REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

UNION - DISCIPLINE - TRAVAIL

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE FELIX HOUPHOUËT BOIGNY



UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

Année: 2015 – 2016 N°................

THESE

En vue de l'obtention du diplôme D'ETAT DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

ADJO GUY LANDRY

Evaluation de l'activité anti-Candidosique de 5 Benzimidazolyl-chalcones

Soutenue publiquement le

Composition du jury

Président : Monsieur **MONNET DAGUI**, Professeur Titulaire

Co-Directeur de thèse : Monsieur MENAN EBY HERVE, Professeur Titulaire

Co-Directeur de thèse: Monsieur OUATTARA MAHAMA, Maître de Conférence agrégé

Assesseurs : Monsieur YAVO WILLIAM, Maître de Conférences agrégé

Madame KOUAKOU Siransy Gisèle, Maître de Conférence agrégé

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

I-HONORARIAT

Directeurs/Doyens Honoraires : Professeur RAMBAUD André

Professeur FOURASTE Isabelle Professeur BAMBA Moriféré

Professeur YAPO Abbé †

Professeur MALAN Kla Anglade

Professeur KONE Moussa †

II- 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 Madame NADO-AKPRO Marie Josette

Documentaliste Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert

Intendant Monsieur GAHE Alphonse

Responsable de la Scolarité Madame DJEDJE Yolande

III- PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

1- PROFESSEURS TITULAIRES

Mme AKE Michèle Chimie Analytique, Bromatologie

M ATINDEHOU Eugène Chimie Analytique, Bromatologie

Mme ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L. Biochimie et Biologie Moléculaire

M DANO Djédjé Sébastien Toxicologie.

Mme 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

Mme SAWADOGO Duni Hématologie

M YOLOU Séri Fernand Chimie Générale

2- MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM ABROGOUA Danho Pascal Pharmacie Clinique

AHIBOH Hugues Biochimie et Biologie moléculaire

Mme AKE EDJEME N'guessan Angèle Biochimie et Biologie moléculaire

MM AMARI Antoine Serge G. Législation

AMIN N'Cho Christophe Chimie analytique

DEMBELE Bamory Immunologie

GBASSI K. Gildas Chimie Physique Générale

INWOLEY Kokou André Immunologie

KOFFI Angely Armand Pharmacie Galénique

Mme KOUAKOU-SIRANSY Gisèle Pharmacologie

MM KOUASSI Dinard Hématologie

LOUKOU Yao Guillaume Bactériologie-Virologie

OGA Agbaya Stéphane Santé publique et Economie de la santé

OUASSA Timothée Bactériologie-Virologie

OUATTARA Mahama Chimie organique, Chimie thérapeutique

YAPI Ange Désiré Chimie organique, chimie thérapeutique

YAVO William Parasitologie - Mycologie

ZINZENDORF Nanga Yessé Bactériologie-Virologie

3- MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

M DIAFOUKA François

Biochimie et Biologie de la Reproduction

4-MAITRES ASSISTANTS

Mme AFFI-ABOLI Mihessé Roseline Immunologie

M ANGORA Kpongbo Etienne Parasitologie - Mycologie

Mme BARRO KIKI Pulchérie Parasitologie - Mycologie

MM BONY François Nicaise Chimie Analytique

CLAON Jean Stéphane Santé Publique

DALLY Laba Pharmacie Galénique

DJOHAN Vincent Parasitologie -Mycologie

Mme FOFIE N'Guessan Bra Yvette Pharmacognosie

Mme IRIE N'GUESSAN Amenan Pharmacologie

M KASSI Kondo Fulgence Parasitologie-Mycologie

Mmes KONATE Abibatou Parasitologie-Mycologie

KOUASSI AGBESSI Thérèse Bactériologie-Virologie

M MANDA Pierre Toxicologie

Mmes POLNEAU VALLEE Sandrine Mathématiques-Statistiques

SACKOU KOUAKOU Julie Santé Publique

SANGARE Mahawa Biologie Générale

SANGARE TIGORI Béatrice Toxicologie

VANGA ABO Henriette Parasitologie-Mycologie

M YAYO Sagou Eric Biochimie et Biologie moléculaire

5-ASSISTANTS

MM ADJAMBRI Adia Eusebé Hématologie

ADJOUNGOUA Attoli Léopold Pharmacognosie

Mme AKA-ANY-GRA Armelle Adjoua S. Pharmacie Galénique

M AMICHIA Attoumou Magloire Pharmacologie

Mmes ALLOUKOU-BOKA Paule-Mireille Législation

APETE Sandrine Bactériologie-Virologie

AYE YAYO Mireille Hématologie

MM BROU Amani Germain Chimie Analytique

BROU N'Guessan Aimé Pharmacie clinique

CABLAN Mian N'Ddey Asher Bactériologie-Virologie

COULIBALY Songuigama Chimie Thérapeutique

Mme DIAKITE Aïssata Toxicologie

M DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Pharmacologie

Mme DOTIA Tiepordan Agathe Bactériologie-Virologie

M EFFO Kouakou Etienne Pharmacologie

Mme HOUNSA Annita Emeline Epse Alla Sante Publique

MM KABRAN Tano Kouadio Mathieu Immunologie

KACOU Alain Chimie Thérapeutique

KAMENAN Boua Alexis Thierry Pharmacologie

KOFFI Kouamé Santé publique

KONAN Konan Jean Louis Biochimie et Biologie moléculaire

Mme KONE Fatoumata Biochimie et Biologie moléculaire

MM KOUAKOU Sylvain Landry Pharmacologie

KOUAME Dénis Rodrigue Immunologie

KPAIBE Sawa Andre Philippe Chimie Analytique

LATHRO Joseph Serge Bactériologie-Virologie

N'GBE Jean Verdier Toxicologie

N'GUESSAN Alain Pharmacie Galénique

Mme N'GUESSAN-BLAO Amoin Rebecca J. Hématologie

M N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul Chimie Thérapeutique

Mmes N'GUESSAN Kakwokpo Clémence Pharmacie Galénique

OUAYOGODE-AKOUBET Aminata Pharmacognosie

SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle Biochimie et Biologie moléculaire

M TRE Eric Serge Chimie Analytique

Mmes TUO Awa Pharmacie Galénique

YAO ATTIA Akissi Régine Santé publique

M YAPO Assi Vincent De Paul Biologie Générale

6- ATTACHES DE RECHERCHE

Mme ADIKO N'dri Marcelline Pharmacognosie

M LIA Gnahoré José Arthur Pharmacie Galénique

7- 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

IV- ENSEIGNANTS VACATAIRES

1-PROFESSEURS

MM ASSAMOI Assamoi Paul Biophysique

DIAINE Charles Biophysique

OYETOLA Samuel Chimie Minérale

ZOUZOU Michel Cryptogamie

2-MAITRES DE CONFERENCES

MM KOUAKOU Tanoh Hilaire Botanique et Cryptogamie

SAKO Aboubakar Physique (Mécanique des fluides)

Mme TURQUIN née DIAN Louise Biologie Végétale

M YAO N'Dri Athanase Pathologie Médicale

3- MAITRE-ASSISTANT

M KONKON N'Dri Gilles Botanique, Cryptogamie

4- NON UNIVERSITAIRES

MM. AHOUSSI Daniel Ferdinand Secourisme

DEMPAH Anoh Joseph Zoologie

GOUEPO Evariste Techniques officinales

Mme KEI-BOGUINARD Isabelle Gestion

MM KOFFI ALEXIS Anglais

KOUA Amian Hygiène

KOUASSI Ambroise Management

N'GOZAN Marc Secourisme KONAN Kouacou Diététique

Mme PAYNE Marie Santé Publique

COMPOSITION DES DEPARTEMENTS DE I'UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

I- BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

Professeur LOUKOU Yao Guillaume Maître de Conférences Agrégé

Chef du département

Professeurs ZINZENDORF Nanga Yessé Maître de Conférences Agrégé

OUASSA Timothée Maître de Conférences Agrégé

Docteurs KOUASSI AGBESSI Thérèse Maître- assistante

CABLAN Mian N'Dédey Asher Assistant

DOTIA Tiepordan Agathe Assistante

LATHRO Joseph Serge Assistant

APETE yah sandrine épse TAHOU Assistante

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

Professeur MONNET Dagui Professeur Titulaire

Chef du Département

Professeurs HAUHOUOT épse ATTOUNGBRE M. L. Professeur Titulaire

AHIBOH Hugues Maître de Conférences Agrégé

AKE EDJEME N'Guessan Angèle Maître de Conférences Agrégé

DIAFOUKA François Maître de Conférences

Docteurs YAYO Sagou Eric Maître-assistant

KONAN Konan Jean Louis Assistant

KONE Fatoumata Assistante

KOFFI Akissi Joelle épse SIBLI Assistante

III- BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Professeur SAWADOGO Duni Professeur Titulaire

Chef du Département

Professeurs INWOLEY Kokou André Maître de Conférences Agrégé

KOUASSI Dinard Maître de Conférences Agrégé

DEMBELE Bamory Maître de Conférences Agrégé

Docteurs SANGARE Mahawa Maitre-assistante

AFFI-ABOLI Mihessé Roseline Maître-Assistante

ADJAMBRI Adia Eusebé Assistant

AYE YAYO Mireille Assistante

KABRAN Tano K. Mathieu Assistant

KOUAME Dénis Rodrigue Assistant

N'GUESSAN-BLAO R. S. Assistante

YAPO Assi Vincent De Paul Assistant

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

Professeur ATINDEHOU Eugène Professeur Titulaire

Chef du Département

Professeurs MALAN Kla Anglade Professeur Titulaire

AKE Michèle Dominique Professeur Titulaire

YOLOU Séri Fernand Professeur Titulaire

Professeurs AMIN N'Cho Christophe Maître de Conférences Agrégé

GBASSI K. Gildas Maître de Conférences Agrégé

Docteurs BONY Nicaise François 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 du Département

Professeur OUATTARA Mahama Maître de Conférences Agrégé

Docteur KACOU Alain Assistant

N'GUESSAN Deto Jean-Paul Assistant

COULIBALY Songuigama Assistant

VI- PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE

Professeur MENAN Eby Ignace H. Professeur Titulaire

Chef du Département

Professeur YAVO William Maître de Conférences Agrégé

Docteurs BARRO KIKI Pulchérie Maître-assistante

DJOHAN Vincent Maître-assistant

KASSI Kondo Fulgence Maître-assistant

VANGA ABO Henriette Maître-assistante

ANGORA Kpongbo Etienne Maître-Assistant

KONATE Abibatou Maître-Assistante

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

Professeur KOFFI Armand A. Maître de Conférences Agrégé

Chef du Département

Professeur AMARI Antoine Serge G. Maître de Conférences Agrégé

Docteurs DALLY Laba Ismaël Maître-assistant

AKA-ANY Grah Armelle A.S. Assistante

N'GUESSAN Alain Assistant

BOKA Paule Mireille épse A. Assistante

N'GUESSAN Kakwopko C. Assistante

TUO Awa Nakognon Assistante

VIII- PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE, CRYPTOGAMIE,

Professeur KONE BAMBA Diénéba Professeur Titulaire

Chef du Département

Docteurs ADJOUNGOUA Attoli Léopold Assistant

FOFIE N'Guessan Bra Yvette Maître-Assistante

OUAYOGODE-AKOUBET Aminata Assistante

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

Professeurs KABLAN Brou Jérôme Maître de Conférences Agrégé

Chef du Département

ABROGOUA Danho Pascal Maître de Conférences Agrégé

KOUAKOU SIRANSY N'doua G. Maître de Conférences Agrégé

Docteurs IRIE N'GUESSAN Amenan G. Maître-assistante

AMICHIA Attoumou M. Assistant

DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Assistant

EFFO Kouakou Etienne Assistant

KAMENAN Boua Alexis Assistant

KOUAKOU Sylvain Landry Assistant

BROU N'GUESSAN Aime Assistant

X- PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur ATINDEHOU Eugène Professeur Titulaire

Chef de Département

Docteur POLNEAU VALLEE Sandrine Maître-assistante

XI- SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE

Professeur KOUADIO Kouakou Luc Professeur Titulaire

Chef du département

DANO Djédjé Sébastien Professeur Titulaire

OGA Agbaya Stéphane Maître de Conférences Agrégé

Docteurs CLAON Jean Stéphane Maître-assistant

MANDA Pierre Maître-assistant

SANGARE TIGORI B. Maître-assistante

SACKOU KOUAKOU J. Maître-assistante

DIAKITE Aissata Assistante

HOUNSA-ALLA Annita Emeline Assistante

YAO ATTIA Akissi Régine Assistante

N'GBE Jean Verdier Assistant

KOFFI Kouamé Assistant



Cette thèse est dédiée à...

A l'Eternel Dieu Tout puissant

Père céleste, merci de m'avoir permis de connaître ta lumière;

Celle qui a éclairé mon chemin nuit et jour pour me conduire jusqu'à ce moment de joie et de bonheur.

Que cette lumière continue de m'éclairer afin que j'atteigne bien des sommets!!!!

Bénis sois-tu Père;

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

A ma mère,

Voici mère, le fruit de tes jeûnes et prières!

Comment pourrais-je te dire merci pour tous les sacrifices que tu as fait pour moi;

Toi dont la seule joie est le bonheur de tes enfants!

Brave femme au cœur débordant d'amour et de courage, ta patience et ton soutien sans faille m'ont permis d'arriver là où je suis en ce jour.

Tu peux être fière de toi, maman.

Voílà, ton fils est devenu pharmacien!

Ton rêve se réalise enfin!

Maintenant, fini toutes les larmes nocturnes, les inquiétudes et les angoisses.

Que Dieu te bénisses pour toutes tes prières dites à mon endroit et te garde le plus longtemps possible parmi nous afin de jouir des fruits de tes efforts!

Merci de tout cœur Maman, je t'aime très fort.

A mon père,

Papa, aucun mot n'est assez fort pour te traduire ma gratitude.

Tu m'as transmis ton amour, ton abnégation si non ton obsession pour le travail bien fait.

Cette thèse en est la parfaite illustration!

Je voudrais te dédier tout particulièrement ce travail.

Reçois-le en reconnaissance de tous les sacrifices que tu as effectué pour moi et pour tout l'amour que tu m'as porté.

Que le Dieu tout Puissant t'accorde Santé et Longévité.

Mercí pour tout !!!

A mes frères et sœurs,

Vous avez toujours cru en moi et vous attendiez ce travail avec impatience. Le voilà, il est là!

Je vous remercie pour vos soutiens et encouragements pendant toutes ces années.

Je suis très heureux de vous dédier ce travail qui est aussi le votre!

Puissions nous continuer à vivre en parfaite harmonie en ayant les uns pour les autres un amour et une tendresse sans cesse grandissant!

Merci pour tout et que Dieu vous bénisses.

A ma chérie

CHOU, s'il est vrai que la perfection n'est point de ce monde, moi j'ai trouvé en toi l'essentiel.

En ce jour béni, je voudrais te renouveler encore mon engagement à faire en sorte que cette parole biblique qui dit que celui qui a trouvé sa femme a trouvé le bonheur soit vie dans notre couple !!!

Je te dédie très particulièrement cette thèse.

Reçois-le en témoignage de toute mon affection, toute mon amitié, toute ma tendresse et surtout tout mon AMOUR......

Puisse Dieu faire en sorte que cette date soit pour nous le début d'un temps nouveau, plein de joie et de bonheur!

Merci pour ta confiance et ton AMOUR, JE T'AIME.

A tous mes amís,

La grandeur d'un homme se mesure par la qualité de ses amis. Je suis fier de vous avoir pour amis

Je vous dédie cette thèse que vous m'avez aidé à réaliser.

Mercí pour votre soutien.

A mes amís de la 31^{ieme} promotion des étudiants en pharmacie (Promotion),

Toutes ces années passées ensemble ont fait de nous une famille.

Puissions-nous toujours restés unis!!!

A nous revoir dans la vie active.

Réussite sociale à toutes et à tous.

En attendant, que la fête soit belle!

Merci pour tout, que Dieu vous comble de grâces.

A nos maîtres et juges

A NOTRE MAITRES ET PRESIDENT DU JURY

Monsieur le Professeur MONNET DAGUI

- ➤ Professeur titulaire de Biochimie clinique et générale à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques
- ➤ Chef du département de Biochimie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan à l'Université Félix Houphouët-Boigny
- ➤ Chef de service de la Pharmacie du CHU de Cocody
- > Directeur du Certificat d'Etude Spécialisé (CES) de Biochimie et de Biologie moléculaire
- Pharmacien biologiste des hôpitaux à l'Institut Pasteur d'Abidjan-Cocody
- ➤ *Membre de plusieurs sociétés savantes*
- ➤ Ancien Directeur de la Pharmacie de la Santé Publique (PSP)
- ➤ Ancien Directeur de l'Ecole Préparatoire des Sciences de la Santé (EPSS)

Cher Maître,

Nous sommes fiers de vous voir rehausser de votre présence notre jury de thèse. Nous vous remercions pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider de jury malgré vos nombreuses occupations.

Vos solides connaissances, votre ardeur ainsi que votre rigueur au travail sont pour nous objet de respect et d'admiration.

Recevez cher maître l'expression de notre profond respect.

A NOTRE MAITRE ET CO-DIRECTEUR DE THESE

Monsieur le Professeur MENAN EBY HERVE

- ➤ Professeur Titulaire de Parasitologie et Mycologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët Boigny d'Abidjan,
- > Chef du Département de Parasitologie- Mycologie- Zoologie-Biologie Animale,
- Docteur en Pharmacie diplômé de l'Université de Cocody,
- ➤ Docteur ès Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université de Montpellier I,
- ➤ Directeur du Centre de Diagnostic et de Recherche sur le SIDA et les maladies opportunistes (CeDReS),
- ➤ Biologiste à l'Hôpital militaire d'Abidjan,
- ➤ Officier supérieur des Forces Armées Terrestres de Cote d'Ivoire,
- Ancien interne des Hôpitaux d'Abidjan (Lauréat du concours 1993),
- Lauréat du prix PASRES-CSRS des trois meilleurs chercheurs ivoiriens 2011,
- Président de la société ivoirienne de parasitologie (SIPAM),
- > Secrétaire Général adjoint de la Société Africaine de Parasitologie,
- Vice-président du Groupe scientifique d'Appui au PNLP,
- ➤ Membre de la Commission Nationale Permanente de Biologie
- ➤ Médicale (CNPBM),
- Membre du groupe français des "Experts de Biologie du VIH " ESTHER.

Cher Maître,

Votre enseignement, mais également votre rigueur et votre ardeur au travail creusent un chemin qu'il est agréable à tout étudiant de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques de suivre.

Veuillez trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude, vous qui avez été, êtes et serez toujours notre maître.

A NOTRE MAITRE ET CO-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,

C'est le moment pour nous de vous remercier pour tout ce que vous avez fait dans le cadre de nôtre formation.

Votre rigueur scientifique et votre talent de grand pédagogue ainsi que votre immense culture d'homme constituent à nos yeux une source d'inspiration.

Merci cher Maître pour tout l'enseignement reçu.

Dieu vous bénisse et vous accorde longue vie.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Monsieur le Professeur YAVO WILLIAM

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

Cher Maître,

Votre enseignement, mais également votre rigueur et votre ardeur au travail creusent un chemin qu'il est agréable à tout étudiant de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques de suivre.

Veuillez trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude, vous qui avez été, êtes et serez toujours notre maître.

<u>A NOTRE MAITRE ET JUGE</u>

Monsieur le Professeur KOUAKOU SIRANSY GISELE

- Professeur agrégé en pharmacologie ;
- > Titulaire d'une thèse de doctorat unique en pharmacologie de l'université Félix Houphouët-Boigny;
- > Titulaire d'un DEA en physiologie animale ;
- ➤ Membre de la Société Française de la Pharmacologie et de la thérapeutique;
- ➤ Pharmacien hospitalier au CHU de Cocody;
- ➤ Ancien interne des hôpitaux ;
- ➤ Membre de la Société Française d'Ethnopharmacologie ;
- ➤ Membre de la Société de Pharmacologie et de Toxicologie du Burkina Faso ;
- Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie.

Cher Maître,

Vous nous avez impressionné par vos qualités scientifiques et humaine qui font de vous un grand maître ce travail je l'espère aura répondu à vos exigences de scientifique averti.

Que Dieu vous bénisse.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : AcideDesoxyribonucleique

ARN : AcideRibonucleique

CeDReS : Centre de Diagnostic et de Recherche sur le Sida et les autres

maladies infectieuses

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DI : Diamètre d'Inhibition

EUCAST: Européan Committee for Antimicrobien Susceptibility Testing

MTT : MethylThiazolylTetrazolium

SAC : SabouraudActidioneChloramphenicol

SC : SabouraudChloramphenicol

SIDA : Syndromed' ImmunoDefiscience Acquise

UFR : Unité de Formation et de Recherche

VIH : Virus de l'Immunodefiscience Humaine

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Intertrigo inguinal candidosique	10
Figure 2 : Onychomycose candidosique	11
Figure 3 : Muguet et perlèche	13
Figure 4 : Structure générale des azolés antifongiques	24
Figure 5 : Technique en milieu gélosé avec disques Biomic®	28
Figure 6 : Technique en milieu gélosé avec bandelettes Etest®	29
Figure 7: Photographie présentant les diamètre d'inhibition de 5 dérivés	
benzymidazolyl-chalcones vis-à-vis de Candida albicans souche 27143	36
Figure 8: Activités antifongiques in vitro des composés 1à 5 et des	
substances médicamenteuses de référence vis à vis de Candida albicans	38

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	xxix
LISTE DES FIGURES	XXX
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE	4
CHAPITRE 1 : LES CANDIDOSES	5
I. HISTORIQUE	5
II. RAPPELS EPIDEMIOLOGIQUES	6
III. MANIFESTATIONS CLINIQUES	10
IV. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES CANDIDOSES	
SUPERFICIELLES	17
CHAPITRE 2 : LES MEDICAMENTS ANTIFONGIQUES ET	
CHALCONES	22
I. LES MEDICAMENTS ANTIFONGIQUES	22
II. CHALCONES	25
CHAPITRE 3 : DIFFERENTES METHODES D'EVALUATION DE	
L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE	26
I. LA METHODE DE DILUTION	26
II.LA MATHODE DE DIFFUSSION	28
III. ETEST	29
IV-METHODE BIOAUTOGRAPHIQUE	29
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE	32
CHAPITRE 1: MATERIEL ET METHODES	33
I. MATERIEL	33
II-METHODES D'EVALUATION DES ACTIVITES	
ANTIFONGIQUES	35
CHAPITRE 2: RESULTATS ET DISCUSSION	37
I. RESULTATS	37

II. DISCUSSION	39
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	41
REFERENCES	44



Les infections mycosiques sont des maladies provoquées par le développement chez l'homme ou l'animal de champignons microscopiques filamenteux ou levuriformes. On distingue les dermatophyties dues aux champignons filamenteux dont les localisations sont superficielles, cutanées et les levuroses de localisations profondes ou superficielles cutanéo-muqueuses, causées par des champignons levuriformes[16].

En pathologie humaine, *Candida albicans* demeure l'espèce de champignons levuriforme la plus connue et la plus redoutable [15].

En effet elle est à l' origine de maladies graves pouvant engendrer un taux de mortalité élevé et des surcouts d'hospitalisation surtout chez les patients immuno déprimés (VIH, diabète, cancers...etc) [38,49,55]. Candida albicans est également responsable chez les jeunes femmes en activité sexuelle de la plupart de mycoses vaginales d'une part, et d'autre part, les mycoses en général représentent 2 à 10% des infections opportunistes chez les personnes vivant avec le VIH en Côte d'Ivoire [10,12]. Par ailleurs, les lésions cliniques évoluant sur un mode chronique majorent ainsi les difficultés thérapeutiques [16]. De ce fait la prise en charge thérapeutique de ces infections est devenue un enjeu de santé publique par l'émergence de nouvelles souches de Candida chimiorésistantes à la plupart des médicaments antifongiques actuels [9, 19,63]. Cette résistance fongique est plus alarmante vis-à-vis des médicaments azolés antifongiques qui constituent la classe thérapeutique la plus mieux tolérée et la plus utilisée [28,65].

Face à cette situation, plusieurs stratégies peuvent être envisagées, entres autres :

- des mesures hygiéno-diététiques appropriées
- l'utilisation rationnelle des médicaments anti-mycosiques encore efficaces au travers de bonnes pratiques de prescription et de dispensations.
- la mise au point de nouveaux antifongiques plus efficace. C'est autour de cette dernière stratégie que se situe l'objectif général assigné à cette étude.

Il porte sur l'évaluation des activités antifongiques précisément anti-Candida albicans de cinq (5) dérivés benzimidazolyl-chalcones. Quant aux objectifs spécifiques, il s'agira de :

- déterminer les diamètres d'inhibition de 05 benzimidazolyl-chalcones visà-vis d'une souche clinique de *Candida albicans*.
- voir si l'accolement du groupement benzimidazolyl au 1,3-diaryl-2propèn-1-ones (chalcones) est un inducteur d'activité anticandidosique.
- vérifier si l'introduction du groupement halogène sur l'arylpropénone améliore l'activité anticandidosique.

Aussi le présent travail se décline en deux parties :

- La première partie sera relative aux données de la littérature sur les candidoses, les médicaments antifongiques, les chalcones ainsi que les méthodes d'évaluation de l'activité antifongique.
- La deuxième partie, de type expérimentale abordera successivement la méthodologie d'évaluation des activités antifongiques puis l'analyse des résultats obtenus suivi de la discussion de type relations structure-activité.

Elle s'achèvera par la conclusion et les perspectives qui découlent du présent travail.

PREMIERE PARTIE: REVUE DE LA LITTERATURE

CHAPITRE 1: LES CANDIDOSES

I. HISTORIQUE [25]

L'infection provoquée par *Candida albicans* est connue depuis l'antiquité. Déjà, HIPPOCRATE au IVème siècle avant JC(Jésus-Christ) décrivit les lésions buccales caractéristiques et leur association à une altération sévère de l'état général.

200 ans avant JC, GALIEN souligne leur fréquente survenue chez les enfants.

Au XVIIIème siècle, le traité européen de pédiatrie fait état de candidoses buccales et gastro-intestinales.

A partir de 1839, LANGENBECK, BERG et BENNET présentent une description plus ou moins fidèle du champignon mais n'établissent pas toujours le rapport entre cet agent et la maladie candidosique.

Divers noms ont été proposés pour désigner ce champignon :

- En 1853, ROBIN fut le premier à utiliser le nom d'espèce albicans : Oïdium albicans ;
- Pendant de nombreuses années, le nom de *Monilia albicans* caractérisa ce champignon et celui de moniliase, la pathologie qui lui est associée.

En 1875, HAUSMAN démontre la pathogénicité de *Monilia albicans* pour les voies génitales féminines.

En 1900, à côté des formes superficielles, des formes viscérales profondes ont été décrites.

En 1923, BERKHOUT proposa le nom de genre *Candida* en remplaçant celui de *Monilia*, d'où le nom de *Candida albicans*.

En 1940, CASTELLANI décrit d'autres espèces de *Candida* pouvant être pathogènes.

II. RAPPELS EPIDEMIOLOGIQUES

II.1. Agents pathogènes

II.1.1.Classification

Les espèces du genre *Candida* sont des levures anamorphiques (asexuées) classées parmi les *Fungi imperfecti*[3].

Selon la classification de LÖDDER [34], ces levures appartiennent au groupe des Anascosporées, à la famille des Cryptococcacées, et à la sous-famille des Cryptococcoidées.

D'après LÖDDER, le genre *Candida* comporte environ 81 espèces dont actuellement une dizaine est reconnue pathogène pour l'homme en raison de leur adaptation à la température de 37°C.

Les *Candida sp* sont des levures saprophytes de l'homme, normalement présentes dans le tube digestif.

Candida albicans et Candida glabrata sont des endosaprophytes naturels du tube digestif, les autres espèces de Candida (Candida tropicalis, Candida parapsilosis, Candida kefyr, Candida krusei, Candida guilliermondii, etc.) peuvent survivre et se multiplier dans le tube digestif; leur source est surtout alimentaire. Selon DROUHET et al, 73 % des levures isolées au niveau buccal sont représentées par Candida albicans [20].

Les autres espèces sont également présentes dans le tractus uro-génital ou sur la peau (en particulier *Candida parapsilosis et Candida guilliermondii*).

Candida albicans ne se trouve pas sur la peau dans des conditions normales.

II.1.2. Morphologie

Les espèces du genre *Candida* forment des cellules lévuriques arrondies ou ovales avec un bourgeonnement typique (blastoconidies), ou fabriquent des pseudo-hyphes. *In vivo*, sur coupe histologique d'organe, les espèces du genre *Candida* présentent simultanément deux formes : levures et pseudo filaments[22].

Les formes levures de *Candida* sont caractérisées par des éléments unicellulaires, ovalaires, mesurant 2 à 4 µm de diamètres.

Elles se reproduisent par bourgeonnement ou par production d'un véritable mycélium ou d'un pseudo-mycélium.

Au laboratoire médical, la culture en boîte de pétri des *Candida* donne des colonies qui sont grandes, rondes, de couleur blanche ou crème ('albicans' signifie 'blanchâtre').

II.2. Sources d'infection

La contamination se fait souvent à partir de la souche (saprophyte) hébergée par le malade; cependant il existe une possibilité de colportage en milieu hospitalier par exemple [22].

Les sources endogènes constituent l'essentiel des réservoirs d'infection.

Il peut s'agir d'un foyer digestif (mycose intestinale ou buccale) ou cutané (onyxis et péri-onyxis), le genre *Candida* étant saprophyte de la peau, des muqueuses (vaginale, bronchique) et du tube digestif de l'homme.

Seule l'espèce *Candida albicans* est un saprophyte exclusif des muqueuses, contrairement aux autres espèces.

Les sources exogènes telles que les objets ou les mains souillées concernent surtout le personnel hospitalier lors de nombreuses manœuvres locales. Dans tous les cas, pour se développer, l'infection demande chez le sujet une réceptivité particulière, c'est-à-dire la présence d'un facteur favorisant.

II.3.Facteurs favorisants

Candida est saprophyte. Il existe chez l'homme sain dans les muqueuses de la cavité buccale, de l'intestin et du vagin.

Les infections à *Candida* sont opportunistes, la levure devenant pathogène quand certains facteurs favorisants sont présents [23].

II.3.1. Facteurs favorisants généraux

- L'âge: les enfants prématurés et les vieillards sont les plus exposés aux candidoses, compte tenu de leur faible immunité vis-à-vis des infections opportunistes.
- Certains états physiologiques, en particulier la grossesse qui entraîne également une déficience de l'immunité [1].
- Certains médicaments, notamment les antibiotiques, les corticoïdes, les immunosuppresseurs, les psychotropes et les traitements favorisants la sécheresse buccale comme les somnifères, les contraceptifs oraux en particulier les stéroïdes.
- Diabète sucré, responsable d'une augmentation de la quantité du glycogène favorable au développement des candidoses.
- Maladies malignes : certaines affections malignes, surtout hématologiques (leucémies, maladie de Hodgkin, aplasie médullaire), favorisent les candidoses.
- Le SIDA (syndrome d'immunodéficience acquise)

II.3.2. Facteurs favorisants locaux

- L'humidité et la macération

Les intertrigos des grands plis sont en relation avec l'humidité, la macération ou l'extension à la peau d'une candidose muqueuse digestive ou génitale.

L'acidité

Au niveau des mains, les modifications de cette barrière naturelle résultent de contacts répétés avec l'eau, de traumatismes mécaniques ou chimiques, tel que l'application de jus de citron sucré ou acide dans le blanchiment de la peau.

- La chaleur, la transpiration et la mauvaise hygiène.
- La radiothérapie.

_	L'altératio	n du revêtem	ent cut	ané (ti	raum	atisme cui	tané.	brû	ilure)	favorise
		superficielle								
	Candida a			•	•		•		•	

III. MANIFESTATIONS CLINIQUES [14]

Deux types principaux de candidoses sont connus :

- Les candidoses superficielles, cutanées et muqueuses ;
- Les candidoses profondes qui se retrouvent chez les sujets immunodéprimés, en particulier les malades infectés par le VIH.

III.1. Candidoses superficielles

Les candidoses cutanéo-muqueuses sont le plus souvent aiguës et subaiguës. Elles se développent dans quatre sites préférentiels (au niveau cutané, au niveau des ongles, au niveau bucco-digestif et au niveau génital).

III.1.1.Candidoses cutanées [23]

Elles se développent dans les zones de transpiration, comme l'aine, les aisselles, les zones interdigitales, et sur les endroits brûlés ou écorchés.

➤ <u>Intertrigo des grands plis</u>

Il peut se rencontrer au niveau de tous les grands plis: interfessiers, inguinaux, sous-mammaires et replis abdominaux, creux axillaires, dermite fessière des nourrissons.

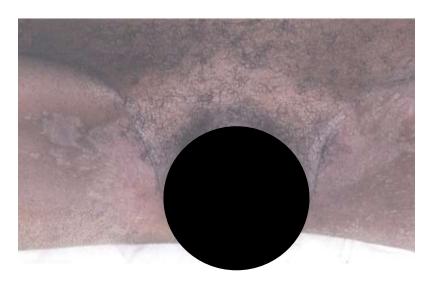


Figure 1 : Intertrigo inguinal candidosique

(Source : photothèque service de dermatologie du CHU de Treichville. 2013)

➤ <u>Intertrigo des petits plis</u>

Il concerne les espaces inter orteils (3^{ème} et 4^{ème} espaces surtout). L'atteinte des espaces interdigitaux des mains est rare.

III.1.2.Candidoses des ongles [22]

Candida pénètre par la sertissure de l'ongle et provoque les onyxis qui s'observent essentiellement aux mains. L'onyxis est accompagné de péri onyxis. L'atteinte typique débute par un péri onyxis avec atteinte secondaire de l'ongle. L'évolution subaiguë peut aboutir à une onychomycose totale. Un second type d'atteinte est l'onycholyse primitive d'apparition brutale.



Figure 2: Onychomycose candidosique

(Source : photothèque service de dermatologie du CHU de Treichville. 2013)

III.1.3.Candidoses digestives [22]

Les candidoses digestives sont la porte d'entrée des candidoses viscérales chez les sujets à risque.

➤ Candidoses buccales

Les candidoses de la muqueuse de la cavité buccale, se divisent en quatre types suivant leur localisation (hyperplasiques, érythémateuses, pseudomembraneuses, candidoses de la commissure labiale).

Elles se manifestent par :

- Le muguet caractérisé par un enduit blanchâtre sur la langue, la face interne des joues, le voile du palais, le pharynx.

La langue est recouverte d'un enduit pseudomembraneux blanchâtre. L'atteinte diffuse est généralement précédée par l'apparition de granulations blanchâtres reposant sur une langue rouge et qui évoluent vers la confluence [8].

Le raclage avec un abaisse-langue détache l'enduit et fait saigner la muqueuse.

Le muguet ou stomatite aiguë est fréquent chez le nourrisson et chez le sujet immunodéprimé, en particulier lorsqu'il est infecté par le VIH au stade SIDA.

- La perlèche qui présente une fissuration des commissures labiales à fond blanchâtre parfois croûteuse.



Figure 3 : Muguet et perlèche

(Source : photothèque service de dermatologie du CHU de Treichville. 2013)

La glossite érythémateuse qui est une des formes les plus fréquentes de candidose linguale avec une langue érythémateuse lisse, vernissée, siège de brûlures en particulier lors de l'alimentation [40].

- La stomatite (des dentiers) est une inflammation chronique qui concerne les sujets porteurs de prothèse dentaire.

Elle se traduit par un érythème avec œdème de la voûte palatine au niveau du point d'appui de l'appareil digestif.

La langue noire qui est une manifestation très évocatrice de l'origine candidosique.

Ce symptôme s'observe notamment au cours d'une antibiothérapie et/ou chez les sujets atteints d'affections malignes hématologiques ou lymphatiques.

Les lésions comportent une hypertrophie des villosités (langue noire villeuse) et leur pigmentation en noire par oxydation.

Candidose œsophagienne

Les candidoses de l'œsophage accompagnent souvent l'infection causée par le VIH. L'endoscopie montre un muguet œsophagien.

L'association d'une candidose buccale peut faire défaut, rendant difficile le diagnostic étiologique de cette œsophagite.

Les symptômes habituels sont en prédominance la dysphagie douloureuse et les douleurs rétro sternales quasi constantes ; des nausées, des vomissements, et des hémorragies peuvent s'y associer [23].

Candidoses anales

L'atteinte ano-rectale se traduit par une sensation de brûlure, un prurit et souvent un intertrigo péri-anal et inter fessier.

Chez le nourrisson de moins de six mois, une candidose du siège est souvent associée à une infection bactérienne [24].

III.1.4. <u>Candidoses génitales</u>

III.1.4.1. La forme typique

L'incidence de la pathologie est élevée (20% des leucorrhées) [30]. Les manifestations cliniques caractéristiques associent :

- Leucorrhées abondantes, épaisses, blanchâtres, grumeleuses, qui rappellent le lait caillé et qu'on qualifie de caillebottées. Elles sont inodores ;
- Prurit vulvo-vaginal, quasi-constant. Lorsque le prurit est intense, il entraîne des lésions de grattage au niveau de la vulve. Ces lésions sont responsables de brûlures vulvo-vaginales et mictionnelles ;
- La dyspareunie et la dysurie sont également retrouvées dans certains cas.

A l'examen physique, on observe parfois :

 Une vulve inflammatoire avec un œdème et la présence possible de fissures de plis inter labiaux. On note une atteinte des plis cutanés adjacents avec une collerette épidermique péri lésionnelle caractéristique;

- Une muqueuse vaginale rouge vive, fragilisée et pouvant saigner au contact. Dans les formes hydrorrhéiques, on note la présence de leucorrhée caractéristique en petit amas, parfois plus liquide ;
- Un col inflammatoire, où siège parfois des lésions érosives.

III.1.4.2.Les formes récidivantes

Le caractère récidivant est suspect devant la répétition des signes cliniques et des preuves mycologiques. Quatre récidives par an pour la plupart des auteurs et avec preuves mycologiques au moins à deux reprises, sont les critères indispensables pour affirmer le caractère récidivant de la mycose [63]. Ces formes récidivantes sont souvent le fait de traitement de durée insuffisante, de résistance de certaines levures aux antifongiques utilisés, ou encore le fait de ré-infestation.

III.1.4.3. <u>Les formes associées</u>

De nombreuses associations entre Candida et d'autres germes ont été relevées. Elles sont importantes à considérer car elles peuvent gêner la thérapeutique.

Le *Candida* peut être associé : [19]

- Aux germes bactériens : les associations Candida/bactéries sont assez fréquentes. DOUCHET et al. trouvent des associations allant de 3 à 20%;
- Aux parasites: les associations avec les parasites sont plus rares. L'association avec *Trichomonas vaginalis* est assez faible, de 2 à 5%.

III.1.4.4. <u>Les complications</u>

Les complications d'une mycose vaginale sont exceptionnelles. Cependant, elles paraissent plus fréquentes chez les gestantes, et elles sont à craindre car le nouveau-né pourrait faire une candidose localisée voire généralisée.

On peut observer des urétrites, des cystites, des salpingites à *Candida* [30].

III.1.4.5. Les candidoses génitales chez l'homme [57]

Chez l'homme, la candidose génitale est souvent liée à des irritations locales répétées ou chronique faisant le lit de l'infection lors des rapports avec une partenaire infectée ou à l'existence d'un diabète qui doit être recherché par principe.

L'homme souffre de balanites et de balanoposthites, parfois compliquées d'urétrites. L'infection débute dans le sillon balano-préputial par un érythème plus ou moins suintant, exulcéré, recouvert d'un enduit blanchâtre.

Elle s'étend au prépuce et au gland qui est parsemé de petites papules érythémateuses ou de papulo-pustulettes.

Cette phase aiguë peut se compliquer d'œdèmes et de phimosis. Prurit et picotements sont les symptômes habituellement associés.

III.2. <u>Les candidoses profondes ou candidoses systémiques et disséminées</u>

D'origine endogène (foyer digestif) ou exogène (à partir d'un traumatisme vasculaire, cathéter), les candidoses systémiques peuvent se manifester dans tous les organes (reins, cœur, poumons, yeux, système nerveux, peau), bien que les localisations rénales soient les plus fréquentes. Elles touchent les personnes souffrant de neutropénie et sont souvent mortelles [57].

Les candidoses ostéoarticulaires sont dues au développement de *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, et de *Candida parapsilosis* dans les os, les articulations, et le tissu péri articulaire [57].

IV. <u>DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES CANDIDOSES</u> SUPERFICIELLES

Les symptômes cliniques suffisent souvent à diagnostiquer les candidoses cutanées, vaginales et oro-pharyngiennes.

En cas de doute, deux types d'analyses sont conduits :

- Le diagnostic mycologique;
- Le diagnostic immunologique.

IV.1. Diagnostic mycologique

IV.1.1. Prélèvement

Le prélèvement se fait après désinfection des lésions à l'éther. On prélève avec une lame de bistouri stérile des squames, des fragments de peau. Tous ces prélèvements se font avec du matériel stérile et sont recueillis dans des boîtes de pétri stériles.

Le prélèvement des lésions cutanées et muqueuses se fait par écouvillonnage :

- Le prélèvement vaginal se fait après la pose d'un spéculum non lubrifié, au niveau du cul-de-sac postérieur du vagin par écouvillonnage ;
- Lorsqu'il s'agit d'un onyxis, on fait un grattage à la périphérie des lésions pour avoir des poudres. S'il y a péri onyxis, très souvent il y a du pus sur le pourtour de la lésion. Le pus est recueilli avec un écouvillon stérile ;
- Pour les lésions buccales, on ne pourra utiliser que l'écouvillon. Il faudra s'assurer que le prélèvement est fait loin d'un repas ou d'une prise de boisson, éventuellement après un temps d'arrêt suffisant (au moins 2 semaines) d'un traitement antifongique comme tout prélèvement mycologique en général. Il faut écouvillonner pour récolter les squames humides ou l'enduit blanc des lésions buccales.

IV.1.2. Examen direct

L'observation entre lame et lamelle du prélèvement dans une goutte de sérum physiologique stérile (ou après coloration au lugol pour les selles ou traitement par la potasse à 20 % pour les squames et les phanères) permet de mettre en évidence des levures bourgeonnantes avec ou sans pseudo filaments.

IV.1.3. Culture et isolement des colonies

Pour l'isolement des levures la culture se fait sur différents milieux :

- Le milieu Sabouraud gélosé sans antibiotique.
 C'est le milieu de référence des champignons pathogènes ou saprophytes.
 Mais, il n'est pas à l'abri de contaminants bactériens.
- Le milieu Sabouraud gélosé additionné d'antibiotique à large spectre (Chloramphénicol) ou milieu SC.
 - L'addition de chloramphénicol permet d'éliminer certaines bactéries associées.
- Le milieu Sabouraud gélosé avec antibiotique (Chloramphénicol) et antiseptique (Actidione®) ou milieu SAC.
 - Ce milieu permet déjà un début d'identification des levures car l'Actidione[®] inhibe la croissance de certaines espèces de *Candida*. Les produits pathologiques sont ensemencés sur ces milieux, coulés en plan incliné ou sur une boîte de pétri par un ensemencement en strie ou en point. Puis, on incube à l'étuve entre 30°C et 37°C.

La lecture se fait au bout de 24 à 72 heures.

L'isolement d'une levure n'est pas toujours significatif de sa pathogénicité. Le résultat de la culture est à discuter en fonction des autres éléments du diagnostic.

IV.1.4. Identification des levures

IV.1.4.1. Examen macroscopique des colonies

Après 24 à 48 heures, on obtient des colonies crémeuses, luisantes ou mates, de couleur blanchâtre.

Une étape de confirmation consiste en un examen direct dans du bleu coton ou du sérum physiologique.

L'identification des levures se fait par des tests effectués dans un ordre précis.

IV.1.4.2. <u>Test de blastèse ou test de filamentation en sérum ou encore test de TASHDJIAN</u>

Le but est d'obtenir des levures du genre *Candida*, des tubes germinatifs au bout de 3 heures à 37°C dans un sérum humain ou animal frais.

Une suspension homogène d'une à deux colonies de levures de primo isolement sur le milieu de Sabouraud est réalisée dans 0,5 à 1 ml de sérum humain ou animal frais.

Après 3 heures d'incubation à 37°C à l'étuve, on examine une à deux gouttes de suspension au microscope optique.

- S'il y a formation de tube germinatif de longueur (L) égale à au moins trois fois le diamètre de la forme levure (L=3D), il s'agit de *Candida albicans*;
- Si l'on observe des levures bourgeonnantes ou des tubes germinatifs courts (L<3D), on a alors des levures du genre *Candida*, mais pas l'espèce*albicans*;
- Si l'on note l'absence de bourgeonnement (L=0), la levure n'appartient pas au genre *Candida*.

En résumé, le test est considéré comme positif, si 70 % des levures présentent un tube de germination flexueux dont la longueur atteint au moins trois fois celle du diamètre de la levure [7].

IV.1.4.3. Test de chlamydosporulation

Il se fait sur des milieux relativement pauvres en éléments nutritifs tels que : - Le milieu RAT (riz, agar-agar, tween 80) ;

- Le milieu PCB (pomme de terre, carotte, bile).

Le principe est basé sur la production de chlamydospores en milieu pauvre, créant ainsi des conditions difficiles (anaérobiose) de survie du champignon.

On obtient de grosses spores terminales ou intercalaires à paroi épaisse portées par des filaments. Ce sont des formes de résistance des levures.

En pratique, le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri de 55 mm de diamètre. On réalise une suspension d'une colonie de levures dans 1 ml d'eau distillée stérile.

Une goutte de cette suspension est déposée au centre de la boîte de pétri et est recouverte d'une lamelle stérile. La boîte est examinée par transparence après 24 à 48 heures d'incubation à 27°C.

Si l'observation au microscope montre :

- L'absence de pseudo mycéliums et de chlamydospores, la levure n'appartient pas au genre *Candida*;
- La présence de pseudo mycéliums sans chlamydospores faisant environ
 15 μm de diamètre et ayant une paroi épaisse réfringente, la levure correspond au genre Candida;
- La présence de pseudomycéliums et de chlamydospores, la levure est identifiée comme étant *Candida albicans*.

IV.1.4.4. <u>Tests biochimiques</u>

Ils permettent une identification plus spécifique des différentes espèces :

- L'auxanogramme ou test d'assimilation des sucres et des bases azotées ;
- Le zymogramme ou test de fermentation des sucres.

En outre, on peut utiliser la sensibilité de la souche à l'actidionne et la réduction des sels de tétrazolium. Il existe sur le marché de très nombreux types de

galeries proposant des clés d'identification informatisées (système API 32C®, Fungiscreen®, Auxacolor®) [7].

IV.1.4.5. Sérotypage

Il existe chez l'espèce *Candida albicans* deux sérotypes : A et B, correspondant à des structures antigéniques de surfaces différentes [22]. Les sérotypes peuvent être identifiés par agglutination avec des sérums monospécifiques. L'intérêt est épidémiologique, biochimique et thérapeutique. Un sérotype AB a cependant été observé par OUHON et al. Dans une étude effectuée à Abidjan [52].

IV.2. Diagnostic immunologique

Dans les atteintes viscérales, le diagnostic se fait :

- Soit par la recherche d'anticorps avec les méthodes d'électrosynérèse, d'immunodiffusion, d'électroimmunophorèse et d'immunofluorescence ;
- Soit par la recherche d'antigènes circulants (chez les immunodéprimés).

CHAPITRE 2: LES MEDICAMENTS ANTI FIONGIQUES ET

CHALCONES

I. LES MEDICAMENTS ANTIFONGIQUES

I.1.Définition

Le traitement des candidoses fait appel à des antifongiques. Ce sont des

médicaments capables d'inhiber spécifiquement les différents champignons

isolés en mycologie médicale et responsables de lésions plus ou moins graves.

Plusieurs familles médicamenteuses sont utilisées dans la chimiothérapie des

candidoses. Parmi celles-ci on dénombre : les macrocycles polyéniques, les

fluoropyrimidines, les azolés, les échinocandines, les allylamines, les ciclopirox,

les morpholines.

I.2. Classification

I.2.1.Macrocylespolyéniques

Ils constituent une classe de médicaments antifongiques à pouvoir fongistatique

aux doses thérapeutiques et fongicides à fortes doses.

Exemple de molécule : l'Amphotericine B.

Les polyènes interagissent avec les stérols membranaires des cellules

antifongiques pour former un complexe qui conduira à la lyse de la cellule et

partant a la mort du champignon microscopique [9,65].

I.2.2 Fluoropyrimidines

Ce sont des dérivés 5-fluorés de la pyrimidine. Le seul représentant en

thérapeutique antifongique est la 5 flurocytosine qui est un analogue structural

de la cytosine.

La 5 fluorocytosine est fongistatique à dose thérapeutique et fongicide à dose élevée. elle agit par inhibition de la synthèse protéique et de la multiplication cellulaire [9,65].

I.2.3. Echinocandines

Les échinocandines sont des lipopeptides d'origine naturelle et d'hémisynthèse à activité fongicide agissant au niveau de la paroi fongique. Une des molécules actuellement utilisées en thérapeutique est la Capsofungine.

I.2.4. <u>Allylamines</u>

Les allylamines sont des antifongiques fongistatiques. Le seul représentant actuellement utilisé en thérapeutique humaine est la terbinafine. Cette famille agirait sur la structure de la membrane antifongique à l'origine de la mort du champignon [9,65].

1.2.5. Ciclopirox

Le ciclopirox est un antifongique à pouvoir fongicide. Sa forme d'utilisation la plus fréquente est la ciclopiroxolamine. Le ciolopirox et la ciclopiroxolamine sont les seuls représentants utilisés en thérapeutique humaine. Les ciclopirox entraineraient des perturbations au niveau du métabolisme des champignons, notamment la respiration cellulaire à l'origine de la mort du champignon [27,64].

I.2.6. Morpholines

Les morpholines constituent une classe chimique d'antifongiques de synthèse totale à action fongistatique et fongicide. L'amorolfine est actuellement le seul représentant utilise en thérapeutique humaine. Il agirait par inhibition successives de la C14 stérol reductase et Δ^{7-8} isomerase deux enzymes impliqués dans la synthèse de l'ergostérol [9,65].

I.2.7. Azolés antifongiques

Les azolés antifongiques constituent une famille relativement homogène d'antifongiques de synthèse totale, possédant des activités thérapeutiques de nature fongistatique. Ils sont représentés par deux groupes chimiques :

- les imidazolés (deux atomes d'azote) : miconazole, ketoconazole,
- les triazolés (trois atomes d'azote) : fluconazole, itraconazole.

Les azolés antifongiques agiraient au niveau des stérols membranaires en bloquant la biosynthèse de l'ergostérol par suite de l'inhibition de la 140t-stéroldemethylase enzyme a cytochrome p450 à l'origine de la transformation de lanosterol en ergosterol indispensable à la membrane des champignons. Ils 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 [9,41,65].

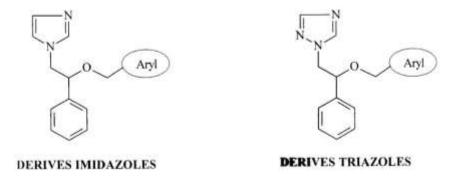


Figure 6 : Structure générale des azolés antifongiques

II- LES CHALCONES

II-1. Définition

Les chalcones ou 1.3-diary-2-propen—1-ones appartiennent à la famille des flavonoides. Chimiquement, elles sont composées d'une chaine ouverte de flavonoides dans laquelle les deux cycles aromatiques sont reliés par un chainon tricarboné cétonique insaturé. les chalcones posséderait plusieurs activités anticancéreuses, antiinflammatoires, antioxydantes, antiparasitaires, antifongiques. Dans le cadre de notre étude nous nous intéresserons uniquement aux propriétés antifongiques plus précisément anticandidosique.

II-2. Activités antifongiques

Les activités antifungiques des chalcones ont été décrites dans la littérature avec deux chalcones la 2',4- dihydroxychalcone et la 2-hydroxy-2'-méthoxychalcone.

Au vu des propriétés de ces molécules (azolés et chalcones), nous avons décidé, en vue de la recherche nouvelles biomolécules antifongiques plus performantes, de les associer. C'est ainsi nous avons procéder à l'accolement du benzène au groupement imidazolyl pour obtenir le benzimidazol puis nous l'avons accolé au arylpropénone pour obtenir le noyau benzimidazolyl-chalcone qui sera évaluer dans notre étude.

CHAPITRE 3: <u>DIFFERENTES METHODES D'EVALUATION DE</u> <u>L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE</u>

L'activité in vitro des champignons aux antifongiques peut être évaluée de plusieurs manières.

I. LA METHODE DE DILUTION

Elle se réalise soit :

- En milieu liquide,
- En milieu semi-solide,
- En milieu solide.

I.1.En milieu liquide

Il existe deux méthodes par diffusion liquide, une macro méthode et une micro méthode. Ces deux méthodes ont été standardisées par le CLSI (clinical and Laboratory standards institute)[36].

I.1.1. La macrométhode

Elle est réalisée en tubes stériles contenant des dilutions sériées d'antifongiques dans un milieu de culture liquide. Après ensemencement par un inoculum préparé à partir de culture de levure, les tubes de culture sont incubés pendant 24 à 48 heures à 28°C. La lecture des résultats est faite, soit visuellement, soit par mesure spectrophotométrique de la turbidité. Les résultats sont exprimés en concentration minimale inhibitrice ou CMI correspondant à la plus faible concentration d'antifongique inhibant la croissance du champignon étudié.

Plusieurs paramètres influencent de manière importante la détermination des CMI: le milieu de culture, le pH, la charge de l'inoculum, la température et le temps d'incubation [46]. Mais, la méthode a été standardisée par le CLSI [28].

I.1.2. La microméthode

Cette méthode a été développée selon le protocole standardisé de la macro méthode du CLSI afin de palier aux difficultés de mise en œuvre de la méthode originelle [28]. Des études comparatives ont montré que la différence entre les deux n'est pas significative [28]; ce qui a permis la standardisation par le CLSI [47].

Comme pour la macro méthode des paramètres (milieu de culture, pH, charge de l'inoculum, température et temps d'incubation) influencent la valeur des CMI.

I.2. En milieu semi-solide

Il existe actuellement plusieurs méthodes en milieu semi solide commercialisées. Parmi elles, on peut citer l'ATB Fungus[®]. C'est une méthode simple et rapide.

Elle permet de déterminer la sensibilité des *Candida* aux antifongiques dans des conditions très proches de la technique de référence de micro dilution, selon les normes de l'European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [12] et du CLSI [62].

Les résultats obtenus avec cette méthode permettent de déterminer les CMI et un classement des souches en termes « sensible », « intermédiaire », ou « résistante » selon des concentrations recommandées par le CLSI.

I.3. En milieu solide

La technique de dilution en milieu solide la plus utilisée est la méthode de STEERS [6,62].

Pour un antifongique donné, une gamme de concentration est réalisée, incorporée à un milieu gélosé en surfusion, puis coulé en boîte de pétri. La CMI d'un antifongique correspond à la plus petite concentration de l'antifongique capable d'inhiber la pousse de la souche testée, comparativement aux témoins.

Cette technique, comme celle de la dilution en milieu liquide, est influencée par le milieu de culture, le pH, la charge de l'inoculum, la température et le temps d'incubation.

II. La méthode par diffusion [1]

Cette méthode utilise des disques imprégnés d'antifongiques.

Son principe consiste à déposer des disques chargés avec une concentration connue d'antifongique sur un milieu de culture gélosé, ensemencé par inondation de l'inoculum. L'antifongique va diffuser radialement à partir de l'endroit où le disque est déposé. Il se forme un gradient de concentration d'antifongique autour du disque. La CMI de l'antifongique testé est déterminée après mesure des diamètres des zones d'inhibition et utilisation des abaques.



Figure 5 : Technique en milieu gélosé avec disques Biomic[®] [66]

III. Le Etest

Le Etest® est une nouvelle méthode de détermination directe de la CMI des antifongiques systémiques à l'aide de bandelettes minces contenant un gradient exponentiel continu d'antifongique.

Ce test est un hybride des méthodes par dilution en milieu liquide ou en gélose et de la méthode par diffusion à partir des disques [28].

Les premières études comparant cette nouvelle technique avec les méthodes de référence du CLSI ont montré une bonne corrélation des résultats. Ces études ont conclu que le Etest[®] constituait une méthode facile et rapide à mettre en œuvre [12].

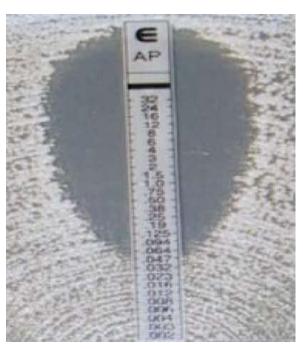


Figure 6 : Technique en milieu gélosé avec bandelettes Etest® [66]

IV. La méthode bioautographique[16,17,59,60]

Le test par bio autographie « *agar overlay* », utilisé dans nos travaux avec *Candida albicans*, a été mis au point par RAHALISON et al. (1991).

Les chromatogrammes sur couche mince sont d'abord développés sur des plaques de gel de silice de 10 x 10 cm avec un support en verre qui est la phase

solide. Il est ensuite très important de sécher complètement les plaques afin d'éliminer toute trace de solvant. Toutes les opérations décrites ci-après sont effectuées près d'une flamme, avec les précautions d'usage lors de la manipulation de microorganismes potentiellement pathogènes et le souci d'éviter toute contamination des milieux de culture utilisés par d'autres germes.

Après développement en tube sur gélose de Sabouraud, une oese de 24 heures du germe est mise en culture liquide dans 50 ml de bouillon de Sabouraud. Après incubation pendant 15 heures à 30°C, 1 ml de cette solution est prélevé afin d'inoculer 50 ml d'un second milieu de culture à base de Sabouraud liquide. Incuber à 30°C pendant 8 heures afin d'atteindre la phase de croissance exponentielle du microorganisme. Introduire ensuite 1 ml de cette solution dans chacune des fractions de 50 ml de milieu gélosé à l'extrait de malt, préparées et maintenues à l'état liquide à 45 °C.

Ces milieux contiennent alors environ 105 cellules/ml et on en prépare 20 ml par plaque de 10 x 20 cm.

La technique de l'« *agar overlay* » consiste à verser sur les plaques développées, à l'aide d'une pipette stérile et en fine couche de 1-2 mm d'épaisseur, l'inoculum à base de gélose à l'extrait de malt.

Ce dernier se solidifie alors en refroidissant. Après incubation pendant une nuit à 30 °C en atmosphère humide, les bioautogrammes sont révélés par vaporisation d'une solution aqueuse de MTT (MethylThiazolylTetrazolium) à 2,5 mg/ml.

Le test bioautographique est une variante de la méthode en milieu solide qui utilise des plaques de gel de silice. C'est une méthode facile à utiliser, et qui ne demande pas un équipement lourd; certains matériels ont d'ailleurs été adaptés avec ceux qui sont disponibles au laboratoire. On peut citer entre autres la chambre humide qui est faite de deux plateaux en inox et de papier buvard. De plus, c'est une méthode très sensible qui détecte une activité antifongique à partir de 100 microgrammes de substances de synthèse. Les réactifs utilisés sont

relativement faciles à obtenir, sauf le révélateur des zones d'inhibition, le MTT (MethylThiazolylTetrazolium) qui a un coût élevé.

L'inconvénient majeur relevé au cours de nos travaux se situe au niveau de la reproductibilité de la méthode.

En effet, nous avons remarqué que pour un même échantillon de substances de synthèse, les mêmes réactifs, le même matériel et le même manipulateur, les résultats présentaient quelques fluctuations, précisément au niveau des diamètres d'inhibition.

Le deuxième inconvénient de la méthode bioautographique reste le temps de sa mise en œuvre avec les différentes incubations nécessaires à la préparation de l'inoculum et le temps de contact avec la souche de *Candida albicans*.

En somme, la méthode bioautographique « agar overlay » est une très bonne méthode sensible et réalisable en laboratoire.

DEUXIEME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 1: MATERIEL ET METHODES

I. MATERIEL

I.1. Type d'étude et cadre de travail

Ce travail de type expérimental a eu lieu en ce qui concerne la synthèse chimique totale des biomolécules potentielles, au Laboratoire de Chimie Thérapeutique et Biomolécules de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques d'Abidjan. Au total, ce sont treize (13) chalcones à support benzimidazolique qui ont été conceptualisées puis synthétisées [50].

Quant aux structures chimiques de toutes ces molécules synthétisées, elles ont été confirmées par les méthodes spectroscopiques habituelles (RMN : ¹H, ¹³C; EI Masse) au Laboratoire CEISAM de Nantes [50].

Pour notre part, nous nous sommes focalisés sur l'évaluation des activités antifongiques de 5 (cinq) de ces nouvelles chalcones à support benzimidazolique. Cette évaluation a été réalisée durant un mois (du 15 décembre 2013 au 15 janvier 2014) au Laboratoire de Mycologie du Centre de Diagnostic et de Recherche sur le Sida et les autres maladies infectueuses (CeDReS) d'Abidjan,sise au sein du CHU de treichville.

I.2 Matériels et réactifs de laboratoire

le matériel et les réactifs utilisés sont :

- Milieux de cultures : Sabouraud 4% glucose Agar (Fluka) ; Sabouraud agar maltose (OXOID)
- Bain- marie
- Flacon de culture en verre
- Plaque chauffante
- Pipettes graduées (10 ml)
- Boites de pétri
- Incubateur

- Substances médicamenteuses antifongiques (Kétoconazole, Fluconazole)
- Produits à tester(5)
- Chlorure de methyl thiazolyltétrazolium (MTT)
- Bacs en polyéthylène
- Souche de Candida albicans 27143

I.3-Molécules à évaluer

I.3-1. Molécules de synthèse totale

Les cinq (5) dérivés benzimidazolyl-chalcones (**figure 8**) soumis à l'évaluation anti-*Candida albicans* ont été fournis par le Laboratoire de Chimie Thérapeutique et Biomolécules de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques d'Abidjan sous forme de poudres pures.

I.3-2. Substances de références

Les activités antifongiques de ces chalcones, ont été comparées à celle du Kétoconazole et du Fluconazole utilisés comme substances médicamenteuses de référence. Le choix de ces deux substances médicamenteuses se justifie par leurs efficacités antifongiques vis-à-vis de Candida albicans. Ces médicaments, sous forme de poudres pures provenaient des laboratoires SIGMA Chimical Co (USA).

I.3-3 <u>Matériels microbiologiques</u>

Les activités anti-*Candida albicans* de ces nouvelles chalcones ont été évaluées vis-à-vis d'une souche clinique de *Candida albicans* (souche 27143 CeDReS). Cette souche clinique sensible au Fluconazole et au Ketoconazole a été fournie et caractérisée par le laboratoire de mycologie (CeDReS).

II-METHODES D'EVALUATION DES ACTIVITES ANTIFONGIQUES

Pour la détermination *in vitro* de l'activité anti-*Candida albicans* des produits à tester, nous avons utilisé la technique de bioautographie «agar overlay» mise au point par Rahalison [59,60]. L'activité de chaque produit à la quantité seuil de 10 µg, a été mesurée par son diamètre d'inhibition (DI).

II.1. Principe de la technique de bioautaugraphie (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. Elle a l'avantage de permettre le criblage antifongique de plusieurs produits à la fois (10 produits par plaque).

II.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 boite de pétri, incubée à 30° c pendant 24 à 48 heures. Une à trois colonies sont ensuite ensemencées dans 50 ml de Sabouraud liquide, puis laissées sous agitation pendant une nuit à température ambiante. On prélève ensuite un (1) ml du bouillon que l'on transfère dans un nouveau bouillon, laissé sous agitation pendant 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 105cellules /ml.

II.3 Détection des activités antifongiques

Des solutions méthanoliques des produits de synthèse et des substances médicamenteuses de références antifongiques à tester sont préparées à 1mg/ml.

Puis ,10 μl de ces solutions, soit 10 μg de produit, sont déposés sur les plaques de silicagel 60 F254 sur verre. Ces chromatogrammes sont ensuite séchés et maintenus à 35-40°C environ, sur une plaque chauffante. 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 solidification de l'agar les plaques sont incubées à 30°C dans des bacs de polyéthylène pendant une nuit, en atmosphère humide. Après l'incubation, les plaques sont révélées à l'aide de solution aqueuse de Chlorure de méthylthiazolyltétrazolium (MTT) à 2,5 mg/ml. Après une nouvelle incubation de 2 à 4 heures environ, des zones d'inhibition de croissance apparaissent sous formes de taches blanches sur un fond violet.

II.4 Mesure des diamètres d'inhibition

Les diamètres d'inhibition des produits de synthèse et de substances médicamenteuses de référence à la quantité seuil de 10µg ont été mesurés à l'aide d'une règle graduée.



Figure 7 : Diamètre d'inhibition de 11 dérivés benzymidazolyl-chalcones vis-à-vis de *Candida albicans* souche 27143

CHAPITRE 2: RESULTATS ET DISCUSSION

I. RESULTATS

Les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité antifongique des benzimidazolyl-chalcones, vis-à-vis de la souche de *Candida albicans* 27143 CeDReS avec comme substances médicamenteuses de référence le Fluconazole et le Kétoconazole sont présentés dans la **Figure 8.**

L'activité de chaque produit à la quantité seuil de 10µg est donnée par son Diamètre d'Inhibition (DI) exprimée en millimètre (mm) (**Figure 8**). Les résultats rapportés font ressortir que:

- Les composés 1 a un diamètres d'inhibitions de 14 mm
- Les composés 2 et 3 ont montré des efficacités équivalentes avec des DI de 10 mm
- •Les composés 4 a un diamètres d'inhibitions de 11 mm
- •Les composés 5 a un diamètres d'inhibitions de 12 mm
- •Le Fluconazole et Kétoconazole ont présentées a cette même quantité de 10 µg des activités antifongiques superposable avec des DI respectifs de 39 et 25 mm.

Structures générales	Composés	R	Diamètre d'Inhibition (mm) C. albicans 27143 CeDRES
	1	Н	14
N 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	2	4-C1	10
N H O O	3	2,4-diCl	10
O .	4	4-Br	11
	5	4-F	12
Fluconazole			39
Kétoconazole			25

Figure 8: Activités antifongiques *in vitro* des composés et des substances médicamenteuses de référence vis à vis de *Candida albicans*.

II. DISCUSSION

A la suite de l'évaluation des activités antifongiques des benzimidazolylchalcones vis-21-vis d'une souche clinique Candida albicans nous avons entrepris une discussion de type relations structure-activité. Dans cette discussion nous utiliserons le Diamètre d'Inhibition (DI) pour quantifier 1'efficacité anticandidosique de chaque composé à la quantité seuil de 10 μg.

L'analyse des résultats permet d'établir que **le composé 1** issu de l'accolement de l'hétérocycle benzimidazolique à l'enchainement fonctionnel arylpropénone des chalcones possède effectivement une activité anti-Candida albicans à la quantité de 10 µg. Cette efficacité anti-Candida albicans traduite par son diamètre d'inhibition de 14 mm corrobore les propriétés anti- infectieuses intrinsèques de l'hétérocycle benzimidazole et des chalcones [29,35, 50, 51, 58,70]. En effet, le noyau benzimidazole possède de remarquable activité antifongique découvert par woolley en 1944[29]. D'ailleurs il constitue le support hétérocyclique du chlormidazole, premier anctifongique de synthèse totale [41,51].

Quant aux chalcones, leurs multiples propriétés sont liées à la présence de l'enchainement fonctionnel arylpropénone dans leur molécule respective. En effet, ces composes carbonylés α β éthyléniques sont capables d'inhiber certaines enzymes à fonction thiol telles que le glutathion S-transférase, la cysteine, la kératine à l'origine de leurs nombreuses propriétés biologiques [4,43]. De plus, en vue d'induire de plus grand diamètre d'inhibition, divers modulateurs plus précisément différents atomes d'halogènes d'activités biologiques ont été introduits sur l'homocycle benzénique du **composé 1**.

Ces pharmacomodulations permettent d'établir que :

L'introduction d'atomes d'halogènes sur l'homocycle benzénique pour mimer les azolés antifongiques médicamenteux révèle que :

- ✓ La présence d'un atome de chlore en position 4 (**composé 2**) sur l'homocycle benzénique ou même sa duplication (**composé 3**) conduit de façon générale a une apparition des activités antifongiques inférieures a celle du **composé 1**(DI=14 mm) avec des diamètres d'inhibitions a 10 mm.;
- ✓ De même la bromation de l'homocycle benzénique induit une performance anticandidosique moindre que celle du **composé 1**(DI=14 mm) avec des diamètres d'inhibitions de 11 mm (**composé 4**). Cette performance est toutefois supérieure à celle des dérivés chlorés (DI=10 mm).
- ✓ Par ailleurs la présence d'un atome de fluor sur l'homocycle benzénique (Composé 5), conduit la aussi a une induction de l'efficacité anti-Candida se traduisant par) un diamètre d'inhibition de 12mm. Cette efficacité est toujours et encore inférieure à celle du composé 1(DI=14 mm)

Contrairement aux azolés antifongiques, pour lesquels les atomes d'halogènes sont responsables d'une exaltation des activités antifongiques, un tel princeps semble ne pas être favorable à une exaltation des activités antifongiques en série des benzimidazolyl-chalcones, du moins in vitro. La mise en application dudit concept conduit plutôt à une apparition des activités antifongiques avec des diamètres d'inhibitions allant de 10 à 12 mm.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouveaux antifongiques pour contribuer à la lutte contre les maladies fongiques.

L'évaluation des activités antifongiques vis-à-vis de *Candida albicans* par la technique de bioautographie, a montré une efficacité anticandidosique de la benzimidazolyl-chalcone ou **composé 1**, avec un diamètre d'inhibition de 14 mm. Par ailleurs, les differentes pharmacomodulations entreprisent en vue de l'amélioration des activités antifongiques n'ont pas permis d'atteindre les résultats escomptées.

Ces résultats nous permettent de valider le profil chimique hybride de benzimidazolyl-chalcones comme un nouveau pharmacophore antimycosique. Il nous apparaît donc nécessaire de poursuivre ces travaux de recherche par :

- ✓ La détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de ses benzimidazolyl-chalcones,
- ✓ L'évaluation de ces molécules sur des souches cliniques chimiorésistantes aux azolés antifongiques,
- ✓ La détermination du mécanisme d'action de ces nouvelles chalcones sur Candida albicans

D'un point de vue chimique, il serait intéressant d'entreprendre d'autres pharmacomodulations telles que :

- ✓ Le remplacement de l'homocycle benzénique par un hétérocycle pentagonal azoté comme l'imidazole ou le triazole retrouvés dans les azolés antifongiques,
- ✓ Le blocage des sites de métabolisations potentiels du noyau benzimidazole (C5 et/ou C6) par introduction des différents modulateurs,
- ✓ Le remplacement du noyau benzimidazole par son isostère imidazopyridine, benzoxazole, benzothiazole.

Les résultats obtenus dans ce travail de thèse, ouvrent une nouvelle voie de recherche vers la mise au point de nouveaux médicaments antifongiques, afin de contribuer à la lutte contre les maladies fongiques.



1.Adjambri A.

Etude de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques des souches de *Candida albicans* isolées des prélèvements vaginaux à Abidjan à l'IPCI (Institut Pasteur de Côte d'Ivoire). 107p.

Th. Pharm.: Abidjan. Université de Cocody, 2005, 1014

2. Andargachew M, Afework K, BelayA, et al.

Frequent detection of 'azole' resistant *Candida* species among late presenting AIDS patients in northwestEthiopia.

BMC InfectiousDiseases.2013; 13:82

3. Andreas V, PaulV.

Epidémiologie. Tendances actuelles des infections systémiques à Candida.

Les candidoses systémiques, France : Optimed (JIDIF), 2001. P.11-13.

4. Awasthi S, Nidhi M, Sandeep K etal.

Antifilarialactivity of 1, 3-diarylpropen-1-one: effect on glutathioneStransferase, a phase II détoxification enzyme.

The American journal of tropical medicine and hygiene. 2009; 80(5): 764-768.

5. Barker K S, Crisp S, WiederholdN, et al .

Genome-wide expression profiling reveals genes associated with amphotericin B and fluconazole resistance in experimentally induced antifungal resistant isolates of *Candida albicans*.

J Antimicrob Chemother 2004; 54 (2): 376-385.

6. Blancard A., Moulin-Traffort J., Regli P. et al.

Apport du laboratoire dans la surveillance du traitement antifongique par le Fluconazole des candidoses chez les immunodéprimés.

Path. Biol. 1991; 39(5): 534-538.

7. Bouchet P., Guinard J., Modulo-Lebond G.

Mycologie générale et médicale : abrégés de pharmacie. Paris : Masson, 1989. P.108-109

8. Bordais P., Bourrat E.

Ce qu'il faut savoir sur les stomatites érythémateuses de l'enfant. Quot. du Méd. 1999, (6422),

(page consultée le7 Janvier 2016).

http://www.quotimed.com">

9. Bryskier A.

Antibiotiques agent antibactériens et antifongiques.

Paris: Ed ellipses, 1999. 1216 p.

10.Candidoses générales.(page consultée le 5 **Janvier** 2016)

<<u>http//:www.pubmed</u>>

11. Cota J M, Grabinski J L, Talbert R L, et al.

Increases in SLT2 expression and chitin content are associated with incomplete killing of *Candida glabrata by* caspofungin.

Antimicrob Agents Chemother. 2007; 52: 1144-1146.

12. Cuenca-Estrella M., Lee-Yang W., Ciblak M. et al.

Comparative evaluation of NCCLS M27-A and EUCAST broth microdilution procedures for antifungal susceptibility testing of *Candida* species.

Antimicrob. Agents Chemother. 2002; 46 (11): 3644-3647.

13. Dembele B.

Sensibilité *in vitro* aux antifongiques de *Candida albicans* isolés de la sphère oropharyngée de sujets VIH positif et traités par le Kétoconazole à Abidjan. 92p. Th. Pharm.: Abidjan. Université de Cocody, 1999. 508p.

14. Develoux M, Bretagne S.

Candidoses et levuroses diverses.

EMC- Maladies Infectieuses 2005, Vol 2: 119-139.

15. Deveze L.,

Agressions fongiques buccales et péribuccales.

Le biologiste.1987, 21 (171): 445-449.

16. Diallo D.

Ethnopharmacological survey of medical plants in Mali and phytochemical study of four of them: Glinus oppositifolius(Aizoacées), Diospyrosabyssinica (Ebenacées), Entadaafricana (Mimosacées), Trichiliaemetica (Meliacées). 221p.

Th. Pharm. : Lausanne, Université de Lausanne, 2003

(Page consultée en **Janvier 2016**).

< http://www.linkinghub.elsevier.com>

17. Diallo D., Marston A., Terreaux C. et al.

Screening of Malian plants for antifungal, larvicidal, molluscidal, antioxidant and radical scavenging activities. Phytoher. Res. 2001, 15: 401-406.

18. DjohanV, AngoraK.E, Vanga-BossonA.H,et al.

Sensibilité *in vitro* des souches de *Candida albicans* d'origine vaginale aux antifongiques à Abidjan (Cote d'Ivoire).

Journal de MycologieMédicale2012, Vol 22 (2): 129-133.

19. Douchet C., GelardM., AttingoraN. et al.

Etude microbiologique effectuée sur 1998 prélèvements vaginaux.

Médecine. Tropicale. 1985, 45(1): 59-65.

20. Drouhet E., Dupont B.

Les champignons lévuriformes d'intérêt médical.

Rev. d'Information de Diagnostique. Pasteur (Laborama). 1985, 21 : 3-13.

21. Dupont B.

L'évolution du monde mycologique. 2. Candidoses en pratiques : diagnostic biologique et traitements. Paris : Laboratoires SQUIBB, 1984.

22. Dupont B.

Cours de mycologie médicale.

Paris: Institut pasteur, 1984.

(page consultée en Janvier 2016).

http://www.pasteur.fr

23. Dupont B.

Candidoses, Cryptococcoses, Aspergilloses

Rev générale Roche. Laboratoire ROCHE (page consultée en Janvier 2016).

http://medecinetropicale.free.fr/cours/mycose_profonde.htm

24. Edlind T D, Katiyar S K.

Mutational analysis of flucytosine resistance in *Candida glabrata*.

Antimicrobial agents and chemotherapy 2010, Vol54 (11): 4733-4738.

25. Eloy O., Ghinassia J., yeni P.

Choix et surveillance du traitement des mycoses systémiques: intérêt et limite des tests in vitro.

Pres médicale.1992, 21.937-942.

26. Éric D.

Antifungal resistance in Candida: detection and mechanisms.

Rev francophone des laboratoires 2013, Vol 43 (450): 71-77.

27. Espinel Ingroff A.

Mechanisms of resistance to antifungal agents: Yeasts and filamentous fungi.

Rev IberoamMicol 2008, Vol 25: 101-106.

28. Etest.

(Etude de la sensibilité des levures aux antifongiques). Détermination de la concentration minimale inhibitrice. 2^{ème} édition. Biomedicals Diagnostics, 1995.

29. Fromtling R.

Overview of medically important antifungal azolé derivatives.

Clin MicrobiolRev. 1988, 1: 187-217.

30. Gondry J., De Groote P., Boulanger J.C.

Leucorrhée: orientation diagnostique.

Revue du Praticien. 1996, 46: 871-877.

31. Granier F.

Antifongiques : classes thérapeutiques, mécanismes d'action, problèmes de résistance.

EM-Antibiotiques 2003, Vol 5 (1): 39-48.

32. Hope W W, Tabernero L, Denning D W, et al.

Molecular mechanisms of primary resistance to flucytosine in *Candida* albicans.

Antimicrob Agents Chemother 2004, Vol 48 (11): 4377-4386.

33. Hutchinson J., Dalziel M.D.

Flora of West Tropical Africa.

London: Crown Agents for over sea Governments and Administrations.

34. Kanafani Z A, Perfect J R.

Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents mechanisms and clinical impact.

Clin Infect Dis 2008, Vol 46: 120-128.

35. 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

36. Klep M., Woffe E., Joves R. et al. Antifungal pharmacodynamic characteristic of fluconazole and amphotericin B tested against *Candida albicans*.

Antimicrobien. Agents Chemother. 1997, 41: 1935-1937.

37. Lass-Florl C.

The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. Mycoses 2009, Vol 52 (3): 197-205.

38. Laverdiere M, Lalonde R G, Baril J G, et al.

Progressive loss of echinocandin activity following prolonged use for treatment of *Candida albicans* oesophagitis.

Antimicrob Chemother. 2006, Vol 57 (4): 705-708.

39. Les Candidoses buccales.

Le Quot. du Méd., Web-FMC. 2001, 153 (page consultée en **Janvier 2016**).

<http://www.searchmedica.fr>

40. Lin M Y, Carmeli Y, Zumsteg J.

Prior antimicrobial therapy and risk for hospital-acquired *Candida glabrata* and *Candida krusei* fungemia: a case-case-control study.

Antimicrob Agents Chemother 2005; Vol 49: 4555-4560.

41. Maertens J.

History of the development of azole derivatives.

Clinical Microbiology and Infection. 2004, 10 (1): 1-10.

42. Magill S, Shields C, Sears C L, et al .

Resistance croisée aux dérives triazoles chez *Candida* sp: Observation, fréquence dans les isolats sanguins et implications pour les traitements antifongiques.

Journal de Mycologie Médicale. 2007, Vol 17: S1 -S10.

43. Mahama O, Drissa S, Mamidou K, Hervé M et al.

Synthesis and anthelmintic activity of some hybrid Benzimidazolyl-chalcone derivatives. Tropical

Journal of Pharmaceutical Research, 2011, 10 (6): 767-775.

44. Malani A, Hmoud J, Chiu L, et al.

Candida glabrata fungemia: experience in a tertiary care center.

Clin Infect Dis 2005, Vol 41:975-981.

45. Maligie M A, Selitrennikoff C P.

Cryptococcus neoformans resistance to echinocandins: (1,3) β -glucan synthase activity is sensitive to echinocandins. Antimicrob Agents Chemother 2005, Vol49: 2851-2856.

46. Mallie M., Jouvert S., Lebecqj. et al.

Valeurs comparées de différentes méthodes d'évaluation de la CMI des antifongiques : sensibilité de *Candida albicans* à l'éconazole.

Bull. Soc. Mycol. Méd. 1983, 7: 155-160

47. MinagiS., Miyake Y., Inagaki K. et al.

Hydrophobic interaction in *Candida albicans*, *Candida tropicalis*: adherence to various denture base resin materiels.

Infect. Immun. 1985, 47:11-1

48 Ministère de la Santé et de l'hygiène publique Cote d'Ivoire.

Manuel de référence du Ministère de la Santé Publique pour la prévention de la transmission mère enfant du VIH(PTME). Abidjan :MSHP ,2005 .

49. Morgan J, Meltzer M I, Plikaytis B D, et al.

Excess mortality, hospital stay and cost due to candidemia: A case control study using data from population-based candidemia surveillance.

Infect Control HospEpidemiol 2005, Vol 26: 540-547.

50. Namrata S, Annamalai P, Kavita R et al.

Benzimidazole: A short review of their antimicrobial activities.

International Current Pharmaceutical Journal. 2012, 11 (5): 119-127.

51. Nowakowska.

A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. European Journal of Medecinal Chemistry, 2006, 42, 125-137.

52. Ouhon J., Enoh J., Adou-Bryn K. et al.

Intérêt thérapeutique du sérotypage de *Candida albicans* isolés des prélèvements vaginaux à Abidjan- Côte d'ivoire.

Médecine. Afrique. Noire, 1996, 43 (10): 517-520.

53. Perlin D S.

Resistance to echinocandins class antifungal drugs.

Drug Res. Updates 2007, Vol10:121-130

54. Pfaller M A.

Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment.

The American journal of medicine. 2012, Vol125 (1): S3-S13.

55. Pfaller M. A. ,Diekema D. J.

Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem.

Clinical microbiology reviews 2007, Vol 20 (1): 133-163.

56. Piens M A, Monbrison F, Picot S.

Etude de la sensibilité des levures aux antifongiques en pratique médicale.

La lettre de l'infectiologie 2003, Vol 18 (6): 222-226.

57. Poulain D., Feuillade de Chauvin M.

Candidoses et levuroses diverses.

In Encyclopédie Médicale Chirurgicale.

Paris: Flammarion, 1995. p. 12

58. RachidZ, Ahmed M, Redouane A, et al.

Activités biologiques de dérivés du benzimidazole.

Rev Roumaine de Chimie. 2009, 54 (8): 643–650.

59. Rahalison L, Hamburger M, Monod M, etal

Antifungal tests in phytochemical investigations comparison of bioautographic methods using phytopatogenic and human pathogenic fungi.

Planta Medica. 1994, 60: 41-44.

60. Rahalison L, Hamburger M, Monod M, et al.

A bioautographic agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants.

Phytochemistry Analysis 1991, 2:199-203.

61. Sabatelli F, Patel R, Mann P A, et al.

In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts.

Antimicrob Agents Chemother. 2006, Vol 50 (6): 2009-2015.

62. Salvat J., Romand P., Vincent-Genod A. et al.

Mycoses vulvo-vaginales récidivantes (MVVR). Centre Hospitalier Thonon 74203. (page consultée en **Janvier2016**)

http://www.gyneweb.fr/sources/congres/aa/ttgyn/ttmyc.html

63. Sanglard D, et al.

Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences.

Lancet Infect Dis 2002, vol 2: 73-85

64. Seguela J. P., Linas M., Bessiere M. et al.

Levures et antifongiques : étude de la résistance de certaines souches vis-à-vis de neuf antifongiques.

Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. 1983, 12: 169-173.

65. Smagill S, Shields C, Sears C.L, 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, Vol 17 (1): 1-10.

66.TchaouO.

Recensement des travaux sur la Valorisation de la pharmacopée traditionnelle africaine à l'université de Cocody Abidjan 1994-1998. 203p.

Th. Pharm.: Abidjan. Université de Cocody, 1999. 321.

67. Vandeputte P.

Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques chez *Candida glabrata*.

Thèse de doctorat Angers 2008, Vol 930 : 17-32

68. Vandeputte P, Laurent P, Gerald L, et al.

Molecular Mechanisms of Resistance to 5-Fluorocytosine in Laboratory Mutants of *Candida glabrata*. Mycopathologia 2011, Vol 171: 11-21.

69. Vandeputte P, Selene F, Alix T C.

Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. International journal of microbiology 2012, Vol 2012: 1-26.

70. Woolley D.

Some biological effects produced by benzimidazole and their reversal by purines.

Journal of Biological Chemistry.1944, 152: 225-232