

PROPRIETES ANTIRADICALAIRES, ANTILIPOPEROXYDANTES ET ANTIOXYDANTES DE FLAVONOIDES

Th. BRASSEUR⁽¹⁾, L. ANGENOT⁽¹⁾, J. PINCEMAIL⁽²⁾ et C. DEBY⁽²⁾

(1) Laboratoire de Pharmacognosie, Institut de Pharmacie,
Université de Liège, 5, rue Fusch, B-4000 LIEGE-BELGIQUE

(2) Laboratoire de Biochimie et de Radiobiologie, Institut
de Chimie, Bâtiment B6, Université de Liège, Sart Tilman
B-4000 LIEGE-BELGIQUE



MOTS-CLES. Flavonoïdes, Antiradicalaire, Antilipoperoxydant, Antioxydant

INTRODUCTION

Dans la littérature biochimique, le terme "antioxydant" désigne à la fois des substances antiradicalaires, antilipoperoxydantes et antioxydantes au sens strict du terme, c'est-à-dire qui sont plus facilement oxydables que le substrat à protéger. Nous avons testé ces différentes propriétés sur des flavonoïdes afin de vérifier la validité du concept "antioxydant" pris au sens large et d'établir des relations structure/activité.

MATERIEL ET METHODES

Les substances utilisées sont dissoutes dans des solutions alcalines diluées et ajoutées aux différents systèmes décrits ci-dessous. Nous avons utilisé un poids moléculaire moyen de 763 pour la rutine sulfate sodique. Pour chaque test, nous ne donnerons les résultats que pour une seule concentration.

Test n° 1. Action antiradicalaire contre le radical diphenylpicrylhydrazyle. On ajoute à une solution tamponnée à pH 7, une solution méthanolique du radical (Fluka). Après 5 minutes, on extrait le radical encore intact par du toluène. On mesure l'absorbance de la solution organique violette à 517 nm (3). Concentration en flavonoïdes: $3,3 \cdot 10^{-6}M$. Les résultats expriment la teneur en radical en % du témoin.

Test n° 2. Action antiradicalaire contre le radical hydroxyle. Une solution aqueuse d'acide méthylthio-4 oxo-2 butyrique (KMB $10^{-3}M$; Sigma) tamponnée à pH 7,4 est soumise à irradiation γ (10 Gy; ^{137}Cs) en vials scellés sous N_2O . L'éthylène formé par la réaction entre le KMB et les radicaux hydroxyles est quantifié par CPG: colonne Porapak T, t° : 100°C, injecteur: 160°C, détecteur à ionisation de flamme: 180°C; phase mobile: argon (1). Concentration en flavonoïdes: $10^{-4}M$. Les résultats indiquent le dégagement d'éthylène exprimé en % du témoin.

Test n° 3. Action antiradicalaire contre le radical hydroxyle. Une solution d'acide hyaluronique (Sigma; 1,6 mg/ml) tamponnée à pH 7,4 est soumise à irradiation γ . Les radicaux hydroxyles produits entraînent une dépolymérisation de l'acide hyaluronique et une baisse de viscosité mesurable à l'aide d'un viscosimètre d'Ostwald (5). Concentration en flavonoïdes: $10^{-4}M$. Les

résultats expriment la baisse de viscosité en % du témoin.

Ce test n'est pas applicable aux substances produisant elles-mêmes une chute importante de viscosité (quercétine).

Test n° 4. Action antilipoperoxydante. Un cycle d'autooxydation est initié et maintenu par incubation à pH 6,4 d'acide linoléique peroxydé ($10^{-5}M$), d'acide arachidonique ($10^{-3}M$), d'ions ferreux ($10^{-4}M$) et d'EDTA ($5.10^{-5}M$). Les lipoperoxydes formés sont dosés par une méthode à la diméthylparaphénylènediamine (2). Concentration en flavonoïdes: $10^{-3}M$. Les résultats expriment la formation de lipoperoxydes en % du témoin.

Test n° 5. Action antioxydante au sens strict. On incube pendant 20 minutes à 37°C une solution d'acide ascorbique tamponnée à pH 8,2. L'acide ascorbique résiduel est dosé par une méthode colorimétrique à l'acide tungstique (4). Concentration en flavonoïdes: $10^{-4}M$. Les résultats expriment le pourcentage résiduel d'acide ascorbique. En l'absence de flavonoïde, il reste 15 % d'acide ascorbique.

RESULTATS ET DISCUSSION

A la lecture du tableau, nous voyons que le terme antioxydant ne peut être employé à la légère: l'héspéridine a une action prolipoperoxydante et la morine favorise l'oxydation de l'acide ascorbique. Nous observons par contre une bonne corrélation entre les différents tests et nous pouvons établir les relations structure/activité suivantes:

la présence d'hydroxyles en position 5 et 7 (cycle A) semble sans effet
la présence d'hydroxyles sur les cycles B et C est importante (lutéoline > apigénine > chrysine et quercétine > kaempférol)

les substances possédant 2 hydroxyles en ortho sur le cycle B sont plus actives que celles n'en ayant qu'un seul ou en ayant 2 en méta (quercétine > morine)

la présence d'un hydroxyle en position 3 (kaempférol > apigénine et quercétine > lutéoline) et d'une double liaison dans le cycle C (quercétine > dihydroquercétine) augmente l'activité

la substitution des hydroxyles des cycles B et C produit une baisse d'activité (quercétine > rutine > rutine-sulfate > troxérutine)

CONCLUSION

Nos résultats indiquent que le terme antioxydant ne peut plus être employé au sens large et montrent le rôle considérable que jouent les fonctions phénoliques des cycles B et C et la double liaison du cycle C dans l'activité des flavonoïdes.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- DEBY C. et DEBY-DUPONT G. (1981) - Clin. Respir. Physiol., 17(suppl.), 129-139.
- 2- DEBY C. et coll. (1983) - Experientia, 39, 1113-1115.
- 3- DEBY C. et MAGOTTEAUX G. (1970) - C.R. Soc. Biol., 164(12), 2675-2681.
- 4- KZAU A. (1978) - Clin. Chem. Acta, 86, 153.
- 5- VAN CANEGHEM P., DEBY C. et BACQ Z.M. (1982), C.R. Soc. Biol., 176, 391.

TABLEAU DES RESULTATS EXPRIMES EN % *

	Structure	Test n° 1	Test n° 2	Test n° 3	Test n° 4	Test n° 5
Chrysrine	dihydroxy-5,7 flavone	100	105	-	107	16
Apigénine	trihydroxy-5,7,4' flavone	100	104	98	108	37
Lutéoline	tétrahydroxy-5,7,3',4' flavone	65	85	69	77	41
Kaempférol	tétrahydroxy-3,5,7,4' flavone	90	94	70	55	58
Quercétine	pentahydroxy-3,5,7,3',4' flavone	55	72	-	48	80
Morine	pentahydroxy-3,5,7,2',4' flavone	80	69	78	80	0
Dihydroquercétine	**	73	89	63	89	58
Rutine	rutinosyl-3 quercétine	64	80	70	75	67
Rutine sulfate sodique	***	93	83	88	98	40
Troxérutine	trihydroxyéthyl-7,3',4' rutine	100	88	98	101	12
Hespéridine	rutinosyl-7 hespérétine****	96	111	88	130	10

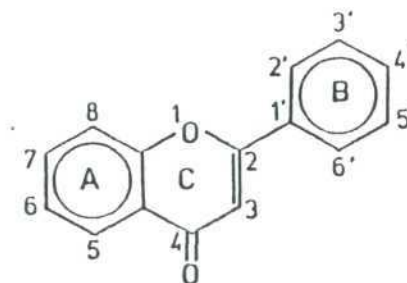
559

* Voir Matériel et Méthodes

** Quercétine ayant perdu la double liaison du cycle C

*** Mélange de rutine et de dérivés sulfatés; PM moyen choisi: 763

**** Hespérétine = méthoxy-4' trihydroxy-5,7,3' flavanone



FLAVONE