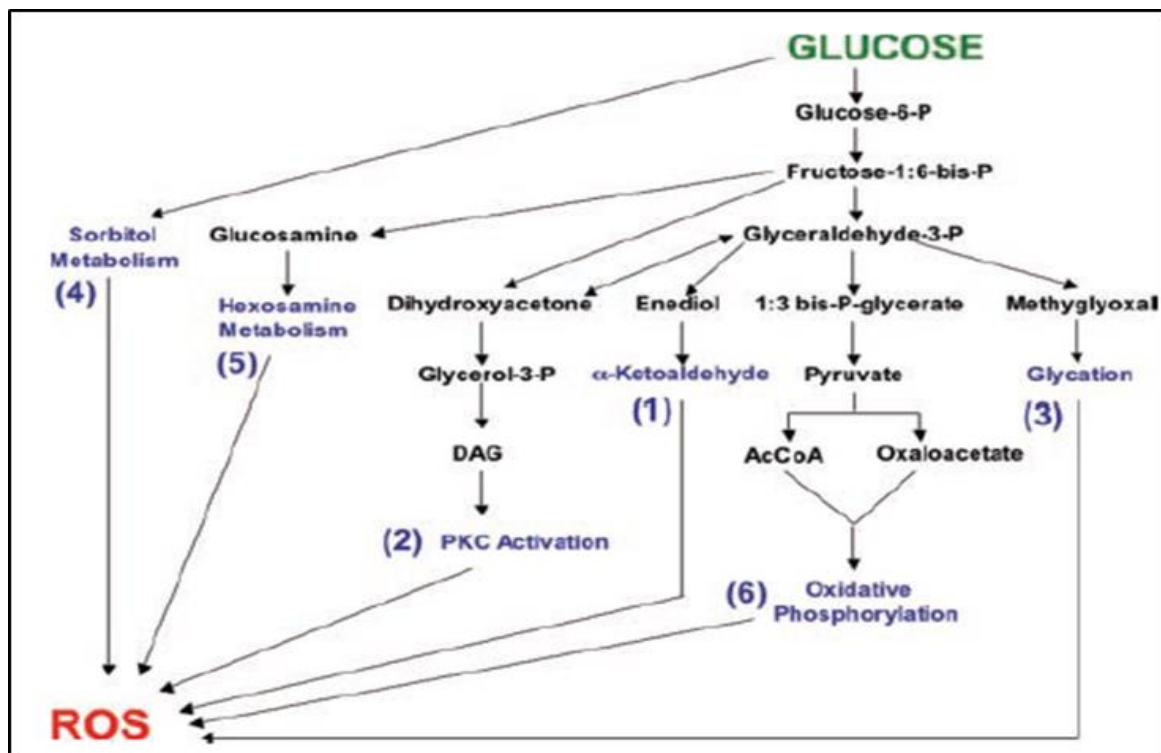


Figure 05: les six voies biochimiques de glucose qui permet la formation des ERO.

(Robertson, 2004)

Le déclin incessant de la fonction des cellules β à l'état glucotoxique est lié à une expression anormale du gène de l'insuline, ainsi qu'à une diminution de sa teneur en insuline et de sa sécrétion (Robertson, 2004). Auparavant, Kaneto et al. (2005) montrent que l'induction de la glycation par le D-ribose qui est un très fort sucre réducteur supprime la transcription du gène de l'insuline dans les cellules β , indiquant que la glycation et la suppression ERO-dépendante du promoteur du gène de l'insuline provoque la déficience de la biosynthèse de l'insuline dans les cellules β . Sur la base des résultats des analyses du gène rapporteur, le promoteur du gène de l'insuline était très sensible à la glycation. Comme cause possible de la réduction d'activité du promoteur du gène de l'insuline par le stress oxydatif, ils ont trouvé que l'activité de liaison à l'ADN du pancréas et de homéobox duodénal facteur 1 (PDX-1) (également appelé IDX-1 / STF-1 / IPF1), -un facteur de transcription important pour la transcription du gène de l'insuline et le développement du pancréas-[Ohlsson et al., 1993 ; Dutta et al., 1998] est sensible à la réaction de glycation. Lorsque les cellules HIT-T15 étaient exposées au D-ribose, réduction marquée de la liaison de PDX-1 au gène de l'insuline a été observé (Kaneto et al., 2005).

Comme est mentionné précédemment, le diabète augmente le stress oxydant qui peut provoquer des altérations neurodégénératives. Un nombre croissant d'études indiquent que les patients adultes souffrant d'un diabète de type 2 ont entre 1,5 et 3 fois plus de risques de développer une démence de type Alzheimer. En effet, les études transversales et longitudinales par IRM cérébrales montrent une association entre le diabète et le développement d'une atrophie cérébrale, notamment au niveau hippocampique et amygdalien (Feil et al., 2011). Ces études révèlent également un lien entre le diabète et les accidents vasculaires cérébraux (AVC) ischémiques, ainsi que micro-infarctus corticaux et sous-corticaux (Exalto et al., 2012 ; Nguyen et al., 2014 ; Roberts et al., 2014).

La maladie d'Alzheimer (MA) est définie comme une affection neurodégénérative qui provoque une détérioration progressive et définitive des cellules nerveuses en particulier les neurones, qui conduit à un décès dépendant de l'atteinte du système nerveux cholinergique (Menad et Kendouli, 2014). L'une des caractéristiques de la maladie d'Alzheimer est la présence de plaques amyloïdes dans le cerveau (Cheignona et al., 2017). Ces plaques, impliquées dans la pathogénèse de la MA, sont des lésions extracellulaires, sous forme d'agrégats sphériques denses de protéines organisées en fibrilles (La protéine β amyloïdes ($A\beta$)). L' $A\beta$ constituée d'un polymère d'un fragment protéique de 40 à 42 acides aminés (Sally & Georg, 2000) résiste aux procédés habituels de solubilisation et échappe aux divers systèmes biologiques d'éliminations enzymatiques ou cellulaires (Menad & Kendouli, 2014). L' $A\beta$ issu de la protéolyse d'une glycoprotéine appelée APP qui joue un rôle important dans le développement du cerveau, la mémoire et la plasticité synaptique (Nalivaeva

&Turner, 2013). Le métabolisme de l'APP peut suivre deux voies différentes (Figure 06). Dans le cas non amyloïdogène (prédominant), l'APP est d'abord clivée par l' α -sécrétase puis par la γ -sécrétase pour former des peptides $A\beta_{17-40/42}$ (P3) tronqués ou par la β -sécrétase pour conduire à la formation du peptide $A\beta_{1-16}$ tronqué. Dans le cas amyloïdogène, qui survient dans une faible mesure, l'APP est coupée consécutivement par les β et les γ -sécrétases, ce qui conduit à la formation des peptides $A\beta$ de pleine longueur (principalement les $A\beta_{1-40/42}$).

La toxicité du peptide $A\beta$ dépend de son état conformationnel et de sa longueur (Atwood et al., 1998). On sait que $A\beta$ s'agrège en deux états conformationnels différents : la feuille non β , un état amorphe, non-fibrillant et la feuille β , un état hautement ordonné, fibrillaire. Alors que le non-feuille est bénigne, l' $A\beta$ hautement ordonné et fibrillant est cytotoxique (Chafekar et al., 2007 ; Jomova et al., 2010). Donc, l' $A\beta_{1-40}$ est moins toxique et fibrillogène que l' $A\beta_{1-42}$ qui forme les plaques amyloïdes. Les niveaux accrus de peptide $A\beta$ dans les plaques amyloïdes pourrait accélérer la production des ERO en se liant directement aux membranes mitochondriales, en modifiant la dynamique et la fonction mitochondriales, aboutissant au final à un métabolisme énergétique anormal et à la perte de la fonction synaptique et phosphorylation de Tau (Baloyannis et al., 2004 ; Beal, 2005 ; Calkins et al., 2011 ; Gibson, 2008 ; Manczak, 2006 ; Manczak et al., 2011 ; Reddy et al., 2012 ; Tönnies & Trushina, 2016).

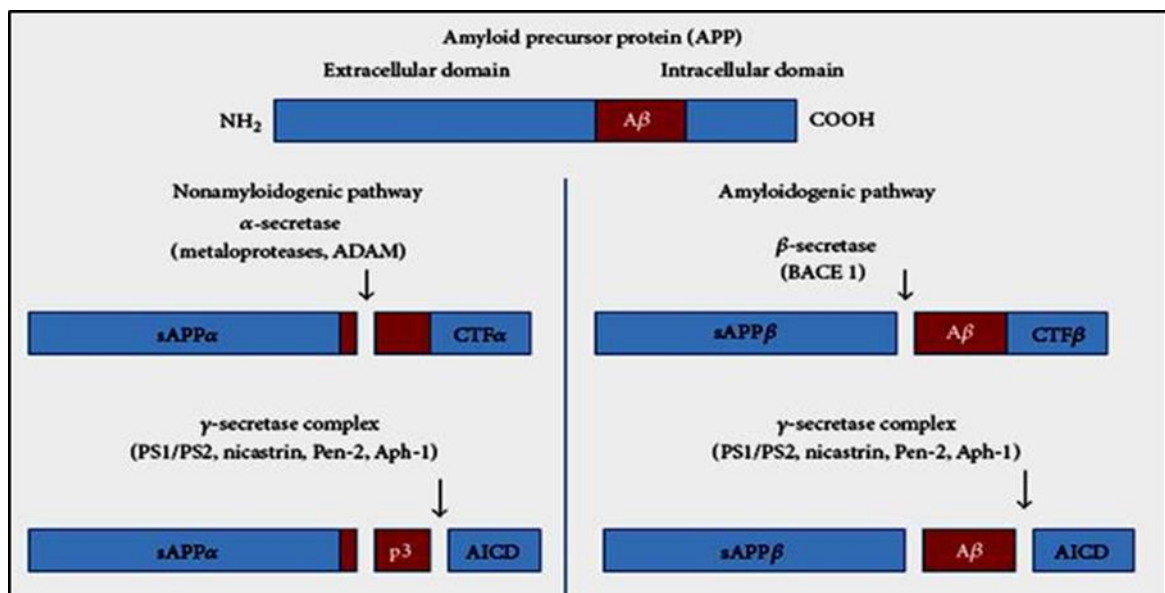


Figure 6 : Les deux voies protéolytiques de la protéine APP et les fragments générés.

(Carrillo-Mora, 2014)

Parmi les mécanismes neurotoxiques supposés, les dommages induits par le stress oxydatif sont susceptibles d'être provoqués par la peroxydation lipidique de systèmes membranaires tels que la membrane plasmique et la membrane mitochondriale. Les NFT sont composés d'une protéine tau

hyperphosphorylée agrégée, une protéine stabilisante des microtubules, qui, une fois hyperphosphorylé, tombe des microtubules, ce qui contribue à la perte de l'intégrité structurale des neurones, avec pour conséquence une perturbation du trafic intra-neuronal (Gyure et al., 2001; Wang & Brinton, 2016). La perte de tau et la déstabilisation des microtubules qui en résultent jouent un rôle crucial dans la pathogenèse de la MA. La production accrue ERO associée à une perte de la fonction mitochondriale liée à l'âge et à la maladie, une altération de l'homéostasie des métaux et une défense antioxydante réduite affectent directement l'activité synaptique et la neurotransmission dans les neurones conduisant à un dysfonctionnement cognitif. En outre, les cibles moléculaires affectées par les ERO comprennent l'ADN nucléaire et mitochondrial, les lipides, les protéines, l'homéostasie du calcium, la dynamique et la fonction mitochondriales, l'architecture cellulaire, le trafic et l'endocytose des récepteurs et l'homéostasie énergétique (Tönnies & Trushina, 2016).

L'une des hypothèses principales met en jeu la protéine β amyloïde, que l'on retrouve dans les plaques séniles caractéristiques de la maladie. La toxicité de la protéine β amyloïde serait liée à une stimulation de la peroxydation lipidique des membranes cellulaires synaptiques, à une atteinte radicalaire des protéines, de l'ADN nucléaire ou de l'ADN mitochondrial, à une stimulation de la production de radicaux libres dans les cellules microgliales (Christen, 2000 ; Grundman, 2000), mais aussi à une atteinte de type pro-inflammatoire des cellules endothéliales vasculaires (Christen, 2000 ; Desport & Couratier, 2002).

Eno1 est une enzyme glycolytique importante qui catalyse la déshydratation de l'acide D - (+) -2 phosphoglycérique en phosphoénol pyruvate. Outre la régulation de la glycolyse et la génération d'ATP, Eno1 joue également un rôle crucial dans d'autres processus tels que le contrôle de la croissance, la tolérance à l'hypoxie et les réponses allergiques (Lamers et al., 2003). De plus en plus de preuves relient Eno1 à plusieurs pathologies et au stress oxydatif. Des études suggèrent qu'Eno1 pourrait avoir d'autres fonctions que le traitement métabolique du glucose : le plasminogène lié à Eno1 stimule l'activation par la plasmine de la protéine kinase activée par les mitogènes (MAPK) / kinase 1/2 régulée par le facteur (ERK1 / 2) et peut également conduire à la dégradation de la protéine A β par la plasmine. Il est probable que les modifications oxydatives Eno1 modifient non seulement le métabolisme du glucose, mais également son rôle en tant que récepteur du plasminogène, contrôlant la survie neuronale et la dégradation d'A β .

Fructose biphosphate-aldolase (FBA) convertit le fructose 1, 6 -biphosphate au glycéraldéhyde 3-phosphate et phosphodihydroxyacétone dans la glycolyse. FBA catalyse une étape critique, car il génère deux substrats qui sont utilisés pour produire éventuellement deux molécules d'ATP et plus

dans le cycle de Krebs 14 et la chaîne de transport d'électrons (ETC) (Butterfield et al., 2006). D'une autre part, le glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase (GAPDH) appartient à la famille des oxydoréductases connues pour leur rôle dans le métabolisme du glucose et catalyse la conversion du G3P en 1.3-bisphosphoglycérate. La modification oxydative de cette enzyme inhibe son activité glycolytique, ce qui altère l'homéostasie intracellulaire et serait un marqueur du stress cellulaire dans la MA (Newman et al., 2007). De plus, il est connu que GAPDH potentialise la fonction de l'APP et Tau (Swomley et al., 2014); ainsi, la GAPDH oxydée perd probablement sa capacité de protection pour empêcher la perte de fonction APP et Tau, de tels changements accéléreraient le taux de dépôt de plaque et d'enchevêtrement (Opii et al., 2008).

Selon ces études, on conclut que le stress oxydant peut être la cause de l'installation d'une pathologie et l'un de ces conséquences qui favorise leurs complications. Ce qui nous pousse vers le développement des nouveaux médicaments ciblant le stress oxydant « thérapie antioxydant ».

5. Thérapie antioxydante ; mythe ou nécessité ?

Les recherches qui visent à développer des nouveaux traitements, commencent souvent par l'exploration des causes de la pathologie et ses conséquences. Les études montrent le stress oxydant comme le lien principal entre plusieurs pathologies tel que le diabète et l'Alzheimer (Opii et al., 2008), les syndromes métaboliques et les maladies cardiovasculaires (Bonfont-Rousselot et al., 2002). Le stress oxydatif participe au plusieurs niveau de la pathologie, soit comme cause principale de leur installation, au bien comme une conséquence qui favorise leurs complications. Mais dans les deux cas, il représente un point clé et une cible privilégiée pour traiter ces pathologies.

L'histoire de la médecine humaine a montré que l'homme a basé sur les plantes médicinales dès plusieurs siècles, ces plantes ont montré des effets thérapeutiques différents. A l'heure actuelle, et avec l'évolution des sciences et surtout pharmacologiques, plusieurs travaux ont envisagé l'exploration de ces plantes et surtout leurs composés bioactifs, ce qui permet de déterminer aussi la pharmacodynamie de ces plantes et comment exercent leurs effets. Pas mal de ces études ont montré que leurs effets thérapeutiques dus à la présence des « Flavonoïdes ». Ces derniers sont des composés polyphénoliques. La présence de plusieurs fonctions phénol confère à ces composés des propriétés antioxydantes ou oxydantes, suivant la position des phénols et le milieu où la réaction prend place. Cette activité antioxydant confère au ces molécules une activité protectrice contre différentes affections chroniques, notamment l'athérosclérose et les maladies neurodégénératives (Stoclet & Schni-kerth , 2011).

Récemment, l'activité antioxydante des médicaments représente un point de débat. Plusieurs médicaments qui sont prescrit pour des maladies bien déterminés ont montrés des effets bénéfiques sur autres pathologies où le stress oxydant est l'acteur majeur. Après ils sont découverts que ces effets bénéfiques sont due à une activité antioxydante non connue de ces médicaments. La metformine est l'un des exemples les plus pertinentes.

La metformine (Figure 07) est l'antidiabétique oral utilisée depuis une quarantaine d'années comme traitement de première intention du diabète de type 2 (Foretz & Viollet, 2014 ; Bonnefont-Rousselot et al., 2004). La metformine exerce son action sur le contrôle glycémique (par diminution de la synthèse hépatique de glucose et augmentation de la sensibilité des cellules périphériques à l'insuline). Mais, elle présente d'autres effets intrinsèques qui sont susceptibles de jouer un rôle contre les complications diabétiques. Certaines études rapportent ainsi une réduction des complications cardiovasculaires chez les patients traités par la metformine (UKPDS, 1998), ce qui pourrait être en relation avec sa capacité à limiter la formation des produits de glycation avancés (AGE), mais aussi à diminuer la surproduction de radicaux libres chez les sujets diabétiques. D'une autre part, la metformine se comportait in vitro comme un piègeur de radicaux libres, en particulier de radicaux hydroxyle (Bonnefont-Rousselot et al., 2003). Ces données ouvrent des nouvelles hypothèses pour l'utilisation de la metformine dans la thérapie antioxydante.

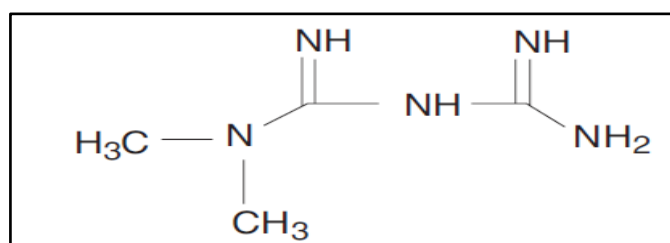


Figure 07 : Structure de la metformine (diméthylbiguanide) (Bonnefont-Rousselot et al., 2004).

D'autres substances antioxydantes sont montrées également des effets notés dans l'amélioration des plusieurs maladies causé et s'aggravées par le stress comme l'Alzheimer, Parmi ces substances les vitamines liposolubles (A, D, E, K) et la vitamine C. La vitamine E, (ou α -tocophérol) (figure 08) est une vitamine liposoluble qu'on trouve surtout dans les huiles végétales, les fruits, les légumes,...etc. Elle protège les acides gras insaturés au niveau des membranes cellulaires par le piégeage des radicaux libres (Maddi & Ouali, 2012). Elle regroupe huit molécules organiques. L' α -tocophérol est la forme la plus active retrouvée dans le sang. Les mitochondries qui sont soumises au stress oxydatif peuvent entreposer des taux élevés de Vit E ce qui les aide à se défendre contre les radicaux libres.

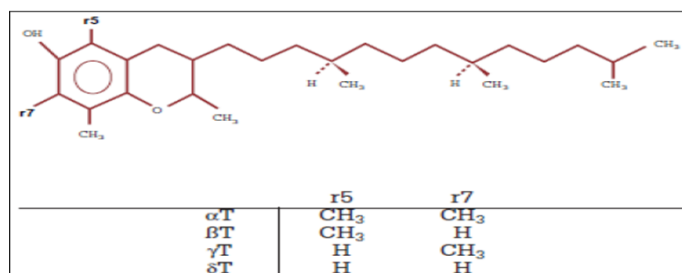


Figure 08: Structure de la vitamine E (Pincemail et al,1998)

Le potentiel antioxydant de cette vitamine s'expliquerait par sa capacité à capter l'électron célibataire et à le neutraliser (Dennehy & Tsourounis, 2010 ; Jessica Talon-Croteau, 2016). Autrement dit, la Vit E agirait comme une barrière antioxydante intracellulaire. Un certain nombre d'études indiquent que la prise de vitamine E diminue l'incidence du cancer de la prostate (Fondation pour le Libre Choix, 2002) et d'autre étude sur la maladie d'Alzheimer montre que la prise de vitamine E diminue la destruction des neurones et donc elle réduire l'intensité de la maladie (Grundman ,2000). La vitamine A aussi a montré le même effet sur la maladie d'Alzheimer (Enderlin, & Pallet, 2011). Donc les vitamines antioxydantes peuvent présentées l'un des bases de la thérapie de l'avenir.

6. Benzothiazole et activité antioxydante

Benzothiazole (BTA) et ses dérivés sont le plus important composé hétérocyclique. Ils présentent le caractère commun entre des variétés des produits naturels et des agents pharmaceutiques. Les BTA ont plusieurs propriétés pharmacologiques, ses analogues montrent un grand degré de diversité structurale ce qui permet la recherche des nouveaux agents thérapeutiques (Keri et al., 2015).

Le benzothiazole est un hétérocycle ayant un cycle thiazole. La structure centrale du thiazole (I) consiste en un cycle à cinq chaînons contenant des atomes de soufre et d'azote aux positions 1 et 3.

La numérotation dans le thiazole commence à partir de l'atome de soufre. Hantzsch et Waber en (1887) ont décrit pour la première fois le thiazole et sa structure a été confirmée par Popp en (1889). La structure de base du benzothiazole consiste en un cycle benzénique fusionné en les positions 4 et 5 du cycle thiazole. Ces deux cycles constituent ensemble le noyau de base 1,3-benzothiazole (II) (Figure 09). La densité du benzothiazole est de 1,24 g / mol et sa masse moléculaire 135,19 g / mol (Tariq et al., 2018).

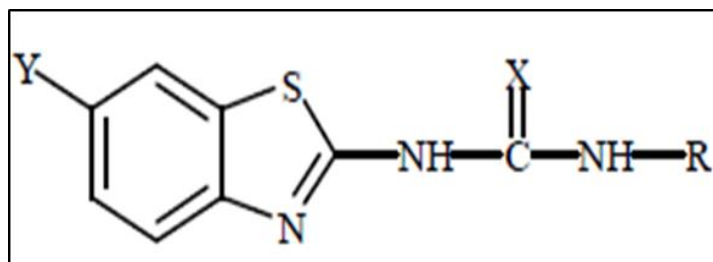


Figure 09: La structure de base du benzothiazole

(Harrouche et al., 2016)

Les études sur le benzothiazole ont montrés un large spectre d'activités. Un grand nombre de ces dérivés ont montré une activité anticancéreuse puissante. De nouveaux inhibiteurs de la NAE (enzyme activant la NEDD8) non sulfamides à base de benzothiazole ont été synthétisés par Zhuang et al. [2017]. La plupart de ces composés présentaient une bonne activité anticancéreuse (Ma et al., 2017).

Des dérivés de benzothiazole synthétisés ont été évalués pour l'activité antimicrobienne. Presque tous les composés ont montré une activité antibactérienne meilleure ou comparable à celle des médicaments de référence, à savoir l'ampicilline (2 à 17 fois supérieure) et la streptomycine (jusqu'à 8 fois). Parmi les Gram négatifs *Salmonella typhimurium* était la bactérie la plus sensible aux composés testés, alors qu'*Escherichia coli* était la plus résistante. En ce qui concerne les bactéries à Gram positif, la plus sensible est *Bacillus cereus*, tandis que *Mariniluteicoccus flavus* s'est avéré être la plus résistante (Haroun et al., 2018).

Les dérivés de benzothiazole ont d'autre activité comme l'activité antipaludique (Thakkaret al., 2017) et l'activité d'inhibition de l'uréase (Tariq et al., 2019). En 2016, Harouche et al. ont synthétisé des nouvelles dérivées de benzothiazole (série 1 et 2) (Figure 10), qui montre des activités vasodilatateur et d'inhibition de la sécrétion d'insuline.

Certaines molécules des séries I (13b, 13c, 13f, 13g, 13l, 13o, 13p, 13t et 13u-13v) ont présenté une activité myorelaxante sur des noyaux d'aorte de rat *Wister* pré-contractés, en particulier 13u et 13v puissant que le diazoxide. D'autres investigations ont également indiqué que le site d'action était principalement situé sur les cellules du muscle lisse vasculaire plutôt que sur les cellules endothéliales. Cinq composés sélectionnés (13a, 13c, 13e, 13f et 13g) ont également provoqué une inhibition marquée de la sécrétion d'insuline dans les îlots pancréatiques de rat, en particulier le 13a, qui manifestait une nette préférence pour les cellules β pancréatiques par rapport aux cellules musculaires lisses vasculaires. En revanche, la plupart des composés de la série II (16a-h) ne

présentaient aucune activité myorelaxante importante, ce qui indique le rôle potentiel d'un cycle aromatique dans l'induction d'un effet vasodilatateur.

En basant sur la structure chimique des quelques molécules de série 1 qui ayant des groupements thiourée (H 58, H 74, H75, H41) et des groupements Urée (H54, H 46, H 31) (voir l'annexe 01). On a lancé des nouveaux tests pour évaluer l'activité antioxydante possible de ces molécules, afin d'approfondir le profil pharmacologique de ces composés en termes d'efficacité.

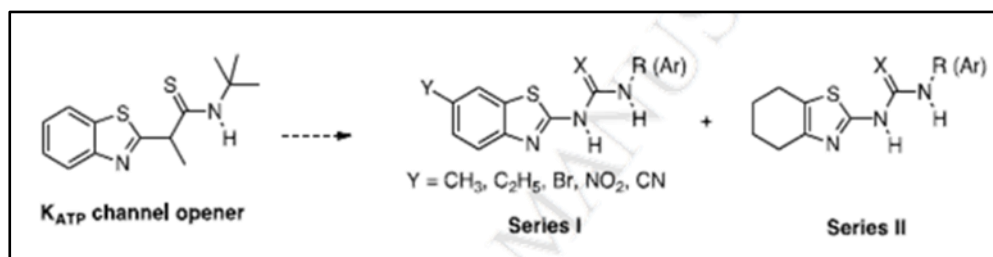


Figure 10 : Les structures de base des molécules de la série 1 et 2 de la benzothiazole

(Harrouche et al., 2016)

1. Matériels

1.1. Matériels chimiques

Les molécules utilisées dans ce travail proviennent du laboratoire de pharmacologie et phytochimie, université de Jijel. Les procédures de la synthèse et l'évaluation de l'activité pharmacologique de ces molécules font l'objet de l'article scientifique intitulé « *Synthesis, characterization and biological evaluation of benzothiazoles and tetrahydrobenzothiazoles bearing urea or thiourea moieties as vasorelaxants and inhibitors of the insulin releasing process* », (Harrouche et al., 2016). La structure et le nom chimique de chaque molécule ont été utilisés pour cette étude, sont présentés dans le Tableau 1.

Tableau 01 : La structure et le nom chimique des dérivés de benzothiazole utilisés dans cette étude

Molécules	Structures chimiques	Nom chimique
H46		1-(6-bromo-1,3-benzothiazol-2-yl)-3-(4-chlorophenyl) urea
H75		1-(6-methyl-1,3-benzothiazol-2-yl)-3-(4-methylphenyl) thiourea
H74		1-(6-methyl-1,3-benzothiazol-2-yl)-3-(3-nitrophenyl) thiourea
H58		1-(6-(1,3-benzothiazol-2-yl)-3-(4-methylphenyl) thiourea
H54		1-(4-cyanophenyl)-3-(6-ethyl-1,3-benzothiazol-2-yl) urea
H31		1-(3a,7a-dihydro-1,3-benzothiazol-2-yl)-3-propan-2-ylurea
H41		1-(6-bromo-1,3-benzothiazol-2-yl)-3-(3-nitrophenyl) thiourea

1.2 Matériel biologique

On a utilisés 3 souris femelles blanches adultes saines de souche *Wister Albinos*. L'élevage des animaux a été réalisé au niveau de l'animalerie de l'université de Jijel. Réservés pour le teste de **dosage** de la peroxydation lipidique et le teste de Dosage du glutathion réduit (GSH) tissulaire.

2. Méthodes d'évaluation in vitro de l'activité antioxydante

2.1. Activité de piégeage radical des DPPH

L'activité de piégeage de radical DPPH des dérivés de la benzothiazole a été mesurée selon la procédure décrite par Brand-Williams et al (1995) Le test repose sur la diminution de l'absorption lumineuse de la DPPH de couleur violette lorsque celle-ci est réduite en DPPH-H (de couleur jaune) en présence d'un antioxydant comme le montre la figure (11). La décoloration du DPPH• est directement proportionnelle à la capacité des molécules bioactives à le réduire (Mansouri et al., 2005). En bref, 25 µl de chaque dérivés de la benzothiazole (1000, 500, 300, 200µM) ou de l'acide ascorbique comme référence (1000, 500, 300, 200, 100, 50, 10 µM) ont été ajoutés à 975 µL de solution DPPH (dissous dans le méthanol à 60 µM). Un témoin a également été préparé contenant uniquement du méthanol, au lieu de la molécule testée. Le mélange a été laissé au repos à l'obscurité à la température ambiante (20 ± 2 ° C) pendant 30 min. La diminution de l'absorbance été mesurée par spectrophotomètre à 515 nm par rapport au méthanol sous la forme d'un blanc. Toutes les mesures ont été effectuées en triple et leurs moyennes ont été calculées. La capacité à piéger le radical DPPH a été calculée à l'aide de l'équation suivante :

Activité de piégeage des radicaux du DPPH (%) = $[1 - (\text{Absorbance de l'échantillon à 515 nm} / \text{Absorbance du contrôle à 515 nm})] \times 100$.

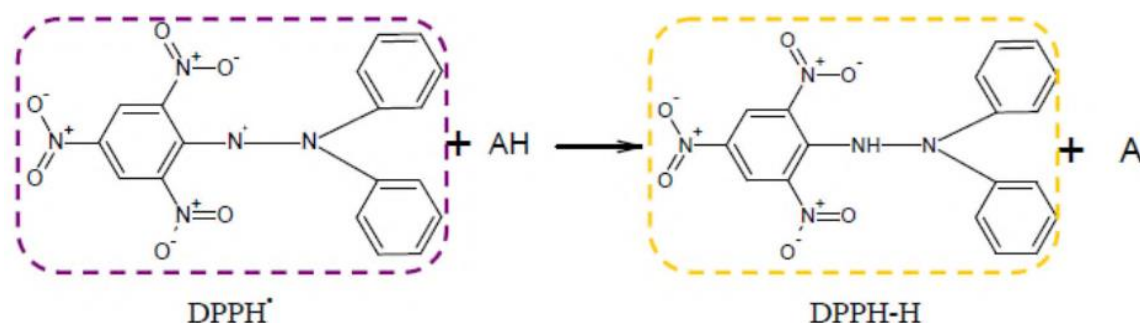


Figure 11 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH) (Sanchez-Moreno, 2002).

2.2. L'activité piègeur de radical ABTS

Le potentiel antioxydant radicalaire des dérivés de benzothiazole a été mesuré en utilisant le test de réduction de radical cationique ABTS •⁺ comme décrit par Re et al. (1999) avec des modifications mineures. Le radical cationique ABTS •⁺ a été produit par la réaction entre ABTS (7 mM) dissous dans l'eau et 2,45 mM de persulfate de potassium (1/1) (Figure 12), conservée dans l'obscurité à la température ambiante pendant 12 à 16 h avant l'utilisation. La solution ABTS •⁺ a ensuite été diluée avec l'éthanol pour obtenir une absorbance de 0,700 à longueur d'onde 734 nm. On ajoute 100 µl de chaque dérivé de benzothiazole (500, 300, 200, 100, 50 µM) ou de l'acide ascorbique comme témoin positif à 900 µl d'ABTS •⁺. L'absorbance a été mesurée après 15 min d'incubation à température ambiante (20 ± 2 ° C). Toutes les déterminations ont été effectuées en triple. La capacité à piéger le radical ABTS •⁺ a été calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Activité de piégeage des radicaux ABTS (\%)} = [1 - (\text{Absorbance de l'échantillon à 734 nm} / \text{Absorbance du contrôle à 734 nm})] \times 100.$$

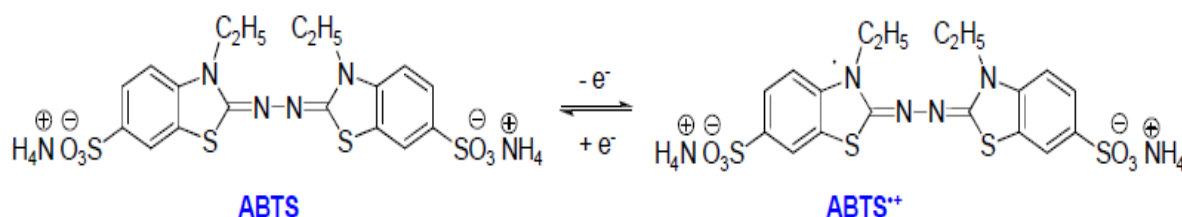


Figure 12 : Formation du radical ABTS•⁺ (Belkheiri, 2010)

2.3. Capacité de neutralisation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

La capacité des molécules synthétiques à piéger l'H₂O₂ a été déterminée selon la méthode de Ruch et al. (1989) avec des modifications mineures. En bref, une solution de H₂O₂ (40 mM) a été fraîchement préparée dans un tampon phosphate (50 mM, pH 7,4). La neutralisation de 900 µl de H₂O₂ en présence de 100 µl de molécules testées à concentrations de 500 et 300 µM a été déterminée en suivant la diminution de l'absorbance après 10 min d'incubation à 240 nm par rapport au témoin. Le test a été effectué contre un blanc ne contenant que du tampon phosphate et la molécule testée. L'acide ascorbique a été utilisé comme molécules de référence. L'activité de neutralisation a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité de balayage (\%)} = [1 - (\text{Absorbance de l'échantillon à 240 nm} / \text{Absorbance du témoin à 240 nm})] \times 100.$$

2.4. Test de chélation de fer

La capacité chélatrice des molécules a été mesurée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrozine après incubation des molécules testés, à concentrations de 1 mg/ml, avec le fer divalent selon la méthode de (Ahmed et al, 2013). Les molécules (100 µl) ont été initialement mélangées avec 200 µl de Ferrozine et 600 µl d'eau distillée. Après 30 min d'incubation, 60 µl de FeCl₂ ont été additionnés au milieu réactionnel, le mélange a été bien agité puis laissé pour réagir pendant 30 min à température ambiante permettant ainsi la formation de complexe (Fe (II)-Ferrozine) de couleur violet ayant un maximum d'absorption à 562 nm. Par ailleurs, le contrôle contient tous les réactifs à l'exception des molécules qui sont substituées par 100 µl du méthanol. L'éthylène diamine tétra acétique (EDTA) a été utilisé comme chélateur de référence à une concentration de 1mg/ml. L'activité des molécules vis-à-vis du fer a été exprimée en pourcentage de chélation selon l'équation :

$$\% \text{ Chélation} = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

AE : absorbance en présence de la molécule

AC : absorbance en absence de la molécule

2.5. Test de la réduction du fer FRAP (Ferricreducing-antioxidant power)

Le pouvoir réducteur d'une molécule est associé à son pouvoir anti-radicalaire. Cette technique permet de mesurer la capacité des molécules testés à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe de ferrocyanure de potassium en fer ferreux (Fe²⁺) (figure 13), qui peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu vert dans le milieu réactionnel à 700 nm (Pastre et al., 2007). Le pouvoir réducteur des dérivés de benzothiazole a été déterminé selon la méthode décrite par Chung et al. Une portion aliquote de 0,1 ml de chaque dérivé de benzothiazole (0,5 mM) ou d'AA comme référence, a été mélangée avec 0,25 ml de tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et même volume de ferricyanure de potassium à 1%, puis incubé à 50 ° C pendant 20 min. On a ajouté 0,25 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 10% au mélange pour arrêter la réaction, puis 0,85 ml d'eau distillée. Ensuite, le mélange a été centrifugé à 3000g pendant 10 min. Le surnageant (0,25 ml) a été mélangé avec 0,1% de FeCl₃ (0,17ml), puis l'absorbance a été mesurée à 700 nm. L'intensité du pouvoir réducteur est proportionnelle à l'augmentation de l'absorbance utilisée pour la formation d'un complexe ferrocyanure de potassium bleu.

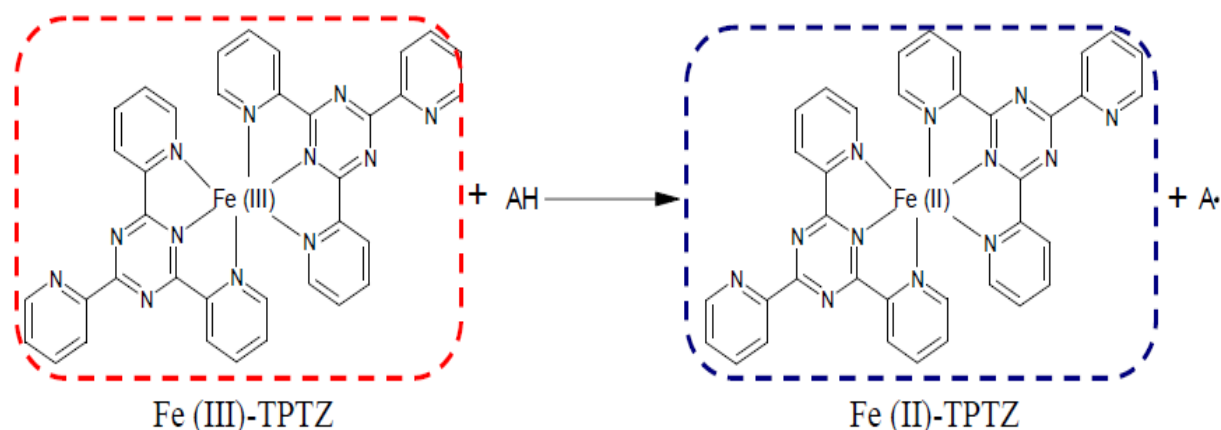


Figure 13 : Schéma de la réaction de test du pouvoir réducteur du Fe^{3+} en Fe^{2+} .

2.6. Prévention de l'oxydation du glutathion (GSH)

Le glutathion (GSH) est un tripeptide composé de glycine, de glutamate et de cystéine qui confère à la molécule une fonction thiol. Le GSH s'oxyde facilement en GSSG en milieu alcalin (Stevens, 1983). Dans ce test, nous avons évalué si les molécules testées sont capables d'empêcher l'oxydation du GSH. Pour cela, une solution à 200 μM de GSH a été préparée dans le tampon phosphate (100 mM, pH=08). 100 μl des molécules testées ou l'AA comme référence à une concentration (0.5 mM) et 900 μl de GSH fraîchement préparé ont été incubés pendant 24 h à température ambiante. Un témoin contenant uniquement du GSH en l'absence des molécules testées et un blanc ne contenant que les molécules testées dans le tampon phosphate ont également été préparés et incubés dans les mêmes conditions. À la fin du temps d'incubation, la concentration du GSH réduit restant a été évaluée par spectrophotomètre selon la méthode d'Ellman (1959). Les concentrations exactes de GSH ont été déduites à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions utilisant le GSH pur comme standard.

2.7 Dosage de la peroxydation lipidique et du glutathion réduit (GSH) tissulaire

2.7.1. Sacrifice et prélèvement des cerveaux

Les trois souris ont été sacrifiées puis leurs cerveaux ont été soigneusement prélevés, rincés avec tampon phosphate (pH=7.4) ; ensuite ils ont été homogénéisés dans 10 volumes du tampon phosphate (50 mM, KCl 1,5%, pH 7,4) et centrifugé à 3000 g pendant 15 min. Le surnageant récupéré a été utilisé fraîchement pour l'induction simultanément de la peroxydation lipidique et de l'oxydation du GSH

2.7.2. Dosage de la peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique a été induite *in vitro* dans l'homogénat du cerveau de souris en présence ou en l'absence de molécules testées à la concentration de 1 mg/ml (Dinis et al, 199) Le mélange réactionnel est constitué de 0,5 ml d'homogénat de cerveau, 0,15 ml de FeCl₃ (20 µM), 150 µl FeSO₄ (20µM) et 50 µl du Plomb (1mg/ml), ont été incubés à 37 ° C sous agitation pendant 1 heure en présence de 100 µl de molécules testées à concentration de 1mg/ ml ou en remplaçant les molécules testées par le méthanol et en substituant le composé de milieu réactionnel (FeCl₃, FeSO₄ et Plomb) par l'eau distillée en tant que contrôle négatif. Un contrôle positif a été réalisé contenant l'homogénat et les autres composées du milieu réactionnel (FeCl₃, FeSO₄ et Plomb), mais en absence des molécules. Pour la comparaison, on a préparé un groupe de référence en substituant les molécules par la quercétine. On a également préparé un blanc contenant uniquement du tampon phosphate (pH=8.0), FeCl₃ et du méthanol à la place des molécules testées. Après incubation, 0.187g de TBA, 7.5 g de TCA et 780 µl de HCl sont mélangé dans l'eau distillée pour atteint un volume finale de 150 ml. Puis, 1.5 ml de ce solution a été ajouté au 0.4 ml du mélange à tester dans chaque tube et incubé à 100 ° C pendant 1 heure. Le degré de peroxydation lipidique dans le mélange a été déduit en quantifiant les concentrations de MDA par spectrophotométrie à 532 nm selon la méthode d'Ohkawa [1979]. Selon l'équation suivante :

$$MDA (nmol/ml) = Absorbance d'échantillon (532 nm) * 10 / 1.56$$

2.7.3 Dosage du glutathion réduit (GSH) tissulaire

Le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode d'Ellmen (1959). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithiobis- 2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellmen, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour ce test, on a utilisé l'homogénat des cerveaux déjà préparé comme décrit au-dessus. On ajoute 0.5 ml de tampon phosphate (pH= 8.0, 50 mM) pour dilue le mélange puis 25 µl du DTNB dans chaque tube. Après 15 min d'incubation la lecture de la densité optique est effectuée à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. Le taux du GSH est déduit à partir d'une gamme étalon de glutathion préparée dans les mêmes conditions que le dosage.

2.8. Etude *in silico* de la perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique et prédiction des paramètres pharmacocinétique

La barrière hémato-encéphalique (BHE) est une barrière physique dans le système circulatoire qui empêche de nombreuses substances de voyager dans le système nerveux central (SNC). Pour la réalisation de cette étude, on a utilisé le logiciel « Online BBB Predictor » qui permet de prédire la perméabilité (BBB+) ou l'imperméabilité (BBB-) des molécules pharmacologique on utilisant deux type d'algorithmes SVM et AdaBoost, et quatre bases de données : MACCS, Openbabel(FP2), Molprint 2D et PubChem. Dans cette étude on a utilisé l'algorithme SVM et la base de données PubChem. Ainsi, les prédictions des propriétés pharmacocinétiques des molécules ont été calculées à l'aide du logiciel de propriétés chimiques de Molinspiration en ligne. Ce programme est basé sur l'évaluation de la règle de cinq de Lipinski, qui prédit les propriétés pharmacocinétiques des composés ressemblant à des médicaments.

2.9. Analyse Statistique

Les courbes et les histogrammes sont tracés par le Microsoft Excel 2007 et le logiciel Graph Pad (version 8.0.2), et les analyses statistiques ont été réalisées par le logiciel Graph Pad (version 8.0.2). Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SEM ($n \leq 3$). Les valeurs d'EC50 (concentration effectrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression non linéaire à partir de la courbe [% Activité = f (log concentration)]. On a utilisé le test ANOVA one way pour tous les tests et ANOVA two way pour le test de neutralisation d'H₂O₂ suivie du test de Tukey/ Fisher's LSD pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de $p \leq 0.05$ sont considérées statistiquement significatives.

Résultats

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des dérivés de benzothiazole a été évaluée par 07 méthodes :

- Activité de piégeage radical des DPPH
- Activité de piégeage de radical ABTS
- Capacité de neutralisation du peroxyde d'hydrogène.
- Test de Chélation de fer
- Test de pouvoir réducteur de fer
- Prévention de l'oxydation du glutathion (GSH)
- Inhibition de la peroxydation lipidique et l'oxydation de Glutathion réduit (GSH) tissulaire (cerveau).
- Etude *in silico* de la perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique et prédiction des paramètres pharmacocinétique

1/Activité de piégeage du radical DPPH

La figure (14) présente les résultats du test du DPPH. Elle montre que les molécules H75, H74, H58 ont une activité anti radicalaire concentration dépendante. La molécule H74 a présenté une activité importante qui varie entre 23.79 % à 91.16% dans une gamme de concentration de 0.2 à 1 mg/ml, et un $EC_{50} = 266.9 \pm 1.022$. Cette activité est comparable à celle de la molécule de référence AA qui atteint leur activité maximale (~ 92%) à la concentration de 1 mg/ml avec un $EC_{50} = 130.3 \pm 1.027$. Les molécules H75 et H58 aussi possèdent une activité de piégeage radical de DPPH remarquable, 52% et 74% successivement à la concentration de 1 mg/ml. Cependant, cette activité est moins importante que celle de l'AA comme indique la valeur de l' EC_{50} de ces molécules qui dépasse largement celle de l'AA (Tableau 02) Par contre, les molécules H54, H46 et H31 n'ont présenté aucune activité notable, l' EC_{50} est indéfinis dans la gamme de concentration (0,1-1mg/ml). (Détails des résultats sont mentionnés dans l'annexe 02).

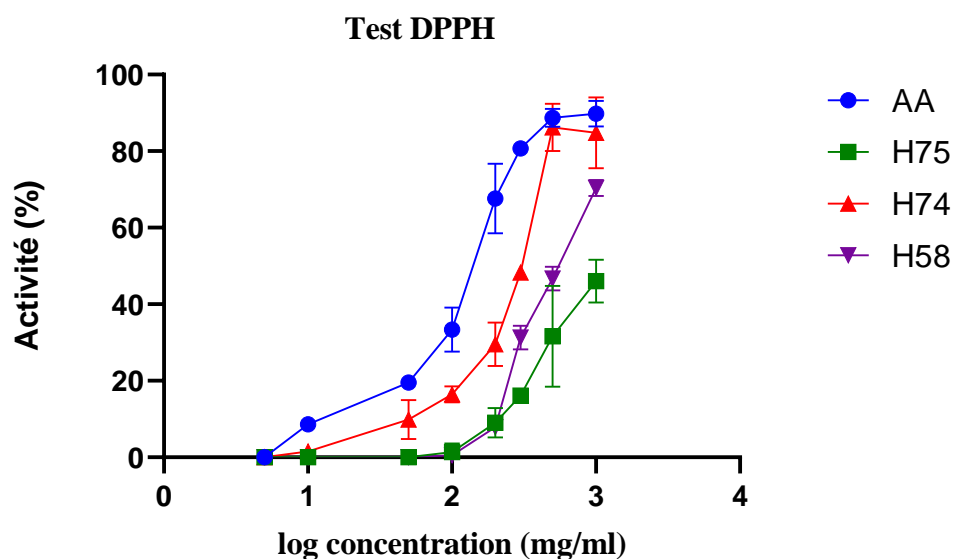


Figure 14 : L'activité scavenger du radical libre DPPH (%) des molécules H75, H74 et H58 et AA. Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'activité en moyenne \pm S.E.M (n=3).

Tableau 02 : Les concentrations effectrices à 50% de test du DPPH des molécules H75, H74, H58, H54, H46, H31 et AA

Molécules	EC ₅₀ (mg/ml)
AA	130.3 \pm 1.027
H75	412 \pm 3.493
H74	266.9 \pm 1.022
H58	428.8 \pm 1.035
H54	ND
H46	ND
H41	ND
H31	ND

Les résultats sont exprimés par la moyenne \pm SEM, ND : Activité non défini

2. Activité de piégeage du radical ABTS

Les résultats du test de l'ABTS sont montrés dans la figure (15) et le tableau (3). Les molécules H75, H74, H58 ont une activité anti-radicalaire différents l'une de l'autre. La molécule H74 a présenté une activité importante qui varie entre 2% -100% dans une gamme de concentration de 0.001 à 0.5 mg/ml, et un $EC_{50} = 32.24 \pm 1.127$. Cette activité même plus puissante que celle de la molécule de référence AA qui attient leur activité maximale (100%) pour une concentration de 0.5 mg/ml avec un $EC_{50} = 51.48 \pm 1.010$. La molécule H75 aussi montre une bonne activité qui atteint 95% pour une concentration de 0.5 mg/ml et un $EC_{50} = 61.56 \pm 1.206$. Alors que la molécule H58 a une activité = 93.30% pour une concentration de 0.5mg/ml, mais la valeur EC_{50} de cette molécule dépasse largement celle de l'AA. Les molécules H54, H46et H31n'ont présenté aucune activité notable, l' EC_{50} est indéfinis dans la gamme de concentration (0,1-1mg/ml) (tableau 3). (Détails des résultats sont mentionnés dans l'annexe 03).

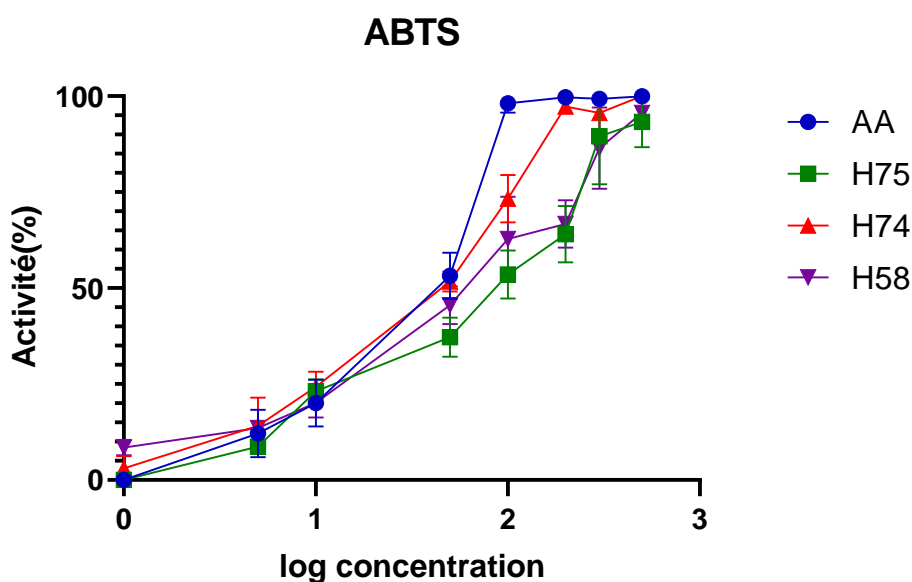


Figure 15 : L'activité de piégeage du radical libre ABTS (%) des molécules H75, H74 et H58 et AA. Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'activité en moyenne \pm S.E.M (n=3).

Tableau 03 : Les concentrations effectrices à 50% de test d'ABTS des molécules H75, H74, H58, H54, H46, H31 et AA.

Molécules	EC ₅₀ (mg/ml)
AA	51.48± 1.010
H75	61.56 ± 1.206
H74	32.24±1.127
H58	892.2±3.004
H54	ND
H46	ND
H41	ND
H31	ND

Les résultats sont exprimés par la moyenne ± SEM, ND : Activité non défini.

3. Capacité de neutralisation du peroxyde d'hydrogène

La figure (16) présente la capacité des molécules à neutraliser le peroxyde d'hydrogène par rapport à la molécule de référence AA. A la concentration 0.5 mg/ml, on remarque que la molécule H75 possède une activité significativement plus puissante que celle de l'AA (p). De même la molécule H54 a présenté une activité de neutralisation de H₂O₂ supérieure à celle de l'AA (p). Cependant le reste des molécules a montré une faible activité. Pour la concentration de 0.3 mg/ml, l'activité des molécules testées est moins importante que celle à 0.5 mg/ml, indiquant ainsi que l'activité de nos molécules est concentration dépendante.

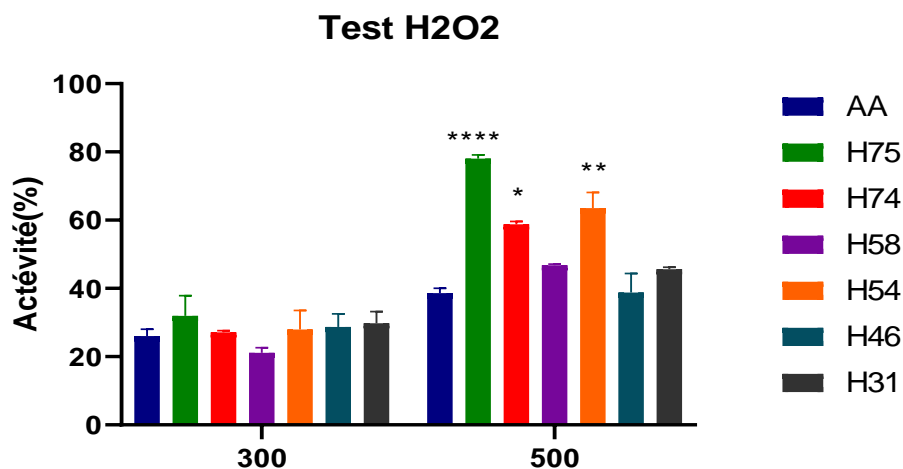


Figure 16 : L'activité de neutralisation du peroxyde d'hydrogène des molécules testés et d'AA à des concentrations de 300 et 500 µg/ml. Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'activité en moyenne \pm S.E.M (n=3). *par rapport a AA ; ****P <0.0008, *****P<0.0001 (ANOVA Twoway suivi du test de multicomparaison de Tukey).

4. Chélation de fer

La figure (17) présente les résultats de test de chélation de fer. On remarque que toutes les molécules ont présenté une activité de chélation de fer comparable à celle de EDTA (P>0,05) à la concentration de 1mg/ml. Sauf la molécule H46 qui a présenté une activité significativement réduite par rapport à l'EDTA (P<0,05).

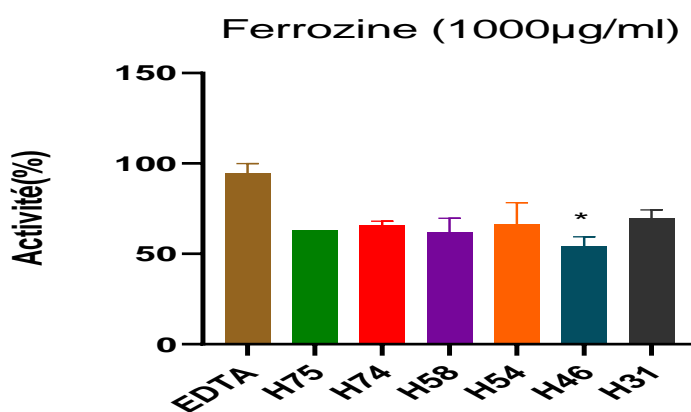


Figure 17 : Activité de chélation de fer de molécules testées et l'EDTA à la concentration de (1000µg/ml). Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'activité en moyenne \pm S.E.M (n=3). *par rapport au EDTA ; *P value <0,0468, (ANOVA one way suivi du test de multicomparaison de Tukey).

5. Test de pouvoir réducteur de fer FRAP (Ferricreducing-antioxidant power)

Les résultats présentés sur le tableau 04 montrent que les composés H31, H46, H54, H58, H74 et H75 n'ont pas une activité de réduction de fer comparable à celle de la référence (acide ascorbique),

Tableau 04 : Pouvoir réducteur de molécules testées par la méthode de FRAP. Les résultats sont exprimés par l'absorbance à 700 nm.

Molécules	Absorbance
AA	1.4625
H75	0.058
H74	0.007
H58	0.0305
H54	0.0045
H46	0.0065
H31	0.0225

6. Inhibition de l'oxydation du glutathion (GSH)

La figure (18) présente les résultats du test de l'inhibition de l'oxydation du glutathion. à l'improviste, l'AA n'a présenté aucun effet sur l'empêchement d'oxydation du GSH par rapport au control négatif ($P > 0,05$) alors que les molécule H58 et H75 ont préservé significativement l'oxydation de GSH en milieu alcalin, ce qui est traduit par une augmentation significative du taux de GSH en présence de ces molécules par rapport au contrôle. La meilleure activité de prévention de l'oxydation du GSH est celle de la molécule H58 ou on a enregistré une concentration de 0.17mg/ml par rapport au contrôle 0.1mg/ml. Les autres molécules H74, H54, H31 et H46 n'ont pas présenté une activité remarquable mais on note que H31 et H74 sont plus actives que l'acide ascorbique. (La courbe d'étalonnage est présenté dans l'annexe 04).

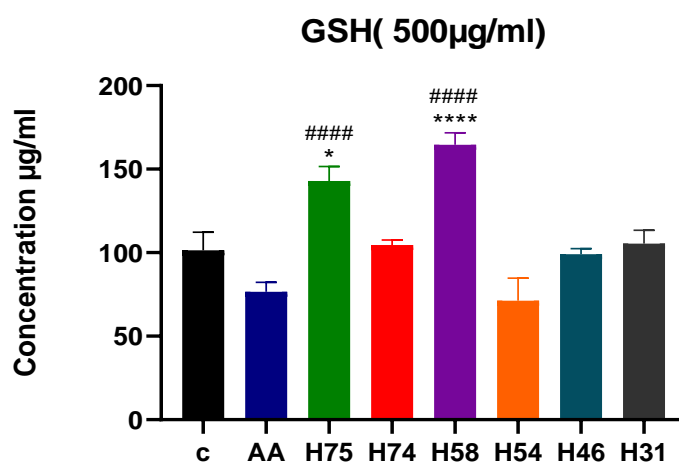


Figure 18 : La concentration de GSH en ($\mu\text{g/ml}$) incubé pendant 24h avec les molécules testées et l'AA à la concentration de ($500\mu\text{g/ml}$). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm S.E.M ($n=3$). *par rapport au contrôle, # par rapport à l'AA ;####/ ****P value < 0.0001 , (ANOVA one way suivi du test de multicomparaison de Tukey).

7.1. Inhibition de peroxydation lipidique

A partir l'histogramme (Figure 19), on a remarqué une augmentation significative de la concentration de MDA de l'homogénat traité par le Pb et $\text{Fe}_2\text{SO}_4/\text{FeCl}_3$ (Contrôle positif) par rapport au control négatif (C-) ($p \leq 0.05$). Cette augmentation est moins importante en présence des molécules testées, H75, H74, H58 alors que la molécule de références Q a une concentration similaire à celle du C- ($P > 0,05$).

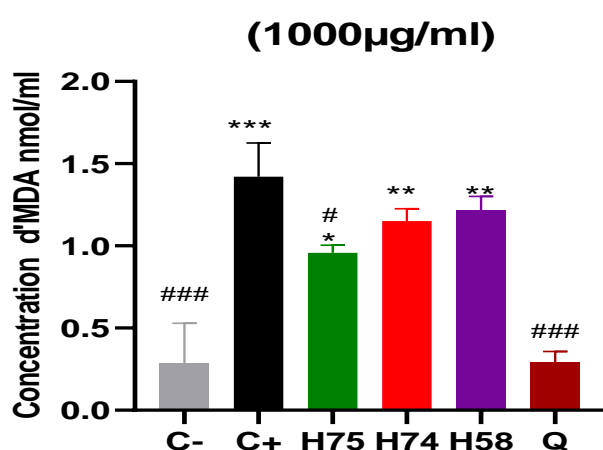


Figure 19 : Activité d'inhibition de la peroxydation lipidique par les molécules H75, H74, H58 et l'Q à la concentration de ($1000\mu\text{g/ml}$), exprimé en concentration de MDA (nmol/ml). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm S.E.M. *par rapport au contrôle négatif, # par rapport au contrôle positif ; ****P value $< 0,0001$, (ANOVA one way suivi du test de multicomparaison de Tukey).

7. 2.L'influence des molécules testés sur les variations de la teneur en GSH cérébral

On a enregistré une augmentation significative du taux de GSH de l'homogénat traité par le Pb et Fe₂SO₄/FeCl₃ par rapport au contrôle négatif (figure 20). Cette augmentation est plus importante en présence des molécules testées, H75, H74, H58 et les molécules de références AA et Q. La teneur en GSH en présence de H75 était similaire à celle en présence de AA et Q ($P > 0,05$) alors que la teneur en GSH en présence de H74, H58 est significativement réduite par rapport à celle de la Q ($P < 0,05$). (La courbe d'étalonnage est présentée dans l'annexe 04).

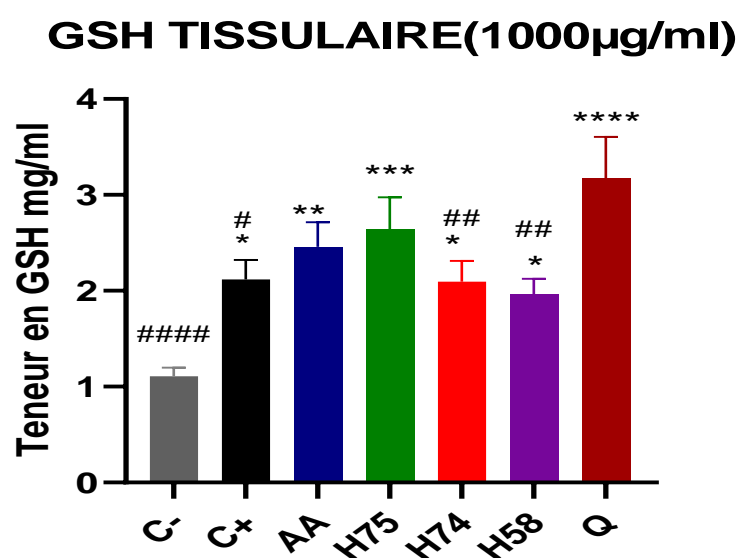


Figure 20 : La concentration de GSH tissulaire en (mg/ml) préservé par les molécules H75, H74, H58, AA et l'Q à la concentration de (1000 μ g/ml). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm S.E.M. *par rapport au contrôle, # par rapport au Quercétine ; ***P value $< 0,0006$, (ANOVA one way suivi du test de multicomparaison de Fisher's LSD).

8. Etude *in silico* de la perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique et prédiction des paramètres pharmacocinétique

Le tableau 05 montre les résultats obtenus par ces deux tests *in silico*. On a choisi l'algorithme SVM et la base de données PubChem pour vérifier la perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique. On a trouvé que tous les molécules sont perméables à travers la barrière hémato-encéphalique (BBB).

En plus des résultats précédant, le logiciel de calcul des propriétés chimiques de Molinspiration en ligne a prédit les paramètres pharmacocinétiques possibles de nos molécules. Ce logiciel permet

d'estimer des calculs théoriques des facteur de la règle de Lipinski : nombre d'accepteurs d'hydrogène (nOHNH), nombre de donneurs d'hydrogène (nON), coefficient de partage (log P) et poids moléculaire (MW)) (Lipinski et al., 1997). On a trouvé que tous les molécules ont respectés la loi deLipinski sauf la molécule H46 qui a un coefficient de partage >5 (voir l'annexe05).

Tableau 05 : Les résultats de l'étude de la perméabilité des molécules à travers la barrière hémato-encéphalique (BBB+ ou BBB-)et prédiction des paramètres pharmacocinétique.

Molécule	Perméabilité à travers la BHE (BBB+ou BBB-)	BBB-/BBB+ SCORE (SVM-PubChem)	LogP (coefficient de partage octanol / eau)	nombre de donneurs d'H (nON)	nombre d'accepteurs d'H (nOHNH)	Masse Moléculaire
H75	BBB+	0	4.48	3	2	313.45
H74	BBB+	0	3.96	6	2	344.42
H58	BBB+	0	4.94	3	2	327.48
H54	BBB+	0	4.34	5	2	322.39
H46	BBB+	0	5.16	4	2	328.67
H 41	BBB+	0	4.32	6	2	409.29
H31	BBB+	0	1.59	4	2	237.33

Discussion

Les mécanismes d'action des antioxydants sont multiples, incluant le captage de l'oxygène singulier O^{\bullet} , la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction des radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006), l'inhibition des enzymes prooxydante, l'induction du système antioxydant et la chélation des traces métalliques responsables de la production de ERO (Halliwell, 1996).

L'activité antioxydante des molécules testées a été évaluée par plusieurs tests. Premièrement leur activité de piégeage des radicaux a été testé par deux méthodes « Piégeage de radical DPPH et radical ABTS ». Le DPPH $^{\bullet}$ (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre se caractérise par une coloration violette en état oxydé et une coloration jaune en état réduit (Parejo et al., 2002). En présence de molécules antioxydantes, le DPPH $^{\bullet}$ est transformé en sa forme réduite (diphénylpicrylhydrazine de couleur jaune) par fixation d'un radical hydrogène arraché à l'antioxydant AH pour former le DPPH-H (Dangles et al., 1999), ce qui conduit à une diminution de l'absorbance. Alors que la réduction du radical ABTS $^{\bullet+}$ qui a la couleur bleu-verte est conduit à leur décoloration (l'ABTS incolore). Néanmoins, il y a une différence importante concerne la solubilité de ces deux radicaux : ABTS $^{\bullet+}$ est soluble en milieux organique et aqueux alors que DPPH $^{\bullet}$ est soluble uniquement en milieu organique et plus particulièrement alcoolique. Le test à l'ABTS $^{\bullet+}$ permet donc l'étude de tous les agents hydrophiles et lipophiles, alors que le test au DPPH $^{\bullet}$ est plus restrictif (Belkheiri, 2010), ce qui peut être la cause de la diminution de l' EC_{50} dans le test d'ABTS par rapport au test de DPPH ce qui reflète l'activité des molécules dans ces deux test ; c'est-à-dire les molécules testé ont une solubilité plus importante dans l'ABTS.

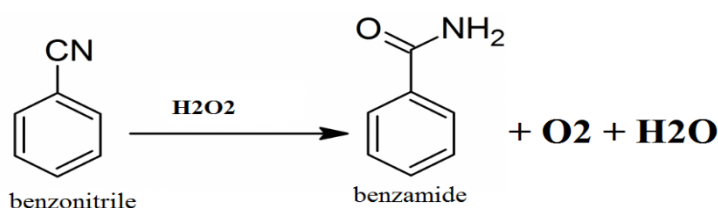
Les molécules H74, H75 et H58 ont présenté l'effet scavenger au radical DPPH le plus important dans ce test par rapport aux autres molécules. Cette activité est due à la présence surtout de la fonction thiourée lié au noyau benzénique (voir annexe 1). La présence de la fonction thiourée rend la formation de liaison SH facile (Rostkowska et al. 2018), cette fonction SH permet la transformation de DPPH $^{\bullet}$ en sa forme réduite DPPH-H. Alors que les molécules H54, H46 et H31 ont une fonction urée au lieu de la thiourée. La formation de la liaison OH donneuse d'hydrogène est difficile que la transformation de la fonction thiourée en SH, donc leur activité de réduction de DPPH est très réduite. L'étude de Bhaskara Reddy et al. (2015) sur des dérivées thiazoles a montré que la présence de la fonction thiourée ou urée confère une activité antioxydante aux dérivés des thiazoles, cette activité est plus importante avec la fonction thiourée qu'avec la fonction urée.

Cependant, la molécule H41 n'a pas présenté une activité antiradicalaire comme les molécules H75, H74 et H58 malgré la présence d'une fonction thiourée, ce défaut est due à l'absence des groupements méthyle/éthyle liée au cycle benzénique avec la fonction thiourée dans H41 par rapport aux ces trois molécules. Pour cela on déduit la nécessité de la présence simultanément de la fonction thiourée et les groupements d'éthyle/méthyle liée au cycle benzénique pour que l'effet apparaisse, car la molécule 41 a un atome Br lié au cycle benzénique au lieu d'éthyle/méthyle (voir annexe 1). L'importance de ces groupements est due à leur diversité atomique. Bhaskara Reddy et al (2015) a montré que l'activité antioxydante provient du fait que les groupes hétéroatomes électro-négatifs -existent dans la structures des dérivés de benzothiazole- comme Br affaiblissent les liaisons N-H proche de lui en raison de leur effet attracteur d'électrons. En conséquence, la liaison N-H se scinde facilement avec la formation de radicaux libres correspondants qui réagissent ensuite avec DPPH et ABTS. Tandis que les molécules ayant une thiourée avec des groupes donneurs d'électrons comme CH₃ sur le cycle phényle présentent une activité antioxydante notable comme le cas des molécules H75, H74 et H58. D'autre part, Bhaskara Reddy et al (2015) a enregistré une activité antioxydante faible en présence de l'urée avec des groupes donneurs / extracteurs d'électrons (CH₃, OCH₃ / F, Br) sur des dérivés substitués sur le noyau phényle comme le cas des molécules H54, H46 et H31. Dans le même contexte, une activité antioxydante faible est attribuée à la présence de thiourée avec des groupes extracteurs d'électrons (F, Br) comme est le cas de la molécule H41.

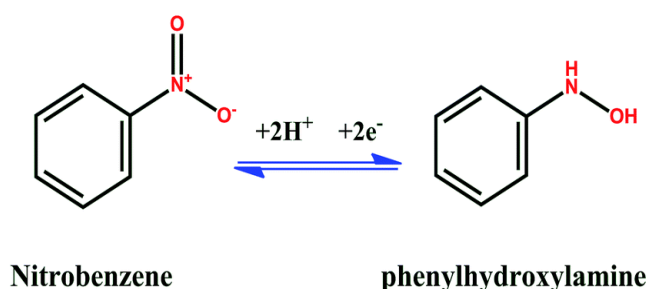
De même, les molécules H74, H75 et H58 ont été les plus actives aussi dans le test de piégeage de radical ABTS, ce qui confirme l'efficacité de la présence de la fonction thiourée avec le groupement éthyle ou méthyle lié au noyau benzénique (voir annexe 1). Le radical ABTS^{•+} est formé par arrachement d'un électron e⁻ à un atome d'azote de l'ABTS. En présence de la fonction thiol (résulte de thiourée) qui est un donneur de H[•], le radical d'azote concerné piège ce H[•], conduisant à la formation de l'ABTSH⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution. D'une autre part, la présence des groupements donneurs d'électron comme le CH₃ facilite la réaction en scindant un électron à travers le cycle.

Concernant le test de peroxyde d'hydrogène, on a trouvé que les deux molécules H75 et H54 ont une forte activité de neutralisation d'H₂O₂. Ce dernier n'est pas un radical libre mais a la capacité de générer des radicaux hautement réactifs, en présence de métaux de transition (fer et cuivre). Les autres molécules présentent des activités plus ou moins importantes dans l'ordre suivant H58 < H31 < H46 à la concentration de 0.5mg/ml ce qui reflète que l'activité des deux molécules H75 et

H54 est indépendante de la fonction thiourée ou urée, car la première possède une thiourée alors que H54 possède une urée. De ce fait, l'activité de ces deux molécules est probablement une conséquence de l'interaction des substitutions R de ces molécules avec l'H₂O₂. La molécule H54 possède un groupement benzonitrile qui peut réagir avec l'H₂O₂ pour donner un groupement Benzamide, cette réaction permet la dissociation d'H₂O₂ en H₂O et O₂ (Wiberg & Kenneth, 1953), selon la réaction suivante :



De même, La molécule H 74 a présenté aussi une activité considérable, cette dernière possède un groupement nitrobenzène à la substitution (R), ce groupement est connu de réagir avec l'H₂O₂ et forme un groupement N-Hydroxyaniline appelé aussi phenyl-hydroxyl-amine (Sakaue et al., 1993 ; Gowthaman et al., 2016), selon la réaction suivante:



D'autre part, La chélation de fer est un moyen très important dans l'évaluation de l'activité antioxydante puisqu'elle montre une activité indirecte sur les radicaux libres en agissant sur un facteur provoquant leur production. Chez l'homme, le taux de fer est maintenu à un niveau constant et sa quantité totale par individu est estimée à environ quatre grammes. L'homéostasie du fer est un processus finement régulé et sa dérégulation peut causer la production d'ERO (Andrews & Nancy, 2000), plus particulièrement des radicaux hydroxyles très réactifs, selon la réaction de Fenton. Les résultats de ce test ont montré que tous les molécules testées ont un bon effet chélateur du fer à l'exception de la molécule H46 qui a présenté une faible activité. Cette activité de chélation est probablement due à la présence des hétérocycles avec des atomes d'azote à la structure de ces dérivés. La structure polycyclique des molécules et la nature des groupements attachés à ces cycles

jouent un rôle important dans la captation de fer. L'affinité du Fe(III) pour les ligands amines est en générale faible. Par contre, les amines chélatantes comme l'EDTA forment des complexes d'où l'on retrouve l'ion [Fe(EDTA) H₂O] au nombre de coordination sept (Prasakis, 1993).

En plus d'activité antiradicalaire et la chélation de fer, la préservation de GSH en sa forme réduit et l'inhibition de la peroxydation lipidique sont des propriétés très importantes pour un antioxydant. Tout d'abord, le glutathion est une protéine très riches en groupements thiol, il agit comme un antioxydant physiologique crucial de protection dans des systèmes biologiques (Fatima & Mahmood, 2007), fonctionne comme un capteur de radicaux libres (Romão et al., 2006). Parmi les molécules testés les dérivés H75 et H58 ont exercé le meilleur effet de préservation du GSH *in vitro* ce qui peut être la cause de présence de la fonction thiourée avec l'éthyle/méthyle liée au phényle qui confère à ces molécules une activité antioxydante importante pouvant protéger le GSH et inhiber leur oxydation en milieu alcalin

Cependant, La molécules H74 a la fonction thiourée et le groupement méthyle lié au cycle phényle mais elle n'a pas une activité notable. Pour cela, on suggère que le radicale méthyle benzène commun entre les molécules H75 et H58 a peut-être un rôle important dans l'activité de préservation de GSH, alors que les autres molécules n'ont pas une activité notable ce qui est due probablement à l'absence des fonctions chimiques qui peuvent préserver le GSH.

Pour confirmer cette activité de préservation de GSH, on a testé nos molécules sur l'homogénat du cerveau incubé *in vitro* avec le plomb. Ce dernier est considéré comme un poison du système nerveux, il induit des altérations irréversibles dans ce système liés principalement à la perturbation du statut redox du cerveau (Boeckx, 1986).

Le plomb a induit une augmentation de taux de GSH en absence et en présence de la molécule. Cette augmentation peut être expliquée par la participation du système enzymatique encore intact existant dans l'homogénat. Le glutathion réduit (GSH) qui est transformé en sa forme oxydée (GSSG) par l'action de Pb, FeSO₄, FeCl₃ (dans notre étude) va se restauré par la glutathion réductase en GSH (Zhu et al., 1994). Ganie et al. (2011) a enregistré que les niveaux des enzymes glutathion peroxydase (GPx) et le glutathion réductase (GR) augmentent lors d'un traitement par le plomb, cette augmentation est considérée comme une réponse physiologique du système antioxydant qui vise à régénérer le taux de GSH. De même, on note une augmentation très importante des niveaux de glutathion tissulaire dans l'homogénat traité par la combinaison (Pb

/H75) ce qui peut être expliquée par l'activité préservatrice d'oxydation du GSH exercée par cette molécule.

En plus de préservation de GSH, les molécules H75, H74 et H 58 ont empêchés la peroxydation lipidique. Le plomb cause l'augmentation du taux d'MDA. Cette augmentation expliquée par le rôle catalyseur de plomb dans les réactions de peroxydation lipidique (Christie & Costa, 1984; Yiin & Lin, 1995), potentiellement responsable de la toxicité du plomb sur différents organes. La diminution de la teneur de MDA dans l'homogénat traité par les molécules H75, H74 et H 58 est expliquée par leur effet antiperoxydant.

L'étude *in silico* de la perméabilité de nos molécules à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE) a révélé que la totalité de ces molécules peuvent atteindre le cerveau. La BHE est une barrière physique et métabolique qui isole le cerveau du reste de l'organisme (Cecchelli et al., 2007). Elle intervient quotidiennement dans la régulation de l'homéostasie cérébrale. La BHE est caractérisé par la présence de jonctions serrées qui limitent la diffusion de solutés et de cellules présentes dans la circulation sanguine et par l'expression polarisée de transporteurs qui contrôlent de manière spécifique la disponibilité cérébrale des nutriments, des médicaments ou des xénobiotiques (Weiss et al., 2009). La prédiction des propriétés pharmacocinétiques de nos molécules à l'aide du logiciel de propriétés chimiques de Molinspiration en ligne, a montré que tous les molécules H75, H74, H58, H54, H41, H31 respectent la loi de Lipinski, sauf la molécule H46 qui a un coefficient de partage plus de 5 ($\log P = 5.16$). Ce coefficient généralement noté (K) ou (P) est le rapport des activités chimiques d'un soluté entre deux phases organique et aqueux donc la molécule H 46 est caractérisée par une grande hydrophobicité qui cause un problème de biodisponibilité au contraire des autres molécules qui ont des valeurs optimales et respectent la loi de Lipinski ce qui lui confère une bonne biodisponibilité. Selon la loi, la plupart des molécules de type "médicaments" ont un $\log P \leq 5$, et un poids moléculaire ≤ 500 , car la perméabilité de BBB subit une réduction de 100 fois lorsque le poids moléculaire du médicament est augmenté de 300 à 450 Da (Pardridge, 2012; Fischer et al., 1998), un nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène ≤ 10 et un nombre de donneurs de liaisons hydrogène ≤ 5 . Les molécules qui respectent ses normes ont une bonne disponibilité dans l'organisme.

Les résultats de ce test *in silico* des caractéristiques pharmacocinétiques de nos molécules a ajouté une propriété très intéressante à leurs profils qui permettant de les classer parmi les substances qui peuvent construire la thérapie des maladies neurodégénératives au future.

Conclusion

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos produits par la méthode de piégeage de radical libre DPPH a mis en évidence que seul les benzothiazoles portant la fonction thiourée et les groupements éthyle / méthyle (H75, H74 et H58) ont un pouvoir antioxydant important. A des valeurs proche de celle de l'acide ascorbique, antioxydant de référence.

Les résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant des dérivés de benzothiazole par la méthode de piégeage du radical-cation ABTS, confirment ceux obtenus par le test de DPPH pour les composés H75, H74, H58. Les composés H54, H46, H41, H31 ont un pouvoir antioxydant moins important par rapport aux molécules précédent et à l'acide ascorbique.

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. En plus, un autre composé H54 qui porte une fonction urée et H75, H74 qui portent une fonction thiourée a montré aussi une capacité de neutralisation du peroxyde d'hydrogène. Ce qui reflète que l'activité des trois molécules H75, H74 et H54 est indépendante de la fonction thiourée ou urée. De ce fait, l'activité de ces trois molécules est probablement une conséquence de l'interaction des substitutions R de ces molécules avec l'H₂O₂.

Dans cette étude nous avons effectué le test de chélation de fer, les résultats obtenus montrent que tous les molécules possèdent un effet antioxydant, mais relativement faible par rapport à celui de l'EDTA. De plus, les molécules H75, H74, H58 ont montré une prévention considérable de l'oxydation du GSH en milieu alcalin et un bon effet dans le test de préservation de l'oxydation de GSH tissulaire, Alors que les molécules H75, H74, H58 n'ont présentées aucune activité de réduction du fer et ils ont montré une activité considérable d'inhibition de la peroxydation lipidique induit par le mélange Pb/ Fe Cl₃/ FeSO₄.

L'étude *in silico* de la perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE) et la prédiction des paramètres pharmacocinétique ont montré que tous les molécules étudiées sont perméables à travers la BHE en respectant la loi de Lipinski sauf la molécule H46 qui a un coefficient de partage >5.

Ces résultats indiquent que les dérivés de benzothiazol apparaissent comme un réservoir d'antioxydants susceptibles d'être utilisés dans la lutte contre les radicaux libres. Finalement, des études plus profondes des propriétés antioxydantes *in vivo* est nécessaires pour enrichir le profil pharmacologique de ces dérivés.

Liste des références

(A)

AHMAD B., KHAN M. R., SHAH N. A. et al. (2013). Potentiel antioxydant in vitro du dicliptera roxburghiana. *BMC Médecine complémentaire et alternative*, 13 (1) :140.

ALBERT, M. G., ROUSSELOT, D. B., ABEDINZADEH, Z. et al. (2003). Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *L' Actualité Chimique* : 11-12.

ANANTHASWAMY, H. N. & PIERCEALL, W. E. (1990). Molecular mechanisms of ultraviolet radiation carcinogenesis. *Photochemistry and photobiology*, 52 (6) : 1119-1136.

ANDREWS, N. C. (2000). Iron homeostasis: insights from genetics and animal models. *Nature Reviews Genetics*, 1 (3) : 208.

ATWOOD, C. S., MOIR, R. D., HUANG, X. et al. (1998) Dramatic aggregation of Alzheimer A β by Cu (II) is induced by conditions representing physiological acidosis. *Journal of Biological Chemistry*, 273 (21) : 12817-12826.

(B)

BAEZA, A. & MARANO, F. (2007). Pollution atmosphérique et maladies respiratoires-Un rôle central pour le stress oxydant. *médecine/sciences*, 23 (5) : 497-501.

BALOYANNIS, S. J., COSTA, V. & MICHMIZOS, D. (2004). Mitochondrial alterations Alzheimer's disease. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*, 19 (2): 89-93.

BAROUKI, R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. *médecine/sciences*, 22 (3) : 266-272.

BAUDIN, B., COHEN, A., BERTHELOT-GARCIAS, E. et al. (2009). Données épidémiologiques des maladies cardiovasculaires et prise en charge des accidents cardiovasculaires. *Revue francophone des laboratoires*, 2009 (409) : 27-39.

BEAL, M. F. (2005). Oxidative damage as an early marker of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiology of aging*, 26 (5): 585-586.

BELKHEIRI, N. (2010). *Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes* (Thèse de doctorat). Toulouse : Université Toulouse III-Paul Sabatier.

BHASKARA, R. M. V., SRINIVASULU, D., PEDDANNA, K. et al. (2015). Synthesis and antioxidant activity of new thiazole analogues possessing urea, thiourea, and selenourea functionality. *Synthetic Communications*, 45 (22): 2592-2600.

BLACK, H. S. (1987). Potential involvement of free radical reactions in ultraviolet light-mediated cutaneous damage. *Photochemistry and photobiology*, (46) : 213-221.

BOECKX, R. L. (1986). Intoxication par le plomb chez les enfants. *Chimie analytique*, 58 (2) : 274-288.

BONNEFONT-ROUSSELOT, D., BEAUDEUX, J. L., THÉRON, P. et al. (2004). Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. In : *Annales pharmaceutiques françaises*. Elsevier Masson : 147-157.

BONNEFONT-ROUSSELOT, D., PEYNET, J., BEAUDEUX, J. L. et al. (2002). Oxidative stress, vascular function and atherosclerosis. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16 (4) : 260-267.

BONNEFONT-ROUSSELOT, D., RAJI, B., WALRAND, S., et al. (2003). An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metabolism*, 52 (5) : 586-589.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E. & BERSET, C. (1995). Utilisation d'une méthode des radicaux libres pour évaluer l'activité antioxydante. *LWT-Science et technologie des aliments*, 28 (1) : 25-30.

BRASH, D. E., RUDOLPH, J. A., SIMON, J. A., et al. (1991). A role for sunlight in skin cancer: UV-induced p53 mutations in squamous cell carcinoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88 (22): 10124-10128.

BUTTERFIELD, D. A., REED, T., PERLUIGI, M. et al. (2006). Elevated protein-bound levels of the lipid peroxidation product, 4-hydroxy-2-nonenal, in brain from persons with mild cognitive impairment. *Neuroscience letters*, 397 (3) : 170-173.

(C)

LIPINSKI, C. A., LOMBARDO, F., DOMINY, B. W., FEENEY, P. J. (1997). Approches expérimentales et informatiques pour estimer la solubilité et la perméabilité dans des

environnements de découverte et de développement de médicaments. *Adv. Drug. Delivery Rev*, 23: 4-25.

CALKINS, M. J., MANCZAK, M., MAO, P. et al. (2011). Impaired mitochondrial biogenesis, defective axonal transport of mitochondria, abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Human molecular genetics*, 20 (23): 4515-4529.

CANO, N., BARNOUD, D., SCHNEIDER, S. M., et al. (2006). Traité de nutrition artificielle de l'adulte. *Springer Science & Business Media*, 2006.

CARRILLO-MORA, P., LUNA, R. & COLÍN-BARENQUE, L. (2014). Amyloid beta: multiple mechanisms of toxicity and only some protective effects?. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014.

CECHELLI, R., BEREZOWSKI, V., LUNDQUIST, S., et al. (2007). Modelling of the blood–brain barrier in drug discovery and development. *Nature reviews Drug discovery*, 6 (8): 650.

CHAFEKAR, S. M., HOOZEMANS, J. J. M., ZWART, R. et al. (2007). A β 1-42 Induces Mild Endoplasmic Reticulum Stress in an Aggregation State–Dependent Manner. *Antioxidants & redox signaling*, 9 (12): 2245-2254.

CHEIGNON, C., TOMAS, M., BONNEFONT-ROUSSELOT, D., et al. (2018). Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox Biology*, 14: 450-464.

CHOW, V. W., MATTSON, M. P., WONG, P. C. et al. (2010). An overview of APP processing enzymes and products. *Neuromolecular medicine*, 12 (1): 1-12.

CHRISTEN, Y. (2000). Oxidative stress and Alzheimer disease. *The American journal of clinical nutrition*, 71 (2): 621S-629S.

CHRISTIE, N. T. & COSTA, M. (1984). Évaluation in vitro de la toxicité de composés métalliques. *Recherche d'éléments traces biologiques*, 6 (2) : 139-158.

CHUNG, Y. C., CHEN, S. J., HSU, C. K., et al. (2005). Studies on the antioxidative activity of *Graptopetalum paraguayense* E. Walther. *Food Chemistry*, 91 (3): 419-424.

(D)

DANGLES, O., FARGEIX, G. & DUFOUR, C. (1999). One-electron oxidation of quercetin and quercetin derivatives in protic and non-protic media. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (7):1387-1396.

DAVIDSON, J. F., WHYTE, B., BISSINGER, P. H. et al. (1996). Oxidative stress is involved in heat-induced cell death in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93 (10): 5116-5121.

DELATTRE, J., BEAUDEUX, J. L. & BONNEFONT-ROUSSELOT, D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques). médecine/sciences.

DENNEHY, C. & TSOUROUNIS, C. (2010). A review of select vitamins and minerals used by postmenopausal women. *Maturitas*, 66 (4): 370-380.

DEPONTE, M. (2013). Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830 (5) : 3217-3266.

DESPOIT, J. C. & COURATIER, P. (2002). Stress oxydant et maladies neurodégénératives. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16 (4) : 253-259.

DHALLA, A. K., HILL, M. F. & SINGAL, P. K. (1996). Role of oxidative stress in transition of hypertrophy to heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 28 (2): 506-514.

DINIS, T. C., MADERE, V. M. & ALMEIDA, L. M. (1994). Action des dérivés phénoliques (acétaminophène, salicylate et 5-aminosalicylate) en tant qu'inhibiteurs de la peroxydation lipidique de la membrane et en tant que piègeurs radicaux peroxyde. *Archives de biochimie et biophysique*, 315 (1) : 161-169.

DUTTA, S., BONNER-WEIR, S., MONTMINY, M., et al. (1998). Regulatory factor linked to late-onset diabetes? *Nature*, 392 (6676): 560.

(E)

DERAI, E. (2016). *Effet de la combinaison de la vitamine C et la vitamine E sur le métabolisme et la distribution du zinc chez des rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc*. (Thèse de doctorat) .Annaba : Université Badji Mokhtar.

ELLMAN, G. L. (1959) Groupes sulfhydryle tissulaires. *Archives de biochimie et biophysique* , 82 (1) : 70-77.

ELLMAN, M. A. (1959). Spectrophotometric method for determination of reduced glutathione in tissues. *AnalytBiochem*, 74: 214-226.

EXALTO, L. G., WHITMER, R. A., KAPPELE, L. J. et al. (2010). An update on type 2 diabetes, vascular dementia and Alzheimer's disease. *Experimental gerontology*, 47 (11): 858-864.

(F)

FATIMA, S. & MAHMOOD, R. (2007). Vitamin C attenuates potassium dichromate-induced nephrotoxicity and alterations in renal brush border membrane enzymes and phosphate transport in rats. *Clinica chimica acta*, 386 (1-2) : 94-99.

FAVIER, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108.

FAVIER, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. In : *Annales pharmaceutiques françaises. Elsevier Masson*: 390-396.

FEIL, D. G., RAJAN, M., SOROKA, O. et al. (2011). Risk of hypoglycemia in older veterans with dementia and cognitive impairment: implications for practice and policy. *Journal of the American Geriatrics Society*, 59 (12): 2263-2272.

FLANAGAN, S. W., MOSELEY, P. L. & BUETTNER, G. R. (1998). Increased flux of free radicals in cells subjected to hyperthermia: detection by electron paramagnetic resonance spin trapping. *FEBS letters*, 431 (2) : 285-286.

FONDATION POUR LE LIBRE CHOIX. (2002). Pour une prostate en bonne santé. *La NUTRANEWS*.

FORETZ, M. & VIOLLET, B. (2014). Les nouvelles promesses de la metformine-Vers une meilleure compréhension de ses mécanismes d'action. *médecine/sciences*, 30 (1) : 82-92.

(G)

GAMMOUDI, I., DANDANA, A., CHAHED, H. et al. (2013). Évaluation des paramètres du stress oxydant chez des patients coronariens. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 28 (1) : 39-42.

GANIE, S. A., HAQ, E., MASOOD, A. et al. (2011). Antioxidant and protective effect of ethyl acetate extract of podophyllum hexandrum rhizome on carbon tetrachloride induced rat liver injury. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.

GARDÈS-ALBERT, M. & JORE, D. (2005). Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène. Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Paris: *Lavoisier* : 1-23.

GIACCO, F. & BROWNLEE, M. (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation research*, 107 (9) : 1058-1070.

GIBSON, G. E., KARUPPAGOUNDER, S. S. & SHI, Q. (2008). Oxidant-induced changes in mitochondria and calcium dynamics in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1147 (1): 221-232.

GOWTHAMAN, N. S. K., SINDUJA, B. & JOHN, S. A. (2016). Tuning the composition of gold-silver bimetallic nanoparticles for the electrochemical reduction of hydrogen peroxide and nitrobenzene. *RSC Advances*, 6 (68): 63433-63444.

GRIENGLING, K. K., SORESCU, D. & USHIO-FUKAI, M. (2000). NAD (P) H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circulation research*, 86 (5): 494-501.

GRUNDMAN, M. (2000). Vitamin E and Alzheimer disease: the basis for additional clinical trials. *The American journal of clinical nutrition*, 71 (2): 630S-636S.

GÜLÇİN, İ., HUYUT, Z., ELMASTAŞ, M, et al. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3 (1): 43-53.

GYURE, K. A., DURHAM, R, STEWART, W. F., et al. (2001). Intraneuronal A β -amyloid precedes development of amyloid plaques in Down syndrome. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 125 (4): 489-492.

(H)

HALENG, J., PINCEMAIL, J., DEFRAIGNE, J. O. et al. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62 (10): 628-38.

HALLIWELL, B. (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annual review of nutrition*, 16, (1): 33-50.

HANTZSCH, A. & WEBER, J. H. (1887). Ueerverbindungen des thiazols (pyridins der thiophenreihe). *Berichte der deutschenchemischen Gesellschaft*, 20 (2): 3118-3132.

HAROUN, M., TRATRAT, C., KOSITZI, K., et al. (2018). New Benzothiazole-based Thiazolidinones as Potent Antimicrobial Agents. Design, synthesis and Biological Evaluation. *Current topics in medicinal chemistry*, 18 (1): 75-87.

HARROUCHE, K., RENARD, J. F., BOUIDER, N. et al. (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.

(J)

JOMOVA, K., VONDRAKOVA, D., LAWSON, M. et al. (2010). Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Molecular and cellular biochemistry*, 345 (1-2): 91-104.

(K)

KANETO, H., XU, G., SONG, K. H. et al. (2001). Activation of the hexosamine pathway leads to deterioration of pancreatic β -cell function through the induction of oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 276 (33): 31099-31104.

KAUR, G., ALAM, M. S., JABBAR, Z. et al. (2006). Evaluation of antioxidant activity of Cassia siamea flowers. *Journal of ethnopharmacology*, 108 (3): 340-348.

KERI, R. S., PATIL, M. R., PATIL, S. A. et al. (2015). A comprehensive review in current developments of benzothiazole-based molecules in medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 89: 207-251.

KERKENI, M., ADDED, F., FARHAT, M. B. et al. (2008). Hyperhomocysteinaemia and parameters of antioxidant defence in Tunisian patients with coronary heart disease. *Annals of clinical biochemistry*, 45 (2) : 193-198.

KHELIL, S., FERCHICHI, S., GAMMOUDI, I. et al. (2010). Hyperhomocystéinémie et stress oxydant chez les insuffisants cardiaques. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 25 (4) : 191-196.

KOECHLIN-RAMONATXO, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20 (4) : 165-177.

KUMAR, V., KHAN, A. A., TRIPATHI, A. et al. (2015). Role of oxidative stress in various diseases: relevance of dietary antioxidants. *J. Pharm. Exp. Ther*, 4 : 126-132.

(L)

LAMERS, K. J. B., VOS, P., VERBEEK, M. M., et al. (2003). Protein S-100B, neuron-specific enolase (NSE), myelin basic protein (MBP) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) in cerebrospinal fluid (CSF) and blood of neurological patients. *Brain research bulletin*, 61 (3): 261-264.

LANE, N. (2003). *Oxygen: the molecule that made the world*. Oxford University Press, USA.

LEVERVE, X. (2009). Stress oxydant et antioxydants?. *Cahiers de nutrition et de diététique*, 44 (5) : 219-224.

(M)

MANCZAK, M., ANEKONDA, T. S., HENSON, E. et al. (2006). Mitochondria are a direct site of A β accumulation in Alzheimer's disease neurons: implications for free radical generation and oxidative damage in disease progression. *Human molecular genetics*, 15 (9): 1437-1449.

MANCZAK, M., CALKINS, M. J. & REDDY, P. (2011). Hemachandra. Impaired mitochondrial dynamics and abnormal interaction of amyloid beta with mitochondrial protein Drp1 in neurons from patients with Alzheimer's disease: implications for neuronal damage. *Human molecular genetics*, 20 (13): 2495-2509.

MANSOURI, A., EMBAREK, G., KOKKALOU, E. et al. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food chemistry*, 89 (3) : 411-420.

MOREL, Y. & BAROUKI, R. (1998). Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes. *médecine/sciences*.

(N)

NALIVAEVA, N. N. & TURNER, A. J. (2013). The amyloid precursor protein: a biochemical enigma in brain development, function and disease. *FEBS letters*, 587 (13): 2046-2054.

NEWMAN, S. F., SULTANA, R., PERLUIGI, M. et al. (2007). An increase in S-glutathionylated proteins in the Alzheimer's disease inferior parietal lobule, a proteomics approach. *Journal of neuroscience research*, 85 (7): 1506-1514.

NGUYEN, S., MAJOR, K., DÉMONET, J. F. et al. (2014). Diabète et démence. *Rev Med Suisse*, 10: 2090-6.

NOORI, S. (2012). An overview of oxidative stress and antioxidant defensive system. *Open access scientific reports*, 1 (8): 1-9.

(O)

OHKAWA, H., OHISHI, N. & YAGI, K. (1979). Dosage des peroxydes lipidiques dans les tissus animaux par réaction à l'acide thiobarbiturique. *Biochimie analytique*, 95 (2): 351-358.

OHLSSON, H., KARLSSON, K. & EDLUND, T. (1993). IPF1, a homeodomain-containing transactivator of the insulin gene. *The EMBO journal*, 12 (11): 4251-4259.

OPII, W. O., JOSHI, G., HEAD, E. et al. (2008). Proteomic identification of brain proteins in the canine model of human aging following a long-term treatment with antioxidants and a program of behavioral enrichment: relevance to Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 29 (1) : 51-70.

(P)

PALLET, V. & ENDERLIN, V. (2011). Vitamine A et vieillissement cérébral. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 18 (2): 68-75.

PAREJO, I., VILADOMAT, F., BASTIDA, J. et al. (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (23): 6882-6890.

PASTRE, J & PRIYMENKO, N. (2007). Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue de médecine vétérinaire*, 1 (4) : 180-189.

PINCEMAIL, J. & DEFRAIGNE, J. O. (2004). Les antioxydants : un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. In : *Symposium «antioxydants et alimentation»*, Institut Danone, Bruxelles.

PINCEMAIL, J., DEFRAIGNE, J. O., MEURISSE, M. et al. (1998). Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires 2^{ème} partie: la vitamine E. *Medi-Sphere*, 89 : 27-30.

POISSON-MOREAU DE LIZORIEUX, C. (2013). *Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique* (Thèse de doctorat). France : Université de Paris 11.

POPOVICI, C., SAYKOVA, I. & TYLKOWSKI, B. (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, 4 : 25-39.

POPP, G. (1889). Thiazole aus Amidothiazolen. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 250 (3): 273-280.

PRASAD, T. K., ANDERSON, M. D., MARTIN, B. A., et al. (1994). Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. *The Plant Cell*, 6 (1): 65-74.

PRASAKIS, Jimmy. (1993). *Comparaison de différents agents séquestrants et optimisation du prétraitement d'une pâte thermomécanique* (Thèse de doctorat). France : Université du Québec à Trois-Rivières.

(R)

RAMASAMY, R. & GOLDBERG, I. J. (2010). Aldose reductase and cardiovascular diseases, creating human-like diabetic complications in an experimental model. *Circulation research*, 106 (9): 1449-1458.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A. et al. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26 (9-10): 1231-1237.

REDDY, P. H., TRIPATHI, R., TROUNG, Q. et al. (2012). Abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration as early events in Alzheimer's disease: implications to mitochondria-targeted antioxidant therapeutics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1822 (5): 639-649.

RICKENBACHER, P. (2001). Herzinsuffizienz: Epidemiologie, Pathophysiologie. In : Swiss medical forum. *EMH Media*.

ROBERTS, R. O., KNOPMAN, D. S., PRZYBELSKI, S. A. et al. (2014). Association of type 2 diabetes with brain atrophy and cognitive impairment. *Neurology*, 82 (13) : 1132-1141.

ROMÃO, P. R. T., TOVAR, J., FONSECA, S. G. et al. (2006). Glutathione and the redox control system trypanothione/trypanothione reductase are involved in the protection of *Leishmania* spp. against nitrosothiol-induced cytotoxicity. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39 (3): 355-363.

ROSTKOWSKA, H., LAPINSKI, L. & NOWAK, M. J. (2018). Hydrogen-atom tunneling through a very high barrier; spontaneous thiol→ thione conversion in thiourea isolated in low-temperature Ar, Ne, H₂ and D₂ matrices. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 20 (20): 13994-14002.

RUCH, R. J., CHENG, S. j. & KLAUNIG, J. E. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, 10 (6): 1003-1008.

(S)

SAKAI, K., MATSUMOTO, K., NISHIKAWA, T. et al. (2003). Mitochondrial reactive oxygen species reduce insulin secretion by pancreatic β -cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 300 (1) : 216-222.

SAKAUE, S., TSUBAKINO, T., NISHIYAMA, Y. et al. (1993). Oxidation of aromatic amines with hydrogen peroxide catalyzed by cetylpyridinium heteropolyoxometalates. *The Journal of Organic Chemistry*, 58 (14) : 3633-3638.

SALLY, P. S. & GEORG, D. (2000). Cerveau gauche cerveau droit, de. Traduction par Simon Benoit-Dubrocard et Jeanine Blanc-Garin, *DeBoeck Université*.

SÁNCHEZ-MORENO, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8 (3): 121-137.

SHANLIN, F. U., STOCKER, R., DAVIES, Michael J. et al. (1997). Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal*, 324 (1): 1-18.

SHIMIZU, H., KIYOHARA, Y., KATO, I. et al. (2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study. *Stroke*, 35 (9) : 2072-2077.

SOUCY, T. A., SMITH, P. G., MILHOLLEN, M. A. et al. (2009). An inhibitor of NEDD8-activating enzyme as a new approach to treat cancer. *Nature*, 458 (7239) : 732.

Ma, H. C., Zhuang, X., Xu, J., Li, J., Wang, X., Min, W., Zhang, H., Zhang, Z. (2017). Miao, *Eur. J. Med. Chem.*16, 174.

STASIA, M. J. (2007). La granulomatose septique chronique X+-Un fabuleux modèle d'étude de l'activation du complexe NADPH oxydase. *médecine/sciences*, 23 (5) : 526-532.

STEVENS, R., STEVENS, L., & PRICE, N. C. (1983). Stabilités de divers composés thiol utilisés dans les purifications de protéines. *Biochemical Education* , 11 (2) : 70-70.

STOCLET, J. C. & SCHINI-KERTH, V. (2011). Flavonoïdes alimentaires et santé humaine. In : *Annales Pharmaceutiques Françaises. Elsevier Masson* : 78-90.

SWOMLEY, A. M., FÖRSTER, S., KEENEY, J. T. et al. (2014). Abeta, oxidative stress in Alzheimer disease: evidence based on proteomics studies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1842 (8): 1248-1257.

(T)

TALON-CROTEAU, J. (2016). La supplémentation nutritionnelle dans la prévention et le traitement des troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer.

TARIQ, S., ALAM, O. & AMIR, M. (2018). Synthesis, p38 α MAP kinase inhibition, anti-inflammatory activity, and molecular docking studies of 1, 2, 4-triazole-based benzothiazole-2-amines. *Archiv der Pharmazie*, 351 (3-4): 1700304.

TARIQ, S., KAMBOJ, P. & AMIR, M. (2019). Therapeutic advancement of benzothiazole derivatives in the last decennial period. *Archiv der Pharmazie*, 352 (1): 1800170.

THAKKAR, S. S., THAKOR, P., RAY, A. et al. (2017). Benzothiazole analogues: synthesis, characterization, MO calculations with PM6 and DFT, in silico studies and in vitro antimalarial as DHFR inhibitors and antimicrobial activities. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 25 (20): 5396-5406.

TÖNNIES, E. & TRUSHINA, E. (2017). Oxidative stress, synaptic dysfunction, and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 57 (4): 1105-1121.

TRAMUTOLA, A., LANZILLOTTA, C., PERLUIGI, M. et al. (2017). Oxidative stress, protein modification and Alzheimer disease. *Brain research bulletin*, 133: 88-96.

(U)

(UKPDS) UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY. et al. (1998). Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *The Lancet*, 352 (9131): 854-865.

(W)

WANG, Y. & BRINTON, R. D. (2016). Triad of risk for late onset Alzheimer's: Mitochondrial haplotype, APOE genotype and chromosomal sex. *Frontiers in aging neuroscience*, 8 : 232.

WEISS, N., MILLER, F., CAZAUBON, S. et al. (2009). Biologie de la barrière hémato-encéphalique: Partie I. *Revue neurologique*, 1651(1) : 863-874.

WIBERG, K. B. (1953). The mechanisms of hydrogen peroxide reactions. I. The conversion of benzonitrile to benzamide. *Journal of the American Chemical Society*, 75 (16): 3961-3964.

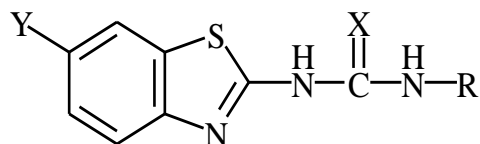
(Y)

YIIN, SJ et LIN, TH Peroxydation catalysée au plomb d'un acide gras insaturé essentiel. *Recherche sur les éléments traces biologiques*, 1995, vol. 50, no 2, p. 167-172.

YOSHIKAWA, T. & NAITO, Y. (2002). What is oxidative stress? *Japan medical association journal*, 45 (7): 271-276.

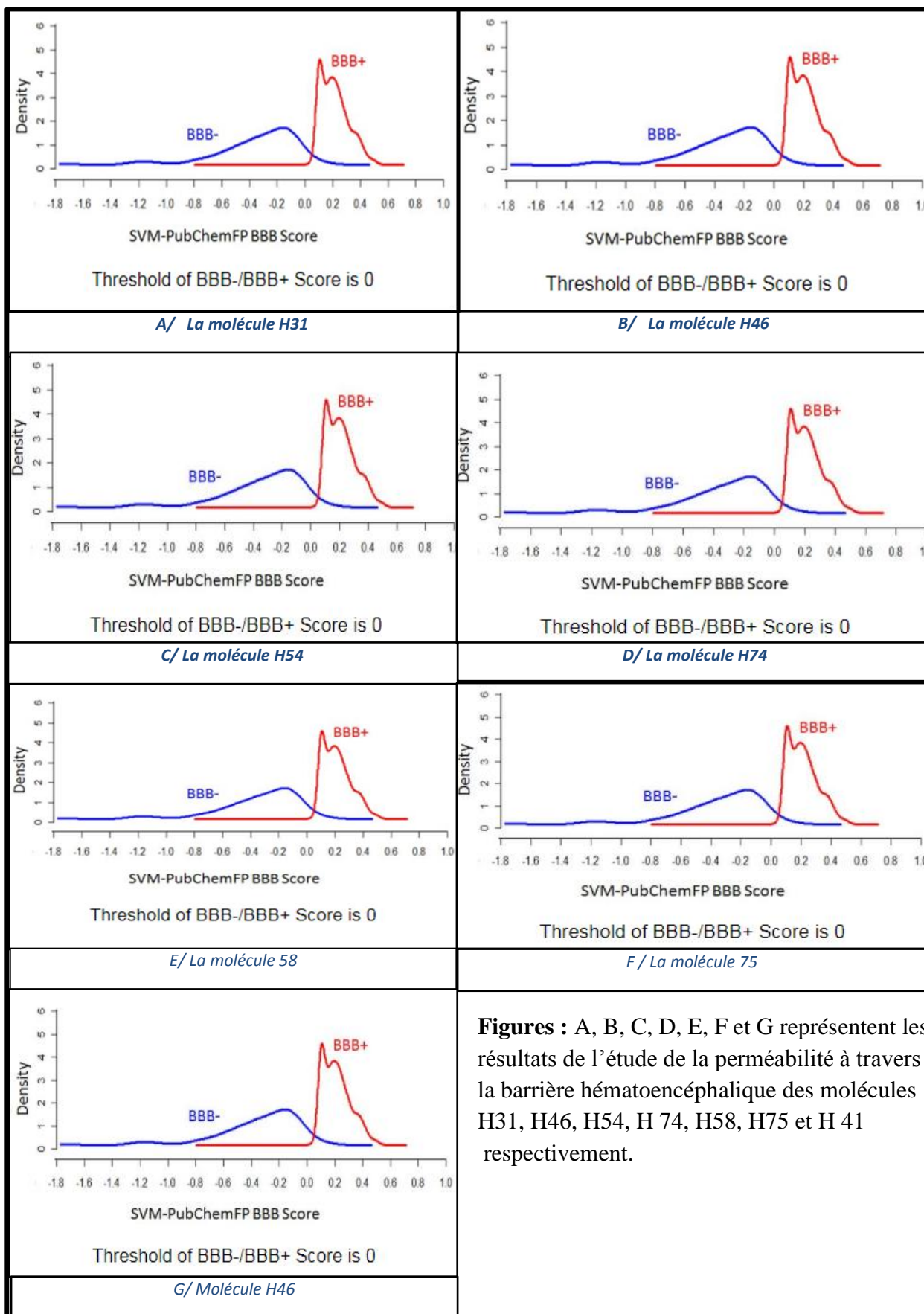
Annexe 01 : Les substituant caractéristiques des dérivés de benzothiazoles testé dans cette étude

Structure de base de benzothiazole :



Molécule	Y	X	R	Formule brute
H31	H	O	-CH(CH ₃) ₂	C ₁₁ H ₁₃ N ₃ OS
H41	Br	S		C ₁₄ H ₉ BrN ₄ O ₂ S ₂
H46	Br	O		C ₁₄ H ₉ BrClN ₃ OS
H54	C ₂ H ₅	O		C ₁₇ H ₁₄ N ₄ OS
H58	C ₂ H ₅	S		C ₁₇ H ₁₇ N ₃ S ₂
H74	CH ₃	S		C ₁₅ H ₁₂ N ₄ O ₂ S ₂
H75	CH ₃	S		C ₁₆ H ₁₅ N ₃ S ₂

Annexe 05 : Les résultats du test de la perméabilité à travers la BHE



Annexes 02 : Les résultats de test de DPPH

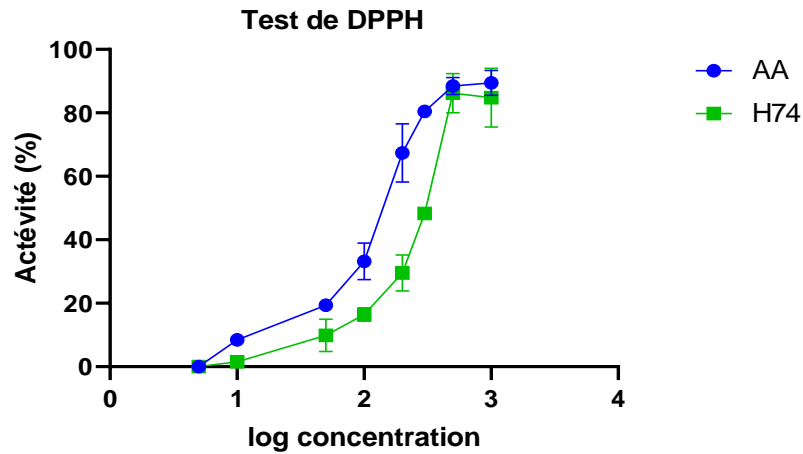


Figure 01 : L'activité scavenger du radical libre DPPH (%) de la molécule H74 et AA. Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'activité en moyenne \pm S.E.M ($n=3$).

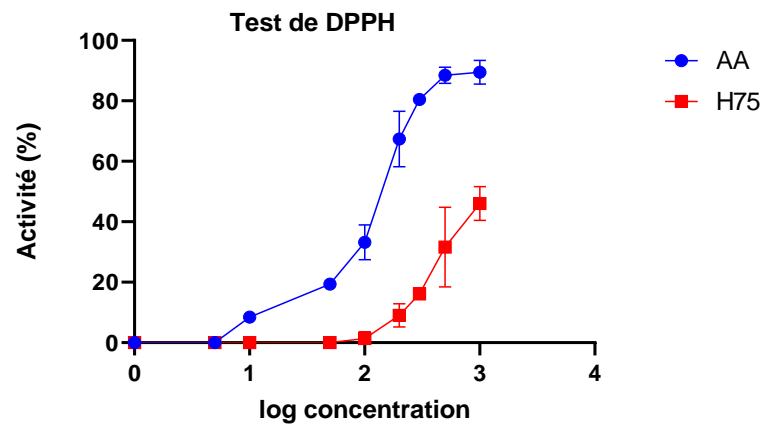


Figure 01 : L'activité scavenger du radical libre DPPH (%) de la molécule H75 et AA. Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'activité en moyenne \pm S.E.M ($n=3$).

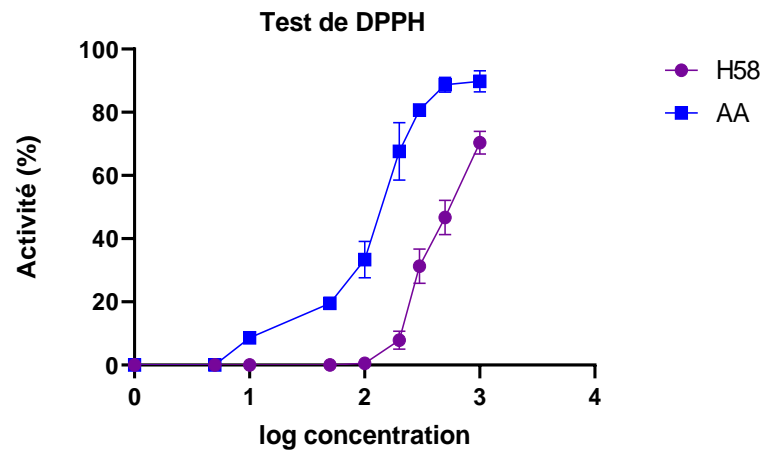


Figure 03 : L'activité scavenger du radical libre DPPH (%) de la molécule H58 et AA. Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'activité en moyenne \pm S.E.M ($n=3$).

Annexes 03 : Les résultats de test de DPPH

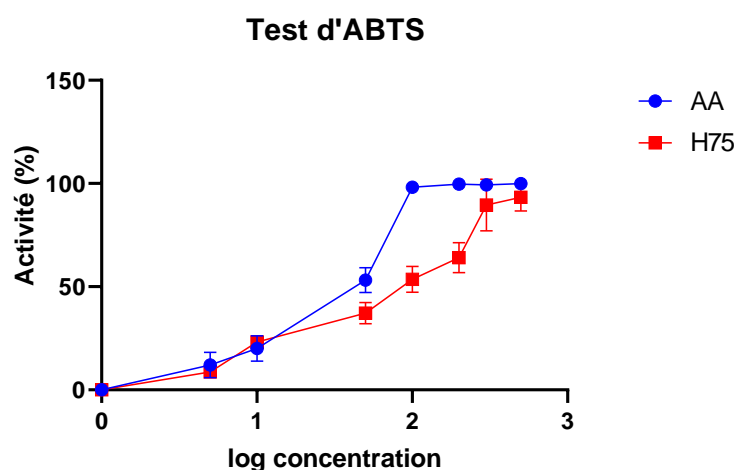


Figure 01 : L'activité scavenger du radical libre ABTS (%) de la molécule H75 et AA. Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'activité en moyenne \pm S.E.M ($n=3$).

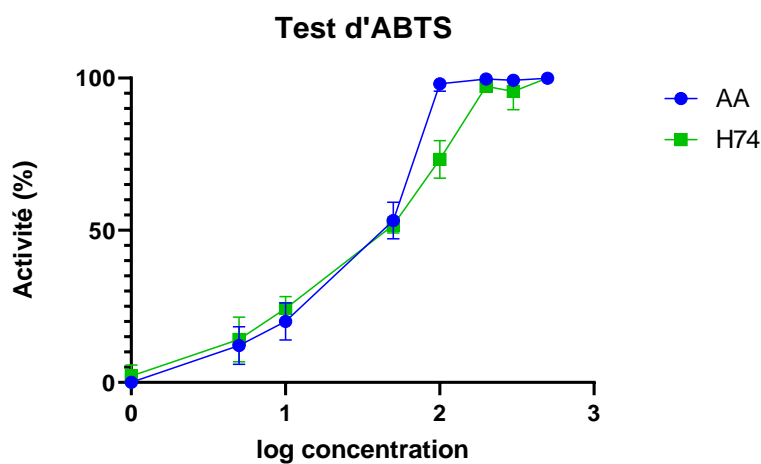


Figure 02 : L'activité scavenger du radical libre ABTS (%) de la molécule H74 et AA. Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'activité en moyenne \pm S.E.M ($n=3$).

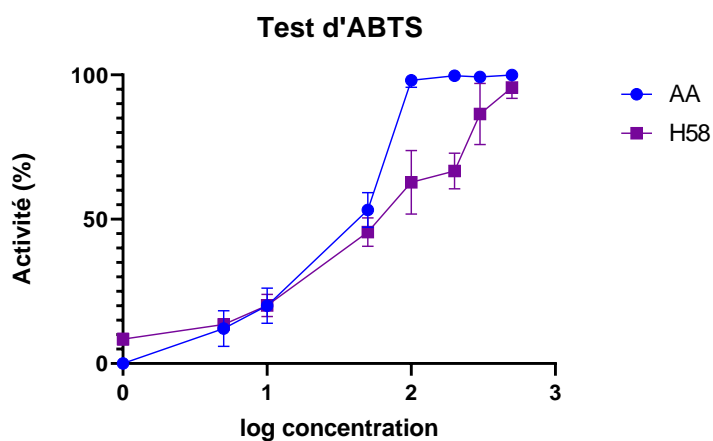


Figure 03 : L'activité scavenger du radical libre ABTS (%) de la molécule H58 et AA. Les résultats sont exprimés sous forme de pourcentage d'activité en moyenne \pm S.E.M ($n=3$).

Annexes 04 : Les courbes d'étalonnages

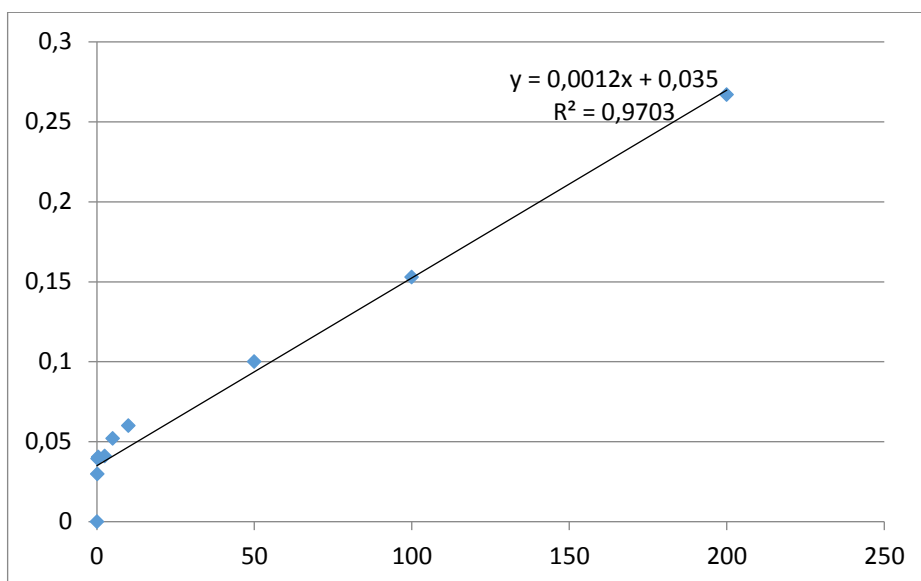


Figure 01 : Courbe d'étalonnage du GSH

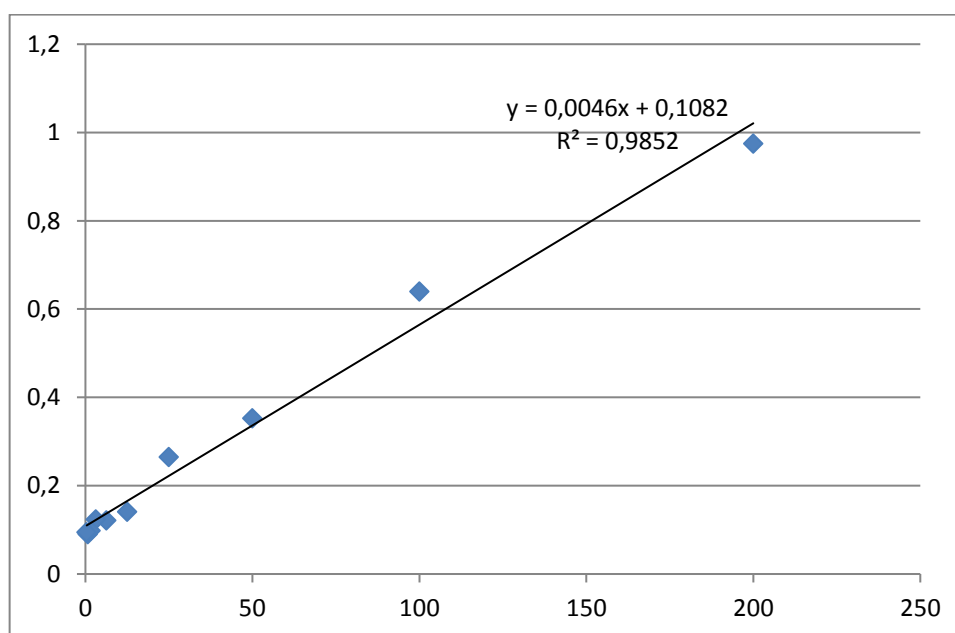


Figure 01 : Courbe d'étalonnage du GSH tissulaire

Résumé

Le stress oxydant trouve sa source au déséquilibre entre systèmes pro-oxydants et antioxydants, au profit des premiers. Il est impliqué dans de nombreuses pathologies, comme cause ou conséquence de celles-ci. Ce travail de recherche est centré sur l'étude de l'activité antioxydante des quelques dérivés de la benzothiazole nouvellement synthétisées possédant des fonctions thio-urée ou urée. L'évaluation de l'activité antioxydante in vitro a révélé, une activité importante de piégeage des radicaux DPPH et ABTS des molécules H75, H74 et H58 qui apportent la fonction thiourée avec éthyl/méthyl liée au cycle benzénique. Ces trois molécules ont montrées également des activités considérables dans le test de préservation de l'oxydation du GSH. D'autre part, la molécule H54 qui apporte la fonction urée avec éthyle liée au cycle benzénique a montré une bonne activité de neutralisation d'H₂O₂ comparable avec la molécule H75 qui montre l'activité la plus puissante dans ce test. Le test du chélation de fer a révélé que tous les molécules testé sont des chélateurs de fer sauf la molécule H46. L'étude in silico de la perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE) et la prédiction des paramètres pharmacocinétiques a révélé que tous ces molécules peuvent passer à travers la BHE et respectent la loi de Lipinski des paramètres pharmacocinétique. Ces résultats suggèrent que les molécules H74, H75 et H 58 sont des candidats thérapeutiques potentiels des maladies neurodégénératives où le stress oxydant est l'une de ces acteurs majeurs.

Mots Clés : Stress oxydant, Benzothiazole, activité antioxydant, les maladies neurodégénératives, loi de Lipinski, barrière encéphalique.

Summary

Oxidative stress is mainly an imbalance between pro-oxidant systems and antioxidants, in favor of the former. It is involved in many pathologies, as a cause or consequence. This research work focuses on the study of the antioxidant activity of some newly synthesized benzothiazole derivatives with thiourea or urea functions. The evaluation antioxidant activity in vitro revealed an important activity of DPPH and ABTS radical trapping of the H75, H74 and H58 molecules bring the thiourea function with ethyl / methyl linked to the benzene ring. These three molecules also showed considerable activity in the preservation of GSH oxidation. On the other hand, the molecule H54 bring urea function with ethyl linked to the benzene ring showed a good neutralizing activity of H₂O₂ comparable to that presented by the molecule H75. The iron chelation test revealed that all the molecules tested are iron chelators except for the H46 molecule. The in silico study of the permeability across the blood-brain barrier (BBB) and the prediction of pharmacokinetic parameters revealed that all the tested molecules could pass through the BBB and comply with Lipinski's law of pharmacokinetic parameters. These results suggest that the H74, H75 and H58 molecules are potential therapeutic candidates for neurodegenerative diseases where oxidative stress is one of its major players.

Key words: Oxidative stress, Benzothiazole, antioxidant activity, neurodegenerative diseases, Lipinski law, encephalic barrier.

ملخص

الإجهاد التأكسدي يستمد مصدره من عدم التوازن بين الأنظمة المؤيدة للأكسدة ومضادات الأكسدة، لصالح الأول. يشارك في العديد من الأمراض، كسبب أو نتيجة لذلك. يركز هذا العمل البحثي على دراسة نشاط مضادات الأكسدة في بعض مشتقات البنزوثيازول التي تم تصنيعها حديثاً والتي تملك وظائف ثيوريا أو وظائف اليوريا. وكشف تقييم النشاط المضاد للأكسدة *in vitro* في تعديل الجذور الحرة و DPPH و ABTS عن فعالية الجزيئات H75, H74, H58 التي تملك وظيفة ثيوريا مع مجموعة إيثيل أو مثيل مرتبط بحلقة بنزين. أظهرت هذه الجزيئات الثلاثة أيضاً نشاطاً كبيراً في اختبار حماية الـ GSH من الأكسدة. من ناحية أخرى الجزيئة H54 التي تملك وظيفة يوريا مع مجموعة إيثيل مرتبطة بحلقة البنزين أظهرت نشاطاً تحييد جيد للجذر H₂O₂ قابل للمقارنة مع نشاط الجزيئة H75 التي تظهر النشاط الأكبر في هذا الاختبار. كشف اختبار إزالة معدن الحديد عن أن جميع الجزيئات قادرة على ترصيد الحديد ما عدا الجزيئة H46. وقد أظهرت الدراسة النظرية *in silico* للنفاذية عبر حاجز الدم في الدماغ و التنبؤ بالخصائص الحركية الدوائية أن كل الجزيئات تستطيع العبور من خلال هذا الحاجز و كلها تخضع لقانون Lipinski. تشير هذه النتائج إلى أن الجزيئات H75 H74 H58 مرشحة لتكون مواداً علاجية فعالة للأمراض العصبية التي يكون الإجهاد التأكسدي أحد أسبابها الرئيسية.

الكلمات المفتاحية: الإجهاد التأكسدي، البنزوثيازول، نشاط مضادات الأكسدة، الأمراض العصبية، قانون Lipinski، حاجز الدماغ.