

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE
Union-Discipline-Travail

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année : 2013-2014

N° :1613/11

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

M. YAO KOUAME Appolinaire

*Evaluation des activités antifongiques de
quelques benzimidazolyl-chalcones analogues
du Chlormidazole*

Soutenue publiquement le **06 Décembre 2013**

COMPOSITION DU JURY

Président : Madame HAUHOUOT ATTOUNGBRE M.L, Professeur Titulaire
Directeur de thèse : Monsieur OUATTARA MAHAMA, Maître de Conférences Agrégé
Asseseurs : Monsieur YAVO WILLIAM, Maître de Conférences Agrégé
: Monsieur AMARI ANTOINE SERGE G, Maître assistant

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

HONORARIAT

*Directeurs/Doyens Honoraires :
André*

Professeur RAMBAUD

Professeur FOURASTE Isabelle

:

Professeur BAMBA Moriféré

Professeur YAPO Abbé †

Professeur MALAN Kla Anglade

Professeur KONE Moussa †

I. ADMINISTRATION

Directeur	Professeur ATINDEHOU Eugène
Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie	Professeur Ag INWOLEY Kokou André
Sous-Directeur Chargé de la Recherche	Professeur Ag OGA Agbaya Serge
Secrétaire Principal	Monsieur BLAY Koffi
Secrétaire Principal Adjoint	Madame AKE Kouadio Api Eugénie
Documentaliste	Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert
Intendant	Monsieur GAHE Alphonse
Responsable de la Scolarité	Madame DJEDJE Yolande

II. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

1. PROFESSEURS TITULAIRES

Mme AKE Michèle

Chimie Analytique

M	ATINDEHOU Eugène	Chimie Analytique, Bromatologie
Mme	ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L.	Biochimie et Biologie Moléculaire
	KONE BAMBA Diéneba	Pharmacognosie
MM	KOUADIO Kouakou Luc	Hydrologie, Santé Publique
	MALAN Kla Anglade	Chimie Ana., contrôle de qualité
	MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie
	MONNET Dagui	Biochimie et Biologie Moléculaire
	YOLOU Séri Fernand	Chimie Générale

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM	ABROGOUA Danho Pascal	Pharmacologie
	AHIBOH Hugues	Biochimie et Biologie moléculaire
	DANO Djédjé Sébastien	Toxicologie.
Mme	AKE EDJEME N'guessan Angèle	Biochimie et Biologie moléculaire
MM	INWOLEY Kokou André	Immunologie
	KABLAN Brou Jérôme	Pharmacologie
	KOFFI Angely Armand	Pharmacie Galénique
Mme	KOUAKOU SIRANSY N.	Pharmacologie
MM	KOUASSI Dinard	Hématologie
	LOUKOU Yao Guillaume	Bactériologie-Virologie
	OGA Agbaya Stéphane	Santé publique et Economie de la santé
	OUATTARA Mahama	Chimie thérapeutique
Mme	SAWADOGO Duni	Hématologie
MM	YAPI Ange Désiré	Chimie organique, chimie thérapeutique

YAVO William

Parasitologie - Mycologie

ZINZENDORF Nanga Yessé

Bactériologie-Virologie

3. MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

M

DIAFOUKA François

Biochimie et Biologie de la Reproduction

4. MAITRES ASSISTANTS

MM

AMARI Antoine Serge G.

Législation

AMIN N'Cho Christophe

Chimie analytique

Mme

BARRO KIKI Pulchérie

Parasitologie - Mycologie

MM

BONY François Nicaise

Chimie Analytique

CLAON Jean Stéphane

Santé Publique

.

DEMBELE Bamory

Immunologie

DJOHAN Vincent

Parasitologie -Mycologie

EZOULIN Miezan Jean Marc

Toxicologie

GBASSI K. Gildas

Chimie Minérale

Mme

KOUASSI AGBESSI Thérèse

Bactériologie-Virologie

MM

MANDA Pierre

Toxicologie

OUASSA Timothée

Bactériologie-Virologie

Mme

SACKOU KOUAKOU Julie

Santé Publique

SANGARE Mahawa

Biologie Générale

SANGARE TIGORI Béatrice

Toxicologie

M YAYO Sagou Eric

Biochimie et Biologie moléculaire

5. ASSISTANTS

MM ADJOUNGOUA Attoli Léopold

Pharmacognosie

ADJAMBRI Adia Eusebé

Hématologie

Mme AFFI-ABOLI Mihessé Roseline

Immunologie

Mme AKA-ANY-GRA Armelle Adjoua S.

Pharmacie Galénique

MM AMICHIA Attoumou Magloire

Pharmacologie

ANGORA Kpongbo Etienne

Parasitologie

Mme AYE YAYO Mireille

Hématologie

MM BROU Amani Germain

Chimie Analytique

CABLAN Mian N'Ddey Asher

Bactériologie-Virologie

DALLY Laba

Galénique

Mlle DIAKITE Aïssata

Toxicologie

M DJADJI Ayoman Thierry Lenoir

Pharmacologie

Mlle DOTIA Tiepordan Agathe

Bactériologie-Virologie

M EFFO Kouakou Etienne

Pharmacologie

Mlle FOFIE N'Guessan Bra Yvette

Pharmacognosie

Mmes HOUNSA Annita Emeline Epse Alla

Sante Publique

IRIE N'GUESSAN Amenan

Pharmacologie

MM KABRAN Tano Kouadio Mathieu

Immunologie

KAMENAN Boua Alexis Thierry

Pharmacologie

	KACOU Alain	Chimie Thérapeutique
	KASSI Kondo Fulgence	Parasitologie-Mycologie
Mlle	KONATE Abibatou	Parasitologie-Mycologie
M	KONAN Konan Jean Louis	Biochimie et Biologie moléculaire
Mme	KONE Fatoumata	Biochimie et Biologie moléculaire
MM	KOUAKOU Sylvain Landry	Pharmacologie
	KOUAME Denis Rodrigue	Immunologie
	KPAIBE Sawa Andre Philippe	Chimie Analytique
	LATHRO Joseph Serge	Bactériologie-Virologie
Mme	LEKADOU KORE Sylvie	Santé Publique
M	N'GUESSAN Alain	Galénique
Mmes	N'GUESSAN-BLAO Amino Rebecca J.	Hématologie
	OUAYOGODE-AKOUBET Aminata	Pharmacognosie
	POLNEAU VALLEE Sandrine	Mathématiques biophysique
MM	TRE Eric Serge	Chimie Analytique
Mmes	VANGA ABO Henriette	Parasitologie-Mycologie
	YAO ATTIA Akissi Régine	Santé publique
M.	YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale

6. IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa	Professeur Titulaire
-----------------	----------------------

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

III. ENSEIGNANTS VACATAIRES

1. PROFESSEURS

MM	ASSAMOI Assamoi Paul	Biophysique
	DIAINE Charles	Biophysique
	OYETOLA Samuel	Chimie Minérale
	ZOUZOU Michel	Cryptogamie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mme	TURQUIN née DIAN Louise	Biologie Végétale
M	YAO N'Dri	Pathologie Médicale
	KOUAKOU Tanoh Hilaire	Botanique et Cryptogamie

3. NON UNIVERSITAIRES

MM.	AHOUSI Daniel Ferdinand	Secourisme
	DEMPAH Anoh Joseph	
	N'GOZAN Marc	Secourisme
	KONAN Kouacou	Diététique
	KONKON N'Dri Gilles	Botanique, Cryptogamie
Mme	PAYNE Marie	Santé Publique

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

I. BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

Professeur	LOUKOU Yao Guillaume	Maître de Conférences Agrégé
		Chef de département
Professeur	ZINZENDORF Nanga Yessé	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs KOUASSI AGBESSI Thérèse	Maître Assistante	
	OUASSA Timothée	Maître Assistant
	CABLAN Mian N'Dédey Asher	Assistant
	DOTIA Tiepordan Agathe	Assistante
	LATHRO Joseph Serge	Assistant

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

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

III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

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

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

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

YOLOU Séri Fernand	Professeur Titulaire
Docteurs AMIN N'cho Christophe	Maître Assistant
BONY Nicaise François	Maître Assistant
GBASSI K. Gildas	Maître Assistant
BROU Amani Germain	Assistant
KPAIBE Sawa Andre Philippe	Assistant
TRE Eric Serge	Assistant

V. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE

Professeur	YAPI Ange Désiré	Maître de Conférences Agrégé
		Chef de Département
Professeur	OUATTARA Mahama	Maître de Conférences Agrégé
Docteur	KACOU Alain	Assistant

VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE

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

KASSI Kondo Fulgence	Assistant
KONATE Abibatou	Assistante
VANGA ABO Henriette	Assistante

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

Professeur	KOFFI Armand A.	Maître de Conférences Agrégé
		Chef de Département
Docteurs	AMARI Antoine Serge G.	Maître Assistant
	AKA-ANY Grah Armelle A.S.	Assistante
	DALLY Laba Ismaël	Assistant
	N'GUESSAN Alain	Assistant

VIII. PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE,
CRYPTOGAMIE,

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

OUAYOGODE-AKOUBET Aminata

Assistante

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

Professeurs

KABLAN Brou Jérôme

Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

ABROGOUA Danho Pascal

Maître de Conférences Agrégé

KOUAKOU SIRANSY N'doua G. Maître de Conférences Agrégé

Docteurs AMICHIA Attoumou M

Assistant

DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Assistant

EFFO Kouakou Etienne

Assistant

IRIE N'GUESSAN Amenan G. Assistante

KAMENAN Boua Alexis Assistant

KOUAKOU Sylvain Landry

Assistant

X. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur

ATINDEHOU Eugène

Professeur Titulaire

Chef de Département par intérim

Docteur POLNEAU VALLEE Sandrine Assistante

XI. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE

Professeur	KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire
		Chef de département
Professeurs	DANO Djédjé Sébastien	Maître de Conférences Agrégé
	OGA Agbaya Stéphane	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CLAON Jean Stéphane	Maître Assistant
	EZOULIN Miézan Jean Marc	Maître Assistant
	MANDA Pierre	Maître Assistant
	SANGARE TIGORI B.	Maître Assistante
	SACKOU KOUAKOU J.	Maître Assistante
	DIAKITE Aissata	Assistante
	HOUNSA-ALLA Annita Emeline	Assistante
	LEKADOU KORE Sylvie	Assistante
	YAO ATTIA Akissi Régine	Assistante

DEDICACES

Je dédie cette thèse...

A LA MEMOIRE DE MON PERE FEU Gbangbo Yao

J'aurai souhaité que tu vives pour voir ce que tes enfants ont réalisés derrière. Toi qui a tend lutter et souffert pour te frayer un chemin dans la vie et au soir de ta fortune tu t'en es allé précocement nous te rendons grâce .Sache que tes enfants ont souffert de la méchanceté mais comme tu nous as appris à lutter aujourd'hui nous te représentons dignement dans la lutte.

A MA MERE, Gbangbo Kouadio Amenan

Je te remercie pour ton amour illimité pour tes enfants toi qui as subit toutes les humiliations malgré tous tu étais toujours là pour protéger nous tes enfants des injustices et de la méchanceté. Nous te remercions et te rendons grâce.

A MON GRAND FRERE YAO HERMANN

Tu as été pour moi comme un père, un modèle de réussite, d'amour et de partage. Aujourd'hui, je sais que ta joie est grande car c'est l'accomplissement ton rêve. Que les divinités et forces protectrices de l'univers me donne la force de t'honorer éternellement pour la vie sans commencement ni fin.

A MA FILLE

Papa t'aime.

A MON PARRAIN M. ALPHONSE KOSSI

Merci pour votre soutien et votre grande compassion. Nous vous souhaitons une bonne santé et longévité.

**A DR EFFI N'DOUA ESTHER TITULAIRE DE LA PHARMACIE ARTEMIA
YOPOUGON.**

Merci pour votre soutien et vos conseils entend que mère .Par ce travail, nous profitons pour vous témoigner notre grande gratitude, envers votre grandeur d'esprit, de sagesse, de partage et d'amour.

A Monsieur KOUASSI KOUAME SERAPHIN

A Monsieur AZA ANDRE

A Monsieur OZIGRE KOUDOU

A Monsieur et Madame N'CHO BERNABE

A MONSIEUR ET MADAME DABIA ZEZE FELIX

Merci pour votre accueil votre soutien et vos conseils.

A TOUS MES AMIS MEMBRES BODDHISATVA SORTI DE TERRE

Sachez que je vous porte dans mon cœur et J'ai une grande compassion pour vous. Vos efforts pour conduire l'humanité vers la véritable paix et bonheur sont acclamés par les forces protectrices et divinités de l'univers. Je vous dédie ce travail.

A MES FRERES, SŒURS et COUSINS, COUSINES.

A vous tous frères de sang, qui m'avez supporté, soutenu, encouragé. Je ne vous oublierai jamais car nous sommes liés par le sang. Je pris pour votre bonheur, votre bonne santé et longévité.

**A L'ENSEMBLE DES ETUDIANTS DE LA 30^{ème} promotion et l'ENSEMBLE DU
BUREAU DE L'ADEPHARM DE 2006-2013**

- Dr BOUATINI SEVERIN
- Dr MOULO YVES CHRISTIAN
- DJAHA FRANCIS
- TCHE RICHMON
- KOBOU DIDIER
- FRANC OLIVIER
- DR BOUSSIN JEAN J
- DR AMANI FRANC
- DR SEKA JEAN CHARLES
- AKA CYNTIA
- ANTWI KAREN

Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

A MES AMIS INTERNES :

- **Dr COULIBALY SONGUIGAMA**
- **Dr DETOH JEAN-PAUL**

Je vous remercie pour tous les efforts que vous avez consentis afin que ce travail puisse aboutir dans un délai aussi remarquable. Je vous souhaite une carrière brillante, vous serez les dignes successeurs du professeur MAHAMA.

A TOUT CEUX QUE JE N'AI PAS CITES.

Merci également pour tout ce que vous avez fait pour moi.

REMERCIEMENTS



Au Professeur OUATTARA MAHAMA

Je vous remercie pour votre disponibilité, vos remarques pertinentes, votre rigueur dans le travail et votre esprit paternel. Vous m'avez accueilli, aidé et guidé dans la réalisation de ce travail, je vous serai toujours redevable cher Maître. La patience et le soutien dont vous avez fait preuve à notre égard depuis le début de cette thèse n'auront de raison d'être que lorsque nous ferons votre fierté. Auprès de vous maître, j'ai appris beaucoup et je continue d'apprendre. Je tiens à vous exprimer, ma profonde gratitude et ma reconnaissance.

Au Professeur YAPI Désiré

Merci pour la formation rigoureuse reçue de votre part.

Au Docteur KACOU Alain et à toute l'équipe du laboratoire.

Merci pour votre soutien et votre collaboration.



**LABORATOIRE DE CHIMIE ORGANIQUE
STRUCTURALE**

Au Professeur DRISSA SISOUMA

Vous m'avez beaucoup impressionné par votre compréhension, votre courtoisie et votre disponibilité envers vos étudiants. Auprès de vous, apprendra beaucoup celui qui le voudra. Merci cher maitre pour tout ce que vous avez fait et continuerez de faire pour nous.

A Monsieur KONE ABOUDRAMANE

Merci mon frère et ami pour la sollicitude et la serviabilité dont tu as fait preuve à mon égard. Ton courage et ta persévérance m'ont souvent impressionné et encouragé dans les périodes de doute. Merci KAD.



**A Monsieur le Directeur et tout le Personnel du Centre suisse de Recherche
Scientifique en Cote d'Ivoire**

Merci pour avoir permis d'évaluer l'activité anti-Candida de ses molécules. J'ai pu travailler dans un cadre particulièrement agréable, grâce à l'ensemble des membres de l'équipe du centre. Ce travail n'aurait pu aboutir sans votre aide si précieuse.

Au Professeur KONE W. MAMIDOU.

Cher maitre, nous avons été honorés de travailler dans votre unité et à la lumière de vos connaissances. Merci pour le sacrifice de temps que vous consentez pour nous. Que ce travail soit le témoignage de notre infinie reconnaissance.

**A NOS MAÎTRES
ET JUGES**

A NOTRE MAÎTRE ET PRESIDENT DU JURY

Madame le Professeur HAUHOUOT ATTOUNGBRE M.L

- Professeur Titulaire de biochimie, biologie moléculaire et biologie de la reproduction à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan,
- Titulaire d'une thèse d'université à l'université Claude Bernard, Lyon I
- Pharmacienne biologiste des hôpitaux,
- Titulaire de plusieurs CES,
- Chef du laboratoire de biologie de l'Institut de Cardiologie d'Abidjan (ICA),
- Membre de la Société Française de Biologie Clinique (SFBC)
- Membre de la Société de la Pharmacie de la Méditerranée Latine (SPML)

Cher Maître,

Par votre remarquable parcours professionnel, vous forcez l'admiration et le respect de vos confrères et, doté d'une grande humilité, c'est tout naturellement que vous avez accepté de présider ce jury de thèse. Merci de nous avoir fait bénéficier de votre savoir, et de nous avoir inspiré tout au long de notre parcours universitaire. C'est un honneur pour nous de compter sur votre présence parmi les illustres membres de ce jury, dont la contribution rehaussera sûrement la valeur de ce travail. Vous êtes un exemple pour les générations présentes et futures. Belle et longue carrière à vous.

A NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THESE

Monsieur le Professeur OUATTARA MAHAMA

- Docteur es Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Montpellier I
- Professeur Agrégé de Pharmacie Chimique
- Pharmacien,
- Sous Directeur de la Direction de la Pharmacie et du Médicament de Côte d'Ivoire, Chargé de la Promotion de l'Industrie Pharmaceutique
- Expert des référentiels de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) et de Distribution (BPD) des médicaments (UEMOA, l'OMS)
- Inspecteur des Bonnes Pratiques de Fabrication et de Distribution des Médicaments (UEMOA, OMS)
- Lauréat du prix de Recherche Santé 2003 du Ministère de la Recherche Scientifique de la République de Côte d'Ivoire.
- Thématique de recherche lauréate du Prix Scientifique KOUAME Egnankou 2013 des UFR Sciences de la Santé ;
- Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM)
- Membre du Réseau de Substances Bioactives Ouest Africain (ReSBOA)
- Membre de la Société de Chimie Thérapeutique de France (SCt France)

Cher Maître,

Les qualités que vous manifestez et qui suscitent notre admiration sont, certainement parmi tant d'autres l'Humilité, la Disponibilité, le Courage, la Compétence et surtout la rigueur dans le travail. Nous tacherons d'être un bon

disciple afin de manifester nous aussi, ces nobles qualités. Nous vous prions, cher Maître, de recevoir nos sentiments de gratitude et de profond respect et d'admiration.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Monsieur le Professeur YAVO William,

- Professeur Agrégé de Parasitologie-Mycologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan, Département de Parasitologie-Mycologie,
- Docteur en pharmacie diplômé de l'université de Cocody,
- Titulaire d'un Doctorat unique de Biologie Humaine et Tropicale, option Parasitologie,
- Biologiste des hôpitaux (CES de Parasitologie-Mycologie, de Biochimie clinique et Hématologie),
- Titulaire d'une maîtrise en Santé Publique,
- Chef du Centre de Recherche et de Lutte contre le Paludisme de l'INSP,
- Pharmacien-biologiste au laboratoire de Microbiologie de l'INSP d'Adjamé,
- Ancien interne des hôpitaux de Côte d'Ivoire (Lauréat du Concours d'Internat de 1997),
- Membre titulaire de la Société de Pathologie Exotique (France),
- Membre de la Société Ouest Africaine de Parasitologie,
- Secrétaire général de la Société Ivoirienne de Parasitologie et Mycologie.

Cher Maître,

En acceptant spontanément de siéger au sein de ce jury, vous confirmer votre caractère d'humilité, de disponibilité et de simplicité. Nous avons eu le privilège de bénéficier de vos qualités d'enseignant au cours notre cursus universitaire. Nous vous prions de bien vouloir accepter, à travers ces mots l'expression de notre profonde gratitude.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Monsieur le Docteur AMARI Antoine Serge Guillaume

- Maître- Assistant de législation pharmaceutique à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan
- Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan
- Docteur en Droit Pharmaceutique de l'Université de Strasbourg (Thèse Unique, spécialité Droit Pharmaceutique)
- Titulaire du Master de Droit Communautaire et Réglementation Pharmaceutique (Université de Strasbourg)
- Titulaire de la Licence de Droit Privé à l'Université de Cocody
- Titulaire de la Maîtrise professionnalisée de santé publique à l'Université de Cocody
- Titulaire du Diplôme d'Etudes d'Etat Supérieures Spécialisées de contrôle de qualité des Médicaments, des aliments et des produits cosmétiques à l'Université de Cocody
- Sous-directeur de la Pharmacie et des laboratoires à la Direction de la Pharmacie et du Médicament.
- Secrétaire général du Conseil National de l'Ordre des Pharmaciens de Côte d'Ivoire.

Cher Maître,

Vous représentez pour nous, par vos qualités et votre compétence un maitre admirable et honorable. Vous avez spontanément accepté de juger ce travail, nous vous remercions pour votre disponibilité. Nous vous prions de bien vouloir accepter l'expression de notre profond respect.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES FIGURES.....	XXXIII
LISTE DES TABLEAUX	XXXIV
LISTE DES SCHEMAS	XXXIV
LISTE DES ABREVIATIONS	XXXV
 INTRODUCTION.....	 1
 PREMIERE PARTIE: REVUE DE LA LITTERATURE	 4
CHAPITRE1: LES CANDIDOSES ET CHIMIOOTHERAPIE	5
 I. LES CANDIDOSES	 5
I.1. Définition	5
I.2. Différents types de candidoses.....	5
I.2.1. Candidoses superficielles	5
I.2.1.1. Candidoses de la peau et des ongles	5
I.2.1.2.Candidoses des muqueuses	6
I.2.2. Candidoses profondes ou systémiques.....	10
I .3. Epidémiologie et impact sur la santé publique	10
 II. CHIMIOOTHERAPIE ANTI-CANDIDA.....	 14
II.1. Médicaments anti- <i>Candida</i>	14

II.1.1 Macrocycles polyéniques	14
II.1.1.1 Définition-structure.....	14
II.1.1.2. Mécanisme et spectre d'action	15
II.1.1.3. Indications thérapeutiques.....	16
II.1.1.4. Contre-indications	16
II.1.1.5. Effets indésirables	16
 II.1.2. LES FLUOROPYRIMIDINES.....	 17
II.1.2.1. Définition – Structure	17
II.1.2.2. Mécanisme et spectre d'action	17
II.1.2.3. Indications thérapeutiques.....	18
II .1.2.4. Contre-indications	18
II .1.2.5. Effets indésirables	18
 II.1.3. LES AZOLES ANTIFONGIQUES	 18
II.1.3.1. Définition – Structure	18
II.1.3.2. Classification - Produits utilisés	19
II .1.3.3. Mécanisme et spectre d'action.....	21
II.1.3.4. Indications thérapeutiques.....	22
II.1.3.5. Contre-indications	22

II .1.3.6. Effets indésirables	22
II .1.4. ECHINOCANDINES	23
II.1.4.1. Définition – Structure	23
II.1.4.2. Mécanisme et spectre d'action.....	24
II.1.4.3. Indications thérapeutiques.....	24
II.1.4.4. Contre-indication.....	24
II.1.4.5. Effets indésirables	24
II.1.5. ALLYLAMINES	25
II.1.5.1. Définition – Structure	25
II.1.5.2. Mécanisme et spectre d'action	25
II.1.5.3. Indications thérapeutiques.....	25
II.1.5.4. Contre-indications	26
II.1.5.5. Effets indésirables	26
II.1.6. LES MORPHOLINES	26
II.1.6.1. Définition – Structure	26
II.1.6.2. Mécanisme et spectre d'action	26
II.1.6.3. Indications thérapeutiques.....	27

II.1.6.4. Contre-indication.....	27
II.1.6.5. Effets indésirables	27
II.1.7. CICLOPIROX	27
II.1.7. 1. Définition – Structure	27
II.1.7.2. Mécanisme et spectre d'action	28
II.1.7.3. Indications thérapeutiques.....	28
II.1.7.4. Contre-indications	29
II.1.7.5. Effets indésirables	29
II.2. AUTRES CLASSES CHIMIQUES D'ANTIFONGIQUES	29
II.2. 1. BENZOFURANES	29
II.2. 1.1. Définition – Structure	29
II.2. 1.2. Mécanisme et spectre d'action.....	30
II.2.1.3. Indications thérapeutiques.....	30
II.2.2. THIOCARBAMATES	30
II.2.2. 1. Définition – Structure	30
II.2.2. 2. Mécanisme et spectre d'action.....	31
II.2.2.3. Indications thérapeutiques.....	31

CHAPITRE2: RESISTANCES ET LIMITES D'UTILISATION

DES ANTIFONGIQUES	32
I .DEFINITION	32
II .EPIDEMIOLOGIE ET FACTEURS DE RESISTANCE	33
II.1. Classe des polyènes.....	33
II.2. Classe des fluoropyrimidines	34
II.3. Classes des azolés antifongiques	34
II.4.Classes des échinocandines.....	35
III. MECANISMES DE RESISTANCE	36
III.1. Classe des polyènes.....	36
III.2. Classe des fluoropyrimidines	36
III.3. Classes des azolés.....	37
III.4. Classes des échinocandines	38
<i>Deuxième partie : ETUDE EXPERIMENTALE</i>	40

CHAPITRE1 : MATERIEL ET METHODES.....	41
I- MATÉRIEL.....	41
I.1.Type d'étude et cadre de travail.....	41
I-2- Appareils, réactifs et consommables	41

I.3. Molécules à tester	42
I.3.1. Molécules de synthèse: benzimidzoly-chalcones	
analogues du Chlormidazole	42
I.3.2. Substances de référence	42
I.4. Matériel microbiologique	42
II. MÉTHODES.....	43
II.1. Méthodes chimiques : synthèse des benzimidazolyl-chalcones	43
II.1.1. Conceptualisation des benzimidazolyl-chalcones	43
II.1.2. Synthèse des benzimidazolyl-chalcones	46
II.1.2.1 Préparation du <i>N</i> -(4-chlorobenzyl) 2-acetylbenzimidazole.....	46
II.1.2.2 Accès aux dérivés du benzimidazolyl-chalcone analogue	
du chlormidazole : composés 2a-2p	47
II.2. Méthode biologique : Evaluation des activités antifongiques.....	48
II.2.1. Principe de la technique de bioautographie « agar overlay ».....	48
II.2.2. Préparation de l'inoculum	48
II.2.3. Détection des activités	49
II.2.4. Détermination des Quantités Minimales Inhibitrices (QMI)	50
CHAPITRE 2 :RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	52
I.RESULTATS	52
I.1.RESULTATS CHIMIQUES.....	52
I.2.RESULTATS DE L'ÉVALUATION DES ACTIVITÉS	
ANTIFONGIQUES.....	53

II-DISCUSSION	55
II.1. Pertinence du concept pharmaco-chimique de juxtaposition de pharmacophores.....	55
II.2. Eléments structuraux d'optimisation des activités antifongiques..	56
II.2.1. Série des Benzimidazolyl-chalcones <i>N</i> -4-chlorobenzylé.....	57
II.2. Série des Benzimidazolyl-chalcones non <i>N</i> -substitués	57
CONCLUSION – PERSPECTIVES	59
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	62

TABLE DES FIGURES

	Page
Figure 1: Structure chimique des polyènes antifongiques	15
Figure 2 : Structure chimique de la 5-fluorocytosine	17
Figure 3: Structure générale des azolés antifongiques	19
Figure 4: Structure du Bifonazole	19
Figure 5 : Structure de quelques β -arylalkyloxy	
β -dichlorophényléthylimidazolé	20
Figure6: Structure des dérivés triazolés	20
Figure 7: Structure de la Caspofungine	23
Figure 8: Structure de la Terbinafine.....	.25
Figure 9: Structure de l'Amorolfine.....	26
Figure 10: Structure des Ciclopirox	28
Figure 11: Structure de la Griséofulvine.....	29
Figure 12 : Structure du Tolnaftate	30
Figure 13: Entités chimiques du profil des Benzimidazolyl-chalcones	
analogues du Chlormidazole	43
Figure 14 : Structure des Chalcones ou 1,3-diphenylpropènones	44
Figure 15: Profil chimique des benzimidazolyl-chalcones analogues	

du Chlormidazole 45

Figure 16 : Pharmaco-modulations entreprises autour

du composé **2a** 56

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Gammes de dilution et de concentration	50
Tableau II : structure chimique des Benzimidazolyl-chalcones.....	52
Tableau III : Activités antifongiques <i>in vitro</i> des composés 2 <u>a</u> -2 <u>p</u> et des substances de référence vis à vis de <i>Candida albicans</i>	54

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1: synthèse <i>N</i> -(4-chlorobenzyl) 2-acetylbenzimidazole(<u>1</u>)	46
Schéma 2 : synthèse des Benzimidazolyl-chalcones (2 <u>a</u> -2 <u>p</u>).....	47
Schéma 3: Étapes de la technique de bioautographie.....	51

LISTE DES ABREVIATIONS

VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine.

SIDA: Syndrome de l'Immunodéficience Acquis.

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice.

QMI: Quantité Minimale Inhibitrice.

MTT: Chlorure de méthyl thiazolyl tétrazolium.

CCM: Chromatogramme sur Couche Mince.

ADN: Acide Désoxyribonucléique.

ATP : Adénosine-5'-triphosphate.

CSRS: Centre suisse de Recherche Scientifique en Cote d'Ivoire.

CeDReS: Centre de Diagnostic et de Recherche sur le Sida et les maladies opportunistes.

SSMT: Sciences des Structures de la Matière et de Technologie.

UFR: Unité de Formation et de Recherche.

CEISAM : Chimie Et Interdisciplinarité : Synthèse, Analyse, Modélisation.

CHU : Centre Hospitalier et Universitaire.

RSA : Relation structure activité

ARN: Acide ribonucléique

INTRODUCTION

Les infections mycosiques candidosiques sont des maladies dues au développement chez l'homme ou l'animal des levures du genre *Candida*. L'espèce *Candida albicans*, la plus connue et la plus redoutable [1] est à l'origine de maladies graves pouvant engendrer un taux de mortalité élevé et des surcoûts d'hospitalisation surtout chez les patients immunodéprimés (VIH, diabète, cancers etc.) [2, 3, 4].

La prise en charge thérapeutique de ses infections est devenue un enjeu de santé publique avec l'émergence de souches de *Candida* chimio résistante [7, 8, 9] à la plupart des antifongiques actuels. Cette chimiorésistance des souches de *Candida* est plus alarmante avec les antifongiques azolés qui constituent la classe la plus utilisée [5, 6]. Face à cette situation pressante, plusieurs stratégies peuvent être envisagées à savoir :

- des mesures hygiéno-diététiques appropriées.
- l'utilisation rationnelle des médicaments antimycosiques encore efficaces au travers de bonnes pratiques de prescription et de dispensation.
- la mise au point de nouveaux antifongiques plus efficaces et capables de contourner la chimiorésistance induite par les champignons.

L'objectif général assigné à ce travail est dès lors de mettre au point des candidats médicaments antifongiques à profil général de Chalcone à support benzimidazole et analogues du Chlormidazole. Quant aux objectifs spécifiques, il s'agit de :

- déterminer les quantités minimales des benzimidazolyl-chalcones, analogues du Chlormidazole capables d'inhiber la prolifération de *Candida albicans*,
- établir les éléments structuraux favorables aux activités antifongiques attendues suite à une étude de relations structure-activité.

Le présent travail se décline en deux parties :

- La première est relative à la revue de littérature sur les candidoses et leur chimiothérapie.
- La seconde partie, de type expérimentale, abordera successivement :
 - ✓ La description de la méthodologie y compris la conceptualisation et la synthèse des benzimidazolyl-chalcones analogues du Chlormidazole
 - ✓ L'analyse des résultats obtenus suivie de discussions de type relations structure-activité,
 - ✓ la conclusion ainsi que les perspectives qui découlent dudit travail.

Première partie :
REVUE DE LA LITTERATURE

CHAPITRE1 : CANDIDOSES ET CHIMIOOTHERAPIE

I. LES CANDIDOSES

I.1. Définition

Les candidoses sont des infections fongiques cosmopolites à localisation superficielle ou profonde, provoquées par des levures du genre *Candida*. L'espèce la plus fréquente à savoir *Candida albicans*, fait partie de la flore habituelle de l'oropharynx et du tube digestif. Elle peut aussi être présente en faible quantité dans la flore vaginale normale. [1, 8]

I.2. Différents types de candidoses

Les candidoses sont le plus souvent classées en fonction de leur localisation. Ainsi l'on distingue les candidoses superficielles et les candidoses profondes ou systémiques. [1, 8]

I.2.1. Candidoses superficielles

Les candidoses superficielles sont localisées au niveau du revêtement cutané, des ongles et des muqueuses. Elles peuvent être chroniques ou aiguës. [1, 8]

I.2.1.1. Candidoses de la peau et des ongles

Ces candidoses se présentent sous plusieurs formes cliniques à savoir l'intertrigo à *Candida*, la folliculite à *Candida* et l'onychomycose. [1, 8]

✓ **L'intertrigo à *Candida***

Ce type de mycose siège au niveau des grands plis cutanés (inter fessiers, inguinaux, sous-mammaires, axillaires...) ou des petits plis cutanés (interdigital des mains ou des pieds). Ce type d'intertrigo se manifeste par un érythème suintant, lisse, prurigineux et parfois douloureux. Il débute au fond du pli puis il s'étend. Les bords sont irréguliers avec des papules ou pustules satellites. Le fond du pli est parfois recouvert d'un enduit blanchâtre. L'évolution est chronique et récidivante chez le sujet obèse, le diabétique et les individus en contact avec l'eau. [1, 8]

✓ **Folliculites à *Candida***

Ces mycoses siègent à la barbe, au cuir chevelu ou dans les régions poilues fréquemment couvertes comme le thorax. Ce sont des lésions à types de papules folliculaires ou pustules touchant les zones séborrhéiques. Elles sont particulièrement associées à l'héroïnomanie. [1,8]

✓ **Onychomycose à *Candida***

Elle atteint préférentiellement les ongles des doigts mais ces atteintes sont rares aux orteils. Elle débute par un périonyxis et se traduit par une tuméfaction tendue, érythémateuse parfois douloureuse, entourant la tablette unguéale. La pression de l'œdème fait sourdre une sérosité, voire du pus. L'atteinte de l'ongle est secondaire ; des dépressions transversales de son bord apparaissent au fur et à mesure des poussées évolutives. Un autre type d'atteinte est l'onycholyse dans laquelle la tablette de l'ongle n'adhère plus à son lit. Elles sont le plus souvent chroniques chez la femme ménagère ayant un contact prolongé avec l'eau. [1, 8]

I.2.1.2.Candidoses des muqueuses

Ces candidoses se manifestent au niveau digestif, génital et urinaire. [1, 8]

✓ **Candidoses de l'appareil digestif**

Il s'agit de mycose insidieuse qui se traduit par un état érythémateux inflammatoire. Ces candidoses atteignent un ou plusieurs segments du tube digestif à savoir l'oropharynx, l'œsophage et la muqueuse gastro-intestinale. [1,8]

✓ **Candidoses oropharyngées**

Les manifestations les plus fréquentes de ce type de candidose sont le « muguet » et la perlèche. En ce qui concerne le muguet, c'est une forme pseudomembraneuse localisée à la face interne des joues. Il peut intéresser toutes les muqueuses orales, et envahir le pharynx et l'œsophage chez l'immunodéprimé. Il débute par un érythème de la muqueuse, conduisant à des granulations blanchâtres qui vont confluer, pour donner des membranes blanc-jaunâtres d'où le nom de «muguet». Il est particulièrement fréquent chez le sujet infecté par le VIH où il est plus ou moins envahissant.[1] Les signes fonctionnels sont une sécheresse, une sensation de goût métallique et de cuisson de la bouche. L'importance des signes fonctionnels chez les personnes vivants avec le VIH peut conduire à une réduction des apports nutritionnels liquides et solides majorant ainsi l'état de dénutrition. Quant à la perlèche ou chéilite angulaire, elle peut être uni ou bilatérale, il s'agit d'un intertrigo localisé au niveau de la commissure labiale. Elle correspond à une inflammation de la commissure labiale qui devient érythémateuse, fissurée, squameuse ou croûteuse pouvant s'étendre à la peau adjacente et au reste de la lèvre. Elle évolue souvent sous le mode subaigu ou chronique. [1, 8]

✓ **Candidoses œsophagiennes**

Elles sont localisées au niveau de l'œsophage et surviennent généralement après une candidose oropharyngée surtout chez le sujet atteint du SIDA.

Elles se présentent sous forme d'œsophagite avec dysphagie, brûlures rétrosternales, hoquet et une anorexie. La *candidose œsophagienne* est l'une des infections opportunistes les plus fréquentes au cours de l'infection du SIDA. [1,8]

✓ **Candidoses gastro-intestinales**

Ce genre de mycose provoque des ulcérations au niveau des muqueuses gastriques et intestinales à l'origine de diarrhées fréquentes, inodores et liquides, pouvant entraîner des déshydratations notamment chez le nourrisson. Ce type de candidose est fréquente chez les sujets ayant reçu une antibiothérapie en particulier aux âges extrêmes de la vie. [1, 8]

✓ **Candidose anale**

Cette infection mycosique se manifeste en particulier dans la zone péri anale et peut s'étendre aux fesses et aux plis inguinaux. Elle se traduit par un prurit intense avec sensation de brûlure et un érythème suintant. Elle est fréquente chez les nourrissons où l'atteinte s'installe volontiers sur une dermatite préexistante (dermatite fessière du nourrisson). [1, 8]

✓ **Candidoses génitales**

Ce type d'infection fongique est représenté essentiellement par les candidoses vulvo-vaginales chez la femme et par les balanites chez l'homme. [1, 8]

✓ **Vulvo-vaginites candidosiques**

Localisées au niveau vulvaire et de la muqueuse vaginale, ces mycoses sont caractérisées par un prurit et des brûlures associés à des leucorrhées d'abondance variable classiquement blanchâtres et « caillebotées ». Cependant,

cet aspect n'est pas toujours retrouvé et les leucorrhées peuvent être absentes. Une dysurie et une dyspareunie sont souvent signalées. L'examen clinique peut retrouver un érythème et un œdème de la vulve, parfois des fissures ou des excoriations. [1, 8]

✓ **Balanites candidosiques**

Cette forme de candidose spécifique à l'homme se localise au niveau du gland et du prépuce. Elle est parfois compliquée d'une urétrite ou d'une cystite. Le début se fait dans le sillon balano-préputial par un érythème qui va intéresser le gland et le prépuce. De petites vésicules sont présentes à leur surface, ainsi que des papules avec souvent des plaques blanchâtres. L'éruption peut s'étendre au pénis, au scrotum et à l'aîne chez l'obèse. [1, 8]

✓ **Candidoses urinaires**

Les atteintes candidosiques de l'appareil urinaire se caractérisent par des infections urinaires hautes (rein et uretères) ou basses (vessie et urètre). Les localisations symptomatiques de l'appareil urinaire bas sont rares et se traduisent par des signes d'irritation vésicale avec dysurie, hématurie et douleurs sous-pubiennes. Les infections hautes, ascendantes, sont indiscernables des pyélonéphrites bactériennes; elles sont favorisées par une lithiase. La candidurie asymptomatique est le cas de figure prédominant. Elle concerne des patients hospitalisés le plus souvent sondés et est alors liée à la colonisation de la sonde urinaire. La candidurie peut être le premier signe d'une colonisation profonde ou disséminée. [1, 8]

I.2.2. Candidoses profondes ou systémiques

Les candidoses profondes sont des infections fongiques dues au passage de la levure du genre *Candida* dans le sang, point de départ de leur propagation à d'autres organes. Ainsi on distingue trois types de candidoses systémiques à savoir les candidémies, les candidoses invasives et les candidoses disséminées. Les candidémies sont des infections du sang par les levures du genre *Candida* tandis que, les candidoses invasives correspondent à l'atteinte d'un seul organe ne comportant pas habituellement de souche de *Candida*. Quant aux candidoses disséminées, elles sont caractérisées par l'atteinte d'au moins deux organes non contigus ne comportant pas de *Candida*.

La symptomatologie des infections systémiques à *Candida* n'est pas spécifique. Ces infections fongiques systémiques se manifestent habituellement par une fièvre persistante et ne répondent pas à une antibiothérapie à large spectre. A cela il faut ajouter une dégradation de l'état général associée à des douleurs diffuses et une leucocytose. Cet état peut entraîner un choc septique conduisant à la mort du patient. Ces candidoses surviennent surtout chez des patients hospitalisés dans les unités de soins intensifs et spécialisés. [1, 8]

I.3. Epidémiologie des candidoses.

L'épidémiologie des candidoses a considérablement évolué ces dernières années avec l'apparition d'infections invasives et de nouvelles espèces non-*albicans*, notamment *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* et *Candida tropicalis* [10, 11, 12]. Certaines de ces espèces sont résistantes ou de sensibilité diminuée aux différentes classes d'antifongiques [5, 6, 7, 9], à l'origine d'un impact majeur sur la mortalité et la morbidité, ainsi que sur la durée et le coût de l'hospitalisation des patients [2]. De plus l'augmentation des patients

immunodéprimés et les transplantations d'organes, a accentué l'incidence des candidoses [12]. Les facteurs favorisant la survenue des candidoses sont multiples.

Les candidoses oropharyngées sont favorisées par toute altération de la muqueuse buccale consécutive au port d'une prothèse, par la survenue d'un cancer et à une ulcération due à des cytotoxiques anticancéreux. D'autres facteurs notamment la corticothérapie, les antibiotiques à large spectre et les traitements immunosuppresseurs facilitent aussi la survenue de cette infection. Les candidoses oropharyngées sont les formes les plus courantes chez les personnes vivant avec le VIH. Ainsi environ 80% de ces patients développent une candidose orale à tous les stades de la maladie.

Le passage vers une candidose clinique est l'un des meilleurs marqueurs de l'évolution de la maladie. L'importance des signes fonctionnels chez les personnes vivant avec le VIH conduit à une réduction des apports liquides et solides majorant la dénutrition et peut être responsable d'une inobservance du traitement [1]. Une étude récente menée en Côte d'Ivoire chez 151 personnes vivant avec le VIH et porteuses de candidoses oropharyngées a montré la prédominance de l'espèce *Candida albicans* [13].

Dans le cas des candidoses cutanées, formes de mycoses communes favorisées par l'humidité et la macération, l'atteinte se fait préférentiellement au niveau des plis chez le sujet en surpoids [1]. Cette forme clinique peut résulter de l'extension d'une candidose digestive ou génitale où l'on retrouve des facteurs favorisant comme le très jeune âge, les personnes âgées, le diabète, la prise d'antibiotiques et de corticoïdes [1]. En outre, certaines professions et occupations favorisent la survenue d'un intertrigo à *Candida* localisé au niveau des mains, c'est le cas chez les cuisiniers, les aides ménagères et les blanchisseurs.

Quant aux onychomycoses à *Candida*, la prédominance féminine est nette. En effet, les femmes sont plus exposées aux principaux facteurs de risque locaux en raison des contacts prolongés, répétés avec l'eau et les produits d'entretien et de l'abus des soins de manucure. La contamination due le plus souvent à l'espèce *Candida albicans*, résulte d'une auto-inoculation à partir d'un foyer digestif ou génital.

En ce qui concerne l'impact de la candidose vulvo-vaginale, c'est l'une des infections gynécologiques la plus fréquente chez la femme en période d'activité sexuelle. On estime qu'entre 40 % à 75% des femmes connaîtront au moins un à plusieurs épisodes de candidose vaginale durant leur vie [14]. Rare avant la puberté, sa prévalence décroît après la ménopause, sauf chez les femmes sous traitement hormonale de substitution. De plus la candidose vaginale est suspectée de favoriser l'infection du VIH chez les femmes à cause de la réaction inflammatoire au niveau de la muqueuse [15].

Quant aux formes les plus graves à savoir les candidoses profondes, elles sont responsables d'un taux de mortalité élevée dans le monde. Ainsi en Europe le taux de mortalité due aux candidoses disséminées oscille entre 28-59 % [3]. Aux Etats-Unis, jusqu' à 28 000 candidémies surviennent chaque année, elles sont responsables de 11 200 décès par an et bien que les taux de mortalité par candidose invasive aient tendance à diminuer depuis une quinzaine d'années, ils restent encore très élevés [4].

Au vue de ce qui précède nous pouvons constater que les infections candidosiques constituent un véritable problème de santé publique car elles touchent de nombreuses couches sociales professionnelles et affectent aussi bien les sujets immunocompétents que les sujets immunodéprimés. De plus, elles compliquent la prise en charge thérapeutique et nutritionnelle de personnes vivant avec le VIH.

II. CHIMIOThERAPIE ANTI-CANDIDA

II.1. Médicaments anti-*Candida*

Le traitement des candidoses fait appel à des médicaments antifongiques qui sont des substances d'origine naturelle, d'hémi synthèse ou de synthèse totale. Ces médicaments ont la propriété de s'opposer à la prolifération des *Candida*.

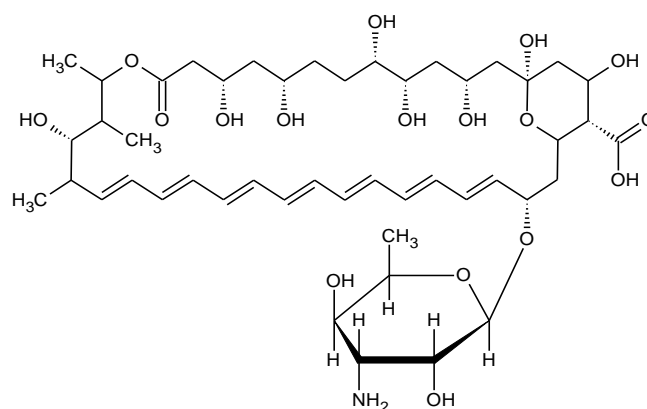
Plusieurs familles médicamenteuses sont utilisées dans la chimiothérapie des candidoses. Parmi celles-ci l'on dénombre les classes chimiques des macrocycliques polyéniques, des fluoropyrimidines, des azolés, des échinocandines, des allylamines, des ciclopirox et des morpholines.

II.1.1. Macrocycles polyéniques

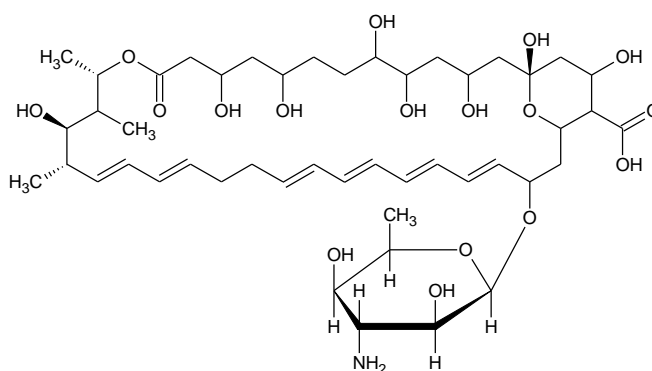
II.1.1.1 Définition - Structure

Les macrocycles polyéniques constituent une classe de médicaments antifongiques à pouvoir fongistatique et d'origine naturelle obtenue par fermentation des souches bactériennes du genre *Streptomyces*. Ce sont des hétérosides qui possèdent tous dans leurs molécules respectives un aglycone lactonique à 38 sommets. Cette partie non sucrée macrocyclique comporte plusieurs groupements fonctionnels dont des liaisons éthyléniques et des groupements hydroxyles. La partie sucrée de cet hétéroside est un aminosucre ou mycosamine relié à l'aglycone en sa position 19.

Cette classe d'antifongique comporte actuellement en thérapeutique deux représentants : l'Amphotéricine B et la Nystatine A (**Figure 1**). La Nystatine A diffère de l'Amphotéricine B par la position isomérique des fonctions hydroxyles et par l'absence d'une liaison éthylénique au niveau du carbone C₂₈. [8, 9]



AMPHOTERICINE B



NYSTATINE A

Figure1 : Structure chimique des polyènes antifongiques.

II.1.1.2. Mécanisme et spectre d'action

Les polyènes antifongiques interagissent avec les stérols membranaires des cellules fongiques, en occurrence l'ergostérol en formant des complexes insolubles. La présence desdits complexes va engendrer la formation de pores transmembranaires aboutissant à l'origine des troubles de perméabilité cellulaire et de la diffusion hors du cytosol des composants essentiels à la vie du champignon. Cette perte de substance cytoplasmique conduit à la lyse de la cellule, partant à la mort du champignon microscopique.

Les polyènes ont un spectre d'action antifongique très large. Ils sont actifs vis-à-vis des champignons pathogènes tels que le genre *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*. Ils sont fongistatiques aux doses thérapeutiques mais fongicides aux doses élevées.

II.1.1.3. Indications thérapeutiques

Les polyènes antifongiques sont préconisés en thérapeutique dans le traitement des mycoses superficielles et disséminées en occurrence les candidoses buccales, digestives et vaginales. Ils sont également utilisés pour le traitement des mycoses profondes, viscérales et des septicémies à *Candida*, ainsi que dans le traitement des méningites à *Cryptococcus neoformans*. Par ailleurs ils peuvent être proposés pour la prévention des candidoses chez les sujets à risque tels que les immunodéprimés, les prématurés et la décontamination digestive en chirurgie digestive.

II.1.1.4. Contre-indications

Les polyènes antifongiques sont contre-indiqués en cas d'hypersensibilité à la molécule, d'insuffisance rénale. L'association avec les anti-arythmiques est déconseillée car elle aggrave les torsades de pointe.

II.1.1.5. Effets indésirables

Les polyènes antifongiques présentent de nombreux inconvénients d'utilisation. Les plus caractéristiques sont les troubles neurologiques (céphalées, convulsions, fièvres), les troubles digestifs (gastro-entérites, hémorragies digestives), les troubles cardiaques (collapsus, choc anaphylactique) et une néphrotoxicité qui se manifeste au cours des traitements prolongés.

II.1.2. LES FLUOROPYRIMIDINES

II.1.2.1. Définition - Structure

Les fluoropyrimidines sont des antifongiques de synthèse totale à spectre étroit, ayant une activité inhibitrice sur de nombreuses espèces de levures. Ce sont des dérivés 5-fluorés de la pyrimidine. Le seul représentant en thérapeutique antifongique est la 5-fluorocytosine (5-FC) qui est un analogue structural de la cytosine (**Figure 2**). [8, 9]

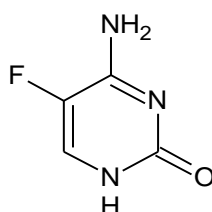


Figure 2 : Structure chimique de la 5-fluorocytosine

II.1.2.2. Mécanisme et spectre d'action

La 5-fluorocytosine agirait comme une prodrogue qui serait transportée dans la cellule fongique grâce à une cytosine perméase avant d'être transformée en 5-fluoro-uracile substance active, par une cytosine désaminase. La 5-fluoro-uracile obtenue se comporterait ensuite comme un faux substrat qui se substitue à l'uracile dans la biosynthèse des ARN fongiques. Ce processus aboutirait au blocage de la synthèse protéique et de la multiplication cellulaire d'où l'activité fongistatique observée. Une autre perturbation de la biosynthèse des acides nucléiques microbiens concerne le blocage de la réplication de leur ADN via l'inhibition de la thymidylate synthétase enzyme responsable de la réplication.

Le spectre d'activité antimycosique de la 5-fluorocytosine est relativement étroit. Il est essentiellement orienté vers les genres *Candida*, *Cryptococcus* et *Aspergillus*. La 5-fluorocytosine est fongistatique à dose thérapeutique et fongicide à dose élevée. [8, 9]

II.1.2.3. Indications thérapeutiques

La 5-fluorocytosine est utilisée en thérapeutique pour le traitement des mycoses systémiques sévères telles que les candidoses septicémiques et diffuses (au niveau digestif, respiratoire, urinaire etc.), les cryptococcoses à localisation méningée ou encéphalique et certaines formes d'aspergilloses. La 5-fluorocytosine présente une synergie d'action avec l'Amphotéricine B. [8, 9]

II.1.2.4. Contre-indications

La 5-fluorocytosine est contre-indiquée en cas d'hypersensibilité, chez la femme enceinte et la mère allaitante. [8, 9]

II .1.2.5. Effets indésirables

La 5-fluorocytosine présente de nombreux effets indésirables, dont les principaux sont les troubles digestifs (nausées, vomissements, etc.); les troubles hématologiques (leucopénie, thrombopénie, agranulocytose); les troubles hépatiques (cytolyse avec élévation des transaminases et la phosphatase alcaline); les troubles neurologiques (migraine, convulsions, hallucinations) et les manifestations allergiques parfois graves. [8, 9]

II.1.3. LES AZOLES ANTIFONGIQUES

II.1.3.1. Définition - Structure

Les azolés constituent une famille relativement homogène d'antifongique de synthèse totale, possédant des activités thérapeutiques de nature fongistatique. Du point de vu de leur constitution chimique, ils possèdent tous dans leurs molécules respectives un hétérocycle pentagonale porteur de deux (imidazole) ou trois atomes d'azote (triazole) d'où leur nom d'azolé. Cet hétérocycle azoté

est le plus souvent relié à une chaîne latérale de type β -arylalkyloxy β -dichlorophényléthyl au niveau de l'atome d'azote en position 1 (**Figure 3**). [8, 9,16]



Figure 3 : Structure générale des azolés antifongiques

II.1.3.2. Classification - Produits utilisés

Les azolés antifongiques sont classés en fonction de la nature de leur hétérocycle azoté d'une part en dérivés imidazolés et leurs analogues structuraux et, d'autre part en dérivés triazolés et leurs analogues structuraux.

a) Les imidazolés antifongiques et analogues structuraux.

Deux sous classes sont identifiées : les aryl-phénylméthyl imidazolé et les β -arylalkyloxy β -dichlorophényléthyl imidazolé.

✓ Les aryl-phénylméthyl imidazolé

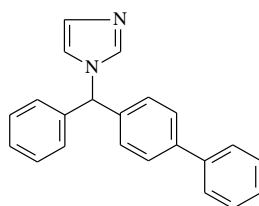


Figure 4 : Structure du Bifonazole

✓ Les β -arylalkyloxy β -dichlorophényléthyl imidazolé

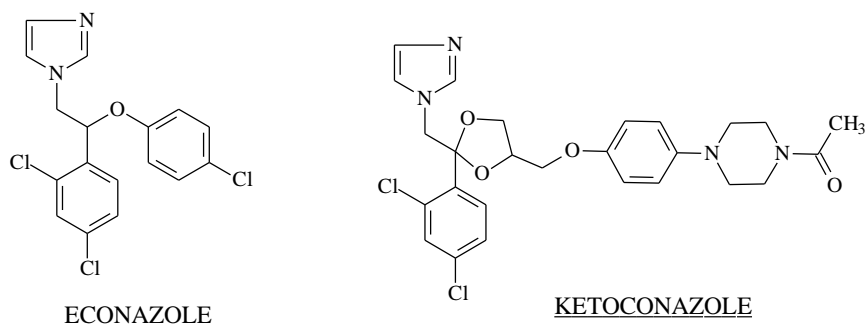


Figure 5: Structure de quelques β -arylalkyloxy β -dichlorophényléthyl imidazolé

b) Les antifongiques triazolés et leurs analogues structuraux.

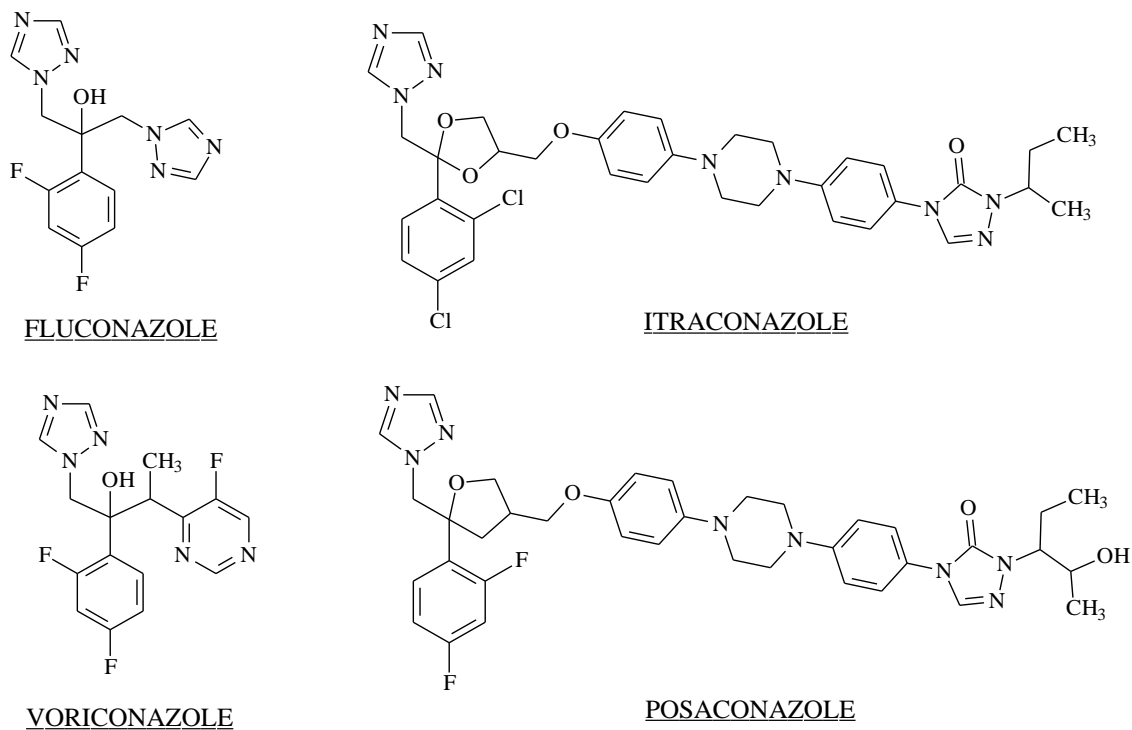


Figure 6: Structure des dérivés triazolés

Une classification pharmaco-thérapeutique des azolés antifongiques permet de distinguer ceux qui sont utilisés pour les traitements antimycosiques locaux et ceux à usage systémique :

- ✓ azolés antifongiques à effet locale : ils regroupent généralement les dérivés imidazolés, excepté le kétoconazole,
- ✓ azolés antifongiques à effet systémique : ce sont tous les dérivés triazolés antifongiques.

II .1.3.3. Mécanisme et spectre d'action

Les Azolés antifongiques agiraient également au niveau des stérols membranaires en bloquant la biosynthèse de l'ergostérol par suite de l'inhibition de 14 α -stérol déméthylase enzyme à cytochrome P-450 à l'origine de la transformation du lanostérol en ergostérol indispensable à l'édification de la membrane des champignons. La réaction de nature oxydative se déroulerait par suite de l'interaction entre les azolés au niveau de leur atome d'azote pyridinique en position 3 ou 4 et le fer hémique du cytochrome P-450. Ce complexe ainsi formé serait à l'origine du blocage du site d'occupation de l'oxygène, d'où l'action oxydative. Cette dernière se traduirait par une déplétion en ergostérol et une accumulation du lanostérol et d'autres stérols méthylés en position 14. Ces changements rendent la membrane plus fragile et altèrent l'activité de plusieurs enzymes liées à la membrane à l'origine des activités fongostatiques des azolés.

Ce mécanisme d'interaction des azolés avec le cytochrome P-450 tant chez les microorganismes que chez les mammifères serait responsable des effets indésirables et de l'hépatotoxicité imputés à certains azolés (Kétoconazole).

Les antifongiques azolés présentent un spectre d'action large incluant les levures du genre *Candida* sauf *Candida glabrata*, les champignons dimorphes,

Cryptococcus neoformans, les dermatophytes et le genre *Aspergillus* dont la sensibilité est inconstante d'une molécule à une autre. [8, 9,16]

II.1.3.4. Indications thérapeutiques

Les Azolés antifongiques sont préconisés en thérapeutique antimycosique par voie locale pour le traitement des candidoses cutané-muqueuses surinfectées ou non et les dermatophyties à germes sensibles. Par voie systémique, ils sont (les triazolés) proposés en thérapeutique pour le traitement des candidoses systémiques, vaginales, ano-rectales, bucco-pharyngées, des méningites à *Cryptococcus* et des aspergilloses. [8, 9,16]

II.1.3.5. Contre-indications

Les Azolés antifongiques seront contre-indiqués en cas d'insuffisance rénale, d'insuffisance hépatique, d'allergie à ces médicaments, chez la femme enceinte et la femme en période d'allaitement. [8, 9,16]

II .1.3.6. Effets indésirables

Les antifongiques azolés présentent de nombreux effets indésirables : une hépatotoxicité au long court, des troubles digestifs (nausées, vomissement, diarrhée), des troubles neurologiques et des troubles cutané-muqueux. [8, 9,16]

II .1.4. ECHINOCANDINES

II.1.4.1. Définition - Structure

Les Echinocandines sont des lipopeptides d'origine naturelle et d'hémisynthèse à activité fongicide issues de la fermentation de plusieurs espèces de champignons dont *Aspergillus rugulovalvus* et *Zalerion arboricola*. Ce sont des hexapeptides cycliques possédant chacun une chaîne lipidique fixée sur le groupe α -aminé de l'ornithine. Ils possèdent un des acides aminés caractéristiques que sont l'homotyrosine et une ornithine. Les molécules actuellement utilisées en thérapeutique se différencient par le nombre de groupement hydroxyle sur les acides aminés. Trois représentants de cette nouvelle classe sont actuellement utilisés en thérapeutique : Caspofungine (**Figure 7**), Micafungine et Anidulafungine. [8, 9]

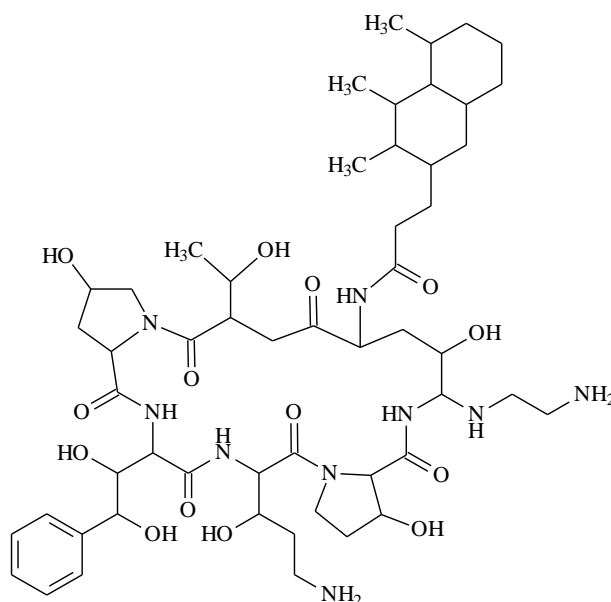


Figure 7: Structure de la Caspofungine

II.1.4.2. Mécanisme et spectre d'action

Les Echinocandines agiraient au niveau de la paroi fongique par inhibition de la synthèse du β -(1,3)-D-glycane, composant essentiel de la dite paroi qui assure le maintien de son intégrité et de sa rigidité. Ils se comporteraient comme des inhibiteurs non compétitifs de l'enzyme qui catalyse la polymérisation de l'uridine diphosphate-glucose en β -(1,3)-D-glycane. Le blocage de cette enzyme entraîne une fragilisation de la paroi qui se traduit par une fuite des composants intracellulaires, aboutissant à la lyse de la cellule fongique partant à la mort du champignon. Les échinocandines sont actifs sur des champignons d'intérêt clinique tels que *Candida sp* et *Aspergillus sp*. Ils sont en revanche peu actifs sur *Cryptococcus neoformans*. [8, 9]

II.1.4.3. Indications thérapeutiques

Cette nouvelle classe d'antifongiques est indiquée par voie parentérale pour le traitement des candidoses digestives (oropharyngées, œsophagiennes etc.) et des aspergilloses invasives réfractaires au traitement par l'Amphotéricine B ou à l'Itraconazole. [8, 9]

II.1.4.4. Contre-indication

Les Echinocandines sont contre-indiquées en cas d'hypersensibilité aux Echinocandines. [8, 9]

II.1.4.5. Effets indésirables

Les effets secondaires les plus couramment rapportés avec les Echinocandines se déclinent en une phlébite au site d'injection, des troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhée, douleur abdominale), des céphalées, des éruptions cutanées. [8, 9]

II.1.5. ALLYLAMINES

II.1.5.1. Définition - Structure

Les Allylamines sont des antifongiques de synthèse totale à effet fongistatique ayant dans leur structure une entité Allylamine tertiaire liée à un support de type arylalkyle par l'intermédiaire d'un chaînon monocarboné. Le seul représentant actuellement utilisé en thérapeutique humaine est la Terbinafine (**Figure 8**). [8, 9]

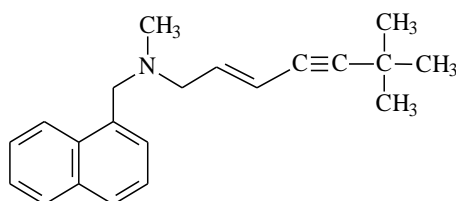


Figure 8: Structure de la Terbinafine

II.1.5.2. Mécanisme et spectre d'action

Cette famille d'antimycosique agirait par inhibition réversible et compétitive de la squalène époxidase, enzyme responsable de la cyclisation du squalène en lanostérol. La déplétion en ergostérol qui en résulte et l'accumulation du squalène affecte la structure de la membrane fongique à l'origine de la mort du champignon. Les Allylamines ont un spectre d'action relativement étroit orienté vers les dermatophytes et *Candida albicans*. [8, 9]

II.1.5.3. Indications thérapeutiques

Ces antifongiques sont conseillés pour le traitement des mycoses cutanées à dermatophytes et *Candida albicans*, ainsi que pour le traitement des onychomycoses à *Candida albicans*. [8, 9]

II.1.5.4. Contre-indications

La Terbinafine est contre-indiquée en cas d'hypersensibilité à la molécule et en cas d'insuffisance hépatique ou d'insuffisance rénale sévère. [8, 9]

II.1.5.5. Effets indésirables

Les effets secondaires les plus fréquents sont les maux de tête, les troubles gastro-intestinaux avec perte d'appétit, dyspepsie, nausées, douleurs abdominales, diarrhées. L'on signale également des éruptions cutanées et des troubles musculo-squelettiques à savoir les arthralgies, myalgies. [8, 9]

II.1.6. LES MORPHOLINES

II.1.6.1. Définition - Structure

Les Morpholines constituent une classe chimique d'antifongiques de synthèse totale à action fongistatique et fongicide ayant dans leur structure un motif de type diméthyl-morpholine. L'Amorolfine est actuellement le seul représentant utilisé en thérapeutique humaine (**Figure 9**). [8, 9]

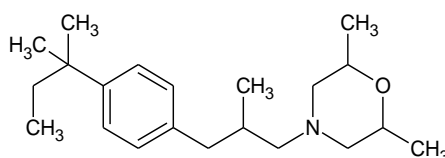


Figure 9: Structure de l'Amorolfine

II.1.6.2. Mécanisme et spectre d'action

L'Amorolfine agirait par inhibition successive de la C14 stérol réductase et de la Δ^{7-8} isomérase deux enzymes impliquées dans la synthèse de l'ergostérol. Ce blocage entraînerait une accumulation de stérols anormaux (lanostérol,

fécostérol) et une déplétion en ergostérol se traduisant par des modifications de la perméabilité et une augmentation de la fluidité de la membrane fongique aboutissant à la destruction du champignon. De plus l'accumulation de stérols anormaux semble inhiber également la chitine synthétase nécessaire à la synthèse de la chitine de la paroi fongique.

L'Amorolfine a un spectre d'action étroit essentiellement orienté vers les levures du genre *candida* excepté *candida glabrata* et les dermatophytes. [8, 9]

II.1.6.3. Indications thérapeutiques

L'Amorolfine est utilisée en thérapeutique pour le traitement des dermatophyties à germes sensibles et des onychomycoses à *Candida*. [8, 9]

II.1.6.4. Contre-indication

L'Amorolfine est contre-indiquée en cas d'allergie à la molécule. [8, 9]

II.1.6.5. Effets indésirables

Les principaux effets indésirables imputés à cette molécule sont des réactions allergiques cutanées. [8, 9]

II.1.7. CICLOPIROX

II.1.7. 1. Définition - Structure

Le Ciclopirox est un antifongique de synthèse totale à pouvoir fongicide possédant dans sa structure une entité de type 2-pyridinone. La ciclopiroxolamine est la forme d'utilisation la plus fréquente, il s'agit d'un sel du ciclopirox et du 2-aminoéthanol. Les seuls représentants en thérapie humaine sont le Ciclopirox et la Ciclopiroxolamine (**Figure 10**). [5, 6]

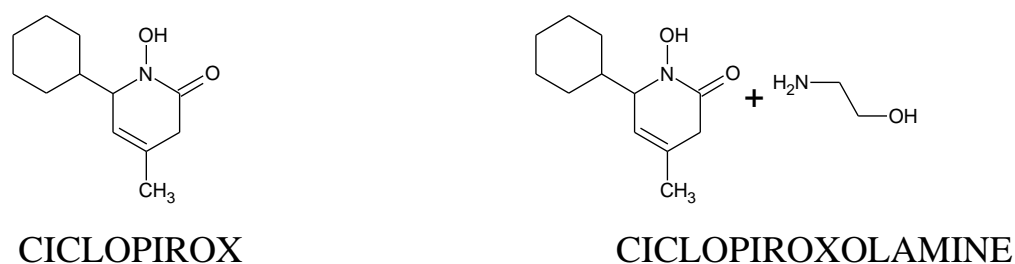


Figure 10: Structure des Ciclopirox

II.1.7.2. Mécanisme et spectre d'action

Les Ciclopirox entraîneraient des désordres à plusieurs niveaux du métabolisme des champignons. En effet, elles perturberaient la respiration cellulaire, la synthèse de l'ATP et inhiberaient l'absorption cellulaire d'acides aminés (leucine, alanine, phénylalanine), des ions potassium et phosphate. Tout ceci aboutirait à des modifications structurales des membranes fongiques à l'origine de la mort du champignon. Elles agiraient également par chélation des cations en particulier Fe^{3+} ou Al^{2+} éléments importants de nombreux systèmes enzymatiques fongiques. Les Ciclopirox ont un spectre action relativement étroit essentiellement orienté vers les levures du genre *Candida* excepté *Candida glabrata* et les dermatophytes. [5, 6]

II.1.7.3. Indications thérapeutiques

La Ciclopirox et la Ciclopiroxolamine sont indiquées en thérapeutique pour le traitement des dermatophyties à germe sensible, des candidoses cutanées et des onychomycoses à *Candida*. [5, 6]

II.1.7.4. Contre-indications

Les Ciclopirox sont contre indiqués en cas d'hypersensibilité. Il est déconseillé de les utiliser sur une grande surface. [5, 6]

II.1.7.5. Effets indésirables

Les principaux effets indésirables sont des réactions allergiques cutanées et une coloration de la peau autour des ongles. [5, 6]

II.2. AUTRES CLASSES CHIMIQUES D'ANTIFONGIQUES

II.2. 1. BENZOFURANES

II.2. 1.1. Définition - Structure

Le représentant en thérapeutique antifongique de cette classe est la Griséofulvine. Il s'agit d'un fongistatique d'origine naturelle et obtenue par fermentation de diverses souches de *Penicillium* dont *Penicillium griseofulvum*. Du point de vu chimique il s'agit d'un dérivé Benzofurane diversement substitué (**Figure 11**). Le seul représentant en thérapie humaine est la Griséofulvine.[8, 9]

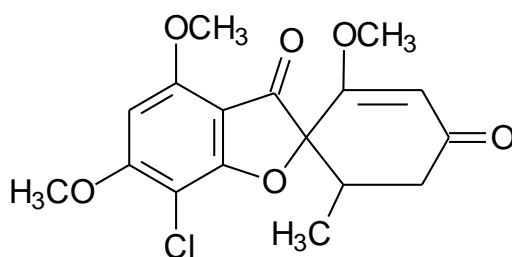


Figure 11: Structure de la Griséofulvine

II.2. 1.2. Mécanisme et spectre d'action

La Griséofulvine procéderait par inhibition de la mitose cellulaire au niveau microtubules. Elle induirait également une altération de la paroi fongique s'accompagnant d'anomalies de développement des hyphes terminaux à l'origine de son activité fongistatique. Elle possède un spectre d'action étroit orienté essentiellement vers les dermatophytes : *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton interdigitale*. [8, 9]

II.2.1.3. Indications thérapeutiques

Ce médicament est utilisé en thérapeutique pour le traitement des dermatophytoses cutanées et unguéales par voie orale et /ou locale. [8, 9]

II.2.2. THIOCARBAMATES

II.2.2. 1. Définition - Structure

Cette famille d'antifongiques constitue une classe chimique de synthèse totale possédant dans leur molécule respective une entité thiocarbamate reliée à deux groupes aryles de nature aromatique ou hétéroaromatique par l'intermédiaire d'un atome d'azote et d'oxygène. Le seul représentant utilisé actuellement en thérapie humaine est le Tolnaftate (**Figure 12**). [8, 9]

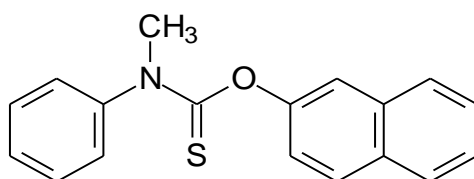


Figure 12: Structure du Tolnaftate

II.2.2. 2. Mécanisme et spectre d'action

Les Thiocarbamates agiraient comme les Allylamines par inhibition réversible et compétitive de la squalène époxidase, enzyme responsable de la cyclisation du squalène en lanostérol. La déplétion en ergostérol qui en résulte et l'accumulation du squalène affecte la structure de la membrane fongique à l'origine de la mort du champignon.

Le Tolnaftate à un spectre d'action étroit orienté essentiellement vers les dermatophytes : *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton violaceum* et une activité antifongique inconstante à l'égard des champignons filamenteux. [8, 9]

II.2.2.3. Indications thérapeutiques

Le Tolnaftate est indiqué pour le traitement local des dermatophytoses cutanées. [8, 9]

CHAPITRE2 : RESISTANCES ET LIMITES D'UTILISATION DES ANTIFONGIQUES

Malgré leur diversité, l'efficacité des molécules antifongiques est limitée par l'émergence de souches résistantes. En effet, ces souches développeraient des stratégies pour échapper à l'action des antifongiques sous l'effet de divers facteurs. Ainsi nous exposerons les facteurs et mécanismes de résistance mis en jeu dans chaque classe d'antifongiques.

I. DEFINITION

La résistance aux antifongiques se définit comme étant l'insensibilité d'une souche fongique à un ou plusieurs antifongiques. La souche fongique résistante, est capable alors de supporter des concentrations d'antifongique supérieure à celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce. Cette résistance peut être primaire (intrinsèque) ou secondaire (acquise) [17].

La résistance primaire est celle que développe une souche fongique à l'égard d'un antifongique sans jamais avoir été en contact avec celui-ci. Autrement dit, il s'agit d'une insensibilité existante naturellement chez tous les champignons d'un même genre ou d'une même espèce. Elle fait partie généralement du patrimoine génétique normal du champignon. C'est par exemple le cas de la résistance de *Candida krusei* au Fluconazole et celle du *Cryptococcus neoformans* aux échinocandines.

La résistance secondaire est développée par une souche de champignon à l'égard d'un antifongique auquel elle était auparavant sensible. Cette résistance ne touche que certaines souches au sein d'une espèce et peut être due à une mutation ou à l'altération d'un gène. La résistance des espèces de *Candida*

albicans et de *Cryptococcus neoformans* au Fluconazole illustre bien ce type de résistance [18, 19].

II. EPIDEMIOLOGIE ET FACTEURS DE RESISTANCE

L'épidémiologie des levures du genre *Candida* s'est considérablement modifiée ces dernières années avec l'apparition d'espèces résistantes à un ou plusieurs antifongiques. Plusieurs facteurs peuvent expliquer la survenue de ses résistances aux antifongiques [20].

II.1. Classe des polyènes

La résistance aux polyènes reste un fait relativement rare chez les isolats cliniques de champignons pathogènes, bien qu'elle soit de plus en plus rapportée [17]. Si la plupart des espèces fongiques sont considérées comme sensibles aux antifongiques polyéniques, il semble que certaines espèces leur soient naturellement peu sensibles, comme *C. glabrata* chez les levures [18]. Ainsi, les résistances primaires à l'Amphotéricine B sont bien connues pour les souches de *Candida lusitanae* et *Candida guilliermondii* [19]. Des résistances secondaires à Amphotéricine B ont également été décrites pour des souches de *Candida krusei* et *Candida glabrata* [21]. Chez les champignons filamenteux des résistances à l'Amphotéricine B ont été notifiées chez les espèces du genre *Fusarium*, *Scedosporum prolificans* et *Aspergillus terreus* [22]. Les facteurs de risques pouvant expliquer cette résistance sont :

- ✓ L'exposition préalable aux Azolés. la résistance secondaire des souches

de *Candida spp* et de *Cryptococcus neoformans* à l'Amphotéricine B se développerait chez les patients préalablement exposés à des antifongiques

azolés. Ceci serait dû à une altération des composants de la membrane cellulaire créée par l'usage préalable d'azolés [23, 24].

✓ L'état de déficience immunitaire : la déficience immunitaire est un facteur contribuant à la résistance secondaire à l'Amphotéricine B. Des résistances secondaires à l'Amphotéricine B de certaines levures ont été documentées chez des patients soumis à une chimiothérapie anticancéreuse et chez des patients transplantés [23, 24].

II.2. Classe des fluoropyrimidines

La résistance à la 5-FC est un phénomène relativement fréquent. Cette résistance peut être primaire comme chez *Candida tropicalis*, ou secondaire par sélection de mutants résistants après exposition à l'antifongique [20]. En effet 10 % des souches de *candida* présentent une résistance primaire (*C. albicans* stéréotype B, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*) à la 5-FC [21, 22]. Quant à la résistance secondaire elle est observée, pour *C. albicans* chez 30 % des patients recevant une monothérapie à la 5-FC [21]. Il est indiqué que la gravité de l'immunodépression et la monothérapie sont des facteurs de risque importants dans l'apparition des résistances à la 5-FC [25].

II.3. Classes des Azolés antifongiques

La résistance des souches du genre *candida* aux antifongiques Azolés est fréquemment rapportée, en raison de la sélection d'espèces résistantes due à l'utilisation croissante des antifongiques Azolés. Toutefois, la prévalence des résistances primaires aux triazoles de première génération chez les souches du genre *Candida* est faible [21,26]. Elle a été décrite dans moins de 2,5 % des cas pour le Fluconazole et dans moins de 9 % des cas pour l'Itraconazole [19]. Les

souches *Candida albicans* sont le plus souvent sensibles, *Candida glabrata* est souvent « sensible-dose dépendant », *Candida krusei* est le plus souvent résistant [19].

Quelques résistances secondaires ont été décrites chez des patients sous prophylaxie au Fluconazole, notamment chez les patients vivant avec le VIH ayant une candidose oropharyngée [26] et les patients greffés de la moelle [19]. Par ailleurs, des résistances croisées entre différents Azolés ont également été décrites [27]. En fait, plusieurs facteurs contribueraient à la résistance clinique aux antifongiques Azolés. Des études ont mis en cause la pression de l'environnement imposée par l'exposition au Fluconazole [28]. D'autres facteurs, tels que l'exposition à des agents antibactériens, à des traitements immunosuppresseurs et la condition médicale sous-jacente de l'hôte, pourraient se révéler être de meilleurs facteurs prédictifs de la distribution des espèces de *Candida* que l'utilisation du Fluconazole [29,30].

II.4. Classes des Echinocandines

La résistance aux Echinocandines est relativement rare [9]. On estime à plus de 99% le taux d'isolats sensibles aux Echinocandines chez les espèces du genre *Candida* [21]. Toutefois, des résistances primaires aux Echinocandines chez *C. neoformans* ont été décrites. La résistance de *C. neoformans* aux echinocandines, semble liée à la composition de sa paroi en polysaccharides qui diffère de celle des autres champignons [31]. De même des résistances secondaires ont été décrites chez certaines espèces de levures (*C. parapsilosis*, *C. tropicalis* et *C. glabrata*) capables de croître en présence de fortes concentrations en Echinocandines, bien supérieures à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) [32]. L'exposition répétée de la levure aux Echinocandines est un facteur déterminant dans l'apparition de cette résistance secondaire. En effet,

la résistance secondaire serait due à une adaptation physiologique du champignon en réponse au blocage de la synthèse des β (1-3)-glucanes et à la modification de la structure de la paroi qui en résulte [33].

III. MECANISMES DE RESISTANCE

III.1. Classe des Polyènes

La résistance à l'Amphotéricine B peut être due à deux mécanismes: la disparition de la cible et la mutation d'un gène.

- ✓ **la disparition de la cible** : la voie de biosynthèse de l'ergostérol, dans un premier temps, serait bloquée afin de soustraire la cible à l'action de l'antifongique. Dans un deuxième temps, l'ergostérol serait remplacé dans les membranes par d'autres stérols viables [21]. Cependant, une mutation du gène *ERG3* (codant la Δ -5,6 désaturase) pourrait conférer à elle seule une résistance croisée à l'Amphotéricine B et aux azolés. Elle empêche la formation du 14-méthyl- 3,6- diol toxique et permet l'accumulation de 14-méthyl-fécostérol, un stérol méthylé qui pourrait suppléer l'ergostérol. Ce mécanisme a été évoqué chez *C. albicans* [21].
- ✓ **la mutation d'un gène** : il a été montré qu'un isolat clinique de *C. albicans* possédant une mutation dans les gènes *ERG11* et *ERG5* (C22 désaturase) avait une résistance croisée au Fluconazole et à l'Amphotéricine B [34].

III.2. Classe des Fluoropyrimidines

La résistance des souches de *Candida sp* peut être due à :

- ✓ un défaut de transport ou de pénétration de l'antifongique à l'intérieur de la cellule fongique lié à un déficit ou une altération de l'activité de la cytosine perméase codée par le gène *FCY* [35,36].

- ✓ un défaut de transformation de l'antifongique en forme active toxique, par mutation du gène *FUR1* codant une enzyme impliquée dans le métabolisme de la 5-FC [35,36].
- ✓ une surproduction des cibles cellulaires de l'antifongique par surexpression du gène *CDC21*, codant la thymidylate synthétase [35,36].

III.3. Classes des Azolés

Plusieurs mécanismes de résistance des levures aux dérivés azolés ont été décrits, incluant la diminution de l'accumulation intracellulaire des dérivés azolés, l'altération de la composition en stérols de la membrane et la surproduction ou la mutation des cibles enzymatiques des dérivés azolés [17].

✓ **diminution de l'accumulation intracellulaire des dérivés azolés :**

L'accumulation intracellulaire des dérivés azolés peut être réduite par un manque de pénétration, à cause d'un faible taux d'ergostérol dans la membrane. Une possible diminution du ratio entre la Phosphatidylcholine et la Phosphatidyl-éthanolamine dans le plasma peut changer les fonctions barrières de la membrane. De plus, une importante cause de la réduction de l'accumulation des drogues est la présence d'un système actif d'efflux sortant qui tente de refouler ces azolés hors de la cellule. Pour les souches résistantes, ce système d'efflux est très développé. Ceci est dû à la surexpression des gènes codant pour ces systèmes d'efflux [18, 21, 9].

- #### ✓ **Altération de la composition en stérols de la membrane :** les levures résistantes sont capables de modifier la voie de biosynthèse de l'ergostérol, qui de ce fait supprime l'effet délétère des azolés, en évitant ainsi la formation par ces derniers de métabolites toxiques à partir de

stérols méthylés en position 14- α . Chez *C. albicans*, le 14 α –méthyl fécostérol peut être métabolisé par l'enzyme Δ -5-6 désaturase (codé par le gène *ERG3*) en un produit toxique. Cette étude a montré que les souches résistantes aux dérivés azolés avaient une mutation dans le gène *ERG3* [18, 21, 9].

- ✓ **Altération ou surproduction de la cible enzymatique des dérivés azolés :** des études ont montré que des mutations du gène *ERG 11* engendrent une diminution de l'affinité entre les dérivés azolés et les enzymes (14 α -déméthylase) ou une surexpression du gène *ERG11*, mais ce mécanisme de résistance aurait un effet plus réduit [18, 21, 9].

III.4. Classes des Echinocandines

La résistance des souches de *Candida* aux Echinocandines est due à :

- ✓ La mutation des gènes *FKS1* ou *FKS2*, indispensable à la synthèse de l'enzyme (1-3)- β -D-glucanes synthase [37].
- ✓ Une adaptation physiologique du champignon, par la voie de signalisation responsable du maintien de l'intégrité de la paroi, en réponse au blocage de la synthèse des β -(1-3)-glucanes [33].

Au terme de cette revue de littérature relative aux candidoses et à leur chimiothérapie, nous pouvons relever que le traitement des candidoses à l'heure actuelle repose principalement sur l'utilisation de quatre principales classes chimiques d'antifongiques à savoir :

1. Les Polyènes, procèdent quant à eux, par complexation de l'ergostérol membranaire créant des pores à l'origine de la lyse du champignon.

2. Les Fluoropyrimidines, analogues des bases pyrimidiques, inhibent la croissance fongique en perturbant la synthèse protéique et la réplication de l'ADN.
- 3 Les antifongiques Azolés agissent par inhibition de la synthèse de l'ergostérol, principal composant de la membrane plasmique des champignons.
- 4 Les Echinocandines perturbent pour leur part, la synthèse de la paroi fongique en inhibant une enzyme responsable de la synthèse de certains polysaccharides pariétaux.

Malheureusement, dans leur utilisation pratique toutes ses familles ont montré des limites à savoir :

- ✓ Les phénomènes de résistance qui n'épargnent aucune de ces familles d'antifongiques,
- ✓ Des effets secondaires plus ou moins graves selon les familles,
- ✓ Un spectre plus ou moins étroit, car aucune famille d'antifongique n'est active sur tous les champignons pathogènes.
- ✓ La voie d'administration

Au vu de toutes ces limites, la recherche de nouvelles biomolécules antifongiques plus performantes et moins toxiques ayant des mécanismes et/ou des sites d'actions différents s'avère indispensable.

Deuxième partie :
ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE1 : MATERIEL ET METHODES

I- MATÉRIEL

I.1.Type d'étude et cadre de travail

Ce travail expérimental a eu lieu en ce qui concerne la synthèse chimique totale des chalcones à support benzimidazole, au Laboratoire de Chimie Thérapeutique et Biomolécules de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques d'Abidjan. Quant à la caractérisation spectroscopique, elle a eu lieu au laboratoire CEISAM de Nantes. Pour ce qui est de l'évaluation des activités antifongiques des dérivés Benzimidazolyl-chalcones, elle a été réalisée durant 1 mois (03 juin -28 juin) au laboratoire de parasitologie et de mycologie du Centre Suisse de Recherche Scientifique (CSRS) de Côte d'Ivoire.

I-2- Appareils, réactifs et consommables

Pour la réalisation de ce travail nous avons utilisé :

- Plaques de silicagel 60 F₂₅₄ sur verre (Merck) ;
- Milieux de culture : Sabouraud 4% Glucose Agar, (Fluka, bouillon Tryptone Soja (OXOID)), Sabouraud Agar Maltose (OXOID) ;
- Bain-marie ;
- Flacon de culture en verre ;
- Plaque chauffante ;
- Micropipette graduées (10 µl) ;
- Embouts jetables ;
- Boîtes de Pétri ;
- Incubateur ;
- Chlorure de méthylthiazolyltétrazolium(MTT) ;
- Solvants (hexane, acétate d'éthyle, éthanol, méthanol, eau distillée) ;
- Bacs en polyéthylène ;
- Balance de précision (Deltarange).

I.3. Molécules à tester

I.3.1. Molécules de synthèse : Benzimidzoly-chalcones analogues du Chlormidazole.

Les Benzimidazolyl-chalcones, soumis à l'évaluation anti-*Candida*, sont au nombre de 16 sous forme de poudre. Tous les composés sont dissouts à la concentration de 1mg/ml dans du Méthanol.

I.3.2. Substances de référence

Pour mettre en évidence l'efficacité antifongique de nos nouvelles Benzimidazolyl-chalcones, nous avons utilisé deux (2) types de substances de référence :

Une substance médicamenteuse, à savoir le Fluconazole en raison de son efficacité antifongique notamment anti-*Candida*. Ce médicament provient de chez SIGMA Chemical Co. (USA).

- ✓ Un modèle moléculaire, en l'occurrence le Chlormidazole a été obtenu par synthèse totale au Laboratoire de Chimie Thérapeutique et Biomolécules de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques d'Abidjan, Côte d'Ivoire.

NB : Les solutions mères de tous les produits ont été obtenues en dissolvant 1mg de produit dans 1 ml de Méthanol.

I.4. Matériel microbiologique

Pour évaluer l'activité antifongique en particulier anti-*Candida* des produits, nous avons utilisé une souche clinique de *Candida albicans* (Souche 27506 CeDReS), fournie par le Centre de Diagnostic et de Recherche sur le SIDA et les Maladies Opportunistes (CeDReS) du CHU de Treichville d'Abidjan, Côte d'Ivoire

II. MÉTHODES

II.1. Méthodes chimiques : Synthèse des Benzimidazolyl-chalcones

II.1.1. Conceptualisation

Dans le contexte de résistance des champignons à la plupart des antifongiques, l'élaboration de nouvelles molécules susceptibles d'être plus efficaces reste une arme essentielle. Aussi, nous nous sommes intéressés à la série chimique des Benzimidazolyl-chalcones dans le cadre de nos activités de recherche pour la mise au point de nouvelles biomolécules à visée anti-infectieuse.

Le profil chimique Benzimidazolyl-chalcone a été conceptualisé selon les méthodologies pharmaco-chimiques de modélisation et de juxtaposition d'entités à potentialité antifongique. Dans ce profil, une phénylpropénone ou cétone α,β -phényl-éthylénique, est porteur en sa position 1 d'un diaza-hétéroaryle de nature Benzimidazolé en occurrence le *N*-4-chlorobenzylbenzimidazole (**Figure13**).

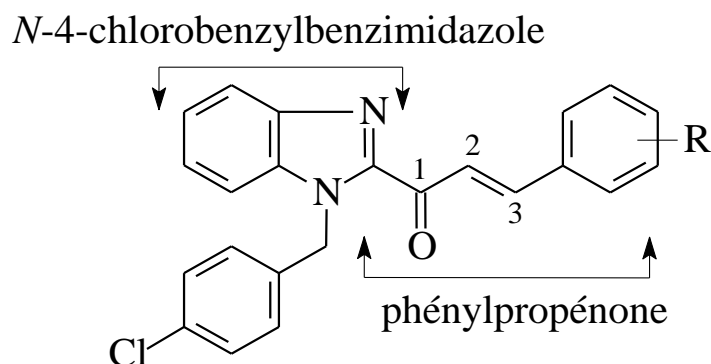


Figure 13: Entités chimiques du profil des Benzimidazolyl-chalcones analogues du Chlormidazole

Le choix de ces deux entités chimiques se justifie par leur forte aptitude intrinsèque à induire des activités biologiques d'intérêt thérapeutique mais aussi par mécanisme d'actions différents.

Le *N*- 4- chlorobenzylbenzimidazole est le support hétérocyclique aromatique du Chlormidazole, premier antifongique de synthèse totale utilisé en thérapeutique par voie locale. En effet, la découverte des activités antifongiques de ce dernier par Woolley en 1944 a ouvert une voie de recherche dans le domaine des antifongiques de synthèses puisqu'il constitue l'ancêtre des azolés antifongiques d'aujourd'hui.

Par ailleurs, la présence de l'hétérocycle diazoté de nature Benzimidazolique dans la structure chimique du *N*- 4- chlorobenzylbenzimidazole est favorable à l'induction d'activités anti-infectieuses. Les activités anthelminthiques [42], antibactériennes [43, 44], antiprotozoaire, antivirales et antifongiques de ce dernier ayant été largement rapportés dans la littérature.

Quant aux Chalcones ou 1,3-diarylpropénones (**Figure 14**), elles tiennent leurs multiples activités biologiques en particulier anti-infectieuses (antimalarique, antibactérienne, antifongique et antivirale) [47] de la présence dans leur molécule du groupement fonctionnel de type propénone ou carbonyle α,β -éthylénique.

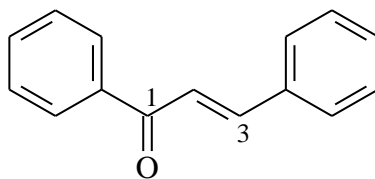


Figure 14 : Structure des Chalcones ou 1,3-diphenylpropénones

En effet, cet enchaînement fonctionnel porté par un groupement aryle, serait à l'origine de l'inhibition par complexation de certaines enzymes microbiennes et cancéreuses à fonction thiol [47].

Dès lors, de nombreux pharmacochimistes se sont investis dans des travaux de recherche médicamenteuse autour du noyau Benzimidazole et de l'enchaînement arylpropénone du fait de leurs multiples potentialités pharmacologiques en particulier antifongiques. Aussi pour notre part, en appliquant des concepts pharmacochimiques de juxtaposition d'entités anti-infectieuses bioactives et de modélisation moléculaire, il nous a semblé logique de concevoir un nouveau profil chimique associant les entités chimiques bioactives du Chlormidazole et des chalcones (**Figure 15**). Ces nouveaux dérivés Benzimidazolyl-chalcones pourraient posséder eux-aussi, des activités antifongiques potentielles.

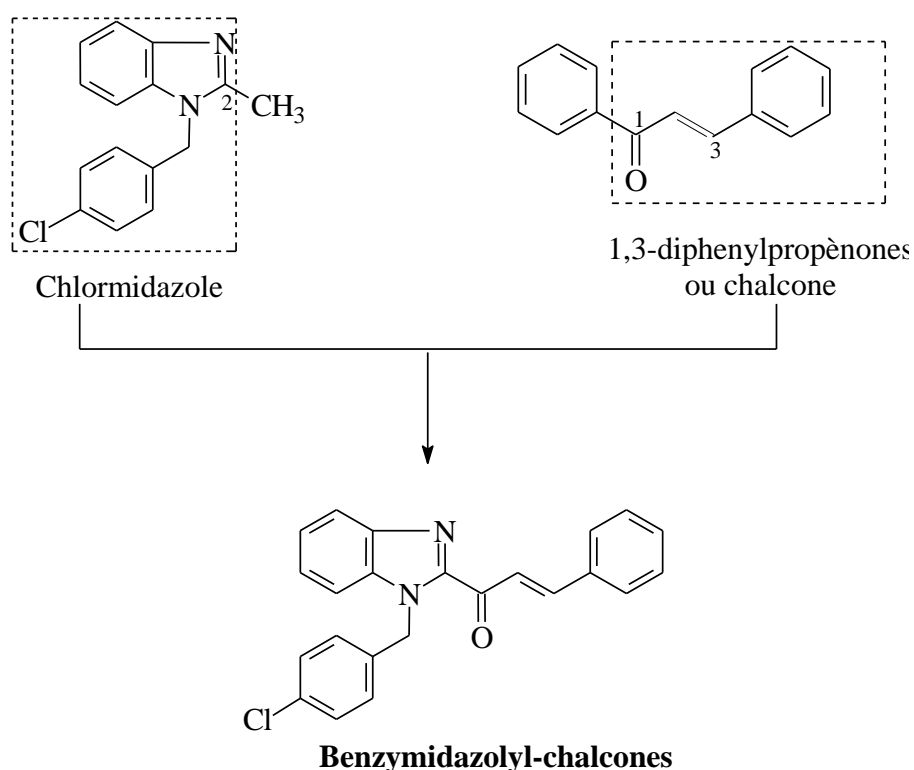


Figure 15 : Profil chimique des Benzimidazolyl-chalcones analogues du Chlormidazole

II.1.2. Synthèse des Benzimidazolyl-chalcones

La préparation des dérivés Benzimidazolyl-chalcones analogues du Chlormidazole a été réalisée en deux grandes étapes :

- ✓ La première étape a consisté à préparer une méthyl-cétone à support hétéroaryle en l'occurrence le *N*-(4-chlorobenzyl) 2-acétylbenzimidazole (**composé 1**).
- ✓ La seconde étape est l'accès aux Benzimidazolyl-chalcones (**composé 2a-p**).

II.1.2.1 Synthèse du *N*-(4-chlorobenzyl) 2-acétylbenzimidazole: composé **1**

La préparation du composé **1** a été réalisée suivant une suite réactionnelle illustrée dans le **schéma 1**. Elle débute par une condensation selon la méthode de Phillips [48] entre l'orthophénylènediamine (**a**) et de l'acide lactique (**b**) à reflux dans l'acide chlorhydrique dilué. Cette étape permet d'accéder après neutralisation à l'aide de l'ammoniaque, au 2-hydroxyéthyl benzimidazole (**c**). Ce dernier est ensuite oxydé en méthyl-cétone en milieu acide acétique par le dichromate de potassium pour conduire au 2-acétylbenzimidazole ou composé **d**. L'accès au *N*-(4-chlorobenzyl) 2-acétylbenzimidazole (**1**) passe par la *N*-para chlorobenzylation du 2-acétylbenzimidazole à l'aide de l'hydrure de sodium.

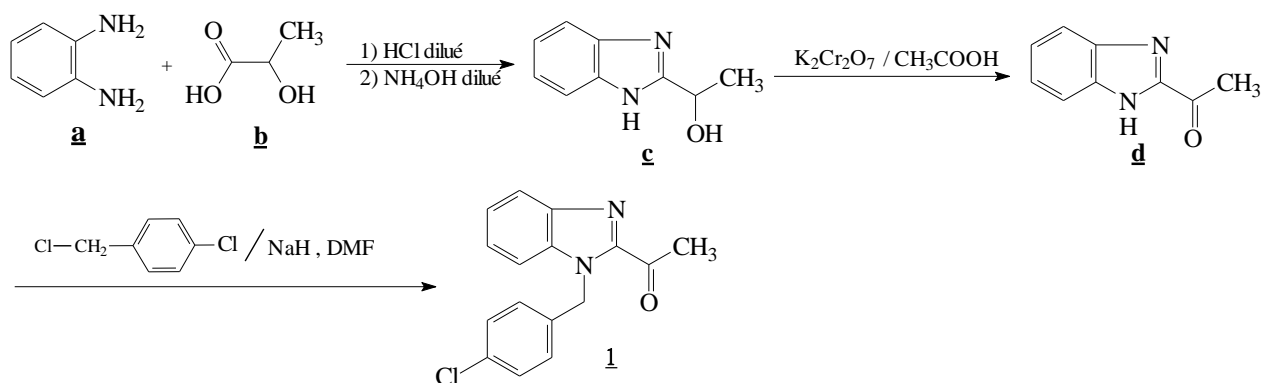


Schéma 1 : Synthèse du *N*-(4-chlorobenzyl) 2-acétylbenzimidazole (**1**)

II.1.2.2 Accès aux Benzimidazolyl-chalcones: composés **2a-2p**

Le *N*-(4-chlorobenzyl) 2-acetylbenzimidazole (**1**) précédemment préparé, est par la suite engagé dans une réaction de condensation en milieu basique de type Claisen-Schmidt avec divers benzaldéhydes substitués (**f**) pour conduire après neutralisation, aux benzimidazolyl-chalcones attendues (**2a-2p**) (Schéma 2).

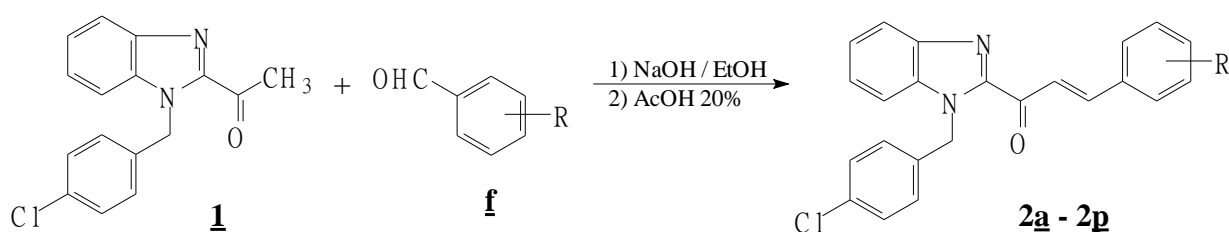


Schéma 2 : Synthèse des Benzimidazolyl-chalcones (composés **2a-2p**)

Tous ces dérivés Benzimidazolyl-chalcones ont été synthétisé et caractérisé grâce à la collaboration de deux laboratoires à savoir le laboratoire de SSMT de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody et le laboratoire CIESAM de Nantes.

Pour notre part nous sommes uniquement focalisé sur l'évaluation des activités antifongiques de ces dérivés préalablement synthétisés.

II.2. Méthode biologique : Evaluation des activités antifongiques

Pour la détermination *in vitro* des activités anti-*Candida* des produits à tester, nous avons utilisé la technique de bioautographie « agar overlay » [49-52].

II.2.1. Principe de la technique de bioautographie « agar overlay ».

C'est une méthode qui consiste à mettre en contact un inoculum avec un chromatogramme sur couche mince (CCM), préalablement développé à partir des produits à tester. Il s'agit d'un test simple utilisant *Candida albicans* comme organisme indicateur pour la détection des activités de composés antifongiques par chromatographie sur couche mince. L'inhibition de la croissance fongique sera évaluée par la détection colorée de l'activité déshydrogénasique des germes à l'aide du Chlorure de Méthyl ThiazolylTétrazolium (MTT). Elle a l'avantage de permettre le screening de plusieurs produits à la fois (10 produits par plaque) et l'évaluation de l'activité des produits par la détermination des Quantités Minimales Inhibitrices (QMI). Celles-ci sont définies comme étant les plus petites quantités de produits capables de s'opposer à la prolifération des souches de *Candida albicans*.

II.2.2.Préparation de l'Inoculum

On prépare une culture de *Candida albicans* sur de la gélose de Sabouraud glucosée (Sabouraud 4% glucose Agar, Fluka) en boîte de Pétri, incubée à 30°C pendant 24 à 48 heures. Une à trois colonies est ensuiteensemencée dans 50mL de bouillon Tryptone Soja (OXOID), puis laissées sous agitation pendant une nuit à température ambiante. On prélève ensuite 1 mL de ce bouillon que l'on transfère dans un nouveau bouillon, laissé sous agitation pendant environ 6 heures (temps nécessaire pour atteindre une croissance exponentielle

de *Candida albicans*. Au moment du test, on ajoute 5 mL du bouillon d'environ 6 heures dans 50 mL d'agar à l'extrait de malt (Sabouraud Agar Maltose, (OXOID)), maintenu fondu au bain-marie à 45°C pour obtenir un inoculum contenant environ 10^5 cellules/mL.

II.2.3. Détection des activités

Des solutions méthanoliques de nos Benzimidazolyl-chalcones ainsi que le Fluconazole et du Chlormidazole, substances de références, ont été préparées à la concentration de 1 mg/mL. Par la suite, 10 µL de chaque solution, soit 10 µg de produit, sont déposés sur les plaques de verre en silicagel 60 F₂₅₄.

Les chromatogrammes sont développés dans un système d'élution composé d'Hexane-Acétate d'éthyle (1;1). Ces chromatogrammes sont ensuite séchés sur une plaque chauffante et maintenus à 35-40°C environ.

Sur chaque chromatogramme, on étale rapidement l'inoculum à raison de 10 µL par portion de plaque de silicagel (10 cm x 10 cm). Après la solidification de l'agar, les plaques sont incubées à 30°C dans des bacs en polyéthylène pendant une nuit, en atmosphère humide.

Pour la révélation, les plaques ainsi préparées sont imprégnées d'une solution aqueuse de Chlorure de Méthylthiazolyl-Tétrazolium (MTT) à la concentration de 2.5 mg/mL. A la suite d'une nouvelle incubation de 2 à 4 heures environ, des zones d'inhibition de croissance apparaissent sous formes de tâches blanches sur un fond violet. Avant la lecture à la lumière Ultra-Violet, par mesure de sécurité, les plaques sont giclées avec de l'Ethanol afin de tuer les souches de *Candida* non inhibées par les produits à tester.

II.2.4. Détermination des Quantités Minimales Inhibitrices (QMI)

Les quantités minimales de produit qui inhibent la croissance de *Candida albicans* sont déterminées à partir d'une gamme de dilution donnant les QMI suivantes (**Tableau I**) :

Tableau I: Gammes de dilution et de concentration

Gamme de dilution	Concentration ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)
1	10
2	5
3	2,5
4	1,25
5	0,625
6	0,3125
7	0,15625
8	0,078125
9	0,0390625
10	0,01953125

Les tests antifongiques avec nos seize produits (16) sont ensuite menés comme décrits dans les parties **II.2.2** et **II.2.3**.

Les différentes étapes nécessaires pour la réalisation de la technique de bioautographie sont résumées dans le **schéma 3** ci-dessous.

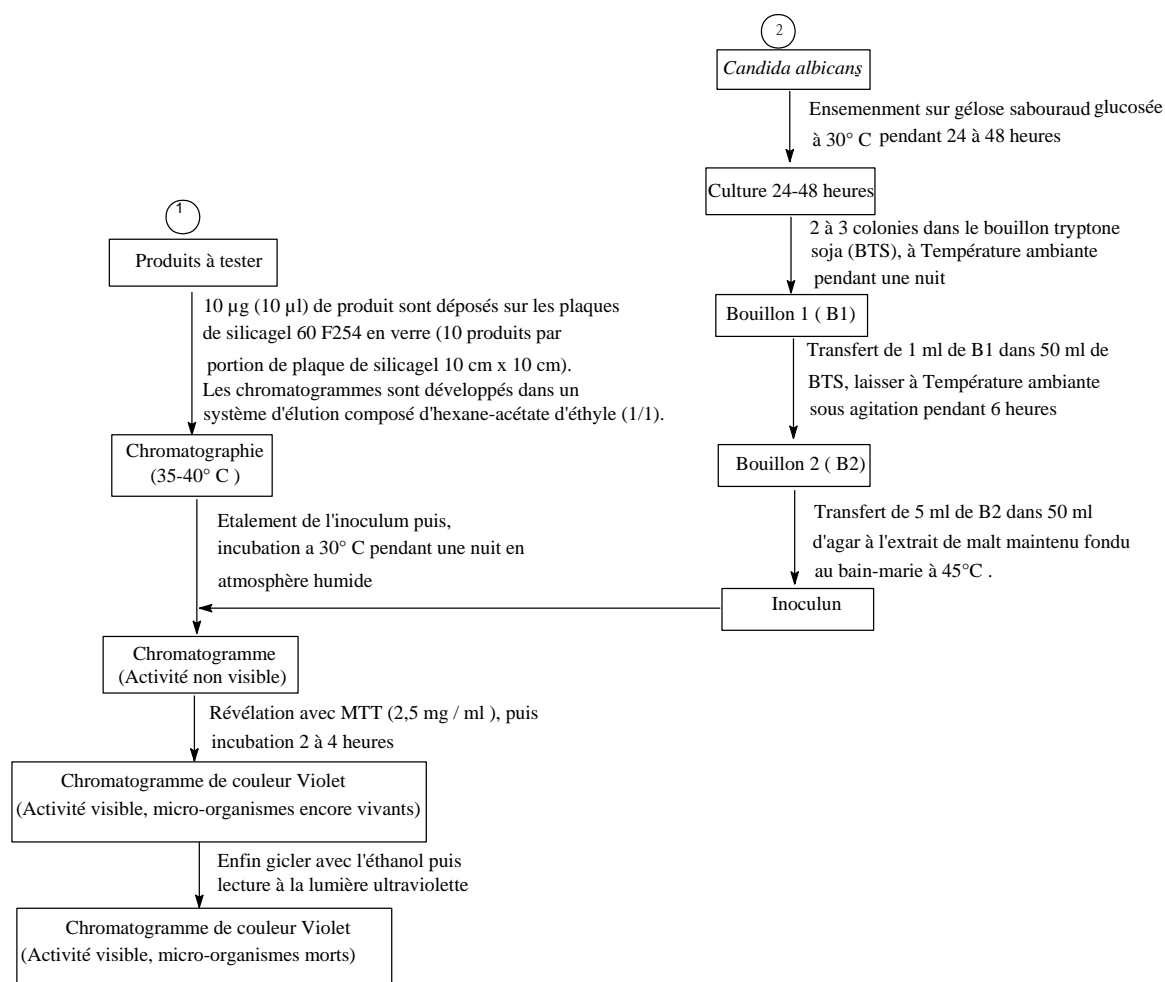


Schéma 3: Étapes de la technique de bioautographie

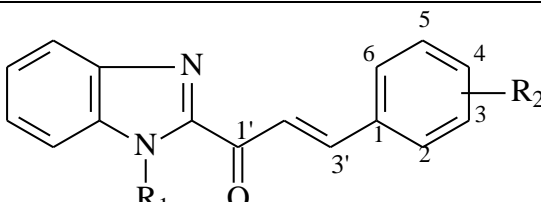
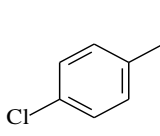
CHAPITRE 2 : RESULTATS ET DISCUSSION

I.RESULTATS

I.1.RESULTATS CHIMIQUES

Nous avons utilisé 16 composés Benzimidazolyl-chalcones possédant tous dans leurs molécules respectives l'enchaînement Phénylpropénone des Chalcones porté par un hétérocycle benzimidazolé. Ces composés sont réparties en deux séries : celles des dérivés *N*-4-chlorobenzylées (composés **2a-2h**) et celles des dérivés non substitués (composés **2i-2p**). De plus l'hétérocycle benzénique en position 3' de la propénone dans les deux séries est porteur de divers modulateurs de type méthylé (CH₃), hydroxylé (OH), méthoxylé (OCH₃), halogéné (Cl, Br, F) et nitrés (NO₂).

Tableau II: Structure chimique des Benzimidazolyl-chalcones

			
Séries	Composés	R1	R2
<i>Dérivés N-4-chlorobenzylés</i>	2a		H
	2b		3-CH ₃
	2c		2-OH
	2d		3-OCH ₃
	2e		4-Cl
	2f		4-Br
	2g		4-F
	2h		2-Cl, 5-NO ₂
<i>Dérivés non substitués</i>	2i	H	H
	2j		3-CH ₃
	2k		2-OH
	2l		3-OCH ₃
	2m		4-Cl
	2n		4-Br
	2o		4-F
	2p		2-Cl, 5-NO ₂

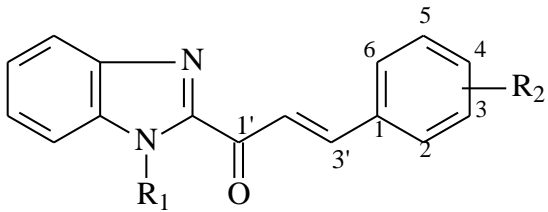
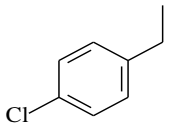
I.2 RESULTATS DE L'ÉVALUATION DES ACTIVITÉS ANTIFONGIQUES

Les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité antifongique vis-à-vis de la souche de *Candida albicans* 27506 CeDReS des benzimidazolyl-chalcones, du Fuconazole et de la Chlormidazole sont rassemblés dans le **Tableau III**. L'activité de chaque produit est donnée par sa Quantité Minimale Inhibitrice (QMI) exprimée en microgramme (μg) (**Tableau III**).

Les résultats rapportés font ressortir que:

- La souche clinique de *Candida albicans* présente une sensibilité relative aux différents produits testés à des concentrations différentes.
- Les substances médicamenteuses de référence ont présenté des activités antifongiques de l'ordre de $10\mu\text{g}$, à la limite du seuil de l'expérimentation.
- La benzimidazolyl-chalcone ou composé **2a**, présente des activités antifongiques équivalentes à celles des substances de référence avec une QMI de $10\mu\text{g}$ dans les limites de notre expérimentation.
- Les composés **2h**, **2i**, **2j** et **2o** (4 composés) possèdent d'excellentes activités antifongiques ($\text{QMI} \leq 5\mu\text{g}$) supérieures à celles des substances de références.
- Les autres composés de la série des Benzimidazolyl-chalcones, possèdent des activités antifongiques ($\text{QMI} = 10\mu\text{g}$) équivalentes à celles des substances de référence au seuil de notre limite d'expérimentation.

Tableau III : Activités antifongiques *in vitro* des **composés 2a-2p** et des substances de référence vis à vis de *Candida albicans*.

				
Séries	Composés	R1	R2	QMI (µg) <i>(Candida albicans)</i> <i>Souche 27506</i> <i>CEDRES</i>
<i>Dérivés N-4-chlorobenzylés</i>	2a		H	10
	2b		3-CH ₃	10
	2c		2-OH	10
	2d		3-OCH ₃	10
	2e		4-Cl	10
	2f		4-Br	10
	2g		4-F	10
	2h		2-Cl, 5-NO ₂	5
<i>Dérivés non substitués</i>	2i	H	H	1,25
	2j		3-CH ₃	0,625
	2k		2-OH	10
	2l		3-OCH ₃	10
	2m		4-Cl	10
	2n		4-Br	10
	2o		4-F	0,625
	2p		2-Cl, 5-NO ₂	10
CHLORMIDAZOLE				10
FLUCONAZOLE				10

II-DISCUSSION

A la suite de ce criblage antifongique en série des Benzimidazolyl-chalcones analogues du Chlormidazole, nous nous sommes limités, à la seule discussion des résultats expérimentaux obtenus. Une telle discussion de type relations structure-activité vise deux objectifs :

- ✓ la pertinence du concept pharmaco-chimique de juxtaposition de potentiels pharmacophores comme méthode pratique d'élaboration de biomolécules d'intérêt thérapeutique,
- ✓ la détermination des éléments structuraux qui concourent à l'apparition voire à l'exaltation des activités anti-candida.

II.1. Pertinence du concept pharmaco-chimique de juxtaposition de pharmacophores

La méthode pharmaco-chimique de conceptualisation de nouveaux candidat-médicaments par suite d'un accolement de plusieurs entités pharmacophores permet d'établir que :

Le remplacement du méthyle en position 2 du Chlormidazole par l'enchaînement fonctionnel phénylpropénone (**Figure 16, page 56**), conduit à une nouvelle biomolécule possédant une activité antifongique de l'ordre de 10 μ g. Cette activité *anti-Candida* est superposable à celle du Fluconazole et du Chlormidazole les substances médicamenteuses de référence.

Au vu de ce résultat antifongique au seuil de notre limite d'expérimentation, il paraît intéressant d'entreprendre d'autres modulations chimiques autour de la Benzimidazolyl-chalcone, analogue du Chlormidazole ou Composé **2a** dans le

but d'améliorer ses activités anti-*Candida*. Pour cela, nous avons entrepris, deux types de modulations structurales. Il s'agit (**Figure 16**) :

- ✓ d'une variation autour de l'homocycle benzénique en position 3' de la propénone. Elle consiste en l'introduction de divers modulateurs de type alkyle, hydroxyle, alcoyle, nitro ou halogène,
- ✓ du maintien de ces mêmes modulateurs sur l'homocycle benzénique doublé de la suppression du 4-chlorobenzyle fixé sur l'azote pyrrolique du Benzimidazole.

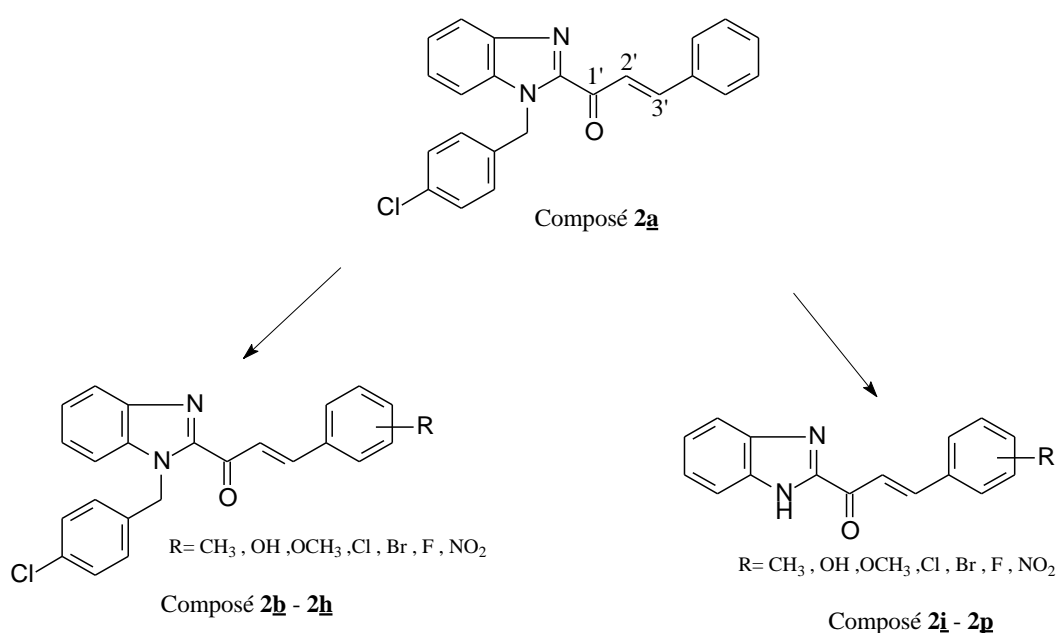


Figure 16 : Pharmaco-modulations entreprises autour du composé **2a**

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

Les principales variations entreprises pour déterminer les éléments structuraux indispensables à l'apparition, au maintien voire l'exaltation des activités antifongiques ont permis d'établir que :

II.2.1. Série des Benzimidazolyl-chalcones *N*-4-chlorobenzylé : (Tableau III)

- ✓ L'introduction de divers modulateur chimiques de type méthylé, hydroxylé, méthoxylé et halogéné composés (**2a** à **2g**) sur l'homocycle benzénique en position 3' de la propénone est favorable au maintien des activités anti-*Candida* aux alentours de 10µg. Cette activité anti-*Candida* reste toutefois superposable à celle du composé (**2a**) et des substances médicamenteuses de référence.
- ✓ Par contre la présence concomitante d'un atome de chlore et d'un groupement nitro sur l'homocycle benzénique en position 3' de la propénone (composé **2h**) est propice à l'amélioration des activités anti-*Candida* avec un QMI de 5µg. Cette efficacité anti-*Candida* est 2 fois supérieure à celle de la Benzimidazolyl-chalcone (composé **2a**) et du Chlormidazole.

II.2.2. Série des Benzimidazolyl-chalcones non *N*-substitués (Tableau III)

Dans cette série, notre démarche a consisté en la suppression du groupement 4-chlorobenzyle du benzimidazole dans l'optique de voir son impact dans l'amélioration des activités antifongiques des composés **2a** à **2h**.

- ✓ Cette modulation a effectivement conduit à l'exaltation de l'activité anti-*candida* (QMI=1,25µg) d'un facteur de près de 8 fois avec le composé **2i** comparativement à son homologue *N*-substitués (composé **2a** : QMI=10µg).
- ✓ Par ailleurs l'introduction sur l'homocycle benzénique de modulateur de type méthyle ou fluor (composés **2j** et **2o**) sur ce dernier profil chimique

non *N*-substitué, conduit à une double efficacité antifongique desdits composés (QMI = 0,625 µg) comparativement au composé **2i**.

Si la non *N*-substitution de l'atome d'azote pyrrolique du Benzimidazole a effectivement été prouvée comme impactant positivement les activités biologiques en série des Benzimidazoles anthelminthiques [53], une telle modulation semble être également indispensable pour de bonnes activités antifongiques. La présence du groupement 4-chlorobenzyle indispensable pour propriétés antifongique du Chlormidazole n'est donc pas pertinente dans notre série de Benzimidazolyl-chalcones.

- ✓ Toutefois, l'introduction de modulateurs de type hydroxylé, méthoxylé, chloré ou bromé (composé **2k**, **2l**, **2m**, **2n**) semble ne pas être favorable à l'amélioration des activités anti-*Candida* malgré la suppression du 4-chlorobenzyle. Celles-ci restent superposables à celle du composé (**2a**) au alentour de 10µg.

Au final, dans la série des Benzimidazolyl-chalcones, l'optimisation des activités antifongiques passe par une double modulation :

- ✓ d'une part, la suppression du 4-chlorobenzyle fixé sur l'azote pyrrolique du noyau Benzimidazole et d'autre part,
- ✓ la modulation ou non (composé **2i**) de l'homocycle benzénique en position 3' de la propénone par des groupements de type méthylé (composé **2j**) ou fluoré (composé **2o**)

CONCLUSION - PERSPECTIVES

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouveaux antifongiques pour contribuer à la lutte contre les maladies mycosiques. Ainsi, l'élaboration de nouvelles biomolécules par juxtaposition de pharmacophores, nous a permis de conceptualiser et d'édifier une nouvelle série benzimidazolyl-chalcones analogues du chlormidazole.

L'évaluation des activités antifongiques vis-à-vis de *Candida albicans* de ces nouvelles chalcones à support benzimidazolique a montré que l'induction et amélioration des activités antifongiques passe par une double modulation chimique :

- ✓ la suppression du 4-chlorobenzyle fixé sur l'azote pyrrolique du noyau Benzimidazole ;
- ✓ l'introduction ou non sur l'homocycle benzénique en position 3' de la propénone des modulateurs de type méthylé ou fluoré.

Dès lors, les composés **2i**, **2j** et **2o** avec des QMI comprises entre 1,25 et 0,625 µg, sont capables d'inhiber totalement la pousse de *Candida albicans*.

Ces composés pourraient constituer selon nous et sans aucune prétention quelconque des chefs de file d'une nouvelle classe d'antifongique de synthèse totale en série des Benzimidazolyl-chalcones. Il nous apparaît donc nécessaire de poursuivre ces travaux de pharmaco-chimie par :

- ✓ le remplacement de l'homocycle benzénique de l'enchaînement phénylpropénone par un hétérocycle pentagonal à deux ou trois atomes d'azote à l'instar des imidazolés et triazolés antifongiques.
- ✓ le remplacement du noyau Benzimidazole par son isostère Imidazopyridine, Benzoxazole ou Benzothiazole.
- ✓ le blocage des sites de métabolisations potentiels du noyau Benzimidazole (C5 et/ou C6) par introduction de différents modulateurs.

D'un point de vue fondamental, il serait aussi intéressant, non seulement d'élucider le mode d'action de ses nouvelles chalcones sur *Candida albicans*, mais aussi, d'étendre l'évaluation antifongique à d'autres champignons pathogènes.

Les molécules obtenues dans ce travail de thèse peuvent constituer des fondements solides, sous réserve des études de toxicologie et de pharmacologie pour la mise au point d'une nouvelle classe chimique d'antifongiques .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Develoux M, Bretagne S.** Candidoses et levures diverses. EMC- Maladies Infectieuses 2005, 2 : 119–139
- 2- Morgan J, Meltzer MI, Plikaytis BD *et al.*** Excess mortality, hospital stay, and cost due to candidemia: a case-control study using data from population-based candidemia surveillance. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2005, 26(6) : 540-547.
- 3- Lass FC.** The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. *Mycoses* 2009, 52 (3): 197-205
- 4- Pfaller MA, Diekema DJ.** Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical Microbiology Reviews* 2007, 20 (1): 133-163.
- 5- Espinel IA.** Mechanisms of resistance to antifungal agents: Yeasts and filamentous fungi. *Revista Iberoamericana de Micología* 2008, 25(2): 101-106.
- 6- Smagill S, Shields C, Sears CL *et al.*** Resistance croisée aux triazoles chez *Candida sp*: observation, fréquence dans les isolats sanguins et implications pour les traitements antifongiques. *Journal de mycologie médicale* 2007, 17 (1) : 1-10.
- 7- Djohan V, Yavo W, Kiki BPC *et al.*** Sensibilité in vitro des souches de *Candida albicans* d'origine vaginale aux antifongiques à Abidjan (Cote d'Ivoire). *Journal de Mycologie Médicale* 2012, 22 (2): 129-133.
- 8- André B.** Antibiotiques agent antibactériens et antifongiques. Edition ellipses Paris 1999, 1216 p.

- 9- Sanglard D , Odds FC.** Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Lancet Infectious Diseases* 2002 , 2: 73-85
- 10- Pfaller MA, Diekema DJ , Gibbs DL *et al.*** Geographic and temporal trends in isolation and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis*: A global assessment from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program 2001 to 2005. *Journal of Clinical Microbiology* 2008, 46 : 842–849.
- 11- Talarmin JP, Bouteille D, Tattevin P *et al.*** Epidemiology of candidemia: A one-year prospective observational study in the west of France. *Médecine et maladies infectieuses* 2009, 39: 877-885.
- 12- David WW.** Trends in the epidemiology of invasive fungal infections . *Japanese Journal of Medical Mycology* 2007, 48 (1): 1-12
- 13- Menan HE, Yavo W, Messou E *et al.*** Recherche de *Candida dubliniensis* chez des patients VIH+ à Abidjan (Côte d’Ivoire). *Journal de Mycologie Médicale* 2008, 18 (4) : 228-233
- 14- Jindal N, Gill P, Aggarwal A.** An epidemiological study of vulvovaginal candidiasis in women of childbearing age. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2007, 25 (2) : 175-176
- 15- Kannel WB, Levine BS.** *Candida* Infection as a Risk Factor for HIV Transmission. *Journal of Women’s Health* 2003, 12 (5) : 487-494.
- 16- Maertens JA.** History of the development of azole derivatives. *Clinical Microbiology and Infection* 2004, 10 : 1-10.

- 17- Kanafani ZA, Perfect JR.** Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents mechanisms and clinical impact. *Clinical Infectious Diseases* 2008, 46 : 120-128.
- 18- Patrick Vandeputte.** Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques chez *Candida glabrata*. Thèse de doctorat Angers 2008, 930 : 17-32
- 19- Piens MA, Monbrison F, Picot S.** Etude de la sensibilité des levures aux antifongiques en pratique médicale. *La lettre de l'infectiologie* 2003, 18 (6): 222-226
- 20- James BA.** Evolution of antifungal-drug resistance: mechanisms and pathogen fitness. *Nature Reviews Microbiology* 2005, 3: 547-556
- 21- Pfaller MA.** Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. *The American journal of medicine*. 2012, 125 (1) : S3-S13.
- 22- Sabatelli F, Patel R, Mann PA et al.** In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2006, 50 (6) : 2009-2015.
- 23- Éric D.** Antifungal resistance in *Candida*: detection and mechanisms. *Revue francophone des laboratoires* 2013, 43 (450) : 71-77

- 24- Granier F.** Antifongiques : classes thérapeutiques, mécanismes d'action, problèmes de résistance. EM-Antibiotiques 2003, 5 (1): 39-48.
- 25- Edlind TD, Katiyar SK.** Mutational analysis of flucytosine resistance in *Candida glabrata*. Antimicrobial agents and chemotherapy 2010, 54 (11): 4733-4738.
- 26- Andargachew M, Afework K, et al.** Frequent detection of 'azole' resistant *Candida* species among late presenting AIDS patients in northwest Ethiopia. BMC Infectious Diseases 2013, 13 : 82.
- 27- Magill S, Shields C, Sears CL et al.** Resistance croisée aux derives triazoles chez *Candida sp*: Observation, fréquence dans les isolats sanguins et implications pour les traitements antifongiques. Journal de Mycologie Médicale. 2007, 17: 1 -10
- 28- Patrick V, Selene F, Alix TC.** Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. International journal of microbiology 2012, 2012: 1-26
- 29- Lin MY, Carmeli Y, Zumsteg J.** Prior antimicrobial therapy and risk for hospital-acquired *Candida glabrata* and *Candida krusei* fungemia: a case-case-control study. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2005; 49 : 4555-4560.
- 30- Malani A, Hmoud J, Chiu L et al.** *Candida glabrata* fungemia: experience in a tertiary care center. Clinical Infectious Diseases 2005, 41:975-981.
- 31- Maligie MA, Selitrennikoff CP.** *Cryptococcus neoformans* resistance to echinocandins: (1,3) β -glucan synthase activity is sensitive to echinocandins. Antimicrobial Agents Chemotherapy 2005, 49: 2851-2856.

32- Perlin DS. Resistance to echinocandins class antifungal drugs. Drug Resistance Updates 2007, 10:121-130.

33- Cota JM, Grabinski JL, Talbert RL et al. Increases in SLT2 expression and chitin content are associated with incomplete killing of *Candida glabrata* by caspofungin. Antimicrobial Agents Chemotherapy 2007, 52 : 1144-1146.

34- Barker KS, Crisp S, Wiederhold N et al. Genome-wide expression profiling reveals genes associated with amphotericin B and fluconazole resistance in experimentally induced antifungal resistant isolates of *Candida albicans*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2004, 54 (2) : 376-385.

35- Hope WW, Tabernero L, Denning DW et al. Molecular mechanisms of primary resistance to flucytosine in *Candida albicans*. Antimicrobial Agents Chemotherapy 2004, 48 (11) : 4377-4386.

36- Patrick V, Laurent P, Gerald L et al. Molecular Mechanisms of Resistance to 5-Fluorocytosine in Laboratory Mutants of *Candida glabrata*. Mycopathologia 2011, 171 : 11-21.

37- Laverdiere M, Lalonde RG, Baril JG et al. Progressive loss of echinocandin activity following prolonged use for treatment of *Candida albicans* oesophagitis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2006, 57 (4) : 705-708.

38- Woolley DW. Some biological effects produced by benzimidazole and their reversal by purines. The Journal of Biological Chemistry. 1944, 152: 225-232.

- 39- Maertens JA.** History of the development of azole derivatives. *Clinical Microbiology and Infections*. 2004, 10 (1): 1-10.
- 40- Fromtling R.** Overview of medically important antifungal azole derivatives. *Clinical Microbiology Reviews*. 1988, 1: 187-217.
- 41- Nowakowska Z.** A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *European Journal of medicinal Chemistry*. 2007, 42: 125-137.
- 42- Mahama O, Drissa S, Kone M et al.** Synthesis and anthelmintic activity of some hybrid Benzimidazolyl-chalcone derivatives. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2011, 10 (6): 767-775.
- 43- Mahiuddin A, David S, Naresh K.** Synthesis, Reactivity and Biological Activity of Benzimidazoles. *Topics in Heterocycl chemistry*. 2007, 9: 87-118
- 44- Khabnadideh S, Rezaei Z, Pakshir K et al** Synthesis and antifungal activity of benzimidazole, benzotriazole and aminothiazole derivatives. *Research in pharmaceutical sciences*. 2012, 7 (2): 65–72.
- 45- Namrata S, Annamalai P, Kavita R et al.** Benzimidazole: A short review of their antimicrobial activities. *International Current Pharmaceutical Journal*. 2012, 1 (5): 119-127.
- 46- Rachid Z, Ahmed M, Redouane A et al.** Activité biologique de dérivés du benzimidazole. *Revue Roumaine de Chimie*. 2009, 54 (8) : 643–650.
- 47- Nowakowska Z.** A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *European Journal of medicinal Chemistry*. 2007, 42: 125-137.

- 48- Phillips MA.** The formation of 2-substituted benzimidazoles. Journal of Chemical Society 1928, 2393-239.
- 49- Homans AL, Fuchs A.** Direct bioautography on thin-layer chromatograms as a method for detecting fungitoxic substances. Journal of Chromatography 1970, 51(2): 327-329.
- 50- Rahalison L.** Mise au point et applications d'une méthode de dépistage d'activité antifongique (*Candida albicans*) dans les extraits végétaux. PhD Thesis, Switzerland 1994, 78 (85): 116–135.
- 51- Rahalison L, Hamburger M, Monod M *et al.*** Antifungal tests in phytochemical investigations comparison of bioautographic methods using phytopatogenic and human pathogenic fungi. Planta Medica 1994, 60: 41-44.
- 52- Rahalison L, Hamburger M, Monod M *et al.*** A bioautographic agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants. Phytochemical Analysis 1991, 2:199-203.
- 53- AFECT.** Traité de chimie thérapeutique : principaux antifongiques et antiparasitaires. Edition TEC&DOC 1998, V : 544 p.

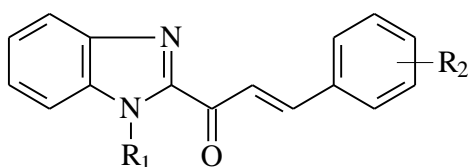
RÉSUMÉ

Les candidoses constituent les infections mycosiques les plus répandues dans le monde. L'efficacité de la chimiothérapie antifongique est devenue un enjeu de santé publique depuis que le mésusage a conduit à l'émergence de souches de *Candida albicans* chimiorésistantes. C'est dans ce contexte que nous nous sommes proposé d'évaluer les activités antifongiques d'une nouvelle série de benzimidazolyl-chalcones, analogues du Chlormidazole. L'objectif de ce travail est d'identifier un chef de file antifongique potentiel afin d'entreprendre son développement pharmacochimique.

Les dérivés benzimidazolyl-chalcones ont été conceptualisés selon les techniques de réunification pharmacochimique d'entités à propriétés biologiques potentielles. Quant aux activités antifongiques des produits, celles-ci ont été exprimées en Quantité Minimale Inhibitrice (QMI) après leur détermination *in vitro* sur une souche clinique de *Candida albicans* suivant la technique de bioautographie «Agar Overlay ».

Les 16 composés évalués possèdent tous dans leurs molécules respectives l'enchaînement phénylpropénone des chalcones porté par un hétérocycle benzimidazole. Les résultats montrent que quatre (4) de ses composés possèdent une excellente activité antifongique vis à vis de *Candida albicans* avec des QMI comprises entre 5 et 0,625 µg soit 2 à 16 fois plus efficace que le Fluconazole et la Chlormidazole, substances médicamenteuses de référence.

Notre approche pharmacochimique a permis de valider l'enchaînement fonctionnel phénylpropénone des chalcones dès lors qu'il est porté par l'hétérocycle benzimidazolique, comme étant un nouveau pharmacophore antifongique. Ces résultats ouvrent des voies d'investigations non négligeables vers la mise au point d'une nouvelle classe chimique d'antifongiques de synthèse totale.



Benzimidazolyl-chalcones, analogues du Chlormidazole

Mots Clés : Benzimidazole. Chalcone. Chlormidazole. Antifongique. *Candida albicans*.