الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud MAMMERI de Tizi Ouzou

Faculté de Médecine –

Département de Pharmacie

جامعة مولود معمري بتيزي وزو

كلية الطب –

قسم الصيدلة

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES MEDICALES

Thème :

SYNTHESE DE NOUVELLES MOLECULES TRIAZOLEES ET EVALUATION DE LEUR ACTIVITE BIOLOGIQUE

Préparée par :
Dr HADHOUM Nadia
Maitre Assistante en Chimie thérapeutique

Directeur de Thèse : Pr HADJADJ-AOUL Fatima-Zohra
Professeur en Chimie thérapeutique – Faculté de Médecine d'Alger

Co-Directeur de Thèse : Pr HOCINE Smain
Professeur en chimie – Faculté des Sciences de Tizi Ouzou

Soutenue publiquement le30/09/2021 devant le jury composé de ;

Professeur HAMRIOUI Boussad	**Président**	**Faculté de Médecine d'Alger**
Professeur HADJADJ-AOUL Fatima Zohra	**Rapporteur**	**Faculté de Médecine d'Alger**
Professeur HOCINE Smain	**Co-promoteur**	**Faculté des sciences de Tizi Ouzou**
Professeur DELLAOUI Yahia	**Membre**	**Faculté de Médecine d'Oran**
Professeur MAMOU Marzouk	**Membre**	**Faculté de Médecine de Tizi Ouzou**
Professeur MEKACHER Lamine Redouane	**Membre**	**Faculté de Médecine de Tizi Ouzou**

ANNEE 2020-2021

A mes chers parents

A mon époux

A mes enfants

A mes sœurs, frères et ma belle sœur

A ma belle famille

A toute l'équipe de chimie thérapeutique

Remerciements

Au terme de ce travail doctoral, je tiens à exprimer mes reconnaissances et mes sincères remerciements :

A ma directrice de thèse, Madame le Professeur HADJADJ AOUL Fatima Zohra pour la confiance qu'elle m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail doctoral. Je vous remercie pour vos conseils avisés, vos critiques pertinentes. Les nombreuses discussions que nous avons eues ainsi que vos conseils sont pour beaucoup dans le résultat final de ce travail.

A mon co-directeur de thèse, Monsieur le Professeur HOCINE Smain, pour m'avoir accueillie au sein de son équipe de recherche et d'avoir accepté de co-encadrer ce travail doctoral. Je vous remercie pour votre soutien, vos remarques pertinentes et votre encouragement.

Au Professeur HAMRIOUI Boussad : vous nous avez fait honneur d'accepter de présider notre jury, veuillez trouver ici l'expression de notre grand respect et nos vifs remerciements.

Au Professseur DELLAOUI Yahia : vous nous avez fait honneur d'accepter d'examiner notre travail, veuillez accepter notre grande gratitude et nos vifs remerciements.

Au Professeur MAMOU Marzouk : vous nous avez fait honneur d'accepter de juger ce travail, veuillez trouver ici l'expression de notre grand respect et nos vifs remerciements.

Au Professeur MEKACHER Lamine Redouane : vous nous avez fait honneur d'accepter de juger ce travail, veuillez trouver ici l'expression de notre grand respect et nos vifs remerciements.

Je remercie également Madame le Professeur Bouaziz-Terrachet Souhila pour sa contribution dans la partie modélisation, veuillez trouver ici l'expression de notre profond respect.

Je voudrais remercier toute l'équipe de chimie thérapeutique en particulier M^{me} Lalami, M^{me} Berkouk, Dr. Lahmak, Dr. Agguini et Dr. Khellif.

Je remercie particulièrement toute l'équipe du laboratoire de recherche de génie chimique et chimie appliquée de l'UMMTO, en particulier M^{elle} Allam, pour leur soutien régulier.

Je souhaite aussi exprimer ma gratitude à toute l'équipe de parasitologie mycologie du CHU Tizi Ouzou, en particulier Dr. Seklaoui et Dr. Abderrahim et toute l'équipe de microbiologie

du même CHU, en particulier Dr. Boubrit, Dr. Cherifi et Dr. Abdoun pour m'avoir accueillie au sein de leurs laboratoires afin de réaliser l'étude de l'activité biologique.

Je remercie toute l'équipe de toxicologie du CHU Tizi Ouzou en particulier Pr. Mekacher et Dr. Bellazougui pour leur soutien permanent.

Je remercie également l'équipe de chimie analytique de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou en particulier Pr. Mamou et Dr. Boursouti, qui mettent à notre disposition les myens disponibles au niveau de leur laboratoire, je vous remercie pour votre soutien permanent.

Je remercie également toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail, sans oublier de remercier mon époux et mes parents qui étaient toujours à mes cotés et qui m'ont toujours encouragée afin de mener au bout ce travail de recherche.

Sommaire

Liste des abréviations vi
Liste des tableaux x
Liste des figures xii
Liste des annexes xv
Introduction 1
Objectifs 3
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE 4
CHAPITRE I : Généralités sur les mycoses et antifongiques azolés 4
1- Définitions 4
2- Epidémiologie des mycoses 4
3- Classification des mycoses 5
4- Agents responsables des mycoses 6
4-1- Dermatophytes 7
4-2- Levures 10
4-2-1- Genre *Candida* 10
4-2-2- Genre *Cryotococcus* 15
4-2-3- Genre *Trichosporon* 17
4-2-4- Genre *Malassezia* 18
4-2-5- Genre *Geotrichum* 20
4-3- Zygomycètes ou « moisissures » 21
4-3-1- Genre *Aspergillus* 21
4-3-2- Genre *Fusarium* 24
4-4- Dimorphiques 26
5- Facteurs favorisant les mycoses 26
5-1- Facteurs intrinsèques 26
5-2- Facteurs extrinsèques 28
CHAPITRE II : Etude des antifongiques azolés 30
1- Définition d'un traitement antifongique 30
2- Développement de recherche des antifongiques 30
3- Classification des traitements antifongiques 34
4- Cibles biochimiques des antifongiques 36
5- Antifongiques azolés 40

5-1- Structure chimique des principaux représentants 40
5-1-1- Dérivés azolés de première génération : dérivés de l'imidazole 40
5-1-2- Dérivés azolés de deuxième génération : dérivés de l'imidazole 41
5-1-3- Dérivés azolés de troisième génération : dérivés du triazole 41
5-1-4- Nouvelles molécules azolées : dérivés triazoles 42
5-2- Voies d'accès à certaines molécules 42
5-3- Propriétés physicochimiques 44
5-4- Mécanisme d'action 45
5-5- Relation structure-activité 47
5-6- Propriétés pharmacocinétiques 51
5-7- Propriétés pharmacologiques et indications 53
5-8- Effets indésirables et toxicité 54
CHAPITRE III : Modélisation moléculaire 56
1- Généralités sur la modélisation moléculaire 56
2- Docking moléculaire (amarrage) : simulations de docking 57
2-1- Définition 57
2-2- Interactions intermoléculaires (ligand-récepteur) 57
2-2-1- Interactions de Van der Waals 57
2-2-2- Liaisons hydrogènes 58
2-2-3- Liaisons hydrophobes 58
2-2-4- Interactions électrostatiques 58
2-3- Théorie de base du docking 59
2-3-1- Algorithmes du docking 59
2-3-2- Fonctions de score 60
2-4- Approches du docking 61
2-4-1- Docking avec ligand rigide «docking rigid-body » 61
2-4-2- Docking semi-flexible 61
2-4-3- Docking flexible 62
2-5- Etapes de docking moléculaire 63
3- Etude in silico des paramètres pharmacocinétique et toxicité 64
3-1- Principes d'ADME-Toxicité 65
3-1-1- Absorption et biodisponibilité orale 65
3-1-2- Demi-vie du médicament dans le sang 66

3-1-3- Passage à travers la barrière hémato-encéphalique 66
3-1-4- Toxicité 67
PARTIE PRATIQUE A : Synthèse chimique et techniques de caractérisation des molécules obtenues : 70
CHAPITRE I : Matériel et méthodes 70
1- Structure chimique et nomoclature des molécules à synthétiser 71
2- Matériel utilisé 72
3- Méthodes de synthèses chimiques et de caractérisation structurale des molécules à synthétiser 75
3-1- Méthodes de synthèse chimique 75
3-1-1- Procédés de synthèse du benzile 76
3-1-2- Procédés de synthèse des dérivés de la série [3,5-di (4',5'-diphenyl) -1'*H*-imidazol-1-yl)] -1*H*-1,2,4-triazole 79
3-1-2-1- Mode opératoire 79
3-1-2-2- Calcul du rendement de la réaction 80
3-1-2-3- Mécanisme réactionnel 80
3-2- Méthodes de caractérisation structurale des molécules à synthétiser 82
3-2-1- Caractères organoleptiques et solubilité 82
3-2-2- Identification par réactions colorimétriques des molécules M1-M13 83
3-2-3- Analyse par microscope électronique à balayage 84
3-2-4- Détermination de la température de fusion 84
3-2-5- Caractérisation chromatographique des produits synthétisés : chromatographie sur couche mince CCM) 85
3-2-6- Identification spectrale des produits à synthétiser.. 86
3-2-6-1. Spectroscopie d'absorption dans l'UV-visible 86
3-2-6-2. Spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge 87
3-2-6-3. Caractérisation des produits à synthétiser par Résonnance Magnétique Nucléaire 87
3-2-7- Caractérisation des produits à synthétiser par diffraction de rayons X 88
CHAPITRE II : Résultats et discussion 90
1- Résultats de la synthèse et de la caractérisation structurale de la benzoïne et du benzile 90
1-1- Rendements des réactions de synthèse 90
1-2- Résultats de la caractérisation structurale et identification de la benzoïne et du benzile synthétisés 91
1-2-1- Aspect et odeur 91

1-2-2- Test de solubilité 91
1-2-3- Température de fusion 91
1-2-4- Caractérisation chromatographique (CCM) de la benzoïne et du benzile 92
1-2-5- Caractérisation spectrale de la benzoïne et du benzile synthétisés 93
2- Résultats de la synthèse et de la caractérisation structurale des dérivés de la série [3, 5-di (4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole (M1-M13) 95
2-1- Rendement de la réaction de synthèse 95
2-2- Caractérisation structurale et identification des molécules M1-M13 96
2-2-1- Caractères organoleptiques et solubilité 96
2-2-2- Caractérisation par des réactions colorimétriques 97
2-2-3- Analyse par microscope électronique à balayage 97
2-2-4- Température de fusion 98
2-2-5- Caractérisation chromatographique (CCM) des molécules synthétisées 98
2-2-6- Identification spectrale des molécules synthétisées « M1-M13 » 99
2-2-6-1- Identification par spectroscopie d'absorption dans l'UV-visible 99
2-2-6-2- Analyse par spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge 100
2-2-6-3- Caractérisation des produits synthétisés par Résonnance Magnétique Nucléaire 103
2-2-7- Caractérisation des produits synthétisés par diffraction de rayons X 115
3- Discussion 116
PARTIE PRATIQUE B : Etude de l'activité antimicrobienne des molécules M1-M13 121
CHAPITRE I : Matériel et méthodes 121
1- Matériel, réactifs utilisés, et les souches microbiennes testées 121
2- Méthodes utilisées 123
2-1- Activation des souches bactériennes ATCC 123
2-2- Mise en culture et identification des souches fongiques utilisées 123
2-2-1- Identification des souches fongiques testées 123
2-2-1-1- Test de Blastèse ou de filamentation 124
2-2-1-2- Identification du *Cryptococcus neoformans* 124
2-3- Test de sensibilité in vitro par la méthode de diffusion des disques 125
2-4- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) 128
2-5- Détermination de la concentration minimale bactéricide et de la concentration minimale fongicide 130
CHAPITRE II : Résultats et discussion 133

1- Résultats 132
1-1- Activation des souches bactériennes ATCC et antibiogrammes 132
1-2- Mise en culture et identification des souches fongiques utilisées 133
1-2-1- Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des souches fongiques 133
1-2-2- Test de Blastèse ou de filamentation 137
1-2-3- Identification du *Cryptococcus neoformans* par galerie biochimique 137
1-3- Etude de l'activité antimicrobienne des molécules M1-M13 in vitro 138
1-4- Détermination des CMI, CMB et CMF 143
2- Discussion 146
PARTIE PRATIQUE C : Etude in silico admet et docking moleculaire 150
CHAPITRE I : Materiel et méthodes 150
1- Docking moléculaire 150
1-1- Choix de la cible 150
1-2- Préparation du ligand 151
1-3- Choix du logiciel de docking 152
1-4- Processus du docking moléculaire 152
1-5- Validation du protocole de docking 153
2- Etude in silico ADMET : absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité 154
CHAPITRE II : Résultats et discussion 155
1- Résultats 155
1-1- Docking moléculaire 155
1-2- In silico ADMET 159
2- Discussion 161
2-1- Docking moléculaire 161
2-2- Etude in silico ADMET 163
Références bibliographiques 167
Conclusion et perspectives 188

Liste des abréviations

µL : Microlitre

µm : Micromètre

A : Absorbance

AAE : Alvéolite Allergique Extrinsèque

ABC : ATP-Binding Cassette proteine membranaire (transporteurs à cassettes liant l'ATP)

ABPA : Aspergillose Broncho-Pulmonaire Allergique

ADMET : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Toxicité

Ag : Antigènes

AK : Amikacine

Ala : Alanine

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

AMX : Amoxicilline

APC : Aspergilloses Pulmonaires Chroniques

ATB : Antibiotique

ATCC : American Type Culture Collection

B_0 : champ magnétique imposé

BBB : Blood-Brain Barrier (Barrière hémato-encéphalique)

C : Chloramphénicol

C : Concentration

CAN : Ceric Ammonium Nitrate

CAZ : Ceftazidime

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CD : Clindamycine

cg : Centigramme

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CIP : Ciprofloxacine

CL : Colistine

CMCC : Candidose mucocutanée chronique

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CN : Céfalexine

CX: Céfoxitine

CYP1A2: Cytochrome P450 1A2

CYP2C19: Cytochrome P450 2C19

CYP2C9: Cytochrome P450 2C9

CYP2D6: Cytochrome P450 2D6

CYP3A4: Cytochrome P450 3A4

CYP450: Cytochrome P450

Cys : Cystéine

CZ: Céfazoline

d : distance inter réticulaire

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DO: Doxycycline

E: Erythromycine

EMA: European Medicines Agency

FC : acide fucidique

FDA : Food and Drug Administration (Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux)

g : grammes

GEN : Gentamicine

Gln : Glutamine

Gly: Glycine

hERG: inhibition Human of Ether-a-go-go-Related Gene

HIA: Human Intestinal Absorption (Absorption Intestinal Humaine)

His: Histidine

I: Intensité lumineuse

IFI: Infections Fongiques Invasives

IgE: Immunoglobulines E

IgG: Immunoglobulines G

Ile : Isoleucine

IR : Infra Rouge

K : kanamycine

Kcal : kilocalorie

L : litre

l : Longueur de la cuve

LCR : Liquide céphalo-rachidien

LE : Lévofloxacine

Leu : Leucine

Log : Logarithme

MEB : Microscope Electronique à Balayage

MF : Mac Farland

mg : milligrammes

MH : Mueller-Hinton (gélose)

MHz : Megahertz

ml : millilitre

mm : millimètres

NA : Acide nalidixique

NIT : Nitrofutantoine

nm : nanomètre

OENA : Otites Externes Nécrosantes Aspergillaires

PDB: Protein Data Bank

Phe: Phénylalanine

PI : Pipéracilline

ppm: partie par million

PR : Pristinamycine

Pro: Proline

QSAR : Quantitative structure-activity relationship (Etudes Quantitatives de Relation Structure-Activité)

rf : radiofréquences

Rf : Rapport Frontal

RIF : Rifampicine

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

Ser : Sérine

SFA : Sinusite Fongique Allergique

Sin : Sinus

SXT : Triméthoprime/sulfaméthoxazole

T : Transmittance

TCC : Ticarcilline/Acide clavulanique

TE : Tétracycline

TEI : Teicoplanine

Thr : Thréonine

TI : Ticarcilline

TMS : Tétra-Méthyl-Silane

TOB : Tobramycine

Tyr : Tyrosine

UFC : unité formant colonie

UV : Ultra Violet

VA : Vancomycine

VDW : Van Der Waals

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

XRD : X-ray diffraction

γ : rapport gyromagnétique

δ : déplacement chimique

ε : Coefficient d'absorption molaire

θ : angle d'incidence des rayons X

λ : longueur d'onde

μL : Microlitre

ν_0 : fréquence de résonance

σ_R : constante d'écran des protons

Liste des tableaux

Tableau I: Principales espèces de *Candida* responsables des mycoses 11
Tableau II: Nomenclature des molécules M1-M13. 71
Tableau III: Appareils utilisés pour la synthèse et la caractérisation structurale des différentes molécules. 72
Tableau IV: Réactifs utilisés pour la synthèse chimique et la caractérisation structurale des différentes molécules. 73
Tableau V: Verrerie et autres matériels utilisés pour la synthèse et la caractérisation structurale des molécules synthétisées 74
Tableau VI: Cinétique de la réaction de synthèse des molécules M1-M13. 80
Tableau VII: Classification des solubilités des produits selon la pharmacopée européen 2008. 83
Tableau VIII: Rapports frontaux calculés pour la benzoïne et le benzile. 92
Tableau IX: Bandes de vibrations dans l'infrarouge de la benzoïne et du benzile. 93
Tableau X: Attribution des signaux ^{1}H RMN du benzile. 94
Tableau XI: Attribution des signaux ^{13}C RMN de la benzoïne et du benzile. 95
Tableau XII: Rendement des réactions de synthèse de la série [3,5-di (4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole 95
Tableau XIII: Températures de fusion des molécules synthétisées M1-M13. 98
Tableau XIV: Rapports frontaux des molécules synthétisées. 98
Tableau XV: Transitions électroniques des molécules M1-M13. 99
Tableau XVI: Principales bandes de vibrations théoriques 100
Tableau XVII: Bandes des vibrations dans l'infrarouge pour les molécules M1- M7. 101
Tableau XVIII: Bandes des vibrations dans l'infrarouge pour les molécules M8 - M13. 102
Tableau XIX: Déplacements chimiques des protons de M1-M13. 104
Tableau XX: Déplacements chimiques des carbones de M1. 106
Tableau XXI: Déplacements chimiques des carbones de M2. 107
Tableau XXII: Déplacements chimiques des carbones de M3. 107
Tableau XXIII: Déplacements chimiques des carbones de M4. 108
Tableau XXIV: Déplacements chimiques des carbones de M5. 109
Tableau XXV: Déplacements chimiques des carbones de M6. 109
Tableau XXVI: Déplacements chimiques des carbones de M7. 110
Tableau XXVII: Déplacements chimiques des carbones de M8. 111
Tableau XXVIII: Déplacements chimiques des carbones de M9. 111
Tableau XXIX: Déplacements chimiques des carbones de M10. 112
Tableau XXX: Déplacements chimiques des carbones de M11. 113
Tableau XXXI: Déplacements chimiques des carbones de M12. 113
Tableau XXXII: Déplacements chimiques des carbones de M13. 114
Tableau XXXIII: Caractéristiques de la maille des molécules synthétisées M1-M7. 115
Tableau XXXIV: Caractéristiques de la maille des molécules synthétisées M8-M13. 115
Tableau XXXV: Matériel et appareillages utilisés pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne. 121
Tableau XXXVI: Réactifs et matières premières utilisés pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne. 122

Tableau XXXVII: Souches des micro-organismes testés. 122
Tableau XXXVIII: Préparation des différentes dilutions pour CMI..... 129
Tableau XXXIX: Résultats de l'antibiogramme effectué pour *E.coli* (ATCC 25922). 132
Tableau XL: Résultats de l'antibiogramme effectué pour *S. aureus* (ATCC 25923). 132
Tableau XLI: Résultats de l'antibiogramme effectué pour *P. aeruginosa* (ATCC 25923). 132
Tableau XLII: Diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les molécules M1-M13. 142
Tableau XLIII: Valeurs CMI et CMF des molécules synthétisées vis-à-vis des souches fongiques testées. 146
Tableau XLIV: Energie totale, liaisons hydrogènes, liaisons de Van der Waals et interactions électrostatiques des molécules étudiées avec la CYP51. 156
Tableau XLV: Résultats de la prédiction des liaisons hydrogènes et les différentes interactions entre les molécules étudiées et la CYP51. 156
Tableau XLVI: Résultats de la prédiction des propriétés ADMET des molécules M1-M13 par admetSAR web server 159

Liste des figures

Figure 1: Aspect microscopique du genre *Epidermophyton* 7
Figure 2: Aspect microscopique du genre *Microsporum* 8
Figure 3: Aspect microscopique du genre *Trichophyton* 8
Figure 4: Morphologie de *Candida albicans* 11
Figure 5: *Cryptococcus* : deux levures capsulées dans un liquide Céphalorachidien 15
Figure 6: Culture de *Trichosporon spp.* (milieu de Sabouraud) 17
Figure 7: Levures *Malassezia* cultivées dans le milieu de Dixon. A : *M. globosa*, B : *M. restricta*, C : *M. furfur* 19
Figure 8: Culture de *Geotrichum spp.* (milieu de Sabouraud) 20
Figure 9: Aspect microscopique du genre *Aspergillus* 22
Figure 10: Genre *Fusarium*, monophialides solitaires 25
Figure 11: Développement de recherche des antifongiques 34
Figure 12: Structure de la membrane et de la paroi des cellules fongiques et cibles des antifongiques systémiques 37
Figure 13: Structure chimique de l'ergostérol et du cholestérol 38
Figure 14: Biosynthèse de l'ergostérol par les cellules fongiques à partir du squalène 39
Figure 15: Structure des parois cellulaires de certaines espèces fongiques pathogènes. 40
Figure 16: Structure chimique des azolés de 1ère génération 40
Figure 17: Structure chimique des azolés de deuxième génération 41
Figure 18: Structure chimique des azolés de 3ème génération 41
Figure 19: Structure chimique des nouvelles molécules azolées 42
Figure 20: Synthèse chimique du miconazole 42
Figure 21: Synthèse chimique du kétconazole 43
Figure 22: Synthèse du fluconazole 44
Figure 23: Biosynthèse de l'ergostérol et mécanisme d'action des azolés 45
Figure 24: Réaction d'hydroxylation cytochrome P-450 dépendante selon H. VANDEN BOSSCHE 46
Figure 25: Pharmacophore actif d'un antifongique azolé 47
Figure 26: Pharmacophore issu de l'étude réalisée par Sheng et al 49
Figure 27: Types de liaisons et distances intermoléculaires au niveau du site actif 50
Figure 28: Modifications structurales du miconazole jusqu'à voriconazole et itraconazole et effet sur les propriétés pharmacologiques pharmacocinétiques et toxicité 50
Figure 29: Modifications structurales jusqu'à posaconazole et effet sur les propriétés pharmacologiques pharmacocinétiques et toxicité. 51
Figure 30: Interactions de Van der Waals. 57
Figure 31: Liaisons hydrogènes 58
Figure 32: Interactions hydrophobes 58
Figure 33: Interactions électrostatiques 59
Figure 34: Principe général d'un programme de docking. 59
Figure 35: Changement de conformation d'un ligand au contact d'un récepteur avec minimisation de l'énergie 63

Figure 36: Formule développée de la série « [3,5-di(4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole » à synthétiser. 71
Figure 37: Réaction générale pour la synthèse de la série [3,5-di(4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole..... 75
Figure 38: Réaction globale de synthèse de la benzoïne..... 75
Figure 39: Oxydation de la benzoïne en benzile..... 75
Figure 40: Mécanisme réactionnel de synthèse de la benzoïne (selon le procédé ZININ)..... 76
Figure 41: Mécanisme réactionnel d'oxydation de la benzoïne en benzile. 79
Figure 42: Mécanisme réactionnel de la synthèse de la série [3,5-di (4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole..... 82
Figure 43: Plaques CCM à développer (benzoïne et benzile, M1-M13) observées sous la lampe UV à 254 nm. 86
Figure 44: Aspect de la benzoine et du benzile synthétisés. 91
Figure 45: Plaque CCM sous la lampe UV (254nm) après migration de la benzoïne et du benzile. 92
Figure 46: Formule développée de la benzoïne et du benzile. 94
Figure 47: Aspect des molécules M1-M13 synthétisées. 96
Figure 48: Réaction de Dragendorff. 97
Figure 49: Réaction de Bouchardât. 97
Figure 50: Plaque CCM sous la lampe UV (254 nm) après migration. 99
Figure 51: Formule développée de M1. 106
Figure 52: Formule développée de M2 106
Figure 53: Formule développée de M3. 107
Figure 54: Formule développée de M4. 108
Figure 55: Formule développée de M5. 108
Figure 56: Formule développée de M6. 109
Figure 57: Formule développée de M7. 110
Figure 58: Formule développée de M8. 110
Figure 59: Formule développée de M9. 111
Figure 60: Formule développée de M10. 112
Figure 61: Formule développée de M11. 112
Figure 62: Formule chimique développée de M12. 113
Figure 63: Formule développée de M13. 114
Figure 64: Formes de résonnance entre le cycle et la fonction cétone du benzile. 116
Figure 65: Liaisons hydrogènes intermoléculaires possible avec M10. 119
Figure 66: Souches bactériennes ATCC utilisées dans notre étude. 132
Figure 67: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques du *Candida albicans*. 133
Figure 68: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques du *Trichosporon sp.* 134
Figure 69: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques du *Cryptococcus neoformans*. 134
Figure 70: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques du *Microsporum gypseum*.135
Figure 71: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques de *Microsporum canis*..... 135
Figure 72: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques d'*Aspergillus niger*..... 136
Figure 73: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques d'*Aspergillus flavus*..... 137

Figure 74: Test de filamentation : *Candida albicans*. 137
Figure 75: *Cryptococcus neoformans* sur API *Candida*. 138
Figure 76: Test de sensibilité in vitro de *S. aureus*. 139
Figure 77: Test de sensibilité in vitro de *P. aeruginosa*. 139
Figure 78: Test de sensibilité in vitro d'*E. coli*. 139
Figure 79: Test de sensibilité in vitro de *Candida albicans*. 140
Figure 80: Test de sensibilité in vitro de *Cryptococcus neoformans*. 140
Figure 81: Test de sensibilité in vitro de *Trichosporon sp.* 141
Figure 82: Test de sensibilité in vitro de *Microsprum gypseum*. 141
Figure 83: Test de sensibilité in vitro de *Microsporum canis*. 141
Figure 84: Test de sensibilité in vitro d'*Aspergillus niger*. 142
Figure 85: Test de sensibilité in vitro d'*Aspergillus flavus*. 142
Figure 86: Structure de la CYP51 « PDB : 5V5Z » complexée avec le dérivé azolé 1YN .. 150
Figure 87: Structure chimique du derivé azolé co-cristallisé avec CYP51«1YN» 151
Figure 88: Structure 3D des molécules M12, voriconazole et fluconazole dessinés à l'aide du Chem3D. 152
Figure 89: Préparation du docking. 153
Figure 90: Superposition de la conformation expérimentale de « 1YN » et de la structure co-cristallisée avec la cible. 155
Figure 91: Mode de liaison des trois composés étudiés M12 (violet), fluconazole (rouge) et voriconazole (jaune). 158
Figure 92 (a) et (b) : Liaisons hydrogènes entre les résidus du site actif du CYP51 et le composé M12. 159
Figure 93: Résumé graphique de la M12 : 3,5-Di-[2'((2"-hydroxy-5"-nitro)-phenyl)-4',5'-di-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl]-1*H*-1,2,4-triazole. 190

Liste des annexes

ANNEXE I: Principe des techniques utilisées pour l'identification et la caractérisation des molécules synthétisées I
ANNEXE II: Résultats UV-visible V
ANNEXE III: Résultats IR XIII
ANNEXE IV: Table d'interprétation IR XXII
ANNEXE V: Résultats RMN XXIII
ANNEXE VI: Tables d'interprétation ^{1}H RMN et ^{13}C RMN XXXIX
ANNEXE VII: Résultats MEB XLV
ANNEXE VIII: Résultats DRX LII
ANNEXE IX: Table d'interprétation API *Candida* LIX
ANNEXE X: Résultats CMI/CMF LX
ANNEXE XI: Interactions medicamenteuses (Cytochromes P450 et Glycoprotéine P) et les models ADMET SAR utilisés pour la prédiction in silico ADMET LXXVI

Introduction

Depuis plusieurs décennies, la fréquence des infections fongiques s'est considérablement accrue en raison des progrès des thérapeutiques médicales et chirurgicales comme l'utilisation de cathéters vasculaires, la mise en place de prothèses et l'administration d'antibiotiques à large spectre, déséquilibrant la flore et conduisant à des situations de fragilité immunologique, ainsi qu'à une exposition majorée aux agents opportunistes. Elles représentent 5 à 10 % des pathologies infectieuses dans les pays développés et constituent une des causes de morbidité chez les patients immunodéprimés [1].

En Algérie, 1.41 % d'algériens ont une infection fongique grave chaque année, les problèmes majeurs qui menacent la vie des individus sont les mycoses profondes comme l'aspergillose invasive, dont l'incidence chez le patient neutropénique dans le nord du pays est de 7.7 % ; et les candidémies qui représentent une cause majeure de morbidité et de mortalité [2].

L'arsenal thérapeutique actuellement disponible pour combattre ces infections fongiques se compose de traitements médicamenteux lourds et non exempts d'effets secondaires. Nous distinguons des molécules naturelles représentées principalement par la griséofulvine, la nystatine et l'amphotéricine B, et des molécules obtenues par synthèse chimique principalement les azolés [3].

La découverte de l'activité antifongique des azolés a constitué une avancée considérable dans la thérapeutique des infections fongiques superficielles et systémiques. Les azolés de première génération sont des imidazolés dont le miconazole est le représentant le plus intéressant actuellement. Il est utilisé dans le traitement des infections cutanéo-muqueuses à levures ou à dermatophytes. Le kétoconazole, un autre imidazolé, représente le principal composé de deuxième génération, c'est le premier azolé bien absorbé par voie orale, mais son hépatotoxicité et ses interactions avec de nombreuses molécules limitent ses conditions d'utilisation. Enfin, les azolés de troisième génération correspondent aux dérivés triazolés (fluconazole, et itraconazole, voriconazole, posaconazole…). Leurs propriétés pharmacologiques et leur tolérance généralement satisfaisantes permettent de les utiliser dans les infections fongiques systémiques [4].

Malgré l'apparition de nouvelles molécules antimycosiques, la morbidité liée aux infections fongiques reste élevée, associée au problème d'émergence de résistance aux antifongiques,

stimule la recherche de nouvelles molécules, soit dans des classes déjà connues, essentiellement les triazoles, pour améliorer la tolérance ou le profil pharmacodynamique, soit vers de nouvelles classes d'antifongiques. Dans ce contexte, s'articule notre travail qui consiste en la synthèse de nouvelles molécules azolées (renferment l'hétérocycle 1,2,4-triazole et l'imidazole) et évaluation de leur activité biologique. Sachant que la synthèse chimique totale représente l'unique voie d'accès aux dérivés azolés, alors que la chimie présente un risque majeur pour l'environnement, donc la question principale qui se pose est : comment accéder à de nouvelles molécules azolées ayant une activité biologique et avec le moindre risque pour l'environnement ?

Dans notre étude, nous avons adopté une réaction multicomposants qui permet d'assembler, en une seule étape (one-pot), les différents réactifs qui vont participer à la composition du produit final. Cette réaction est un procédé très efficace qui réunit la rapidité, la diversité et la complexité structurale. Le manuscrit est divisé en deux parties, la première partie reporte un aperçu bibliographique sur les différentes infections fongiques et agents responsables ainsi qu'une classification des traitements disponibles et une étude détaillée des dérivés azolés. Dans la deuxième partie, nous allons reporter notre travail expérimental qui consiste en la synthèse d'une série [3,5-di(4',5'-diphenyl)-1*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole, une évaluation de l'activité biologique, une étude in silico des paramètres pharmacocinétiques et la toxicité ainsi que le mécanisme d'action par modélisation moléculaire.

Objectifs

Les noyaux hétérocycliques, éléments structuraux rencontrés dans de nombreux produits naturels et substances pharmaceutiques, présentent un intérêt considérable en chimie organique et thérapeutique par leurs multiples applications possibles en biologie et en médecine. Parmi ces noyaux, nous citons les structures hétérocycliques pentagonales azotées qui sont présentes dans de nombreuses molécules et possèdent des activités biologiques variées (antibactériennes, antifongiques, etc).

Le principal objectif de notre travail consiste en la synthèse d'une nouvelle série de produits renfermant des hétérocycles azotés tels que le 1,2,4-triazole et ayant une activité biologique.

Pour atteindre cet objectif, plusieurs objectifs spécifiques devraient être atteints :

- Proposer la structure des nouvelles molécules à synthétiser, et pour ce faire, nous avons procédé à une analyse bibliographique des différentes molécules azolées ayant une activité biologique. Une étude détaillée des structures chimiques développées de ces différentes molécules nous a permis de proposer la synthèse de la série [3,5-di(4',5'-diphényl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole ;
- Synthétiser les différentes molécules selon une réaction multicomposants faisant intervenir plusieurs réactifs en une seule étape, avec une catalyse chimique respectant ainsi les principes de la chimie verte ;
- Purification des produits synthétisés ;
- Identification et caractérisation des molécules synthétisées (réactions colorimétriques, méthodes spectroscopiques, …) ;
- Evaluation de l'activité antifongique et antibactérienne ;
- Etude in silico des paramètres pharmacocinétiques et toxicité ;
- Explication du mécanisme d'action et du mode d'intéraction avec la cible biologique des molécules actives par modélisation moléculaire.

Partie bibliographique

CHAPITRE I : Généralités sur les mycoses et antifongiques azolés

1- Définitions

Les champignons microscopiques constituent un règne particulier « Regnum fungorum », ce sont des eucaryotes (organismes possédant un noyau entouré d'une membrane nucléaire) qui sont dépourvus de pigments assimilateurs. Ils ne se nourrissent que par absorption de substances organiques et doivent, selon les circonstances, vivre soit en parasites soit en saprophytes. Ils se développent grace à un système de filaments ramifiés et se reproduisent par l'intermédiaire de spores sexuées ou asexuées. Le corps d'un champignon est formé de cellules isolées (levures) ou de filaments mycéliens [5].

Les infections fongiques peuvent être superficielles intéressant l'épiderme et les muqueuses, comme elles peuvent être profondes ou systémiques [6], Parmi les 5100 espèces de champignons recensées, seules 150 espèces sont habituellement incriminées en pathologie humaine. Parmi elles, environ 50 % sont responsables de lésions superficielles de la peau et des phanères, 25 % de lésions sous cutanées et 25 % de lésions profondes viscérales ou généralisées [5].

2- Epidémiologie des mycoses

Les champignons sont responsables d'infections allant des formes localisées jusqu'aux formes invasives, ainsi que des atteintes immuno-allergiques. Les infections fongiques invasives (IFI) sont les plus redoutables et leur nombre a considérablement augmenté ces dernières années, du fait de l'amélioration des techniques diagnostiques et de l'apparition de nouveaux facteurs de risque. Les patients atteints d'hémopathie sont les plus exposés au risque, au cours des périodes de neutropénie, d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques et lors de l'utilisation des nouvelles biothérapies. La mortalité reste élevée dans certaines circonstances et peut atteindre 90 % en cas d'infections fongiques invasives chez les receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques [7].

Les infections fongiques représentent actuellement 5 à 10 % des pathologies infectieuses dans les pays développés [1]. Les infections fongiques invasives concernent 3 à 5 % des patients, leur épidémiologie change au cours du temps et d'un pays à un autre. Aux Etats-Unis, les infections fongiques invasives surviennent chez 3,8 % des patients qui ont reçu une greffe de rein. Les principaux pathogènes américains sont *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* et les autres filamenteux. En France, l'épidémiologie est différente, les pneumocystoses semblent beaucoup plus fréquentes et les champignons endémiques (histoplasmose et coccidioidomycose) très rares [8].

En Algérie, il y a assez de données sur les mycoses superficielles, notamment les onychomycoses et les teignes, qui sont assez fréquentes et représentent un problème de santé publique malgré l'amélioration des conditions de vie. Par ailleurs, nous disposons de peu de données sur les infections fongiques filamenteuses invasives. Selon les études publiées, la prévalence des teignes est variable d'une région à l'autre [2]:

-Alger 24,6 % ; étude rétrospective menée sur 6 ans (2009-2014), au niveau du laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU Mustapha d'Alger, elle a porté sur 1836 prélèvements du cuir chevelu [9];
-Tipaza 62,4 % ; étude rétrospective portant sur les cas diagnostiqués (213 prélèvements de cheveux) à l'hôpital de Hadjout (Tipasa), Algérie, durant 3 années (janvier 2010-janvier 2013) [10];
-Blida 66,4 % ; étude descriptive rétrospective basée sur les données des registres du laboratoire de parasitologie-mycologie de l'hôpital universitaire de Blida pour la période allant d'août 1999 à août 2014, et incluant 4140 patients [11];
-Constantine 37,2 % ; l'étude comprend cinq mille six cent deux prélèvements de cuir chevelu réalisés au laboratoire de parasitologie et de mycologie du CHU de Constantine durant la période allant de janvier 1997 à décembre 2011, cette dernière étude réalisée à Constantine a révélé aussi que ces teignes se produisent chez les enfants (95 % des cas) [12].

En ce qui concerne les mycoses profondes, l'incidence de l'aspergillose invasive chez le patient neutropénique dans le nord du pays est de 7,7 % [2]. L'incidence de cryptococose, selon une étude réalisée entre janvier 2002 et mars 2015 au laboratoire de parasitologie mycologie du CHU Mustapha d'Alger, était de 5,6 % ; dont 75 % des cas étaient séropositifs au virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et 25 % des cas n'étaient pas liés au VIH [13]. La candidémie représente une cause majeure de morbidité et de mortalité souvent associée à l'implantation de cathéters vasculaires, en particulier chez les patients immunodéprimés. D'après une étude réalisée au CHU de Tlemcen, la colonisation de levures de cathéters vasculaires était de 19 %, dont 60 % étaient *Candida parapsilosis*, 20 % *Candida albicans* ; 14,3 % *Candida glabrata* et 5,7 % *Candida famata*. À Oran, la colonisation des cathéters a révélé une *Candida parapsilosis* dans 64 % des cas, suivis par *Candida albicans* 12 % et 8 % pour *Candida glabrata* et *Candida krusei* [2].

3- Classification des mycoses

Les mycoses suivent plusieurs modes de classification. Elles peuvent être classées suivant la

partie du corps envahie (dermato mycose et onymycose), le syndrome provoqué (pieds d'athlète) ou le champignon infectieux (aspergillose, candidose).

En fonction de l'affinité de l'agent causal pour un tissu de l'organisme, les mycoses peuvent être réparties en trois grands groupes :

- **Mycoses superficielles** : elles touchent la peau, les phanères (ongles, cheveux et poils) et les muqueuses, en particulier au niveau digestif et génital. Elles sont très contagieuses, gênantes et inesthétiques et peuvent être aussi un foyer secondaire d'une pathologie mycosique déjà présente mais localisée ailleurs dans l'organisme comme la malasseziose, causée par une levure lipophile, saprophyte de la peau *Malassezia fufur* et les dermatophytoses [14] ;
- **Mycoses sous-cutanées** : ce sont des infections dues à des champignons saprophytes ubiquitaires qui affectent la peau et le tissu sous-cutané. Leur inoculation se fait souvent par implantation traumatique et leur évolution peut être subaiguë ou chronique. La maladie fongique reste localisée au niveau de la région inoculée avec extension périphérique lente. L'extension lymphatique ou hématologique est rare. Ces infections sont plus fréquentes dans les régions rurales et dans les pays en voie de développement. Leur incidence et leur prévalence varient selon les conditions environnementales et géographiques [15] ;
- **Mycoses profondes ou systémiques** : elles forment un groupe hétérogène d'infections invasives et sévères associées à une mortalité élevée. Ces infections fongiques peuvent être responsables d'atteinte cutanée ou sous-cutanée par deux mécanismes, une dissémination hématogène à l'occasion d'une infection fongique invasive ou une infection primitive cutanée suite à une inoculation directe du champignon, souvent à l'occasion d'une plaie végétale ou d'une souillure tellurique. Les mycoses systémiques concernent essentiellement les patients adultes avec des exceptions comme la basidiobolomycose qui atteint surtout les enfants ou les adolescents. Les champignons dimorphiques infectent surtout les adultes, les infections à champignons opportunistes concernent tous les âges de la vie [16].

4- Agents responsables des mycoses

Nous distinguons trois grands groupes de micro-organismes qui sont responsables des mycoses : les dermatophytes, les levures et les moisissures non dermatophytiques. Cette

distinction est importante du point de vue épidémiologique et thérapeutique, car les antimycosiques ne sont pas tous également actifs contre les trois groupes de champignons précités.

4-1- Dermatophytes

4-1-1- Description

Les dermatophytes représentent un groupe de champignons pathogènes, ce sont des champignons microscopiques filamenteux et kératinophiles. Ils ont une affinité importante pour la kératine de l'épiderme et des phanères (ongles, poils et cheveux). Ils entrainent différentes lésions superficielles : dermatophytoses, dermatophyties, épidermomycoses, épidermophytoses, épidermophyties quand elles siègent sur la peau ; teignes quand elles touchent le cuir chevelu ou encore onychomycoses quand elles affectent les ongles [17]. Les dermatophytes appartiennent à trois genres : *Trichophyton*, *Microsporum* et *Epidermophyton*.

4-1-1-1- *Epidermophyton* (E)

Epidermophyton floccosum représente la seule espèce pathogène pour l'homme et parasite l'épiderme. Nous observons des macroconidies sous forme de massue à paroi et cloison mince et il n'y a pas de microconidies (Figure 1) [18].

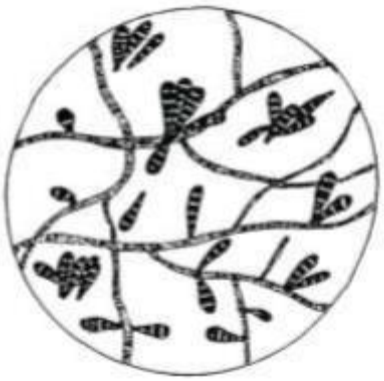


Figure 1: Aspect microscopique du genre *Epidermophyton* [18]

4-1-1-2- *Microsporum* (M)

Ce genre regroupe plusieurs espèces dont *Microsporum canis* qui peut affecter l'épiderme, les poils et rarement les ongles. Les macroconidies de grande taille sont sous forme de fuseau à paroi épaisse et à surface echinulée (avec de petites épines) et les microconidies sont le plus souvent piriformes et parfois rondes (Figure 2) [18].

Figure 2: Aspect microscopique du genre *Microsporum* [18]

4-1-1-3- *Trichophyton* (T)

Les *Trichophyton* ont une affinité pour les structures riches en kératine avec une préférence pour les ongles et les espaces inter-orteils. Plusieurs espèces appartiennent à ce genre, nous citons *Trichophyton rubrum*. Les macroconidies sont sous forme de saucisse, à paroi mince et lisse alors que les microconidies sont rondes ou piriformes selon les espèces (Figure 3) [18].

Figure 3: Aspect microscopique du genre *Trichophyton* [18]

4-1-2- Manifestations cliniques : Dermatophytoses

Les principales manifestations des dermatophytes sont :

- Epidermophyties : atteintes de la peau, arrondies sous forme d'anneau ;
- Teignes : atteintes du cuir chevelu avec chute des cheveux ;
- Onychomycoses ou onyxis : atteintes unguéales ;
- Dermatophytides ou trichophytides : représentant des manifestations allergiques.

4-1-2-1- Dermatophyties de la peau glabre

L'une des plus répandues est l'épidermatophytie circinée anciennement appelée « herpès

circiné » qui se manifeste par des plaques érythémato-squameuses à évolution centrifuge avec prurit modéré. C'est une affection qui peut survenir à tout âge ; et peut se situer à n'importe quel point du corps (plis et zones pileuses exclus). Les agents les plus souvent responsables sont *Microsporum canis* et *Trichophyton rubrum* [19].

4-1-2-2- Dermatophyties des grands plis (intertrigos)

Dans les grands plis (inguino-cruraux, axillaires, interfessier, sous-mammaires, ...), c'est souvent l'eczéma marginé de Hébra, elle est moins fréquente chez l'enfant que chez l'adulte. Les agents responsables sont *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton interdi*gitale, elles se manifestent par des lésions érythémato-squameuses [20].

4-1-2-3- Dermatophyties des petits plis : pieds et mains

Les agents le plus souvent impliqués sont *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton interdigitale*, tandis que la présence d'*Epidermophyton floccosum* est plus rare. L'atteinte des espaces interorteils, fréquente chez l'adolescent sportif et rencontrée rarement chez le jeune enfant. Les mains sont moins atteintes que les pieds. La contamination est interhumaine, par contact des pieds nus avec les sols de salle de bains, piscine, salle de sports, ... Les contaminations « familiales » sont fréquentes par les serviettes de toilette, tapis de bains, douche, ... Le développement des lésions est favorisé par la chaleur, la transpiration et la macération [19].

4-1-2-4- Dermatophyties du cuir chevelu (teignes)

Les teignes du cuir chevelu touchent les enfants d'âge scolaire. La teigne est une infection due aux dermatophytes du genre *Microsporum* et *Trichophyton* [21]. Différents types sont distingués :

- Teignes tondantes à grandes plaques ou petites plaques, les premières sont provoquées par divers *Microsporum* (*M. canis*, *M. langeronii*, *M. gypseum*, *M. audouinii*, *M. ferruginosa* ...) et se transmettent entre enfants ou d'un animal (Chien et surtout Chat) à l'enfant ; les secondes, de transmission uniquement inter-infantile, sont dues à des *Trichophyton* (*T. violaceum*, *T. soudanense*, *T. tonsurans*, *T. rosaceum*, *T. rubrum* ...) ;
- Teignes inflammatoires avec une zone d'alopécie bien délimitée sont causées par des *Trichophyton* (*T. ochraceum*, *T. equinum*, *T. gallinae* et *T. mentagrophytes*) et sont de contamination animale, le plus souvent ;
- Teignes faviques (favus) avec le godet caractéristique entraînant le détachement du cheveu intact, elles sont dues à *Trichophyton schoenleinii*.

4-1-2-5- Dermatophyties de l'ongle (onychomycoses)

Les onychomycoses à dermatophyte sont les plus fréquentes et siègent principalement au niveau des ongles des orteils dans 90% des cas et plus rarement aux ongles des doigts. Elles s'intègrent dans une dermatophytose du pied ou de la main qui relèvent d'une infection contagieuse [22]. Les atteintes sous inguéales, distales sont dues, le plus fréquemment, à divers *Trichophyton* comme *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton mentagrophytes*.

4-2- Levures

4-2-1- Genre *Candida*

Les infections à *Candida spp.* Sont des infections opportunistes dont les causes sont particulièrement variées et le spectre clinique étendu. Le passage à l'état pathogène de ces micro-organismes commensaux endogènes ou exogènes survient en général à la faveur d'une rupture des barrières cutanéomuqueuses et/ou d'un déficit immunitaire. Ainsi, les facteurs intrinsèques ou iatrogènes favorisant le développement des candidoses sont parfaitement identifiés [23].

4-2-1-1- Description

Candida albicans est une levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie, se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore), formant ainsi des colonies blanches crémeuses. Cette levure est caractérisée par un polymorphisme que l'on peut retrouver in vitro et in vivo et qui lui permet de se soustraire aux défenses liées à l'immunité cellulaire. En effet, certains paramètres comme le pH, la température la richesse du milieu de culture influencent l'aspect morphologique que peut prendre *Candida albicans*. Ainsi, trois aspects morphologiques peuvent être rencontrés (Figure 4) [24] :

- Forme blastospore qui peut être ronde ou ovalaire avec parfois un bourgeon de formation ;
- Forme pseudomycélium, composée d'un assemblage de cellules mises bout à bout pour simuler un filament mycélien ;
- Forme mycélium vrai, champignon filamenteux, spécifique de l'espèce *Candida albicans*, où la conversion d'une levure en filament mycélien passe par l'intermédiaire d'une structure appelée le tube germinatif. Cette forme permet l'invasion des tissus et des organes de l'hôte.

Sous certaines conditions environnementales extrêmes en termes de milieu et de température, *Candida albicans* peut aussi former des chlamydospores, qui sont des structures terminales ou latérales arrondies. Ces chlamydospores représentent la forme de résistance de *Candida albicans* et participent à l'identification du champignon en laboratoire.

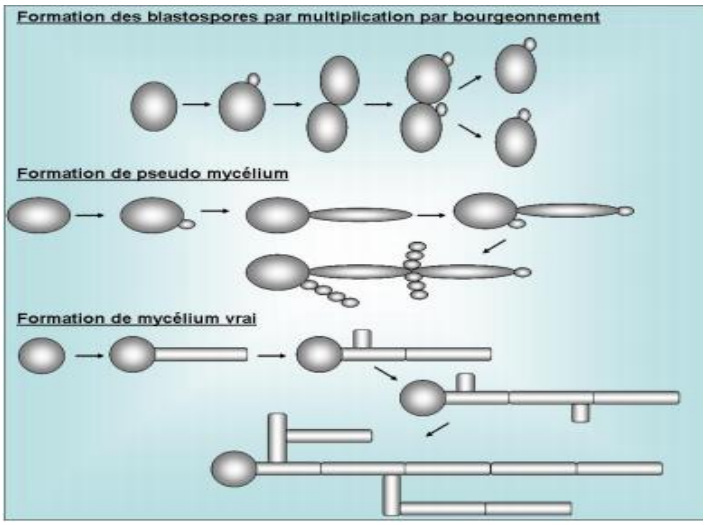


Figure 4: Morphologie de *Candida albicans* [24].

4-2-1-2- Manifestations cliniques

Les levures du genre *Candida* provoquent les candidoses, bien que *Candida albicans* soit l'espèce fongique la plus fréquemment isolée, d'autres espèces dites « non albicans », telles que *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* et *Candida tropicalis* sont régulièrement retrouvées dans les isolats cliniques. Le tableau I ci-dessous, résume les principales espèces de *Candida* impliquées en pathologie humaine [25]. Les différentes espèces de *Candida* se distinguent en particulier par leurs capacités à former des biofilms [26]. La mise en évidence des levures dans le matériel pathologique est nécessaire à un diagnostic de certitude. La biologie moléculaire constitue un outil précieux pour l'identification précise des levures *Candida* [27].

Tableau I: Principales espèces de *Candida* responsables des mycoses [25].

Espèce	Fréquence	État saprophyte	Manifestations cliniques
Candida albicans	+++	Tube digestif	Candidoses cutanéomuqueuses, candidoses digestives et urinaires, Candidémies, candidoses systémiques.
Candida glabrata	++	Tube digestif, voies génito-urinaires	Vaginites, candidoses urinaires, candidémies, candidoses systémiques.

Espèce	Fréquence	État saprophyte	Manifestations cliniques
Candida parapsilosis	++	Peau	Candidémies, infections liées aux cathéters.
Candida tropicalis	++	Sol, végétaux, eau	Vaginites, candidémies, candidoses systémiques.
Candida krusei	++	Produits laitiers, bière.	Vaginites, candidémies.
Candida guilliermondii	+	Produits alimentaires	Endocardites, candidoses systémiques.
Candida kefyr	+	Produits laitiers	Candidoses systémiques.
Candida lusitaniae	+	Tube digestif d'animaux	Candidémies.
Candida dubliniensis	+	/	Candidoses orales chez des patients infectés par le VIH, candidémies.
Candida rugosa	+	Eau, produits laitiers	Candidémies liées aux cathéters.
Candida norvegensis	+	/	Candidémies.
Candida zeylanoides	+	Aliments	Candidémies.
Candida lipolytica	+	Peau	Candidémies liées aux cathéters.
Candida famata	+	Milieu extérieur (air)	Candidémies.

- **Intertrigos candidosiques**

Ils se localisent aux creux axillaires, aux plis sous-mammaires, inguinaux, inter et sous-fessiers, interdigitaux des mains et plus fréquemment des pieds. Ce sont des lésions à fond érythémateux recouvert d'un enduit crémeux malodorant, avec une fissure fréquente du fond du pli, limitée par une bordure pustuleuse ou une collerette desquamative [28].

- **Candidoses bucco-digestives**

  - **Chéilite/ perlèche**

Les chéilites correspondent à un état inflammatoire aigu ou chronique des lèvres. La chéilite superficielle désigne une inflammation superficielle du vermillon. Elle prédomine sur la lèvre inférieure. La chéilite aiguë peut être érythémateuse, œdématiée, érosive ou fissuraire ; elle est souvent douloureuse. La chéilite chronique devient plutôt érythématosquameuse, croûteuse, kératosique, souvent asymptomatique [29]. La chéilite angulaire (perlèche) caractérisée par un érythème et des fissures au niveau des commissures labiales, un exsudat peut être présent. Les espèces *Candida* peuvent secondairement infecter ces zones directement ou par extension d'une candidose buccale. Cette candidose est fréquente chez les enfants présentant des déficits neurologiques et qui ont des difficultés à contrôler leur

salivation. Elle peut également être observée avec une fréquence accrue chez les enfants qui bavent davantage en raison de la présence d'appareils orthodontiques [30].

➢ **Stomatite (le muguet)**

C'est une candidose qui est plus fréquente chez les nourrissons. Elle se présente sous forme de plaques blanches recouvrant une base érythémateuse et touchant la muqueuse buccale ou la langue. Un muguet récidivant ou persistant, en particulier chez un nourrisson ayant d'autres signes ou symptômes, doit faire suspecter un déficit immunitaire (par exemple infection au VIH, autre immunodéficience) [31].

- **Candidoses génitales**

➢ **Vulvo-vaginite candidosique**

C'est une affection qui touche les jeunes femmes et d'âge moyen, rare après 50 ans. Nous pouvons distinguer deux tableaux [32] :

- ✓ **Vulvo-vaginite aiguë** : caractérisée principalement par des lésions érythémateuses et œdémateuses, puis enduit blanchâtre et leucorrhées souvent abondantes, blanc jaunâtre qui stagnent dans les plis de la muqueuse vulvovaginale ; associées à un prurit souvent intense ;
- ✓ **Vulvo-vaginite récidivante ou chronique :** prolifération répétée d'une colonisation saprophyte, retentissement psychique important.

➢ **Balanites et balanoposthites**

La balanite désigne une inflammation du gland. Le plus souvent, le prépuce est également atteint et nous parlons, dans ce cas, de balanoposthite. La balanite candidosique est quasiment inexistante chez l'homme circoncis. L'aspect typique donne des placards érythémateux rouge vif macérés, prurigineux parfois érosifs, couverts d'un enduit blanchâtre. À la périphérie des lésions, une collerette épithéliale semée de pustulettes est un bon signe d'orientation. Parfois dans les formes graves, il peut y avoir un œdème important, voire des vésicules ou des ulcérations [33].

➢ **Candidose génitofessière infantile**

Elle atteint les enfants en bas âge, c'est une complication d'une candidose digestive. Elle se caractérise par l'apparition de vésicules et pustules sur un fond érythémateux, souvent localisées à leur début dans la région périanale où les lésions sont confluentes. Celles-ci s'étendent ensuite à toute la région génito-fessière où elles apparaissent érythémateuses et

bordées par une collerette circinée. Des Candida ont pu être isolés dans certains cas de granulome glutéal infantile [34].

- **Onyxis et périonyxis candidosiques**

L'onyxis est toute inflammation ou infection touchant directement la tablette unguéale (par anomalie de la matrice et/ou du lit de l'ongle). Il s'oppose au terme de « périonyxis » qui désigne une inflammation des replis périunguéaux qui peut être aigu d'origine microbienne (staphylococcique) ou chronique (candidosique) [35]. L'onychomycose à *Candida albicans* débute par un périonyxis ou une paronychie (inflammation des replis sus et péri-unguéaux) chronique touchant fréquemment la femme adulte exposée à l'eau, les artisans pâtissiers ; il s'agit d'une tuméfaction douloureuse de la zone matricielle et du repli sus-unguéal, la pression peut faire sourdre du pus, la tablette unguéale est envahie secondairement (onyxis) prenant une teinte marron verdâtre en particulier dans les régions proximales et latérales, l'évolution est chronique, parsemée de poussées intermittentes [36].

- **Folliculites candidosiques**

La folliculite candidosique est une inflammation et suppuration du follicule pilo sébacé par le *C. albicans* ; elle est associée à l'héroïnomanie, elle est le reflet d'une septicémie [36].

- **Candidose mucocutanée chronique**

La candidose mucocutanée chronique (CMCC) se caractérise par des infections chroniques récidivantes superficielles à *Candida* dont l'expression la plus sévère est le granulome moniliasique [37]. Elle survient chez des patients atteints d'un déficit immunitaire. Parfois, l'infection à *Candida*, souvent associée à d'autres infections à germes opportunistes, témoigne d'un déficit profond [34].

- **Septicémies à *Candida***

Les septicémies nosocomiales sont souvent liées à des infections fongiques et les *Candidas* représentent jusqu'à 10 % des pathogènes isolés dans le sang. Les portes d'entrée les plus fréquentes sont digestives (30 %), cutanées (cathéter 20 %) et urinaires (10 %). Les candidémies sont graves, avec un taux de mortalité de l'ordre de 50 %, et surviennent sur des terrains fragilisés [38]. Des septicémies à *Candida* peuvent rarement être révélées par des lésions cutanées chez les sujets neutropéniques. Il s'agit de nodules fermes ou de papules, rouges ou roses, de 5 à 10 mm, quelques fois à centre pâle, uniques ou multiples. En cas de

thrombopénie, les lésions deviennent purpuriques. Ce sont surtout *Candida tropicalis* et *Candida albicans* qui provoquent ces lésions [34].

4-2-2- Genre *Cryotococcus*

4-2-2-1- Description

Les levures du genre *Cryptococcus* se présentent sous forme sphérique ou ovoïde avec une paroi épaisse doublée d'une capsule gélatineuse caractéristique (Figure 5). La principale espèce pathogène chez l'homme est *Cryptococcus neoformans* avec deux variétés et quatre sérotypes différents en fonction des épitopes capsulaires : *C. neoformans* var. *neoformans*, contenue dans des poussières contaminées par des fientes de pigeons et *C. neoformans* var. *gattii* présente dans les eucalyptus des régions subtropicales. Le *C. neoformans* vit à l'état libre, en saprophyte dans la nature et dans le sol enrichi en matières organiques [39-41].

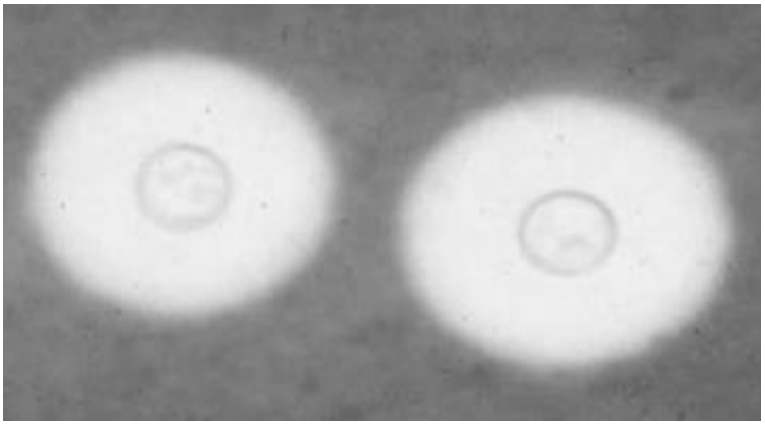


Figure 5: *Cryptococcus* : deux levures capsulées dans un liquide Céphalorachidien [41].

4-2-2-2- Manifestations cliniques

La cryptococcose est devenue la deuxième affection opportuniste majeure du sida en Afrique et affecte 5 à 30 % des patients VIH positifs selon les régions. La forme clinique la plus fréquente est une méningo-encéphalite disséminée, l'infection peut également être localisée dans les poumons. Des lésions cutanées, conséquence d'une dissémination de la levure dans le sang, ont été aussi observées [40].

- **Cryptococcose neuroméningée**

Cryptococcus neoformans a un tropisme particulier pour le système nerveux central, il est responsable de la plupart des méningites d'origine fongiques. La cryptococcose neuroméningée est une affection rare, qui survient préférentiellement chez des patients ayant

une immunodépression liée soit au virus de l'immunodéficience humaine (VIH), soit au cours des hémopathies (maladie de Hodgkin, lymphomes), ou lors d'un traitement immunosuppresseur (corticothérapie au long cours, chimiothérapie cytotoxique) [42]. Le début de la maladie est insidieux et peut durer plusieurs semaines ou mois. Le tableau clinique le plus classique est celui d'une méningo-encéphalite subaiguë : fièvre, céphalées et raideur de la nuque, ceci oriente vers le diagnostic de cryptococcose cérébrale chez le sidéen, même en l'absence d'autres signes et surtout si l'immunodépression est profonde. Par la suite, il y aura apparition des signes d'atteinte encéphalitique : désorientation temporo-spatiale, confusion, atteinte des nerfs crâniens et hypertension intracrânienne [41].

- **Cryptococcose pulmonaire**

L'atteinte pulmonaire représente 10 à 36 % des localisations et se manifeste par des signes cliniques et radiologiques non spécifiques. Elle peut parfois poser le diagnostic différentiel avec une tuberculose ou un cancer pulmonaire. Différentes études ont comparé l'aspect scanographique de la cryptococcose pulmonaire de l'immunocompétent et de l'immunodéprimé. L'aspect le plus fréquemment retrouvé chez les sujets immunocompétents était un nodule unique ou multiple dans 91 % des cas, et les lésions étaient habituellement bilatérales et asymétriques, avec des dimensions qui varient entre 5 mm et 5 cm. Un nodule ou une masse pulmonaire isolée peut simuler un cancer. Les localisations endobronchiques de la cryptococcose ont été rarement rapportées dans la littérature [43].

- **Cryptococcose cutanée**

L'atteinte cutanée de la cryptococcose est généralement le signe d'une dissémination hématogène, ces lésions sont le plus souvent multiples, siégeant sur tout le corps. La morphologie lésionnelle est extrêmement variable : papules, ulcérations, nodules, vésicules, abcès, cellulites . . ., mais l'aspect le plus caractéristique est celui qui évoque un molluscum contagiosum [44].

- **Autres localisations**

D'autres localisations sont possibles pour la cryptococcose [45, 46] :

- **Atteinte osseuse :** La localisation osseuse d'une infection à cryptocoque doit faire partie du diagnostic différentiel de lésions ostéolytiques atypiques quel que soit le terrain du patient. Le diagnostic définitif est basé sur l'examen mycologique, qui impose la

réalisation d'une biopsie sauf si le *Cryptococcus neoformans* est isolé sur un autre site. En présence d'une atteinte osseuse, la recherche d'atteintes du système nerveux central et pulmonaire doivent impérativement être réalisées.

- **Atteinte oculaire :** nous pouvons observer des troubles visuels divers pouvant aller jusqu'à la cécité, ils peuvent être en rapport avec une atteinte fongique directe des voies optiques, une arachnoïdite, une choriorétinite ou une hypertension intracrânienne.
- **Cœur :** provoque une myocardite, une endocardite et une péricardite.
- **Prostate** : elle représente un foyer qui peut être à l'origine de rechutes après un traitement initial.
- **Rein** : chez le transplanté rénal, la pyélonéphrite cryptococcique est une cause de rejet de greffe.

D'autres atteintes ont été rapportées : digestives, sinusiennes, surrénaliennes, hépatiques, spléniques, thyroïdiennes, musculaires, placentaires, ainsi qu'une observation de septicémie nosocomiale à cryptocoque et d'infection de cathéter de dialyse péritonéale [46,47].

4-2-3- Genre *Trichosporon*

4-2-3-1- Description

Les levures du genre *Trichosporon* spp. représentent des basidiomycètes de distribution cosmopolite. Ces levures se présentent, macroscopiquement, sous forme de colonies beiges, glabres, sèches ou humides (Figure 6). L'examen microscopique met en évidence de nombreuses conidies rectangulaires ou arthroconidies avec possibilité de bourgeonnement latéral. Sept espèces de *Trichosporon* sont impliquées en pathologie humaine : *T. ovoides*, *T. inkin*, *T. ashaii*, *T. asteroides*, *T. cutaneum*, *T. mucoides* et *T. loubieri*. Elles sont, selon les espèces, responsables d'infections superficielles dont la « piedra blanche » et d'infections profondes localisées ou disséminées. *T. asahii* constitue l'agent causal majeur des trichosporonoses profondes et disséminées notamment chez les sujets immunodéprimés [48, 49].

Figure 6: Culture de *Trichosporon spp.* (milieu de Sabouraud) [49].

4-2-3-2- Manifestations cliniques

a- Trichosporonoses superficielles

- **Piedra blanche**

La piedra blanche constitue une infection bénigne des cheveux et des poils. Cliniquement, elle se caractérise par des nodules blanchâtres non coulissants et durs, disposés en chapelet le long des tiges pilaires, leur donnant ainsi un aspect pierreux d'où son nom. Ces nodules peuvent être observés au niveau des cheveux, de la barbe, de la moustache, des poils axillaires et des poils pubiens. La piedra blanche des cheveux habituellement due à *T. ovoides* est devenue rare dans les pays dont les conditions d'hygiène sont correctes. Cependant, la piedra blanche des poils pubiens, qui est essentiellement due à *T. inkin*, est encore fréquemment rencontrée [49].

- **Lésions cutanées**

Les lésions cutanées à type d'intertrigo inguinocruraux et périanaux ont été notées, mais l'incrimination des *Trichosporon spp.* dans ce type d'infections est encore très mal documentée [49].

b- Trichosporonoses profondes

Trichosporon asahii est responsable de plus de 90 % des trichosporonoses disséminées, initialement rapportées chez les sujets atteints d'hémopathies avec neutropénie profonde. Dans la plupart des cas rapportés dans la littérature, la leucémie aiguë était la pathologie sous-jacente la plus fréquemment associée aux cas de trichosporonoses profondes (70 % des cas). Les trichosporonoses profondes se manifestent cliniquement par une fièvre résistante aux antibiotiques, fréquence des fongémies à *Trichosporon sp.*, par ailleurs, une pneumopathie ou des lésions cutanées métastatiques à type de maculopapules érythémateuses peuvent être associées [50, 51].

4-2-4- Genre *Malassezia*

4-2-4-1- Description

Les levures du genre *Malassezia* appartiennent à la flore commensale. Les espèces retrouvées

chez l'être humain sont lipophiles. Elles peuvent exister sous une forme levure groupées donnant un aspect en grappe de raisin, et sous une forme de mycelium. La forme levure se développe dans l'infundibulum des follicules pilosébacés. Sous forme pseudofilamenteuse

(pseudo-mycelium), leur développement se déroule dans la couche cornée de l'épiderme. Elles sont impliquées dans des maladies de la peau notamment, le pityriasis versicolor, la folliculite à *Malassezia*, l'exacerbation du psoriasis et de la dermite atopique, parmi les espèces de *Malassezia* incriminées dans les atteintes superficielles : *Malassezia furfur*, *Malassezia globosa*, *Malassezia sympodialis*, et *Malassezia restricta* (Figure 7) [52, 53].

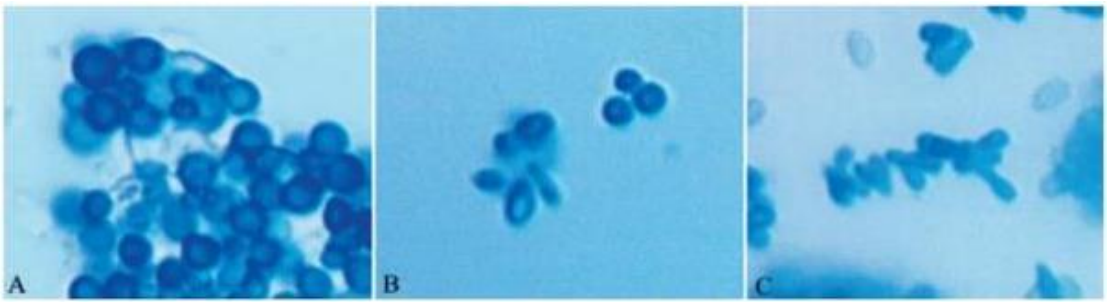


Figure 7: Levures *Malassezia* cultivées dans le milieu de Dixon. A : *M. globosa*, B : *M. restricta*, C : *M. furfur* [52].

4-2-4-2- Manifestations cliniques

a- Pityriasis versicolor

Le pityriasis versicolor est une infection fongique fréquente qui survient chez l'adolescent et l'adulte ; rarement chez l'enfant. Les lésions caractéristiques sont de petites macules hypopigmentées ou hyperpigmentées, arrondies ou ovalaires situées sur le tronc, les racines des membres et le cou. Les lésions sont bien limitées et sont généralement asymptomatiques (bien qu'un prurit puisse être présent) mais peuvent être très gênantes esthétiquement [54, 55].

b- Folliculites à *Malassezia*

La folliculite à *Malassezia* est décrite chez des malades immunodéprimés et chez des sujets vivants en climat chaud et humide [56]. Le tableau clinique de la folliculite à *Malassezia* est assez stéréotypé, à type d'éruption souvent monomorphe de papules et pustules folliculaires de quelques millimètres parfois confluentes en nappe, localisée de façon constante au tronc, prédominant sur le décolleté et le haut du dos avec parfois une extension à d'autres régions (bras, cuisses, visage). Un prurit est présent dans la majorité des cas [57].

c- Dermatite séborrhéique

La dermatite séborrhéique est une pathologie extrêmement fréquente, touchant près de 3 % de

la population, et dont la sévérité est très variable d'une personne à l'autre. Cette dermatose se caractérise par des lésions érythématosquameuses siégeant dans les zones où l'activité sébacée est maximale. La physiopathologie de la dermatite séborrhéique reste mal connue,

Les deux facteurs favorisants sont la séborrhée et la présence de *Malassezia*. Dans le cas d'une dermatite séborrhéique de l'adulte, nous pouvons observer une atteinte de la face, elle se manifeste par des plaques érythémateuses mal limitées recouvertes de squames blanches ou jaunâtres, plus ou moins grasses, non adhérentes. Ces plaques ont une évolution centrifuge, avec un érythème plus marqué en périphérie et un contour polycyclique ou annulaire, nous pouvons noter aussi une atteinte de cuir chevelu ou de tronc. La dermatite séborrhéique peut être observée chez le nouveau-né et le nourrisson [58].

d- Pityriasis capitis

Il correspond à l'état pelliculaire du cuir chevelu. Le pityriasis capitis est favorisé par la séborrhée et le stress. Le prurit est fréquent [59].

e- Malassezioses profondes

Les *Malassezia* peuvent être exceptionnellement isolés dans les hémocultures. La clinique de ces infections est peu spécifique puisqu'elle correspond à une fièvre ne cédant pas à une antibiothérapie à large spectre. Les patients à risque sont les patients immunodéprimés, ceux porteurs de dispositifs implantables, les nouveau-nés et surtout les patients ayant une alimentation parentérale, notamment riche en lipides. Ces infections sont probablement sous-diagnostiquées du fait de la difficulté à cultiver ces levures [59].

4-2-5- Genre *Geotrichum*

4-2-5-1- Description

Les *Geotrichum* se présentent sous forme de levures filamenteuses cosmopolites. Actuellement, trois espèces de *Geotrichum* ont été décrites comme pathogènes humains : *G. candidum*, *G. capitatum* et *G. clavatum*. Macroscopiquement indistinguables entre eux, ces champignons se développent sous la forme de colonies blanches souvent cotonneuses avec un mycélium aérien abondant (Figure 8). Microscopiquement, l'examen des colonies montre des filaments mycéliens hyalins se dissociant en éléments rectangulaires, les arthroconidies. L'analyse des caractères microscopiques et physiologiques permet de différencier les différentes espèces parfois confondus avec *Trichosporon spp.* [49].

Figure 8: Culture de *Geotrichum spp.* (milieu de Sabouraud) [49].

4-2-5-2- Manifestations cliniques

a- Géotrichoses superficielles

Le rôle pathogène de *Geotrichum spp.* dans la survenue d'infections superficielles est très mal défini car il est très difficile de distinguer une simple colonisation d'une réelle infection. Aujourd'hui, le rôle pathogène de *Geotrichum* dans la survenue de lésions cutanées, d'un muguet buccal ou d'une langue noire villeuse n'est absolument pas établi. Un seul cas d'onychomycose d'un ongle du pouce a été rapporté par D'Antonio en 1999. De rares cas de kératites ont été décrits, souvent à partir d'une inoculation traumatique [60].

b- Géotrichoses profondes

Les Géotrichoses profondes localisées sont rares, elles se développent chez le sujet immunocompétant généralement après un traumatisme ayant permis l'inoculation du champignon [61].

4-3- Zygomycètes ou « moisissures »

Les moisissures non dermatophytiques ne sont que très rarement impliquées seules dans les infections fongiques. Certaines sont, en revanche, retrouvées dans des infections mixtes et sont responsables d'onychomycoses et de mycoses invasives profondes comme *Aspergillus* et *Fusarium* [34].

4-3-1- Genre *Aspergillus*

4-3-1-1- Description

L'*Aspergillus* est un champignon filamenteux caractérisé par (Figure 9) [62] :

- Un mycélium formé de filaments (hyphe) de taille régulière, septés, avec des ramifications souvent dichotomiques à angle aigu ;
- Des filaments dits conidiophores (stipe) lisses ou hérissés, droits ou sinueux, ils peuvent être septés se terminant par une vésicule de forme sphérique globuleuse plus ou moins allongée et de taille variable. Autour de celle-ci, se trouvent une ou plusieurs rangées de phialides à l'intérieur desquelles naissent des spores ou phialospores. Les phialides sont quelques fois portées par des métules et recouvrent toute la vésicule ou seulement la partie supérieure.

La tête aspergillaire est composée de l'extrémité du conidiophore, les phialides et les conidies. C'est cette tête aspergillaire qui caractérise le genre *Aspergillus*.

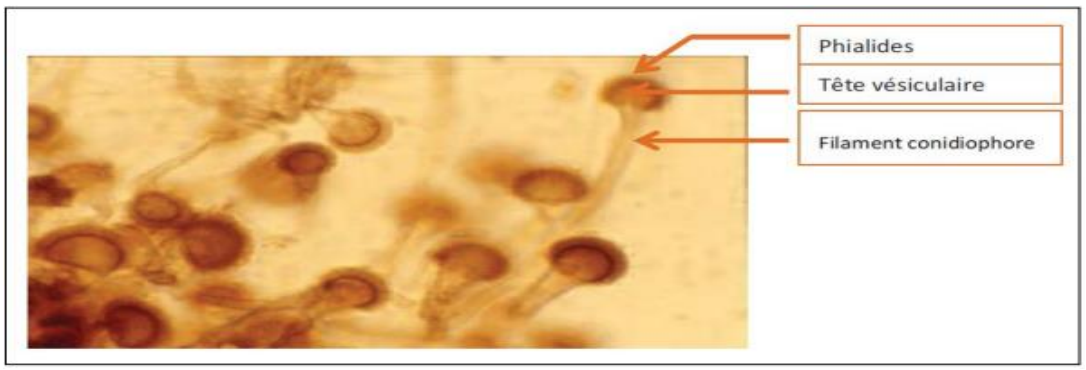


Figure 9: Aspect microscopique du genre *Aspergillus* [62].

4-3-1-2- Manifestations cliniques

a- Aspergilloses de l'appareil respiratoire

Les aspergilloses pulmonaires sont classées en deux groupes : aspergilloses pulmonaires chroniques et aspergilloses pulmonaires allergiques.

- **Aspergilloses pulmonaires chroniques (APC) :** se développent chez des individus immunocompétents ou sans immunodépression majeure, ayant une maladie respiratoire préexistante, elles regroupent un ensemble de syndromes qui atteint préférentiellement des sujets sans altération profonde du système immunitaire avec une maladie sous-jacente tels que le diabète, l'asthme, la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO), le cancer pulmonaire, ... [63, 64] ;
- **Aspergilloses pulmonaires allergiques (APA) :** plus fréquentes, sont déclenchées par une hypersensibilité aux antigènes (Ag) d'*Aspergillus*, qu'il y ait ou non un antécédent d'atteinte respiratoire, nous distinguons deux catégories.
  - **Aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA)** : c'est une affection respiratoire secondaire à une réaction immune complexe d'hypersensibilité vis-à-vis d'*Aspergillus*. L'*Aspergillus fumigatus* est l'agent étiologique le plus fréquent. l'ABPA se manifeste souvent chez de jeunes adultes et fait suite à un asthme qui devient difficile à contrôler et corticodépendant avec des symptômes atypiques tels que de la fièvre, des malaises, des expectorations purulentes, des hémoptysies, des moules bronchiques, une majoration de la toux ou une douleur thoracique, parfois des condensations pulmonaires, en l'absence d'infection bactérienne [65] ;
  - **Alvéolite allergique extrinsèque (AAE)** : représentent un groupe de maladies pulmonaires médiées par des mécanismes immunologiques et associées à l'exposition répétée à une grande variété de poussières organiques, suffisamment fines pour

atteindre la périphérie du poumon. Nous pouvons distinguer quatre tableaux cliniques [66] :

- ✓ Formes aigues : ressemblant à une pneumopathie fébrile et débutant dans les heures suivant l'exposition. Elles s'accompagnent d'une altération de l'état général avec le plus souvent une perte de poids qui peut être très importante ;
- ✓ Formes subaigües : les plus fréquentes, sont marquées par un début progressif, une dyspnée d'effort ou de repos, une altération de l'état général et rarement une fièvre ;
- ✓ Formes chroniques : caractérisées par une dyspnée importante pouvant être associée à une cyanose avec altération de l'état général ;
- ✓ Formes suraigües : sont rares et se caractérisent par une insuffisance respiratoire aigüe, dans un climat fébrile.

➢ **Sinusite fongique allergique (SFA)**

Les critères nosologiques d'une SFA sont variables selon les auteurs et restent discutés avec un risque diagnostique de « dérive fongique ». D'après Manning (Laryngoscope 1998), il s'agit d'une réaction d'hypersensibilité à médiation IgG et IgE associant des mécanismes inflammatoires de type rétardé impliquant les éosinophiles. La SFA peut être soit isolée ou bien associée à une ABPA. Les critères diagnostiques sont superposables à ceux de l'ABPA [67].

b- Aspergilloses extra-respiratoires

- **Formes superficielles**

➢ **Aspergillose cérébrale** : survient dans la majorité des cas au cours d'une aspergillose invasive, avec dissémination hématogène à partir de lésions pulmonaires. Cette localisation, non rare, est un des pires critères pronostiques au cours de l'aspergillose invasive [68] ;

➢ **Aspergillose digestive :** le tube digestif est atteint avec une fréquence variable, Il s'agit d'ulcérations au niveau de l'intestin, de l'œsophage ou de l'estomac, pouvant êtres responsables d'hémorragies, voire même de perforations [69] ;

➢ **Aspergillose rénale :** l'atteinte rénale est observée dans les formes disséminées, elle est d'origine hématogène et caractérisée par de multiples petits abcès. Le tropisme vasculaire peut conduire à une nécrose papillaire [69] ;

- **Aspergillose cutanée** : les localisations cutanées primitives sont exceptionnelles. La majorité des cas décrits correspondent à des patients immunodéprimés présentant une dissémination hématogène [70] ;
- **Aspergillose oculaire :** les atteintes oculaires lors d'une aspergillose invasive sont rarement décrites [71]. Il s'agit principalement de kératite ou de choriorétinite, l'atteinte oculaire est rarement liée à une extension loco-régionale d'une aspergillose naso-sinusienne [72].
- **Aspergillose de l'oreille ou otite externe aspergillaire :** Les otites externes nécrosantes aspergillaires (OENA) sont rares, elles touchent principalement des sujets immunodéprimés. Elles sont associées à un mauvais pronostic fonctionnel et parfois vital en raison d'un diagnostic difficile et souvent tardif [73].
- **Onyxis aspergillaire :** les *Aspergillus* ont un pouvoir de colonisation de la keratine, plusieurs espèces peuvent être isolées d'onyxis, les plus fréquentes sont : *Aspergillus versicolor* et *Aspergillus sydowii* [74].

- **Formes profondes :** l'aspergillose profonde extra-pulmonaire disséminée est une forme évolutive de la maladie et touche les sujets atteints d'une affection sévère, touchant le système hématopoïétique avec une forte immunodépression. Les formes disséminées concernent au moins deux organes, représentent environ 25 à 35% des aspergilloses, le poumon étant l'organe le plus touché associé à des localisations diverses par dissémination hématogène : hépatiques, cérébrales, péritonéales, sinusiennes, rénales, cardiaques (endocardites), cutanées et osseuses [75].

4-3-2- Genre *Fusarium*

4-3-2-1- Description

Le genre *fusarium*, très cosmopolite, est impliqué en pathologie humaine, causant des mycotoxicoses et des infections qui peuvent être locales ou disséminées. Sur le plan microscopique, il contient un thalle végétatif à partir duquel naissent des conidiophores courts et souvent ramifiés (Figure 10). Ils renferment des phialides qui peuvent contenir un ou plusieurs sites de bourgeonnement pour la production des conidies. Deux types de conidies produites par les phialides sont distingués [76] :

- **Micronidies** : ce sont des conidies uni (ou bi) cellulaires, allongées, sous forme ovale ou cylindrique, elles sont isolées, solitaires ou groupées ;
- **Macroconidies** : ce sont des conidies pluricellulaires à cloisons uniquement transversales et sont le plus souvent groupées en paquets.

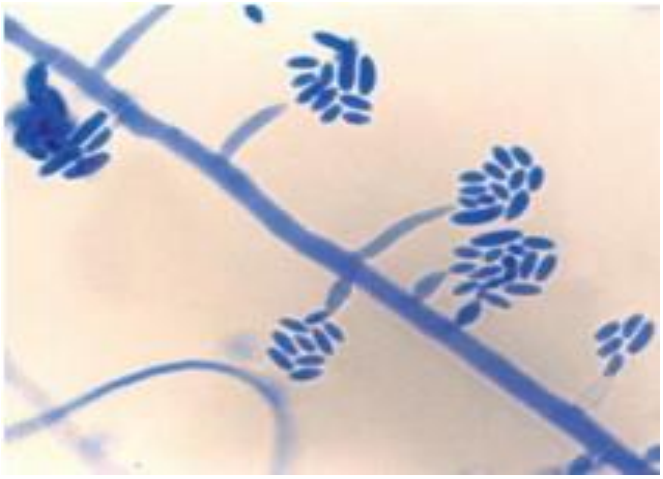


Figure 10: Genre *Fusarium*, monophialides solitaires [76].

4-3-2-2- Manifestations cliniques

a- Formes localisées

- **Onychomycose**

Les atteintes unguéales et intertrigos dues à *Fusarium sp.* sont devenues plus fréquentes. La confirmation du diagnostic au laboratoire nécessite au moins une deuxième identification sur un deuxième prélèvement. Les facteurs favorisant la survenue d'intertrigos à *Fusarium sp.* chez des sujets immunocompétents sont la marche pieds nus, les ablutions, la fréquentation des piscines publiques… [77, 78].

- **Kératite et endophtalmie**

La cause principale de kératite est infectieuse et particulièrement fongique. Une kératite fongique à *Fusarium* se caractérise, comme toute kératite fongique, par une ulcération cornéenne, généralement associée à une suppuration. Le malade se plaint d'une sensation de corps étranger, de douleur oculaire, baisse de l'acuité visuelle avec risque d'évolution en endophtalmie (infection de l'ensemble des tuniques oculaires) d'où l'intérêt de poser rapidement le diagnostic [78].

- **Infection cutanée**

Chez le sujet immunocompétent, l'atteinte cutanée à *Fusariums* est rare. Il a été noté des infections cutanées sous forme de microabcés, de mycétomes ou sous forme de plaques érythémateuses ichtyosiformes, parfois ulcérées, prurigineuses, à localisation souvent plantaire autour d'une onychomycose à *Fusarium* [79].

- **Mycétomes**

Les mycétomes sont définis comme : « tout processus pathologique au cours duquel des agents fongiques ou actinomycosiques d'origine exogène produisent des grains parasitaires ». C'est une maladie infectieuse chronique due à l'inoculation de l'agent pathogène par un traumatisme pénétrant. Parmi les espèces fongiques responsables des mycétomes : *Fusarium spp.* [80].

- **Infections pulmonaires**

Les infections bronchopulmonaires fongiques surviennent essentiellement chez des patients présentant un terrain immunodéprimé [81].

b- Formes disséminées

Les principales espèces incriminées sont *F. solanii*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, et rarement *F. dimerum*. Les différentes localisations infectieuses à *Fusarium spp.* sont cutanées, sinusales, musculaires, rhino-cérébrales, oculaires, pulmonaires et gastro-intestinales, elles sont secondaires à une dissémination hématogène. Ces fusarioses disséminées sont de mauvais pronostic [82].

4-4- Dimorphiques

L'appellation champignons dimorphiques s'applique à des champignons qui peuvent êtres présents sous deux formes :

- Forme levure (in vivo) : dans les organes du malade, elle correspond à la forme parasitaire ;
- Forme mycélienne (in vitro) : c'est la forme saprophytique, elle correspond à la forme de contamination.

Parmi les mycoses dues à des champignons dimorphiques, il y a les histoplasmoses, la coccidioïdomycose, blastomycose, paracoccidioïdomycose, pénicilliose et sporotrichose [83].

5- Facteurs favorisant les mycoses

Les mycoses sont des infections causées par des champignons pathogènes. La réceptivité des individus à ces derniers dépend principalement des facteurs extrinsèques et intrinsèques.

5-1- Facteurs intrinsèques

Ils sont représentés par des facteurs de risque d'ordre physique principalement l'âge, le sexe, et l'état physiologique du patient.

5-1-1- Age du patient

Bien que la plupart des infections fongiques puissent survenir à tous les âges, il a été observé que les âges extrêmes de la vie sont plus touchés par certaines mycoses superficielles.

Chez l'enfant, dès la naissance, des levures prolifèrent au niveau cutané ce qui est dû à la finesse de la peau et l'absence de défense locale efficace. Les teignes du cuir chevelu sont très fréquentes chez les enfants surtout avant la puberté avec une prédominance masculine. La disparition des teignes à la puberté est due à une modification de la composition du cheveu. Dans le cheveu adulte, il a été noté que la kératine s'enrichie en acides gras soufrés ce qui va être défavorable au développement de ces dermatophytoses. Les candidoses comme le muguet ou les candidoses génito-fessières touchent beaucoup plus les enfants. La perlèche est également courante chez les nourrissons mais aussi chez les personnes âgées [84, 85, 86]. Les lésions bucco-dentaires sont fréquentes chez les sujets âgés et ne sont pas exactement identiques à celle des adultes jeunes, en effet, les tissus et organes de la cavité buccale subissent différentes modifications au cours du vieillissement, ceci provoque une altération de leurs fonctions (goût, sécrétions, salivation) et une baisse de leur potentiel d'adaptation aux aliments comme la lenteur de la cicatrisation en cas de lésions traumatiques, tout ça doit être bien intégré pour comprendre la survenue et la chronicité de l'infection fongique [87]. Chez l'adulte, sont plus fréquentes les dermophytoses du pied ou palmoplantaire qui sont quasiment exclusives de son âge. De même l'intertrigo inguino-crural apparait rarement avant l'âge de la puberté. Le pityriasis versicolor est une pathologie qui apparait entre la puberté et la soixantaine et elle est exceptionnelle chez le sujet âgé et le nourrisson [85, 86].

5-1-2- Sexe du patient

Il a été noté que certaines mycoses sont anatomiquement liées au sexe comme la balanite chez l'homme, l'intertrigo sous mammaire ou la vulvovaginite chez la femme. Il a été remarqué aussi que certaines pathologies se développent plus favorablement chez un des deux sexes. La femme est plus touchée par les mycoses de l'ongle des mains. Les teignes tondantes sont un peu plus fréquentes chez la fillette alors que le garçon est touché beaucoup plus par les teignes suppurées et le favus. Les intertrigos inguinocruraux semblent prédominer chez les adultes de sexe masculin [85, 86].

5-1-3- Etat physiologique du patient

L'état physiologique du patient est un élément déterminant dans la survenue de certaines

mycoses. La prévalence des infections mycosiques chez les diabétiques paraît plus élevée que dans la population générale. Il est actuellement admis que le diabète sucré représente à la fois un facteur favorisant et aggravant des lésions cutanéomuqueuses [88]. Les mycoses cutanéo-phanériennes sont fréquentes chez les personnes vivant avec le virus de l'immunodéficience humaine, les transplantés d'organes et les diabétiques, etc [89]. Les infections fongiques diffuses sont fréquentes dans le cas des lymphomes de Hodgkin ou à un stade leucémique des lymphomes T cutanés de type Sézary, le plus souvent en rapport avec un déficit immunitaire profond [90]. Les personnes ayant un déficit immunitaire sont généralement susceptibles aux mycoses dues aux champignons des genres *Candida*, *Aspergillus* et *Cryptococcus* [91].

5-2- Facteurs extrinsèques

Les facteurs extrinsèques sont représentés principalement par l'abus des médicaments, le mode de vie et l'activité professionnelle.

5-2-1- Facteurs iatrogènes

La prise de certains médicaments peut favoriser le développement de mycoses. Ces médicaments sont représentés principalement par [85, 86, 91] :

- Antibiotiques (à large spectre) : ils perturbent la flore bactérienne et favorise donc la colonisation fongique de certaines espèces commensales. La prolifération de Candida albicans, peut être responsable d'un muguet au niveau de la muqueuse buccale, de candidoses génito-fessières ou encore de mycoses vaginales ou digestives ;
- Corticostéroïdes (à forte dose ou traitement prolongé) : ils peuvent induire un Pityriasis versicolor ou un Herpès circiné ;
- Contraceptifs : ils pourraient être impliqués dans l'apparition d'un Pityriasis versicolor ;
- Savons à pH acides : leur utilisation abusive pour la toilette intime peut déséquilibrer la flore vaginale et entrainer ainsi des candidoses génitales.
- Radiothérapies et Chimiothérapies anticancéreuses : peuvent provoquer des ulcérations de la peau et des muqueuses et elles atténuent les défenses immunitaires, tout comme les immunosuppresseurs ou les anti-rejets utilisés lors de greffes, ce qui favorise le développement de mycoses ;
- Prothèses notamment dentaires peuvent aussi être un facteur favorisant des candidoses buccales.

5-2-2- Mode de vie et activité professionnelle du patient

5-2-2-1- Mode de vie

Le port de vêtements synthétiques et serrés provoque les frottements et favorise la macération, ceci fragilise la peau et la rend ainsi plus vulnérable aux mycoses. Le manque d'hygiène représente aussi un des facteurs favorisants les mycoses. De même, le port de chaussures fermées (baskets, chaussures de sécurité, bottes en caoutchouc...) est à l'origine des mycoses du pied. Les lieux où l'humidité est constante (douches, piscines, saunas...) représentent des réservoirs de mycoses surtout pour les pieds. La fréquentation de salle de sports (vestiaire, douche...) et la pratique de sports pieds nus (arts martiaux) aboutissent à de nombreuses dermatophyties du pied. Enfin, les voyages intercontinentaux permettent un brassage des populations et l'importation de mycoses, car certaines conditions climatiques (humidité, température élevée), environnementales et épidémiologiques (hygiène, proximité) favorisent des dermatoses de présentation inhabituelle [85, 86, 92, 93].

5-2-2-2- Activité professionnelle

Les métiers recommandant un contact permanent avec les animaux aboutissent généralement à une implantation de mycoses d'origine animale ou zoophiles. Parmi ces professions, nous citons : les éleveurs qu'ils soient de rentes (ovins, bovins...) ou de loisirs (chats, chiens...), les vétérinaires, ou certains laborantins qui manipulent les souris, les cobayes, les lapins... Ces populations sont plus exposées au risque de contracter des teignes suppuratives. Les professions entrainant des traumatismes cutanés favorisent les mycoses d'origine tellurique ou géophile. Nous pouvons évoquer le cas des agriculteurs qui manipulent le foin ou d'autres végétaux moisis, des pécheurs, des forestiers..., nous notons que dans le cas des métiers comme barman, plongeur, ménagère..., les microtraumatismes des doigts et des ongles sont fréquents et ils sont en contacts réguliers avec l'eau ce qui aboutit souvent à des onyxis ou à des intertrigos interdigitaux. Chez le boulanger ou le confiseur qui utilisent le sucre, il a été noté une augmentation du risque d'onyxis candidosiques [85, 86, 92].

5-2-3- Services hospitaliers à haut risque

Au sein des hopitaux, il y a un risque fongique, le contrôle de la contamination fongique de l'environnement est un élément essentiel de la prévention, surtout la prévention du risque aspergillaire chez les patients immunodéprimés au niveau des services à haut risque : hématologie, chirurgie, transplantation, cancérologie, réanimation, ... [94, 95].

CHAPITRE II : Etude des antifongiques azolés

1- Définition d'un traitement antifongique

Les antifongiques sont des substances chimiques produites par des micro-organismes (antifongiques naturels) ou par synthèse chimique. Ces médicaments sont utilisés pour lutter contre les mycoses. Ces molécules sont capables de détruire spécifiquement ces champignons (fongicides), ou au moins de réduire leur pfolifération (fongistatique) [96].

2- Développement de recherche des antifongiques

Pendant des centaines d'années, les infections fongiques de la peau et des muqueuses ont été traitées par toutes sortes de médicaments populaires. Les infections du cuir chevelu ont été traitées en l'ans 23-79 après J.C. par certaines préparations comme des cendres de corne de cerf dans du vin, de la graisse d'ours mélangée à des extraits de plantes, de la bile de truie mélangée à de l'urine de taureau et du jus d'ail dans la graisse d'oie, de la bile de chèvre dans de la craie et du vinaigre. Parmi tous ces composés, seul l'ail est encore mentionné aujourd'hui en phytothérapie comme remède antifongique éventuel [3].

Jusqu'à la fin du XIX^{ème} siècle, les seuls médicaments disponibles pour la prise en charge des infections fongiques superficielles étaient les sels inorganiques comme le permanganate de potassium ou l'arsenic. La difficulté principale dans le développement de molécules antifongiques est due à l'analogie structurale entre les cellules fongiques et les cellules des mammifères [97].

Au début du XX^{ème} siècle, les produits chimiques de synthèse et les colorants ont remplacé tous ces mélanges rudimentaires anciens, ainsi les premiers médicaments antifongiques organiques topiques étaient représentés par l'acide salicylique, l'acide benzoïque, le violet de gentiane ou l'acriflavine et des produits soufrés [98].

Les premières molécules antifongiques à usage médical sont les composés naturels représentés par la griséofulvine, la nystatine et l'amphotéricine B, la première molécule a été isolée de l'ascomycète *Penicillium* en 1939. La griséofulvine était utilisée comme agent fongicide en agriculture. L'efficacité clinique du traitement orale de cette dernière a été démontrée en premier, sur des infections à dermatophytes chez des animaux de laboratoire [99, 100]. En 1950 fut isolée la nystatine, appartenant à la série des polyènes, de l'actinobactérie *Streptomyces noursei* ; et en 1955 L'amphotéricine B de *Streptomyces nodusus* [101]. Le spectre antifongique de la nystatine in vitro est très étendu, il englobe

plusieurs levures pathogènes comme les *Candida sp.*, les pathogènes dimorphes qui sont infectieux sous une forme levure et *Cryptococcus neoformans*. Sa toxicité après administration parentérale rend son utilisation clinique limitée uniquement pour des usages topiques. L'amphotéricine B qui est un polyène, est considérée comme le médicament de choix dans le cas de nombreuses mycoses systémiques, malgré le fait qu'elle soit toxique et difficile à administrer [100].

Il fallait attendre jusqu'au 1957 pour que la flucytosine, de la classe des fluoro-pyrimidines sera introduite dans le marché des antifongiques [101], utilisée principalement pour traiter les infections par les espèces *Candida* et *Cryptococcus neoformans*. Bien qu'elle soit efficace à la concentration sanguine appropriée, des effets secondaires toxiques peuvent se produire dans le cas de forte concentration comme l'hépatotoxicité et la toxicité gastro-intestinale [102].

La découverte de l'activité antifongique des azolés a constitué une avancée considérable dans la thérapeutique des infections fongiques superficielles et systémiques. La première molécule antifongique azolée a été synthétisée par woolley en 1944, mais ce n'est qu'en 1958 que la communauté scientifique commence à donner un intérêt particulier aux azolés. Les azolés de première génération sont des imidazolés dont le miconazole, développé en 1968. Il est utilisé dans le traitement des infections cutanéo-muqueuses à levures ou à dermatophytes. Le kétoconazole, approuvé par la Food Drug Administration (FDA) en 1981, c'est le principal représentant des azolés de deuxième génération. Il représente le premier azolé bien absorbé par voie orale, mais son hépatotoxicité et ses interactions avec de nombreuses molécules limitent ses conditions d'utilisation. Enfin, les azolés de troisième génération correspondant aux dérivés triazolés. Leurs propriétés pharmacologiques et leur tolérance généralement satisfaisantes permettent de les utiliser dans les infections fongiques systémiques [103, 104, 105].

La première molécule triazolée à usage humain a été développée par Janssen Pharmaceutica en 1983, il s'agit du terconazole [106]. C'est un dérivé triazolé à large spectre, analogue structural du kétoconazole, indiqué pour le traitement de la candidose vulvo-vaginale, c'est un traitement de première intention efficace contre d'autres espèces de *Candida* [107, 108]. Le terconazole a été remplacé par des dérivés triazolés de deuxième génération dont le fluconazole et l'itraconazole, en raison de leur spectre encore plus large et des niveaux d'activité plus élevés contre des espèces pathogènes résistantes. Le fluconazole développé en 1988 par Pfizer et approuvé en 1990 par la FDA, représentait l'antifongique de référence pendant cette période. Cette molécule symétrique comporte deux triazoles et sur le noyau aromatique deux atomes de fluor. Il constitue le traitement de première intention des

candidémies et joue un rôle important dans la prévention des cryptococcoses à travers le monde. Il est bien toléré chez les patients ne présentant pas de pathologie associée. Les principaux effets secondaires rapportés sont à type de céphalées, nausées, douleurs abdominales, rashs cutanés, vomissements et diarrhées. Le fluconazole est également potentiellement hépatotoxique [109, 110].

L'itraconazole, un autre dérivé triazolé de deuxième génération, approuvé par la FDA en 1992 dans le but d'avoir un spectre d'activité plus large que celui du fluconazole. C'est un analogue structural du kétoconazole dans lequel le noyau imidazole a été remplacé par un 1,2,4-triazole et l'acétyle par un groupement 3-oxotriazolylphényl substitué. Il a un large spectre d'activité qui inclut *Aspergillus*, *Candida albicans* et les autres espèces de *Candida* [111, 112].

L'apparition de souches résistantes au fluconazole et aux autres molécules antifongiques justifie pleinement la recherche intensive d'antifongiques plus puissants d'où le développement d'une nouvelle formulation d'Itraconazole en 1997, permettant d'améliorer son absorption et de diminuer sa toxicité, et la commercialisation de nouvelles formes galéniques de l'Amphotéricine B : les complexes phospholipidiques (1997) et les formes liposomales (1998), améliorant ainsi la tolérance rénale et permettant l'administration de doses plus élevées de ce principe actif [97].

Par la suite, deux autres molécules triazolées ont fait leur apparition notamment le voriconazole, le posaconazole et le ravuconazole. Le voriconazole, approuvés par la FDA en 2002, est un analogue structural du fluconazole dans lequel un des cycles triazoles est remplacé par une fluoropyrimidine tandis qu'un méthyle est introduit en alpha. Il a un spectre d'activité comparable à celui de l'itraconazole. L'efficacité du voriconazole dans le traitement de l'aspergillose invasive et les infections de *Scedosporium apiospermum* et *Fusarium spp.* réfractaires aux autres traitements a été mise en évidence en 2002 [113]. C'est un antifongique qui est disponible pour l'administration orale et intraveineuse. Son intérêt est dû à sa puissante activité antifongique vis-à-vis de nombreuses souches dont, particulièrement, *Aspergillus*, *Candida* et *Cryptococcus* [114]. Le posaconazole, approuvés par la FDA en 2006, est un dérivé fluoré du triazolylméthyltétrahydrofurane, sa structure chimique rappelle celle de l'itraconazole avec une longue chaîne latérale et se différencie ainsi du fluconazole et du voriconazole. Son spectre d'activité regroupe de nombreuses espèces fongiques, levures et champignons filamenteux, avec en particulier les zygomycètes qui n'étaient sensibles qu'à l'amphotéricine B. il peut être utilisé pour le traitement de l'aspergillose et la fusariose chez les patients intolérants ou réfractaires à l'amphotéricine B, ainsi que pour la prise en charge

des mycoses dites endémiques (coccidioïdomycose et chromoblastomycose). Le posaconazole est aussi conseillé en prophylaxie primaire des mycoses lors de maladie du greffon contre l'hôte et chez les patients neutropéniques suite à des chimiothérapies pour leucémies [115]. Le ravuconazole, comme le voriconazole et le posaconazole, est un triazole à spectre étendu avec activité contre le *Candida*, *Cryptococcus*, et champignons filamenteux [116]. Parmi les azolés Les plus récents, nous citons l'isavuconazole, développé par Basilea et Astellas (japon) et approuvé en 2015 par la FDA et European Medicines Agency (EMA) pour le traitement de l'aspergillose invasive et la mucormycose lorsque l'amphotéricine B est inappropriée. L'isavuconazole possède un large spectre d'activité, il peut être utilisé contre les moisissures, le *Candida* et les pathogènes rares des levures telles que *Saccharomyces cerevisiae* ou *Trichosporon sp.* [117].

Par la suite, une nouvelle classe d'antifongiques, les échinocandines, a été introduite en 2001 avec la caspofungine, suivie par l'anidulafungine en 2007 et la Micafungine en 2008. Cette nouvelle classe d'antifongiques date des années 1970 avec la découverte en 1974 de l'échinocandine B. cette dernière a été isolée d'une culture d'*Aspergillus sp.* Cette molécule étant très hémolytique, des modifications structurales ont été apportées aboutissant d'une part à la cilofungine développée dans les années 1980 dont le développement a été interrompu à cause de la toxicité de son solvant et d'autre part, au « LY303.366 » développé dans les années 1990 par les laboratoires Eli Lilly. En 1989, les laboratoires Merck ont pu isoler un groupe d'agents chimiquement proches, produits par la fermentation de *Glarea lozoyensis* (champignon issu d'une rivière madrilène, le Lozoya), appelé pneumocandines car actifs sur *Pneumocystis carinii* et *Candida spp.* et appartenant au groupe des échinocandines. Les premières pneumocandines, trop toxiques par leur caractère hémolytique, ont été chimiquement modifiées pour donner la caspofungine, la première molécule de cette classe introduite en thérapeutique, les principales caractéristiques de cette nouvelle classe sont l'absence de résistance croisée avec les autres antifongiques, une faible toxicité, une forte diminution des interactions médicamenteuses, une hydrosolubilité permettant leur administration par voie parentérale et une absorption digestive faible ou nulle [118].

Au fil du temps, d'autres classes d'antifongiques ont vu le jour comme les allylamines (terbinafine, naftifine), les thiocarbamates (tolnaftate), les morpholines (amorolfine) et les pyridones (ciclopirox, ciclopiroxolamine) [97] (Figure 11).

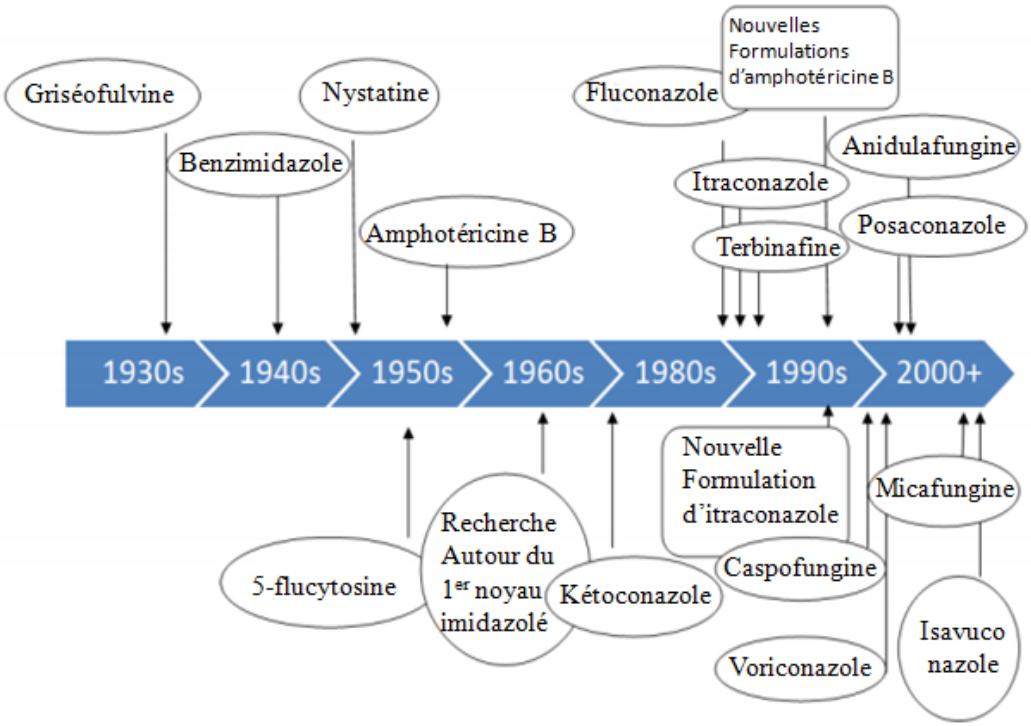


Figure 11: Développement de recherche des antifongiques [97].

3- Classification des traitements antifongiques

Les molécules antifongiques sont classées selon leur structure chimique, leur origine et selon leur mode d'action, ils peuvent être classés aussi selon leur spectre antifongique et selon leur mode d'administration [119].

- Selon le site d'action, il existe différentes classes d'antifongiques :
  - Médicaments agissant au niveau de la membrane :
    - ✓ Perturbateurs membranaires : polyènes ;
    - ✓ Inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol : azolés, allylamines et morpholines ;
  - Inhibiteurs de la biosynthèse des parois cellulaires (inhibiteurs de la synthèse des glucanes) : échinocandines ;
- Selon leur origine, trois classes d'antifongiques sont distinguées :
  - Antifongiques d'origine naturelle : représentés par des produits d'intérêt très différent, la griséofulvine efficace contre les dermatophytes tandis que les dérivés polyéniques présentent des spectres étendus, en particulier l'amphotèricine B, qui demeure un antifongique majeur pour les mycoses profondes ;
  - Antifongiques de synthèse : représentés principalement par les dérivés azolés, flucytosine, allylamines... ;

- Antifongiques semi-synthétiques : les échinocandines.

- Selon la structure chimique, différentes classes sont distinguées :
  - **Benzohydrofurane : griséofulvine**

Elle est obtenue par fermentation de diverses souches de *Penicillium* (dont *P. griseofulvum*) [120]. Elle repésente un fongistatique à spectre étroit, active sur les les trois variétés des dermatophytes : *Microsporum*, *Epidermophyton* et *Trichophyton* [121,122], elle est couramment utilisée pour le traitement des infections de la peau, des ongles et du cuir chevelu causées par les dermatophytes [123].

- **Polyènes**

Représentés principalement par l'amphotéricine B qui possède un spectre large, comportant en particulier les levures et les champignons filamenteux. L'amphotéricine B parentérale est le traitement de choix des mycoses systémiques (candidose, cryptococcose, aspergillose, histoplasmose, blastomycose). L'administration orale est strictement réservée aux candidoses digestives et buccales. Les formulations lipidiques sont indiquées en cas d'insuffisance rénale, ou d'intolérance à l'amphotéricine B conventionnelle, surtout lors d'aspergillose ou de candidose disséminées [124, 125, 126].

- **Antifongiques azolés**

Représentés par des imdazoles et des triazoles, dont le fluconazole qui est très actif sur les *Candida* sauf *Candida krusei* en raison d'une résistance naturelle, et l'itraconazole qui a une bonne activité sur les *Aspergillus* [127].

- **Allylamines**

Sont représentés par naftifine et terbinafine, ils ont un effet fongicide contre les dermatophytes (*Trichophyton*, *Microsporum* et *Epidermophyton spp.*) et les moisissures (*Aspergillus*) et une activité fongistatique contre les *Candida spp.* [128, 129].

- **Fluoropyrimidine : flucytosine**

C'est un antifongique qui a un intérêt vue son utilisation en combinaison avec d'autres agents antifongiques, tels que le kétoconazole, le fluconazole et l'itraconazole. L'association d'amphotéricine B et de flucytosine s'est avérée très efficace contre les maladies opportunistes

des champignons pathogènes tels que *Candida albicans, Candida tropicalis* et *Cryptococcus neoformans* [130, 131].

- **Hydroxy pyrimidine : Ciclopirox Olamine**

Le ciclopirox olamine est utilisé par voie locale dans le traitement des mycoses de la peau comme la candidose cutanée, la dermatophytose et le pityriasis versicolor. Elle a été étudiée pour une éventuelle utilisation dans le traitement de la candidose vaginale. Un vernis composé de 8% de base de ciclopirox est utilisé pour traitement des infections des ongles [132, 133].

- **Thiocarbamates : Tolnafate**

Il est couramment utilisé comme antifongique topique contre les dermatophytoses superficielles légères à modérées, infections de la peau et des ongles, comme le tinea pedis, le tinea cruris, le tinea corporis, tinea manuum, et tinea versicolor. Le tolnaftate est généralement non efficace contre les levures, comme *Candida albicans* [134, 135].

- **Oxaborole (Tavaborole)**

Il a été approuvé par la FDA en 2014 pour le traitement topique de l'onychomycose des ongles d'orteils causée par *Trichophyton rubrum* et *T. mentagrophytes*. Il montre des activités antifongiques contre les levures, les moisissures et les dermatophytes [136, 137, 138].

- **Echinocandines**

Les échinocandines sont des lipopeptides semi synthétiques d'origine fongique, les trois représentants sont la caspofungine, la micafungine et l'anidulafungine. Elles sont fongicides contre les *Candida spp* et fongistatiques contre *Aspergillus spp*, bien que seule la caspofungine porte une indication de la FDA pour *Aspergillus*. Les trois échinocandines diffèrent dans les indications pour lesquelles elles sont autorisées, sur la base des données disponibles pour chaque médicament [139, 140, 141].

4- Cibles biochimiques des antifongiques

Les différences entre les champignons et les eucaryotes supérieurs qui ont été exploités dans la recherche des antifongiques sont la membrane cellulaire et l'architecture de la paroi cellulaire. D'autres cibles existent pour les antifongiques : inhibition de la biosynthèse de l'ADN et la perturbation des fuseaux mitotiques.

4-1- Membrane cellulaire

Les cellules fongiques contiennent une membrane plasmique, composée d'une bicouche lipidique riche en stérols et de protéines liées (N.B. : les stérols sont absents des membranes des cellules procaryotes) (Figure 12). Le principal composant lipidique de la membrane des cellules fongiques est l'ergostérol, équivalent du cholestérol dans les cellules des mammifères (Figure 12). L'ergostérol confère la stabilité et la flexibilité à la membrane. Il est synthétisé au niveau du réticulum endoplasmique par « lanostérol 14α-déméthylase » : Cyp51A/Cyp51B ou Erg11 selon les espèces. La membrane plasmique des cellules fongiques possède un rôle clé dans la structure cellulaire et dans de nombreuses fonctions physiologiques, comme la division ou le métabolisme. Elle est la cible de plusieurs classes de médicaments antifongiques [142, 143].

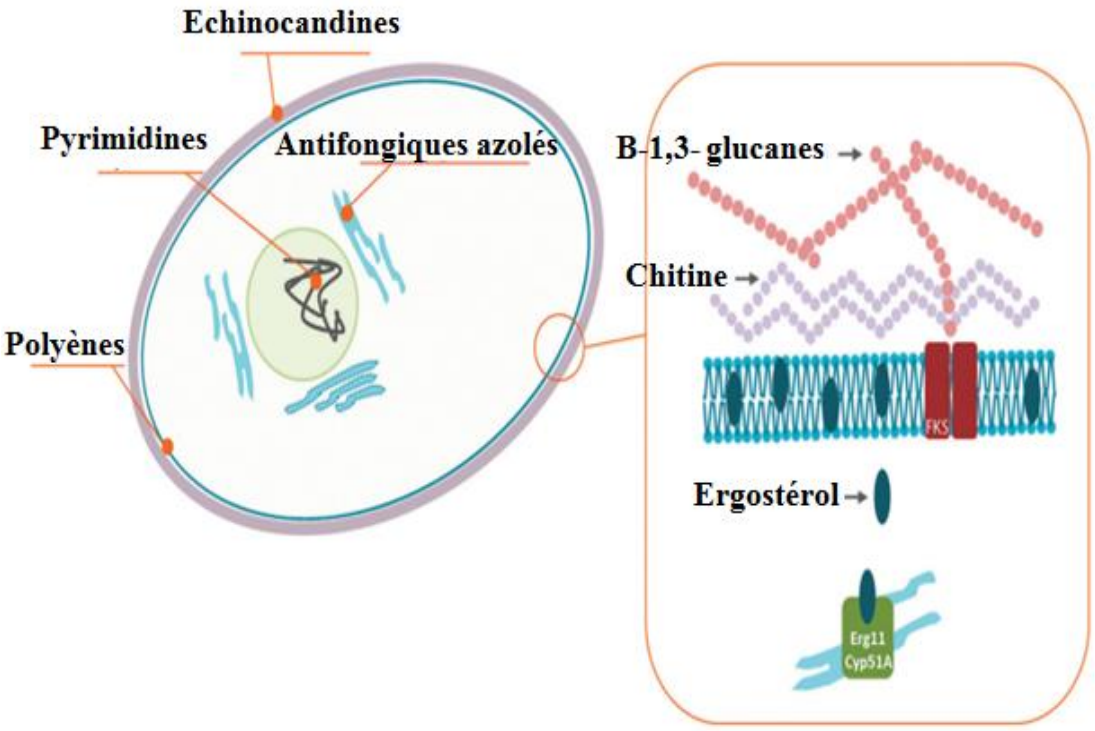


Figure 12: Structure de la membrane et de la paroi des cellules fongiques et cibles des antifongiques systémiques [142].

La différence de structure entre l'ergostérol et le cholestérol peut être mise à profit afin d'obtenir une bonne sélectivité d'espèce et réduire la toxicité des médicaments.

La figure 13 ci-dessous, illustre Cette différence, au niveau du tétracycle, les insaturations sont différentes : l'ergostérol possède deux doubles liaisons conjuguées 5,6 et 7,8 dans le cycle B ce qui lui confère le caractère de provitamine D, alors que le cholestérol ne possède

que la double liaison 5,6 caractéristique des stérols et le carbone 8 possède un hydrogène d'orientation β.

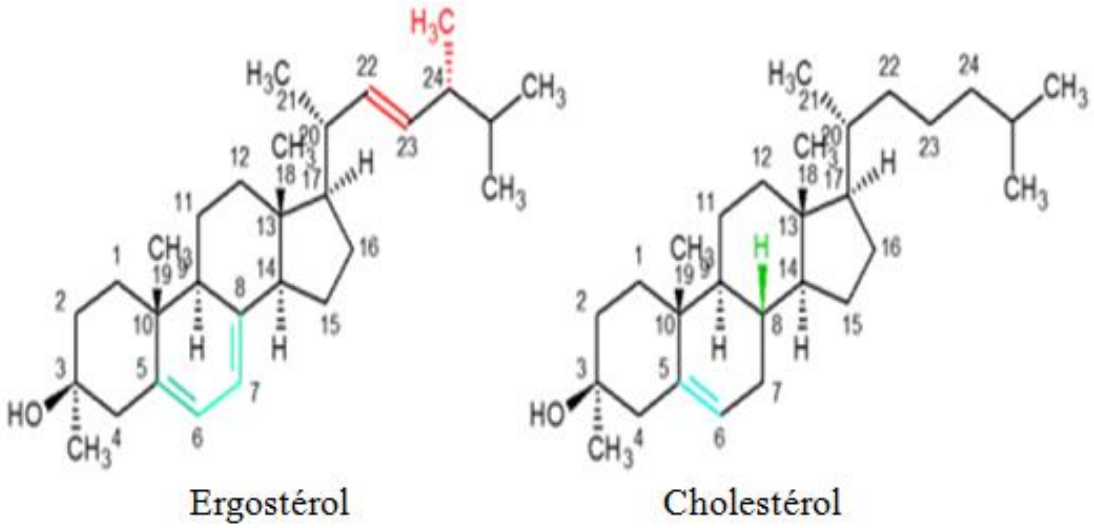


Figure 13: Structure chimique de l'ergostérol et du cholestérol [144].

La biosynthèse de l'ergostérol par les cellules fongiques à partir du squalène est simplifiée dans la figure 14 [145] :

- Le dernier précurseur non stéroidien de l'ergostérol et du cholestérol est le squalène hydrocarboné ;
- Le squalène est converti en époxyde de squalène par l'enzyme squaléne époxydase ;
- L'époxyde de squalène est ensuite cyclisé en lanostérol, le premier stéroide de la voie de biosynthèse ;
- Les étapes nécessaires pour la conversion de la chaine latérale du lanostérol en chaine latérale de l'ergostérol et les étapes d'élimination des groupes diméthyliques géminaux en position 4 ne sont pas montrées, car aucune de ces réactions n'est ciblée par les antifongiques utilisés.
- Une étape clé dans la conversion du lanostérol en cholestérol et en ergostérol est l'élimination du groupe 14α-méthyle. Cette réaction est réalisée par une enzyme cytochrome P450, la 14α-déméthylase. Le groupe méthyle est éliminé sous forme d'acide formique pour donner une double liaison entre C14 et C15 du cycle D [145].

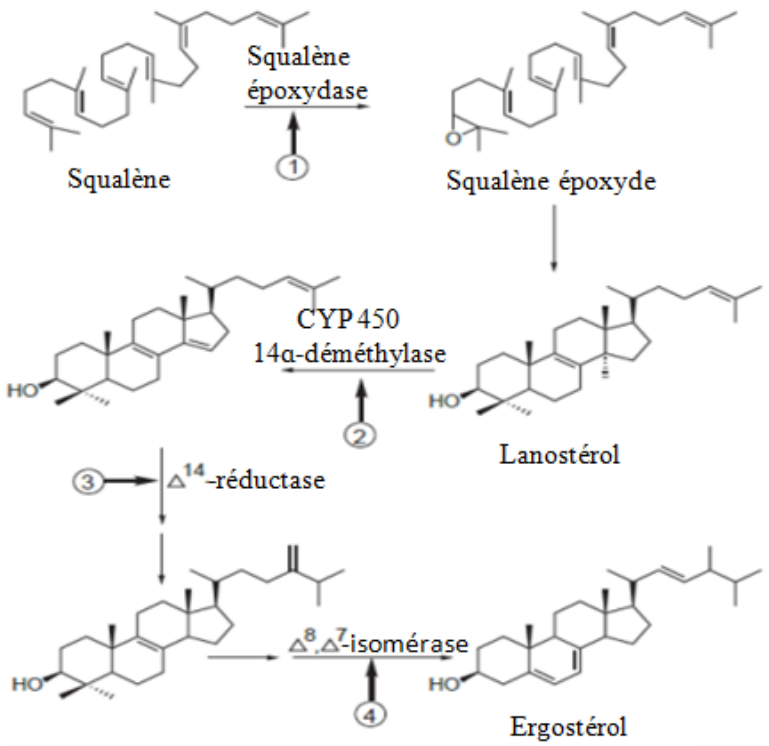


Figure 14: Biosynthèse de l'ergostérol par les cellules fongiques à partir du squalène [145]

4-2- Paroi cellulaire

À la différence des cellules de mammifères, la membrane plasmique des cellules fongiques est entourée d'une paroi riche en polysaccharides (80-90 %), indispensable à la viabilité et à la virulence. La paroi fongique représente une structure dynamique. Le cœur de la paroi est constitué de -1,3-glucanes et de chitine, respectivement polymères de glucose et de N-acétylglucosamine. Les -1,3-glucanes sont synthétisés au niveau de la membrane plasmique par la -1,3-glucane synthase, enzyme constituée d'une sous-unité catalytique FKS et d'une sous-unité régulatrice Rho1. À cette structure centrale -1,3-glucanes/chitine se lient d'autres polysaccharides (ex. -1,3-glucanes, -1,6-glucanes) et des protéines (ex. : mannoprotéines), variables selon les espèces (Figure 15) (N.B. : la paroi fongique ne contient pas de peptidoglycane). En contact direct avec le milieu extérieur, la paroi fongique a un rôle clé dans la pathogénèse, notamment dans les processus d'adhérence et d'invasion, et dans l'immunité innée et adaptative. Elle est aussi essentielle à la morphogénèse. À titre d'exemple, plus d'un cinquième du génome de la levure modèle Saccharomyces cerevisiae est impliqué dans la biosynthèse de la paroi fongique, témoignant de son importance. La plupart de ses constituants étant absents des cellules humaines, la paroi fongique apparaît comme une

cible idéale pour des médicaments antifongiques. C'est le cas des échinocandines, qui inhibent la synthèse des -1,3-glucanes pariétaux [142, 143].

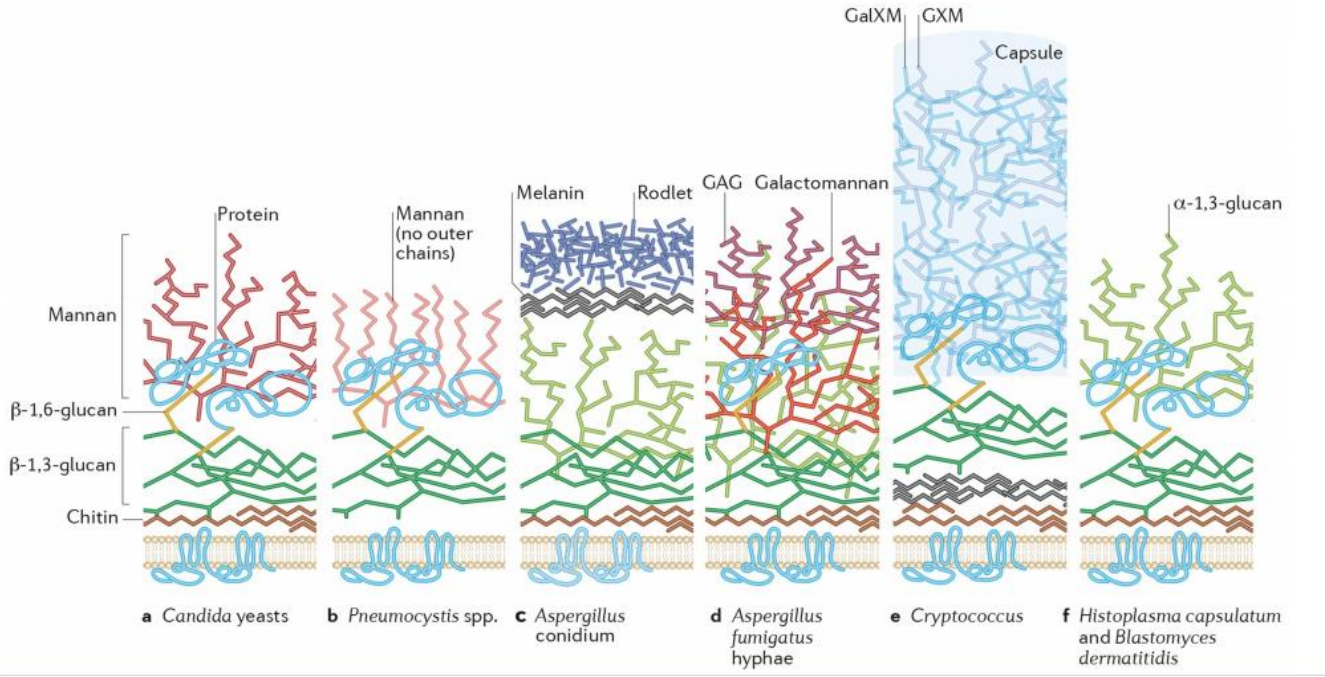


Figure 15: Structure des parois cellulaires de certaines espèces fongiques pathogènes [143].

5- Antifongiques azolés

5-1- Structure chimique des principaux représentants

5-1-1- Dérivés azolés de première génération : dérivés de l'imidazole

Les premiers représentants azolés sont des dérivés de l'imidazole dont les plus importants sont : le miconazole, l'éconazole et le tioconazole, ils renferment dans leur structure un imidazole, deux phényles mono ou bi substitués par le chlore (Figure 16).

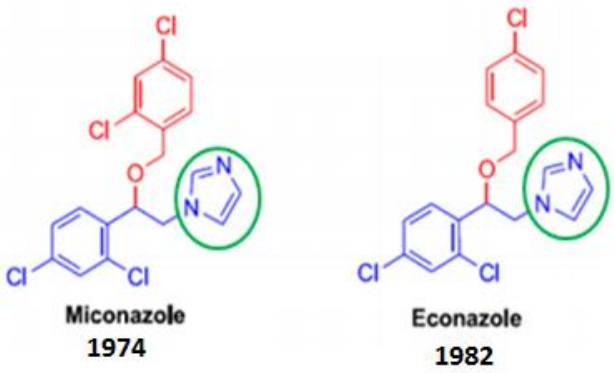


Figure 16: Structure chimique des azolés de 1ère génération [146, 147].

5-1-2- Dérivés azolés de deuxième génération : dérivés de l'imidazole

Le kétoconazole est le principal représentant des azolés de deuxième génération, ces derniers renferment dans leur structure un imidazole, un dichlorobenzène et une chaine variable contenant un ou plusieurs hétérocycles selon les molécules (Figure 17).

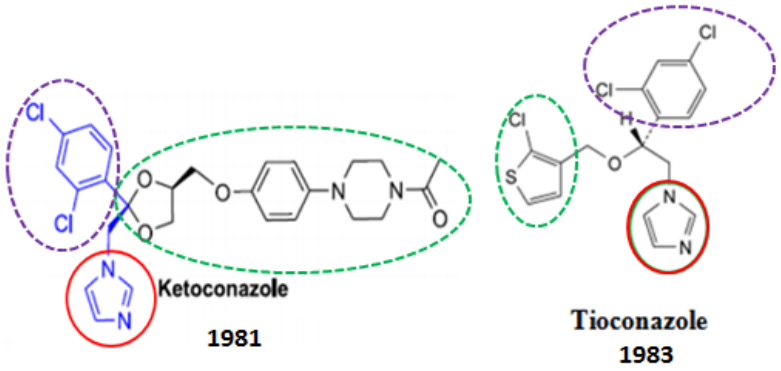


Figure 17: Structure chimique des azolés de deuxième génération [147].

5-1-3- Dérivés azolés de troisième génération : dérivés du triazole

Les triazoles constituent la classe des azolés de troisième génération. Ils sont représentés par le fluconazole, l'itraconazole, le voriconazole et le posaconazole ; l'hétérocycle imidazole a été remplacé par le triazole, le dichlorobenzène conservé dans l'itraconazole et remplacé par le difluorobenzène dans le fluconazole et le voriconazole (Figure 18).

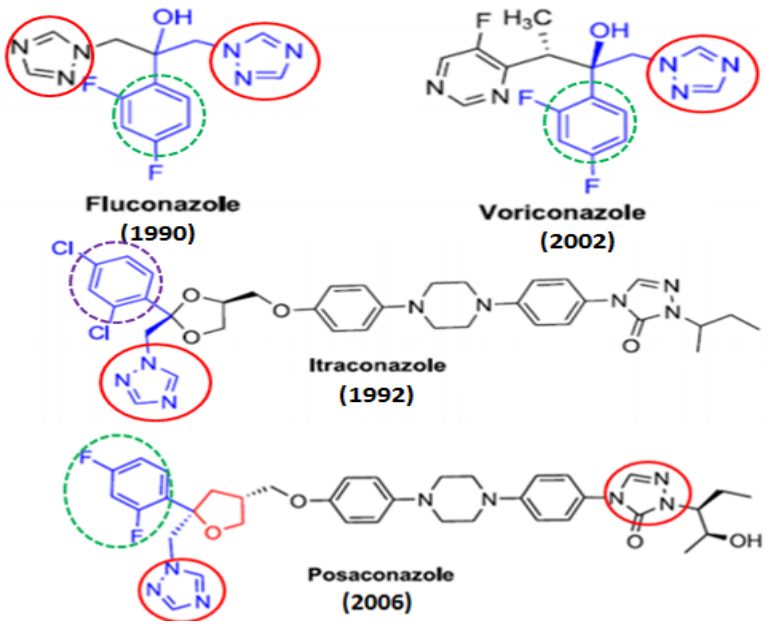


Figure 18: Structure chimique des azolés de 3ème génération [146, 147].

5-1-4- Nouvelles molécules azolées : dérivés triazoles

Ce sont des molécules triazolées représentées par éfinaconazole, isavuconazole et albaconazole qui est toujours en phase d'essais cliniques (Figure 19).

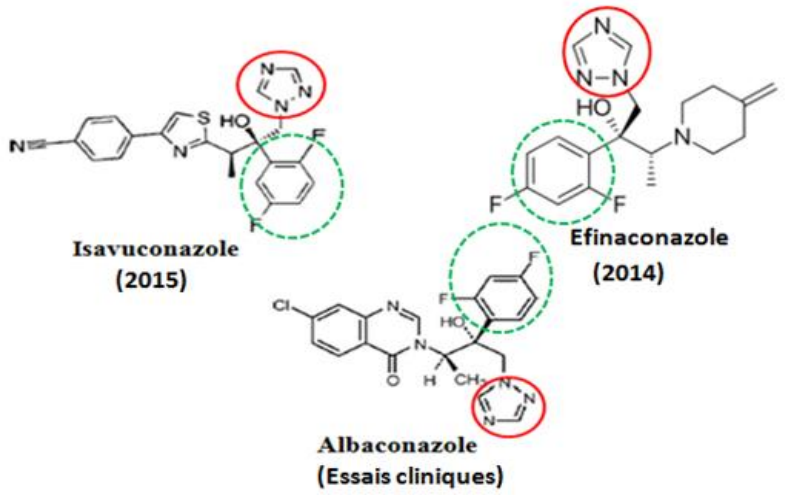


Figure 19: Structure chimique des nouvelles molécules azolées [148, 149].

5-2- Voies d'accès à certaines molécules

5-2-1- Synthèse du miconazole

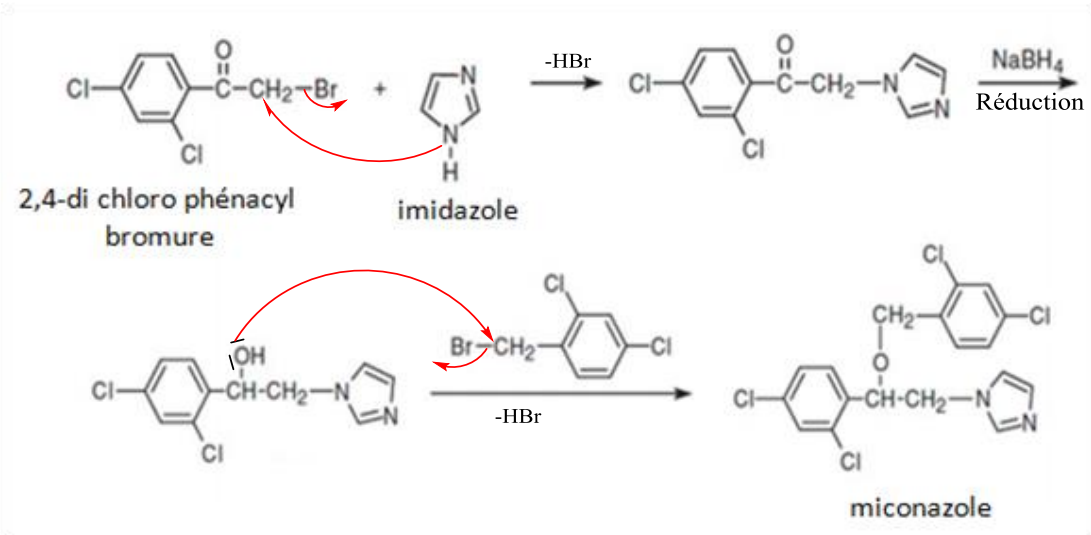


Figure 20: Synthèse chimique du miconazole [100].

Le miconazole est synthétisé à partir du 2,4-dichlorophénacylbromure, qui réagit avec l'imidazole pour donner le 1-(2,4-dichlorobenzoylméthyl) -imidazole. La réduction du groupe carbonyle dans cette molécule avec du borohydrure de sodium donne le 1-(2,4-

dichlorophényl) - 3-(1-imidazolyl) -éthanol, et le groupe hydroxyle est alkylé par le 2,4-dichlorobenzylbromure en utilisant une base puissante telle que l'hydrure de sodium NaH pour obtenir du miconazole (Figure 20).

5-2-2- Synthèse du kétoconazole

Le traitement de la 2,4-dicholoroacétophénone par le glycérol conduit à un mélange de cis et trans aryl-2-méthyl-4-hydroxyméthyl-1,3-dioxalone, qui donne par bromation le mélange de diastéréoisomère bromé. Les benzoates obtenus après estérification par le chlorure de benzoyle dans la pyridine sont déplacés par recristallisation fractionnée dans un alcool (éthanol) où le diastéréoisomère cis moins soluble est séparé. La N-alkylation de l'imidazole par l'isomère cis donne l'intermédiaire imidazolé. Le passage de l'ester benzoïque au mésylate correspondant est réalisé après saponification et réaction avec le chlorure de mésyle. L'attaque nucléophile du mésylate par la 1-acétyl-4-(4-hydroxyphényl) pipérazine en présence d'hydrure de sodium et DMSO fournit le +/- kétoconazole (Figure 21).

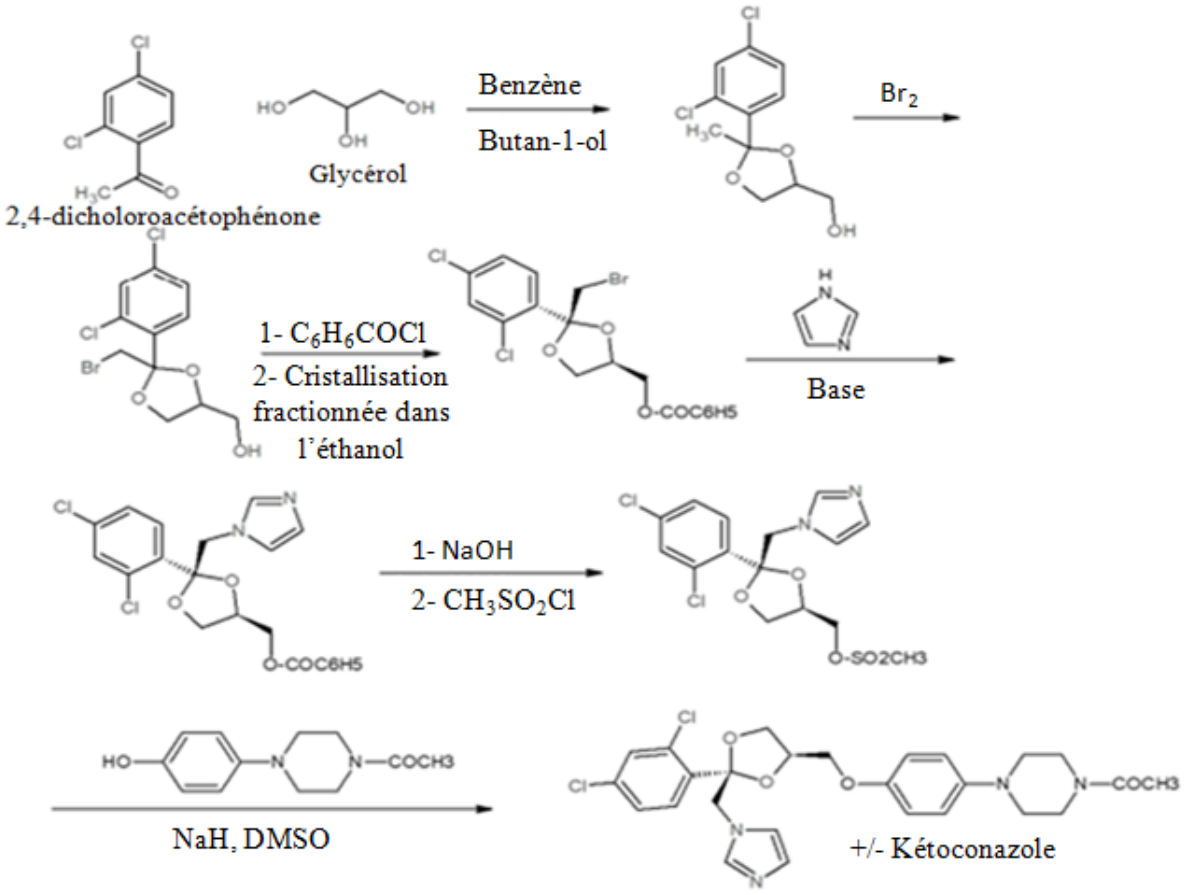


Figure 21: Synthèse chimique du kétconazole [100].

5-2-3- Synthèse du fluconazole

L'une des voies de synthèse fait appel à l'alkylation directe du 1H-1,2,4-triazole par le bromure de 2,4-difluorophénacyle, conduisant à la cétone triazolée. L'insertion de carbone sur le carbonyle selon COREY par l'iodure de triméthylsulfoxonium en présence de NaH dans du toluène ; convertit la cétone en oxirane et du diméthyl sulfoxyde. L'ouverture nucléophile de l'époxyde par l'anion triazolure de sodium fournit le fluconazole (Figure 22).

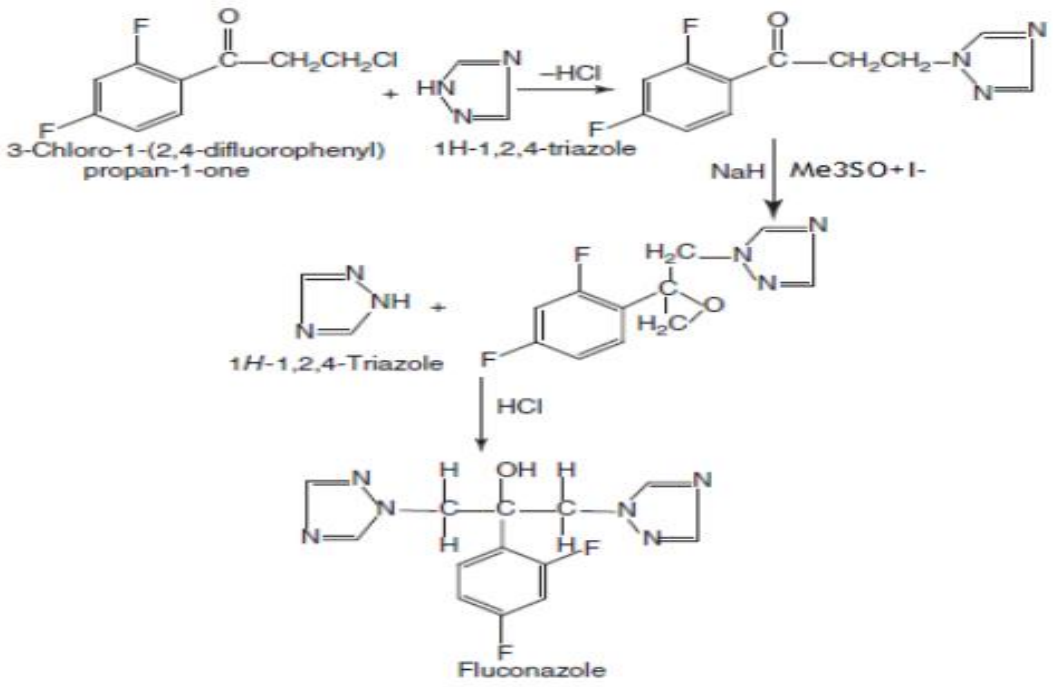


Figure 22: Synthèse du fluconazole [100].

5-3- Propriétés physicochimiques

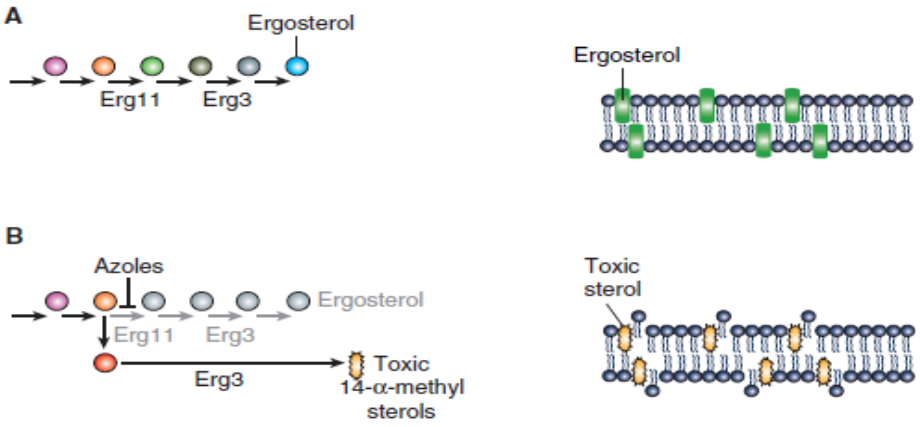
Les caractères organoleptiques ainsi que la solubilté de certains dérivés selon la pharmacopée britannique et la pharmacopée européenne sont cités ci-dessous [146, 150].

- Miconazole : poudre blanche ou sensiblement blanche, très peu soluble dans l'eau, assez soluble dans le méthanol et peu soluble dans l'éthanol à 96 pour cent.
- Econazole : poudre blanche ou sensiblement blanche, pratiquement insoluble dans l'eau, très soluble dans l'alcool et dans le chlorure de méthylène.
- Tioconazole : poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche, très peu soluble dans l'eau, très soluble dans le chlorure de méthylène, facilement soluble dans l'alcool.

- Kétoconazole : poudre blanche ou sensiblement blanche, pratiquement insoluble dans l'eau, facilement soluble dans le chlorure de méthylène, soluble dans le méthanol et assez soluble dans l'éthanol à 96 pour cent.
- Fluconazole : se présente sous forme de poudre cristalline, blanche, peu soluble dans l'eau, soluble dans l'acétone et facilement soluble dans le méthanol, hygroscopique.
- Itraconazole : Poudre blanche ou sensiblement blanche, pratiquement insoluble dans l'eau, facilement soluble dans le chlorure de méthylène, assez soluble dans le tétrahydrofurane et très peu soluble dans l'alcool.

5-4- Mécanisme d'action

Tous les azolés ont un mécanisme d'action identique. Ils inhibent l'enzyme lanostérol 14α-déméthylase (CYP51), une enzyme à Cyt P450 codée par le gène ERG11, qui catalyse une étape essentielle de la biosynthèse de l'ergostérol à partir du lanostérol, principal stérol membranaire, sachant que l'intégrité de la membrane fongique dépend de sa composition en ce dernier et que l'accumulation de lanostérol et des 14-méthyl stérols, désorganisent l'agencement des chaines acyles des phospholipides de la membrane fongique (Figure 23) et gène les fonctions des systèmes enzymatiques liés à la membrane comme l'ATPase et les enzymes responsables du transfert d'électrons [151, 152, 153, 154].



***(A)** : La synthèse de l'ergostérol fongique se produit selon une série d'étapes enzymatiques qui inclut l'Erg11, une 14-α-stérol déméthylase. L'ergostérol synthétisé sera inséré dans les deux feuillets de la bicouche membranaire. **(B)** : Les antifongiques imidazoles et triazoles inhibent l'activité de la 14-α-sterol demethylase, atténuant ainsi la biosynthèse de l'ergostérol et aboutissant à l'accumulation de 14-α-méthylstérols. Ces méthyl-stérols sont toxiques et vont* être *à l'origine d'une perturbation de l'agencement des chaînes acyles des phospholipides, et donc empêchent la croissance des champignons.*

Figure 23: Biosynthèse de l'ergostérol et mécanisme d'action des azolés [155].

Le site catalytique de P450-14 alpha-déméthylase est constitué d'un hème-fer lié, d'une part, à une protéine par le groupement thiol d'une cystéine et d'autre part, à un groupement hydroxyle d'une sérine, thréonine ou d'une tyrosine [100].

Comme toute enzyme CYP, la P450-14 alpha-déméthylase catalyse l'oxydation d'une molécule de substrat. Cette réaction nécessite de l'oxygène moléculaire mais aussi la présence d'un autre partenaire réducteur la NADPH cytochrome P450 réductase (CPR). Un des oxygènes s'insère dans une liaison C-H du substrat tandis que le second est réduit en H_2O. La réaction d'hydroxylation cytochrome P-450 dépendante est représentée dans la figure 24 [156].

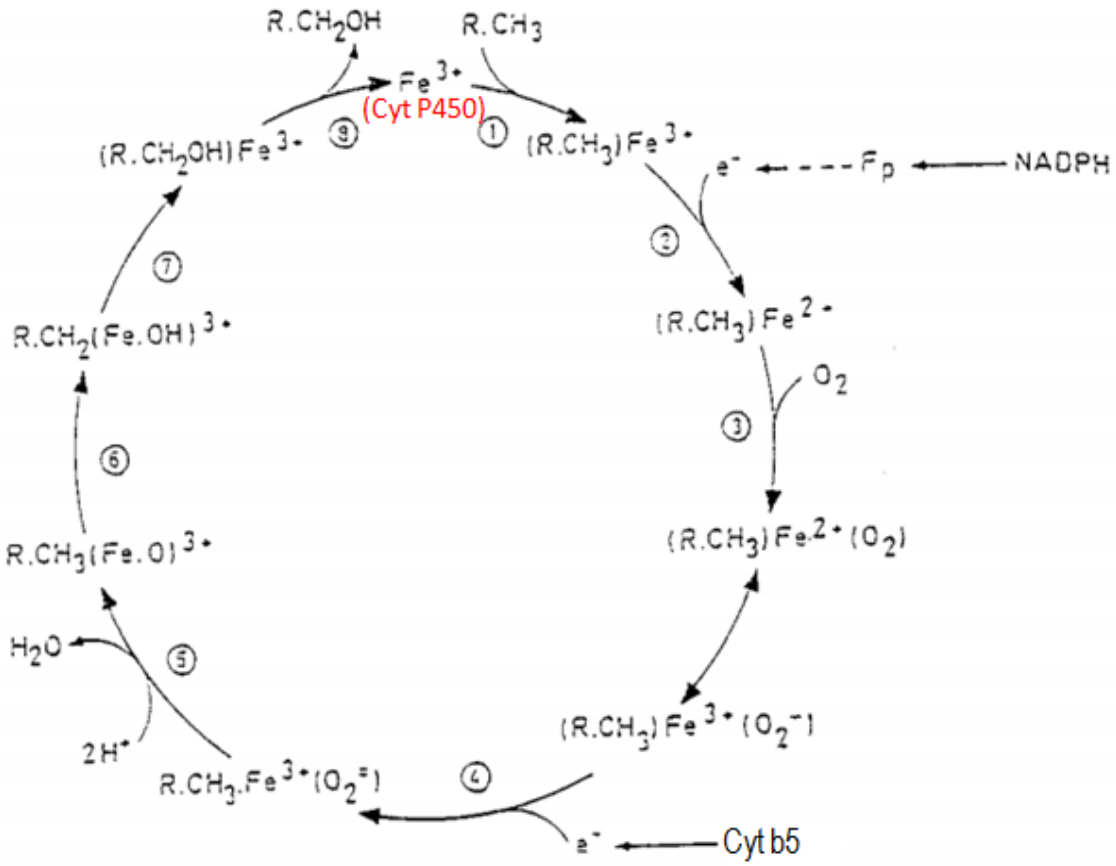


Figure 24: Réaction d'hydroxylation cytochrome P-450 dépendante selon H. VANDEN BOSSCHE [156].

Dans un premier temps (étape 1), le substrat (14 alpha-méthylstérol) se lie au niveau du site de l'enzyme. Au cours de la deuxième étape (2) se produit une réduction par un électron du cytochrome P-450 (l'électron provient du NADPH). Après réduction (étape 3), l'hème se lie à l'oxygène, donnant naissance à un complexe dioxygène ferreux. Une deuxième réduction (étape 4) (au cours de laquelle l'électron est fourni par le cytochrome b5) provoque la rupture

de la liaison oxygène-oxygène. Un atome d'oxygène devient « oxygène activé » (étape 5), l'autre est éliminé sous forme d'une molécule d'eau. Les étapes (étape 6) et (étape 7) correspondent à l'insertion de l'oxygène activé dans le substrat et à la dissociation du complexe alcool primaire - cytochrome P-450. L'étape (étape 8) regénère le cytochrome P-450 (Fe3+).

La liaison d'un antifongique au Cytochrome P450 empêche la formation du complexe « oxygène activé » indispensable à l'hydroxylation du 14 alpha-méthylstérol. Il en résulte une diminution de la synthèse d'ergostérol et donc l'accumulation du 14 alpha-méthylstérol.

5-5- Relation structure-activité

L'inhibition de la synthèse de l'ergostérol provient de la liaison de l'azote non substitué (N-3 ou N-4) de l'imidazole ou du triazole au fer héminique et de la liaison de leur N-1 substituant à l'apoprotéine d'un cytochrome P450 (P450-14 alpha-déméthylase) du réticulum endoplasmique [157]. Les antifongiques azolés dérivés de l'imidazole ou du triazole possèdent en commun les caractéristiques suivantes (Figure 25) :

- Un groupe imidazole ou triazole coordinant l'hème ;
- Un noyau aromatique halogéno-substitué séparé de la fraction azolée par deux atomes ;
- Une chaine latérale variable d'un composé à un autre.

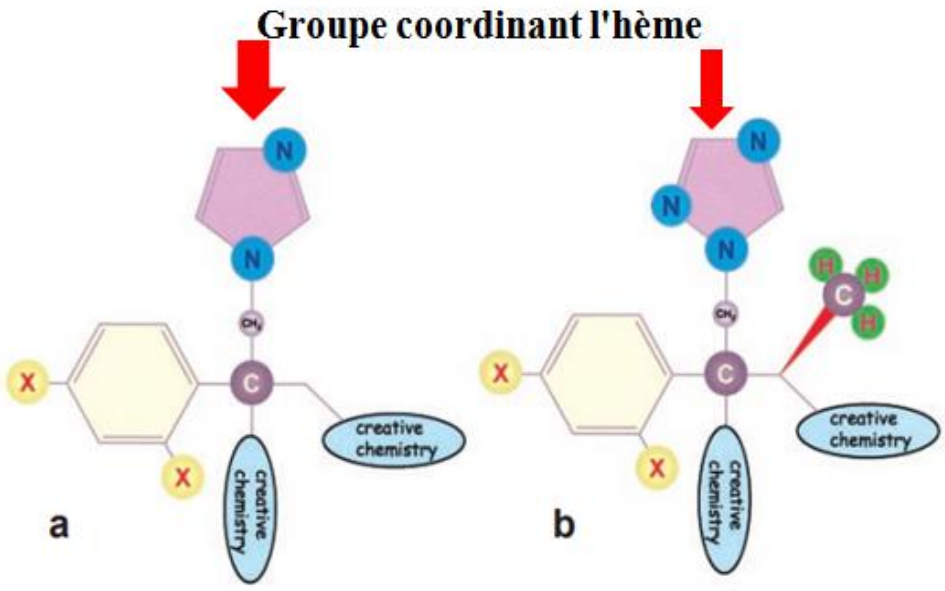


Figure 25: Pharmacophore actif d'un antifongique azolé [158]

La figure (15a) représente la structure commune à la majorité des premiers azolés, avec un cycle imidazole (rose) N-lié par un groupe CH2 à un atome de carbone asymétrique.

Le benzène 2,4 di-halogène-substitué est commun à tous les azoles (X= Cl ou F). Les deux chaines latérales intitulées "chimie créative" indiquent les parties de la molécule pouvant êtres modifiées de manière significative pour créer différentes molécules antifongiques azolées [158].

La figure (15b) représente la structure des dérivés triazolés, dans certaines molécules, nous trouvons un groupe méthyle (au centre à droite) adjacent à l'atome de carbone asymétrique [158].

Les point les plus importants pouvant influencer l'activité d'une molécule azolée sont les suivants [147, 157, 158] :

- Présence obligatoire d'un noyau faiblement basique imidazole ou triazole (pka de 6,5 à 6,8) lié par une liaison azote-carbone au reste de la structure ;
- Le noyau phényle est substitué par 2,4-dichloro ou 2,4-difluoro ;
- L'atome d'halogène qui donne les composés les plus puissants sont le fluor ;
- Un groupement fonctionnel contenant de l'oxygène, tel qu'un alcool, un éther… attaché au C_2 du groupe éthylène liant, a été suggéré comme étant défavorable à l'activité ;
- Dans la plupart des cas, un cycle aromatique secondaire est attaché via un groupe espaceur au centre C_2, le résidu lié au C_2 peut être court comme dans le flconazole, ou long comme dans l'itraconazole ; ce résidu affecte les propriétés physico-chimiques et la pharmacocinétique des azolés.

D'après les données de la littérature, l'antifongique se fixe au niveau du site actif de la CYP51 grâce à trois types d'interactions comme c'est représenté dans la figure 26 [152] :

- Site de coordination avec l'hème ;
- Site de la liaison hydrogène ;
- Site d'interaction hydrophobe.

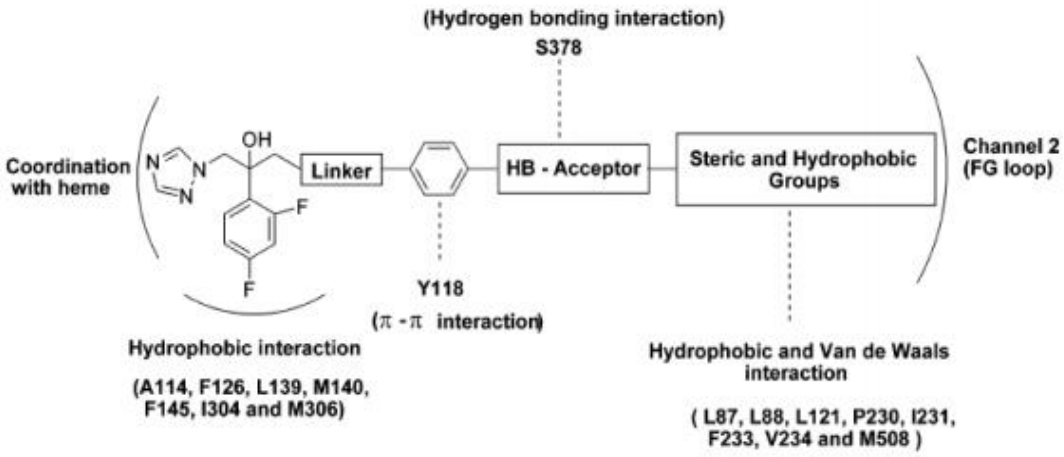


Figure 26: Pharmacophore issu de l'étude réalisée par Sheng et al [152].

Les distances intermoléculaires et les angles dans le modèle de pharmacophore sont importants et conditionnent la fixation au niveau du site actif (Figure 27), des fourchettes ont été fixées pour les différentes distances comme suit [159] :

- a_1 : la distance entre l'atome d'azote hétérocyclique $N_{4(3)}$ de la fraction triazole et l'accepteur de liaison hydrogène ;
- a_2 : la distance entre l'atome $N_{4(3)}$ et le centre de la molécule d'interaction hydrophobe;
- b_1 : la distance entre le groupe OH attaché à C_2 et au centre du phényle ;
- b_2 : la distance entre le groupe CH3 ou l'atome d'hydrogène prochiral attaché à l'atome C_3 et le centre du cycle phényle ;
- c : la distance entre le $N_{4(3)}$ et le centre du cycle phényle.

Les valeurs proposées pour ces différentes distances pour avoir une activité optimale sont [159]:

- a1 = 4,253- 4,528 ;
- b1 = 3,545-3,642 ;
- a2 = 6,233-6,596 ;
- b2 = 3,638-4,059 ;
- c = 4,888-5,193.

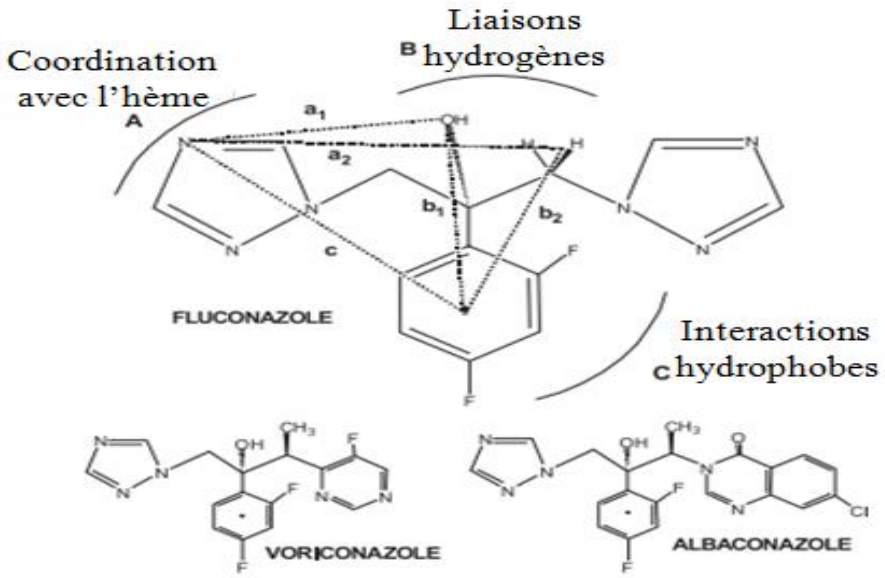


Figure 27: Types de liaisons et distances intermoléculaires au niveau du site actif [159].

Les différentes modifications structurales apportées depuis le miconazole jusqu'à posaconazole et effet sur les propriétés pharmacologiques, pharmacocinétiques et toxicité sont résumés dans les figure 28 et 29.

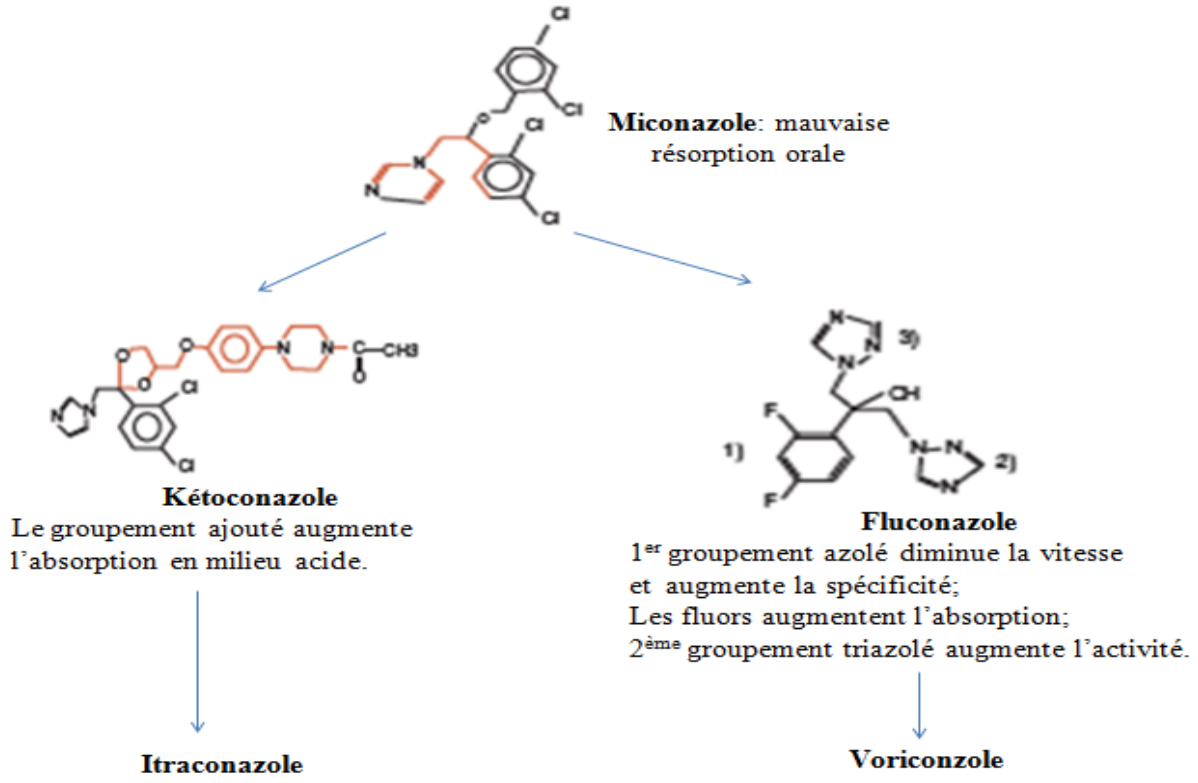


Figure 28: Modifications structurales du miconazole jusqu'à voriconazole et itraconazole et effet sur les propriétés pharmacologiques pharmacocinétiques et toxicité [147].

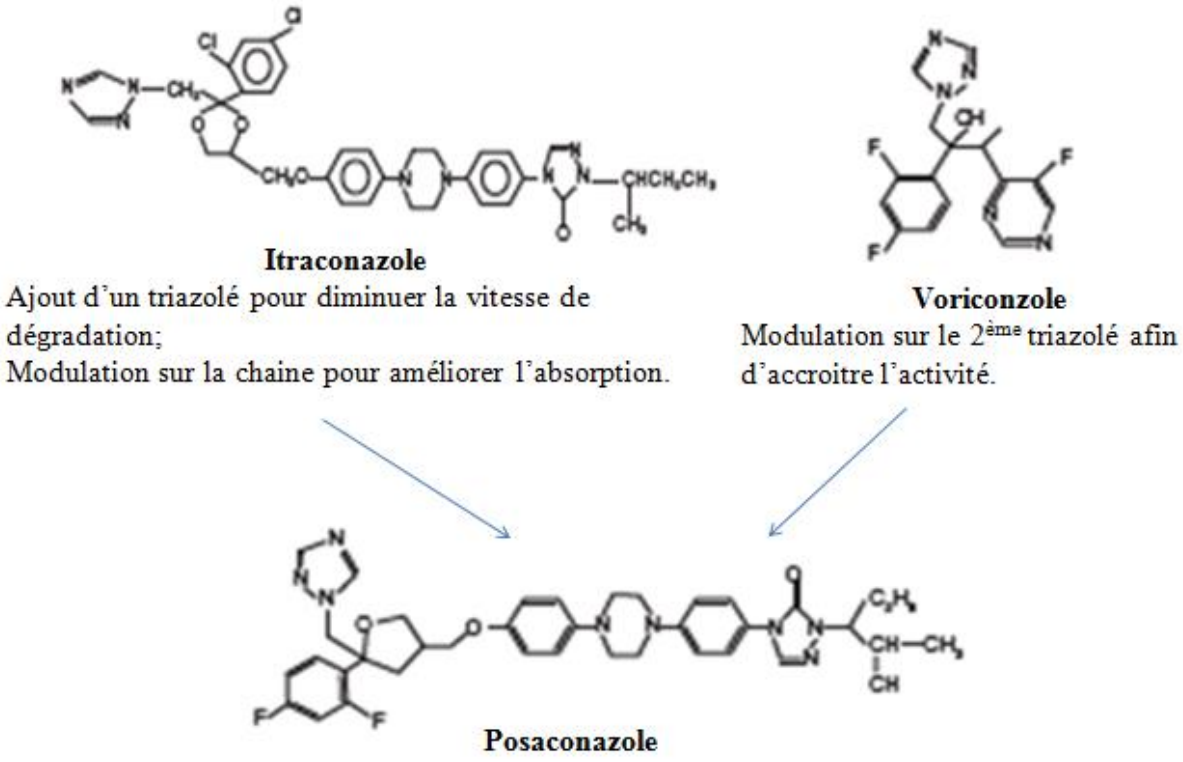


Figure 29: Modifications structurales jusqu'à posaconazole et effet sur les propriétés pharmacologiques pharmacocinétiques et toxicité [147].

5-6- Propriétés pharmacocinétiques

- Miconzole : la biodisponibilite orale du miconazole est faible (25 à 30 %), car le miconazole est peu absorbé à travers les muqueuses buccales et dans le tractus gastro-intestinal. Il est métabolisé principalement par le foie. Une proportion inférieure à 1 % de la dose administrée est retrouvée sous forme inchangée dans l'urine. Il n'y a pas de métabolites actifs et la demi-vie est de l'ordre de 20 heures [160].
- Econazole : très faiblement absorbé par voie vaginale, se lie fortement aux protéines plasmatiques (98%). Il est éliminé par voie rénale et fécale. Après administration cutanée, il s'accumule dans la couche cornée pendant 5 à 16h. Cependant, il pénètre très bien le derme, jusqu'aux couches cellulaires dermiques les plus profondes. Entre 0.5% et 2% de la dose appliquée parvient à atteindre la circulation sanguine. Le passage de l'éconazole dans la circulation sanguine par voie transcutanée peut être augmenté en cas d'application sur une peau lésée [161, 162].
- Tioconazole : Le tioconazole est très peu absorbé par la peau. De petites quantités sont absorbées par voie systémique après administration intravaginale [163].

- Kétoconazole : la biodisponibilité orale du kétoconazole est très variable et dépend de la nutrition et du pH gastrique. Sa liaison aux protéines plasmatiques s'élève à 84%, 15% sont liés aux érythrocytes. Le kétoconazole est transformé dans le foie en métabolites inactifs par le CYP3A4 et éliminé par la bile. Sa demi-vie d'élimination $t_{1/2}$ est de 2 h [164].
- Fluconazole : après administration orale, le fluconazole est bien absorbé, biodisponibilité > 90%. Son absorption n'est pas influencée ni par le pH gastrique, ni par l'apport alimentaire ni par les troubles gastro-intestinaux. Il se lie aux protéines plasmatiques (12%), et le $t_{1/2}$ est de 30 h, il est principalement éliminé par les reins (60 à 80 %) [164].
- Itraconazole : disponible à la fois dans une formulation intraveineuse et une cyclodextrine orale qui a une biodisponibilité beaucoup plus grande que les anciennes capsules d'itraconazole, il est faiblement absorbé après administration orale, son absorption est dose et temps dépendante**.** Son administration devra être concomitante des repas surtout gras (90 %) afin d'améliorer sa biodisponibilité. Une mauvaise absorption est observée en cas d'hypochlorie gastrique [165, 166].
- Voriconazole : iI est bien absorbé et montre une très bonne biodisponibilite orale supérieure à 80 % avec un pic sérique 1-2 heures après administration orale ; sa demi-vie est de l'ordre de 6 heures. Son faible volume de distribution (2 litres /kg) montre sa bonne répartition dans les liquides biologiques et les tissus. Les concentrations sériques sont peu différentes des concentrations dans le liquide céphalo-rachidien. Sa liaison aux protéines plasmatiques est de 58 % et sa concentration au niveau de la salive correspond à 65 % de sa concentration plasmatique [167].
- Posaconazole : après administration orale, le posaconazole possède une biodisponibilité absolue qui est estimée entre 8 à 47 %. La faible biodisponibilité peut s'expliquer par la forte lipophilie du posaconazole, par un éventuel effet de premier passage..., les facteurs importants qui contribuent à une meilleure biodisponibilité comprennent l'administration avec des aliments riches en graisses, absence de diarrhée, faible valeur du pH gastrique. Environ 77% du posaconazole est éliminé dans les fèces (deux tiers sous forme de composé inchangé) et le reste dans l'urine, principalement sous forme de métabolites glucuronidés [167, 168].

- Isavuconazole : est fortement lié aux protéines plasmatiques (> 99 %), métabolisé au niveau hépatique par cytochrome P450 (CYP3A4 et CYP3A5). Excrétion urinaire. Des

quantités égales de métabolites sont excrétées par l'urine et les fèces. L'isavuconazole a une longue demi-vie d'élimination (80 à 120 h) et la clairance [169].

- Efinaconazole : c'est un antifongique à usage externe, il présente donc une concentration systémique relativement faible. La demi-vie plasmatique après 10 jours d'administration chez les patients atteints d'onychomycose était de 29,9 h. Il se lie fortement aux protéines plasmatiques (95,8 à 96,5%) ; l'efinaconazole est largement métabolisé par des processus d'oxydation et de réduction [170].
- Albaconazole : c'est un triazole en cours d'essais cliniques, il a montré une excellente biodisponibilité orale et une bonne pharmacocinétique, une demi-vie remarquablement longue chez les chiens, les singes et les humains [171].

5-7- Propriétés pharmacologiques et indications

- Miconazole : utilisé pour le traitement de certaines maladies de la peau, des ongles et des muqueuses dues aux champignons : candidose, pityriasis versicolor, dermatophytie... [172].
- Econazole : utilisé en application locale pour la prise en charge des candidoses superficielles, des pityriasis versicolor et des dermatophytoses, il est aussi utilisé pour le traitement de la candidose intravaginale [161, 173].
- Tioconazole : possède un large spectre d'activité, utilisé pour le traitement des candidoses superficielles, des dermatophytoses et pityriasis versicolor [163].
- Kétoconazole : c'est un imidazole pour l'administration topique et systémique. Son spectre antifongique comprend des espèces de *Candida*, *Cryptococcus immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Malassezia furfur*, *Paracoccidioides brasiliensis* et les dermatophytes [164].
- Fluconazole : utilisé pour traiter les infections fongiques à *Candida* et à *Cryptococcus*. Il est plus actif contre le *Candida albicans* que contre d'autres souches (comme *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* et *Candida tropicalis*). Il n'a aucun effet sur les espèces d'*Aspergillus* ou d'autres moisissures. En prophylaxie, le fluconazole est utilisé chez les receveurs de cellules souches hématopoïétiques allogènes. Il peut être utilisé en prophylaxie chez les nouveau-nés très vulnérables à des candidoses envahissantes [174, 164].
- Itraconazole : c'est un azolé à large spectre qui peut surmonter certaines limites du fluconazole et de l'amphotéricine B, il est actif contre les espèces d'*Aspergillus* et certaines espèces de *Candida* résistantes au fluconazole [165].

- Voriconazole : il présente une excellente activité vis-à-vis des principales levures pathogènes avec une activité intrinsèque meilleure que celle du fluconazole, c'est un médicament pivot des mycoses systémiques à *Candida albicans* et aussi dans les atteintes non sévères de la cryptococcose. Le voriconazole présente un spectre d'activité élargi aux *Aspergillus spp.* et à des champignons filamenteux émergents comme *Fusarium spp.* et *Scedosporium apiospermum*. Il ne présente, en revanche, aucune activité vis-à-vis des zygomycètes. Il est aussi le médicament de première intention dans l'aspergillose invasive [175].
- Posaconazole : n'est disponible que par voie orale, présente un spectre analogue à celui du voriconazole sur les levures et *Aspergillus spp.* mais élargi à de nombreuses espèces de zygomycètes. Il est utilisable dans de nombreuses mycoses systémiques en seconde intention en cas d'échec d'un traitement antérieur ou d'intolérance. Son rôle est devenu majeur dans la chimioprophylaxie antifongique primaire chez les patients atteints de leucémie aiguë myéloblastique ou de myélodysplasie traités de manière intensive ainsi que chez les patients allogreffés, de cellules souches périphériques ayant une réaction du greffon contre l'hôte sévère [175].
- Isavuconazole : c'est un triazolé à spectre étendu, utilisé pour le traitement d'aspergillose invasive. L'isavuconazole est également approuvé pour le traitement de la mucormycose invasive lorsque l'amphotéricine B est inappropriée, il offre un spectre d'action couvrant les *Candida spp.*, les *Aspergillus spp.* et les dermatophytes, avec une durée d'action longue, une bonne tolérance et des interactions médicamenteuses limitées [169, 171].
- L'efinaconazole est un nouveau triazole utilisé pour le traitement de l'onychomycose [170, 176].
- Albaconazole : possède un spectre d'action couvrant les *Candida spp.*, *Cryptococcus spp.*, les *Aspergillus spp.*, les dermatophytes et *Trypanosoma cruzi*, en cours d'essais cliniques [171].

5-8- Effets indésirables et toxicité

- Miconazole : rougeur cutanée, démangeaison et sensation de brûlures [172].
- Econazole : sensations de brûlures, des irritations, des démangeaisons, un érythème, des dermites de contact, de l'urticaire ou encore une réaction au site d'application [161, 162].

- Tioconazole : les réactions au tioconazole après administration topique comprennent des brûlures, des démangeaisons et des érythèmes. Les préparations intravaginales peuvent endommager les contraceptifs en latex [163].
- Kétoconazole : des signes d'intolérance digestive (nausées, vomissements), cutanée (prurit, rash cutané, urticaire) ou céphalées et vertiges passagers, il a été associé à de rares cas d'hépatotoxicité grave, comprenant l'insuffisance hépatique et le décès après administration orale [177, 178]. Le kétoconazole a montré un effet tératogène chez le rat [176].
- Fluconazole : en général, il est bien toléré, certains signes d'intolérance digestive (vomissements, nausées) ont été notés, réactions allergiques, éruption cotanée, chute de cheveux, maux de tête, dans des cas rares mais graves, il peut provoquer une hépatotoxicité et allongement de l'intervalle QT dans l'ECG [172, 174, 164]. Le fluconazole est tératogène, peut produire des malformations fœtales (la forte exposition maternelle au fluconazole en début de grossesse a été associée à des cas d'anomalies cranio-faciales et squelettiques) [176].
- Itraconazole : douleurs abdominales, vomissements, diarrhée et les enzymes hépatiques élevées [174]. L'itraconazole a montré un effet tératogène chez le rat [176].
- Voriconazole : sa tolérance est acceptable, les effets indésirables les plus fréquemment rencontrés sont les troubles visuels, une augmentation des transaminases, mais aussi des phosphatases alcalines. Des cas d'hépatites sévères ont été décrits, en rapport avec une augmentation des concentrations sériques du voriconazole. Des toxicités moins fréquentes mais graves comprennent la neurotoxicité avec hallucinations visuelles, qui doit être distinguée des troubles visuels plus courants, des troubles cardiaques (allongement de l'intervalle QT avec arythmies cardiaques associées) de manière concentration-dépendante à partir de concentrations résiduelles supérieures à 5-6 mg/l, et des effets indésirables à long terme au niveau cutané de type photosensibilisation ou carcinogenèse [1, 171]. Le voriconazole a montré un effet tératogène chez le rat [176].
- Posaconazole : c'est un antifongique qui présente des effets secondaires et une toxicité élevée, nous pouvons noter des troubles gastro-intestinaux, une hypotension, céphalées, hypokaliémie, hépatotoxicité et une cardiotoxicité [179].
- Efinaconazole : apparition d'ampoules ou de croûtes autour du site d'application, une éruption cutanée et une enflure de la peau autour de la région touchée [176].

CHAPITRE III : Modélisation moléculaire

1- Généralités sur la modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire a pour but de prévoir la structure et la réactivité des substances ou des systèmes de composés. Elle regroupe l'ensemble des méthodes théoriques et les techniques de calcul utilisées pour des modèles de petites molécules ainsi que de macromolécules biologiques. Elle décrit la création, la manipulation ou la représentation des structures tridimensionnelles des molécules et des propriétés physico-chimiques associées. Il s'agit d'une série de techniques informatisées basées sur la chimie théorique, des méthodes et des données expérimentales pour prédire les propriétés moléculaires et biologiques [180]. Elle comporte trois étapes essentielles ; la première est la description des systèmes d'interactions intra et intermoléculaires. La deuxième étape consiste à calculer la dynamique des molécules. Enfin, la troisième étape consiste à analyser ces calculs pour extraire les propriétés et vérifier le bon fonctionnement du système [181]. Ainsi, elle peut être utilisée pour [182, 183] :

- Étudier les propriétés des matériaux : à partir de simulations moléculaires, un lien peut être établi entre les résultats de calculs menés à l'échelle microscopique (sur un échantillon représentatif d'un groupe d'atomes en interaction) et des propriétés qui sont mesurables à l'échelle macroscopique (sur les systèmes matériels réels que l'on veut maîtriser). Ainsi, peuvent être étudiées les propriétés électroniques de solides cristallins, les propriétés mécaniques des polymères ou encore les propriétés thermodynamiques et spectroscopiques d'une large gamme de produits d'intérêt scientifique et technologique ;
- Développer de nouveaux médicaments : le mécanisme d'action de nombreux médicaments consiste à agir comme inhibiteur (ligand) d'une enzyme (récepteur) impliquée dans la physiopathologie. L'élaboration de la structure tridimensionnelle de protéines impliquées dans plusieurs pathologies a permis, via des simulations informatiques, la découverte d'inhibiteurs puissants pour ces protéines, en réduisant considérablement le nombre d'essais de screening essentiels pour mener à un nouveau médicament ;
- Rationalisation de l'ingénierie enzymatique : le principe est le même que celui du développement de médicaments, en permettant d'étudier les interactions entre les substrats (ligand) et les enzymes (récepteurs), la modélisation moléculaire apporte une meilleure compréhension de la sélectivité enzymatique, au niveau moléculaire. Cela peut rendre possible, par la suite, le développement d'approches prédictives pour la sélectivité des enzymes natives vis-à-vis d'un substrat ou d'une classe de substrats donnée, et aussi,

de déterminer des acides aminés dont la mutation ponctuelle permettrait de modifier la sélectivité ou la spécificité enzymatiques.

2- Docking moléculaire (amarrage) : simulations de docking

2-1- Définition

Le docking moléculaire (ancrage ou amarrage en français) est devenu un outil de plus en plus important pour la découverte de médicaments. Dans le domaine de la modélisation moléculaire, le docking représente une méthode qui prévoit l'orientation d'une molécule par rapport à une autre pour former le complexe (récepteur/ligand) le plus stable. Les associations entre des molécules d'intérêt biologique comme les acides nucléiques, les protéines, les glucides et matières grasses ont un rôle important dans la transduction du signal. D'ailleurs, l'orientation relative des deux molécules associées peut avoir une influence sur le type du signal produit (antagoniste ou agoniste…). Le doking moléculaire est couramment utilisé afin d'étudier la cible biologique des médicaments et réduire ainsi les essais expérimentaux [184].

2-2- Interactions intermoléculaires (ligand-récepteur)

Les complexes formés (ligand-récepteur) sont stabilisés par différents types d'interactions intermoléculaires : électrostatiques, hydrophobiques, Van der Waals et ponts hydrogène.

2-2-1- Interactions de Van der Waals

Les interactions de Van der Waals (Figure 30) sont des interactions électriques de faible intensité qui s'exercent entre les molécules présentant un moment dipolaire. Elles sont très faibles, mais dans le cas des macromolécules, leur nombre élevé va produire au total une force importante. Pour les atomes distants de 3-4 A°, l'énergie de liaison est comprise entre 0,4 et 4 KJ/mol [185].

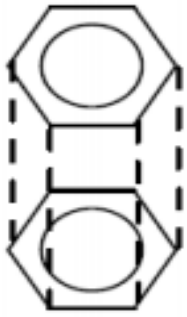


Figure 30: Interactions de Van der Waals [185].

2-2-2- Liaisons hydrogènes

Une liaison hydrogène est une liaison entre deux atomes attirés l'un vers l'autre pour des raisons électrostatiques, le premier doit être riche en électrons donc nucléophile et le deuxième ayant juste les protons de son noyau donc électrophile, elle est de faible énergie (Figure 31). Sa force est de l'ordre de 2 à 4 Kcal/mol. Les liaisons hydrogènes sont peu nombreuses et s'adaptent très bien à la flexibilité (l'angle peut varier de 120° à 180°) [185, 186].

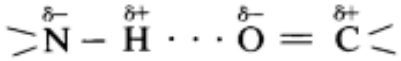


Figure 31: Liaisons hydrogènes [186].

2-2-3- Liaisons hydrophobes

Les molécules ou groupes d'atomes non polaires ne sont pas capables de former des liaisons hydrogènes et ne peuvent pas s'hydrater : pour cette raison, ils sont nommés substances hydrophobes. L'effet hydrophobe est la tendance que possèdent ces groupes à se rassembler par coalescence de façon à réduire les contacts avec l'eau (Figure 32). Les liaisons hydrophobes ont une énergie de l'ordre de 7 kcal/mol [186].

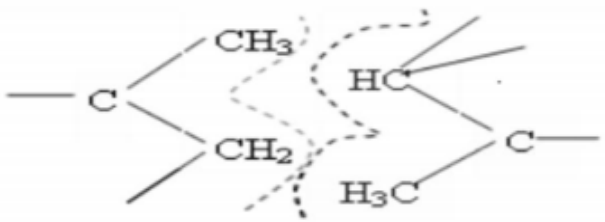


Figure 32: Interactions hydrophobes [186].

2-2-4- Interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques agissent à plus grande distance entre dipôles chargés (Figure 33). La distance pour une liaison saline est de 3,7 à 4,5 Å ; et sa force est de l'ordre de 8 Kcal/mol. En présence de solvant, ces interactions sont favorisées grace à la petite taille et la polarité de la molécule d'eau [185].

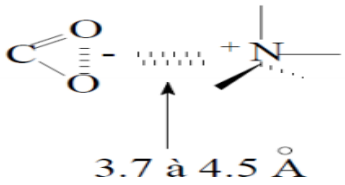


Figure 33: Interactions électrostatiques [185].

2-3- Théorie de base du docking

Le docking moléculaire a pour but de prédire le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations convenables pour la fixation d'un ligand à un récepteur. Les méthodes de docking visentà placer le ligand dans le site actif de la cible et à échantillonner les conformations, positions et orientations (poses) possibles, en ne retenant que celles qui représentent des modes d'interaction favorables (Figure 34), cette étape fait appel aux algorithmes de docking afin d'améliorer la vitesse et la précision des simulations ; ensuite, un scoring est réalisé afin d'évaluer l'affinité entre le ligand et la protéine dans chacun des complexes sélectionnés lors de l'étape précédente, cette étape est réalisée grâce à des outils informatiques nommées fonctions de score, qui permettent d'évaluer les différentes contributions énergétiques pour la stabilisation du complexe protéine-ligand, et ordonner ensuite ces complexes, permettant ainsi l'identification des modes d'interaction les plus probables [187].

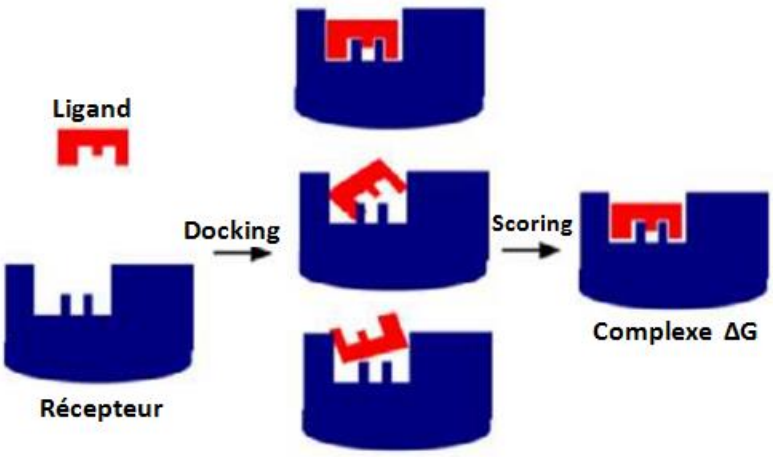


Figure 34: Principe général d'un programme de docking [188].

2-3-1- Algorithmes du docking

Le docking peut être fait manuellement par le modélisateur en plaçant le ligand dans le site

actif de la protéine, à l'aide d'une interface graphique. Par la suite, la géométrie de l'ensemble est optimisée afin de corriger les contraintes stériques et d'obtenir un complexe (ligand/récepteur) énergétiquement stable, mais cela nécessite d'avoir le mode d'interaction réel du ligand, et dans la plupart du temps, le mode d'interaction réel n'est pas connu, ce qui a rendu impossible de tester manuellement toute les conformations et orientations des ligands même en tenant la protéine rigide. Pour pallier à ça, des algorithmes de docking sont utilisés, Ils génèrent aléatoirement un nombre imporatant d'orientations possibles pour trouver « la meilleure façon d'insérer » la molécule dans une protéine (au niveau du récepteur ou du site actif), le programme prend en considération tous les degrés de liberté de la molécule (translation et rotation). Pour chaque possibilité, l'énergie est calculée en mécanique moléculaire, en tenant compte de toutes les interactions ligand-récepteur (liaisons de Van der Waals, liaisons H, hydrophobie...) [188].

2-3-2- Fonctions de score

Permettent d'estimer l'enthalpie libre d'interaction. Une fois les conformations du ligand (générées) acceptées selon les différentes approches, leurs affinités pour le récepteur doivent être évaluées. C'est ce qu'on appelle fonctions de score ou fonctions objectives, elles évaluent les résultats de la recherche et attribuent la meilleure énergie (meilleur score) à la conformation du ligand la plus correcte (d'après la recherche). Nous pouvons constater que le rôle de la fonction de score est très important dans tout protocole de docking. Néanmoins, l'emploi d'une fonction de score très précise n'est pas possible à cause du coût computationnel. En conséquence, quelques simplifications et approximations sont posées afin de diminuer la complexité du problème et atteindre au moins une balance entre vitesse de calcul et exactitude du résultat. Une fonction de score doit être efficace et sélective, elle doit diriger la recherche en fournissant un gradient d'énergie, et identifier le mode d'interaction correct [189].

Dans les programmes de docking, nous trouvons différents types de fonction de score :

- Fonctions de score basées sur le champ de force : le score est déterminé en faisant la somme de l'énergie d'intéraction protéine-ligand et de l'énergie interne du ligand [190] ;
- Fonctions basées sur des connaissances statistiques : sont construites à partir de règles fondées sur l'analyse des structures tridimensionnelles du complexe ligand-protéine, des règles définissant la géométrie préférentielle des interactions sont déduites de ces structures grâce à des moyens statistiques [191] ;

- Fonctions empiriques : se basant sur un décompte du nombre d'interactions dans le système protéine-ligand, comme exemple, le nombre de liaisons hydrogènes, les contacts hydrophobes, les interactions hydrophiles, les contraintes de torsion dues à la formation du complexe… [190].

La plupart des programmes de docking implémentent les fonctions empiriques témoignant de leur efficacité en termes de rapport précision/rapidité.

2-4- Approches du docking

En réduisant le système biologique en question à la zone d'interaction ligand-cible, la flexibilité du ligand permet de distinguer deux approches principales de docking : le docking à ligand rigide et le docking à ligand flexible. Le terme rigide désigne la simplification conformationnelle qui consiste à négliger la variation de position des atomes d'un système. Ainsi, l'énergie engendrée par l'interaction des deux entités, le ligand et la protéine, n'est pas minimisée au cours de la manipulation. Il n'y a pas de changement de conformation au cours de la manipulation. La seconde catégorie ligand flexible, considère la protéine comme rigide, et le ligand comme flexible. Contrairement à la rigidité, la flexibilité d'une protéine fait intervenir les contraintes géométriques [192].

2-4-1- Docking avec ligand rigide «docking rigid-body »

Les premiers outils de docking répondaient au principe dit « clef-serrure » ou « lock-and-key » selon lequel le ligand qui représente la clef, est complémentaire au niveau géométrique du site actif de la cible, qui représente la serrure. Supposons le ligand et le récepteur comme deux entités rigides, la recherche de la pose optimale se limite au positionnement en prenant en considération toutes les rotations et les translations possibles pour le ligand à l'intérieur du site d'interaction. Par la suite, toutes les poses incompatibles avec le site actif sont éliminées par une image négative du site actif. Enfin, un score sera attribué aux poses sélectionnées et les meilleures sont optimisées.

Le docking avec ligand rigide est peu coûteux en termes de temps de calcul, il utilisé de nos jours comme un premier filtre lors des criblages virtuels, permettant ainsi d'éliminer des molécules aberrantes (mauvaise complémentarité avec le site de liaison, …) [187, 192].

2-4-2- Docking semi-flexible

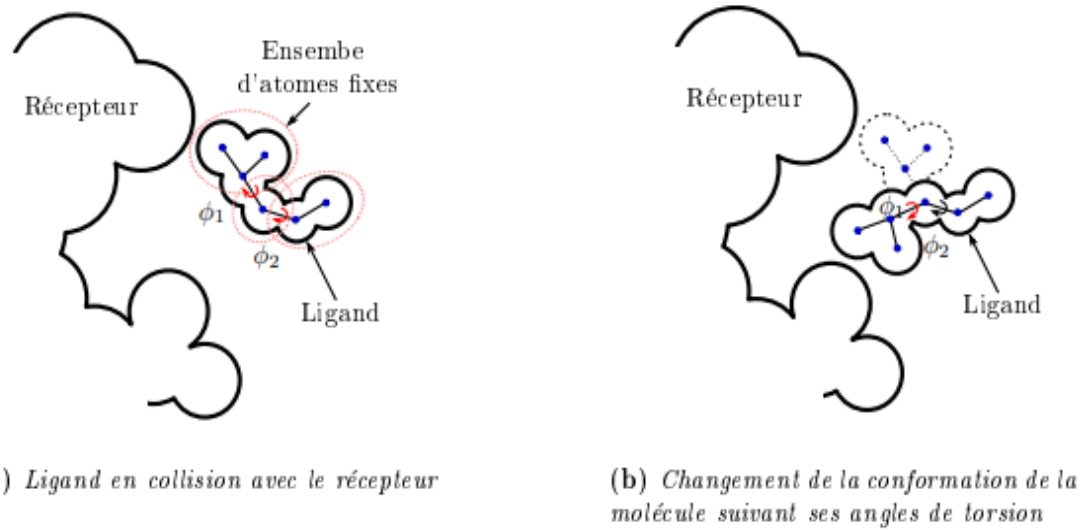
Dans le docking semi-flexible, le récepteur reste rigide au sens où il n'y a aucun mouvement d'atome, et le ligand est flexible, Ainsi, en permettant au ligand d'être flexible grâce à des

mouvements de rotation, des mouvements de translation et des changements d'angles, cela favorise de meilleures interactions entre le ligand et la cible. Le docking semi-flexible est la stratégie implémentée dans la plupart des outils de docking actuels car elle est un bon compromis entre rapidité des simulations et pertinence des résultats. La fonction de scoring est basée sur le champ de force AMBER incluant le champ de force van der Waals, liaison hydrogène, interactions électrostatiques et entropie conformationnelle [187, 193].

2-4-3- Docking flexible

Un docking flexible implique que certains degrés de liberté du site actif sont également débloqués. C'est la stratégie la plus pertinente pour modéliser les phénomènes de reconnaissance moléculaire. La présentation du système biologique comme un système dynamique dont la liaison du ligand au niveau du site actif se fait dans la majorité des cas par un processus de sélection de conformation qui se termine par une étape d'adaptation du ligand et du récepteur l'un à l'autre, donc le ligand mais également le récepteur sont susceptibles de subir des changements conformationnels importants (Figure 35). Malheureusement, le déblocage des degrés de liberté du site de liaison augmente de manière considérable le nombre de possibilités à exploiter, surtout si des mouvements de la chaîne principale sont rendus possibles. Dans ce dernier cas, la géométrie du site peut être sensiblement bouleversée, d'où la difficulté pour estimer la pertinence des réarrangements obtenus à l'issue du processus. L'estimation énergétique est également plus complexe et plus lente car des termes supplémentaires liés aux contacts intra-récepteurs doivent également être ajoutés, alors qu'ils étaient négligés auparavant. Le déblocage d'une partie du site uniquement met en évidence des carences, en particulier dans leur capacité à prédire correctement les réarrangements conformationnels attendus. Pour pallier à ces inconvénients, il existe plusieurs alternatives, la plus inspirée et demandant le minimum de développements techniques, consiste à docker un ligand donné dans un ensemble de conformations du site de liaison qui resteront rigides durant la simulation. Cela nécessite de réaliser « n » simulations de docking semi-flexible pour chaque ligand, où « n » est le nombre de structures du site. Cela peut être réalisé à l'aide de structures expérimentales provenant de la Protéine Data Base (PDB) et/ou de conformations relaxées issues d'une trajectoire de dynamique moléculaire. Les autres approches consistent à échantillonner précisément certains degrés de liberté internes du site actif au même titre que ceux du ligand. Les chaînes latérales sont les degrés de liberté internes les plus faciles à considérer car elles ont un impact limité sur l'aspect global du site de liaison.

Malgré cela, le nombre de possibilités augmente de manière exponentielle avec le nombre et la complexité des chaînes latérales débloquées [193, 194].



(a) *Ligand en collision avec le récepteur*

(b) *Changement de la conformation de la molécule suivant ses angles de torsion*

Les cercles rouges représentent un ensemble d'atomes fixes englobés dans une enveloppe afin d'optimiser le traitement des collisions

Figure 35: Changement de conformation d'un ligand au contact d'un récepteur avec minimisation de l'énergie [192].

2-5- Etapes de docking moléculaire

Deux approches sont principalement employées pour la modélisation du système protéine/ligand [187] :

- La première étape consiste au téléchargement des structures chimiques des cibles, pour cela, il est nécessaire d'aller directement à la Bank PDB (http://www.pdb.org) et trouver où sont déposées les structures de ces cibles biologiques. Ensuite, la PDB contient plusieurs milliers de structures protéiques obtenues soit par cristallographie (rayons X), soit par RMN. Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la Bank, et que cette dernière contient une protéine ayant des séquences similaires, la modélisation par homologie est recommandée afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée. Une fois la cible (PDB) téléchargée, un logiciel de visualisation est utilisé afin de visualiser le ligand co-cristallisé avec l'enzyme.
- La deuxième étape, concerne les structures chimiques du (ou des) ligand(s) utilisé(s) lors de l'amarrage moléculaire. Il existe deux grandes bases de données de structures chimiques des différents ligands. La première représente ces structures grâce à des

programmes d'informatique de modélisation moléculaire, où les différentes structures sont conçues par optimisation de géométrie. Ces structures chimiques sont régies par les lois de la chimie quantique. Dans le deuxième cas, elles peuvent être obtenues à partir des bases de données telles que Pub Chem Project ou autres bases de données des structures. Ces dernières possèdent différentes extensions comme PDB (Protein Data Bank), SDF, …ect.

3- Etude in silico des paramètres pharmacocinétique et toxicité

ADMET désigne "absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité". Celles-ci couvrent les propriétés pharmacocinétiques qui déterminent si un médicament atteindra la protéine cible dans l'organisme, et combien de temps il restera dans la circulation sanguine avant qu'une autre dose ne soit administrée. La toxicité est souvent étudiée au même temps que les paramètres pharmacocinétiques, car les logiciels utilisés pour prévoir la toxicité par calcul sont les mêmes que ceux utilisés pour les calculs ADME. Ces études in silico sont de plus en plus fréquentes de nos jours à cause du coût des essais précliniques et cliniques, nécessaires pour prouver l'efficacité et l'innocuité absolues du médicament, et qui sont aussi plus longues. L'introduction précoce des approches in silico pour la prédiction des propriétés ADME-Toxicité présentent un intérêt grandissant, elles donnent la possibilité de prédire les propriétés de plusieurs milliers de composés avant les étapes de synthèse organique, afin d'identifier les structures qui ont le plus de chance d'aboutir. Il est important de noter que ces approches n'ont pas pour but de remplacer les tests expérimentaux. Elles permettent d'améliorer la prise de décision pour prioriser les prochaines étapes de conception [195].

La prédiction des propriétés d'ADMET est difficile à réaliser. Lorsqu'un composé passe du tube digestif à la cible du médicament, il rencontre des dizaines de milliers de protéines, de lipides, de composés sanguins, etc. L'état actuel de la technologie ne peut pas prédire toutes les interactions potentielles et la probabilité que ces interactions se produisent. Ainsi, la plupart des prédictions d'ADMET sont faites sur la base de données relativement simples, telles que la taille des composés, la lipophilie et les groupes fonctionnels présents. Ce type d'information est utilisé pour développer un modèle QSAR, un modèle d'additivité de groupe. Il existe des programmes QSAR conçus spécifiquement pour prédire ADMET tels que le Predictor ADMET de Simulations Plus. La plupart des équations QSAR d'ADMET sont élaborées à l'aide des normes pratiques consistant à trouver des corrélations entre la propriété à prévoir et les valeurs descriptives comme des calculs de mécanique quantique qui incluent les effets de solvatation [196].

3-1- Principes d'ADME-Toxicité

3-1-1- Absorption et biodisponibilité orale

Il est préférable d'avoir des médicaments qui peuvent être administrés par voie orale sous forme de comprimés, donc nous nous intéressons à la biodisponibilité orale. Pour qu'un médicament soit biodisponible par voie orale, il doit être adsorbé du tube digestif vers le sang. Dans certains cas, il peut être nécessaire que le médicament passe à travers la membrane cellulaire. La majorité des médicaments biodisponibles par voie orale pénètrent dans le sang par l'absorption intestinale passive dans l'intestin grêle. Des mécanismes moins courants pour entrer dans la circulation sanguine sont représentés par le transport actif dans l'intestin grêle, dans l'estomac et dans le gros intestin. Ainsi, l'un des critères de conception est que le médicament doit être soluble au pH de la région du tube digestif dans laquelle il doit être absorbé. L'un des systèmes de transport actif qui améliore l'absorption d'un pourcentage non négligeable de médicaments est le transporteur intestinal de petits peptides humains (hPEPT1). hPEPT1 est un transporteur d'oligopeptides actif, à faible affinité, couplé à des protons. Il possède une large spécificité de substrat qui permet le transport des di- et tripeptides présents dans les produits alimentaires. hPEPT1 est responsable du transport d'une série de produits pharmaceutiques, tels que les antibiotiques β-lactam et les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA). En fonction de la nature du médicament, les transporteurs de vitamines, le transporteur de glucose (GLUT2), et les transporteurs de nucléosides peuvent également jouer un rôle dans le transport des drogues [195, 197].

L'adsorption passive consiste simplement que le composé possède des propriétés qui lui permettent de se rendre au bon endroit. Cela signifie généralement que le composé est suffisamment lipophile pour passer à travers la membrane cellulaire. La règle empirique dans la conception de médicaments à base de composés absorbés passivement est faite en sorte que le produit soit juste assez lipophile pour atteindre la cible. Il n'est pas bon de rendre le médicament plus lipophile que nécessaire, car très lipophile Les composés sont facilement éliminés par le foie. La plupart des outils de calcul permettant de prédire les propriétés d'ADMET sont sous une forme du modèle QSAR. Il peut s'agir d'équations QSAR linéaires, d'équations non linéaires, ou des modèles d'additivité de groupe. Les outils les plus courants de ce type sont les modèles passifs d'absorption intestinale (presque toujours l'absorption dans l'intestin grêle) et des modèles pour prédire la perméabilité de la paroi du côlon à Caco-2.

Caco-2 est utilisé parce qu'il s'agit de l'une des rares mesures expérimentales de biodisponibilité disponibles [195, 198].

3-1-2- Demi-vie du médicament dans le sang

Lorsqu'un médicament est administré, sa concentration dans le sang augmente dans un premier temps rapidement à une certaine valeur de pointe, puis diminue lentement au fur et à mesure qu'elle est éliminée du corps. La demi-vie est le temps nécessaire pour que la concentration dans le sang soit réduite de moitié de la concentration maximale. La demi-vie dans la circulation sanguine peut être affectée par : le régime alimentaire du patient, l'acidité du médicament, la formulation de la forme orale du médicament, si le médicament est pris avec de la nourriture, et si d'autres médicaments sont pris en même temps [195].
La plupart des outils de calcul ADMET sur le marché prédisent simplement un type spécifique d'absorption, de toxicité, etc. Cependant, il est possible de combiner ces modèles pour examiner le taux de pénétration du médicament dans l'organisme et le taux d'élimination afin d'arriver à une prédiction de la demi-vie dans le sang. Ceci est, à son tour, une indication de la fréquence de dosage nécessaire.

Le principal mécanisme d'élimination des médicaments de l'organisme est la dégradation par les enzymes du cytochrome P450 (CYP) dans le foie. Des études ont indiqué que le CYP3A4 est responsable du métabolisme d'environ 50% de toutes les drogues actuellement utilisées. Six enzymes CYP humaines-1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 et 3A4 sont responsables de l'oxydation de plus de 90 % des médicaments utilisés pour le traitement des différentes pathologies. Certaines de ces enzymes ont une tendance prononcée à métaboliser une classe donnée de médicaments ; par exemple, le CYP2C19 et le CYP2D6 sont responsables du métabolisme de nombreux antidépresseurs. Si un médicament est également un inhibiteur du CYP, l'administration de ce médicament ralentira l'élimination des autres molécules prises simultanément. Par conséquence, des précautions doivent être prises pour ajuster les doses des médicaments qui sont pris ainsi que des inhibiteurs du CYP. En raison de ce rôle que jouent les enzymes CYP dans les interactions médicamenteuses, il est intéressant de prédire si les composés seront des inhibiteurs du CYP. Sachant que cela peut être un peu plus complexe qu'une simple simulation docking du médicament dans le site actif du CYP [196, 199].

3-1-3- Passage à travers la barrière hémato-encéphalique

Les médicaments qui agissent au niveau du système nerveux central (SNC) doivent traverser

la barrière hémato-encéphalique (BHE) pour atteindre leur cible moléculaire. En revanche, pour les médicaments avec une cible périphérique, ne doivent pas pénétrer à travers cette barrière pour éviter les effets secondaires au niveau central. La question clé dans le développement des modèles de prévision du passage à travers la BHE est l'utilisation de données appropriées pour décrire l'absorption de ces composés. Une variété de modèles pour prédire le passage à travers la BHE ont été développés et les paramètres moléculaires qui permettent aux molécules de traverser cette barrière ont été étudiés ; comme exemple, les molécules avec une masse moléculaire <450 Da sont plus susceptibles de pénétrer à travers la BHE [199, 200].

3-1-4- Toxicité

La toxicité peut être une source d'échec des essais cliniques, ou une raison pour laquelle les médicaments sont retirés du marché. La prédiction par calcul de la toxicité a des points positifs et négatifs, par rapport à la prédiction des propriétés de l'ADME. Le bon côté est que la prédiction de la toxicité a tendance à être un peu plus précise que la prédiction de l'ADME. C'est parce qu'un modèle de prévision de la toxicité prédit les résultats pour un type spécifique de la toxicité. L'inconvénient est qu'il existe de nombreux types de toxicité :

- Toxicité hors cible (off-target) : dans ce cas, le médicament, conçu pour interagir avec une cible spécifique, peut interagir avec d'autres macromolécules dans l'organisme, induisant des effets indésirables non prévus, comme exemple, l'inhibition des CYP450 peut entraîner une diminution de l'élimination des xénobiotiques et de leurs métabolites, un autre exemple concerne la cardiotoxicité induite par les médicaments bloqueurs des canaux potassiques hERG (gène humain apparenté à l'éther-a-go-go) provoquant des arythmies cardiaques [201, 202];
- Toxicité induite par la modulation de la cible primaire (on target) : dans ce cas, le principe actif se lie à la cible thérapeutique, mais cette dernière peut être présente dans plusieurs tissus non souhaités entraînant une toxicité, un des exemples de ce type de toxicité les composés statines, dont les propriétés hypercholestérolémiques sont dues à l'inhibition de la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl CoA réductase (HMGCoA) dans le foie. Les effets indésirables des statines sont engendrés par l'inhibition de l'HMGCoA réductase dans les muscles, perturbant les modifications post-traductionnelles des protéines pouvant causer une myopathie [203] ;

- Hypersensibilité immunologique : le concept de cette toxicité, développé en grande partie sur la base des travaux pionniers de Landsteiner en 1935, qui a considéré que le médicament ou ses métabolites peuvent réagir avec les protéines de l'organisme (sous forme d'haptène) pour induire la production d'anticorps et des réponses immunitaires. En d'autres termes, le principe actif n'est pas complètement stable et a le potentiel de se lier de façon covalente aux protéines afin d'induire la production d'anticorps responsables des réactions allergiques, nous citons comme exemple le cas des pénicillines pour lesquelles les réactions allergiques sont connues depuis de nombreuses années [204].
- Toxicité associée au métabolisme des médicaments : les xénobiotiques peuvent être métabolisés en espèces chimiques actives (bioactivation). Les métabolites bioactivés peuvent se lier de façon covalente aux protéines natives, modifiant ainsi leurs fonctions biologiques ou entraînant des réponses immunitaires comme dans le cas des haptènes, nous citons comme exemple, l'acétaminophène qui est métabolisé en une espèce bioactive hépatotoxique. Ainsi, la prédiction du métabolisme des xénobiotiques, précisément l'identification des métabolites potentiellement bioactifs, représente l'un des défis actuels de la recherche thérapeutique [205].

Actuellement, des approches in silico existent pour prédire la mutagénicité, la cancérogénicité, la tératogénicité, l'hépatotoxicité, la biodégradation, la bioconcentration, la bioaccumulation, la dose maximale tolérée, la toxicité aiguë et la cardiotoxicité (liaison avec les récepteurs hERG). La plupart des prévisions de toxicité sont faites avec le même type d'algorithmes de calcul qui sont utilisés pour les propriétés « ADME », comme les algorithmes QSAR. L'hépatotoxicité est une préoccupation croissante dans la conception des médicaments. Ces dernières années, un intérêt particulier a été porté à la prévision de l'efficacité des médicaments qui bloquent les canaux potassiques hERG. Un tel blocage peut entraîner des effets indésirables comme l'arythmie cardiaque. Il s'agit en général d'un effet qui est pris en retard dans les essais cliniques ou, pire encore, après la mise sur le marché du médicament. Entre 1998 et 2002, les effets secondaires cardiaques ont été la cause de la moitié des retraits des médicaments du marché. Ainsi, la détection précoce de ces problèmes peut éviter un échec très coûteux. Plusieurs autres types de toxicité sont régulièrement vérifiés par l'utilisation de modèles informatiques. Les modèles de DL50 orale chez le rat, la quantité prise par voie orale qui entraîne 50% de taux de mortalité des animaux de laboratoire, sont utilisés comme mesure générale de la toxicité. Les modèles informatiques prédisent la toxicité pour les rats simplement parce que toutes les données utilisées pour développer ces

modèles proviennent d'études sur les rats. La prédiction de la mutagénicité est également utilisée dans l'industrie pharmaceutique. Ceci est disponible parce qu'il existe suffisamment de données sur la mutagénicité pour générer des modèles informatiques prédictifs. Sachant qu'un produit qui est très mutagène peut également présenter une tératogénicité inacceptable, entraînant des malformations fœtales si la molécule est prise pendant la grossesse. Ces études peuvent aboutir aussi à une contre-indication d'utilisation du médicament chez les nourrissons et les enfants [195, 196, 199].

PARTIE PRATIQUE A : Synthèse chimique et techniques de caractérisation des molécules obtenues :

dérivés de la série [3,5-di (4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole

CHAPITRE I : Matériel et méthodes

Dans cette partie pratique, nous allons nous intéresser à la synthèse et à la caractérisation structurale de 13 molécules appartenant à la nouvelle série : [3,5-di(4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole.

- **Réactifs utilisés**

Les réactifs utilisés dans notre étude sont de grade analytique, ils ont été utilisés sans purification préalable sauf le benzile qui a été obtenu par synthèse chimique.

- **Lieu de l'étude**

La synthèse chimique a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche de Chimie Appliquée et Génie Chimique (LCAGC) de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou (UMMTO) et du laboratoire de chimie thérapeutique de la même faculté.

La caractérisation physicochimique a été réalisée au niveau des structures suivantes :

- Test de solubilité, réactions colorimétriques ainsi que la chromatographie sur couche mince ont été réalisés au niveau du du laboratoire de chimie thérapeutique de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou ;

- Analyse par microscope electronique à balayage et la diffraction de rayons X ont été réalisés au niveau du Centre de Recherche et de Développement Sonatrach (CRD Boumerdes) ;

- Détermination du point de fusion au niveau du Centre de Recherche et de Développement (CRD) Saïdal ;

- La spectroscopie d'absorption dans l'UV-visible a été réalisée au niveau du laboratoire de chimie thérapeutique (UMMTO) et du laboratoire de chimie analytique (UMMTO) ;

- Analyse par spectroscopie IR a été réalisée au niveau du service de Toxicologie médicale du CHU Tizi Ouzou ;

- Analyse RMN a été réalisée au niveau du Centre de Rcherche Scientifisue et Technique en Analyses Physico-Chimques (CRAPC) Bouamail, Alger.

1- Structure chimique et nomoclature des molécules à synthétiser

La formule développée de la nouvelle série à synthétiser est représentée dans la figure 36 et la nomenclature des différents composés dans le tableau II.

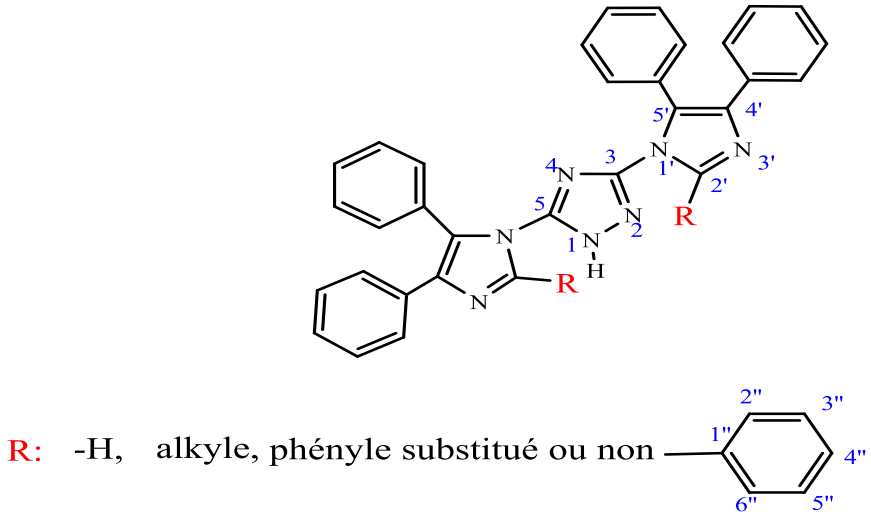


Figure 36: Formule développée de la série « [3,5-di(4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole » à synthétiser.

Tableau II: Nomenclature des molécules M1-M13.

Molécules	R	Nomenclature des molécules
M1	H	3,5-Di-(4',5'-di-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl)-1*H*-1,2,4-triazole
M2	CH_3	3,5-Di-(2'-méthyl-4',5'-di-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl)-1*H*-1, 2,4-triazole
M3	C_3H_7	3,5-Di-(2'-propyl-4',5'-di-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl)-1*H*-1, 2,4-triazole
M4	Phényl	3,5-Di-(2',4',5'-tri-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl)-1*H*-1,2,4-triazole
M5	3,4-dihydroxyphényl	3,5-Di-[2'((3",4"-di-hydroxy)-phenyl)-4',5'-di-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl]-1*H*-1,2,4-triazole
M6	4-hydroxyphényl	3,5-Di-[2'((4"-hydroxy)-phenyl)-4',5'-di-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl]-1*H*-1,2,4-triazole
M7	2,6-dicholorophényl	3,5-Di-[2'((2",6"-di-chloro)-phenyl)-4',5'-di-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl]-1*H*-1,2,4-triazole
M8	4-(diméthylamino)	3,5-Di-[2'((4"-(N,N-di-methyl)-amino)phenyl)-4',5'-di-

Molécules	R	Nomenclature des molécules
	phényl	phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl]-1*H*-1,2,4-triazole
M9	4-méthoxyphényl	3,5-Di-[2'((4"-methoxy)-phenyl)-4',5'-di-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl]-1*H*-1,2,4-triazole
M10	3-nitrophényl	3,5-Di-[2'((3"-nitro)-phenyl)-4',5'-di-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl]-1*H*-1,2,4-triazole
M11	2,4-dichlorophényl	3,5-Di-[2'((2", 4"-di-chloro)-phenyl)-4',5'-di-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl]-1*H*-1,2,4-triazole
M12	2-hydroxy-5-nitrophényl	3,5-Di-[2'((2"-hydroxy-5"-nitro)-phenyl)-4',5'-di-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl]-1*H*-1,2,4-triazole
M13	2,5-dihydroxyphényl	3,5-Di-[2'((2",5"-di-hydroxy)-phenyl)-4',5'-di-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl]-1*H*-1,2,4-triazole

2- Matériel utilisé

2-1- Appareillage

Le tableau III ci-dessous regroupe l'ensemble des équipements utilisés pour la synthèse et la caractérisation structurale des différentes molécules.

Tableau III: Appareils utilisés pour la synthèse et la caractérisation structurale des différentes molécules.

Appareil	Spécifications
Balance analytique de precision	ABT 220-5DM, KERN
Machine à glace	Machine à glace
Plaque chauffante + Agitateur magnétique	STUART-HEAT-Stir /SB162
Hotte à vapeur	KOTTERMANN.
Pompe à vide	/
Microscope électronique à balayage	FEI model quanta 650
Appareil de point de fusion	Fusiomètre de type BÜCHI melting point B545.
Spectrophotomètre UV-Visible à balayage	UV-VIS SPECTRUM, PERKIN-ELMER
Spectrophotomètre infrarouge	SPECTRUM-TWO PERKIN-ELMER
Distillateur d'eau	LAB-TECH WD.2004F
Spectromètre RMN	Bruker Ascend TM 400 spectrometer
Diffractomètre	PANALYTICAL
Lampe UV	VL-6.LC

2-2- Réactifs utilisés

L'ensemble des réactifs utilisés dans cette première partie pratique sont regroupés dans le tableau IV, ils sont de grade analytique sauf le benzile et la benzoine ; ils sont obtenus par synthèse chimique.

Tableau IV: Réactifs utilisés pour la synthèse chimique et la caractérisation structurale des différentes molécules.

Réactifs	Formule brute et fournisseur	Réactifs	Formule brute et fournisseur
Benzaldéhyde	Formule brute: C_7H_6 Mr: 106,12 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS: 100-52-7	2,6 et 2,4-dichloro Benzaldéhyde	Formule brute: $C_7H_4Cl_2O$ Mr : 175,01 g/mol
Cyanure de potassium	Formule brute: KCN Mr: 65,12 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS: 151-50-8	3-nitro Benzaldéhyde	Formule brute: $C_7H_5NO_3$ Mr : 151,119 g/mol
Ethanol	Formule brute: C_2H_6O Mr: 46,07 g/mol Biochem Chemopharma N° CAS: 64-17-5	Iode	Formule brute: I_2 Mr: 253,80 g/mol N° CAS: 7553-56-2 Merck-Millipore
Benzoïne	Formule brute: $C_{14}H_{12}O_2$ Mr : 212,24 g/mol	Iodure de sodium anhydre	Formule brute : NaI Mr: 149,89 g/mol
Acétate de cuivre	Formule brute: $Cu(CH_3COO)_2$ Mr: 181,63 g/mol Labosi	Acide sulfurique	Formule brute: H_2SO_4 Mr: 98,078 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS: 7664-93-9
Acide acétique glacial	Formule brute: $C_2H_4O_2$ Mr: 60,05 g/mol Biochem Chemopharma N° CAS: 64-19-7	Iodure de potassium	Formule brute: KI Mr: 166 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS: 7681-11-0
Benzile	Formule brute: $C_{14}H_{10}O_2$ Mr : 210,22 g/mol	Bromure de potassium	Formule brute: KBr Mr: 119 g/mol Coopération Pharmaceutique Française
3,5-diamino-1,2,4-triazole	Formule brute: $C_2H_5N_5$ Mr: 99,09 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS: 1455-77-2	Cyclohexane	Formule brute: C_6H_{12} Mr: 84,162 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS: 110-82-7
Acétate d'ammonium	Formule brute: $C_2H_7NO_2$ Mr: 77,082 g/mol Riedel-de haën	2-hydroxy-5-nitro Benzaldehyde	Formule brute: $C_7H_5NO_4$ Mr: 167,12 g/mol Merck-Schuchardt

Réactifs	Formule brute et fournisseur	Réactifs	Formule brute et fournisseur
Nitrate de cerium et d'ammonium	Formule brute: $CeH_8N_8O_{18}$ Mr: 548,26 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS: 16774-21-3	Acétone	Formule brute: C_3H_6O Mr: 58,08 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS: 67-64-1
Formaldéhyde	Formule brute: CH_2O Mr: 30,026 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS: 50-00-0	Diéthyl ether	Formule brute: $C_4H_{10}O$ Mr: 74,12 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS: 60-29-7
Acétaldéhyde	Formule brute: C_2H_4O Mr: 44,053 g/mol Riedel-de haën	Diméthyl formamide	Formule brute: C_3H_7NO Mr: 73,09 g/mol Fluka chemical
Butyraldéhyde	Formule brute: C_4H_8O Mr: 72,11 g/mol Merck-Schuchardt	Diméthyl sulfoxide	Formule brute: C_2H_6OS Mr: 78,13 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS: 67-68-5
Benzaldéhyde	Formule brute : C_7H_6O Mr: 106,12 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS: 100-52-7	Acide chlorhydrique	Formule brute: HCl Mr: 36,46 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS : 7647-01-0
3,4 et 2,5-dihydroxy benzaldehyde	Formule brute: $C_7H_6O_3$ Mr : 138,12 g/mol	4-(diméthylamino) Benzaldehyde	Formule brute: $C_9H_{11}NO$ Mr : 149,193 g/mol
4-hydroxy benzaldéhyde	Formule brute : $C_7H_6O_2$ Mr : 122,12 g/mol	4-méthoxy benzaldéhyde	Formule brute: $C_8H_8O_2$ Mr : 136,15 g/mol

2-3- Verrerie et autres

La verrerie utilisée dans cette partie pratique est résumée dans le tableau V ci-dessous.

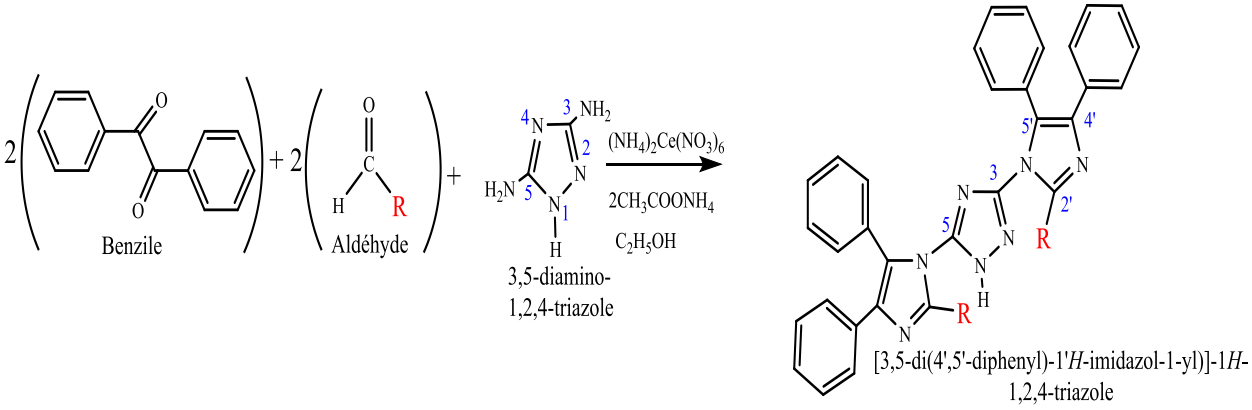
Tableau V: Verrerie et autres matériels utilisés pour la synthèse et la caractérisation structurale des molécules synthétisées

Verrerie	Autres
Ballons bicoles à fond rond, ballon à fond plat de 250ml, éprouvettes de 05, 10,20 ml ; verre de montre, cristallisoirs, béchers, fioles, erlenmeyers, entonnoir de büchner, tubes à essai, pipettes, réfrigérants à boules.	Pissette, barreau aimanté, spatules, papier filtre, poire, portoirs, statifs, pince en bois, pince à ballon, porte-ballon.

3- Méthodes de synthèses chimiques et de caractérisation structurale des molécules à synthétiser

3-1- Méthodes de synthèse chimique

La synthèse chimique des molécules « M1-M13 » de la nouvelle série « [3, 5-di (4', 5'-diphenyl) -1H-imidazol-1-yl)] -1H-1,2,4-triazole » se fait selon la réaction de « Debus–Radziszewski » comme l'illustre la réaction générale ci-dessous (Figure 37).



R: H, alkyle, phényle substitué ou non

Figure 37: Réaction générale pour la synthèse de la série [3,5-di(4', 5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole [206].

La synthèse du benzile utilisé dans notre réaction se fait en deux étapes, une première étape aboutissant à la benzoïne et une deuxième étape consistant en l'oxydation de cette dernière en benzile comme l'illustre les deux réactions ci-après (Figures 38, 39).

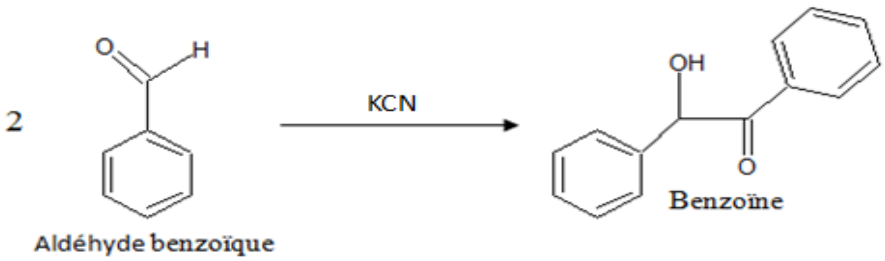


Figure 38: Réaction globale de synthèse de la benzoïne [207].

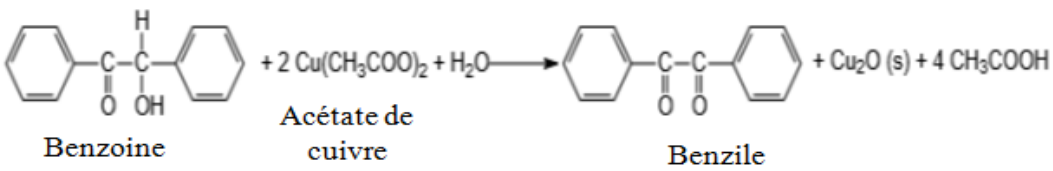


Figure 39: Oxydation de la benzoïne en benzile [208].

3-1-1- Procédés de synthèse du benzile

3-1-1-1- Obtention de la benzoïne

La benzoïne ou α-hydroxybenzylephénylcétone est synthétisée selon la méthode de « ZININ » par condensation du benzaldéhyde en présence d'un catalyseur : le cyanure de potassium (catalyseur nucléophile) [207, 209].

a- Mode opératoire

Dans un ballon de 250 ml, introduire successivement, 5g d'aldéhyde benzoïque, 12.5 ml d'éthanol et 0.75g de KCN ; adapter un réfrigérant à reflux et porter à ébullition pendant 45 minutes. Laisser refroidir le mélange réactionnel, la benzoïne se cristallise rapidement à l'aire libre. Filtrer, ensuite essorer sur Büchner.Recristalliser à l'aide de l'éthanol.

b- Mécanisme réactionnel

Le mécanisme réactionnel selon le procédé ZININ utilisé est résumé dans la figure 40.

Le cyanure a trois fonctions intéressantes mises à profit dans cette réaction :

- C'est un nucléophile ;
- Il augmente l'acidité du proton placé en α ;
- Excellent groupe partant.

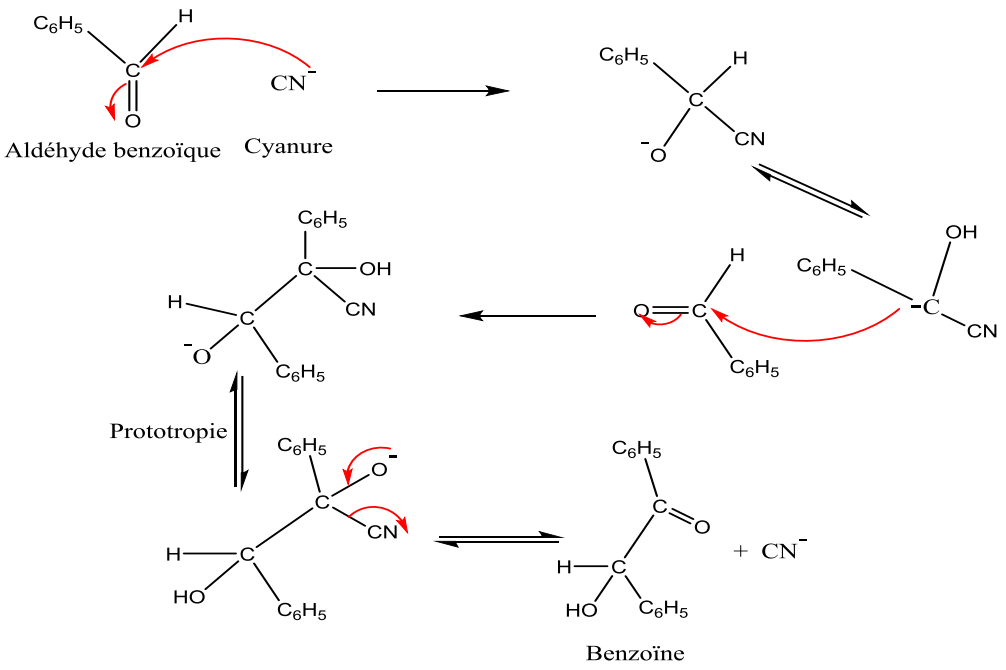


Figure 40: Mécanisme réactionnel de synthèse de la benzoïne (selon le procédé ZININ).

c- Calcul du rendement

Le rendement désigne le rapport entre la quantité du produit obtenu et la quantité maximale qui serait obtenue si la réaction était totale.

R = (masse expérimentale / masse théorique) x 100 %

La masse théorique est la quantité du produit prévue par un calcul stœchiométrique basé sur le nombre de moles de réactifs utilisés. Ce calcul suppose qu'une seule réaction va avoir lieu et que le réactif limitant va réagir complètement. Cependant la masse réelle est souvent inférieure à la masse théorique (c'est-à-dire la réaction n'est pas totale).

La masse expérimentale : masse obtenue réellement après purification du produit.

- **Calcul de la masse théorique de la benzoïne**

Selon la réaction mise en jeu, nous constatons une condensation de deux molécules de benzaldéhyde (02 moles) pour donner une molécule de benzoïne (01 mole).

- Le nombre de mole initial du benzaldéhyde (**n**).
- Le nombre de mole final de benzoïne (n_f).

Sachant que **n** est le rapport de la masse du benzaldéhyde (en gramme) sur sa masse molaire (gramme/mole) d'où :

$$n = m_{\text{benzaldéhyde}} / M_{\text{benzaldéhyde}}$$

Et en supposant que la réaction est totale et qu'il faut deux molécules de benzaldéhyde pour former une molécule de benzoïne.

$$n_f = n / 2$$

Partant de ces deux équations, nous pouvons déduire que la masse théorique de la benzoïne est égale au nombre de moles du benzaldéhyde multipliée par la masse molaire de la benzoïne le tout rapporté sur deux selon l'équation suivante :

$$m_{\text{benzoïne}} = m_{\text{benzaldehyde}} . M_{\text{benzoïne}} / 2 . M_{\text{benzaldéhyde}}$$

3-1-1-2- Oxydation de la benzoïne en benzile

Divers procédés ont été proposés, pour oxyder la benzoïne en benzile. Dans notre étude, l'oxydation a été réalisée par l'acétate de cuivre **[**208**]**.

a- Mode opératoire

Dans un ballon de 250 ml introduire 2,00 g de benzoïne, 3,80 g d'acétate de cuivre monohydrate, 15 ml d'acide acétique glacial et 5 ml d'eau. Porter le mélange à reflux pendant 45 min. Filtrer et laisser sécher. Recristalliser le benzile (dans l'alcool absolu).

b- Calcul du rendement de la réaction

L'équation pour le calcul du rendement est la suivante

$$R = (\text{masse expérimentale} / \text{masse théorique}) \times 100\ \%$$

- **Calcul de la masse théorique du benzile**

L'oxydation d'une mole de benzoïne en présence de l'acétate de cuivre donne une mole de benzile

- Le nombre de mole initial de benzoïne (**n**).
- Le nombre de mole final de benzile (n_f).

Sachant que **n** est le rapport de la masse de la benzoïne (en gramme) sur sa masse molaire (gramme/mole) d'où :

$$n = m_{\text{benzoïne}} / M_{\text{benzoïne}}$$

Et en supposant que la réaction est totale et que le nombre de mole de benzoïne est égale au nombre de mole du benzile.

$$n_f = n$$

Partant de ces deux équations, nous pouvons déduire que la masse théorique du benzile est égale au nombre de moles de la benzoïne multipliée par la masse molaire du benzile selon l'équation suivante :

$$m_{\text{benzile}} = m_{\text{benzoïne}} . M_{\text{benzile}} / M_{\text{benzoïne}}$$

c- Mécanisme réactionnel

Nous proposons le mécanisme représenté dans la figure 41 ci-dessous pour la réaction d'oxydation de la benzoïne en benzile.

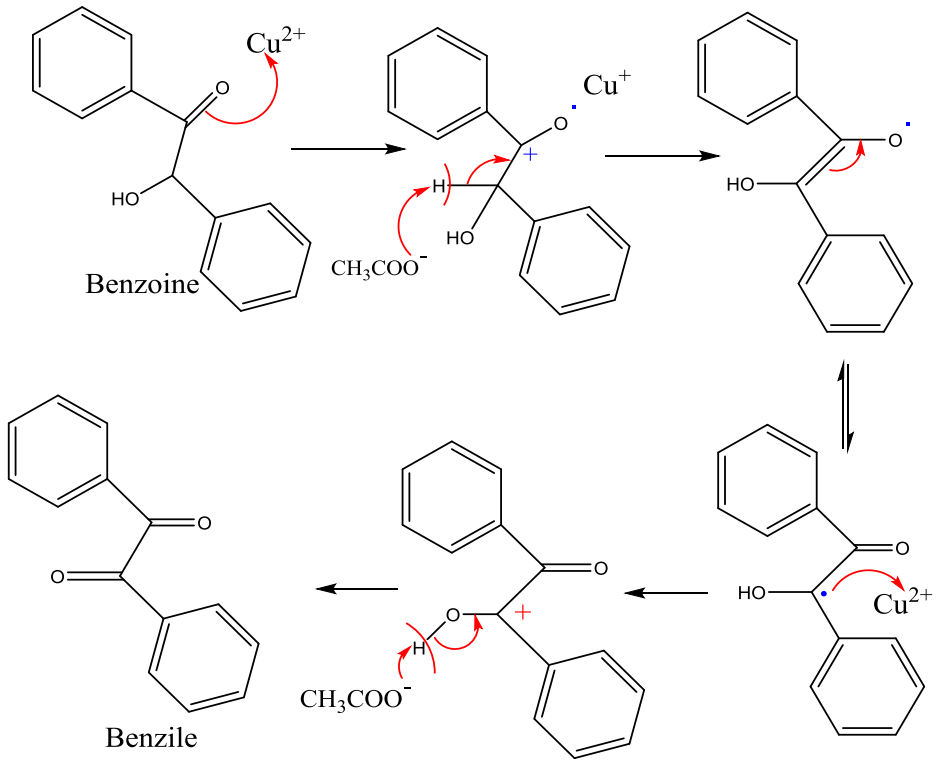


Figure 41: Mécanisme réactionnel d'oxydation de la benzoïne en benzile.

3-1-2- Procédés de synthèse des dérivés de la série [3,5-di(4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole

3-1-2-1- Mode opératoire

Un mélange du benzile (0,02 mol), d'aldéhydes (0,02 mol), 3,5-diamino-1,2,4-triazole (0,01 mol), d'acétate d'ammonium (0,02 mol) et de nitrate de cérium et d'ammonium (30% en moles) en tant que catalyseur, a été porté au reflux dans de l'éthanol (30 ml) pendant environ 3-4 heures. Le suivi de la réaction se fait par CCM (éthanol 75% / éther 25%). La purification se fait par recristallisation dans l'éthanol [206].

3-1-2-2- Calcul du rendement de la réaction

Le rendement d'une réaction est le rapport, en pourcentage (%), de la masse expérimentale sur la masse théorique :

$$R\% = \frac{\text{Masse expérimetale}}{\text{Masse théorique}} \times 100$$

- **Calcul de la masse théorique des molécules di-imidazo-triazole (M1-M13)**

Le tableau VI résume la cinétique de la réaction de synthèse des molécules M1-M13.

Tableau VI: Cinétique de la réaction de synthèse des molécules M1-M13.

Cinétique de la reaction	**Réactifs de depart**				**Produit de la réaction**
	Benzile	**Aldéhydes**	**3,5-diamino-1,2,4-triazole**	**acétate d'ammonium**	**di-imidazo-triazole**
Début de la reaction	2n	2n	n	2n	0
Avancement de la reaction	2n- 2Xt	2n - 2Xt	n- Xt	2n– 2Xt	Xt
Fin de la réaction (4 heures)	2n-2 Xmax	2n – 2Xmax	n- Xmax	2n – 2Xmax	Xmax

n: nombre de moles

1mole diamino-1,2,4-triazole ⟶ 1mole di-imidazo-triazole (IT)

99,09 g/mole ⟶ PM_{IT}

Prise d'essai diamino-1,2,4-triazole ⟶ X_{IT}

X_{IT} = (Prise d'essai diamino-1,2,4-triazole * PM_{IT}) / 99,09

Donc : $$R\% = \frac{X\ (IT)}{\text{Masse théorique}} \times 100$$

IT : di-imidazo-triazole (les molécules M1-M13)

X_{IT} : Masse expérimentale du dérivé di-imidazo-triazole

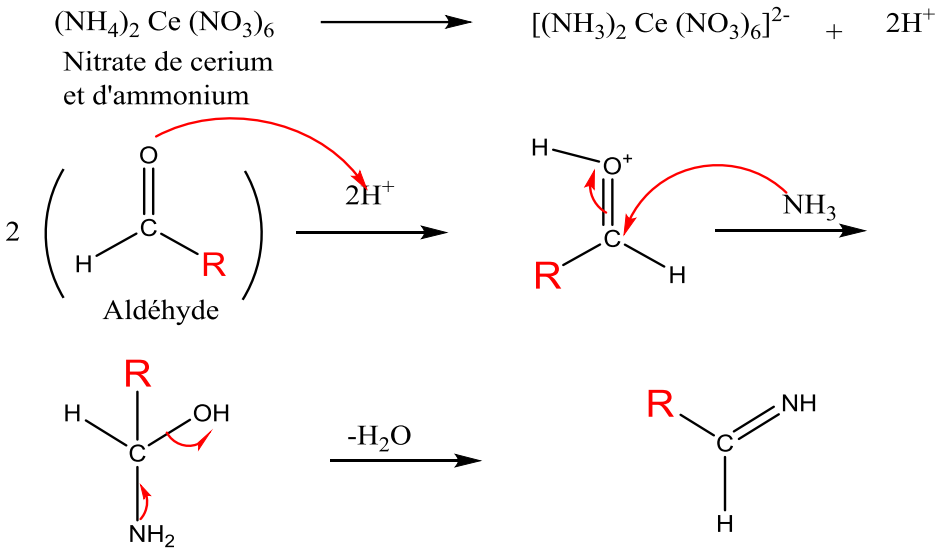
3-1-2-3- Mécanisme réactionnel

Il s'agit de la réaction de « Debus-Radziszewski » modifiée, faisant intervenir un aldéhyde substitué, une amine primaire substituée, une molécule d'ammoniac et un dérivé α dicarbonylé [210]. C'est une application des réactions multi composants faisant intervenir

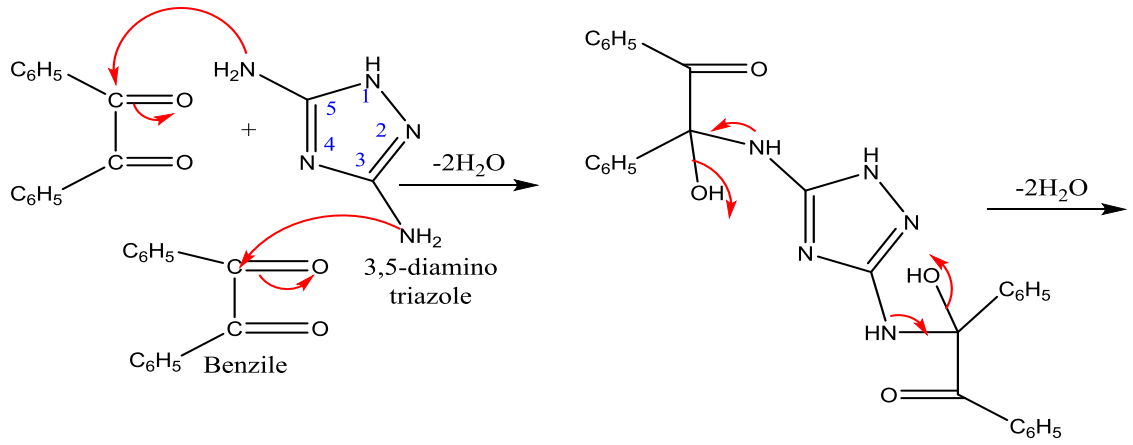
plusieurs réactifs (quatre), en une seule étape pour donner le produit final. Il s'agit d'une réaction de condensation du benzile, d'aldéhyde, de diamino triazole et de l'acétate d'ammonium dans un solvant protique polaire qui est l'éthanol, ce dernier va faciliter le transfert protonique qui va avoir lieu dans cette réaction.

Le mécanisme proposé pour la réaction montre dans un premier temps une protonation du carbonyle de l'aldéhyde par le nitrate de cérium et d'ammonium (CAN), suivie par une attaque nucléophile par le doublet libre de l'azote de l'ammoniac sur le carbone du carbonyle (de l'aldéhyde) pour former un intermédiaire imine. Le benzile et le 3,5-diamino-1,2,4-triazole interviennent dans un second temps comme c'est illustré dans la figure 42.

- **Protonation de l'aldéhyde par le CAN et action de l'ammoniac**



- **Condensation avec le benzile et le diamino triazole**



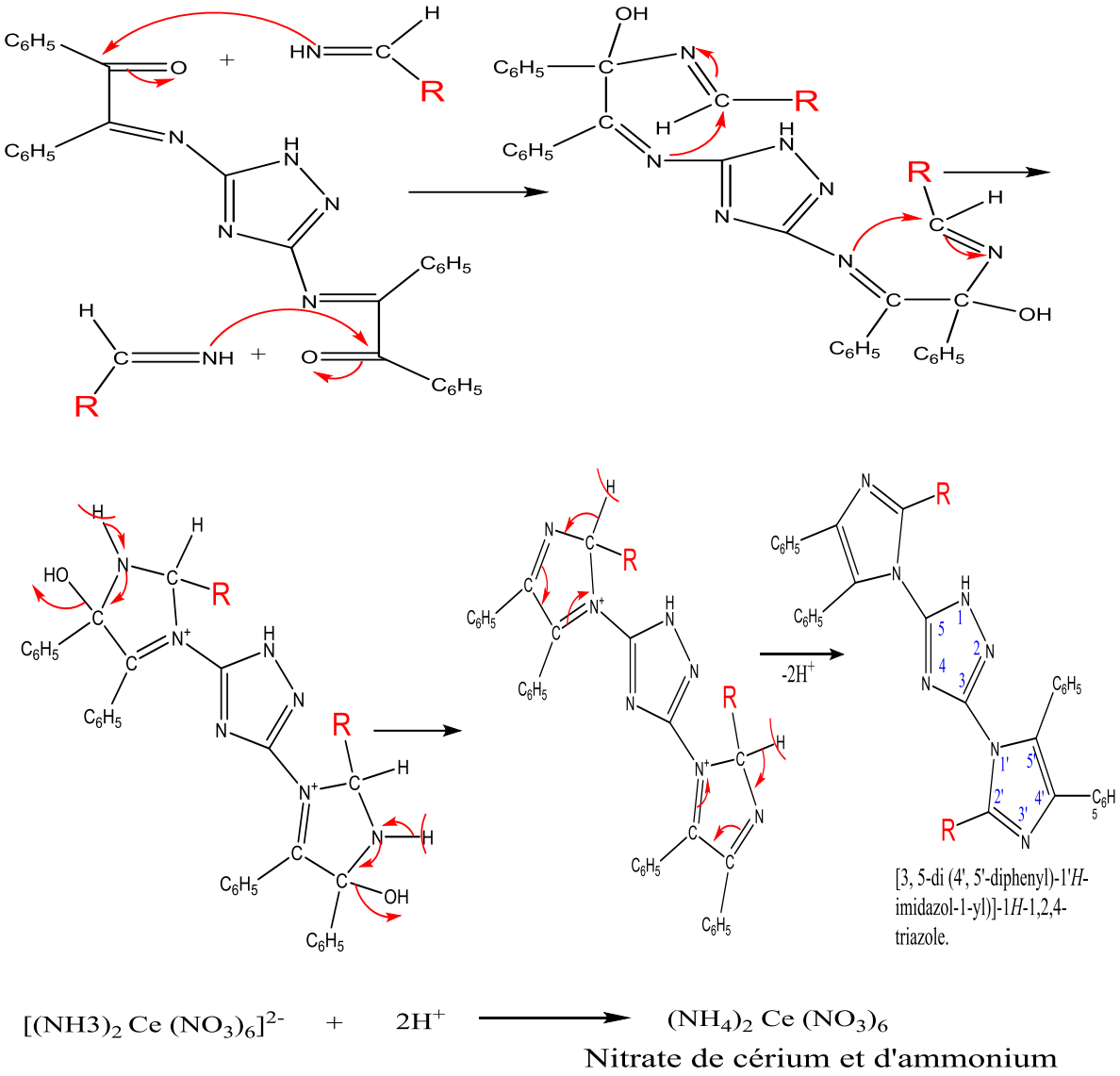


Figure 42: Mécanisme réactionnel de la synthèse de la série [3,5-di (4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole.

3-2- Méthodes de caractérisation structurale des molécules à synthétiser

Dans cette partie pratique, nous allons tester la solubilité (conformément à la pharmacopée européenne) des produits synthétisés dans différents solvants et examiner les caractères organoleptiques. Nous faisons appel aux techniques spectroscopiques afin d'identifier nos produits.

3-2-1- Caractères organoleptiques et solubilité

3-2-1-1- Aspect et odeur

La description de l'aspect porte sur la couleur et la forme physique. Il faut veiller à ne pas utiliser le mot « blanc » sans autre précision car, par rapport à une substance témoin blanche,

très peu de substances pharmaceutiques paraissent réellement blanches. Il convient donc d'utiliser l'expression « blanc ou sensiblement blanc ». La description des couleurs se fait grâce aux termes de couleurs primaires ou de combinaisons de couleurs primaires. En règle générale, il n'est pas fait référence à l'odeur et en particulier pour les substances présentant un risque à l'inhalation. Dans les autres cas, la mention de l'odeur doit être justifiée [211].

- **Mode opératoire**

Nous avons vérifié l'aspect par simple observation visuelle de la benzoïne, du benzile et des molécules M1-M13 ; et nous avons aussi vérifié l'odeur de ces différents produits.

3-2-1-2- Test de solubilité

La solubilité d'un composé dans un solvant est la quantité maximale pouvant passer en solution dans un volume donné. Au-delà, la solution est saturée et le composé ne se dissout plus. Elle est exprimée en g/l ou en mol/l [212]. Comme l'illustre le tableau VII ci-dessous.

Tableau VII: Classification des solubilités des produits selon la pharmacopée européen 2008.

Les termes descriptifs	Volumes approximatifs de solvant en ml /g de substance à 25 °C
Très soluble	Inférieur à 1
Facilement Soluble	1-10
Soluble	10 – 30
Assez soluble	30 – 100
Peu soluble	100 – 1000
Très peu soluble	1000 – 10000
Pratiquement insoluble	Plus de 10000

- **Mode opératoire**

Tester la solubilité de :

- Benzoïne dans l'eau, l'éthanol, le chloroforme, le diméthyl formamide et le diméthyl sulfoxyde [213] ;
- Benzile dans l'eau, l'éther, l'éthanol, l'acétone, le DMF et le DMSO [213] ;
- Molécules M1-M13 dans l'eau distillée, l'éthanol, l'acétone, l'éther, le DMF et le DMSO.

3-2-2- Identification par réactions colorimétriques des molécules M1-M13

Des réactions d'orientation vers la fonction amine ont été réalisées : réaction de Dragendorff et de Bouchardat [214].

3-2-1-3- Réaction de Dragendorff

a. Préparation du réactif de Dragendorff (solution d'iodobismuthate de sodium)

Dans une fiole jaugée de 1 litre (L), introduire successivement 20.80 centigrammes (cg) de bismuth finement pulvérisé, 38.10cg d'iode, 200 grammes (g) d'iodure de sodium anhydre et 600 millilitres (ml) d'eau environ. Agiter pendant 30 minutes, lorsque la dissolution du bismuth est complète, complétez le volume à un litre avec de l'eau distillée et filtrer.

b. Mode opératoire

A 1cm3 de la solution du produit synthétisé, ajouter 1 goutte d'acide chlorhydrique pur et 1 goutte de réactif de Draggendorff. Noter l'observation.

3-2-1-4- Réaction de Bouchardât

a. Préparation du réactif de Bouchardât (Iodo-ioduré)

Dans une fiole jaugée, introduire 2g d'iode, 4g d'iodure de potassium et compléter à 100ml avec de l'eau distillée.

b. Technique

Acidifier 5ml d'une solution au 1/500 du produit synthétisé par dix gouttes d'acide sulfurique dilué au 1/5, ajouter dix gouttes de réactif de Bouchardât. Noter l'observation.

3-2-3- Analyse par microscope électronique à balayage

3-2-1-5- Principe (annexe I)

3-2-1-6- Mode opératoire

- L'appareil utilisé est de marque FEI model quanta 650 ;
- Déposer le produit synthétisé sur le porte objet du MEB ;
- Utiliser une pompe à vide pour créer le vide dans la chambre du microscope.
- A l'aide d'un filament tungstène, envoyer des électrons à travers la colonne ; ensuite bombarder l'échantillon, en réémettant plusieurs types d'électrons ;
- Recueillir les images.

3-2-4- Détermination de la température de fusion

La température de fusion d'une espèce chimique correspond à la température à laquelle la

dernière particule solide de la substance passe à l'état liquide. C'est une constante sûre, dont la détermination pourra permettre à la fois l'identification et la vérification de l'absence de substances étrangères [215].

3-2-1-7- Principe (annexe I)

3-2-1-8- Mode opératoire

- L'appareil utilisé est de type Auto melting point MP120 HANON ;
- Préchauffer l'appareil ;
- Remplir le tube capillaire avec le produit synthétisé à environ 3 millimètres (mm) puis le renverser tout en tapotant pour faire chuter le produit au fond ;
- Une fois l'appareil préchauffé, au bip sonore, introduire le tube dans l'appareil et chauffer ;
- Noter la température de début et de fin de fusion au deuxième bip sonore.

3-2-5- Caractérisation chromatographique des produits synthétisés : chromatographie sur couche mince CCM)

La chromatographie sur couche mince est une méthode de séparation dans laquelle une phase stationnaire est répartie sous forme d'une couche mince et uniforme sur un support (plaque) de verre, de métal ou de plastique. Des solutions d'analytes sont appliquées sur cette plaque avant le développement. La séparation repose sur les mécanismes d'adsorption, de partage ou d'échange d'ions ou sur des combinaisons de ces mécanismes et elle s'effectue par migration (développement) de solutés (solutions d'analytes) dans un solvant ou un mélange de solvants approprié (phase mobile) à travers la couche mince (phase stationnaire) [212]. Dans notre étude, nous avons réalisé une CCM pour l'ensemble des molécules synthétisées et nous avons calculé le rapport frontal.

3-2-5-1. Principe (annexe I)

3-2-5-2. Mode opératoire

- Dissoudre les molécules synthétisées dans le diméthylsulfoxyde (bonne solubilité dans le DMSO) ;
- Utiliser une plaque CCM recouverte de gel de silice GF254 ;
- Saturer la chambre avec la phase mobile avant de passer à la migration : éthanol/éther (75%/25%) pour les molecules M_1-M_{13} ; éther de pétrole/acétate d'éthyle (3 :1 V/V) pour la benzoïne et le benzile [216] ;

- Déposer 10 microlitres (µL) de chaque dilution ;
- Développer sur un parcours de 170 mm (Figure 43) ;
- Sécher la plaque à l'air libre ;
- Développer la plaque sous la lampe UV après migration et séchage.

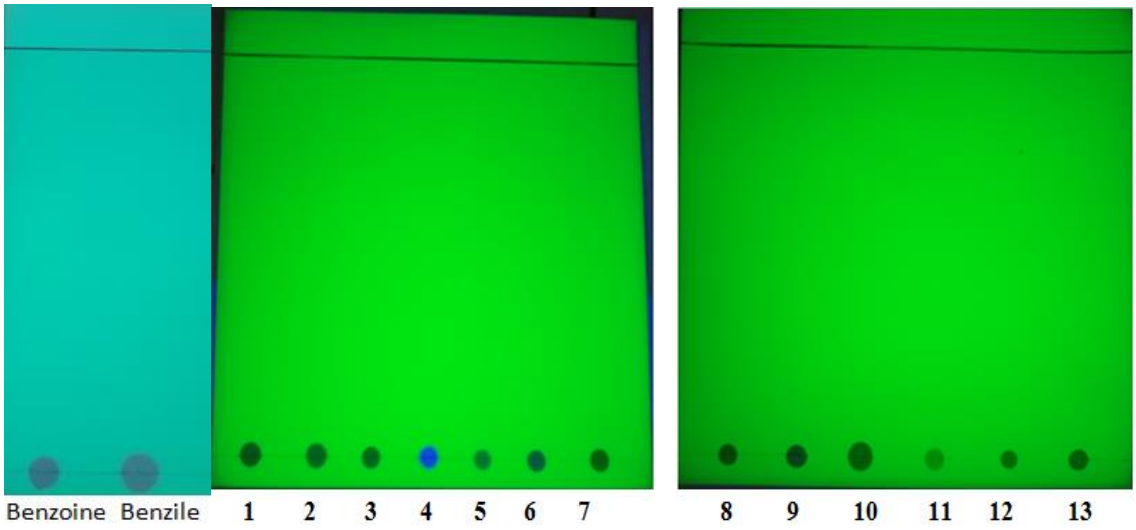


Figure 43: Plaques CCM à développer (benzoïne et benzile, M1-M13) observées sous la lampe UV à 254 nm.

Remarque : -Phase mobile pour la benzoïne et le benzile a été retirée du protocole de la référence bibliographique 216 ;

-Phase mobile pour les molécules M1-M13 : il s'agit d'une mise au point.

3-2-6- Identification spectrale des produits à synthétiser

3-2-6-1. Spectroscopie d'absorption dans l'UV-visible

Le domaine UV-visible a été largement étudié et ce, depuis plusieurs années. C'est un domaine qui est indispensable pour une approche expérimentale de la nature de la liaison, mais il reste pauvre en information structurale. Son usage est de plus en plus réservé à l'analyse quantitative via la loi de Beer-Lambert [217]. Dans notre étude, nous avons utilisé un spectrophotomètre UV-VISIBLE à balayage Lambda 25 PERKIN ELMER.

a- Principe (annexe I)

b- Mode opératoire

- Préparer une solution d'environ 10^{-3} molaire dans le DMSO (benzoïne, benzile et M1-M13) ;
- Faire passer un blanc de DMSO et éliminer son absorbance ;

- Réaliser un balayage entre 200 et 700 nanomètre (nm).

3-2-6-2. Spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge

La spectroscopie infrarouge constitue une méthode de choix pour l'identification des molécules azotées. Le proche et moyen infrarouge correspondent à la région du spectre faisant suite à l'UV-visible, comprise entre 1 et 50 micromètre (µm) de longueur d'onde, le proche infrarouge occupant la plage spectrale située entre 1 et 2,5 µm. Le domaine infrarouge est très utilisé comme technique non destructive pour identifier les composés organiques parce qu'il est riche en informations sur les structures des produits examinés [218].

a- Principe (annexe I)

b- Mode opératoire

- Nous avons utilisé un spectrophotometer infrarouge SPECTRUM TWO PERKIN ELMER ;
- Dans un mortier, broyer quelques milligrammes (mg) du produit synthétisé avec une quantité suffisante de bromure de potassium ;
- Placer ensuit le mélange dans le moule adapté, l'introduire dans la pastilleuse et appliquer une pression de 10 tonne pour former une pastille fine et compacte ;
- La pastille formée est ensuite introduite dans l'automate, pour effectuer l'analyse.

3-2-6-3. Caractérisation des produits à synthétiser par Résonnance Magnétique Nucléaire

Dans notre étude, nous avons utilisé un spectrophotomètre RMN Bruker Ascend TM 400.
La spectrophotométrie de RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) est une méthode spectroscopique récente (1950-1960) qui est très utile pour l'identification et l'analyse des composés organiques, elle nous donne des renseignements sur le squelette hydrocarboné. Elle est basée sur les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques ; elle s'appuie sur l'existence de moments magnétiques nucléaires que possèdent certains éléments [217].

a- Principe (annexe I)

b- Mode opératoire

L'échantillon à analyser est mis en solution dans un solvant deutéré diméthylsulfoxyde (^{2}D, isotope de ^{1}H présentant un spin nucléaire égal à 1. La solution à analyser, placée dans un

mince tube en verre, est ajustée au centre d'une bobine de radiofréquences (**rf**), entre les pôles d'un puissant aimant. L'enregistrement de l'énergie absorbée par l'échantillon à examiner en fonction de la fréquence appliquée par la bobine **rf** fournit le spectre RMN ^{1}H. Étant donné que les fréquences de résonance varient en fonction de la puissance du champ magnétique appliqué (appareil), elles sont converties en déplacements chimiques **(δ)** qui, eux sont invariables d'un appareil à un autre.

$$(\delta\ ppm) = \frac{\nu_{échantillon} - \nu_{référance}}{\nu_{appareil}} \times 10^{6}$$

ν échantillon: Fréquence de résonance du noyau étudié dans un échantillon donné.

ν référence : Fréquence de résonance de la substance de référence.

ν appareil : Fréquence de l'appareil utilisée pour réaliser le spectre RMN.

L'analyse de carbone par RMN (^{13}C RMN) a été aussi réalisée pour l'ensemble des molécules M1-M13.

3-2-7- Caractérisation des produits à synthétiser par diffraction de rayons X

La diffractométrie de rayons X est une technique d'analyse physico-chimique. L'analyse de poudres poly cristallines par diffraction des rayons X permet l'identification des différentes phases présentes dans l'échantillon analysé et leurs quantifications respectives. D'autres informations peuvent aussi être obtenues par cette technique, telles que les mesures de la taille des cristallites et la détermination de structure [219].

Dans notre étude, nous avons utilisé un diffractomètre PANALYTICAL REF 943006003002. Les diagrammes présentés dans notre étude ont été collectés sur un intervalle angulaire compris entre 2θ = (1° - 70°). Le pas choisi est égal à 0,01°. De plus, les poudres sont stables dans le porte-échantillon pendant l'acquisition du diagramme de diffraction.

3-2-7-1. Mode opératoire

Un faisceau de rayons X (monochromatique) est dirigé sur l'échantillon à analyser qui est formé de plusieurs petits monocristaux d'orientation aléatoire. En raison de leur nombre très élevé, il en existe toujours beaucoup pour lesquels une famille de plans réticulaires (hkl) respecte la loi de Bragg. L'intensité d'une raie (hkl) est égale au nombre de cristaux en position de Bragg multiplié par l'intensité diffractée par un cristal élémentaire. Cette intensité

est proportionnelle au facteur de structure Fhkl. Ce facteur est strictement lié à la nature des atomes dans le plan et à leur position dans la maille cristalline. Pour plusieurs familles de plans, la diffraction permet d'obtenir un ensemble de cônes de diffraction dont le sommet est commun. L'ouverture du cône correspond à 2θ et l'axe est le faisceau incident. Il existe un cône pour chaque valeur de distance inter-réticulaire (dhkl) et il est alors possible d'établir la liste des différents dhkl présents dans l'échantillon étudié.

CHAPITRE II : Résultats et discussion

1- Résultats de la synthèse et de la caractérisation structurale de la benzoïne et du benzile

1-1- Rendements des réactions de synthèse

1-1-1- Rendement de la réaction de synthèse de la benzoïne

La benzoïne est obtenue par la condensation de deux benzaldéhydes. Le suivi de la réaction s'est fait par CCM, la phase mobile est l'éther de pétrole/acétate d'éthyle (3 :1 V/V) [216].

- **Calcul de la masse théorique de la benzoïne**

$m_{benzoïne} = m_{benzaldéhyde} \times M_{benzoïne} / 2 \times M_{benzaldéhyde}$

$m_{benzoïne} = 5 \times 212,24 / 2 \times 106,12 \longrightarrow m_{théorique\ benzoïne} = 5\ g$

- **La masse expérimentale**

Après le séchage, nous avons effectué la pesée, nous avons trouvé une masse de benzoïne qui est de : 3.50 g

- **Calcul du rendement de la réaction**

R = (masse expérimentale / masse théorique) x 100 %

R = (3,50 / 5) x 100 % = 70 %

1-1-2- Rendement de la réaction de synthèse du benzile

Le suivi de la réaction s'est fait par CCM, la phase mobile est l'éther de pétrole/acétate d'éthyle (3 :1 V/V) [216].

- **Calcul de la masse théorique du benzile**

$m_{benzile} = m_{benzoïne} \times M_{benzile} / M_{benzoïne}$

$m_{benzile} = 2 \times 210,22 / 212,24$

$m_{benzile} = 1.98\ g$

- **La masse expérimentale**

Après le séchage, nous avons effectué la pesée, nous avons trouvé une masse de benzile qui est de : 1.50g

- **Calcul du rendement de la réaction**

R= (masse expérimentale / masse théorique) x 100

R = (1,50 / 1,98) x 100 = 75,75%

1-2- Résultats de la caractérisation structurale et identification de la benzoïne et du benzile synthétisés

1-2-1- Aspect et odeur

Les produits synthétisés se présentent sous forme de cristaux blancs pour la benzoïne et jaunes pour le benzile (Figure 44), ils sont inodores, ces résultats sont conformes aux données de la littérature [213, 216].

Benzoïne Benzile

Figure 44: Aspect de la benzoine et du benzile synthétisés.

1-2-2- Test de solubilité

La benzoïne est insoluble dans l'eau (1mg de la benzoïne dans 11ml d'H_2O) ; très soluble (1g de la benzoïne dans 0,9ml du solvant) dans l'éthanol, le chloroforme, le diméthyl formamide et le diméthyl sulfoxyde, ces résultats sont conformes aux données de la littérature [213].

Le benzile est insoluble (1mg du benzile dans 11ml du solvant) dans l'eau, l'éther, l'éthanol et l'acétone, soluble dans le DMF et le DMSO (1g du benzile dans 10ml du solvant), c'est conforme aux données de la littérature [213].

1-2-3- Température de fusion

- **Benzoïne**

Selon les données de la littérature, la température de fusion est de :

- 132 à 134 pour le mélange racémique ;
- 135 à 137 pour les énantiomères R et S.

Pour la benzoïne synthétisée, le point de fusion est de 132,3 ; c'est conforme aux données de la littérature (nous avons obtenu un mélange racémique).

- **Benzile**

Selon les données de la littérature, la température de fusion est de : 94 à 95 °C. Pour le benzile synthétisé, le point de fusion est de 94,2 ; c'est conforme aux données de la littérature.

1-2-4- Caractérisation chromatographique (CCM) de la benzoïne et du benzile

Après migration, la plaque CCM a été développée sous la lampe UV comme le démontre la figure 45 ci-dessous.

Figure 45: Plaque CCM sous la lampe UV (254nm) après migration de la benzoïne et du benzile.

Nous avons obtenu une seule tache de migration pour les deux molécules. Les rapports frontaux de la benzoïne et du benzile sont représentés dans le tableau VIII ci-dessous.

La formule utilisée pour calculer le rapport frontal (Rf) est la suivante :

Rf = Distance parcourue par le soluté / Distance parcourue par le solvant

Tableau VIII: Rapports frontaux calculés pour la benzoïne et le benzile.

Molécules	Distance parcourue par le solvant (mm)	Distance parcourue par le soluté (mm)	Rf
Benzoïne	170	122	0,71
Benzile	170	142	0,83

Les résultats obtenus sont conformes aux données de la littérature [216].

1-2-5- Caractérisation spectrale de la benzoïne et du benzile synthétisés

1-2-5-1- Spectroscopie d'absorption dans l'UV-Visible

Les spectres d'absorption dans l'UV-visible de la benzoïne et du benzile sont représentés dans l'annexe II.

Les spectres d'absorptions dans l'UV-visible de la benzoïne et du benzile montrent que ces deux molécules absorbent dans cette région du spectre electromagnétique avec un maximum d'absorption qui est de « 259 nm » pour la benzoïne et « 260 nm » pour le benzile, ce qui correspond à la transition électronique π-π* (C = C) aromatique.

1-2-5-2- Spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge de la benzoïne et du benzile

Les spectres IR de la benzoïne et du benzile et le spectre de comparaison sont représentés dans l'annexe III, ils mettent en évidence les principales bandes de vibrations correspondants aux liaisons (C-H) aromatiques, doubles liaisons (C=C) aromatiques ainsi que les vibrations correspondants au groupement hydroxyle de la benzoïne comme c'est illustré dans le tableau IX ci-dessous, les différentes vibrations ont été déterminées en se référant à la table d'interprétation des résultats infrarouge (Annexe IV) et les résultats obtenus dans des travaux ultérieurs [216].

Tableau IX: Bandes de vibrations dans l'infrarouge de la benzoïne et du benzile.

Vibrations	**Valeurs théoriques cm^{-1}** [217]	**Benzoïne**	**Benzile**
νas (=C-H)	3080-3030	3047	3064
νas (C=C)	2000-1500	1584 1492	1573,73 1451
ν (-C-H)	2960-2850	2923	/
ν (OH)	3400-3200	3402	/
ν (C=O) aromatique	1700 -1670	1685	1678
ν (C-CO-C)	1250-1170	1269	1218
ν (C-C)	1200-800	1187	1162
ν (C-O)	1450-1050	1085 1320 1443	1320
δ (OH) $_{secondaire}$	Vers 1355	1381	/
δas (=C-H)	700-900	843,22 913,81 985,22	863 793 716

1-2-5-3- Caractérisation de la benzoïne et du benzile par résonnance magnétique nucléaire

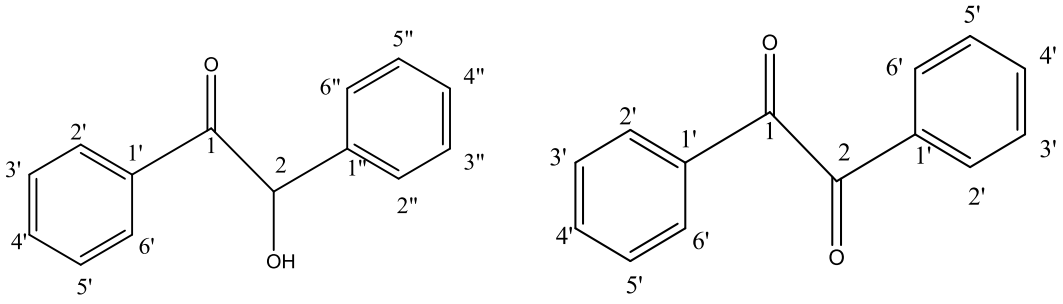
Les spectres ^{1}H RMN et ^{13}C RMN de la benzoïne et du benzile sont représentés dans l'annexe V. Les données de la littérature concernant ^{1}H RMN et ^{13}C RMN des molécules synthétisées [216] et les données concernant ^{1}H RMN et ^{13}C RMN du DMSO utilisé comme solvant [220] ainsi que les tables d'interprétation RMN [217] données dans l'annexe VI, nous ont permis d'attribuer les principaux signaux ^{1}H RMN et ^{13}C RMN observés.

- ✓ L'analyse ^{1}H RMN de la benzoïne a montré un singulet à 8,01 ppm et un multiplet à 7,25-7,56 ppm. Les déplacements chimiques notés au voisinage de 2,5 ppm et 3,3 ppm sont dus au DMSO et à l'eau de DMSO [220, 221].
- ✓ L'analyse ^{1}H RMN du benzile a mis en évidence un multiplet à 7,62-7,93 ppm. Sur le spectre zoomé entre 7 et 8 ppm (voir annexe V), nous pouvons distinguer nettement trois signaux (deux triplets et un doublet) (Tableau X).

Tableau X: Attribution des signaux ^{1}H RMN du benzile.

Proton	**Nature du signal**	***δ_H trouvé***
Ortho	Doublet	7,93-7,95
Méta	Triplet	7,78-7,82
Para	Triplet	7,62-7,66

- ✓ L'analyse ^{13}C RMN de la benzoïne et du benzile a mis en évidence l'ensemble des carbones constituants ces deux molécules (Tableau XI), les formules développées de ces dernières sont représentées dans la figure 46 ci-dessous afin de faciliter l'attribution des signaux ^{13}C RMN.



Benzoïne Benzile

Figure 46: Formule développée de la benzoïne et du benzile.

Tableau XI: Attribution des signaux ^{13}C RMN de la benzoïne et du benzile.

Benzoïne								
δ_C ppm	76,17	127,73	128,27	128,65	128,93	135,24	139,94	199,66
Carbones	C_2	$C_{2"}$, $C_{3"}$, $C_{5"}$, $C_{6"}$	$C_{4"}$	$C_{2'}$, $C_{3'}$, $C_{5'}$, $C_{6'}$	$C_{4'}$	$C_{1"}$	$C_{1'}$	C_1
Benzile								
δppm	129,62		132,64	135,98		195,06		
Carbones	$C_{2'}$, $C_{3'}$, $C_{5'}$, $C_{6'}$		$C_{4'}$	$C_{1'}$		C_1, C_2		

2- Résultats de la synthèse et de la caractérisation structurale des dérivés de la série [3, 5-di(4', 5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole (M1-M13)

2-1- Rendement de la réaction de synthèse

Le suivi de la réaction s'est fait par CCM, la phase mobile (éthanol/éther (75%/25%) pour les molécules M1-M13 [206].

Le tableau XII ci-dessous résume le rendement des différentes synthèses réalisées.

Tableau XII: Rendement des réactions de synthèse de la série [3,5-di(4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole.

Molécules	**M du produit (g/mole)**	**Prise d'essai du triazole (g)**	**Masse théorique du produit (g)**	**Masse expérim-entale du produit (g)**	**Rendement (%)**
M_1	505,57	1,13	5.76	4,04	70 ,13
M_2	533,62	1,28	6,89	4,34	62,9
M_3	589,73	1,27	7.55	4.60	60,98
M_4	657,76	1,32	8.76	5.86	66,89
M5	721,76	1,34	9,76	5,8	59,42
M6	691,77	1,43	9,98	5,71	57,21
M_7	797,55	1,16	9,33	5,59	59,91
M_8	743,89	1,11	8,33	4,66	55,94
M_9	717,81	1,16	8,4	4,53	53,92
M_{10}	749,77	1,22	9,23	5,90	63,92
M_{11}	797,55	1,3	10,46	5,85	55,92
M_{12}	779,75	1,14	8,97	4,93	54,96
M_{13}	721,76	1,25	9,10	5,18	56,92

2-2- Caractérisation structurale et identification des molécules M1-M13

2-2-1- Caractères organoleptiques et solubilité

2-2-1-1- Aspect et odeur

Les produits synthétisés M1-M13 se présentent sous forme de poudres ou de cristaux, sans odeur avec des colorations différentes comme c'est représenté dans la figure 47 ci-dessous.

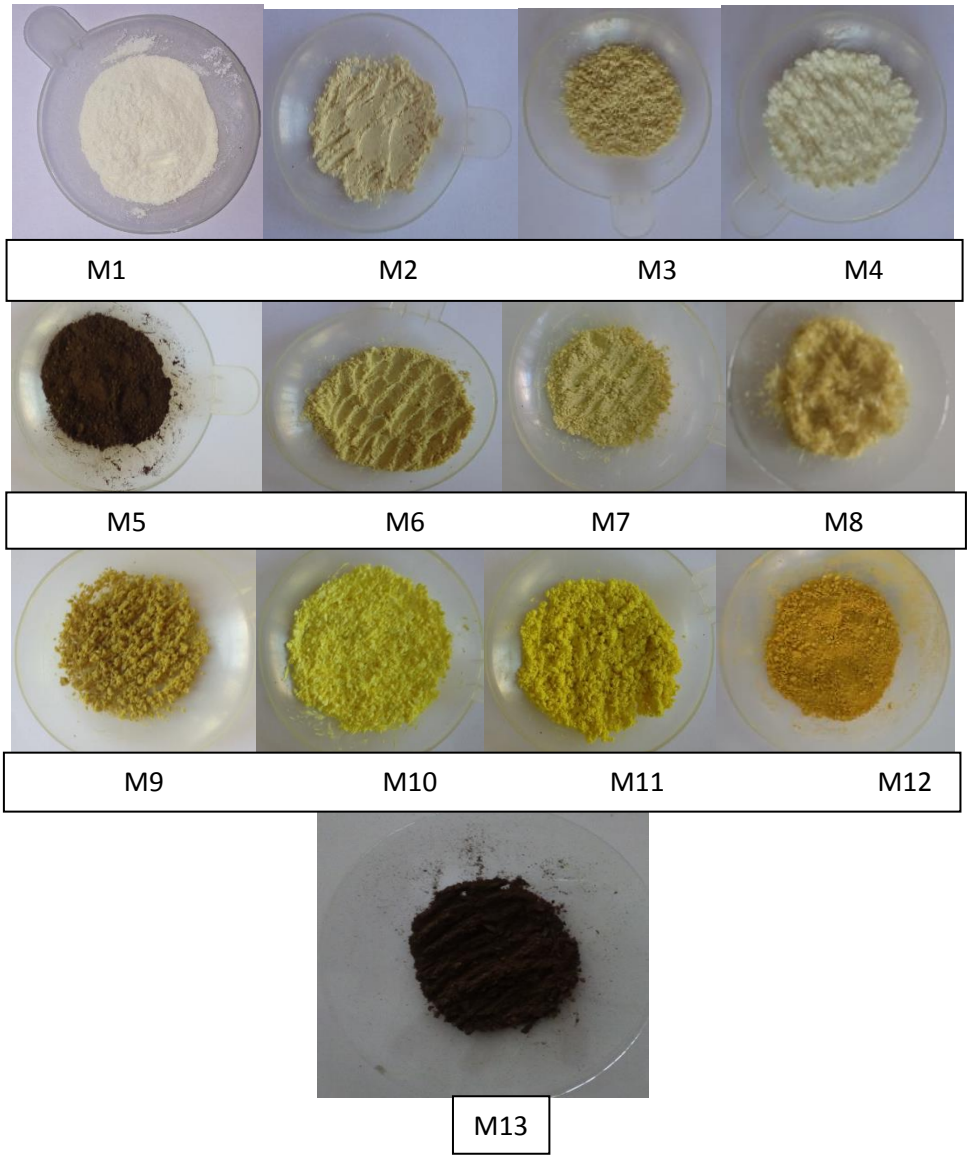


Figure 47: Aspect des molécules M1-M13 synthétisées.

2-2-1-2- Solubilité

Les produits synthétisés sont insolubles (1mg du produit dans 11ml d'H_2O) dans l'eau,

l'éthanol, l'éther et l'acétone ; solubles (1g du produit dans 10ml du solvant) dans le diméthylformamide et le diméthylsulfoxyde.

2-2-2- Caractérisation par des réactions colorimétriques

2-2-2-1- Réaction de Dragendorff

Nous avons observé la formation d'un précipité rouge orangé d'iodure complexe de bismuth et d'amine qui indique la présence d'amine dans les molécules synthétisées (Figure 48).

Figure 48: Réaction de Dragendorff.

2-2-2-2- Réaction de Bouchardât

Nous avons observé la formation d'un précipité brun chocolat, ce qui indique la présence de périodure d'imidazo-triazole (Figure 49).

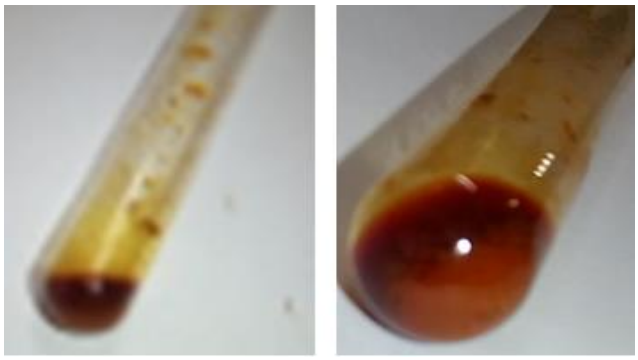


Figure 49: Réaction de Bouchardât.

2-2-3- Analyse par microscope électronique à balayage

Les images obtenues après analyse des produits synthétisés « M1-M13 » par le microscope electronique à balayage sont représentées dans l'annexe VII, elles montrent un aspect cristallin pour l'ensemble des produits avec des formes tubulaires.

2-2-4- Température de fusion

Les températures de fusion des différentes molécules synthétisées M1-M13 sont représentées dans le tableau XIII.

Tableau XIII: Températures de fusion des molécules synthétisées M1-M13.

Molécules	Température de fusion
M1	122-123
M2	91-93
M3	71-73
M4	280-283
M5	208-210
M6	206-209
M7	175-176
M8	269-271
M9	179-180
M10	286-289
M11	238-240
M12	260-268
M13	226-230

2-2-5- Caractérisation chromatographique (CCM) des molécules synthétisées

Après migration, la plaque CCM a été développée sous la lampe UV à 254 nm (Figure 50). Nous avons obtenu une seule tache de migration et pratiquement au même niveau pour les différentes molécules et qui correspond au dérivé de la série [3,5-di(4',5'-diphenyl-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole synthétisé. Les rapports frontaux des molécules synthétisées sont représentés dans le tableau XIV.

Tableau XIV: Rapports frontaux des molécules synthétisées.

Molécules	Distance parcourue par le solvant (mm)	Distance parcourue par le soluté (mm)	Rf
M1	170	105	0,61
M2	170	103	0,60
M3	170	103	0,60
M4	170	105	0,61
M5	170	105	0,61
M6	170	105	0,61
M7	170	103	0,60

Molécules	Distance parcourue par le solvant (mm)	Distance parcourue par le soluté (mm)	Rf
M8	170	105	0,61
M9	170	105	0,61
M10	170	107	0,63
M11	170	106	0,62
M12	170	107	0,63
M13	170	109	0,64

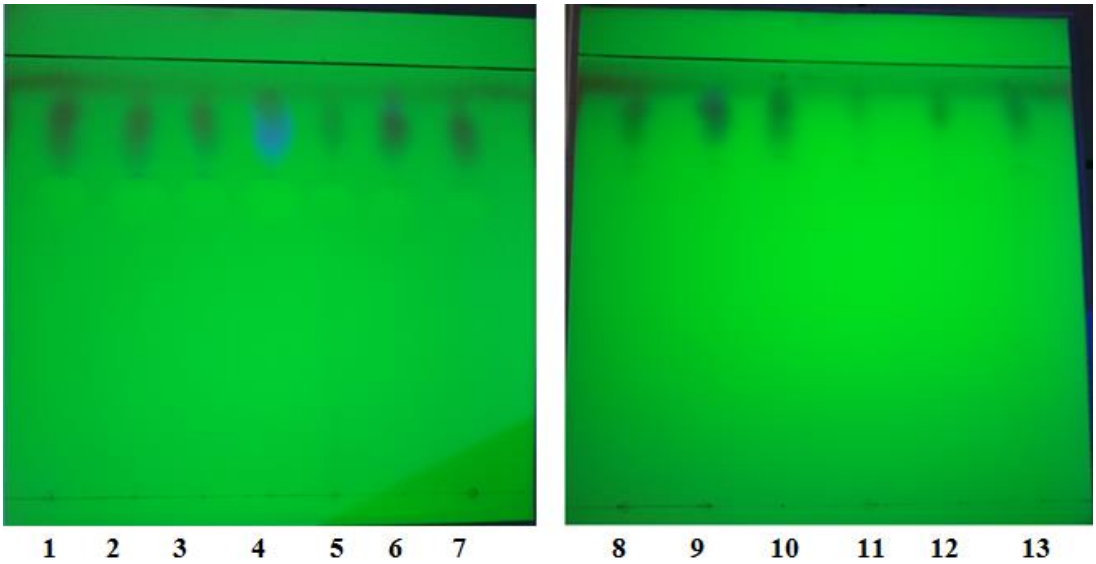


Figure 50: Plaque CCM sous la lampe UV (254 nm) après migration.

2-2-6- Identification spectrale des molécules synthétisées « M1-M13 »

2-2-6-1- Identification par spectroscopie d'absorption dans l'UV-visible

Les molécules synthétisées absorbent dans l'UV-visible telle que l'illustrent les différents spectres donnés dans l'annexe II, les maximums d'absorption des différentes molécules « M1-M13 » ainsi que les transitions électroniques sont résumés dans Le tableau XV ci-dessous.

Tableau XV: Transitions électroniques des molécules M1-M13.

Molécules	λ max (nm)	Transition électronique
M1	262	π-π* (C = C aromatique ou C = N)
M2	259	π-π* (C = C aromatique ou C = N)
M3	262,6	π-π* (C = C aromatique ou C = N)
M4	310	π-π* (C = C aromatique ou C = N)
M5	256	π-π* (C = C aromatique ou C = N)
M6	258	π-π* (C = C aromatique ou C = N)
M7	261	π-π* (C = C aromatique ou C = N)
M8	368	π-π* (C = C aromatique ou C = N)

Molécules	λ max (nm)	Transition électronique
M9	261	π-π* (C = C aromatique ou C = N)
M10	322	π-π* (C = C aromatique ou C = N)
M11	259 347	π-π* (C = C aromatique ou C = N) n-π*
M12	266 364 424	π-π* (C = C aromatique ou C = N) n-π* π-π* (N = O)
M13	267	π-π* (C = C aromatique ou C = N)

2-2-6-2- Analyse par spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge

Afin d'identifier les différents groupements fonctionnels et les différents types de liaisons présents dans les molécules synthétisées, nous prenons en considération que le spectre IR peut être divisé en trois zones :

- De 4000 à 1500 cm^{-1}, nous observons les bandes des vibrations des groupements fonctionnels : O-H, N-H, C-H, C=O, C=C etc.….
- De 1500 à 1000 cm^{-1}, c'est une partie plus complexe, qualifiée d'empreintes digitales du composé ; nous y trouvons les bandes de déformation, mais aussi les bandes d'allongement C-O et O-H.
- Enfin, de 1000 à 600 cm^{-1}, nous trouvons les bandes caractéristiques des structures éthyléniques ou aromatiques.

Les molécules synthétisées présentent des bandes de vibration caractéristiques qui apparaissent dans la région spectrale 1200 - 3600 cm^{-1} (vibrations carbone- carbone, carbone-hydrogène, carbone-oxygène, carbone-azote). Le tableau XVI ci-dessous résume les principales bandes de vibrations théoriques.

Tableau XVI: Principales bandes de vibrations théoriques [217].

Valeurs théoriques (cm^{-1})	3500–3200	1600–1490	1360–1250
Vibration	élongation N–H	déformation N–H	élongation C–N
Valeurs théoriques (cm^{-1})	1355-1180	900-700	1500–2000
Vibration	déformation C–N dans le plan	déformation C–N en dehors du plan	Elongation C=N, C=C aromatique

Valeurs théoriques (cm^{-1})	3030 à 3080	1000-650	1450–1050
Vibration	élongation =C–H aromatique	déformation =C–H aromatique	élongation C–O
Valeurs théoriques (cm^{-1})	3400-3200	1550-1320	2960-2850
Vibration	élongation O –H	élongation NO_2	Elongation C–H aliphatique

*1500-2000 cm^{-1} : Elongations des doubles liaisons de types C=C, C=O, C=N, N=O, etc.…

**1000-1500 cm^{-1} : Elongations des liaisons simples de types C-N, le groupe $–NO_2$, C-O présente une bande forte entre 1000 et 1300 cm^{-1}.

Les spectres d'absorption dans l'infrarouge correspondants aux différentes molécules sont représentés dans l'annexe III.

Les tableaux XVII et XVIII ci-dessous montrent les nombres d'ondes, l'attribution de chaque bande de vibration du spectre IR obtenu avec les molécules synthétisées. Les différentes vibrations ont été déterminées en se référant à la table d'interprétation des résultats infrarouge (Annexe IV) et les résultats des travaux ultérieurs sur les noyaux 1,2,4- triazole et imidazole [222, 223].

Tableau XVII: Bandes des vibrations dans l'infrarouge pour les molécules M1- M7.

Vibrations	**Nombre d'ondes (cm^{-1})**						
	M1	**M2**	**M3**	**M4**	**M5**	**M6**	**M7**
ν =C-H aromatique	3081	3065,66	3066,68	3063	3016	3056	3067
ν C=C aromatique phényle	1671	1671,34	1658	1671	1645,69	1665,66	1670,31
ν C=N	1440 1590	1594,39	1582,02 1492	1440 1590	1585	1584,4 1452	1582,07 1455
γ =CH déformation hors du plan	643 724 793	661 691 711 793	641 762 711 1016 1061,90	643 735 781 990	720,93 1099,86	640 691 711 1056,63	641 694 711 1036
ν N-H	3405	3434,02	3435,02	3451	3447,33	3441,86	3459,64
ν C-N	1301	1219	1219	1313	1391,24	1218,33	1392
γ C-N		1190	1188	1209	/	1169	1214

Vibrations	Nombre d'ondes (cm^{-1})						
	M1	**M2**	**M3**	**M4**	**M5**	**M6**	**M7**
déformation hors du plan	1220						1176
δ_{C-N} déformation dans le plan	862	874	874	862	873,59	874	884
N-N	1163	1076	1010,60	1153	1005,74	1025	1062
δ_{-CH} déformation dans le plan Alcane	/	1403,55	1442,52	/	/	/	/
ν_{C-H} Alcane	/	2927,15	2934	/	/	/	/
δ_{O-H} Déformation dans le plan	/	/	/	/	/	1381,66	/
ν_{C-O}	/	/	/	/	1229,74	1218,33	/
ν_{O-H}	/	/	/	/	3148	3167,68	/
C-Cl	/	/	/	/	/	/	782

Tableau XVIII: Bandes des vibrations dans l'infrarouge pour les molécules M8 - M13.

Vibrations	Nombre d'onde (cm^{-1})					
	M8	**M9**	**M10**	**M11**	**M12**	**M13**
$\nu_{(=C-H)\ aromatique}$	3066,68	3047	3097	3087	3080	3055
$\nu_{(C=C)\ aromatique}$	1670,31	1670,31	1670,31	1645,69	1644	1670,31
$\nu_{C=N}$	1594,39	1582,02 1453	1594,39 1519	1563,88	1644	1594,39
γ =CH Déformation hors du plan	689 720 793 984,95 1074,21	681 720 791	661 711 752	681 752 945	652 762	651 681 711 803
ν_{N-H}	3459,69	3422,7	3446,3	3409,37	3448	3447,33
ν_{C-N}	1327,63	1381	1341	1381	1391	1229
γ_{C-N} Déformation hors du plan	1178 1220,06	1178	1229	1209	1357	1188
δ_{C-N} déformation dans le plan	877	884	813	823	/	871,06
N-N	1011,60	1015	1057	1015	1012	1074
δ_{O-H} Déformation	/	/	/	/	/	/

Vibrations	Nombre d'onde (cm^{-1})					
	M8	**M9**	**M10**	**M11**	**M12**	**M13**
dans le plan						
ν_{C-O}	/	/	/	/	1097	1378
ν_{O-H}	/	/	/	/	3200	3155
-CH déformation dans le plan Alcane	1404,58 1454,85	/	/	/	/	/
ν_{C-H} Alcane	2914,84	2965,11	/	/	/	/
Elongation C-O (alcoxy)	/	1229	/	/	/	/
Elongation NO_2	/	/	1391	/	1391	/

Les résultats représentés dans les tableaux ci-dessus mettent en évidence le N-H du triazole, les vibrations des liaisons -CN et N-N et C=C confirmant la présence du triazole et de l'imidazole, ainsi que les différentes fonctions à savoir l'hydroxyle, le groupement nitro, les radicaux alkyles et le phényl non substitué et/ou le phényl polysubstité. Il a été noté pour la molécule M12 que :

- ✓ Les vibrations $\nu_{C=N}$ /$\nu_{(C=C)\,Ar}$ ont été obsevées à 1644 cm^{-1} ;
- ✓ Les vibrations ν_{C-N}/ ν_{NO2} ont été obsevées à 1391 cm^{-1}.

2-2-6-3- Caractérisation des produits synthétisés par résonnance magnétique nucléaire

Les spectres RMN enregistrés à 400 MHz dans le DMSO-d6 comme solvant et dans le TMS sont représentés dans l'annexe V.

Les données de la littérature et les travaux ultérieurs sur les dérivés du triazole et de l'imidazole [223, 224], les données concernant ^{1}H RMN et ^{13}C RMN du DMSO utilisé comme solvant [220] ainsi que les tables d'interprétation RMN [217] données dans l'annexe VI, nous ont permis d'interpréter et d'attribuer les principaux signaux ^{1}H RMN et ^{13}C RMN enregistrés.

a- Analyse ^{1}H RMN des molécules M1-M13

Le déplacement chimique noté au voisinage de 2.5 ppm est du au DMSO, celui au voisinage de 2.59-3.3 ppm correspond à l'eau de DMSO [220, 221]. Les déplacements chimiques des protons des molécules M1-M13 sont représentés dans le tableau XIX ci-dessous. (M : multiplet, D : doublet, T : triplet et S pour singulet).

Tableau XIX: Déplacements chimiques des protons de M1-M13.

δ (ppm)	Multiplicité	Protons correspondants
M1		
7.62-7.65	M	8H (Ar-H)
7.76	S	2H (N-H imidazole)
7.78-7.82	M	4H (Ar-H)
7.91-7.94	M	8H (Ar-H)
7.99	S	1H (N-H triazole)
M2		
2.49	S	6H (CH3)
7.62-7.66	M	8H (Ar-H)
7.78-7.83	M	4H (Ar-H)
7.92-7.93	M	8H (Ar-H)
7.94	S	1H (N-H triazole)
M 3		
2.52	M	3H (CH3)
3.36	S	4H (CH2)
7.95-7.42	M	20H (Ar-H)
8.11	S	1H (N-H triazole)
M 4		
7.62-7.65	M	12H (Ar-H)
7.78-7.82	M	6H (Ar-H)
7.92-7.94	M	12H(Ar-H)
9.27	S	1H (N-H triazole)
M 5		
7.62-7.66	T	20H (Ar-H)
7.79-7.82	T	4H (Ar-H)
7.92- 7.94	D	2H (Ar-H)
9.72	S	4H (O-H)
12.12	S	1H (N-H triazole)
M 6		
7.62-7.66	M	20H (Ar-H)
7.78-7.83	M	4H (Ar-H)
7.92-7.94	M	4H (Ar-H)
9.79	S	2H (O-H)
10.57	S	1H (N-H triazole)
M 7		
7.57-7.62	M	20H (Ar-H)
8.04-8.10	M	6H (Ar-H)
12.67	S	1H (N-H triazole)
M 8		
3.01	S	12H (CH3)
7.60-7.82	M	20H (Ar-H)
7.92-7.95	M	8H (Ar-H)

δ (ppm)	Multiplicité	Protons correspondants
8.84	S	1H (NH triazole)
M 9		
3.82	S	6H (O-CH3)
7.58-7.69	M	20H (Ar-H)
7.84-8.04	M	8H (Ar-H)
8.95	S	1H (NH triazole)
M 10		
7.54-7.92	M	20H (Ar-H)
8.32-8.36	T	2H (Ar-H)
8.51-8.54	D	2H (Ar-H)
8.73-8.76	D	2H (Ar-H)
8.95	S	2H (Ar-H)
9.12	S	1H (NH triazole)
M 11		
7.53-7.80	M	20H (Ar-H)
7.87-7.90	D	2H (Ar-H)
7.92-7.94	D	2H (Ar-H)
8.18	S	2H (Ar-H)
9.33	S	1H (NH triazole)
M12		
7.35-7.66	M	20H (Ar-H)
7.79-7.82	M	2H (Ar-H)
7.92-7.94	M	4H (Ar-H)
8.16	S	2H (O-H)
8.19	S	1H (N-H triazole)
M13		
7.50-7.66	M	20H (Ar-H)
7.78-7.82	M	2H (Ar-H)
7.92-7.94	M	4H (Ar-H)
10.01	S	4H (O-H)
10.18	S	1H (N-H triazole)

Concernant la molécule M10, les déplacements chimiques notés à δ_H 1.05 ppm, δ_H 5.02 ppm et δ_H 6.09 ppm correspondent à CH3, CH2 et OH respectivement des traces d'éthanol retenu dans la structure cristalline de la molécule ; pour la M11, ces signaux ont été notés à δ_H 2.08 ppm, δ_H 5.01 ppm et δ_H 6.18 ppm.

b- Analyse ^{13}C RMN des molécules M1-M13

Les spectres ^{1}H RMN obtenus par analyse des molécules synthétisées M1-M13 sont représentés dans l'annexe V.

Les formules développées des molécules M1-M13 sont représentées dans les figures 51-63 afin de faciliter l'attribution des déplacements chimiques de ^{13}C RMN représentée dans les tableaux XX – XXXII.

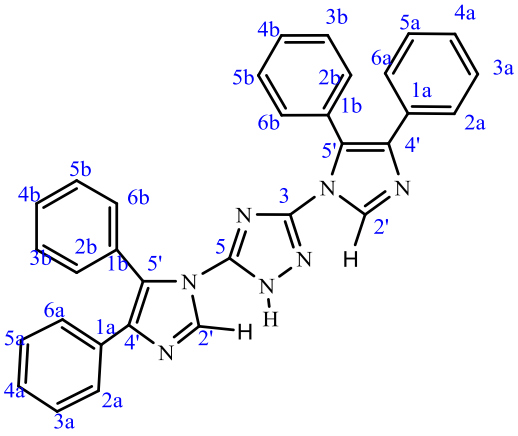


Figure 51: Formule développée de M1.

Tableau XX: Déplacements chimiques des carbones de M1.

δ (ppm)	Carbones correspondants
129.96	C_{2a}-C_{6a}, C_{2b}-C_{6b}
130.04	C_{1a}, C_{1b}
132.63	$C_{2'}$
135.96	$C_{4'}$, $C_{5'}$
195.19	C_3, C_5

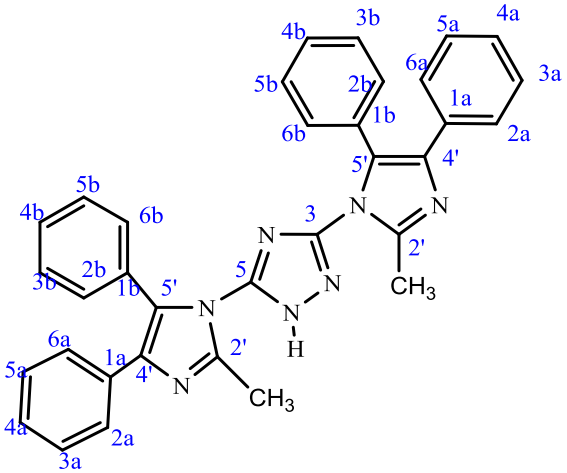


Figure 52: Formule développée de M2

Tableau XXI: Déplacements chimiques des carbones de M2.

δ(ppm)	Carbones correspondants
39.05	CH_3
129.97	C_{2a}-C_{6a}, C_{2b}-C_{6b}
130.06	C_{1a}, C_{1b}
132.86	$C_{2'}$
135.99	$C_{4'}$, $C_{5'}$
195.12	C_3, C_5

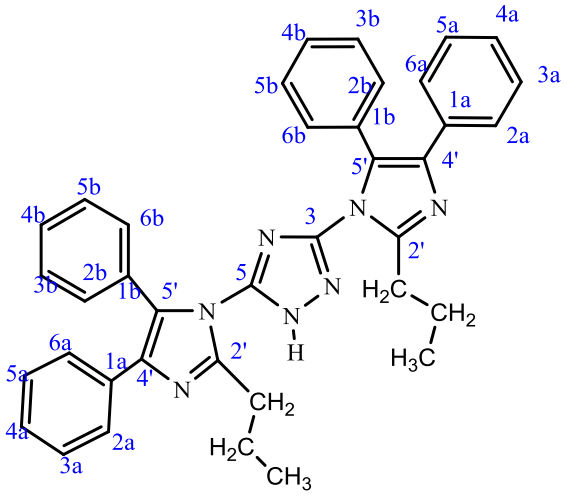


Figure 53: Formule développée de M3.

Tableau XXII: Déplacements chimiques des carbones de M3.

δ(ppm)	Carbones correspondants
38.67	CH_3
40.03	CH_2 (en position β)
40.66	CH_2 (en position α)
128.26	C_{4a}, C_{4b}
129.65	C_{3a}, C_{5a}, C_{3b}, C_{5b}
132.26	C_{2a}, , C_{6a}, C_{2b}, C_{6b}
135.97	C_{1a}, C_{1b}
145.39	$C_{4'}$, $C_{5'}$
159.82	$C_{2'}$
195.35	C_3, C_5

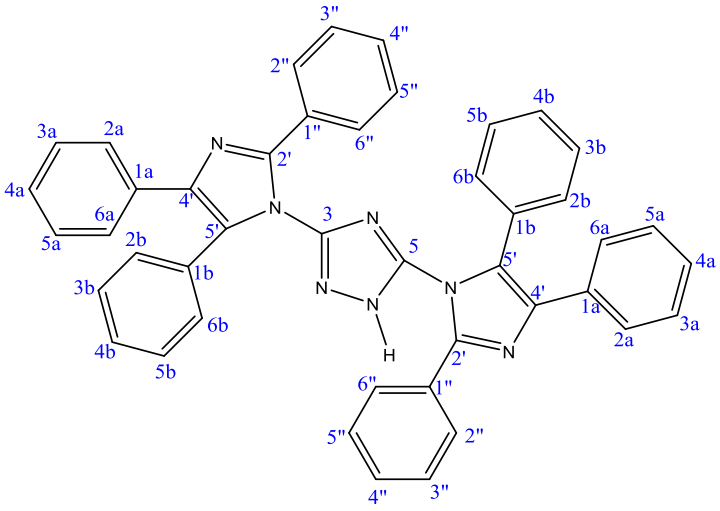


Figure 54: Formule développée de M4.

Tableau XXIII: Déplacements chimiques des carbones de M4.

δ(ppm)	Carbones correspondants
128.98	C_{2a}-C_{6a}, C_{2b}-C_{6b}, $C_{2"}$-$C_{6"}$
130.05	C_{1a}, C_{1b}, $C_{1"}$
132.75	$C_{2'}$
136.60	$C_{4'}$, $C_{5'}$
195.30	C_3, C_5

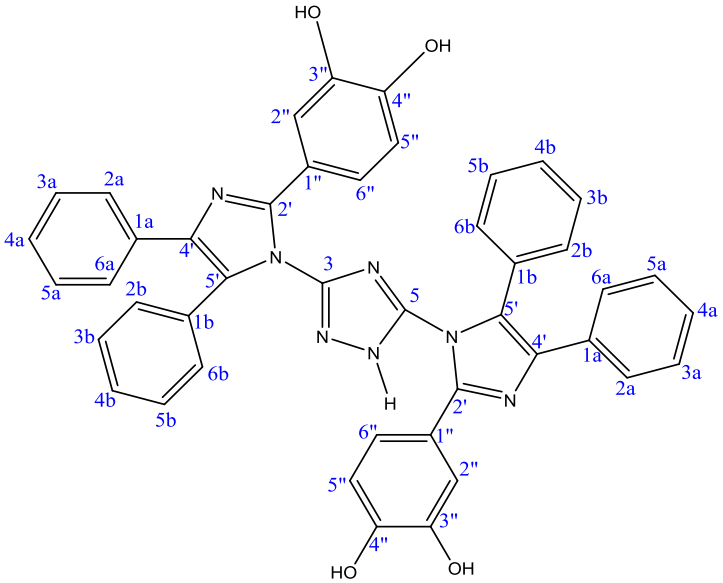


Figure 55: Formule développée de M5.

Tableau XXIV: Déplacements chimiques des carbones de M5.

δ(ppm)	Carbones correspondants
127.07	$C_{2"}$, $C_{5"}$
127.78	$C_{6"}$
128.58	$C_{1"}$
128.78	C_{2a}- C_{6a}, C_{2b}- C_{6b}
129.83	C_{1a}, C_{1b}
130.72	$C_{4'}$, $C_{5'}$
132.67	$C_{2'}$
135.88	$C_{3"}$, $C_{4"}$
196.22	C_3, C_5

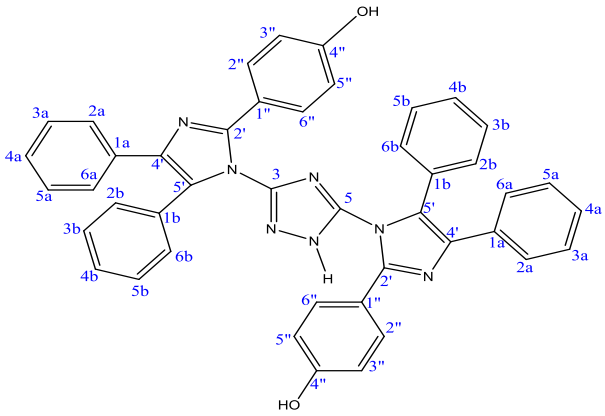


Figure 56: Formule développée de M6.

Tableau XXV: Déplacements chimiques des carbones de M6.

δ(ppm)	Carbones correspondants
115.30	C_{4a}, C_{4b}
116.10	C_{5a}, C_{6a}, C_{5b},C_{6b}
127.18	C_{3a}, C_{3b}
128.65	C_{2a}, C_{2b}
129.17	$C_{2"}$, $C_{6"}$
129.69	$C_{4'}$, $C_{5'}$
130.42	C_{1a}, C_{1b}
132.74	$C_{2'}$
136.01	C_3, C_5
163.62	$C_{1"}$
191.31	$C_{3"}$, $C_{5"}$
196.36	$C_{4"}$

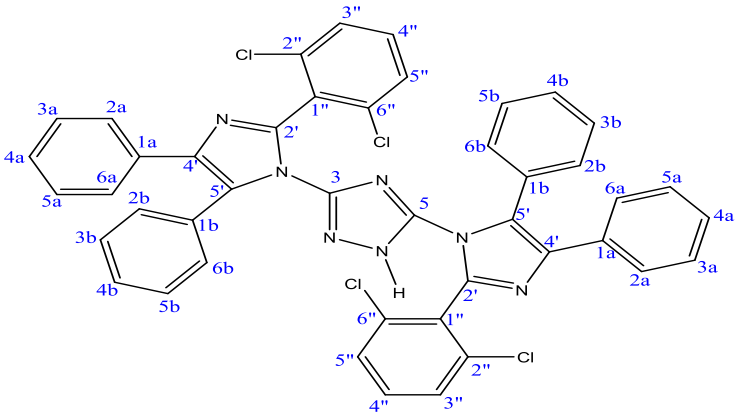


Figure 57: Formule développée de M7.

Tableau XXVI: Déplacements chimiques des carbones de M7.

δ(ppm)	Carbones correspondants
125.66	$C_{3"}$, $C_{5"}$
126.98	$C_{4"}$
127.54	C_{2b}, C_{6b}
128.24	C_{2a}, C_{6a}
128.65	$C_{1"}$
128.71	C_{4a}, C_{4b}
128.94	C_{3b}, C_{5b}
129.14	C_{3a}, C_{5a}
130,78	C_{1a}, C_{1b}
131,57	$C_{2"}$, $C_{6"}$
135,66	$C_{4'}$, $C_{5'}$
137,59	$C_{2'}$
145.97	C_3, C_5

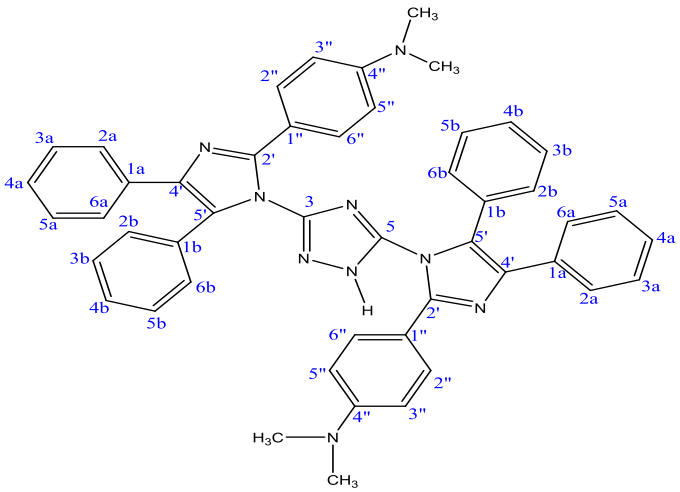


Figure 58: Formule développée de M8.

Tableau XXVII: Déplacements chimiques des carbones de M8.

δ(ppm)	Carbones correspondants
25.72	CH_3
111.85	$C_{3"}$, $C_{5"}$
123.38	$C_{2"}$, $C_{6"}$
129.71	C_{2a}-C_{6a}, C_{2b}-C_{6b}
130.76	$C_{1"}$
132.49	C_{1a}, C_{1b}
135.99	$C_{4'}$, $C_{5'}$
153.13	$C_{2'}$
161.86	C_3, C_5
195	$C_{4"}$

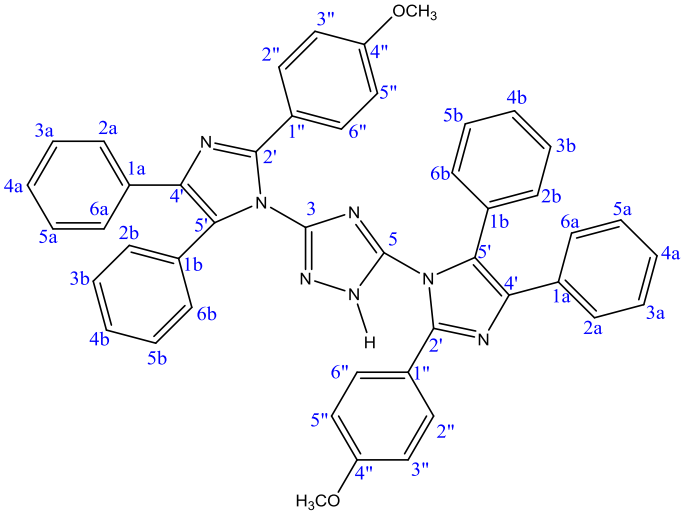


Figure 59: Formule développée de M9.

Tableau XXVIII: Déplacements chimiques des carbones de M9.

δ(ppm)	Carbones correspondants
55.55	O-CH3
114.55	$C_{3"}$, $C_{5"}$
127.19	C_{1a}, C_{1b}
128.65	C_{2a}-C_{6a}, C_{2b}-C_{6b}
131.06	$C_{1"}$
132.48	$C_{2"}$, $C_{6"}$
136.32	$C_{4'}$, $C_{5'}$
146.10	$C_{2'}$
160.12	C_3, C_5
196.14	$C_{4"}$

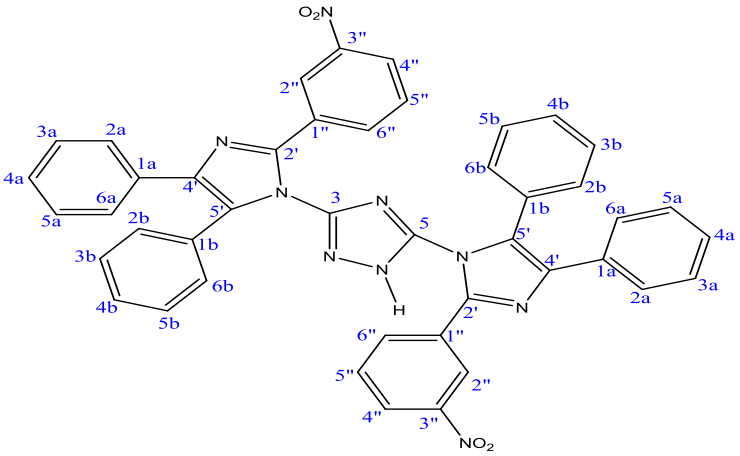


Figure 60: Formule développée de M10.

Tableau XXIX: Déplacements chimiques des carbones de M10.

δ(ppm)	Carbones correspondants
119.99	$C_{2"}$
122.99	$C_{4"}$
125.94	C_{2b}, C_{6b}
128.62	C_{2a}, C_{6a}
129.87	C_{4a}, C_{4b}
130.60	C_{3b}, C_{5b}
131.57	C_{3a}, C_{5a}
132.27	$C_{1"}$
135.27	$C_{5"}$, $C_{6"}$
137.90	C_{1a}, C_{1b}
143.93	$C_{2'}$
148.91	$C_{3"}$
159.48	C_3, C_5

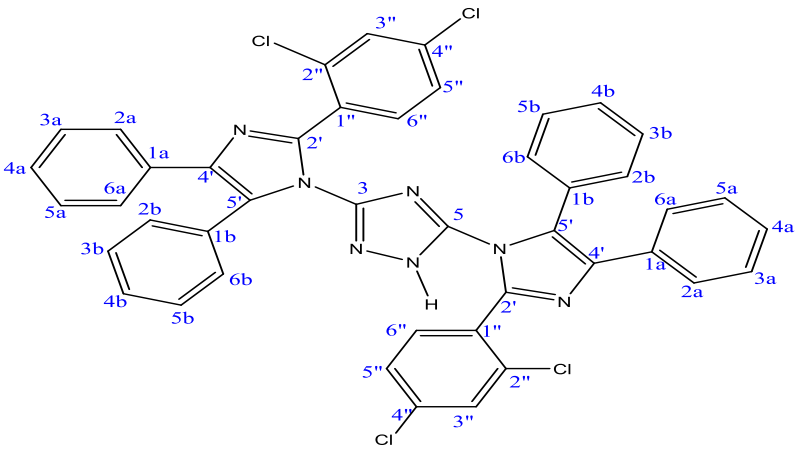


Figure 61: Formule développée de M11.

Tableau XXX: Déplacements chimiques des carbones de M11.

δ(ppm)	Carbones correspondants
128.56	C_{4a}, C_{4b}
129.52	C_{3a}, C_{5a}, C_{3b}, C_{5b}
130.19	C_{2a}, C_{6a}, C_{2b}, C_{6b}
132.31	C_{1a}, C_{1b}
132.53	$C_{1"}$
133.49	$C_{5"}$
135.82	$C_{6"}$
136.29	$C_{3"}$
137.20	$C_{2"}$
156.37	$C_{4"}$
157.52	$C_{4'}$, $C_{5'}$
163.34	$C_{2'}$
177.38	C_3, C_5

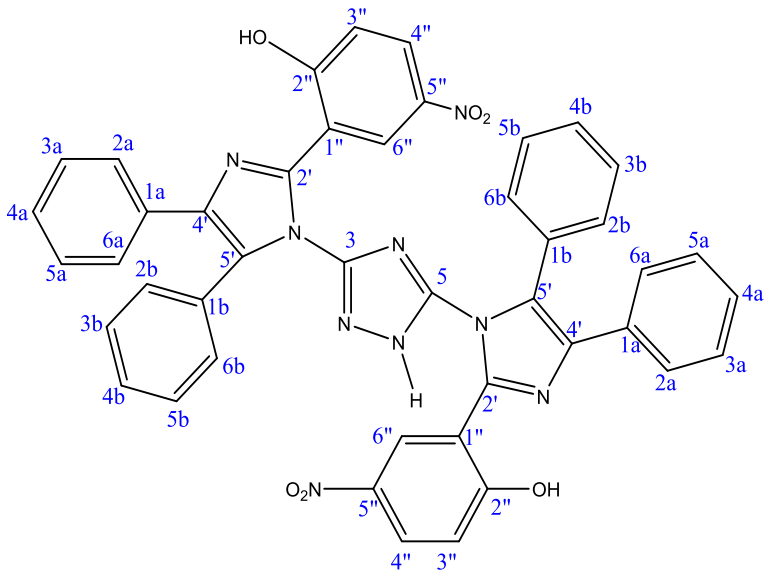


Figure 62: Formule chimique développée de M12.

Tableau XXXI: Déplacements chimiques des carbones de M12.

δ(ppm)	Carbones correspondants
128.24	$C_{3"}$
128.44	$C_{1"}$
128.93	$C_{6"}$
129.18	$C_{4"}$
129.97	C_{2a}-C_{6a}, C_{2b}-C_{6b}
130.06	C_{1a}, C_{1b}

δ(ppm)	Carbones correspondants
132.86	$C_{4'}$, $C_{5'}$
136.33	$C_{5''}$
160.49	$C_{2'}$
172.70	C_3, C_5
196.45	$C_{2''}$

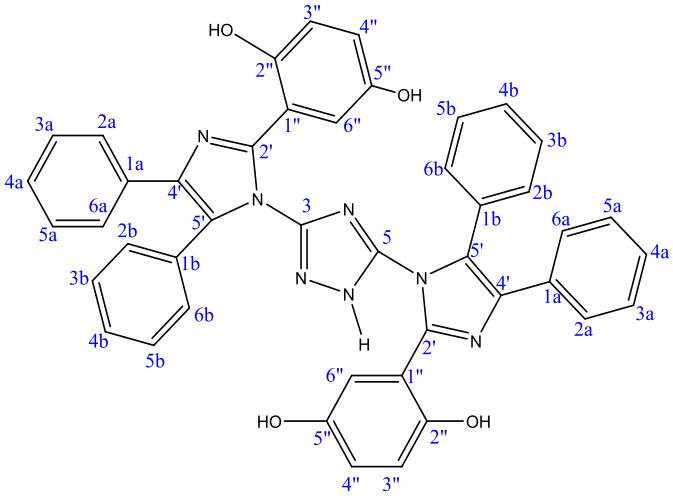


Figure 63: Formule développée de M13.

Tableau XXXII: Déplacements chimiques des carbones de M13.

δ(ppm)	Carbones correspondants
113.38	$C_{4''}$, $C_{6''}$
117.37	$C_{3''}$
118.63	$C_{1''}$
122.63	C_{2a},C_{6a}, C_{2b},C_{6b}
124.95	C_{4a},C_{4b}
128.63	C_{3a},C_{5a}, C_{3b},C_{5b}
129.93	C_{1a}, C_{1b}
132.63	$C_{4'}$, $C_{5'}$
135.96	$C_{2'}$
149.89	C_3, C_5
191.75	$C_{5''}$
195.02	$C_{2''}$

Les déplacements chimiques obtenus à δ_C 30.68 ppm et δ_C 40.67 ppm avec M10 et à δ_C 30.99 ppm, δ_C 32.83 ppm avec M11, correspondent à CH_3, CH_2 de l'éthanol retenu dans la structure cristalline à l'état de traces. Le déplacement chimique correspondant au DMSO a été noté au

voisinge de 40 ppm. Les résultats obtenus après l'analyse ^{13}C RMN des molécules M1-M13 ont mis en évidence l'ensemble des carbones composants ces produits ; et en se basant aussi sur les résultats de l'analyse ^{1}H RMN, nous pouvons confirmer la structure chimique des dérivés de la série [3,5-di (4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole synthétisés.

2-2-7- Caractérisation des produits synthétisés par diffraction de rayons X

Les diffractogrammes obtenus par diffraction des rayons X sont représentés dans l'annexe VIII.

Les diffratogrammes obtenus avec l'ensemble des molécules M1-M13 confirment l'aspect cristallin de ces dernières, l'interprétation a été faite par le logiciel « High Score Plus » pour la détermination de la phase. Les molécules synthétisées cristallisent selon le système monoclinique ou orthorhombique (voir tableaux XXXIII et XXXIV).

Tableau XXXIII: Caractéristiques de la maille des molécules synthétisées M1-M7.

Molécules	**M1**	**M2**	**M3**	**M4**	**M5**	**M6**	**M7**
Système cristallin	Monocli-nique	Monocli-Nique	Monocli-Nique	Monocli-Nique	Monocli-Nique	Monocli-Nique	Monocli-nique
a (A°)	15,61	11,44	6,21	14,18	16,97	16,97	13,91
b (A°)	13,46	10,02	21,11	10,18	11,40	11,40	12,86
c (A°)	18,64	22,31	17,46	22,98	11,16	11,16	7,65
Alpha	90	90	90	90	90	90	90
Beta	113	92	92	126	108	108	98
Gamma	90	90	90	90	90	90	90
h	1	2	1	1	1	1	1
K	1	1	2	0	1	1	0
l	0	0	1	-2	0	0	0
d [A]	9,81	4,96	5,05	11,12	9,48	9,31	13,75
Groupes d'espace	P 1 21/C1	P 1 21/C1	P 1 21/C1	P 1 21/C1	C 1 2 1	C 1 2 1	P 1 21/C1
Volume de la maille (10^6 pm^3)	3600,88	2256,51	2287,86	2651,13	2055,46	2055,46	1353,95

Tableau XXXIV: Caractéristiques de la maille des molécules synthétisées M8-M13.

Molécule	**M8**	**M9**	**M10**	**M11**	**M12**	**M13**
Système cristallin	Monocli-Nique	Orthorho-mbique	Monocli-Nique	Monocli-Nique	Orthorhombique	Monocli-nique
a (A°)	24,42	23,37	11,96	20,63	18,29	9,15
b (A°)	9,46	37,10	18,51	19,12	19,96	10,37
c (A°)	15,64	7,70	31,28	13,98	7,84	11,36

Molécule	M8	M9	M10	M11	M12	M13
Alpha	90	90	90	90	90	90
Beta	98	90	109	108	90	93
Gamma	90	90	90	90	90	90
h	2	3	0	0	2	1
K	0	3	2	2	0	0
l	4	1	0	0	0	0
d [A]	3,54	5,21	9,25	9,56	9,14	9,13
Groupes d'espace	C 1 2/C1	F d d 2	P 1 21/C1	P 1 21/C1	p c c n	P 1 21/C1
Volume de la maille (10^6 pm^3)	3578,10	6687,07	6524,13	5237,80	2866,23	1077,05

3- Discussion

➢ Benzoïne et benzile

La benzoïne et le benzile ont été obtenus sous forme de cristaux blancs pour la benzoïne et jaunes pour le benzile avec un bon rendement (70% pour la benzoïne et 75,75% pour le benzile). L'analyse des produits obtenus par chromatographie sur couche mince a mis en évidence une seule tâche pour chaque produit, correspondant au principe actif synthétisé. La confirmation de la structure des deux molécules a été réalisée par analyse spectroscopique. L'absorption dans l'UV-visible a montré un maximum d'absorption pour chaque composé correspondant à la transition électronique π-π* du (C = C) des cycles aromatiques. Pour l'analyse par IR, le benzile comporte un groupement carbonyle C=O avec une absorption caractéristique intense à 1678 cm^{-1} ; c'est la bande la plus intense et la plus nette du spectre IR. L'absence de la bande du groupement OH dans le spectre IR du benzile (noté à 3402 cm^{-1} dans le spectre IR la benzoïne), nous confirme l'absence du produit de départ.

Pour la bande à 1320 cm^{-1}, elle peut être due aux formes de délocalisations possibles (C^+–O^-) (Figure 64).

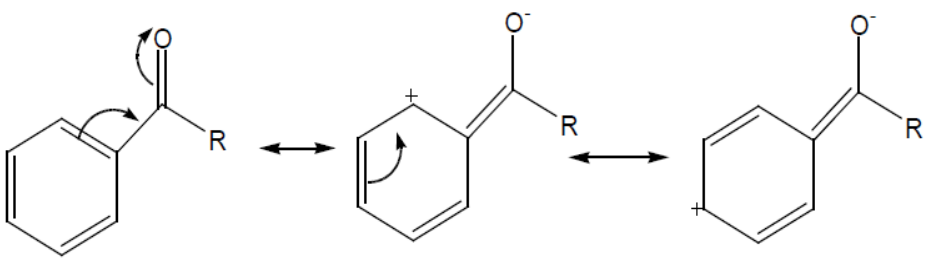


Figure 64: Formes de résonnance entre le cycle et la fonction cétone du benzile.

L'analyse ^{1}H RMN de la benzoïne a montré un singulet à 8,01 ppm correspondant au proton de l'hydroxyle et un multiplet à 7,25-7,56 ppm correspondant aux 10 protons aromatiques. Nous avons constaté la disparition du singulet dans le spectre ^{1}H RMN du benzile, qui a montré juste un multiplet à 7,62-793 ppm correspondant aux protons aromatiques, ceci confirme l'oxydation de la benzoïne en benzile.

Le benzile est une molécule symétrique, donc chaque signal représente deux protons, chacun d'un côté de l'axe de symétrie. Sur le spectre zoomé entre 7 et 8 ppm, nous pouvons distinguer nettement trois signaux (deux triplets et un doublet). Pour les atomes d'hydrogène liés au cycle, il y a des formes de résonnance entre le cycle et la fonction cétone. Cette délocalisation de la charge déblinde légèrement les carbones en ortho et en para et apparaissent à de plus grands déplacements chimiques. Les hydrogènes en méta et en para ont deux atomes d'hydrogène comme voisins, ils sont visualisés donc sous forme de triplets, alors que l'atome d'hydrogène en ortho a un seul atome d'hydrogène voisin, donc il se voit sous forme d'un doublet.

L'analyse ^{13}C RMN de la benzoïne et du benzile met en évidence l'ensemble des carbones composants ces deux molécules.

A partir des résultats obtenus (analyse spectrale) et du point de fusion situé dans la fourchette fixée pour les deux produits, nous pouvons conclure que la structure chimique de la benzoïne et du benzile est confirmée.

- **La série [3,5-di (4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole**

Les dérivés de la nouvelle série [3,5-di(4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole sont obtenus suivant la réaction de « Debus-Radziszewski » modifiée, se produisant en une seule étape et faisant intervenir plusieurs composants : le benzile synthétisé, des aldéhydes substitués ; 3,5-diamino-1,2,4-triazole, acétate d'ammonium et en présence de nitrate de cérium et d'ammonium comme catalyseur. Les composés M1-M13 sont obtenus sous forme de poudres ou de cristaux avec des rendements acceptables allant de 53% jusqu'à 70%. Tous les composés sont insolubles dans l'eau et présentent une très bonne solubilité dans le DMF et le DMSO. La température de fusion est caractéristique de chaque produit et elle est variable d'un composé à un autre, prenant l'exemple de la molécule M12 pour laquelle le début de la fusion est situé à 260° et la fin de fusion à 268°.

L'analyse par chromatographie sur couche mince des composés synthétisés, a mis en évidence une seule tâche de migration pour chaque produit, correspondant au principe actif synthétisé. Les rapports frontaux sont presques identiques, cependant il est possible de modifier la proportion des solvants constituants la phase mobile afin de moduler la migration.

L'amine secondaire a été caractérisée par des réactions colorimétriques, réaction de Bouchardât et réaction de Dragendorff ; ces deux réactions ont mis en évidence le dérivé de périodure pour la première réaction et le complexe de bismuth et d'amine pour la seconde respectivement.

La confirmation de la structure a été réalisée par différentes méthodes spectroscopiques. L'absorption dans l'UV-visible a montré un maximum d'absorption pour chaque composé correspondant à la transition électronique π-π* du C = C aromatique ou C = N ; pour la M12, deux autres maximums d'absorption ont été mis en évidence, un à 364 nm correspondant à la transition électronique n-π*, et l'autre à 424 nm correspondant à la transition électronique π-π* du (N = O).

L'analyse des composés par IR a mis en évidence les principales bandes de vibrations telles que la vibration d'élongation (ν_{N-H}) aux alentours de 3400 cm^{-1}, la vibration $\nu_{C=C}$ aux environs de 1600 cm^{-1}, la vibration $\nu_{C=N}$ au voisinage de 1500 cm^{-1}, la vibration du (C-H) aromatique au voisinage de 3050 cm^{-1}, les vibrations correspondants aux hydroxyles, l'amine substituée et le groupement nitro, ainsi que les radicaux alkyles, le phényl non substitué et/ou le phényl polysubstité ont été aussi repérées.

L'analyse ^{1}H RMN de la série des molécules synthétisées a permis de mettre en évidence différents types de protons :

- Proton aromatique en position 2' de l'imidazole : visualisé uniquement dans le spectre ^{1}H RMN de la M1 sous forme de singulet, il a disparu dans les spectres ^{1}H RMN des autres molécules à cause de la substitution en « 2' » par un alkyle ou un phényle substitué ou non ;
- Proton porté par l'azote du triazole : visualisé pour toutes les molécules sous forme de singulet.
- Protons aromatiques : portés par les phényles substitués sur les imidazoles en position 2', visualisés sous forme de multiplets entre 7-8 ppm ;

- Protons des alkyles substitués sur l'imidazole (en position 2') ou sur les phényles repérés dans la région de faible polarité ;
- Protons des hydroxyles repérés sous forme de singulets pour les molécules M5, M6, M12 et M13.

Les molécules M10 et M11 renferment dans leur structure cristalline des traces d'éthanol, visualisées sur les spectres ^{1}H RMN et ^{13}C RMN, ceci peut être expliqué par la formation de liaisons hydrogènes intermoléculaires (Figure 65), ce qui a abouti à la rétention de traces d'éthanol dans la forme cristalline.

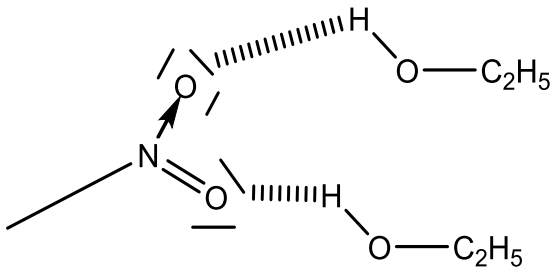


Figure 65: Liaisons hydrogènes intermoléculaires possible avec M10.

L'analyse ^{13}C RMN, a mis en évidence les atomes de carbone des composés M1-M13. D'après les résultats obtenus, nous pouvons confirmer la structure de nos molécules.

Une étude de la forme cristalline a été aussi effectuée. D'après les résultats de la DRX, nous constatons qu'il existe une seule phase pour l'ensemble des molécules M1-M13. Pour décrire correctement la maille du système cristallin, nous avons déterminé les longueurs des arêtes (a, b et c) ainsi que les angles qu'elles font les unes par rapport aux autres (α, β et γ). Les groupes de symétrie ou groupes d'espace, la distance réticulaire, les valeurs hkl ainsi que le volume de la maille ont été aussi déterminés.

Les molécules M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M10, M11, M13 cristallisent selon un système monoclinique avec des groupes d'espace identiques pour M1, M2, M3, M4, M7, M10, M11 et M13 et qui est le groupe de symétrie « P 1 21/C1 », M5 et M6 présentent les mêmes groupes de symétrie « C 1 2 1 » et seule M8 présente les groupes de symétrie « C 1 2/C1 ». Le volume de la maille le plus petit correspond à la M13 (1077,05) et le plus élevé correspond à la M10 (6524,13).

Les molécules M9 et M12 cristallisent selon un système orthorhombique mais les groupes d'espaces diffèrent, nous avons le groupe de symétrie « F d d 2 » pour la M9 et « p c c n »

pour la M12. Nous avons noté aussi que le volume de la maille de la M12 (2866,23) est inférieur à celui de la M9 (6687,07).

PARTIE PRATIQUE B : Etude de l'activité antimicrobienne des molécules M1-M13

CHAPITRE I : Matériel et méthodes

Les molécules M1-M13 de la nouvelle série « [3,5-di (4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl-1*H*-1,2,4-triazole » synthétisées au niveau du laboratoire de recherche de chimie appliquée et génie chimique et au niveau du laboratoire de chimie thérapeutique de la faculté de médecine de Tizi-Ouzou, sont soumises aux tests bactériologiques au niveau du service de microbiologie du CHU Tizi Ouzou, et aux tests fongiques au niveau du service de parasitologie mycologie du même CHU. Pour cela, nous avons utilisé des souches bactériennes de référence (ATCC= American Type Culture Collection) fournies par le service de microbiologie, certaines souches fongiques responsables des mycoses profondes et superficielles disponibles au niveau du service de parasitologie-mycologie : des levures, des moisissures et des dermatophytes et une souche d'Aspergillus niger (ATCC) fournie par Novonordisck.

1- Matériel, réactifs utilisés, et les souches microbiennes testées

1-1- Matériel et appareillages

Le tableau XXXV ci-dessous regroupe l'ensemble du matériel et des appareillages utilisés pour l'identification des souches testées et l'étude de l'activité antimicrobiennes des molécules M1-M13 synthétisées.

Tableau XXXV: Matériel et appareillages utilisés pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Matériel	Appareillages	Milieux de cultures et galerie
-Spatules -Verres de montre -Tubes en verre stériles -Pipettes pasteurs -Embouts propres -Portoirs -Boites de pétri stériles -Ecouvillons. -lames et lamelles.	-Balance analytique de précision KERN ABT 220-5DM, N° de série : WB12E0071 -Agitateur vortex ZX^3 VELP SCIENTIFICA -Bec benzène - Densitomètre - Etuve MEMMERT - Microscope optique. - Micropipette SMART N° de série : KE239836 -Autoclave	-Gélose Muller Hinton. -Gélose casitone. - Milieu Chapman. - Milieu Hektoen. -Galerie biochimique API.

1-2- Matières premières et réactifs utilisés

Le réactif utilisé pour dissoudre les molécules M1-M13 synthétisées, les matières premières utilisées comme contrôle ainsi que les réactifs utilisés pour l'identification des souches fongiques sont représentés dans le tableau XXXVI ci-dessous.

Tableau XXXVI: Réactifs et matières premières utilisés pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Matières premières	
Fluconazole	Fabricant : GLENMARK Formule brute : $C_{13}H_{12}F_2N_6O$ Mr : 306,2708 ± 0,0127 g/mol
Gentamycine	Fabricant : Fujian Fukang Formule brute : $C_{21}H_{43}N_5O_7$ Mr : 477,5954 ± 0,0229 g/mol
Réactifs et colorants	
DMSO	Formule brute: C_2H_6OS Mr: 78,13 g/mol Sigma-Aldrich N° CAS: 67-68-5
Encre de chine	/
Bleu de méthylène	/
Eau distillée stérile	/

1-3- Souches microbiennes testées

Nous avons testé l'activité microbiologique des molécules synthétisées M1-M13 vis-à-vis des souches microbiennes représentées dans le tableau XXXVII ci-dessous.

Tableau XXXVII: Souches des micro-organismes testés.

Règne	**Souches testées**	**Espèces testées**	**Origine**
Bactéries	Gram -	*Escherichia coli* (ATCC 25 922)	Souches de références American Type Culture Collection (ATCC)
		Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27 853)	
	Gram +	*Staphylococcus aureus* (ATCC 25 923)	
Champignons	Levures	*Candida albicans* (Prélèvement buccal)	Laboratoire de parasitologie du CHU de Tizi-Ouzou
		Cryptococcus neoformans (Liquide céphalorachidien LCR)	
		Trichosporon sp. (Ongle des pieds)	
	Moisissures	*Aspergillus niger* (ATCC 16404)	Souche ATCC
		Aspergillus flavus (Contaminant aérien)	Laboratoire de parasitologie du CHU de Tizi-Ouzou
	Dermatophytes	*Microsporum gypseum* (cheveu)	
		Microsporum canis (cheveu)	

2- Méthodes utilisées

Nous avons évalué l'activité antimicrobienne en se référant à la standardisation de l'antibiogramme [225] et de l'antifongigramme [226, 227] pour l'ensemble des molécules synthétisées comme suit :

- Tester la sensibilité in vitro par la méthode de diffusion des disques et mesurer les diamètres d'inhibition ;
- Déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) ;
- Déterminer la concentration minimale bactéricide (CMB) et la concentration minimale fongicide (CMF).

2-1- Activation des souches bactériennes ATCC

Une activation des souches bactériennes de référence a été effectuée en réalisant des isolements en stries (méthode des quatre quadrants) des trois souches à tester sur les milieux sélectifs :

- Milieu Chapman sélectif pour le *Staphylococcus aureus* ;
- Milieu Hektoen sélectif pour le *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli*.

Des antibiogrammes de contrôle ont été réalisés pour les trois souches ATCC.

2-2- Mise en culture et identification des souches fongiques utilisées

Les souches fongiques testées sont des cultures de 48h pour *Candida albicans* et *Trichosporon sp.*, 48-72h pour *Cryptococcus neoformans*, 48 h-5 jours pour les *Aspergillus* et de 15 jours pour les dermatophytes, fournies par le laboratoire de parasitologie du centre hospitalo-universitaire de Tizi-Ouzou ou souche ATCC, sur milieu gélosé en tube :

- Milieu sabouraud-chloramphénicol-actidione pour les levures ;
- Milieu sabouraud-chloramphénicol pour les moisissures et les dermatophytes.

2-2-1- Identification des souches fongiques testées

L'identification a été effectuée en se référant aux critères morphologiques et culturaux des différentes souches. Toutes les souches fongiques utilisées dans notre étude ont été soumises à une identification morphologique réalisée par observation au microscope. L'observation a été faite à l'aide d'un fragment de la souche prélevé avec une anse de platine stérile. Ce fragment est transféré sur une lame, sur laquelle un colorant approprié a été rajouté (bleu de méthylène

pour *Candida albicans*, *Trichosporon sp.*, *Aspergillus niger*, *Microsporum canis* et *Microsporum gypseum* ; encre de chine pour *Cryptococcus neoformans*). L'observation microscopique a été réalisée au deux grossissements 10 et 40.

L'identification de l'espèce *albicans* du genre *Candida* a été réalisée par le test de filamentation [228] et la confirmation de l'espèce *néoformans* pour le *Cryptococcus* a été effectuée par la galerie biochimique (API *Candida*) [229].

2-2-1-1- Test de Blastèse ou de filamentation

Pour confirmer l'espèce de *Candida* « *Candida albicans* », nous avons réalisé le test de blastèse ou de filamentation [228] :

- Réaliser une suspension de levures ayant une opacité à peine visible dans 1 mL de sérum frais ;
- Agiter ;
- Incuber 3 heures à 37°C (maximum 4 heures) ;
- Observer à l'état frais entre lame et lamelle.
- Si la levure est *Candida albicans*, nous observons l'émission d'un tube germinatif à partir de blastospore, le tube germinatif est fin, flexueux et ne présente pas une constriction à sa base.

2-2-1-2- Identification du *Cryptococcus neoformans*

Pour confirmer l'espèce *neoformans* pour le genre *Cryptococcus*, nous avons utilisé la galerie biochimique (API *Candida*) qui est un système standardisé pour l'identification en 18-24 heures des levures les plus fréquemment rencontrées en clinique.

a- Principe

La galerie biochimique « API *Candida* » comporte 10 tubes contenant des substrats déshydratés, pour réaliser 12 tests d'identification (acidification de sucres ou réactions enzymatiques). Les réactions ayant lieu durant l'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés. La lecture des réactions se fait en se référant au tableau de lecture et l'identification est réalisée en utilisant la liste des profils de la notice (annexe IX) ou un logiciel d'identification. API *Candida* ne peut pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autre. Les microorganismes à identifier doivent d'abord être isolés sur un milieu de culture adapté [229].

b- Mode opératoire

- **Sélection des colonies** : confirmer lors d'un examen microscopique que la souche étudiée est une levure. Le milieu de culture utilisé pour isoler les colonies est « sabouraud chloramphénicol » ;
- **Préparation de la galerie**
  - Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée pour créer une atmosphère humide ;
  - Reporter la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;
  - Sortir la galerie de son conditionnement individuel ;
  - Mettre la galerie dans la boîte d'incubation ;
- **Préparation de l'inoculum**
  - Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0,85 % Medium (2 ml) ;
  - A l'aide d'un écouvillon, prélever une ou plusieurs colonies identiques bien isolées et réaliser une suspension d'opacité égale à celle de l'étalon 3 Mc Farland ;
  - Travailler avec des cultures jeunes (18-24 heures) ;
  - Homogénéiser la suspension de levures.
- **Inoculation de la galerie**
  - Répartir la suspension fongique dans les tubes en évitant de faire des bulles (pour cela, incliner la boîte d'incubation vers l'avant et placer la pipette sur le côté de la cupule), la qualité du remplissage est très importante : des tubes insuffisamment ou trop remplis sont source de résultats faussement positifs ou négatifs ;
  - Recouvrir les 5 premiers tests (GLU à RAF) et le dernier test (URE) d'huile de paraffine (tests soulignés) juste après l'inoculation de la galerie ;
  - Refermer la boîte d'incubation ;
  - Incuber 18-24 heures à 36°C ± 2°C en atmosphère aérobie ;
  - Faire la lecture après 24h d'incubation en se référant à la table de lecture et la liste des profils numériques pour API *Candida* (annexe IX).

2-3- Test de sensibilité in vitro par la méthode de diffusion des disques

2-3-1- Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des molécules M1-M13 a été évaluée contre deux bactéries à Gram négatif, *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et une bactérie à Gram positif, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) par la méthode de diffusion

des disques conformément à la standardisation de l'antibiogramme CLSI 2011 (Clinical and Laboratory Standards Institute) [225].

- **Milieu utilisé**
  - Il doit être coulé en boites de Pétri d'une manière à avoir une épaisseur de 4 mm ;
  - Les géloses doivent être séchées avant l'emploi ;
  - La gélose Mueller-Hinton a été utilisée.
- **Préparation des solutions à tester**

Préparer les différentes solutions à tester (M1-M13), à une concentration de 5,12 mg/ml, dans le diméthyl sulfoxyde [230] (DMSO : il a été testé vis-à-vis de chaque type de souche bactérienne et aucune inhibition n'a été observée).

- **Préparation de l'inoculum microbien**
  - A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié (milieu Chapman pour le *staphylococcus aureus* et milieu Hektoen pour le *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli*), racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, utiliser un écouvillon pour prélever les colonies bactériennes ;
  - Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% ;
  - Bien homogénéiser la suspension microbienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une densité optique de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. Dans notre étude, nous avons utilisé un densitomètre ;
  - La suspension bactérienne à 0,5 MF doit être diluée au 1/10ème (car nous testons de nouveaux composés).
- **Ensemencement**
  - Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum bactérien ;
  - L'essorer en le pressant (et en le tournant) contre la paroi interne du tube pour le décharger au maximum ;
  - Frotter l'écouvillon sur la surface gélosée, sèche, en stries serrées, de haut en bas ;
  - Répéter l'opération deux fois, tout en tournant la boite de 60° à chaque fois, ne pas oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en faisant passer l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;

- Dans le cas ou l'on veut ensemencer plusieurs boites de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

- **Application des disques**
  - Presser chaque disque à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application ;
  - Imbiber les disques avec 10µL de chaque solution.

- **Conditions d'incubation**

Incuber les boites de pétri ensemencées à 37°C pendant 24 heures.

Des milieux avec du DMSO et des milieux avec de la gentamycine sont mis en place comme témoins.

- **Lecture**

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse en procédant par transparence à travers le fond de la boite de pétri fermée.

2-3-2- Activité antifongique

L'activité antifongique des composés synthétisés a été également évalués vis-à-vis de *Candida albicans, Cryptococcus neoformans, Trichosporon sp., Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Microsporum gypseum et Microsporum canis*. Ce test a été réalisé par méthode de diffusion des disques conformément à la méthode CLSI [226, 227]. Le milieu de culture, la préparation de la suspension fongique ainsi que les conditions d'incubations sont précisés ci-dessous.

- **Milieu utilisé**

Nous avons utilisé la gélose casitone car elle permet une bonne diffusion des dérivés azolés, c'est le cas de nos molécules qui renferment dans leur structure les hétérocycles imidazole et triazole, et c'est le milieu préconisé pour la CMI des espèces fongiques dérivés azolés selon la standardisation de l'antifongigramme [226].

- **Préparation de l'inoculum**

Les composés synthétisés M1-M13 ont été dissouts dans du DMSO. Les souches fongiques testées sont des cultures de 48 heures pour les levures et *Aspergillus*, et des cultures de 15

jours pour les dermatophytes. Les colonies ont été mises en suspension dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 % et la turbidité a été ajustée à 0,5 10^3 UFC/ml (0,5 Mc Farland) pour les levures et 0,4 10^4 UFC/ml pour *Aspergillus* et les dermatophytes [227, 231, 232].

- **Conditions d'incubation**

Incuber à 35 °C pendant 24 à 48 heures *Candida albicans* et *Trichosporon sp.*, à 35 °C pendant 48 à 72 heures *Cryptococcus neoformans*, à 35 °C pendant 48h à 5 jours les *Aspergillus* et à 28°C les dermatophytes pendant 15 jours.
Des milieux avec du DMSO et avec du fluconazole ont été mis en place comme témoins.

2-4- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Nous avons procédé par technique de dilution en gélose (CLSI 2020) [225].

- **Milieu de culture**
  - Milieu Mueller-Hinton en gélose ;
  - Il est d'abord liquéfié par ébullition ensuite, maintenu à la température de surfusion (45°C) jusqu'au moment de l'emploi.
- **Préparation des boites de dilutions des solutions à tester** (tableau XXXVIII)
  - Peser 51,20 mg de poudre des molécules M1-M13. Diluer dans 10 ml de DMSO pour obtenir une concentration de 5120 µg/ml (solution-mère) pour chaque composé ;
  - Procéder aux dilutions semi-logarithmiques de demi en demi, dans le DMSO, jusqu'à la concentration finale de 1,25 µg/ml ;
  - Repartir 2 ml de chaque dilution du produit, dans la boite correspondante en procédant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée ;
  - Compléter chaque boite avec 18 ml de la gélose Mueller-Hinton liquéfiée puis homogénéiser délicatement, sans former de bulle, le contenu des boites par des mouvements circulaires ;
  - La dilution au ($1/10^{ème}$) obtenue dans chaque boite aboutit à une concentration finale allant de 512 µg/ml à 0,125 µg/ml ;
  - Préparer une boite témoin sans produit à tester en remplaçant le volume de ce dernier par le même volume d'eau physiologique stérile.
  - Après solidification, sécher les boites pendant 30 mn.
- **Préparation de l'inoculum bactérien**

- Préparer un inoculum standard à une turbidité de 0,5 MF. Utiliser l'eau physiologique stérile à 0,9% pour la préparation de la suspension directe à partir d'une culture jeune de la bactérie à tester ;
- Diluer l'inoculum au 1/10ème en eau physiologique et utiliser un applicateur de 2µl ;
- Déposer chaque dilution sous forme de spot à la surface de la gélose.

- **Dépôt des spots bactériens**
  - Les spots doivent être déposés dans les 15 mn suivant la préparation de l'inoculum bactérien ;
  - Marquer la boite de dilution d'antibiotique afin d'identifier et de localiser chaque spot ;
  - Appliquer chaque spot sur la gélose, en utilisant une micropipette de 2µl.
  - Commencer toujours par la boite témoin, ensuite déposer les spots sur les différentes boites (de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée) ;
  - Etaler une goutte de chaque souche testée, sur une gélose non sélective et incuber pendant 24h (obtention d'une culture jeune).
- **Incubation**
  - Laisser les boites, dans un premier temps, à température ambiante, couvercle vers le haut, jusqu'à absorption de l'humidité (séchage des spots, pas plus de 30 mn).
  - Ensuite, renverser les boites et incuber à 35°C + /- 2 pendant 24 heures.
- **Lecture des CMI**
  - Placer les boites sur une surface non réflective et sombre ;
  - Noter la CMI définie comme étant la plus faible concentration inhibant toute croissance bactérienne visible [233] ;

Tableau XXXVIII: Préparation des différentes dilutions pour CMI [225].

Etape	Concentration (µg/ml)	ATB (ml)	DMSO (ml)	Concentration Intermédiaire	Concentration finale (µg/ml)
Solution mère	5120			5120	512
1	5120	2	2	2560	256
2	5120	1	3	1280	128
3	5120	1	7	640	64
4	640	2	2	320	32
5	640	1	3	160	16
6	640	1	7	80	8
7	80	2	2	40	4
8	80	1	3	20	2

Etape	Concentration (µg/ml)	ATB (ml)	DMSO (ml)	Concentration Intermédiaire	Concentration finale (µg/ml)
9	80	1	7	10	1
10	10	2	2	5	0,5
11	10	1	3	2,5	0,25
12	10	1	7	1,25	0,125

Pour les espèces fongiques, procéder de la même façon que les bactéries, sauf qu'il faut utiliser la gélose casitone, l'opacité de l'inoculum fongique et les conditions d'incubation doivent êtres conformes à ce qui a été précisé dans le test de sensibilité in vitro pour les champignons.

2-5- Détermination de la concentration minimale bactéricide et de la concentration minimale fongicide

- **Mode opératoire**

Afin d'apprécier la nature de l'activité antibactérienne et antifongique des molécules M1-M13 (bactériostatique ou bactéricide, fongistatique ou fongicide) pour chaque espèce testée, nous appliquons des disques vierges sur les spots des CMI qui n'ont pas montré de croissances visibles (c'est-à-dire celles qui sont supérieures ou égales à la CMI), les presser à l'aide de pinces bactériologiques stériles et les transférer sur des boites de pétri préalablement préparés et séchés (contenant 20ml de la gélose MH pour les bactéries ou gélose casitone pour les espèces fongiques). Incuber les boites à 35°C + /- 2 pendant 24 heures pour les bactéries, Incuber à 35 °C pendant 24 à 48 heures *Candida albicans* et *Trichosporon sp.*, à 35 °C pendant 48 à 72 heures *Cryptococcus neoformans*, à 35 °C pendant 48h à 5 jours les *Aspergillus* et à 28°C les dermatophytes pendant 15 jours.

- **Lecture des CMB et CMF**

La CMB et la CMF d'un produit antimicrobien correspondent à la plus faible concentration capable de tuer 99,99 % des bactéries d'un inoculum prédéfini dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées [234].

Le rapport CMB/CMI permet de caractériser le type d'activité d'un antibiotique donné [235] :

- CMB/CMI ≤ 2 : molécule dite bactéricide ;
- CMB/CMI 4 à 16 : effet bactériostatique ;
- CMB/CMI > 16 : la bactérie est dite tolérante à l'antibiotique.

Le rapport CMF/CMI permet de caractériser le type d'activité d'un antifongique [236] :

- CMF/CMI < 4 : fongicide ;
- CMF/CMI ≥ 4 : fongistatique.

CHAPITRE II : Résultats et discussion

1- Résultats

1-1- Activation des souches bactériennes ATCC et antibiogrammes

Après 24H d'incubation des souches bactériennes sur les milieux sélectifs, nous avons obtenu les cultures jeunes représentées dans la figure 66 ci-dessous.

Figure 66: Souches bactériennes ATCC utilisées dans notre étude.

Les résultats des antibiogrammes réalisés pour les trois souches ATCC testées sont représentés dans les tableaux XXXIX - XLI ci-dessous.

Tableau XXXIX: Résultats de l'antibiogramme effectué pour *E.coli* (ATCC 25922).

Antibiotique testé	TCC	NA	AMX	CL	C	CIP	SXT	CN	CAZ	CZ	AK	NIT
Diamètre d'inhibition (mm)	27	29	19	15	23	34	28	20	29	25	19	20

Tableau XL: Résultats de l'antibiogramme effectué pour *S. aureus* (ATCC 25923).

Antibiotique Testé	DO	TE	CX	VA	C	CIP	SXT	CN	CD	RIF	AK	TEI
Diamètre d'inhibition (mm)	31	30	30	22	25	31	30	29	27	29	25	19
Antibiotique Testé	E			FC			K			PR		
Diamètre d'inhibition (mm)	27			31			23			25		

Tableau XLI: Résultats de l'antibiogramme effectué pour *P. aeruginosa* (ATCC 25923).

Antibiotique Testé	TCC	CN	TI	PI	CAZ	CIP	TOB	LE
Diamètre d'inhibition (mm)	23	21	23	24	22	33	31	28

La sensibilité de la souche *E. coli* (ATCC 25922) utilisée dans notre étude a été confirmée par un antibiogramme de contrôle (Tableau XXXIX), ce dernier a montré la sensible de cette souche aux antibiotiques suivants : ticarcilline + acide clavulanique (TCC), cide nalidixique (NA), amoxicilline (AMX), colistine (CL), chloramphénicol (C), ciprofloxacine (CIP), triméthoprime/sulfaméthoxazole (SXT), céfalexine (CN), ceftazidime (CAZ), céfazoline (CZ), amikacine (AK) et nitrofurantoine (NIT).

L'antibigramme réalisé pour le *Staphylococcus aureus (ATCC 25923)* a montré que ce dernier est sensible aux antibiotiques suivants : doxycycline (DO), tétracycline (TE), céfoxitine (CX), vancomycine (VA), chloramphénicol (C), ciprofloxacine (CIP), triméthoprime/ sulfaméthoxazole (SXT), céfalexine (CN), clindamycine (CD), rifampicine (RIF), amikacine (AK), teicoplanine (TEI), érythromycine (E), acide fucidique (FC), kanamycine (K) et pristinamycine (PR) (Tableau XL).

Le Pseudomonas aeruginosa (ATCC 25923) utilisée dans notre étude est sensible aux antibiotiques suivants : ticarcilline/acide clavulanique (TCC), céfalexine (CN), ticarcilline (TI), pipéracilline (PI), ceftazidime (CAZ), ciprofloxacine (CIP), tobramycine (TOB) et lévofloxacine (LE) (Tableau XLI).

Les résultats obtenus sont en concordance avec les données des CLSI [225].

1-2- Mise en culture et identification des souches fongiques utilisées

1-2-1- Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des souches fongiques

Nb : Toutes les photos insérées dans cette partie sont des photos personnelles.

1-2-1-1- *Candida albicans*

a- Aspect macroscopique : colonies blanches, crémeuses, lisses et bombés (Figure 67a).

b- Caractéristiques microscopiques : levures rondes ou ovales, de 4-8 µm, plus ou moins bourgeonnantes (Figure 67b).

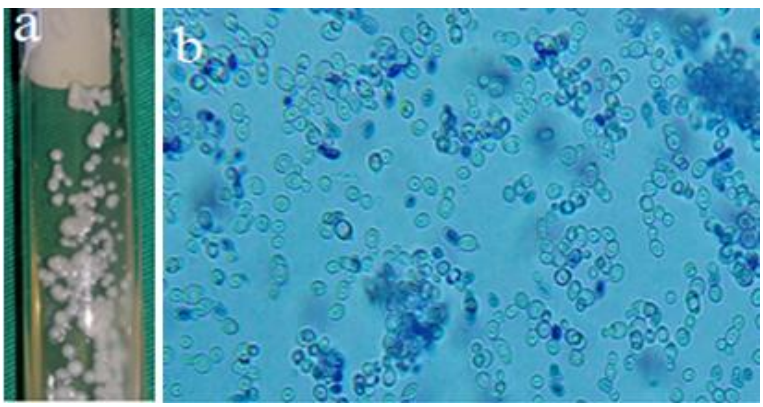


Figure 67: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques du *Candida albicans*.

1-2-1-2- *Trichosporon sp.*

a- Aspect macroscopique : colonies crémeuses, cérébriformes, glabres,de couleur jaune-chamois (Figure 68a).

b- Caractéristiques microscopiques : levures ovalaires à bourgeonnement multipolaire, non capsulées ; présence de filaments arthrosporés (Figure 68b).

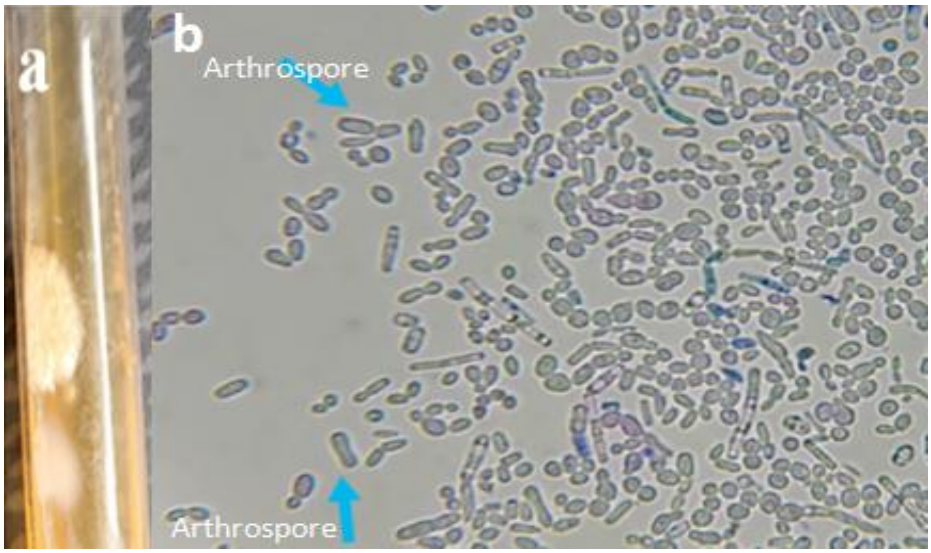


Figure 68: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques du *Trichosporon sp.*

1-2-1-3- *Cryptococcus neoformans*

a- Aspect macroscopique : colonies muqueuses, coulantes, à bord régulier, blanchâtre devenant ocres en une semaine (Figure 69a et b).

b- Caractéristiques microscopiques : levures rondes ou ovales (4 µm) à bourgeonnement multipolaire, capsulées ; Absence de mycélium (Figure 69c).

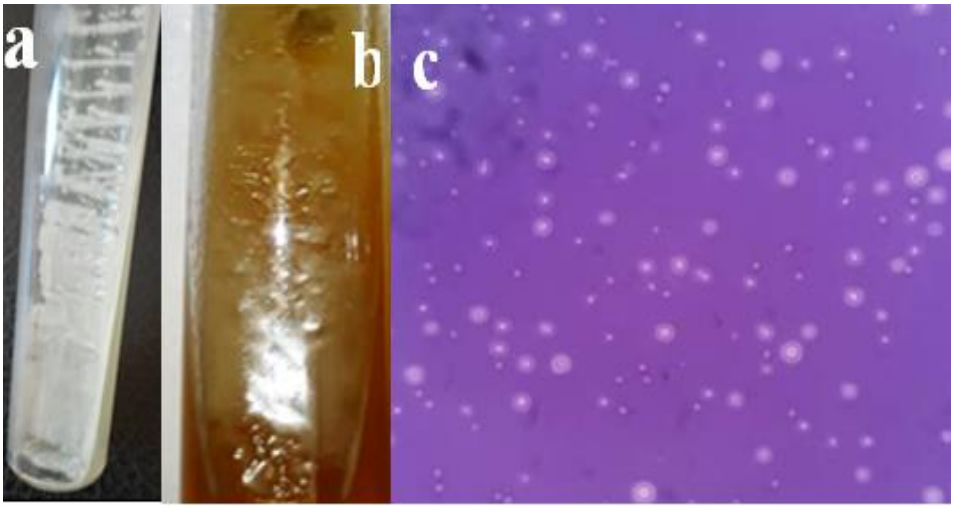


Figure 69: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques du *Cryptococcus neoformans*.

1-2-1-4- *Microsporum gypseum*

a- Aspect macroscopique : recto : plâtreuse, beige puis chamois ; verso : chamois foncé (Figure 70a).

b- Caractéristiques microscopiques : macroconidies en "cocon", nombreuses et échinulées ; microconidies qui sont rares et piriformes (Figure 70b).

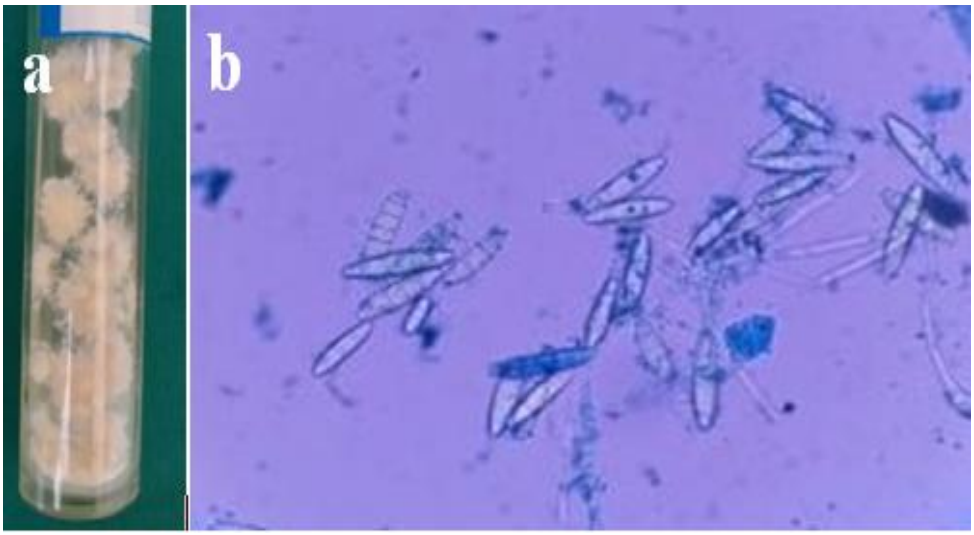


Figure 70: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques du *Microsporum gypseum*.

1-2-1-5- *Microsporum canis*

a- Aspect macroscopique : colonie duveteuse, étoilée ; recto : blanc ; verso : pigment jaune orangé (Figures 71 a et b).

b- Caractéristiques microscopiques : microconidies **:** piriformes peuvent être présentes ; macroconidies : de grandes tailles, renflées au centre, pointues aux deux extrémités, parois épaisses, échinulées, contiennent 6-12 logettes (Figure 71c).

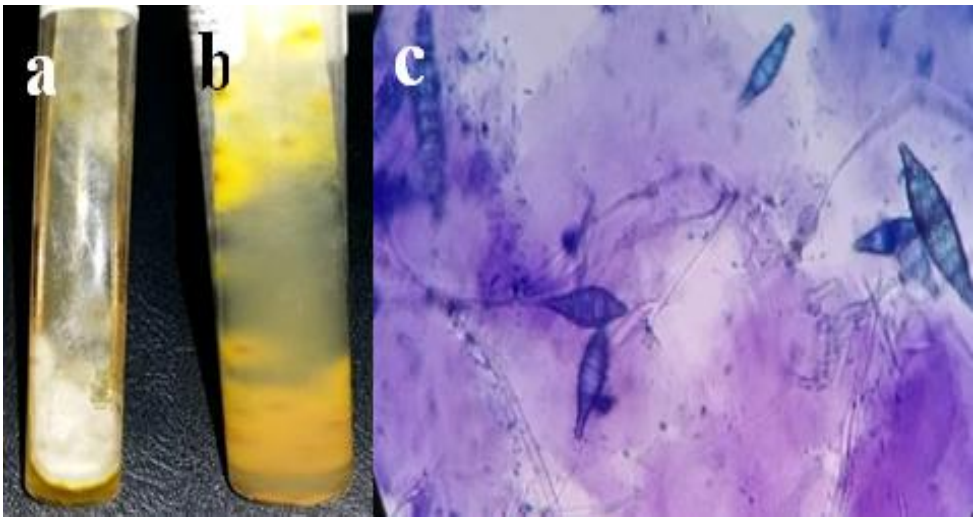


Figure 71: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques de *Microsporum canis*.

1-2-1-6- *Aspergillus niger*

a- Aspect macroscopique : colonies d'abord blanches, puis jaunes et enfin granuleuses noires (Figure 72a).

b- Caractéristiques microscopiques : caractérisé par (Figure 72b) :

- Tête aspergillaire : radiée, bisériée, noire à maturité ;
- Vésicule : globuleuse mesurent 45 à 75 µm ;
- Conidies : brunes, globuleuses, échinulées, habituellement disposées en chaîne (3,5 à 5 µm de diamètre) ;
- Conidiophore : hyalin ou brunâtre dans sa moitié supérieure, lisse, très long (1,5 à 3 mm).

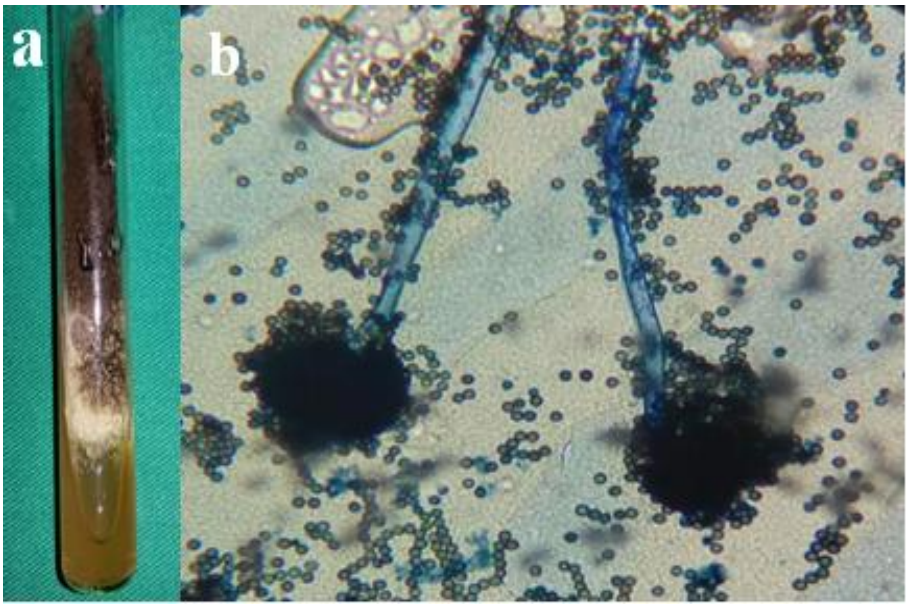


Figure 72: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques d'*Aspergillus niger*.

1-2-1-7- *Aspergillus flavus*

a- Aspect macroscopique : colonies duveteuses à poudreuses, d'abord blanches, puis jaunes, puis vert-jaune (Figure 73a).

b- Caractéristiques microscopiques : caractérisé par (Figure 73b) :

- Tête aspergillaire : radiée, uni ou bisériée, petite en colonne ou grande (300 à 400 µm de long) ;
- Vésicule : sous forme sphérique mesurant 25 à 45 µm ;
- Conidies : globuleuses, vert pâle, échinulées de 3,5 à 4,5 µm de diamètre ;
- Conidiophore : hyalin, long (1 à 2,5 mm), souvent verruqueux avec des aspérités.

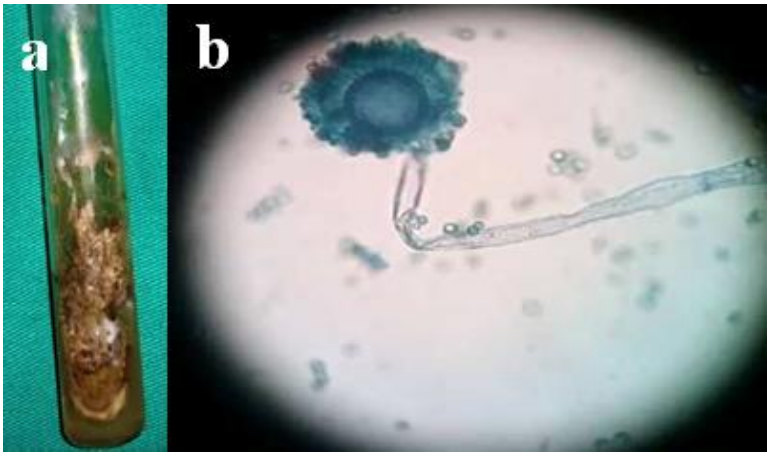


Figure 73: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques d'*Aspergillus flavus*.

1-2-2- Test de Blastèse ou de filamentation

Le test de blastèse réalisé confirme qu'il s'agit de *Candida albicans* par la mise en évidence du tube germinatif émis à partir de blastospore comme l'illustre la figure 74.

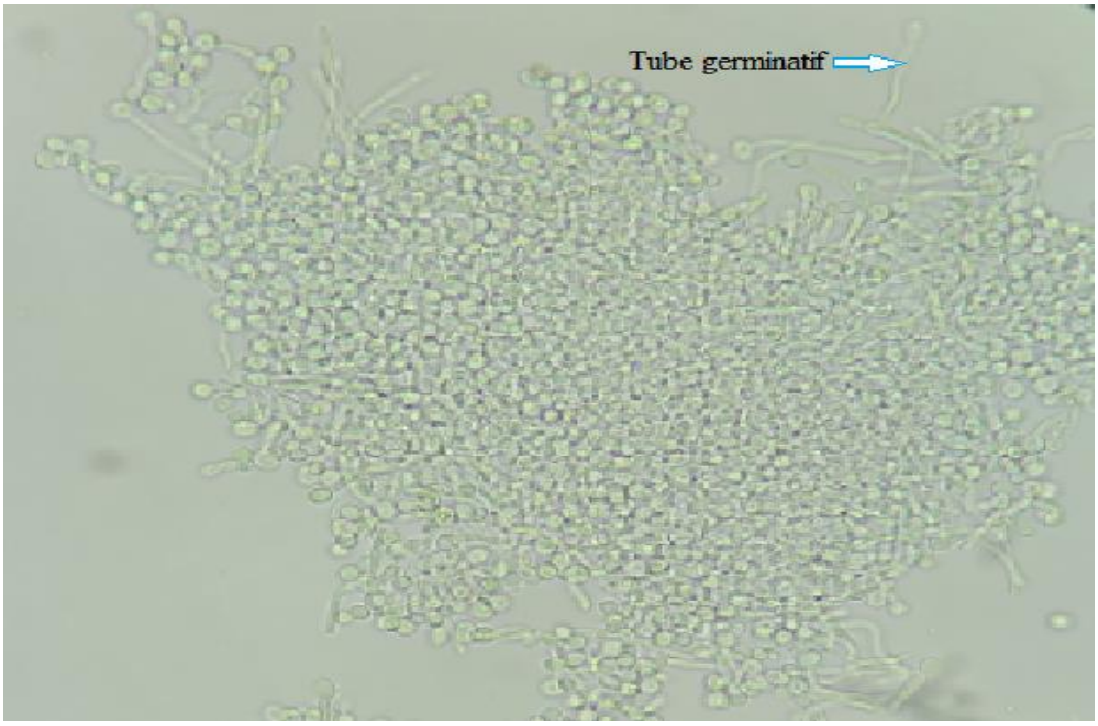


Figure 74: Test de filamentation : *Candida albicans*.

1-2-3- Identification du *Cryptococcus neoformans* par galerie biochimique

- **Lecture et interprétation** : la lecture de la galerie se fait après 24 heures d'incubation :
  - Lire les réactions en se référant au tableau de lecture de la notice et les reporter sous forme de (**+**) ou (**-**) sur la fiche de résultats ;

- Les tubes 8 et 9 sont bifonctionnels parmettant ainsi la réalisation de deux réactions dans le même tube :
  - ✓ Dans le tube 8 : ßXYL (test n° 8) et ßNAG (test n° 11) ;
  - ✓ Dans le tube 9 : ßGUR (test n° 9) et ßGAL (test n° 12).

- **Interprétation**

- Coder les différentes réactions obtenues en un profil numérique : sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois, et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les différentes valeurs correspondant à des réactions positives, un profil numérique à 4 chiffres est ainsi obtenu (Figure 75).
- Identification : Elle est réalisée à partir de la base de données (Annexe IX) à l'aide du profil numérique : rechercher le profil dans la liste de la notice.

Dans notre étude, nous avons obtenu le profil numérique : « 7 2 5 1 » qui correspond à *Cryptococcus neoformans* selon la liste des profils numériques.

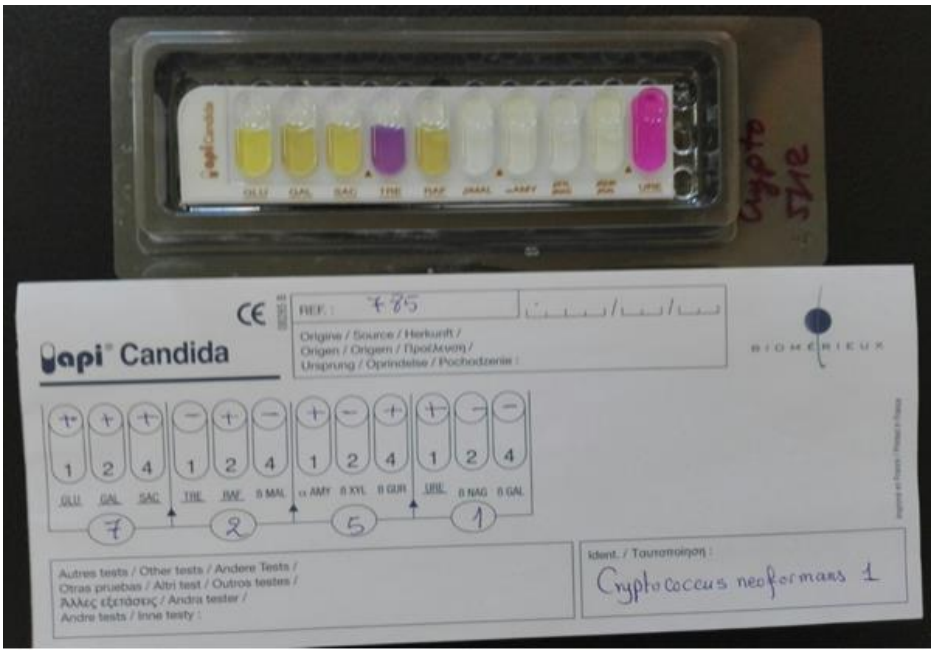


Figure 75: *Cryptococcus neoformans* sur API *Candida*.

1-3- Etude de l'activité antimicrobienne des molécules M1-M13 in vitro

- **Test de sensibilité in vitro des souches bactériennes**

Les résultats de l'étude de l'activité antibactérienne in vitro des molécules M1-M13 n'a montré aucun diamètre d'inhibition vis-à-vis de *P. aerugenosa* et *E. coli*. Pour le *S. aureus*, seule la molécule M12 s'est révélée active avec un diamètre d'ihibition de 32 mm. La

gentamycine utilisée comme contrôle a montré des diamètres d'inhibition de 33mm vis-à-vis de *S. aureus* et *E. coli*, et un diamètre de 34 mm vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* **(**Figures 76-78).

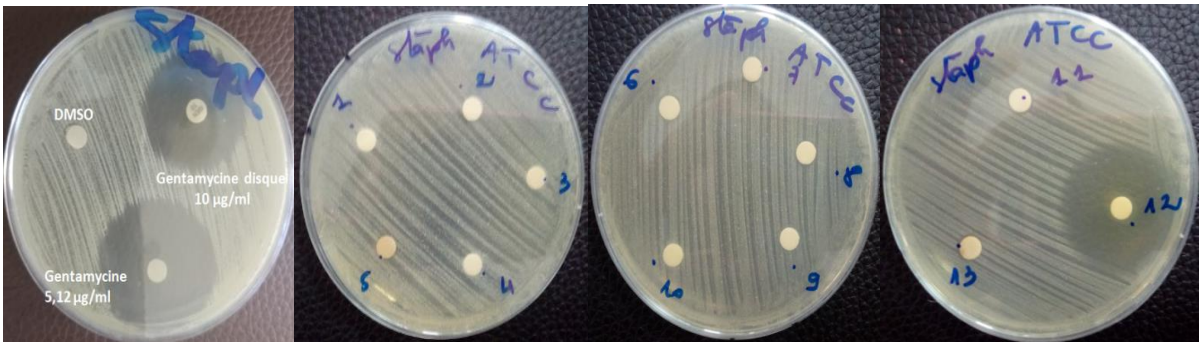


Figure 76: Test de sensibilité in vitro de *S. aureus*.

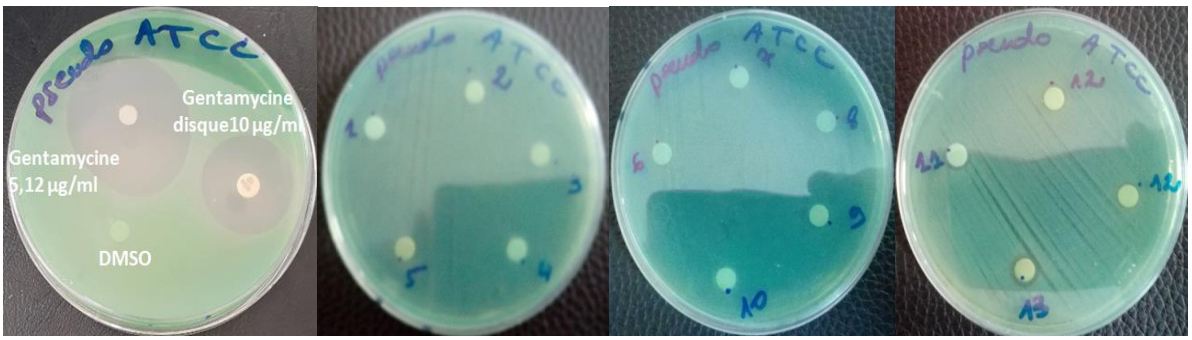


Figure 77: Test de sensibilité in vitro de *P. aeruginosa*.

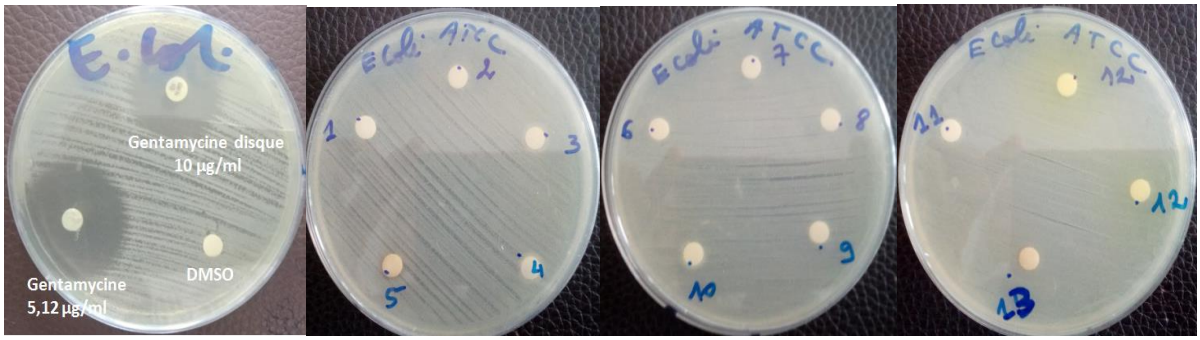


Figure 78: Test de sensibilité in vitro d'*E. coli*.

- **Test de sensibilité in vitro des souches fongiques**

Les résultats de l'activité antifongique in vitro ont montré des diamètres d'inhibition pour M12 vis-à-vis des levures, *Aspergillus niger* et *Microporum gypseum*. Les composés M2, M5, M6, M7, M8, M9, M11 et M13 ont donné de petits diamètres vis-à-vis de *Candia albicans*.

Pour C*ryptococcus neoformans*, nous avons obtenu de petits diamètres d'inhibition avec M2, M5, M6, M8, M11 et M13. Les composés synthétisés n'ont montré aucune zone d'inhibition vis-à-vis de M*icrosporum canis et Aspergillus flavus*. Les diamètres d'inhibition obtenus avec les molécules synthétisées sont représentés dans les figures 79 à 85.

Le fluconazole utilisé dans notre étude comme contrôle a montré des diamètres d'inhibition vis-à-vis de *Candida albicans* (32mm) et *Cryptococcus neoformans* (34mm), tandis qu'il n'a aucun effet sur les autres souches testées à savoir : *Trichosporon sp.*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Microsporum gypseum* et *Microsporum canis*.

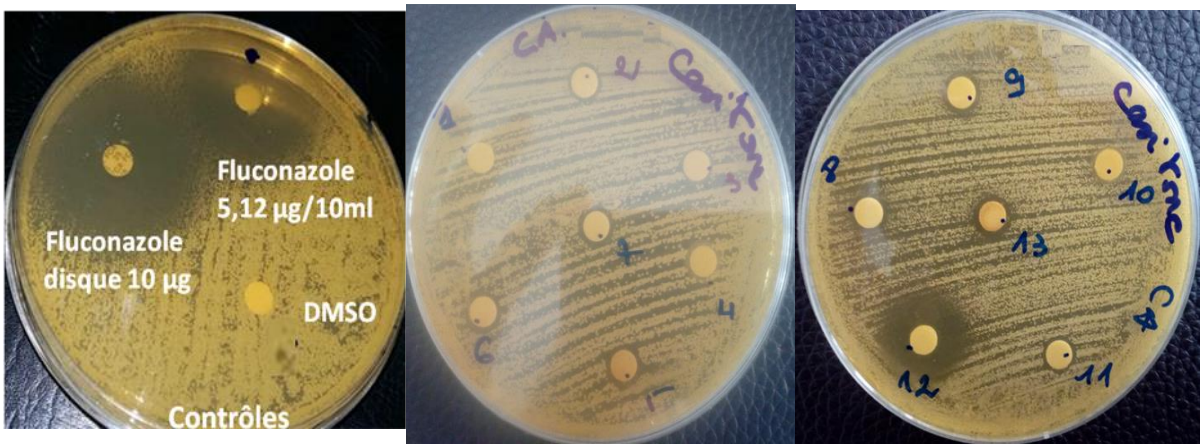


Figure 79: Test de sensibilité in vitro de *Candida albicans*.

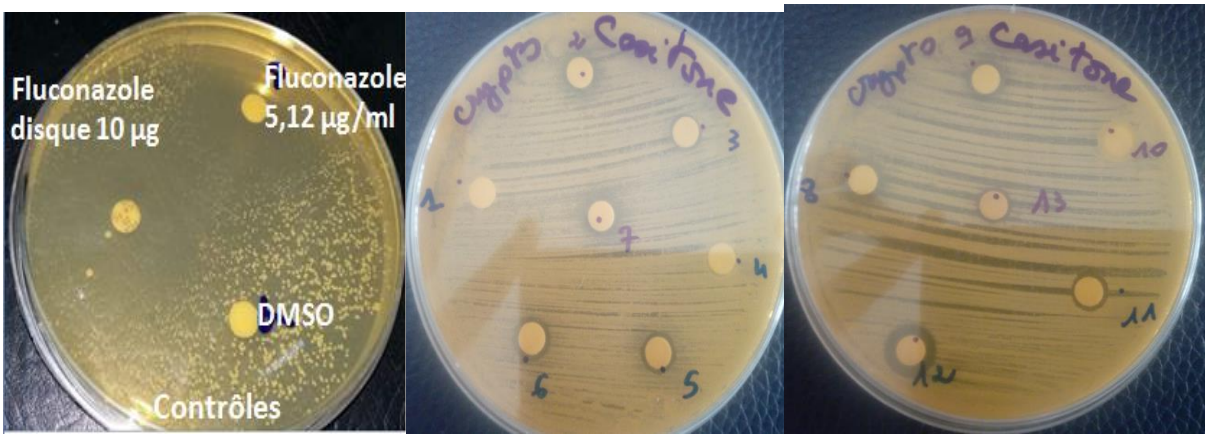


Figure 80: Test de sensibilité in vitro de *Cryptococcus neoformans*.

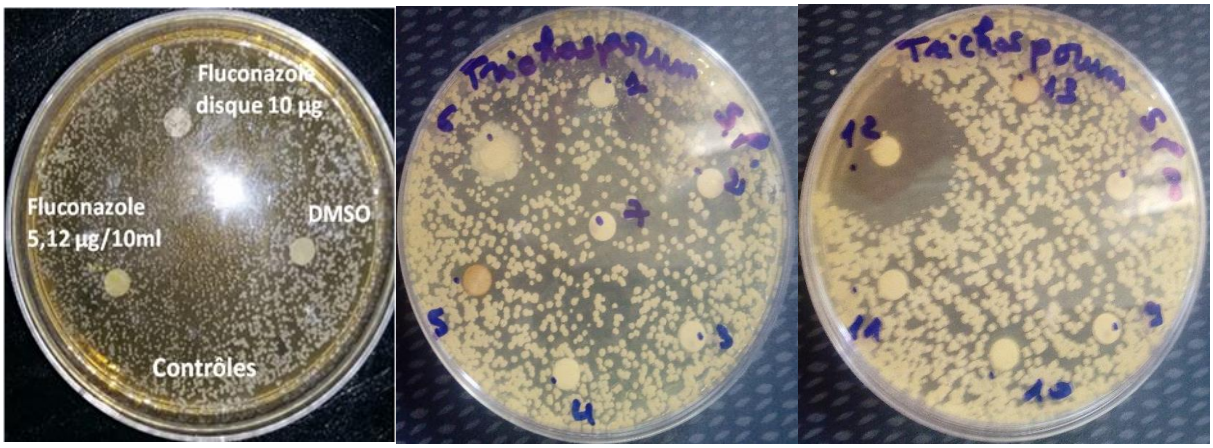


Figure 81: Test de sensibilité in vitro de *Trichosporon sp.*

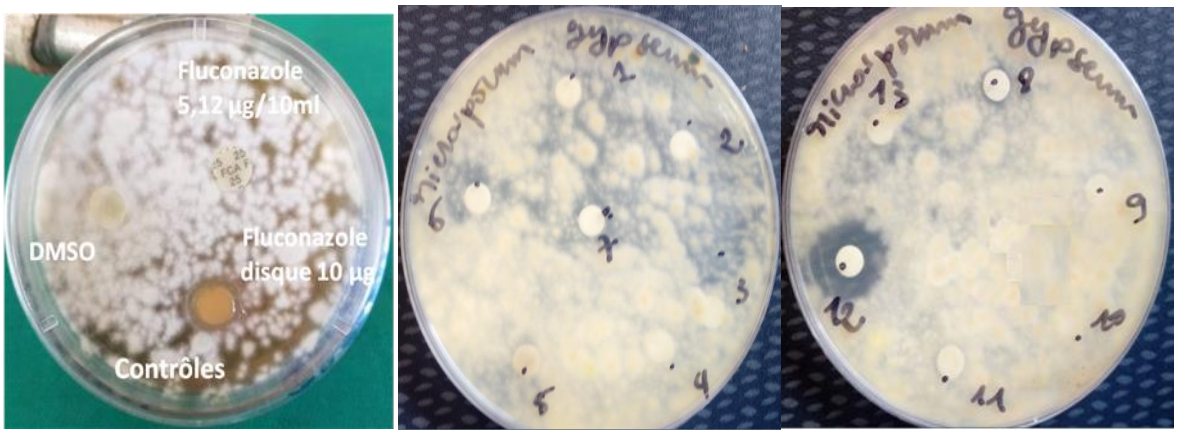


Figure 82: Test de sensibilité in vitro de *Microsprum gypseum*.

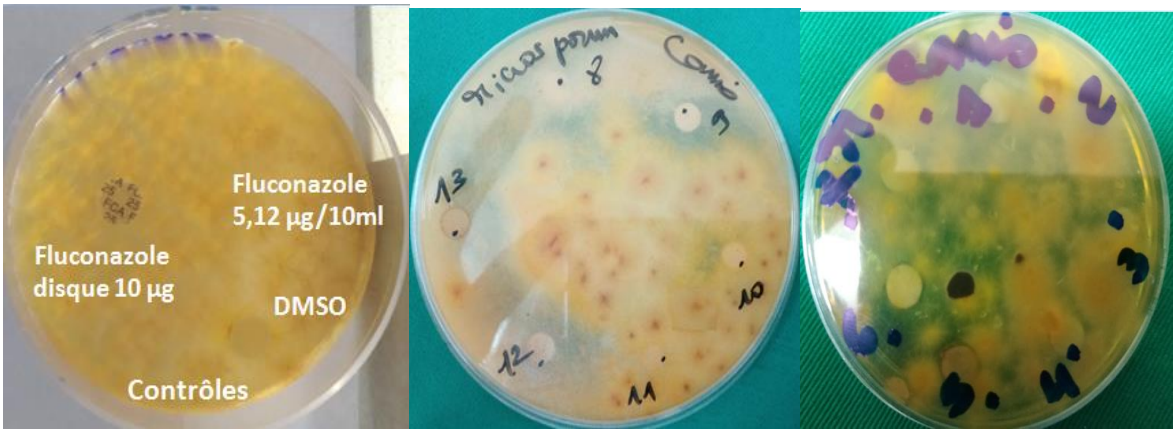


Figure 83: Test de sensibilité in vitro de *Microsporum canis*.

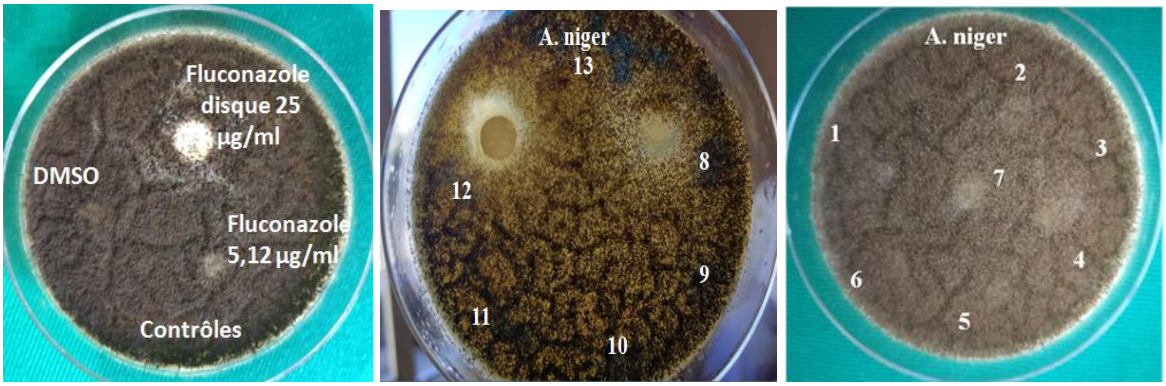


Figure 84: Test de sensibilité in vitro d'*Aspergillus niger*.

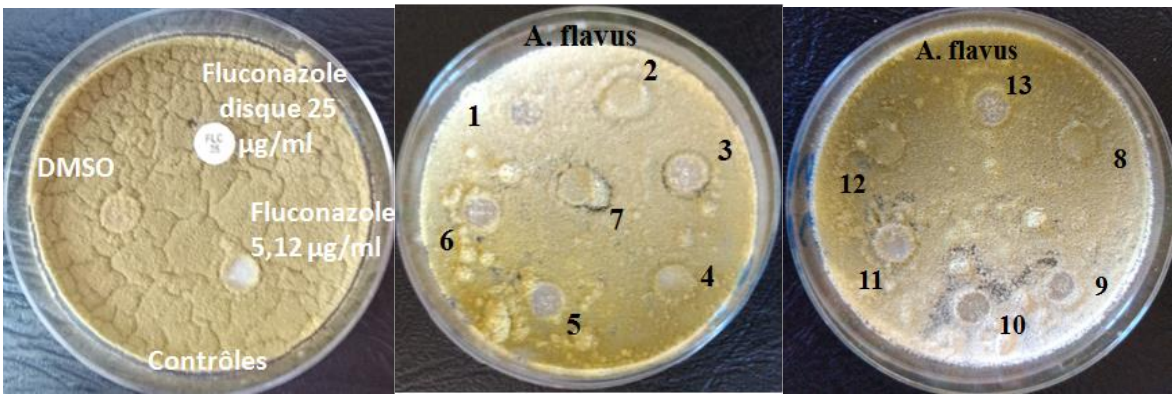


Figure 85: Test de sensibilité in vitro d'*Aspergillus flavus*.

Les diamètres d'inhibition obtenus avec l'ensemble des souches testées sont représentés dans le tableau XLII.

Tableau XLII: Diamètres des zones d'inhibition obtenus avec les molécules M1-M13.

Souches bactériennes et fongiques	**Diamètre d'inhibition (mm)**					
	C. albicans	***C. neoformans***	***Trichosporon sp.***	***A. niger***	***M. gypseum***	***S. aureus***
M2	9	7	-	-	-	-
M5	8	9	-	-	-	-
M6	9	7	-	-	-	-
M7	9	-	-	-	-	-
M8	9	9	-	8	-	-
M9	11	-	-	-	-	-
M11	9	9	-	-	-	-
M12	24	19	30	12	16	32
M13	10	8	-	-	-	-

Souches bactériennes et fongiques	Diamètre d'inhibition (mm)					
	C. albicans	***C. neoformans***	***Trichosporon sp.***	***A. niger***	***M. gypseum***	***S. aureus***
Contrôles*	32	34	-	-	-	33
DMSO	-	-	-	-	-	-

* Antifungique : fluconazole pour les espèces fongiques.
* ATB : Gentamycine pour les aespèces bactériennes.

1-4- Détermination des CMI, CMB et CMF

Les techniques de CMI, CMB et CMF ont été réalisées uniquement pour les espèces bactériennes et fongiques ayant donné un diamètre d'inhibition lors du test de sensibilité in vitro. Les résultats des CMI, CMB et CMF pour les molécules sensibles sont représentés dans l'annexe X.

1-4-1- Détermination de le CMI et de la CMB de la M12 vis-à-vis du *S. aureus*

- **Détermination de la CMI**

Pour *Staphylococcus aureus* (ATCC 25 923), nous avons observé une pousse bactérienne dans la boite témoin, les dilutions 0.125µg/ml, 0.25µg/ml, 0.5µg/ml, 1µg/ml, 2µg/ml, 4µg/ml, 8µg/ml et 16µg/ml. Cependant, aucune pousse bactérienne n'a été observée dans les boites de dilution 32 µg/ml, 64 µg/ml, 128 µg/ml, 256 µg/ml et 512 µg/ml, donc la valeur de la CMI de M12 vis-à-vis du *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) testé est de : 32 µg/ml.

$CMI_{M12\text{-}S.\ aureus\ (ATCC\ 25\ 923)} = 32$

La CMI de la gentamycine utilisée comme contrôle vis-à-vis du la souche du *S. aureus* testée est comprise entre 0.12- 1 µg/ml [219].

- **Détermination de la CMB**

Après repiquage des boites qui n'ont pas donné des colonies visibles à l'œil nu dans la CMI, et incubation à 37° pendant 24h, une pousse bactérienne a été notée pour les dilutions 32 µg/ml, 64 µg/ml et 128 µg/ml, donc la CMB est de 256 µg/ml.

$CMB_{M12\text{-}S.\ aureus\ (ATCC\ 25\ 923)} = 256\ \mu g/ml.$

Le rapport CMB/CMI= 8, d'où l'effet bactériostatique de la molécule M12 vis-à-vis du *Staphylococcus aureus*.

1-4-2- Détermination de la CMI et CMF vis-à-vis des souches fongiques

- **CMI, CMF vis-à-vis de *Candida albicans***

Après 48h d'incubation des boites de CMI et de CMF des molécules M2, M6, M7, M11, M12 et M13, aucune pousse fongique n'a été observée pour toutes les dilutions et une pousse fongique notée dans la boite témoin, par conséquence les valeurs de CMI et de CMF pour ces molécules sont inférieures à 0,125 µg/ml.

Pour la M5, aucune pousse fongique n'a été notée pour toutes les dilutions, tandis qu'une pousse fongique a été observée dans la boite témoin, nous pouvons conclure que la CMI est inférieure à 0,125 µg/ml ; en revanche une pousse fongique a été obsevée dans la boite de CMF correspondant à la dilution 0.125 µg/ml, nous pouvons déduire que la CMF pour la M5 est de 0.25µg/ml.

Pour la M8, une pousse fongique a été notée dans la boite témoin et les dilutions 0.125µg/ml, 0.25µg/ml, 0.5µg/ml, 1µg/ml, 2µg/ml, 4µg/ml, 8µg/ml, 16µg/ml, 32 µg/ml, 64 µg/ml, 128 µg/ml et 256 µg/ml, donc la valeur de CMI est de 512 µg/ml. Une pousse fongique a été notée pour la boite CMF correspondant à la dilution 512 µg/ml, par conséquence, la CMF de M8 vis-à-vis de C. *albicans* est supérieure à 512 µg/ml.

Pour la M9, contrairement à la boite témoin où nous avons observé une pousse fongique, aucune pousse n'a été notée pour toutes les dilutions des boites de CMI, ainsi nous pouvons constater que la CMI est inférieure à 0,125 µg/ml. Pour la CMF, une pousse fongique a été notée pour les dilutions 0.125µg/ml, 0.25µg/ml, 0.5µg/ml, 1µg/ml, 2µg/ml, 4µg/ml et 8µg/ml, nous pouvons conclure que la CMF de M9 vis-à-vis de *C. albicans* est de 16 µg/ml.

Le fluconazole utilisé comme contrôle a montré une CMI égale à 4µg/ml et une CMF supérieure à 512 µg/ml vis-à-vis de la souche de *C. albicans* testée dans notre étude (Annexe X).

- **CMI, CMF vis-à-vis du *Cryptococcus neoformans***

Après 72h d'incubation des boites de CMI et de CMF des molécules M2, M5, M6, M11, M12 et M13, aucune pousse fongique n'a été observée pour toutes les dilutions et une pousse notée dans la boite témoin, par conséquence les valeurs de CMI et CMF pour ces molécules sont inférieures à 0,125 µg/ml.

Pour la M8, une pousse fongique a été notée dans la boite témoin ainsi que les dilutions 0.125µg/ml, 0.25µg/ml, 0.5µg/ml, 1µg/ml, 2µg/ml, 4µg/ml, 8µg/ml, 16µg/ml, 32 µg/ml, 64 µg/ml, 128 µg/ml, 256 µg/ml et 512 µg/ml, donc la valeur de CMI est supérieure à 512 µg/ml.

Le fluconazole utilisé comme contrôle a montré une CMI égale à 8µg/ml et une CMF supérieure à 512µg/ml vis-à-vis de la souche de *Cryptococcus neoformans* testée dans notre étude (Annexe X).

- **CMI, CMF vis-à-vis du *Trichosporon sp.***

Après 48h d'incubation des boites de CMI et de CMF de la molécule M12, aucune pousse fongique n'a été observée pour toutes les dilutions et une pousse dans la boite témoin, nous constatons que les valeurs de CMI et de CMF de M12 vis-à-vis de *Trichosporon sp.* sont inférieures à 0.125 µg/ml.

Le fluconazole utilisé comme contrôle est inactif sur le *Trichosporon sp.*

- **CMI, CMF vis-à-vis de *Microsporum gypseum***

Après 15 jours d'incubation des boites de CMI et de CMF de la molécule M12, aucune pousse fongique n'a été notée pour toutes les dilutions et une pousse dans la boite témoin, par conséquence, les valeurs de CMI et de CMF de M12 vis-à-vis *Microsporum gypseum* sont inférieures à 0.125 µg/ml.

Le fluconazole utilisé comme contrôle est inactif sur *Microsporum gypseum*

- **CMI, CMF vis-à-vis d'*Aspergillus niger***

Après 5 jours d'incubation, une pousse fongique a été observée dans la boite témoin et aucune pousse fongique n'a été observée pour toutes les dilutions de M12 , nous contatons que les valeurs de CMI et de CMF pour M12 vis-à-vis d'*Aspergillus niger* sont inférieures à 0,125µg/ml.

Pour la M8, une pousse fongique a été notée dans la boite témoin ainsi que les dilutions 0.125µg/ml, 0.25µg/ml, 0.5µg/ml, 1µg/ml, 2µg/ml, 4µg/ml, 8µg/ml, 16µg/ml, 32 µg/ml, 64 µg/ml, 128 µg/ml et 256 µg/ml, donc la valeur de CMI de M8 vis-à-vis d'*Aspergillus niger* est égale à 512 µg/ml. Une pousse fongique a été notée pour la boite CMF correspondant à la dilution 512 µg/ml, par conséquence, la CMF de M8 vis-à-vis d'*Aspergillus niger* est supérieure à 512 µg/ml.

Le fluconazole utilisé comme contrôle est inactif sur *l'Aspergillus niger*.

Les valeurs de CMI et de CMF pour les souches fongiques sont regroupées dans le tableau XLIII ci-dessous.

Tableau XLIII: Valeurs CMI et CMF des molécules synthétisées vis-à-vis des souches fongiques testées.

C. albicans			
Molécules	**CMI (µg/ml)**	**CMF (µg/ml)**	**Effet**
M2	< 0,125	< 0,125	Fongicide
M5	< 0,125	0,25	Fongistatique
M6	< 0,125	< 0,125	Fongicide
M7	< 0,125	< 0,125	Fongicide
M8	512	> 512	/
M9	< 0,125	16	Fongistatique
M11	< 0,125	< 0,125	Fongicide
M12	< 0,125	< 0,125	Fongicide
M13	< 0,125	< 0,125	Fongicide
Fluconazole	4	> 512	Fongistatique
C. neoformans			
M2	< 0,125	< 0,125	Fongicide
M5	< 0,125	< 0,125	Fongicide
M6	< 0,125	< 0,125	Fongicide
M8	> 512	/	/
M11	< 0,125	< 0,125	Fongicide
M12	< 0,125	< 0,125	Fongicide
M13	< 0,125	< 0,125	Fongicide
Fluconazole	8	> 512	Fongistatique
Trichoporon sp.			
M12	< 0,125	< 0,125	Fongicide
M. gypseum			
M12	< 0,125	< 0,125	Fongicide
A.niger			
M8	512	> 512	/
M12	< 0,125	< 0,125	Fongicide

2- Discussion

Les souches bactériennes testées sont des souches sensibles à la gentamycine (antibiotique utilisé comme contrôle) [225], nous avons obtenu des diamètres des zones d'inhibition de 33mm avec *S. aureus* et *E. coli*, et un diamètre de 34 mm avec le *Pseudomonas aeruginosa* (solution de gentamycine préparée dans les mêmes conditions que les produits à tester).

Les résultats de l'activité antibactérienne in vitro ont montré une bonne activité pour M12 vis-à-vis du *Staphylococcus aureus* (ATCC 25 923), avec un diamètre de la zone d'inhibition qui est de 32mm et une valeur de CMI de 32µg/ml et de CMB égale à 256 µg/ml. Le rapport CMB/CMI révèle un effet bactériostatique vis-à-vis du *Staphylococcus aureus.* Les autres composés appartenant à la nouvelle série synthétisée « [3,5-di (4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole » sont inactifs sur cette bactérie à Gram positif.

Les molécules synthétisées M1-M13 n'ont montré aucune zone d'inhibition vis-à-vis du E. *coli* et *P. aerugenosa*, elles n'ont aucune activité sur les deux bactéries à Gram négatif testées.

Les résultats de l'activité antifongique in vitro ont montré une bonne activité antifongique pour la M12 avec une valeur de CMI inférieure à 0,125 µg/ml pour les levures, *Aspergillus niger* et *Microporum gypseum*. Les diamètres des zones d'inhibition sont de 24 mm pour *Candida albicans*, 19 mm pour *Cryptococccus neoformans*, 30 mm pour *Trichopron sp.*, 12 mm pour *Aspergillus niger* et 16 mm pour *Microporum gypseum*. La M12 exerce un effet fongicide sur l'ensemble des souches sensibles du moment que la valeur de CMF est égale à la CMI.

Pour le fluconazole utilisé comme contrôle dans notre étude, les espèces habituellement sensibles, selon les données de la littérature et du vidal, sont *Candida* et en particulier *C. albicans* et *Cryptococcus neoformans.* Le *Candida albicans*, testé dans notre étude, est une souche sensible au fluconazole avec un diamètre de zone d'inhibition de 32 mm, une CMI égale à 4 µg/ml et une CMF supérieure à 512 µg/ml d'où l'effet fongistatique ; les valeurs critiques de CMI pour le fluconazole vis-à-vis du *C. albicans* sont une CMI ≤ 8 µg/mL pour les souches sensibles, une CMI = 16-32 µg/mL pour les souches sensibles dose-dépendantes et une CMI ≥ 64 µg/mL pour les souches résistantes [227, 237] ; les résultats obtenus avec le fluconazole sont en concordance avec les données de la littérature. Le *Trichoporon sp.* et *Microporum gypseum* sont résistants au fluconazole, ceci est conforme aux données du vidal ; alors que nous avons obtenu un diamètre de zone d'inhibition de 30mm avec la molécule M12 vis-à-vis du *Trichoporon sp.* et 16mm vis-à-vis de *Microporum gypseum.*

Les composés M2, M5, M6, M7, M8, M9, M11 et M13 ont montré de petits diamètres d'inhibition vis-à-vis de *Candida albicans* avec une valeur de CMI inférieure à 0,125µg/ml pour l'ensemble des molécules, sauf pour la M8 dont la CMI est égale à 512 µg/ml.

Le *Cryptococccus neoformans* testé est une souche sensible au fluconazole avec un diamètre de zone d'inhibition de 34 mm, une CMI égale à 8 µg/ml et une CMF supérieure à 512 µg/ml (effet fongistatique) [237]; nous avons obtenu de petits diamètres d'inhibition et une valeur de CMI et de CMF inférieures à 0,125 µg/ml pour les molécules M2, M5, M6, M11 et M13, d'où l'effet fongicide de ces molécules vis-à-vis de *Cryptococccus neoformans,* et une valeur de CMI supérieure à 512µg/ml pour la M8 vis-à-vis de cette même souche.

Les composés synthétisés n'ont montré aucune zone d'inhibition vis-à-vis d'*Aspergillus flavus* et *Microsporum canis,* donc ils sont complètement inactifs sur ces deux souches fongiques. Le contrôle utilisé dans les mêmes conditions (solution de fluconazole à 5,12 µg/ml) n'a aucun effet sur ces deux souches fongiques testées (*M. canis* et *A. flavus*), ceci est en corcordance aux données du vidal et de la littérature.

D'après les résultats de l'étude de l'activité biologique in vitro, nous pouvons contater que :

- Le composé non subtitué au niveau du carbone 2' de l'imidazole est inactif (M1) ;
- L'introduction d'un méthyl en position 2' (M2) a montré une activité vis-à-vis du *Candia albicans* et *Cryptococcus neoformans* ;
- L'allongement de la chaine carbonée à 3 carbones (M3) a fait disparaitre l'effet thérapeutique ;
- L'introduction d'un phényle non substitué en 2' n'est pas favorable pour avoir un effet antimicrobien ;
- L'introduction d'un phényle substitué est favorable pour avoir une activité antifongique :
  - ✓ La substitution du phényle par un hydroxyle en position 4''(M6), ou deux hydroxyles en position 3'' et 4''(M5) ou en position 2'' et 5''(M13) est favorable pour avoir un effet contre *Candia albicans* et *Cryptococcus neoformans* ;
  - ✓ La substitution par deux chlores en position 2'' et 4''(M11) est favorable pour un effet contre *Candia albicans* et *Cryptococcus neoformans*, par contre la substitution en 2'' et 6''(M7) a montré un effet contre *Candia albicans* uniquement ;
  - ✓ La substitution par le diméthylamino en position 4''(M8) a donné une molécule active sur les deux souches précitées ;

- ✓ La substitution par un méthoxy en position 4''(M9) a abouti à une activité contre *Candia albicans* ;
- ✓ L'introduction d'un nitro en position 3''(M10) a abouti au perte de l'activité ;
- ✓ L'introduction d'un hydroxyle en 2'' et un nitro en 5''(M12) a révélé une activité contre les deux souches citées précédemment avec un spectre élargi aux dermatophytes (*Mycrosporum gypseum*) et *Aspergillus niger* ; une activité antibactérienne à été notée aussi contre le *Staphylococcus aureus*.

Nous pouvons conclure que l'activité optimale de la nouvelle série synthétisée contre les souches bactériennes et fongiques testées a été obtenue avec la M12, qui est un dérivé azolé rassemblant dans une même structure deux imidazoles et un triazole avec des radicaux phényles substitués par les groupements nitro et hydroxyle.

PARTIE PRATIQUE C : Etude in silico admet et docking moleculaire

CHAPITRE I : Materiel et méthodes

Dans cette partie pratique, nous allons étudier le mécanisme d'interaction avec la cible biologique de la molécule « M12 » ainsi que les autres molécules ayant donné un diamètre d'inhibition in vitro. Une étude in silico des paramètres pharmacocinétiques et toxicité pour l'ensemble des molécules « M1-M13 » appartenant à la nouvelle série synthétisée « [3,5-di (4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole » a été aussi réalisée.

1- Docking moléculaire

Le docking moléculaire est un outil essentiel pour la conception de nouveaux médicaments assistés par ordinateur, et la détermination du mode de liaison entre le ligand et la cible pour former le complexe le plus stable.

1-1- Choix de la cible

Afin de comprendre le mode d'interaction des molécules synthétisées avec la cible, nous avons effectué le docking moléculaire pour les molécules actives in vitro. Ces molécules sont des dérivés du « [3,5-di(4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole », ce sont donc des azolés ; sachant que ces derniers agissent par inhibition compétitive du lanostérol 14α-déméthylase cytochrome P450 (CYP51) [238], donc la cible choisie est la « CYP 51 ». La structure tridimensionnelle de format PDB de cette dernière est disponible dans la Protein Data Bank (http://www.rcsb.org/) sous le code « PDB : 5V5Z » et avec une résolution de 2.90 Å, correspondant à CYP51 co-cristallisé avec le ligand azolé 1YN (Figure 86), elle correspond à la structure du CYP51 de l'agent pathogène *Candida albicans* [239].

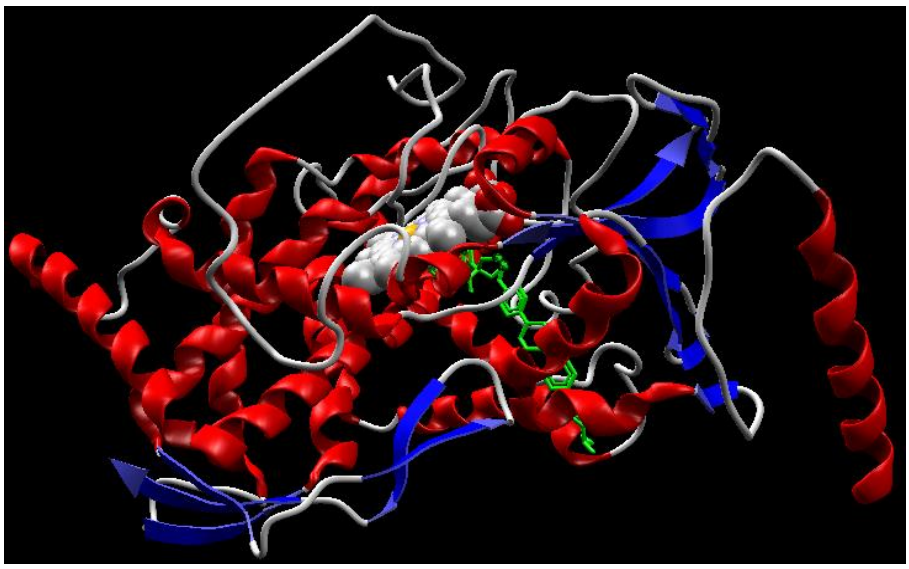


Figure 86: Structure de la CYP51 « PDB : 5V5Z » complexée avec le dérivé azolé 1YN [239].

Le « 1YN » est le 2-[(2R)-butan-2-yl]-4-{4-[4-(4-{[(2R,4S)-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-1,2,4-tri azol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl] methoxy} phenyl) piperazin-1-yl] phenyl}-2,4-dihydro-3*H*-1 ,2,4-triazol-3-one (code : 1YN), il a pour formule brute « $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$ » (Figure 87).

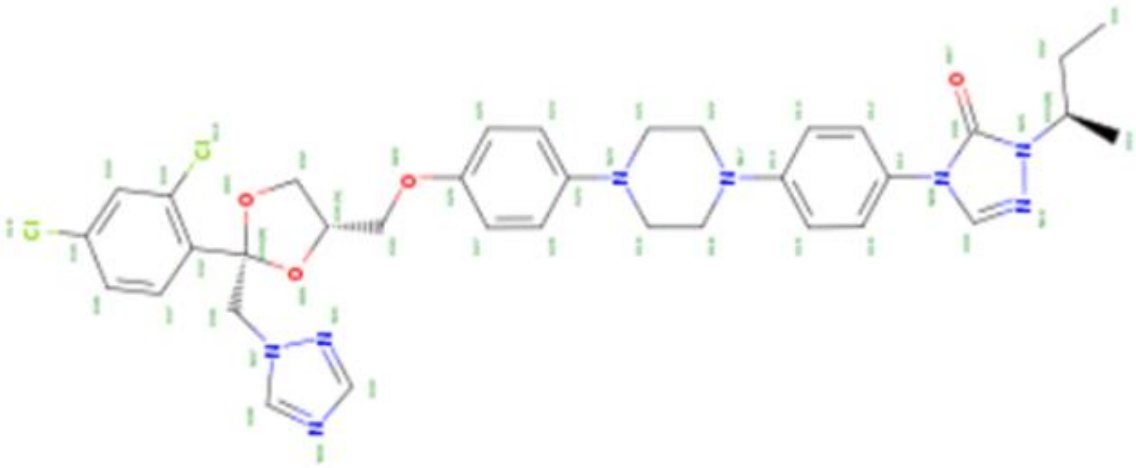
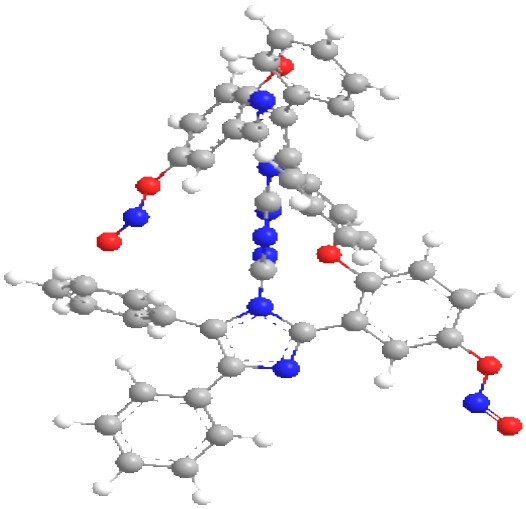


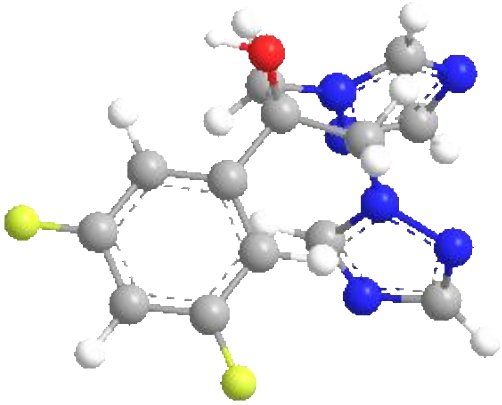
Figure 87: Structure chimique du derivé azolé co-cristallisé avec CYP51«1YN» [239].

1-2- Préparation des ligands

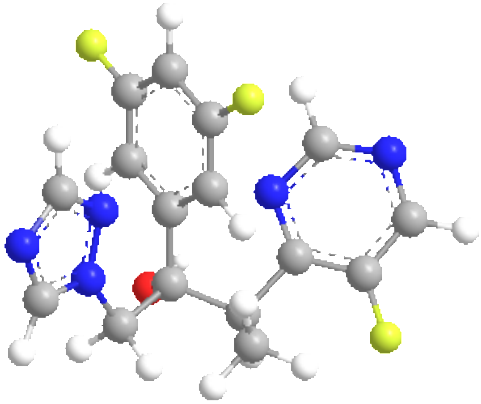
Le docking moléculaire pour la molécule M12 a été lancé au même temps que deux médicaments antifongiques (dérivés triazolés) utilisés comme références, le voriconazole et le fluconazole, les trois composés ont été dessinés, transformées en 3D (Figure 88) ensuite en format PDB à l'aide des logiciels ChemDraw et Chem3D professional 16.0 [240]. Un docking moléculaire a été réalisé aussi pour les autres molécules ayant montré un diamètre d'inhibition in vitro : M2, M5, M6, M7, M8, M9, M11 et M13. Les composés ont été dessinés, transformées en 3D ensuite en format PDB à l'aide du même logiciel.



Structure 3D de M12



Structure 3D du fluconazole



Structure 3D du voriconazole

Figure 88: Structure 3D des molécules M12, voriconazole et fluconazole dessinés à l'aide du Chem3D.

1-3- Choix du logiciel de docking

Dans notre étude, le docking (arrimage ligand-proteine) des composés actifs, dans le site actif de notre modèle CYP51-*Candida albicans*, a été réalisé à l'aide du logiciel « iGEMDOCK » [240, 241], disponible sur le Web à l'adresse http://gemdock.life.nctu.edu.tw pour prédire le mode d'interaction ligand-récepteur. Ce programme utilise une fonction de score empirique. La fonction énergétique GEMDOCK (Generic Evolutionary Method for molecular DOCKing) consiste en des potentiels électrostatiques, stériques et de liaisons hydrogènes. Le GEMDOCK est basé sur le docking flexible. Une fois la protéine cible téléchargée à partir de la « Protein Data Bank », GEMDOCK détermine automatiquement le site de liaison. Il génère aléatoirement une population de départ en initialisant l'orientation et la conformation du ligand par rapport au site de fixation [242].

1-4- Processus du docking moléculaire

Les fichiers « PDB » des composés actifs, fluconazole et voriconazole ont été importés dans le logiciel iGEMDOCK en tant que ligand. Le site actif a été defini sur la base de la structure de la cible co-cristallisé avec l'azolé 1YN. Il a été identifié comme étant à une distance de 8Å du centre du ligand lié « 1YN ». Toutes les simulations de docking ont été réalisées avec un protocole précis, une taille de population de 800 avec 80 générations et un nombre de solutions de 10 (Figure 89). iGEMDOCK classe et visualise les composés en combinant les interactions pharmacologiques et la fonction de notation basée sur l'énergie. Le mode de liaison obtenu et les énergies d'amarrage des différents composés ont été comparés à ceux des

médicaments standards. L'analyse post-docking a été effectuée pour trouver la pose et ses valeurs énergétiques. La fonction de notation empirique d'iGemdock a été estimée à l'aide de [242] :

Énergie = vdW + Hbond + Elec.

vdW : liaisons de Van der Waals.

Hbond : liaisons hydrogènes.

Elec : interactions electrostatiques.

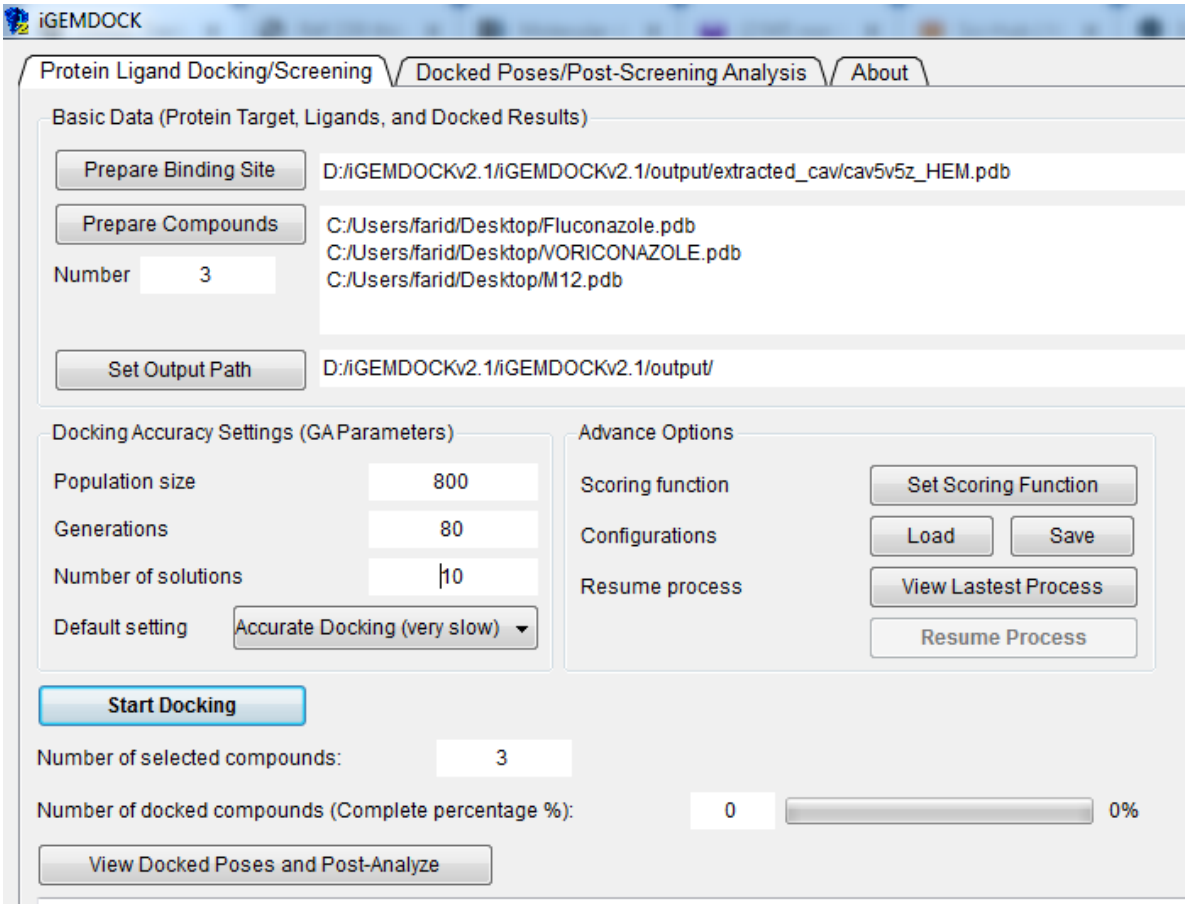


Figure 89: Préparation du docking.

1-5- Validation du protocole de docking

La méthode utilisée dans notre étude pour évaluer la fiabilité de notre programme de docking, est basée sur la détermination si la meilleure pose obtenue avec le processus de docking est structurellement proche de la conformation du ligand natif co-cristallisé. Ce test de similarité entre ligand co-cristallisé/meilleure pose, selon la littérature, montre la réussite de la

prédiction si nous obtenons une parfaite superposition entre la pose obtenue et le ligand natif [243].

2- Etude in silico ADMET : absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité

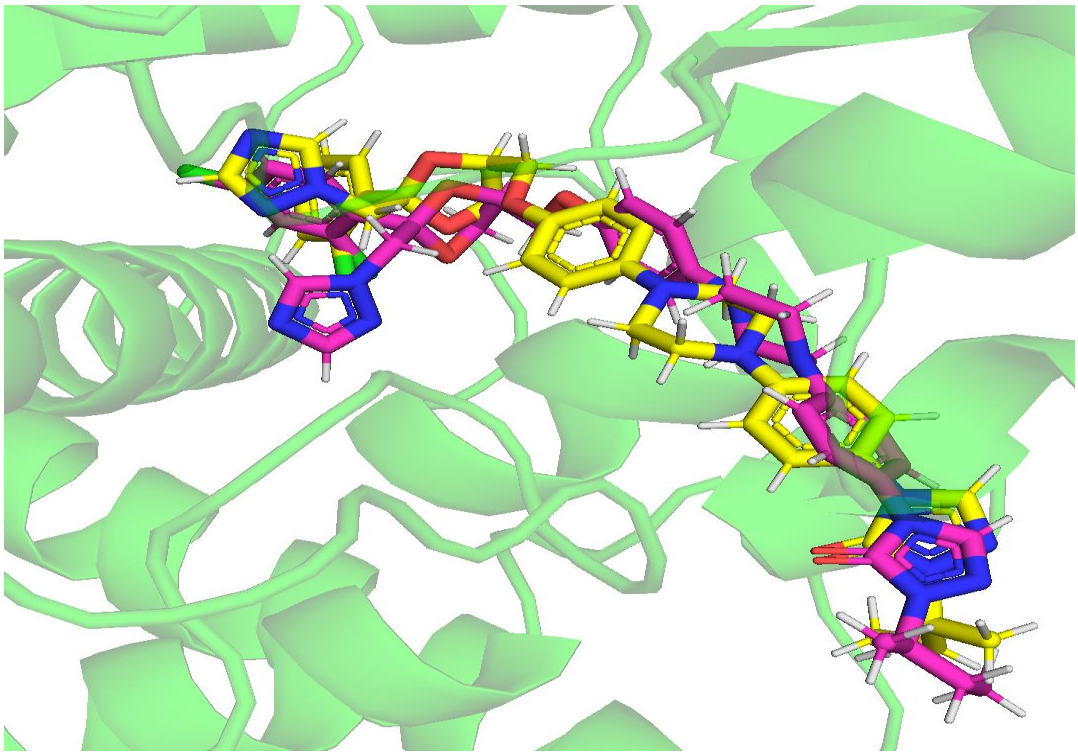
Dans le cadre de la découverte de nouveaux médicaments, le devenir dans le corps d'un nouveau candidat médicament peut être prédit à l'aide de simulations et de modélisations informatiques avant de le tester in vivo. À cette fin, le simulateur ADMET [244] a été utilisé pour prédire les propriétés d'ADMET (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité). ADMET-Simulator est une boîte à outils basée sur la chimie-informatique qui peut prédire différents paramètres ADMET en utilisant des modèles QSAR de haute qualité et prédictifs. Dans notre étude, nous avons utilisé « admetSAR server » qui est une source complète et un outil fiable pour la prédiction des propriétés pharmacocinétiques et toxicité (ADMET). Ila été développé en 2012 contenant 27 modèles prédictifs. L'admetSAR a été largement utilisé dans les domaines chimiques et pharmaceutiques. La nouvelle mise à jour de l'admetSAR se centralise sur l'extension et l'optimisation des modèles existants avec une nette amélioration de la quantité et de la qualité des données d'entraînement. De ce fait, plusieurs propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques ont été calculées, telles que la cancérogénicité [245], la perméabilité au CaCo-2 et le transporteur de cations organiques rénaux [246], passage à travers la barrière hémato-encéphalique (BBB) [247], absorption intestinale humaine (IHA) [248], inhibiteur et substrat de la glycoprotéine P [249], inhibition des isoformes CYP1A2, CYP2C19 et CYP2D6 du cytochrome P450 [250] et inhibition des gènes I et II liés à l'éther-a-go-go (hERG) chez l'homme des composés synthétisés M1-M13.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

1- Résultats

1-1- Docking moléculaire

Nous disposons de la structure de la cible co-cristallisée avec un ligand « 1YN » renfermant deux triazoles, ce ligand sert de référence sur laquelle est alignée la structure du modèle expérimental afin de confirmer la fiabilité du modèle utilisé (Figure 90).



Le squelette de la protéine a été représenté sous forme de ruban vert.

Figure 90: Superposition de la conformation expérimentale de « 1YN » et de la structure co-cristallisée avec la cible.

Les molécules synthétisées ainsi que les deux médicaments utilisés comme références interagissent avec la cible par des liaisons hydrogènes et des liaisons de Van der Waals. Les molécules M12, M2, M5, M6, M8, M9 et M13 interagissent aussi avec la CYP51 par des interactions électrostatiques. L'énergie totale de l'interaction des molécules avec la cible et les énergies des différents types de liaisons et interactions sont représentés dans le tableau XLIV.

Les différentes molécules étudiées forment, in silico, des liaisons hydrogènes au niveau du site actif de la cible, et donnent lieu à des interactions avec différents résidus d'acides aminés comme l'illustre le tableau XLV.

Tableau XLIV: Energie totale, liaisons hydrogènes, liaisons de Van der Waals et interactions électrostatiques des molécules étudiées avec la CYP51.

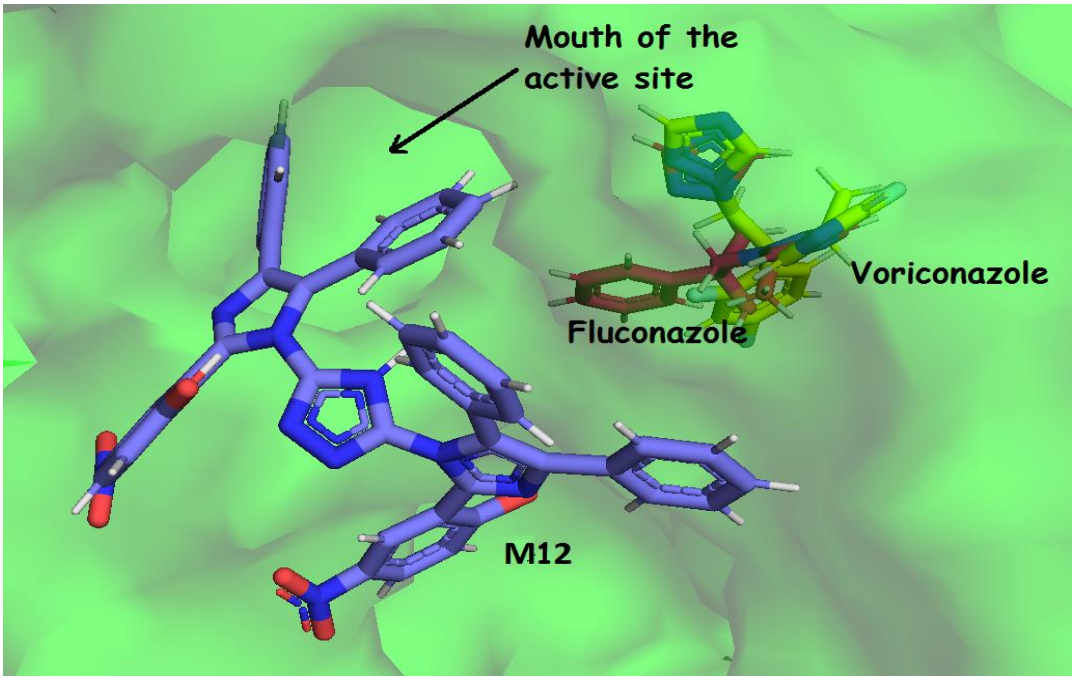
Ligands	Energie totale (kcal/mol)	Liaisons de Van der Waals (kcal/mol)	Liaisons hydrogènes (kcal/mol)	Interactions electrostatiques (kcal/mol)
M12	-139.75	-113,49	-26,29	0,03
Fluconazole	-124,14	-113,69	-10,45	0
Voriconazole	-107,08	-96,29	-10,79	0
M2	-133.95	-118.74	-15,22	0,01
M5	-139.67	-115,29	-24,40	0,02
M6	-131.82	-109,39	-22,45	0,02
M7	-105,58	-94,31	-11,27	0
M8	-128.91	-118,57	-10,35	0,01
M9	-135.38	-124,05	-11,34	0,01
M11	-107,07	-101,66	-5,41	0
M13	-109,68	-85,65	-24,05	0,02

Tableau XLV: Résultats de la prédiction des liaisons hydrogènes et les différentes interactions entre les molécules étudiées et la CYP51.

Ligands	Liaisons hydrogens	Interactions avec les résidus d'acides aminés du CYP51 (< 4 Å)
M12	Gln66 (d = 2.3 Å, groupement carboxyle ; d = 2.4 Å, groupement amino de la chaîne latérale). Tyr505 (d = 1.9 Å, groupement carboxyle). Ser506 (d = 2.6 Å, hydroxyle de la chaîne latérale ; d = 2.1 Å, oxygène du carboxyle).	Van Der Waals : Phe58, Ala62, Trp57, Thr229, Phe235, Val234, Leu88, Leu87, Lys90, Met508, Ser378, Ser507, Met92, Val510 et Ser506. π-sigma: Gly65 et Pro230. π-π : Tyr64 et Phe233. π-alkyle: Pro68 et Ala61.
Fluconazole	Tyr118 (d = 3.1 Å, hydroxyle de la chaine latérale). Gly308 (d = 3.0 Å, groupement carboxyle).	Van Der Waals: Ile471, Ile131, Phe380, Thr311, Val509, His310, Met508, Phe228, Gly307, Gly308 et Gly303.
Voriconazole	Gly303(d = 2.2 Å, groupement carboxyle). Ile304 (d = 2.0 Å, groupement carboxyle).	Van Der Waals: Phe475, Leu150, Gly307, Met306, Ala146, Phe126, Leu305, Gln309, Leu300, Tyr132, Lys143, Cys470, Thr311 et Gly308.
M2	His377 (d = 3.1 Å, NH de l'imidazole). Ala61 (d = 3.1 Å, groupement carboxyle).	Van Der Waals : Lys90, Phe233, Met92, Phe380, Ser378, Leu376, Val509, Met508, His377, Ser507, Tyr505, Gly65, Ser506 et Gln66. π-π: Tyr64. π-alkyle: Leu87, Leu88, Phe58, Ala61, Ala62 et Pro230.

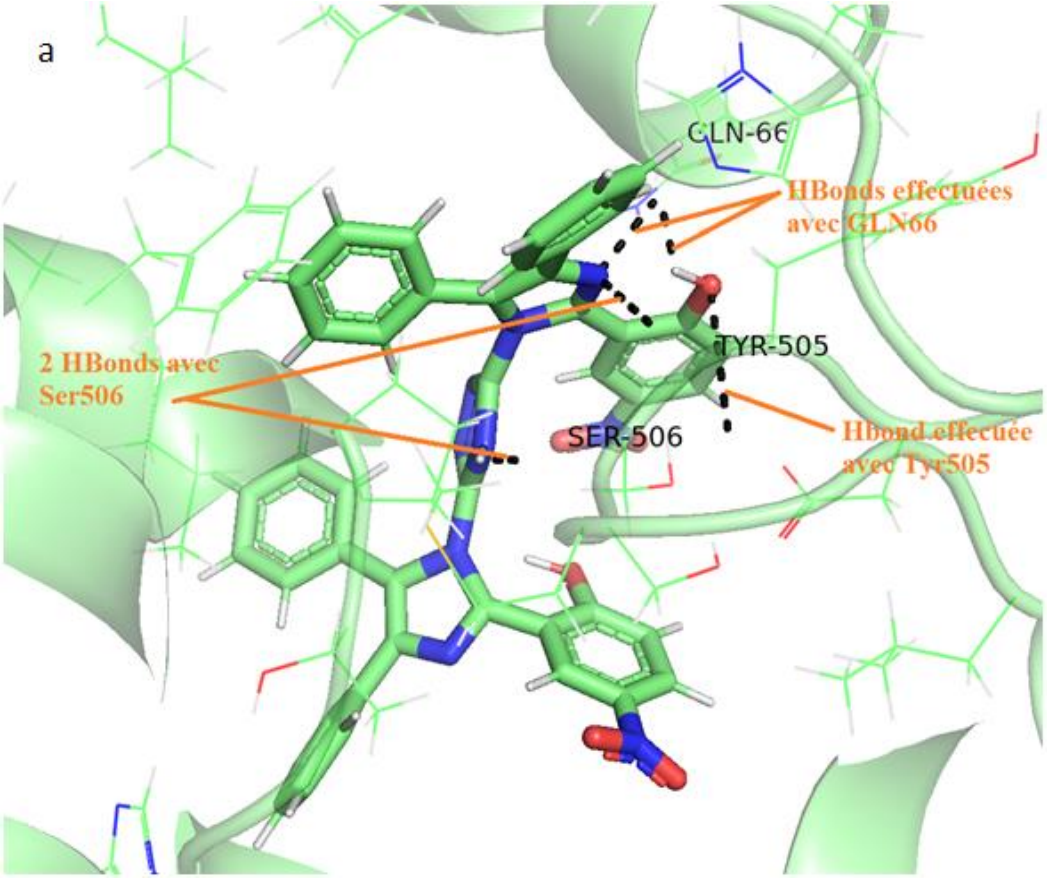
Ligands	Liaisons hydrogens	Interactions avec les résidus d'acides aminés du CYP51 (< 4 Å)
M5	Gln66 (d = 2.7 Å, groupement amino de la chaine latérale). Ser506 (d = 2.6 Å, groupement hydroxyle de la chaine latérale). Tyr505 (d = 2.6 Å, groupement carboxyle). Leu87 (d = 2.4 Å, groupement carboxyle).	amide-π et π-π : Ser507, His377, Phe380 et Phe58. π-alkyle : Leu88, Ile231, Pro230 et Leu376. Van Der Waals: Trp57, Phe235, Val234, Asn232, Val510, Val509, Met508, Ile379, Tyr118, Ser378, Tyr64, Asp504 et Met92.
M6	Lys90 (d = 2.7 Å, groupement amino de la chaine latérale). Leu88 (d = 2.4 Å, carbonyle). Leu87 (d = 2.9 Å, groupement carboxyle).	π-π : Phe233, Phe58 et Phe235. π-alkyle: Ala61, Pro230, Leu87, Val234. van der Waals: Met508, Ser378, Phe380, His377, Ser507, Tyr64, Ile231, Trp57, Gln66 et Ala62.
M7	Tyr132 (d = 2.88 A°, hydroxyle de la chaine latérale).	Tyr118, Gly308, His310, Thr311, Pro375, Leu376, His377, Ser378 et Phe380.
M8	Ser506 (d = 3.1 Å, groupement carboxyle).	π-π : Phe58, His377 et Phe380. π-alkyle : Leu88, Val510 et Phe233. van der Waals: Gln66, Phe235, Ala62, Trp57, Ala61, Pro375, Ile231, Val509, Met508, Ser378, Ile379, Tyr118, Met92 et Lys90.
M9	His377 (d = 2.9 Å, NH de l'imidazole). Ile231 (d = 2.7 Å, groupement carboxyle).	π-π : Phe233, Phe380 et Phe235. π-alkyle : Ala61, Pro230, Ala117 et Val234. van der Waals: Phe235, Ile231, Ala61, Ala62, Gln66, Ser507, Ser506, Gly65, Tyr64, His377, Tyr505, Ser378, Met508 et Tyr64.
M11	Pro375 (d = 3.2 Å, groupement carboxyle).	van der Waals: His310, Thr311, Pro375, Leu376, Ser378, His377, Gly308 et Phe380.
M13	Tyr132 (d = 2.64 A°, hydroxyle de la chaine latérale). His468 (d = 3.58 A°, NH de l'imidazole). Arg381 (d = 3.46 A°, groupement carboxyle).	π-π : Ser507, His377 et Phe233. π-alkyle : Leu376 et Ile304. van der Waals: Tyr118, Tyr132, Gly308, His310, Thr311, Pro375, Leu376, His377, Ser378 et Phe380.

Le mode de liaison de la molécule M12 (la plus active in vitro) et des deux médicaments triazolés est représenté dans la figure 91, et les liaisons hydrogènes dans la figure 92a et 92b.

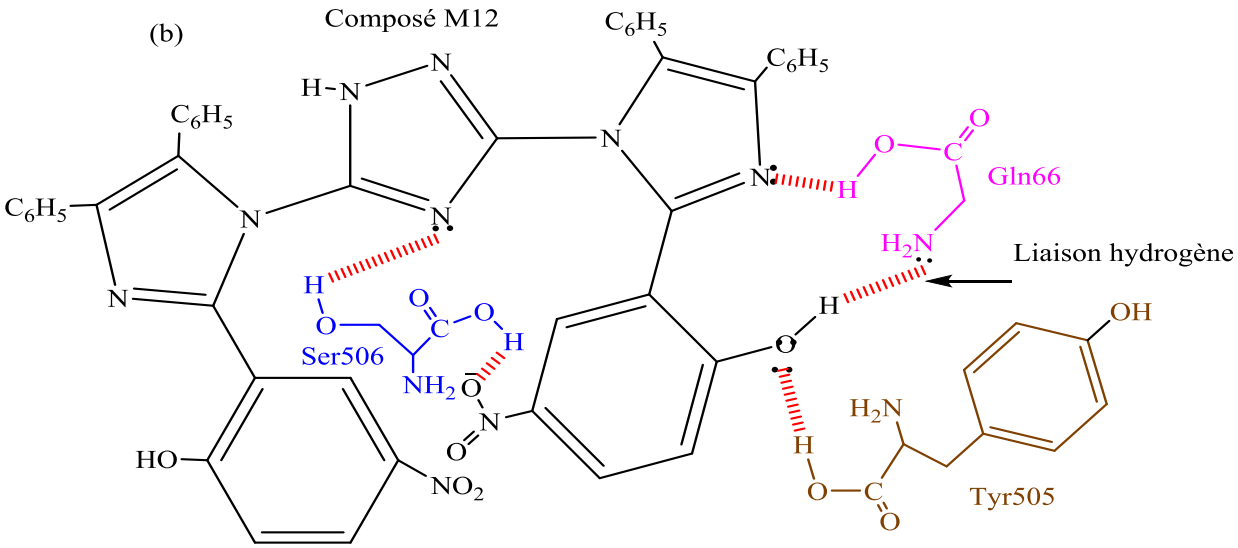


Le squelette de la protéine a été représenté sous forme de surface verte.

Figure 91: Mode de liaison des trois composés étudiés M12 (violet), fluconazole (rouge) et voriconazole (jaune).



(a) Liaisons hydrogènes entre les résidus du site actif du CYP51 et le composé M12



(b) Représentation schématique des liaisons hydrogènes de M12 avec la CYP51.

Figure 92 (a) et (b) : Liaisons hydrogènes entre les résidus du site actif du CYP51 et le composé M12.

1-2- In silico ADMET

Dans la présente étude, les propriétés in silico ADMET (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité) des dérivés [3,5-di (4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole synthétisés ont été calculées à l'aide du simulateur ADMET « admetSAR web server » [244] et sont résumés dans le tableau XLVI.

Tableau XLVI: Résultats de la prédiction des propriétés ADMET des molécules M1-M13 par admetSAR web server

Composés	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
permeabilité CaCO-2	0.76	0.76	0.59	0.77	0.52	0.61	0.731
HIA (% Absorbé)	100	100	100	100	99.7	100	100
substrat p-glycoproteine I	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibition p-glycoproteine I	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Permeabilité BBB	0.963	0.956	0.937	0.974	0.885	0.963	0.968
Localisation	Mitoch-ondrie	Mitoch-ondrie	Mitoch-ondrie	Mitoch-ondrie	Mitoch-ondrie	Mitoch-ondrie	Mitoch-ondrie

Inhibition CYP1A2	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Oui
Inhibition CYP2C19	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Inhibition CYP2D6	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Substrat CYP2D6	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibition CYP3A4	Non	Non	Non	Oui	Non	Non	Oui
Inhibition hERG I	Faible	Faible	Faible	Faible	Faible	Faible	Faible
Inhibition hERG II	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Hépatotoxicité (Probabilité)	Oui (0.67)	Oui (0.80)	Oui (0.65)	Oui (0.70)	Oui (0.65)	Oui (0.65)	Oui (0.57)
Carcinogène	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non

Composés	**M8**	**M9**	**M10**	**M11**	**M12**	**M13**
permeabilité CaCO-2	0.72	0.68	0.51	0.731	0.53	0.54
HIA (% Absorbé)	100	100	100	100	100	100
substrat p-glycoproteine I	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibition p-glycoproteine I	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Permeabilité BBB	0.910	0.983	0.878	0.968	0.845	0.904
Localisation	Mitoch-ondrie	Mitoch-ondrie	Mitoch-ondrie	Mitoch-ondrie	Mitoch-ondrie	Mitoch-ondrie
Inhibition CYP1A2	Oui	Oui	Non	Oui	Non	Non
Inhibition CYP2C19	Oui	Oui	Non	Oui	Non	Oui
Inhibition CYP2D6	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Substrat CYP2D6	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Inhibition CYP3A4	Oui	Oui	Non	Oui	Non	Non
Inhibition hERG I	Faible	Faible	Faible	Faible	Faible	Faible
Inhibition hERG II	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Hépatotoxicité	Oui (0.70)	Oui (0.67)	Oui (0.80)	Oui (0.57)	Oui (0.75)	Oui (0.60)
Carcinogène	Non	Non	Non	Non	Non	Non

2- Discussion

2-1- Docking moléculaire

Pour confirmer la fiabilité du modèle utilisé, la conformation expérimentale du ligand 1YN a été superposée au ligand co-cristallisé avec la CYP51. La conformation insérée était parfaitement superposable au ligand co-cristallisé, comme le montre la figure 90, Par conséquent, le modèle développé peut être utilisé pour prédire correctement le mode de liaison, l'énergie et l'interaction avec le récepteur.

La fonction de score empirique d'iGemdock a été estimée à l'aide de l'énergie totale correspondant à la somme des énergies des liaisons de Van der Waals, les liaisons hydrogènes et les interactions électrostatiques. Le meilleur score dans le docking moléculaire correspond à l'énergie la plus faible.

Le docking moléculaire avec iGEMDOCK des composé synthétisé (actifs in vitro) et des deux médicaments utilisés comme références, dans le site actif de la CYP51 du *Candida albicans,* a révélé le score le plus élevé pour la M12 avec une énergie totale de liaison (Ligand/cible) égale à « -139,75 kcal/mol », cette énergie de liaison correspond essentiellement à des liaisons de Van Der Waals avec une énergie de « -113,49 kcal/mol » et des liaisons hydrogènes avec une énergie de « -26,29 kcal/mol ».

Le fluconazole a donné une énergie totale de liaison (Ligand/cible) égale à « -124,14 kcal/mol » correspondant à « -113,69 kcal/mol » pour les liaisons de Van Der Waals et « -10,45 » kcal/mol pour les liaisons hydrogènes. Le voriconazole a donné une énergie totale de liaison (Ligand/cible) égale à « -107,08 kcal/mol » correspondant principalement à des liaisons de Van Der Waals avec une énergie de « -96,29 kcal/mol », et des liaisons hydrogènes avec une énergie égale à « -10,79 kcal/mol ».

D'après la figure 92, la molécule M12 forme différentes liaisons hydrogènes au niveau du site actif, une liaison formée avec le résidu Tyr505 grâce à son groupement carboxyle (distance de la liaison d=1.9 Å), deux autres liaisons hydrogènes ont été prédites avec le résidu Ser506 ; la première grâce au groupement hydroxyle de la chaine latérale (d = 2.6 Å) et la deuxième grâce à son groupement carboxyle (d = 2.1 Å), deux autres liaisons hydrogènes peuvent avoir lieu avec le résidu Gln66 (d = 2.3 Å et d = 2.4 Å). Le complexe (M12/CYP51) ainsi formé peut être stabilisé par des interactions avec différents résidus d'acides aminés avec une

distance des liaisons inférieure à 4 Å : des interactions de type Van der Waals avec les résidus Phe58, Ala62, Trp57, Thr229, Phe235, Val234, Leu88, Leu87, Lys90, Met508, Ser378, Ser507, Met92, Val510 et Ser506 ; des interactions π-π avec les résidus Tyr64 et Phe233 ; des interactions π-σ avec les résidus Gly65 et Pro230 ainsi que des interaction π-alkyle avec les résidus Pro68 et Ala61.
Le fluconazole a formé deux liaisons hydrogènes avec les résidus Tyr118 (d = 3.1 Å, groupement hydroxyle de la chaine latérale) et Gly308 (d = 3.0 Å, groupement carboxyle). Des interactions de type Van der Waals avec différents acides aminés interviennent pour stabiliser davantage le complexe (fluconazole/CYP51) avec les résidus Ile471, Ile131, Phe380, Thr311, Val509, His310, Met508, Phe228, Gly307, Gly308 et Gly303.

Le docking moléculaire du voriconazole dans le site actif du CYP51 a prédit deux liaisons hydrogènes formées avec les résidus Gly303 (d = 2.2 Å, groupement carboxyle) et Ile304 (d = 2.0 Å, groupement carboxyle) de la cible. Le complexe (voriconazole/ CYP51) est stabilisé par des interactions de type Van der Waals avec les résidus Phe475, Leu150, Gly307, Met306, Ala146, Phe126, Leu305, Gln309, Leu300, Tyr132, Lys143, Cys470, Thr311 et Gly308.

Le cycle phényle, en position « 4 » du premier cycle imidazole de la M12, est orienté dans le site actif du CYP51 comme le montre la « Figure 91 » près de Tyr64, Phe380, Tyr65, Leu87 et His377, ce qui conduit à des interactions hydrophobes et éventuellement à une interaction π-π avec Phe380.

Les autres molécules, ayant donné un diamètre d'inhibition in vitro, et substitué en 2' de l'imdazole par un méthyle, méthoxyphényle, diméthylaminophényle, hydroxy ou dihydroxy phényle ont montré, in silico, une meilleure affinité pour la cible que le fluconazole et le voriconazole avec des énergies (en Kcal/mole) égales à -133.95, -135.38, -128.91, -139.67 et -131.82 correspondant aux molécules M2, M9, M8, M5 et M6 respectivement. Ces résultats sont en concordance avec des travaux ultérieurs qui ont montré l'intérét de ces groupements pour avoir une bonne activité antifongique [251].

La molécule M13 substituée par 2,5-dihydroxyphényle en position 2' de l'imidazole a montré, in silico, une affinité pour la cible meilleure que celle du voriconazole mais inférieure à celle du fluconazole.

Tous ces composés se lient avec la cible par des laisons hydrogènes, les complexes ainsi formés peuvent êtres stabilisés par des laisons de Van Der Waals par interaction avec différents résidus d'acides aminés (Tableau XLV).

La molécule M2 donne lieu aussi à des interactions π-π avec Tyr64 et π-alkyle avec Leu87, Leu88, Phe58, Ala61, Ala62 et Pro230. Le complexe formé avec M5 peut être aussi stabilisé grâce à des interactions amide- π et π-π avec Ser507, His377, Phe380 et Phe58 et π-alkyl avec Leu88, Ile231, Pro230 et Leu376. M6 interagit aussi avec la cible par des interactions π-π avec Phe233, Phe58 et Phe235, et π -alkyl avec Ala61, Pro230, Leu87et Val234. M8, M9 et M13 donnent lieu aussi à des interactions π-π et π-alkyl avec la cible.

Les composés substitués par un dichlorophényle en position 2' de l'imidazole ont montré, in silico, une affinité pour la cible plus faible que celle du voriconazole et du fluconazole pour la M7, et inférieure à celle du fluconazole et presque identique à celle du voriconazole pour la M11.

Nous avons noté, d'après les résultats du docking moléculaire, que la molécule M12 a montré le score le plus élevé avec l'énergie la plus faible, ceci reflète une meilleure affinité de la molécule synthétisée pour la cible comparée aux autres molécules, elle a donné plus de liaisons hydrogènes par rapport aux restes des composés. Nous avons obtenu des valeurs de liaison négatives ce qui indique que la liaison avec la cible est spontanée, et que le composé peut être accepté comme un ligand potentiel [252].

2-2- Etude in silico ADMET

Les progrès de l'immuno-informatique ont permis de concevoir "in silico" de nouvelles molécules et de prédire leurs propriétés physico-chimiques, pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. Cette stratégie permet de mieux présélectionner avant de les tester in vitro ou in vivo. Dans notre étude, nous avons évalué le profil pharmacocinétique et la toxicité de la nouvelle série synthétisée à l'aide du logiciel admet SAR.
Les propriétés ADMET sont des propriétés physiologiques gouvernées par des principes complexes liés à la structure chimique du principe actif et à l'environnement biologique.

- **Prédiction de la perméabilité intestinale par étude in silico basée sur le modèle Caco-2**

Les lignées cellulaires d'adénocarcinome du côlon humain (Caco-2) sont couramment utilisées pour prédire le passage à travers les cellules de l'épithélium intestinal humain, vue leurs similitudes morphologiques et fonctionnelles. La perméabilité des molécules au travers des cellules Caco-2 peut être corrélée à l'absorption intestinale humaine. Les valeurs pour l'étude in silico basée sur le modèle Caco-2 se situe entre « 0 » pour une faible absorption et « +1 » pour une bonne absorption [253]. Dans notre étude, tous les composés étudiés M1-M13 ont donné des valeurs situées entre 0.510 et 0.770, par conséquent, ils ont été prédits comme étant peu perméables dans les cellules d'adénocarcinome humain (Caco-2).

- **Prédiction de la fraction absorbée : HIA (Human Intestinal Absorption)**

La prédiction du pourcentage de la dose qui a réussi à traverser les cellules épithéliales pour gagner la circulation sanguine permet de prédire en partie la biodisponibilté des médicaments administrés par voie orale ; dans notre étude, toutes les molécules étudiées ont donné un bon profil d'absorption avec une valeur de 100% pour l'absorption intestinale sauf la M5 « 99.7% ». Par ailleurs, les azolés comme le fluconazole et le voriconazole sont bien absorbés après une administration orale avec une biodisponibilité supérieure à 90% pour le premier [164] et supérieure à 80 % pour le second [167].

- **Le passage à travers la barrière hémato-encéphalique : BBB permeability**

Dans les études in silico, la fourchette acceptable de BBB pour un candidat médicament idéal est de 0,73 à 0,91 [248]; dans notre étude, les molécules : M5, M8, M10, M12 et M13 ont donné des valeurs situées entre 0,885 et 0,90 ; donc elles possèdent un bon profil de perméabilité à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE), les autres molécules ont donné des valeurs situées en dehors de la fourchette. Le fluconazole et le voriconazole possèdent aussi une bonne perméabilité à travers la BHE ; pour le fluconazole, les taux dans le LCR sont équivalents à 80 % environ des taux sanguins [255, 256].

- **Prédiction des inhibiteurs et des substrats de la glycoprotéine P**

Les molécules qui ont réussi à traverser la membrane des cellules épithéliales peuvent être confrontées au mécanisme d'efflux et d'influx. La glycoprotéine P (P-gp) fait partie de la famille des transporteurs ABC, et contribue à l'efflux des molécules du milieu intracellulaire vers le milieu extracellulaire, les molécules synthétisées ne sont pas des substrats de la P-glycoprotéine I, donc elles ne sont pas soumises à ce mécanisme d'efflux, et elles ne sont pas

des inhibiteurs de la P-glycoprotéine I. les azolés commercialisés comme le fluconazole et le voriconazole ne sont ni inhibiteurs ni substrats de la glycoprotéine P (voir annexe XI).

- **Distribution**

Le modèle utilisé a prédit que les mitochondries étaient la localisation la plus probable des composés étudiés après leur administration dans l'organisme. Le fluconazole et le voriconazole pénètrent bien l'ensemble des tissus de l'organisme [256].

- **Inhibition des transporteurs de cations organiques au niveau rénal**

L'inhibition de ces transporteurs peut être à l'origine d'interactions médicamenteuses au niveau rénal. Tous les composés testés ont été prédits comme non inhibiteurs des transporteurs de cations organiques, donc ne sont pas une source à une interaction médicamenteuse à ce niveau. Le voriconazole et le fluconazole ne sont pas des inhibiteurs des transporteurs de cations organiques (OCT2) [256].

- **Toxicité**
  - **Toxicité hors cible (off-target)**
    - ✓ **Inhibition des cytochromes P450**

Dans notre étude, les composés synthétisés étaient prévus comme inhibiteurs de CYP1A2 et CYP2C19 à l'exception des molécules M5, M10, M12 et M13 pour CYP1A2 et M10, M12 pour CYP2C19. Par ailleurs, toutes les molécules étudiées ont été prévues comme non inhibitrices de la CYP2D6 et ne sont pas métabolisées par cette dernière, il est à noter aussi que M4, M7, M8, M9 et M11 ont été prédites comme inhibitrices du CYP3A4. Il convient de rappeler que les CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4 et CYP2D6 sont des isoenzymes impliquées dans les réactions de phase I, lors des processus enzymatiques qui se déroulent dans les intestins et le foie et qu'une inhibition de ces isoformes entraînerait des interactions, une accumulation et une toxicité des médicaments [257]. Donc les molécules M10 et M12 ne provoquent ni accumulation, ni toxicité des molécules métabolisées par CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4 ou CYP2D6.

En revanche, le voriconazole et le fluconazole sont des puissants inhibiteurs du CYP2C19, CYP3A4 (source à des intéractions médicamenteuses), et ils ne sont pas des inhibiteurs du

CYP1A2 et CYP2D6. Le voriconazole peut être métabolisé par CYP2C19 (voie métabolique mineure) (voir annexe XI).

- ✓ **Cardiotoxicité**

Les médicaments bloqueurs des canaux potassiques hERG (gène humain apparenté à l'éther-a-go-go) provoquent des arythmies cardiaques, les produits étudiés sont prédits comme faiblement inhibiteurs des hERG I, et ne sont pas inhibiteurs de hERG II, donc la toxicité cardiaque par inhibition de ces canaux potassiques est très faible.

Cette toxicité cardiaque peut être induite par les azolés commercialisés comme le fluconazole, ce dernier peut provoquer l'allongement de l'intervalle QT par inhibition des canaux potassiques hERG [258]. Le voriconazole peut provoquer des troubles cardiaques de manière concentration-dépendante à partir de concentrations résiduelles supérieures à 5-6 mg/l [1].

- ✓ **Hépatotoxicité**

Le fluconazole est hépatotoxique**,** les patients sous traitement, présentant des anomalies des tests de la fonction hépatique, doivent être étroitement surveillés afin d'éviter la survenue d'une atteinte hépatique plus grave. Le voriconazole peut provoque une augmentation des transaminases, des phosphatases alcalines, et des cas d'hépatites sévères ont été décrits en rapport avec une augmentation des concentrations sériques [164, 171], il en est de même pour les molécules M1-M13, elles ont été prédites comme hépatotoxiques avec des probabilités allant de 57% à 80%.

- ➢ **Cancérogénicité**

Tous les composés étudiés ont été prédits comme étant non cancérigène. Le voriconazole peut provoquer, et ce de manière concentration- dépendante, des effets indésirables à long terme au niveau cutané de type photosensibilisation ou carcinogenèse [1].

Références bibliographiques

[1] Schrapp A et Lamoureux F. Antifongiques azolés. In : Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique (SFPT), Collège National de Pharmacologie Médicale (CNPM). Pharmacologie des Anti-Infectieux 2018 ; pp. 115-120.
Doi :10.1016/b978-2-294-75300-8.00014-8

[2] Chekiri-Talbi M et Denning DW. Estimation des infections fongiques en Algérie. Journal de Mycologie Médicale 2017; 27(2):139-145. DOI : 10.1016/j.mycmed.2017.02.005

[3] Boudmagh A. Isolement à partir des sols Sahariens de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives [thèse]. Algérie : Université Mentouri Constantine ; 2007.

[4] Penet É, Bonneau L, Parinaud AS, Gonnin S, Gaillard MA, et Javerliat M. Pharmacologie des antifongiques systémiques. Actualités Pharmaceutiques Hospitalières 2011; 7(28):10-20. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S1769-7344(11)70393-6

[5] Agbo-Godeau S et Guedj A. Mycoses buccales. EMC-Stomatologie 2005 ; 1(1):30-41. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.emcsto.2005.01.006

[6] Darfaoui L. Les mycoses superficielles chez les patients suivis au service d'oncologie médicale de l'hôpital militaire Avicenne-Marrakech [thèse]. Marrakech : Université Kadi Ayyad ; 2019.

[7] Peppercorn A et Serody JS. Infections fongiques. Médecine interne de Netter 2011; pp. 802-812. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/B978-2-294-70951-7.00104-3

[8] Scemla A et Manda V. Epidémiologie des infections en transplantation rénale. Néphrologie & Thérapeutique 2019; 15:S37-S42. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.nephro.2019.03.010

[9] Arrache D, Sebai K, Talzazet L, Zait H, Madani K, et Hamrioui B. Profil épidémiologique des teignes du cuir chevelu (2009–2014). Journal de Mycologie Médicale 2015 ; 25(3):243-244. doi: 10.1016/j.mycmed.2015.06.064

[10] Bendjaballah-Laliam A, Djazer H. Épidémiologie des teignes du cuir chevelu de la banlieue de Tipasa, Algérie. Journal de Mycologie Médicale 2014; 24:141-3. http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2014. 02.008

[11] Chekiri-Talbi M, Ouldrouis-Saoudi K, Rezekallah L, Ammour W, et Denning D. Ethiological profil and epidemiology of tinea capitis in the region of Mitidja (BLIDA) in Algeria: Poster 205. Mycoses 2015; 58:123-124.

[12] Benmezdad A, Moulahem T, Benyezzar M, Djaballah M, Beldjoudi W, Fendri AH. Tineacapitis in the university hospital in Constantine (Algeria). J Mycol Med 2012; 22:354-6. Disponible sur: http:// dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2012.09.002

[13] Zait H, Arrache D, Madani K, Bentaiba K, Beradi K, Achir I, et al. Vingt-quatre cas de cryptococcose diagnostiqués au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU Mustapha d'Alger (2002-2015). Journal de Mycologie Médicale 2016 ; 25(3):237. Disponible sur : http://dx.doi.org/10.1016/ j.mycmed.2015.06.048

[14] Brans A. Les mycoses superficielles : Pharmacologie des anti-fongiques [thèse]. France : Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Lille 2 ; 2015.

[15] Mokni M et Couppié P. Mycoses sous-cutanées. Dermatologie infectieuse 2014 ; pp. 199-206. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/B978-2-294-73284-3.00037-5

[16] Parize P, Ferneiny M, et Lortholary O. Mycoses systémiques. Dermatologie infectieuse 2014; pp.211-218. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/B978-2-294-73284-3.00039-9

[17] Khurana A, Sardana K, et Chowdhary A. Antifungal resistance in dermatophytes : Recent trends and therapeutic implications. Fungal Genetics and Biology November 2019; 132:103255. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.fgb.2019.103255

[18] Louaisil S. Les Dermatophytes Anthropophiles : du diagnostic au traitement [Thèse]. France : Université de Nantes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ; 2014.

[19] Zagnoli A, Chevalier B, et Sassolas B. Dermatophyties et dermatophytes. EMC - Pédiatrie February 2005; 2(1):96-115. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.emcped.2004.05.001

[20] Chabasse D et Pihet M. Les dermatophytes : les difficultés du diagnostic mycologique. Revue Francophone Des Laboratoires 2008 ; 2008(406) :29–38. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S1773-035X(08)74522-2

[21] Chabasse D et Contet-Audonneau N. Les teignes du cuir chevelu. Revue Francophone Des Laboratoires 2013 ; 2013(454):49-57. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S1773-035X(13)72131-2

[22] Feuilhade de Chauvin M. Traitement des onychomycoses. Journal de Mycologie Médicale 2014 ; 24(4):296–302. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.10.009

[23] Françoise Botterel A, Dardé ML, Debourgogne A, Delhaes L, Houzé S, Morio F, et al. Candidoses. In : Houzé S, et Botterel-Chartier F. Parasitologie et Mycologie Médicales - Guide des Analyses et des Pratiques Diagnostiques 2017 ; pp.389-394. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/B978-2-294-75363-3.00046-X

[24] Lagane C. Rôle de l'il-13 et des ligands de ppar-γ dans la reponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-a-vis de candida albicans. Implication de ppar-γ [Thèse]. France : universite toulouse III ; 2007.

[25] Develoux M et Bretagne S. Candidoses et levuroses diverses. EMC - Maladies Infectieuses 2005 ; 2(3):119–139. DOI : 10.1016/j.emcmi.2005.04.001

[26] Seddiki SML, Boucherit-Otmani Z, Boucherit K, et Kunkel D. Infectivités fongiques des cathéters implantés dues à Candida sp. Formation des biofilms et résistance. Journal de Mycologie Médicale 2015 ; 25(2) :130-135. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2015.03.003

[27] Gonzalez Santiago TM, Pritt B, Gibson LE, et Comfere NI. Diagnosis of deep cutaneous fungal infections: Correlation between skin tissue culture and histopathology. Journal of American Academy of Dermatology 2014 ; 71(2):293-301. DOI: 10.1016/j.jaad.2014.03.042

[28] Infections cutanéo-muqueuses bactériennes et mycosiques_ Item 87 : Candida albicans. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2012 ; 139(11):A40–A46. Doi : 10.1016/j.annder.2012.01.003

[29] Samimi M. Chéilites : orientation diagnostique et traitement. La Presse Médicale 2016 ; 45(2):240-250. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.lpm.2015.09.024

[30] Anthony J, Mancini MD, Daniel P, et Krowchuk MD. Chéilite angulaire/ Perlèche. Dermatologie de L'enfant : Guide Pratique des Pathologies et Infections Cutanées du Nourrisson à L'adolescent 2019; pp. 220-222. https://doi.org/10.1016/B978-2-294-75852-2.00118-8

[31] Anthony J, Mancini MD, Daniel P, et Krowchuk MD. Muguet. Dermatologie de L'enfant : Guide Pratique des Pathologies et Infections Cutanées du Nourrisson à L'adolescent 2019; pp. 233-235. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/B978-2-294-75852-2.00122-X

[32] Infections cutanéo-muqueuses bactériennes et mycosiques_ Item 152 – UE 6. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2018 ; 145:S57–S72. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.annder.2018.01.018

[33] Chaine B et Janier M. Dermatoses génitales masculines. EMC Dermatologie Cosmétologie 2005 ; 2(1):43-63. Disponible sur :https://doi.org/10.1016/j.emcdc.2005.04.002

[34] Piérard GE et Piérard-Franchimont C. Mycoses. Dermatologie et Infections Sexuellement Transmissibles, 2e éd. Elsevier Masson SAS , 2017; pp. 134-146. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/B978-2-294-74649-9.00007-6

[35] Onyxis_Item n° 288-Troubles des phanères. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2005 ; 132(10):192–194. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0151-9638(05)79490-4

[36] Infections cutanéo-muqueuses à Candida albicans_ Item n° 87 : Infections cutanéo-muqueuses bactériennes et mycosiques. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2003 ; 130:3S53-3S58. DOI : AD-10-2003-130-S10-0151-9638-101019-ART10

[37] Runambot F, Sassolas B, et Guillet G. Candidose mucocutanée chronique: aspect clinique rare de l'infection à Candida. Revue de Médecine Interne 1996 ; 17(3):422s. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0248-8663(97)80996-4

[38] Kaltenbach G, Noblet-Dick M, Vogel T, Heitz D, Berthel M, et Kuntzmann F. Les septicémies à Candida : y penser chez le sujet âgé. Revue de Médecine Interne 2001 ; 22(4):549s. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0248-8663(01)80267-8

[39] Sangare AK. Diagnostic de la cryptococcose neuromeningée chez les patients VIH/SIDA à Bamako, Mali [thèse]. République du Mali : Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie ; 2010.

[40] Adoubryn KD, Ouhon J, Cisse-Camara M, Eholie SP, Brou KJ, Kouadio-Yapo CG, et al. Étude biochimique et sérotypique de 40 souches de Cryptococcus neoformans isolées de patients VIH+ à Abidjan (Côte-d'Ivoire). Journal de Mycologie Médicale 2006 ; 16(2):95–99. DOI : 10.1016/j.mycmed.2006.02.002

[41] Ghazlaoui L. La cryptococcose neuroméningée : étude des cas repérés à l'hopital Ibn Sina de Rabat [thèse]. Maroc : Université Mohamed V, Faculté de Médecine de Pharmacie, Rabat ; 2010.

[42] Bretaudeau K, Eloy O, Richer A, Bruneel F, Scott-Algara D, Lortholary O, et Pico F. Cryptococcose neuroméningée chez un sujet en apparence immunocompétent. Revue Neurologique 2006 ; 162(2):233-237. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0035-3787(06)75005-6

[43] Ouazzani H, Souhi H, Achachi L, Alaziz AS, El Ftouh MT, Achir A, et al. Aspect pseudotumoral d'une cryptococcose pulmonaire chez un sujet immunocompétent. Journal de Radiologie 2011 ; 92(3):254–256. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.jradio.2011.02.008

[44] Rachadi H, Senouci K, Lyagoubi M, Benzekri A, Mansouri S, Ramli I, et al. Nodules multiples du visage révélant une cryptococcose disséminée chez un patient immunocompétent. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2016 ; 143(4):289-294. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.annder.2015.12.019

[45] Togola M. L'épidémiologie de la cryptococcose neuroméningée en milieu hospitalier de Bamako [thèse]. République du Mali : Université de Bamako, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie ; 2007.

[46] Ettahar N, Legout L, Ajana F, Patoz P, Massongo M, Rose C, et al. Cryptococcose osseuse chez une patiente porteuse d'une leucémie lymphocytique traitée par fludarabine-cyclophosphamide-rituximab. Journal de Mycologie Médicale 2013 ; 23(1):57-63. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2012.12.049

[47] : Raissouni F. Cryptococcose digestive A propos d'un cas [thèse]. Maroc : Université Mohamed V, Faculté de Médecine de Pharmacie, Rabat ; 2008.

[48] Sellami H. Génotypage des souches de Trichosporon asahii. Journal de Mycologie Médicale 2017 ; 27(3):e34. DOI : 10.1016/j.mycmed.2017.04.078

[49] Lacroix C et Feuilhade de Chauvin M. Infections dues à Trichosporon spp. et à Geotrichum spp. EMC-Maladies Infectieuses 2005 :2(2):97-104. https://doi.org/10.1016/j.emcmi.2005.01.001

[50] Jannic A, Lafaurie M, Denis B, Hamane S, Rybojad M, Bagot M, et al. Infection disséminée à Trichosporon inkin après transplantation rénale, traitée efficacement par voriconazole. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2016 ; 143(12):S340. DOI : 10.1016/j.annder.2016.09.530

[51] Abdallaoui MS, Kamal N, et Guessous-Idrissi N. Mycoses nosocomiales systémiques à Trichosporon asahii : à propos de trois cas au CHU Ibn Rochd de Casablanca (Maroc). Revue Francophone Des Laboratoires 2009 ; 2009(416):15-18. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S1773-035X(09)70269-2

[52] Tadjine Benjamin M. La dermite séborrhéique : une dermatose sujette à controverses [Thèse]. Université de Lille 2, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques 2015. 129p.

[53] Bassaid A, Adjmi-Hamoudi H, et Bellahsene Z. Identification des levures du genre Malassezia isolées de patients atteints de pityriasis versicolor. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2016; 143(12):S338-S339. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.annder.2016.09.527

[54] Crespo-Erchiga V, Gómez-Moyano E, et Crespo M. Pityriasis Versicolor and the Yeasts of Genus Malassezia. Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition) 2008; 99(10):764-771. DOI:10.1016/s1578-2190(08)70364-0

[55] Anthony J, Mancini MD, Daniel P, et Krowchuk MD. Pityriasis versicolor. In Krowchuk DP, et Mancini AJ. Dermatologie de L'enfant : Guide Pratique des Pathologies et Infections Cutanées du Nourrisson à L'adolescent. Elsevier Health Sciences 2019 ; pp.260-263. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/B978-2-294-75852-2.00041-9

[56] Aloulou M, Makni F, Neji S, Cheikhrouhou F, Trabelsi H, Sellami H, et al. Les folliculites à Malassezia. Journal de Mycologie Médicale 2012 ; 22(1):112. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2011.12.042

[57] Lévy A, Feuilhade de Chauvin M, Dubertret L, Morel P, et Flageul B. Folliculites à Malassezia. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2007 ; 134(11):823-828. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0151-9638(07)92824-0

[58] Quéreux G. Dermatite séborrhéique. EMC - Dermatologie-Cosmétologie 2005 ; 2(3):147-159. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.emcdc.2005.07.002

[59] Anofel, Botterel F, Dardé ML, Debourgogne A, Delhaes L, Houzé S, et al. Malassezioses. In Parasitologie et mycologie médicales-Guide des analyses et des pratiques diagnostiques. Elsevier Health Sciences 2017; pp.401–404. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/B978-2-294-75363-3.00048-3

[60] Gargouri L, Trabelsi H, Neji S, Guidara R, Cheikhrouhou v F, Sellami H, et al. Les géotrichoses et les trichosporinoses invasives dans la région de Sfax. Journal de Mycologie Médicale 2014 ; 24(2):e83. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.01.092

[61] Darles C, Pons S, Gaillard T, Roméo E, et Brisou P. Infection disséminée à Geotrichum capitatum. Médecine et Maladies Infectieuses 2012 ; 42(11):574–575. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.medmal.2012.09.003

[62] Hadidi C. L'Aspergillome pulmonaire : expérience du service de chirurgie thoracique de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech [thèse]. Marrakech : Université Cadi Ayyad Faculté de Médecine et de Pharmacie ; 2014.

[63] Vainqueur D. Diagnostic sérologique des aspergilloses pulmonaires chroniques et allergiques chez l'immunocompétent : évaluation de sept réactifs [thèse]. France : Université Toulouse III – Paul Sabatier, Faculté de Médecine ; 2018.

[64] Denning DW, Cadranel J, Beigelman-Aubry C, Ader F, Chakrabarti A, Blot S, et al. Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. European Respiratory Journal 2015 ; 47(1):45–68. DOI : 10.1183/13993003.00583-2015

[65] Tillie-Leblond I, le Rouzic O, et Cortot A. Aspergillose bronchopulmonaire allergique. Revue Française d'Allergologie 2012 ; 52(3):134–137. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0335-7457(98)80196-2

[66] Delacourt C. Alvéolite allergique extrinsèque. Archives de Pédiatrie 1999 ; 6:s83–s86. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0929-693X(99)80252-8

[67] Braun JJ et de Blay F. Aspergillus et rhinosinusites : de l'infection fongique à la sinusite fongique allergique. Revue Française d'Allergologie 2018 ; 58(3):194–196. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.reval.2018.02.184

[68] Tattevin P, Jauréguiberry S, et Gangneux J-P. Les aspergilloses cérébrales. Revue Neurologique 2004 ; 160(5):597–605. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0035-3787(04)70997-2

[69] Dupont B. Diagnostic et traitement d'une aspergillose. Journal de Pédiatrie et de Puériculture 1991 ; 4(3):144-155. DOI : 10.1016/s0987-7983(05)80019-2

[70] Camus M, Anyfantakis V, Dammak A, Riche A, Delouane H, Roblot F, et Guillet G. Aspergillose cutanée primitive chez un agriculteur immunocompétent. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2010 ; 137(5):373-376. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.annder.2010.03.006

[71] Dupont D, Saison J, Miailhes P, Wallon M, et Persat F. Atteinte oculaire chez un greffé cardiaque lors d'une aspergillose disséminée : intérêt des galactomannanes. Journal de Mycologie Médicale 2016 ; 26(2):e9–e10. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.04.024

[72] Desoubeaux G et Chandenier J. Aspergillus et maladies aspergillaires. Feuillets de Biologie 2010 ; 51(293):53-63. Disponible sur : https://www.researchgate.net/profile/Guillaume_Desoubeaux/publication/288097279_Biological_diagnosis_of_an_aspergillus_infection/links/589364a092851c545748c929/Biological-diagnosis-of-an-aspergillus-infection.pdf

[73] Ben Aissa B, Abid R, Hannachi S, Battikh R, Louzir B, Hamdi M, et al. Particularités de l'Otite externe nécrosante Aspergillaire. Médecine et Maladies Infectieuses 2019 ; 49(4):S101–S102. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.medmal.2019.04.242

[74] Contet-Audonneau N. Les Onyxis À Moisissures. Revue Francophone Des Laboratoires 2005 ; 2005(373):35-44. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0338-9898(05)80233-1

[75] Quatresous N. Aspergillose humaine. Epidémiologie, diagnostic biologique, contrôle [thèse]. France : Université de Limoges, Faculté de Pharmacie ; 2011.

[76] Najih S. Onychomycoses à moisissures : Etude rétrospective au Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie Médicale de l'Hôpital d'Enfants de Rabat sur la période 1993 – 2007 [thèse]. Rabat : Université Mohamed V ; 2008.

[77] Bissan AT, Iken M, Doumbia M, Ou-khedda N, El Alaoui M, et Lmimouni B. Fusarioses superficielles à Fusarium solani chez un immunocompétent et un immunodéprimé diagnostiqué à l'Hôpital militaire de Rabat. Journal de Mycologie Médicale 2017 ; 27(3):382-386. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.03.005

[78] Benoît T. Etude épidémiologique des infections à Fusarium au CHRU de Nancy sur 10 ans et identification moléculaire d'espèces [thèse]. France : Université de Lorraine, Faculté de Pharmacie ; 2017.

[79] Zribi J, Boudaya S, Sallemi A, Masmoudi A, Chaabène H, Makni F, et al. Fusariose cutanée atypique chez un sujet immunocompétent. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2010 ; 137(10):630-634. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.annder.2010.04.023

[80] Thierno Dieng M et Ndiaye B. Mycétomes. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2007 ; 134(1):25-26. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0151-9638(07)89026-0

[81] Lachaud L et Gangneux JP. Examens mycologiques et parasitologiques dans la prise en charge des infections pulmonaires. Revue Des Maladies Respiratoires 2017 ; 34(10):1114-1123. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.rmr.2017.08.001

[82] Karam A, Eveillard J-R, Ianoto J-C, Quinio D, Le Flohic A-M, Le Roy J-P, et al. Fusariose cutanée et viscérale disséminée chez un malade en aplasie : une porte d'entrée digestive inhabituelle. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2005 ; 132(3):255-258. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0151-9638(05)79257-7

[83] Anofel, Botterel F, Dardé ML, Debourgogne A, Delhaes L, Houzé S, et al. Infections à champignons dimorphiques. In : Parasitologie et Mycologie Médicales - Guide des Analyses et des Pratiques Diagnostiques 2017 ; pp. 457-465. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/B978-2-294-75363-3.00057-4

[84] Fekih N, Aounallah-Skhiri H, Trabelsi S, Kharfi M, Khaled S, et Fazaa B. Les mycoses de l'enfant : étude transversale à propos de 240 patients. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2011 ; 138(12):A159. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.annder.2011.10.093

[85] Chabasse D, Guiguen C, et Contet-Audonneau N. Mycologie médicale 1999 ; Paris, Masson, 320p.

[86] Delattre C. Les Mycoses Superficielles, Conseils à l'Officine et Traitements [Thèse]. France : Université Lille 2, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ; 2000.

[87] Guiguen C et Chabasse D. Parasitoses et mycoses courantes observées chez les personnes âgées en France métropolitaine. Revue Francophone Des Laboratoires 2016 ; 2016(485):73–84. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S1773-035X(16)30283-0

[88] Bouguerra R, Essaïs O, Sebaï N, Ben Salem L, Amari H, Kammoun M, et al. Prévalence et aspects cliniques des mycoses superficielles chez le diabétique tunisien en milieu hospitalier. Médecine et Maladies Infectieuses 2004 ; 34(5):201–205. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.medmal.2004.03.004

[89] Zida A, Sawadogo PM, Diallo I, Tapsoba H, Bazie Z, Drabo YJ, et Guiguemde TR. Aspects épidémiologiques des mycoses cutanéo-phanériennes chez les patients infectés par le VIH au Centre national de référence du Burkina Faso, Afrique de l'Ouest. Journal de Mycologie Médicale 2016 ; 26(2):133-137. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.01.004

[90] Nicoletis I, Baubion E, Quist D, Bagot M, Lortholary O, Bolac C, et al. Syndrome de Sézary compliquant un mycosis fongoïde atypique révélé par une mycose diffuse et récidivante. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2016 ; 143(12):S348-S349. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.annder.2016.09.547

[91] Robert-Gangneux F, Degeilh B, Chevrier S, Guiguen C, et Gangneux J-P. Mycoses profondes et transplantation. Revue Francophone Des Laboratoires 2008 ; 2008(403):41-48. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S1773-035X(08)73334-3

[92] Chabasse D. Peut-on chiffrer la fréquence des onychomycoses ?. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie 2003; 130(12):1222-30. Disponible sur : https://www.lissa.fr/rep/articles/14743108

[93] Siriez J-Y, Vitoux C, Holvoet L, et Bourrat E. Principales pathologies des enfants revenant de vacances dans leur pays d'origine. Journal de Pédiatrie et de Puériculture 2008 ; 21(2):67–77. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.jpp.2008.02.003

[94] Derouin F, Alberti C, Bouakline A, Lacroix C, Ribaud P. Corrélation entre la contamination fongique de l'environnement hospitalier et le risque d'aspergillose invasive nosocomiale. La Lettre de l'infectiologue 2002 ; 17(1-2):29-34. Disponible sur : https://www.edimark.fr/Front/frontpost/getfiles/3128.pdf

[95] MERABET S. Détermination de la flore fongique du service d'Oncologie Médicale de l'Hôpital de Didouche Mourad [Mémoire]. Algérie : Université Frères Mentouri Constantine 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie Appliqué, Constantine ; 2018.

[96] Agre DJ. Evaluation et essais d'optimisation de l'activité antifongique des extraits d'écorces d'Eucalyptus torelliana f. muell. (myrtaceae) sur la croissance in vitro de Candida albicans, Candida glabrata, Candida tropicalis [thèse]. Côte d'ivoire : Université Félix Houphouet-Boigny, Laboratoire de PharmacodynamieBiochimique ; 2015.

[97] Mahdi Z. Les antifongiques : spectres d'actions et indications chez l'enfant [thèse]. Rabat : Université Mohammed V de Rabat, Faculté de Médecine et de Pharmacie ; 2018.

[98] Basset C. Recherche de composés antifongiques issus de bois durables amazoniens [thèse]. France : Université des Antilles et de la Guyane, Faculté de Sciences, Technologies et Santés ; 2011.

[99] Blank H. Antifungal and other effects of griseofulvin. The American Journal of Medicine 1965; 39(5):831-838. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/0002-9343(65)90102-6

[100] Brion JD, Couquelet J, Debaert M, Huet J, Lacroix R, Laronze JY, et al. Principaux antifongiques et antiparasitaires. Traité de chimie thérapeutique 1996 ; Lavoisier, Tec. et Doc., Paris, 98 p.

[101] Sibrac-Pelayo C. Les antifongiques azolés : Utiles et efficaces mais non dénués de danger. Adaptation de la thérapie antifongique chez une patiente atteinte d'histoplasmose [thèse]. France : Université Toulouse III Paul Sabatier, Faculté des Sciences Pharmaceutiques ; 2013.

[102] Berger AG, Restaino SM, et White IM. Vertical-flow paper SERS system for therapeutic drug monitoring of flucytosine in serum. Analytica Chimica Acta 2017; 949:59–66. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.10.035

[103] Woolley DW. Some biological effects produced by benzimidazole and their reversal by purines. Journal of Biological Chemistry 1944 ; 152:225–232. Disponible sur : https://www.jbc.org/content/152/2/225.full.pdf

[104] Fromtling RA. Overview of medically important antifungal azole derivatives. Clinical Microbiology Reviews 1988; 1(2):187–217. Disponible sur : https://doi.org/10.1128/cmr.1.2.187

[105] Heel RC, Brogden RN, Parke GE, Speight TM, et Avery GS. Miconazole: a preliminary review of its therapeutic efficacy in systemic fungal infections. Drugs 1980; 19:7–30. Disponible sur : https://doi.org/10.2165/00003495-198019010-00002

[106] Heeres J, Hendrickx R, et Van Cutsem J. Antimycotic azoles. Synthesis and antifungal properties of terconazole, a novel triazole ketal. Journal of Medicinal Chemistry 1983; 26(4):611–613. Disponible sur : https://doi.org/10.1021/jm00358a032

[107] Tolman EL, Isaacson DM, Rosenthale ME, McGuire JL, Van Cutsem J, Borgers M, et al. Anticandidal activities of terconazole, a broad-spectrum antimycotic. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1986; 29(6):986–991. DOI:10.1128/aac.29.6.986

[108] Sood G, Nyirjesy P, Weitz MV, et Chatwani A. Terconazole cream for non-Candida albicans fungal vaginitis: Results of a retrospective analysis. Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology 2000 ; 8(5-6):240–243. DOI : 10.1155/S1064744900000351

[109] Launayvacher V et Deray G. Maniement du fluconazole chez le patient insuffisant rénal. Réanimation 2003 ; 12(3):253–257. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S1624-0693(03)00050-1

[110] Gellendautremer J, Lanternier F, Dannaoui E, et Lortholary O. Associations antifongiques dans les candidoses et aspergilloses invasives. Réanimation 2008; 17(3):259–266. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2008.01.007

[111] Potter M. Strategies for managing systemic fungal infection and the place of itraconazole. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2005; 56 suppl.1:i49–i54. DOI:10.1093/jac/dki224

[112] Kirkiachariau S. Guide de chimie thérapeutique 1996. Ellipses, édition marketing SA, Paris.

[113] Johnson LB, et Kauffman CA. Voriconazole: A New Triazole Antifungal Agent. Clinical Infectious Diseases 2003; 36(5):630–637. Disponible sur : https://doi.org/10.1086/367933

[114] Hamada Y, Tokimatsu I, Mikamo H, Kimura M, Seki M, Takakura S, et al. Practice guidelines for therapeutic drug monitoring of voriconazole: a consensus review of the Japanese Society of Chemotherapy and the Japanese Society of Therapeutic Drug Monitoring. Journal of Infection and Chemotherapy 2013 ; 19(3):381–392. DOI : 10.1007/s10156-013-0607-8

[115] Bretagne S. Posaconazole : un nouvel antifongique pour quelles indications ? Antibiotiques 2008; 10(1):42–49. DOI: 10.1016/j.antib.2007.12.001

[116] Pfaller M, Diekema D, Messer S, Boyken L, Hollis R, et Jones R. In vitro susceptibilities of rare Candida bloodstream isolates to ravuconazole and three comparative antifungal agents. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2004; 48(2):101–105. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2003.09.009

[117] Denis J, Ledoux M-P, Nivoix Y, et Herbrecht R. Isavuconazole: A new broad-spectrum azole. Part 1: In vitro activity. Journal de Mycologie Médicale 2018 ; 28(1):8–14. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2018.02.005

[118] Lacroix C, Dubach M, et Feuilhade M. Les échinocandines : une nouvelle classe d'antifongiques. Médecine et Maladies Infectieuses 2003 ; 33(4):183–191. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0399-077X(03)00059-3

[119] Bouaziz S. Recherche de souches bactériennes locales productrices de substances antimicrobiennes : isolement, sélection, identification des souches actives et caractérisation partielle des substances bioactives [thèse]. Algérie : Université Kasdi Merbah- Ouargla, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences Biologiques ; 2018.

[120] Vardanyan RS, et Hruby VJ. Synthesis of Essential Drugs 2006; Elsevier, 634 p.

[121] Brans A. Les mycoses superficielles : Pharmacologie des anti-fongiques [thèse]. France : Université de Lille 2, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille ; 2015.

[122] Gupta AK et Ryder JE. The use of oral antifungal agents to treat onychomycosis. Dermatologic Clinics 2003 ; 21(3): 469–479. DOI : 10.1016/s0733-8635(03)00027-5

[123] Neal M. Pharmacologie médicale en bref, 2ème édition 2003; De Boeck, France, 105p.

[124] Faure S. Antifongiques systémiques. Actualités Pharmaceutiques 2009 ; 48(483):49–52. DOI : 10.1016/s0515-3700(09)70338-6

[125] Mazouz AY. Traitement des infections fongiques dans le service d'oncohématologie pédiatrique du CHU de Nancy : évaluation des pratiques sur une période de trois ans [thèse]. France : Université de Lorraine ; 2014.

[126] Aoun V. Développement de nouvelles formulations d'antifongiques et évaluation de l'activité sur Candida spp. et Aspergillus spp.[thèse]. Canada : Université de Montréal ; 2013.

[127] Bleriot J-P. Candidoses systémiques et antifongiques azolés. Médecine et Maladies Infectieuses 1995 ; 25:44-49. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0399-077X(05)81250-8

[128] Birch M et Sibley G. Antifungal Chemistry Review. Comprehensive Medicinal Chemistry III 2017; pp.703–716. DOI: 10.1016/b978-0-12-409547-2.12410-2

[129] Barakat HS, Darwish IA, El-Khordagui LK, et Khalafallah NM. Development of Naftifine Hydrochloride Alcohol-Free Niosome Gel. Drug Development and Industrial Pharmacy 2009; 35(5):631–637. DOI:10.1080/03639040802498864

[130] Waugh CD. Flucytosine. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference 2007 ; pp.1-4. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.61755-6

[131] Wani Y, Ahmad A, Kumar S, et Sobral AJFN. Flucytosine analogues obtained through Biginelli reaction as efficient combinative antifungal agents. Microbial Pathogenesis 2017; 105, 57–62. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.02.006

[132] Waugh CD. Ciclopirox Olamine. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference 2007; pp.1-4. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.61462-X

[133] Chouhan P et Saini TR. Hydration of nail plate: A novel screening model for transungual drug permeation enhancers. International Journal of Pharmaceutics 2012 ; 436(1-2) :179–182. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.020

[134] Park NH, Shin KH, et Kang MK. Antifungal and Antiviral Agents. Pharmacology and Therapeutics for Dentistry 2017; 488–503. DOI:10.1016/b978-0-323-39307-2.00034-5

[135] Jimenez-Garcia L, Celis-Aguilar E, Díaz-Pavón G, Muñoz Estrada V, Castro-Urquizo Á, Hernández-Castillo N, et al. Efficacy of topical clotrimazole vs. topical tolnaftate in the treatment of otomycosis. A randomized controlled clinical trial. Brazilian Journal of Otorhinolaryngology 2020; 86(3):300-307. DOI: 10.1016/j.bjorl.2018.12.007

[136] Campoy S et Adrio JL. Antifungals. Biochemical Pharmacology 2017 ; 133:86–96. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.11.019

[137] Arenas R et Torres-Guerrero E. Onychomycosis. Nail Disorders 2019 ; pp.31–35. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/B978-0-323-54433-7.00004-0

[138] Gupta AK, Vlahovic TC, Foley KA, Lowe NG, Turner R, Brown M, et al. In vitro efficacy of tavaborole topical solution, 5% after penetration through nail polish on ex vivo human fingernails. Journal of Dermatological Treatment 2018; 29(6):633–636. DOI:10.1080/09546634.2017.1422078

[139] Vicente MF, Basilio A, Cabello A, et Peláez F. Microbial natural products as a source of antifungals. Clinical Microbiology and Infection 2003; 9(1):15–32. Disponible sur : https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2003.00489.x

[140] Denning DW. Echinocandin antifungal drugs. The Lancet 2003; 362(9390):1142-1151. DOI:10.1016/s0140-6736(03)14472-8

[141] Chen SC-A, Slavin MA, et Sorrell TC. Echinocandin Antifungal Drugs in Fungal Infections. Drugs 2011 ; 71(1):11–41. DOI : 10.2165/11585270-000000000-00000

[142] Garnaud C et Cornet M. Membrane et paroi fongiques : des rôles clés dans la résistance aux antifongiques. Revue Francophone Des Laboratoires 2020 ; 2020(519):50-58. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30062-9

[143] Gow NAR, Latge J-P, et Munro CA. The Fungal Cell Wall: Structure, Biosynthesis, and Function. Microbiology spectrum 2017; 5(3):267–292. DOI: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0035-2016

[144] Smondyrev AM et Berkowitz ML. Molecular Dynamics Simulation of the Structure of Dimyristoylphosphatidylcholine Bilayers with Cholesterol, Ergosterol, and Lanosterol.

Biophysical Journal 2001 ; 80(4):1649–1658. Disponible sur :https://doi.org/10.1016/S0006 3495(01)76137-1

[145] Morio F et Le Pape P. Résistance de Candida spp. aux antifongiques. In : Actualités Permanentes en Microbiologie Clinique, Chapitre:16, Eska ; 2014. p.34. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/298706624_Resistance_de_Candida_spp_aux_antif ongiques

[146] British Pharmacopiea ; 2009.

[147] Hochart S, Barrier F, Durand-Joly I, Horrent S, Decaudin B, et Odou P. Les antifongiques systémiques Partie 1 : éléments pharmaceutiques. Le Pharmacien Hospitalier 2008 ; 43(173):103–109. DOI : 10.1016/s0768-9179(08)70007-5

[148] Xie F, Ni T, Zhao J, Pang L, Li R, Cai Z, et al. Design, synthesis, and in vitro evaluation of novel antifungal triazoles. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2017 ; 27(10):2171–2173. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.03.062

[149] Bretagne S. De nouvelles molécules pour les infections fongiques ? Antibiotiques 2009; 11(3):133-141. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.antib.2009.01.002

[150] Pharmacopée Européenne; 2010.

[151] Ghannoum MA et Rice LB. Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance. Revue de Biologie clinique 1999 ; 12(4):501–517. Disponible : DOI : 10.1128/CMR.12.4.501

[152] Guillon R. Conception, synthèse et évaluation pharmacologique de nouveaux azolés à activité antifongique [thèse]. France : Université de Nantes, UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques, spécialité chimie thérapeutique ; 2010.

[153] Attia MI, Radwan AA, Zakaria AS, Almutairi MS, et Ghoneim S W. 1-Aryl-3-(1H-imidazol-1-yl) propan-1-ol esters: synthesis, anti-Candida potential and molecular modeling studies. Chemistry Central Journal 2013; 7(1):168. DOI:10.1186/1752-153x-7-168

[154] Howard KC, Dennis EK, Watt DS, et Garneau-Tsodikova S. A comprehensive overview of the medicinal chemistry of antifungal drugs: perspectives and promise. Revue de société chimique 2020 ; 49 :2426-2480. Disponible sur : https://doi.org/10.1039/C9CS00556K

[155] Rogers PD et Krysan DJ. Antifungal Agents. In: Laurence B, Knolmann B, Hilal-Dandan R. Goodman and Gilman's, The Pharmacological Basis of Therapeutics 13th Edition, McGraw-Hill Education; 2017. pp.1087-1104.

[156] Auzeil N. Recherche d'antifongiques inhibiteurs de l'adhésion, synthèse et activité biologique de thio-dérives lipophiles (thiocyanates, thiourées, azolés mono et polycycliques). [Thèse]. France : Université de Nancy 1, Faculté de Pharmacie, spécialité chimie thérapeutique ; 1992.

[157] Vanden Bossche H, Marichal P, Gorrens J, Coene MC, Willemsens G, Bellens D, et al. Biochemical approaches to selective antifungal activity. Focus on azole antifungals. Mycoses. 1989; 32 Suppl 1:35-52. DOI :10.1111/j.1439-0507.1989.tb02293.x

[158] Odds FC. Antifungal agents: their diversity and increasing sophistication. Mycologist 2003; 17(2):52-57. DOI: 10.1017/S0269915X03002064

[159] Nowaczyk A et Modzelewska-Banachiewicz B. Triazole derivatives with antifungal activity: A pharmacophore model study. Acta Poloniae Pharmaceutica, Drug Research 2008; 65:795-798. Disponible sur : https://www.ptfarm.pl/pub/File/acta_pol_2008/6_2008/795-800.pdf

[160] Ben Slama L et Hasni W. Miconazole en comprimé gingival muco-adhésif (Loramyc® 50mg). Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale 2008 ; 109(3):197–200. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.stomax.2008.04.006

[161] Lang PG et LeClercq AH. Increase in anticoagulant effect of warfarin in a patient using econazole cream. Journal of the American Academy of Dermatology 2006; 55(5):S117–S119. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.jaad.2005.11.1077

[162] Durand B. Traitements des mycoses vulvo-vaginales aiguës et récidivantes [thèse]. France : Université de Lorraine, Faculté de pharmacie ; 2017.

[163] Waugh CD. Tioconazole. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference 2007; pp.1-4. Disponble sur : https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.62769-2

[164] Bellmann R et Smuszkiewicz P. Pharmacokinetics of antifungal drugs: practical implications for optimized treatment of patients. Infection 2017; 45(6):737–779. DOI:10.1007/s15010-017-1042-z

[165] Winston DJ. Itraconazole vs. fluconazole for antifungal prophylaxis in allogeneic stem-cell transplant patients. Clinical Microbiology and Infection 2006; 12:91–96. Disponible sur : https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01610.x

[166] Passos JS, Martino LCD, Dartora VFC, Araujo GLBD, Ishida K, et Lopes LB. Development, Skin Targeting and Antifungal Efficacy Of Topical Lipid Nanoparticles Containing Itraconazole. European Journal of Pharmaceutical Sciences 2020 ; 149:105296. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105296

[167] Mallié M et Bastide JM. Les nouveaux antifongiques et leur stratégie de recherche. Revue Française des Laboratoires 2001 ; 2001(332):63-70. DOI: 10.1016/S0338-9898(01)80129-3

[168] Lipp HP. Clinical pharmacodynamics and pharmacokinetics of the antifungal extended-spectrum triazole posaconazole: an overview. British Journal of Clinical Pharmacology 2010; 70(4):471–480. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2010.03680.x

[169] Ledoux MP, Denis J, Nivoix Y, et Herbrecht R. Isavuconazole: A new broad-spectrum azole. Part 2: pharmacokinetics and clinical activity. Journal de Mycologie Médicale 2018 ; 28(1):15–22. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2018.02.002

[170] Gupta AK et Simpson FC. Efinaconazole (Jublia) for the treatment of onychomycosis. Expert Review of Anti-Infective Therapy 2014; 12(7):743–752. DOI:10.1586/14787210.2014.919852

[171] Cazenave F, Lanternier O, et Lortholary. Nouveaux antifongiques systémiques. La Lettre de l'Infectiologue, Tome XXV, n°5 ; 2010. Disponible sur : https://www.edimark.fr/Front/frontpost/getfiles/16795.pdf .

[172] Groleau P, Korsia-Meffre S, et Roguet I. Dictionnaire des médicaments. Edition Sophie tievent, 17ème édition; 2012.

[173] Waugh CD. Econazole. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference 2007; pp.1-4. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.61667-8

[174] Allen UD. Société canadienne de pédiatrie, comité des maladies infectieuses et d'immunisation. Les antifongiques pour le traitement des infections fongiques systémiques chez les enfants. Paediatr. Child. Health. 2010 ; 15(9): 609–615.

[175] Lortholary O. Les nouveaux antifongiques systémiques. La Revue de Médecine Interne 2008 ; 29:S14. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.revmed.2008.03.021

[176] Glynn M, Jo W, Minowa K, Sanada H, Nejishima H, Matsuuchi H, et al. Efinaconazole: Developmental and reproductive toxicity potential of a novel antifungal azole. Reproductive Toxicology 2015; 52:18–25. DOI: 10.1016/j.reprotox.2014.12.007

[177] Garcia Rodríguez LA, Duque A, Castellsague J, Pérez-Gutthann S, et Stricker BHCh. A cohort study on the risk of acute liver injury among users of ketoconazole and other antifungal drugs. British Journal of Clinical Pharmacology 2001; 48(6):847–852. DOI : 10.1046/j.1365-2125.1999.00095.x

[178] Drouhet E et Dupont B. Ketoconazole : spectre, pharmacocinétique, tolérance et activité thérapeutique dans les mycoses profondes. Médecine et Maladies Infectieuses 1984 ; 14(11):518–529. DOI: 10.1016/s0399-077x(84)80002-5

[179] Chen L, Krekels EHJ, Verweij PE, Buil JB, Knibbe CAJ, et Brüggemann RJM. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Posaconazole. Drugs 2020 ; 80:671–695. Disponible sur : Disponible sur : https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s40265-020-01306-y.pdf

[180] Ray S et Bagchi A. Molecular modelling tools: A mini review. Novus International Journal of Engineering & Technology 2012; 1(1):28-36. Disponible sur : http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.679.7913&rep=rep1&type=pdf

[181] Essabbah M, Otmane S, et Mallem M. 3D molecular modeling: from theory to applications. Conference on Human System Interactions 2008; pp.350-355. DOI :10.1109/hsi.2008.4581462

[182] Nurisso A, Daina A, et Walker RC. A Practical Introduction to Molecular Dynamics Simulations: Applications to Homology Modeling. In : Andrew OJW, Ruben A. Methods in Molecular Biology. Homology Modeling 2012; pp.137-173. DOI: 10.1007/978-1-61779-588-6_6

[183] Leach AR. Molecular Modelling: Principles and Applications, Prentice Hall, 2001; 773p.

[184] Nazari A. Applications of Molecular Modeling in Drug Designing. International Journal of Chemical and Molecular Engineering 2017; 3(1):1-3. Disponible sur :

http://chemical.journalspub.info/index.php?journal=JCME&page=article&op=view&path%5B%5D=326&path%5B%5D=753

[185] Bensegueni A. Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxygénase et la cyclooxygénase [thèse]. Algérie : Université Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biochimie-Microbiologie ; 2007.

[186] Schulz GE et Schirmer RH. Principles of protein structure. Springer Science & Business Media; 2013.

[187] Meng XY, Zhang HX, Mezei M, et Cui M. Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. Current Computer-Aided Drug Design 2011 ; 7(2):146–157. DOI : 10.2174/157340911795677602

[188] Hicham A. Compréhension du mécanisme enzyme-substrat par modélisation moléculaire : Cas du diabète de type 2 [thèse]. Algérie : Université Abou-Bekr Belkaid – Tlemcen ; 2017.

[189] Lakehal S. Etude docking et synthèse de dérivés de xanthone : voie d'accès à de nouveaux inhibiteurs de l'α-glucosidase [thèse]. Algérie : Université Badji Mokhtar- Annaba ; 2016.

[190] Madeleine N. Recherche d'inhibiteurs de l'interaction Lutheran-Laminine par des techniques de modélisation et de simulation moléculaires [thèse]. France : Université de La Réunion ; 2017.

[191] Bouchagra S. Modélisation des interactions protéine-petites molécules : étude de la relation structure – fonction dans le cas des lipases [thèse]. Algérie : Université Badji Mokhtar- Annaba, Faculté des Sciences, Département de Chimie ; 2018.

[192] Daunay B. Couplage haptique pour des applications de docking moléculaire [thèse]. Paris : Université Pierre et Marie Curie ; 2007.

[193] Hoffer L. Développement et validation du logiciel S4MPLE : application au docking moléculaire et à l'optimisation de fragments assistée par ordinateur dans le cadre du fragment-based drug design [thèse]. France : Université de Strasbourg ; 2013.

[194] Chevrollier N. Développement et application d'une approche de docking par fragments pour modéliser les interactions entre protéines et ARN simple-brin [thèse]. France: Université Paris-Saclay; 2019.

[195] Young DC. Computational drug design: a guide for computational and medicinal chemists. John Wiley & Sons ; 2009.

[196] Canault B. Développement d'une plateforme de prédiction in silico des propriétés ADME-Tox [thèse]. France: Université d'Orléans; 2018.

[197] Sugano K. Aqueous boundary layers related to oral absorption of a drug: from dissolution of a drug to carrier mediated transport and intestinal wall metabolism. Molecular pharmaceutics 2010; 7(5):1362-1373. Disponible sur : https://doi.org/10.1021/mp1001119

[198] Wang NN, Dong J, Deng YH, Zhu MF, Wen M, Yao ZJ, et al. ADME properties evaluation in drug discovery: prediction of Caco-2 cell permeability using a combination of NSGA-II and boosting. Journal of chemical information and modeling 2016; 56(4):763-773. Disponible sur : https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00642

[199] Van De Waterbeemd H et Gifford E. ADMET in silico modelling: towards prediction paradise? Nature reviews Drug discovery 2003; 2(3):192-204. DOI: 10.1038/nrd1032

[200] Ferreira LL et Andricopulo AD. ADMET modeling approaches in drug discovery. Drug discovery today 2019; 24(5):1157-1165. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.03.015

[201] Pelkonen O, Turpeinen M, Hakkola J, Honkakoski P, Hukkanen J, et Raunio H. Inhibition and induction of human cytochrome P450 enzymes: current status. Archives of toxicology 2008; 82(10):667-715. DOI: 10.1007/s00204-008-0332-8

[202] Kongsamut S, Kang J, Chen XL, Roehr J, et Rampe D. A comparison of the receptor binding and HERG channel affinities for a series of antipsychotic drugs. European journal of pharmacology 2002; 450(1):37-41. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/S0014-2999(02)02074-5

[203] Johnson TE, Zhang X, Bleicher KB, Dysart G, Loughlin AF, Schaefer WH, et al. Statins induce apoptosis in rat and human myotube cultures by inhibiting protein geranylgeranylation but not ubiquinone. Toxicology and applied pharmacology 2004; 200(3):237-250. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.04.010

[204] Chipinda I, Hettick JM, et Siegel PD. Haptenation: chemical reactivity and protein binding. Journal of allergy 2011; 2011:1-11. Disponible sur : https://downloads.hindawi.com/archive/2011/839682.pdf

[205] Walsh JS et Miwa GT. Bioactivation of drugs: risk and drug design. Annual review of pharmacology and toxicology 2011; 51:145-167. Disponible sur : https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev-pharmtox-010510-100514

[206] Nikalje APG, Ghodke MS, Khan FAK, et Sangshetti JN. CAN catalyzed one-pot synthesis and docking study of some novel substituted imidazole coupled 1, 2, 4-triazole-5-carboxylic acids as antifungal agents. Chinese Chemical Letters 2015; 26(1):108-112. Disponible sur: http://dx.doi.org/10.1016/j.cclet.2014.10.020.

[207] Safari J, Zarnegar Z, Ahmadi M, et Seyyedi S. An investigation of the catalytic potential of potassium cyanide and imidazolium salts forultrasound-assisted synthesis of benzoin derivatives. Journal of Saudi Chemical 2015; 19(6):628–633. Disponible sur: http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2012.05.005

[208] Depreux P, Bethegnies G, et Marcincal-Lefebvre A. Synthesis of benzil from benzoin with copper (II) acetate. Journal of Chemical Education 1998; 65(6): 553. DOI:10.1021/ed065p553

[209] Pavia DL, Lampman GM, et Kriz GS. Introduction to organic laboratory techniques: a contemporary approach. Saunders College Pub. 3e ed.;1988.754 p.

[210] Arduengo III AJ, Gentry JrFP, Taverkere PK, et Simmons III HEUS. Patent N°. 6,177,575. Washington, DC : U.S. Patent and Trademark Office ; 2001. Disponible sur : https://patents.google.com/patent/US6177575B1/en

[211] Direction Européenne de la Qualité du Médicament et Soins de Santé(EDQM), Pharmacopée Européenne. Guide technique pour l'élaboration des monographies ; 2011. p.14.

[212] Direction Européenne de la Qualité du Médicament et Soins de Santé(EDQM). Pharmacopée Européenne 6.0, prescriptions générales. Strasbourg, France ; 2008.

[213] Lide DR. CRC Handbook of Chemistry and Physics. CRC press, 88e edition ; 2007. Disponible sur : http://library.lol/main/c712467ae394ba79631088d747fdf476

[214] Gherib A. Les cours de pharmacie, travaux pratiques de chimie organique et pharmaceutique. Analyse fonctionnelle et synthèses. Alger; 1983.

[215] OECD Guidelines for the Testing of Chemicals / Physical-Chemical Properties Test N°. 102: Melting Point/ Melting Range. OECD Pub.; 1995. p.1-3. Disponible sur: http://library.lol/main/f91044d07b318f791ea5e894646aabf1

[216] Bataille X , Przedpelska E , et Ziminska M. Synthèses multi-étapes sous micro-ondes en solvant ou sur support solide en « milieu sec ». Enseignement, travaux pratiques chimie ; 2005. pp.40-47. Disponible sur : https://www.lactualitechimique.org/Syntheses-multi-etapes-sous-micro-ondes-en-solvant-ou-sur-support-solide-en-milieu-sec.

[217] Hocine S. Méthodes d'analyses spectroscopiques : *UV-Visible*IR*RMN*Masse*RPE. Office des publications universitaires ; 2017. 136 p. ISBN : 978.9961.0.1995.5

[218] Rouessac A et Rouessac F. Techniques instrumentales d'analyse chimique en 23 fiches. Dunod, Paris ; 2011. pp.62-76. Disponible sur : http://library.lol/main/6c1a06c649057bba48ba33815b3389aa

[219] Serna F, Lagneau J, et Carpentier J-M. La diffraction des rayons X : une technique puissante pour résoudre certains problèmes industriels et technologiques. Chimie nouvelle N° 116; 2014. pp.1-12. Disponible sur: http://chimienouvelle.be/CN116web/CN166%20serna.pdf

[220] Gottlieb HE, Kotlyar V, et Nudelman A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. The Journal of Organic Chemistry 1997 ; 62(21) :7512–7515. DOI : 10.1021/jo971176v

[221] Vivegnis A. Synthèses de modulateurs allostériques positifs des récepteurs AMPA et kaïnate Série des « 1,4-benzothiazines 1,1-dioxyde » [Mémoire]. Belgique : Université de Liège. Faculté Des Sciences, Département de Chimie, Laboratoire de Chimie Pharmaceutique ; 2017-2018.

[222] Barbuceanu SF, Almajan GL, Saramet I, Draghici C, Tarcomnicu AI, et Bancescu G. Synthesis, characterization and evaluation of antibacterial activity of somethiazolo[3,2-b] [1,2,4] triazole incorporating diphenylsulfone moieties. Eur. J. Med. Chem. 2009; 44(11):4752-57. Disponible sur: https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.06.021

[223] Sharma S, Gangal S, et Rauf A. Convenient one-pot synthesis of novel 2-substituted benzimidazoles, tetrahydrobenzimidazoles and imidazoles and evaluation oftheir in vitro antibacterial and antifungal activities. Eur. J. Med. Chem. 2009; 44(4):1751-1757. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.03.026

[224] Cao X, Wang W, Wang S, et Bao L. Asymmetric synthesis of novel triazole derivatives and theirin vitroantiviral activity and mechanism of action. Eur. J. Med. Chem. 2017 ; 139:718-725. Disponible sur: https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.08.057

[225] Réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) ; 2011. pp.25-178. Disponible sur: http://www.sante.dz

[226] Steiman R, Seigle-Murandi F, et Sage L. L'antifongigramme des derlmatophytes. Annales de l'Institut Pasteur / Microbiologie 1988 ; 139(4):485-491. Disponible sur : https://doi.org/10.1016/0769-2609(88)90110-X

[227] Dannaoui E. Methods for in vitro antifungal susceptibility testing. Therapie2006 ; 6(3):201-207. DOI: 10.2515/therapie:2006038

[228] Menan H, Ekaza E, Messou E, Adoubryn K, Yavo W, Kiki-Barro P, et al. Recherche de Candida dubliniensis chez des patients VIH+ à Abidjan (Côte d'Ivoire). Journal de Mycologie Médicale 2008 ; 18(4):228-233. DOI : 10.1016/j.mycmed.2008.10.001

[229] API Candida. Système d'identification des levures. France ; 2006. Disponible sur : http://www.biologiemarine.com/___fiches/APIpdf/API%20candida-_08159_-_H_-_10500.pdf

[230] Fertout-Mouri N, Latreche A, Mehdadi Z, et Bengherraz Z. Activité antibactérienne de quatre extraits de Teucrium polium L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège 2016 ; 85:253-262. Disponible sur : https://popups.uliege.be/0037-9565/index.php?id=6472&file=1

[231] Abbes S, Trabelsi H, Amouri I, Sallemi H, Nej S, Fatma C, et al. Methods for studying the in vitro susceptibility of Candida spp. to antifungals. Annales de biologie Clinique 2012; 70(6):635-42. DOI: 10.1684/abc.2012.0759.

[232] Karaca N et Koc AN. In vitro susceptibility testing of dermatophytes: comparison of disk diffusion and reference broth dilution methods. Diagnostic microbiology and infectious disease 2004 ; 48(4): 259-264. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2003.10.012

[233] Hnich H. La résistance bactérienne : mécanismes et méthodes de detection au laboratoire [thèse]. Maroc : Faculté de médecine et de pharmacie ; 2017.

[234] Muylaert A et Mainil J. Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». Ann. Méd. Vét. 2012 ; 156:109–123. Disponible sur : http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2012_156_2_04.pdf

[235] Grare M. De la genèse d'une nouvelle classe d'antibactériens à base de polyphénols cycliques de type calixarène. Etudes moléculaire(s), cellulaire(s), et structurale(s) en vue de

l'identification des cibles d'action : le cas du paraguanidinoéthylcalix [4] arène [thèse]. France : Université de Lorraine, Faculté de Pharmacie, U.F.R. Sciences et Techniques Biologiques ; 2009.

[236] Boulaghmen F, Chaouia C, Hazzit M, Nouas M, et Saidi F. Composition chimique et activité antimicrobienne d'huile essentielle extraite de Thymus guyonii de Noe d'Aflou-Algérie. Revue Agrobiologia 2018 ; 8(1):853-862. Disponible sur : http://agrobiologia.net/online/wp-content/uploads/2018/06/853-862-BOULAGHNEM_el_al_2-col.pdf

[237] Trpković A, Pekmezović M, Barać A, Crnčević Radović L, et Arsić Arsenijević V. In vitro antifungal activities of amphotericin B, 5-fluorocytosine, fluconazole and itraconazole against Cryptococcus neoformans isolated from cerebrospinal fluid and blood from patients in Serbia. Journal de Mycologie Médicale 2012; 22(3):243248. DOI : 10.1016/j.mycmed.2012.06.002

[238] Wu J, Ni T, Chai X, Wang T, Wang H, Chen J, et al. Molecular docking, design, synthesis and antifungal activity study of novel triazole derivatives. European journal of medicinal chemistry 2018; 143:1840-1846. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.10.081

[239] Keniya MV, Sabherwal M, Wilson RK, Woods MA, Sagatova AA, Tyndall JD, et al. Crystal structures of full-length lanosterol 14α-demethylases of prominent fungal pathogens Candida albicans and Candida glabrata provide tools for antifungal discovery. Antimicrobial agents and chemotherapy 2018; 62(11). DOI: 10.1128/AAC.01134-18.

[240] Vishvakarma VK, Shukla N, Kumari K, Patel R, et Singh P. A model to study the inhibition of nsP2B-nsP3 protease of dengue virus with imidazole, oxazole, triazole thiadiazole, and thiazolidine based scaffolds. Heliyon 2019; 5(8):e02124. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e02124

[241] Sabbagh G et Berakdar N. Docking studies of flavonoid compounds as inhibitors of β-ketoacyl acyl carrier protein synthase I (Kas I) of Escherichia coli. Journal of Molecular Graphics and Modelling 2015; 61:214-223. DOI: 10.1016/j.jmgm.2015.07.005

[242] Yang J-M et Chen C-C. GEMDOCK: A generic evolutionary method for molecular Docking. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics 2004; 55:288-304. Disponible sur : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/prot.20035

[243] Bouaziz-Terrachet S, Toumi-Maouche A, Maouche B, et Taïri-Kellou S. Modeling the binding modes of stilbene analogs to cyclooxygenase-2: a molecular docking study. Journal of Molecular Modeling 2010; 16(12):1919–1929. DOI:10.1007/s00894-010-0679-7

[244] Cheng F, Li W, Zhou Y, Shen J, Wu Z, Liu G, et Tang Y. admetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties. Journal of Chemical Information and Modeling 2012; 52(11):3099–3105. DOI: 10.1021/ci300367a

[245] Lagunin A, Filimonov D, Zakharov A, Xie W, Huang Y, Zhu F, et al. Computer-aided prediction of rodent carcinogenicity by PASS and CISOC-PSCT. QSAR & Combinatorial Science 2009; 28(8):806-810. DOI: 10.1002/qsar.200860192

[246] Castillo-Garit JA, Marrero-Ponce Y, Torrens F, et García-Domenech R. Estimation of ADME properties in drug discovery : predicting Caco-2 cell permeability using atom-based stochastic and non-stochastic linear indices. Journal of pharmaceutical sciences 2008; 97(5):1946-1976. DOI: 10.1002/jps.21122

[247] Liu R, Sun H, et So SS. Development of quantitative structure− property relationship models for early ADME evaluation in drug discovery. 2. Blood-brain barrier penetration. Journal of chemical information and computer sciences 2001; 41(6):1623-1632. DOI: 10.1021/ci010290i

[248] Klopman G, Stefan LR, et Saiakhov RD. ADME evaluation: 2. A computer model for the prediction of intestinal absorption in humans. European journal of pharmaceutical sciences 2002; 17(4-5):253-263. DOI: 10.1016/s0928-0987(02)00219-1

[249] Broccatelli F, Carosati E, Neri A, Frosini M, Goracci L, Oprea TI, et al. A novel approach for predicting P-glycoprotein (ABCB1) inhibition using molecular interaction fields. Journal of medicinal chemistry 2011; 54(6):1740-1751. DOI:10.1021/jm101421d

[250] Susnow RG et Dixon SL. Use of robust classification techniques for the prediction of human cytochrome P450 2D6 inhibition. Journal of chemical information and computer sciences 2003; 43(4):1308-1315. DOI: 10.1021/ci030283pS

[251] Stutz A, Georgopoulos A, Granitzer W, Petranyi G, et Berney D. Synthesis and structure-activity relationships of naftifine-related allylamine antimycotics. Journal of Medicinal Chemistry 1986; 29(1):112–125. DOI:10.1021/jm00151a019

[252] Aniyery RB, Sharma A, et Gupta A. Molecular docking studies and in silico pharmacokinetic property study of synthesized organotin complex of (1r, 2s, 5r)-2-isopropyl-5-methylcyclohexanol. Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences 2015; *4*:2656-2663. Disponible sur : https://www.semanticscholar.org/paper/Molecular-docking-studies-and-in-silico-property-of-Aniyery-Sharma/7ff15b9ea8110cb81711eb4a1e677baa65a9d6a2

[253] Setlur AS, Naik SY, et Skariyachan S. Herbal lead as ideal bioactive compounds against probable drug targets of Ebola virus in comparison with known chemical analogue: A computational drug discovery perspective. Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences 2017; 9(2):254-277. DOI: 10.1007/s12539-016-0149-8

[254] Iraji A, Firuzi O, Khoshneviszadeh M, Nadri H, Edraki N, et Miri R. Synthesis and structure-activity relationship study of multi-target triazine derivatives as innovative candidates for treatment of Alzheimer's disease. Bioorganic chemistry 2018; 77:223-235. DOI: 10.1016/j.bioorg.2018.01.017

[255] Pyrgos V, Mickiene D, Sein T, Cotton M, Fransesconi A, Mizrahi I, et al. Effects of Immunomodulatory and Organism-Associated Molecules on the Permeability of an in Vitro Blood-Brain Barrier Model to Amphotericin B and Fluconazole. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2009 ; 54(3):1305–1310. DOI :10.1128/aac.01263-09

[256] Nivoix Y, Levêque D, Herbrecht R, et Ubeaud-Séquier G. Traitement des infections fongiques invasives et superficielles. In Pharmacie Clinique et Thérapeutique. Elsevier Masson 5e édition; 2018. pp.893-924.

[257] Lynch T et Price AL. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. American family physician 2007; 76(3):391-396. Disponible sur: https://www.aafp.org/afp/2007/0801/p391

[258] Han S, Zhang Y, Chen Q, Duan Y, Zheng T, Hu X, et al. Fluconazole inhibits hERG K+ channel by direct block and disruption of protein trafficking. European Journal of Pharmacology 2001 ; 650(1):138–144. DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.10.010

[259] Faerber J. Microscopie électronique à balayage. Microanalyse X par sonde électronique. Institue de Physique et Chimie des Matériaux de Strasboug ; 2004. Disponible sur : http://www.ipcms.unistra.fr/wp-content/uploads/2014/06/memento_meb_eds.pdf

[260] Hahn-Deinstrop E. Applied Thin-Layer Chromatography. Best Practice and Avoidance of Mistakes, Second, revised and England edition. Wiley-VCH ; 2007. Disponible sur: http://library.lol/main/760f096babe7ef8cd87d0fdd98f2af40

[261] Ouizem S et Abegg D. Oxydation de la benzoine en benzile. Chimie Organique I ; 2008. Disponible sur : https://www.unige.ch/assoetud/aecb/rapports/2eme/chiorg/p39oxbenzoine_abeda.pdf

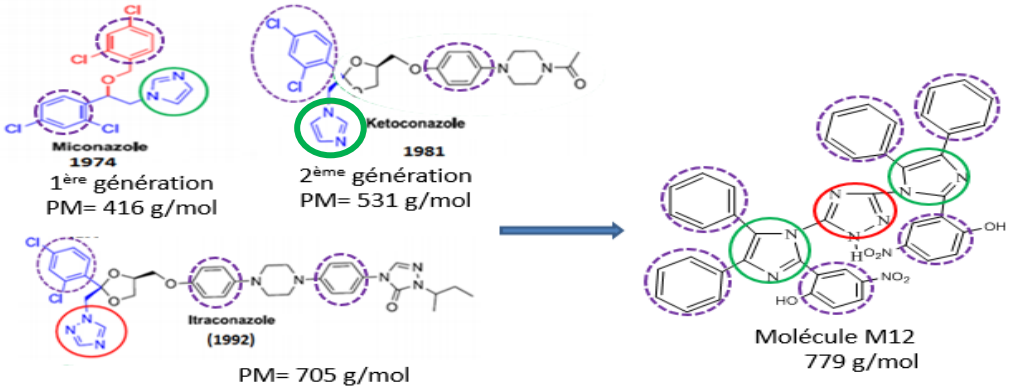
[262] Silverstein. Spectrometric Identification of Organic Compunds, 7e édition. Wiley; 2005. Disponible sur : http://library.lol/main/ba096b1bc67c6d39d9ca506c6c4c4fe2

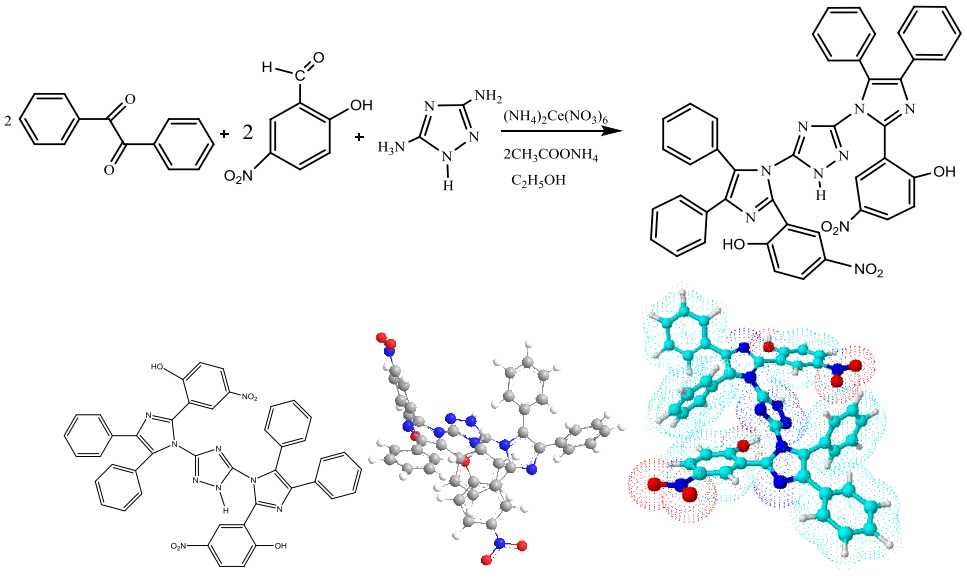
Conclusion et perspectives

Une série de dérivés du [3,5-di (4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1,2,4-triazole a été synthétisée par une réaction multi-composants en une seule étape, simple à réaliser expérimentalement et répondant à des contraintes environnementales et économiques telles que la réduction des étapes de synthèse, l'utilisation de catalyseur efficace, l'optimisation du milieu réactionnel, des réactifs et des procédés. La structure des composés synthétisés a été confirmée par UV-visible, IR, ^{1}H RMN et ^{13}C RMN et la phase cristalline déterminée par diffraction des rayons X. Nous avons étudié leur activité antimicrobienne. Les produits M2, M5, M6, M7, M8, M9, M11 et M13 ont montré des petits diamètres d'inhibition vis-à-vis du *Candida albicans*, et les composés M2, M5, M6, M8, M11 et M13 vis-à-vis du *Cryptococcus neoformans*. Le composé M12 a montré une bonne activité antibactérienne contre le *Staphylococcus aureus* et une bonne activité antifongique contre les levures testées, le *Microsporum gypseum* et *l'Aspergillus niger*. La diffraction des rayons X a montré que le composé actif M12 cristallise dans un système orthorhombique avec le groupe spatial "pccn", alors que les autres produits cristallisent dans un système monoclinique sauf la M9 (système orthorhombique). Le docking moléculaire des composés actifs in vitro, dans le site d'édition de la 14 alpha déméthylase du *Candida albicans*, a montré le score le plus élevé pour le composé M12, il a été prédit que ce dernier peut se lier librement en générant des liaisons hydrogènes, des liaisons de Van der Waals et des interactions électrostatiques avec l'enzyme, par conséquent, il peut être accepté comme ligand. Ainsi, une optimisation des nouveaux produits synthétisés uniquement orientée sur l'activité biologique peut donner des composés qui sont très efficaces comme ligands pour la cible visée, mais dont les propriétés ADME-Toxicité peuvent être inadéquates. Pour cela, une étude in silico ADMET a été effectuée pour l'ensemble des molécules synthétisée, elle a prédit un profil pharmacocinétique acceptable, une bonne absorption intestinale, un passage à travers la barrière hémato-encéphalique, une faible perméabilité dans les cellules d'adénocarcinome humain (Caco-2), cardiotoxicité très faible due à une faible inhibition du hERG I et l'ensemble des molécules sont non cancérigènes. Les résultats obtenus dans notre étude montrent l'intérêt d'associer certains hétérocycles, comme dans notre travail, deux imidazoles (caractéristiques des anciennes molécules antifongiques) et un triazole (nouveaux produits antifongiques) afin d'avoir de nouvelles substances avec une activité biologique optimale et qui peuvent constituer des candidats médicaments potentiels. A l'issu de notre travail, nous pouvons dire que la M12 est la molécule qui donné la meilleure activité in vitro avec le meilleur profil pharmacocinétique in silico, de ce fait nous proposons de :

- ✓ Poursuivre les études sur la molécule M12, afin d'étudier la possibilité d'utilisation, in vivo, comme antibactérien contre le *Staphylococcus aureus*, et comme antifongique contre les espèces sensibles ;
- ✓ Etudier l'activité antioxydante et antivirale par modélisation moléculaire ;
- ✓ Réaliser des modifications structurales sur la nouvelle série synthétisée afin d'améliorer la perméalité dans les cellules d'adénocarcinome humain (Caco-2), et d'élargir le spectre d'activité vers les souches qui se sont révélées résistantes (*E. coli*, *P. aeruginasa*, *A. flavus* et *M. canis*).

En lumière de notre travail, nous présentons ci-dessous un récapitulatif sous forme de résumé graphique de la caractérisation strucutrale, l'activité biologique et le docking moléculaire pour la molécule « M12 » qui a donné une excellente activité antibatérienne contre le *S.aureus*, et une excellente activité antifongique contre *C. albicans*, *Trichosporon sp.*, *C. neoformans* et *M. gypseum*, et une activité modérée contre *A. niger* ; un bon mode de liaison au niveau du cytochrome P450 14-alpha déméthylase ainsi qu'un bon profil pharmacocinétique in silico.





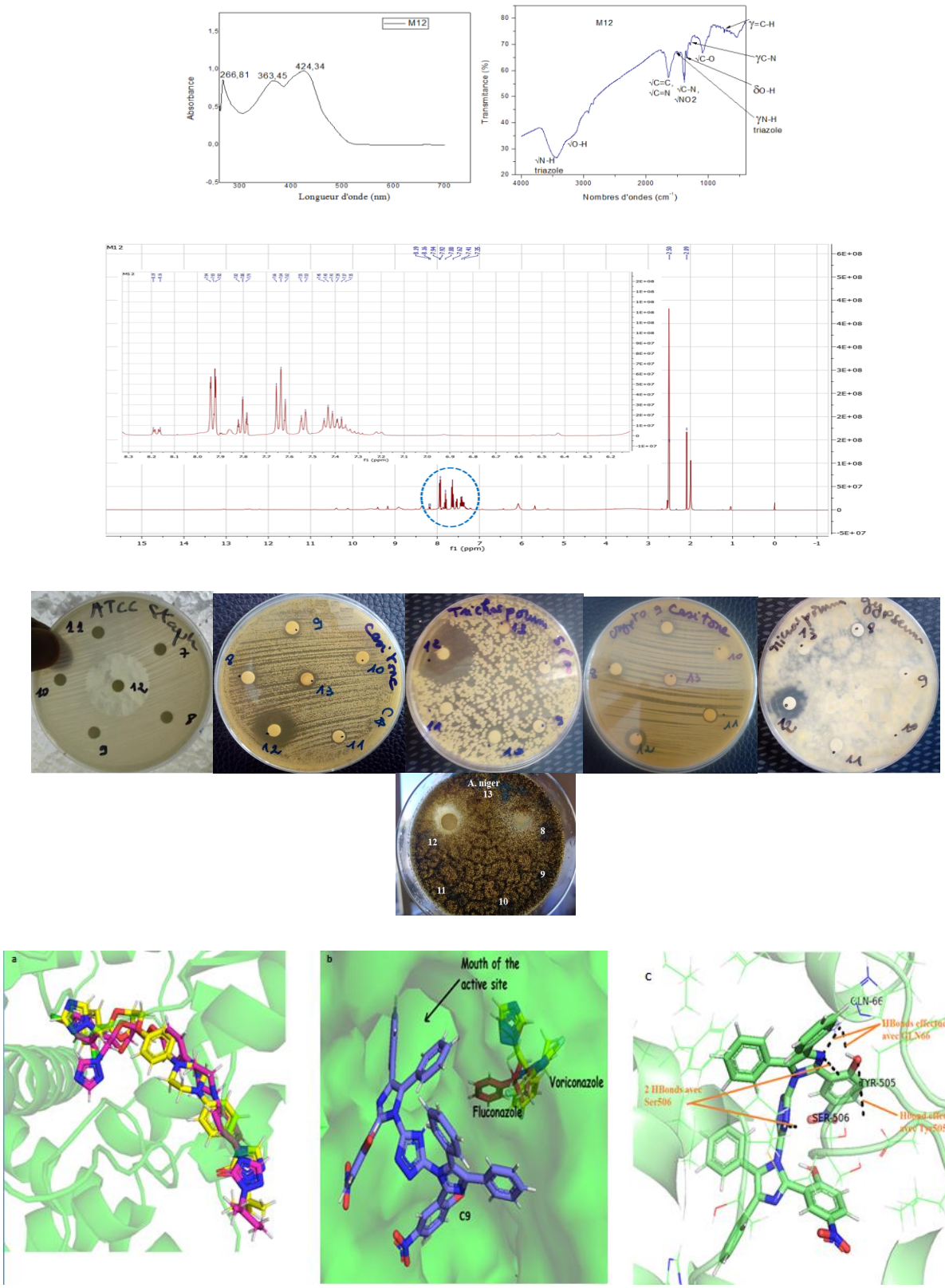


Figure 93: Résumé graphique de la M12 : 3,5-Di-[2'((2"-hydroxy-5"-nitro)-phenyl)-4',5'-di-phenyl-1'*H*-imidazol-1-yl]-1*H*-1,2,4-triazole.

ANNEXES I: Principe des techniques utilisées pour l'identification et la caractérisation des molécules synthétisées

Annexe I : Principe des techniques utilisées pour la caractérisation structurale et l'identification des molécules synthétisées.

- **Principe de fonctionnement du Microscope Electronique à Balayage (MEB)**

Le microscope électronique à balayage permet d'obtenir des images de surfaces de tous les matériaux solides, à des échelles pouvant aller de celle de la loupe (x10) à celle du microscope électronique en transmission (x500.000 ou plus). Une sonde électronique fine (faisceau d'électrons) est projetée sur composé à analyser. L'interaction entre la sonde électronique et le produit génère des électrons secondaires, de faible énergie qui sont accélérés vers un détecteur d'électrons secondaires qui amplifie ensuite ce signal. À chaque point d'impact correspond un signal électrique. L'intensité de ce dernier dépend de la nature de l'échantillon au point d'impact qui détermine le rendement en électrons secondaires et de la topographie du produit au point considéré. Il est donc possible, en balayant le faisceau sur l'échantillon, d'avoir une cartographie de la zone balayée [259].

- **Principe de la détermination du point de fusion (méthode par tubes capillaires)**

Le principe de fonctionnement de cet appareil est basé sur le fait que, à l'état cristallin, les composés réfléchissent la lumière reçue, alors qu'ils laissent cette dernière passer à l'état fondu. Il est donc possible de déterminer le point de fusion en se basant sur le comportement optique. Pendant la fusion, l'intensité lumineuse mesurée par une cellule photoélectrique augmente et le chauffage est arrêté quand la transparence de l'échantillon atteint un seuil donné. A ce moment, la température du four est retenue, corrigée et affichée comme la température de fusion réelle du composé analysé [215].

- **Principe de la chromatographie sur couche mince**

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile représentée par un solvant ou un mélange de solvants va progresser le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Une fois la plaque sur laquelle nous avons déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, par capillarité. Chaque constituant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et de sa solubilité dans la phase mobile. Les molécules se déplacent successivement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire est contrôlée par des phénomènes d'adsorption. En chromatographie sur couche

mince, les composés de faible polarité migrent plus rapidement que les produits polaires [212, 260].

- **Principe de la spectroscopie UV-VISIBLE**

Une transition UV-visible correspond à un saut d'un électron d'une première orbitale moléculaire fondamentale occupée à une deuxième orbitale moléculaire excitée vacante. La matière absorbe donc un photon dont l'énergie correspond à la différence d'énergie entre ces niveaux fondamental et excité. Les spectromètres UV/Visible permettent d'avoir le spectre des substances examinées sous la forme d'un tracé de la transmittance, ou de l'absorbance en fonction des longueurs d'onde marquées en abscisses [218]

L'absorption de la lumière est proportionnelle à la concentration du milieu absorbant et à l'épaisseur de la cuve où se trouve le milieu (loi de BEER- LAMBER).

-La transmittance (T) correspond à la mesure de l'atténuation d'un faisceau lumineux monochromatique basée sur la comparaison entre l'intensité lumineuse transmise (I) et celle incidente (I_0) selon que le produit est placé ou non sur le trajet optique entre la source et le détecteur.

T peut être exprimé sous forme de pourcentage ou par un nombre fractionnaire :

$T = I/I_0$ ou $T\% = I/I_0 \times 100$

L'absorbance est définie par : $A = \varepsilon.l.C = \log I_0/I = -\log T$

A : absorbance
l : représente la longueur de la cuve traversé (cm)
C : représente la concentration (mole. litre^{-1})
ε : représente la coefficient d'absorption molaire (mole^{-1}.cm^{-1} .litre)

- **Principe de la spectroscopie infra rouge (IR)**

Le domaine infrarouge s'étale de 0,8 µm à 1000 µm. Il est scindé en trois catégories : le proche infrarouge (0,8 à 2,5 µm soit 12500-4000 cm-1) suivi du moyen infrarouge (2,5 à 25 µm soit 4000-400 cm-1) et enfin lointain infrarouge (25 à 1000 µm soit 400-10 cm-1). La spectrométrie infrarouge consiste en la mesure de la diminution de l'intensité du rayonnement qui traverse un échantillon en fonction de la longueur d'onde. Ce rayonnement possède suffisamment d'énergie pour stimuler les vibrations moléculaires à des niveaux d'énergie plus élevés. En pratique, un faisceau de lumière IR traverse le composé à analyser et la lumière transmise par la cellule qui le contient est dispersée par un réseau ou un prisme qui représente

l'élément essentiel du monochromateur. Par la suite, un détecteur va transformer le rayonnement résultant en un signal électrique, ce dernier sera amplifié à l'aide d'un amplificateur. L'échelle de la transmittance, en ordonnée, est le plus souvent linéaire. Le nombre d'onde exprimé en cm^{-1} est représenté en abscisse selon une échelle, elle aussi linéaire. La plupart des appareils actuels sont contrôlés à l'aide d'un ordinateur dont le logiciel polyvalent permet une représentation variée des résultats, comme la transmittance en fonction de la longueur d'onde ou l'absorbance en fonction du nombre d'onde [218].

En spectroscopie infra rouge, l'absorbance (A) est définie comme le logarithme décimal de l'inverse de la transmittance (T) :

$$A = \log_{10}\left(\frac{1}{T}\right) = \log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

$$T = \frac{I}{I_0}$$

I : intensité du rayonnement incident.

I : intensité du rayonnement transmit.

- **Principe de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)**

Les noyaux de certains types d'atome se comportent comme de petits aimants, et s'orientent lorsqu'ils sont placés dans un champ magnétique. Un noyau atomique dont le spin est aligné dans la direction du champ aura une moindre énergie que lorsque son spin est aligné dans la direction opposée au champ. La RMN consiste à faire passer le noyau d'un niveau d'énergie à un autre, (ce qui revient à « retourner » le spin) par absorption d'un photon : lorsque l'énergie du photon (et donc la fréquence de l'onde électromagnétique) permet cette transition, il y a résonance. La relation mathématique existant entre le champ magnétique imposé de norme $\mathbf{B_0}$ et la fréquence de résonance (retournement de spin) $\mathbf{\nu_0}$ est [217] :

γ : rapport gyromagnétique caractéristique de chaque noyau étudié.

Le champ appliqué engendre de la part des électrons entourant le noyau, un champ induit B_i qui s'oppose au champ appliqué. À l'échelle macroscopique cela revient à dire que les électrons forment un écran autour du proton. Plus le noyau est blindé, plus le champ appliqué pour induire la résonance B_e est grand et le déplacement chimique petit.

$$\boldsymbol{\delta\ (ppm) \approx (\sigma_R - \sigma)10^6}$$

δ : déplacement chimique en partie par million (ppm).

σ_R : constante d'écran des protons dans la substance de référence tétraméthylsilane (TMS)

σ : constante d'écran des protons dans la substance étudiée.

Le champ ressenti au niveau du proton vaut toujours B_o mais il peut maintenant s'écrire comme la somme du champ externe appliqué et du champ induit par la circulation électronique autour du noyau.

- **Diffraction des rayons X**

La diffraction des rayons X sur monocristal nous permet d'étudier les structures cristallines. La diffraction sur poudres est utilisée pour identifier les phases. C'est une méthode non destructive utilisée pour l'analyse qualitative et quantitative d'échantillons polycristallins. Cette méthode est basée sur les interactions de la structure cristalline d'un échantillon avec des radiations ayant une courte longueur d'onde. Lorsque ces rayons X vont atteindre les plans réticulaires des réseaux cristallins, ils vont soit entrer en contact avec les nuages électroniques des atomes constituant ce plan, soit ils ne vont rencontrer aucun obstacle et donc, ils peuvent continuer jusqu'au plan suivant. Ces plans sont séparés par des distances particulières qui dépendent de la nature du matériau analysé (distances réticulaires). Les interférences des rayons vont être successivement constructives ou destructives. Selon la direction de l'espace, le flux des photons sera plus ou moins important : ces variations en fonction des directions forment le phénomène de diffraction X [219].

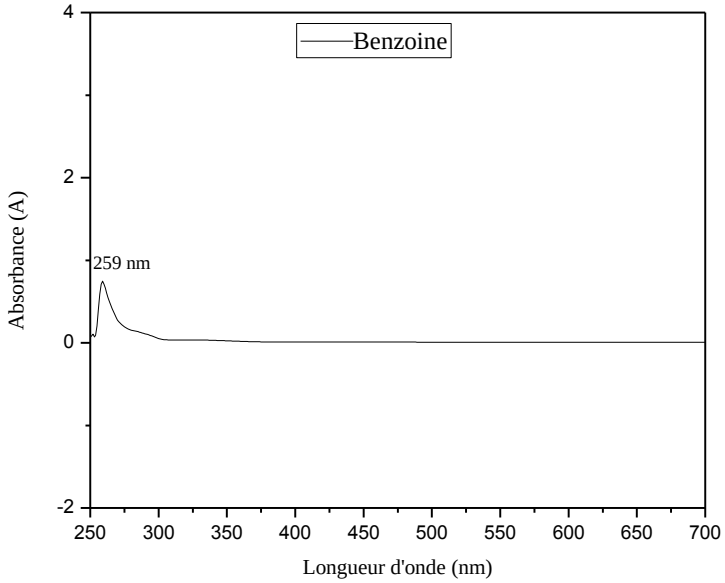
Les directions dans lesquelles les interférences vont êtres constructives, sont appelées pics de diffraction, ils peuvent être déterminées par la loi de Bragg :

$$2d \sin \theta = n \lambda$$

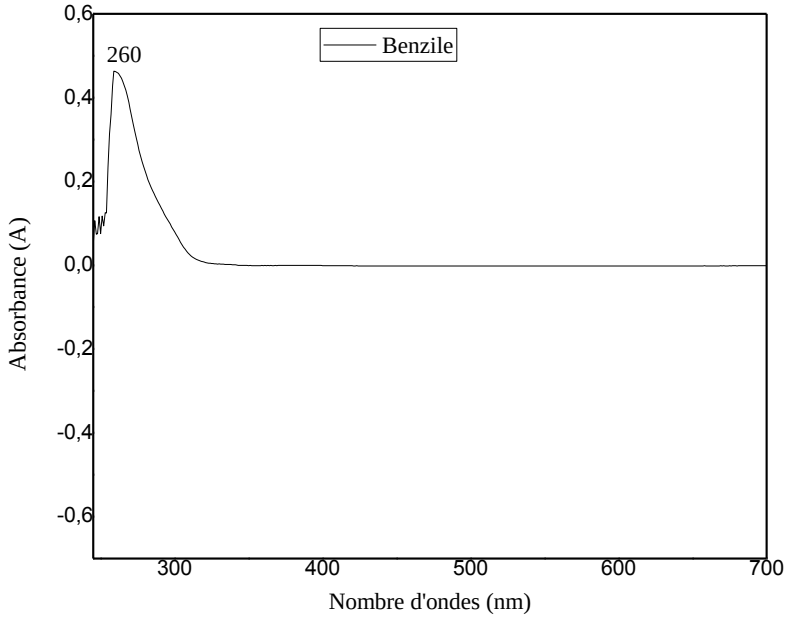
Où d est la distance inter réticulaire, θ est l'angle d'incidence des rayons X, n est un entier et λ est la longueur d'onde des rayons X.

ANNEXES II: Résultats UV-visible

Annexe II : Spectres UV-visible

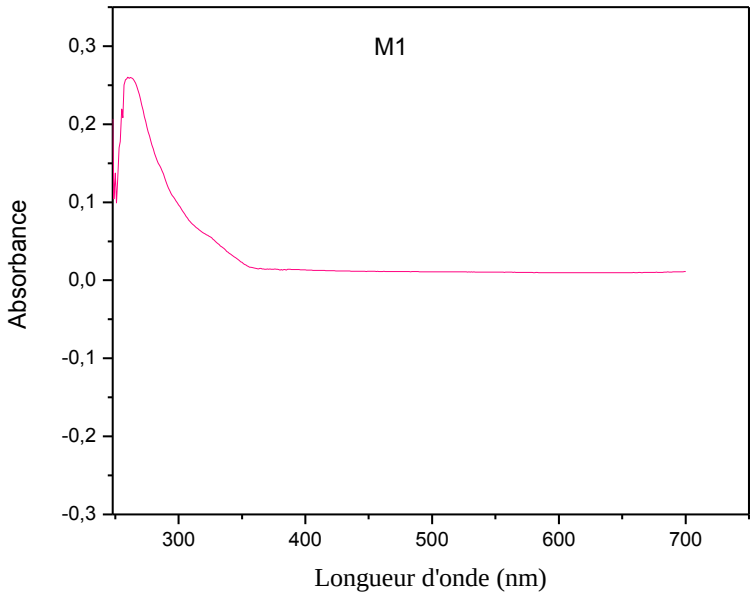


Spectre d'absorption dans l'UV-visible de la benzoine.

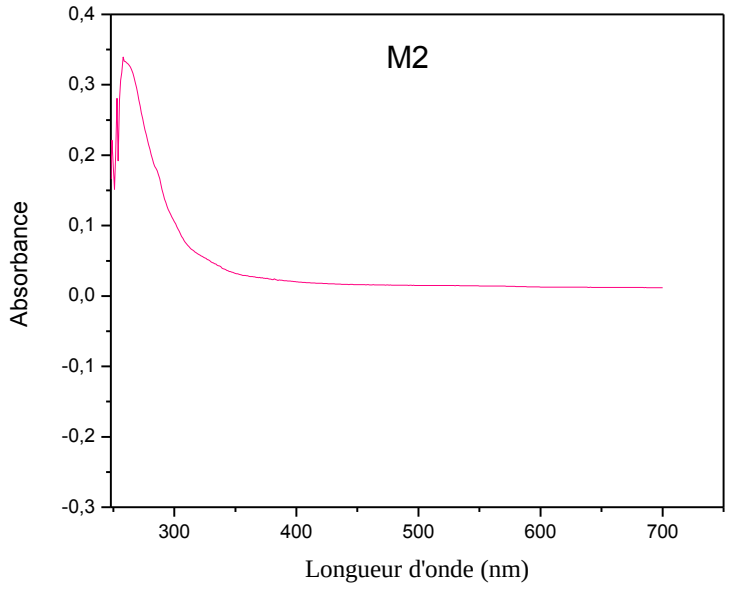


Spectre d'absorption dans l'UV-visible du benzile.

Annexe II : Spectres UV-visible

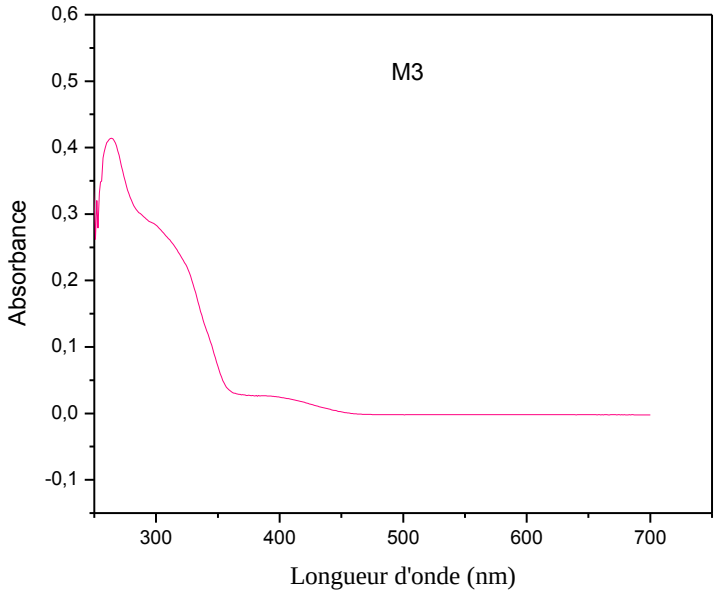


Spectre d'absorption dans l'UV-visible de M1.

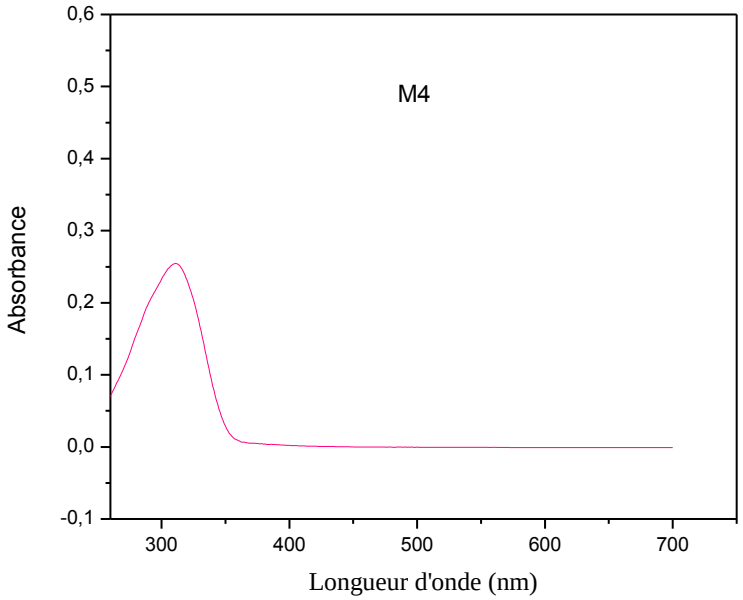


Spectre d'absorption dans l'UV-visible de M2.

Annexe II : Spectres UV-visible

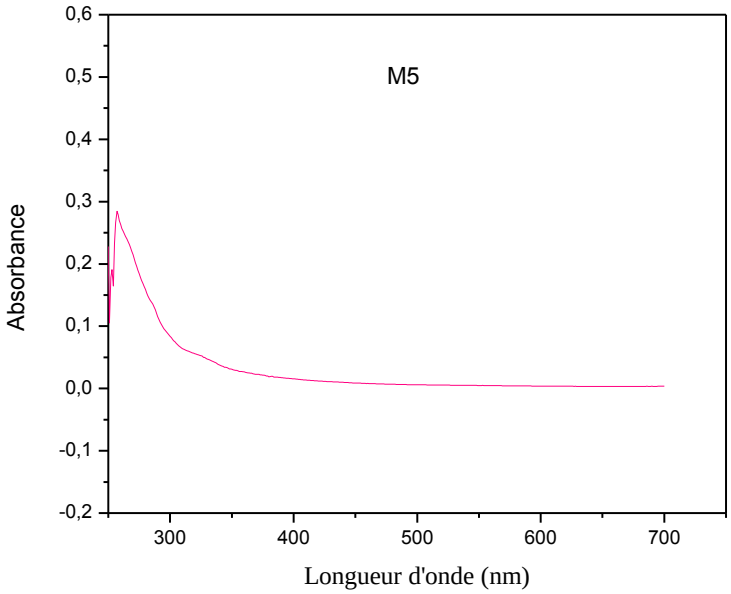


Spectre d'absorption dans l'UV-visible de M3.

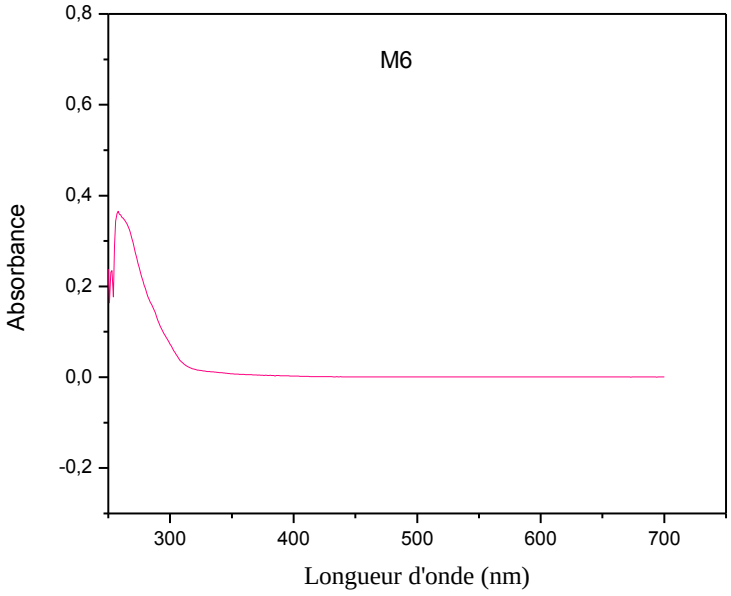


Spectre d'absorption dans l'UV-visible de M4.

Annexe II : Spectres UV-visible

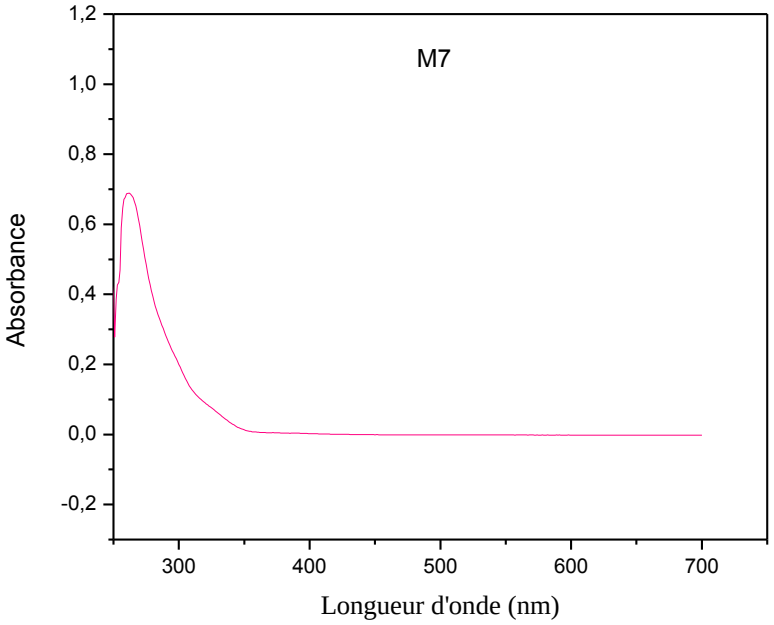


Spectre d'absorption dans l'UV-visible de M5.

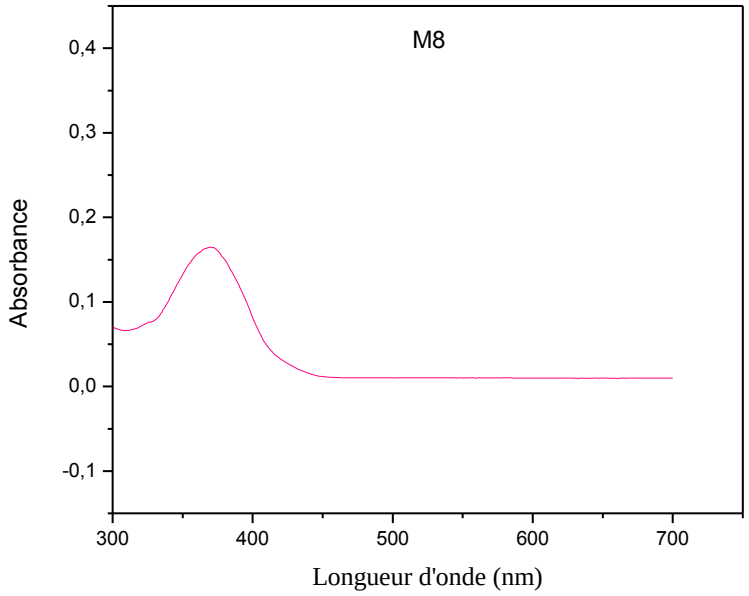


Spectre d'absorption dans l'UV-visible de M6.

Annexe II : Spectres UV-visible

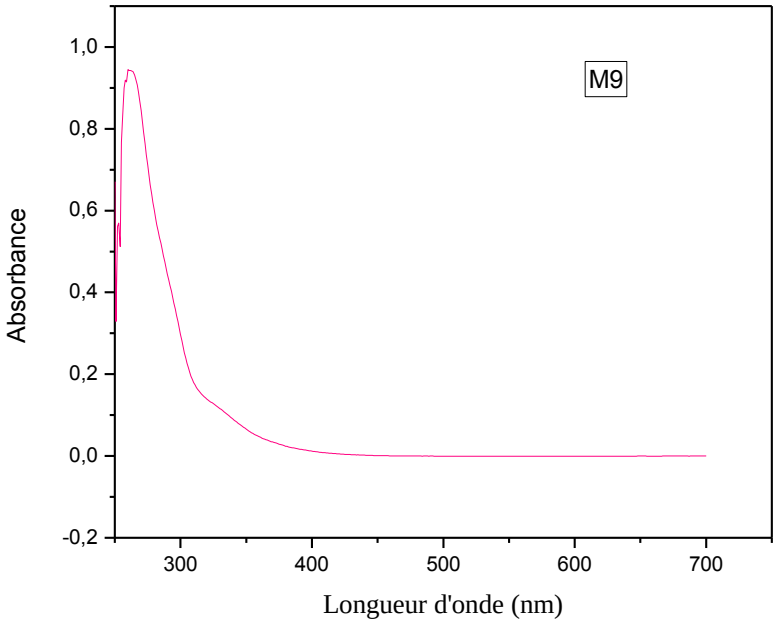


Spectre d'absorption dans l'UV-visible de M7.

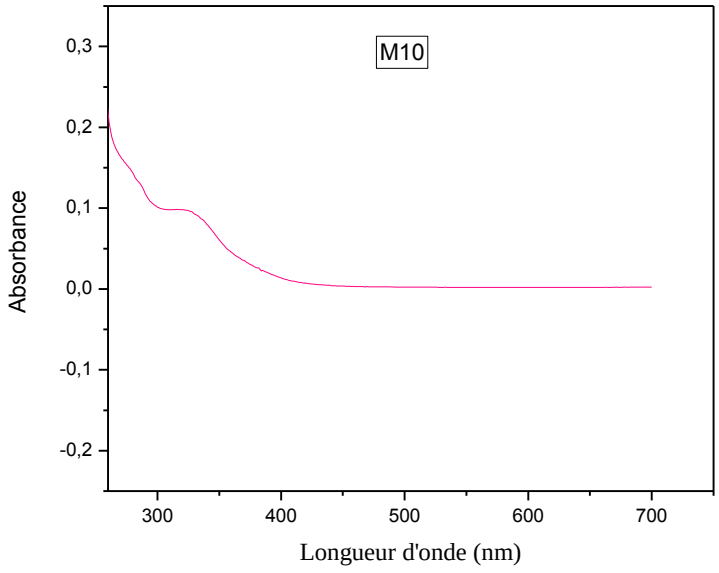


Spectre d'absorption dans l'UV-visible de M8.

Annexe II : Spectres UV-visible

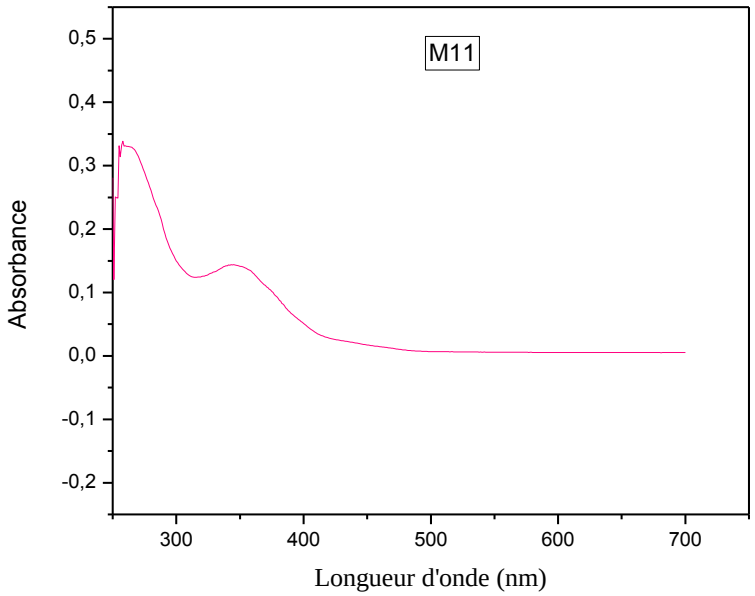


Spectre d'absorption dans l'UV-visible de M9.

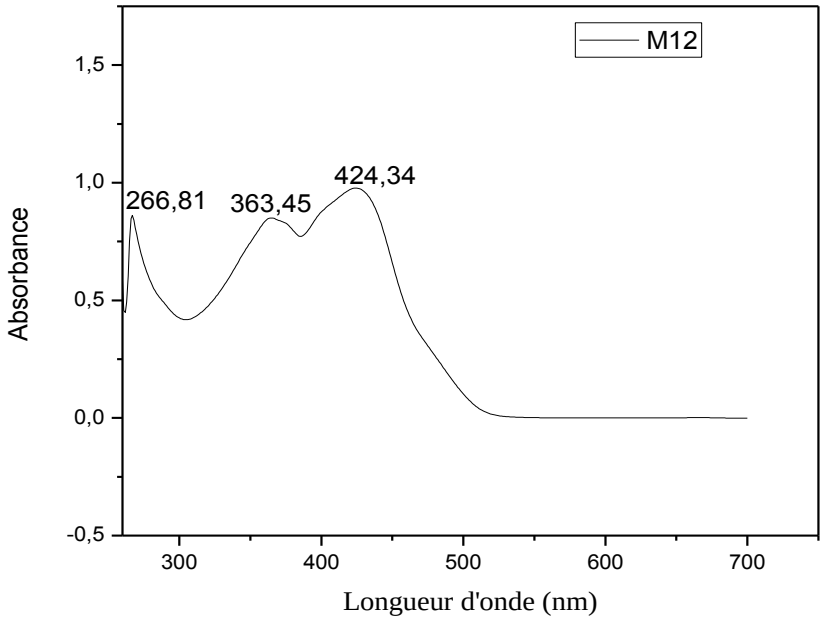


Spectre d'absorption dans l'UV-visible de M10.

Annexe II : Spectres UV-visible

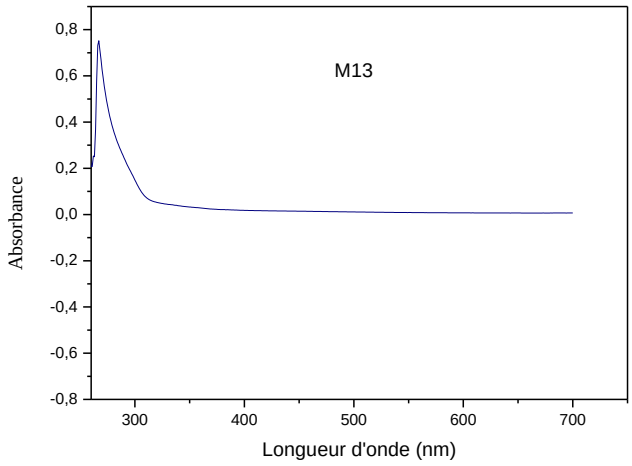


Spectre d'absorption dans l'UV-visible de M11.



Spectre d'absorption dans l'UV-visible pour la molécule M12.

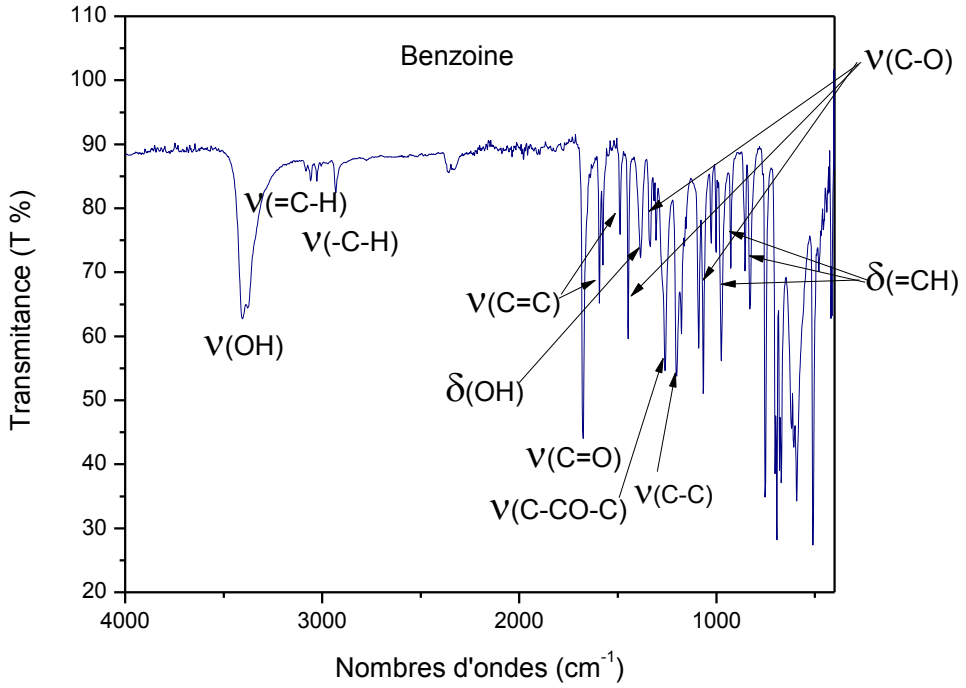
Annexe II : Spectres UV-visible



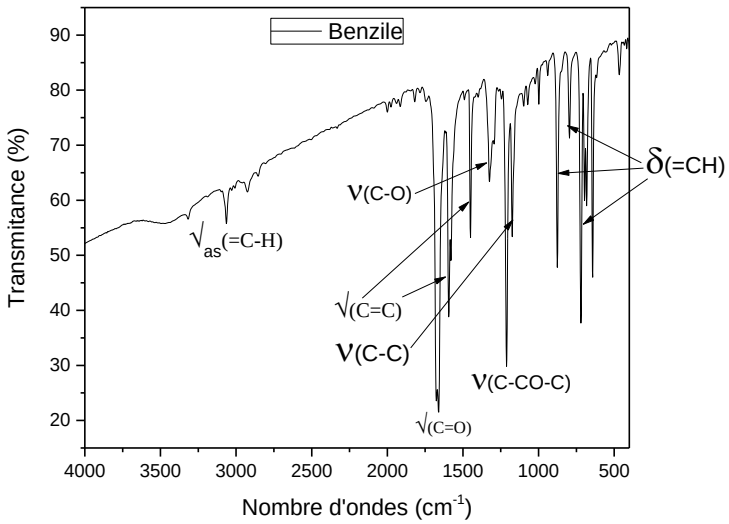
Spectre d’absorption dans l’UV-visible de M13.

ANNEXES III: Résultats IR

Annexe III : Spectres IR

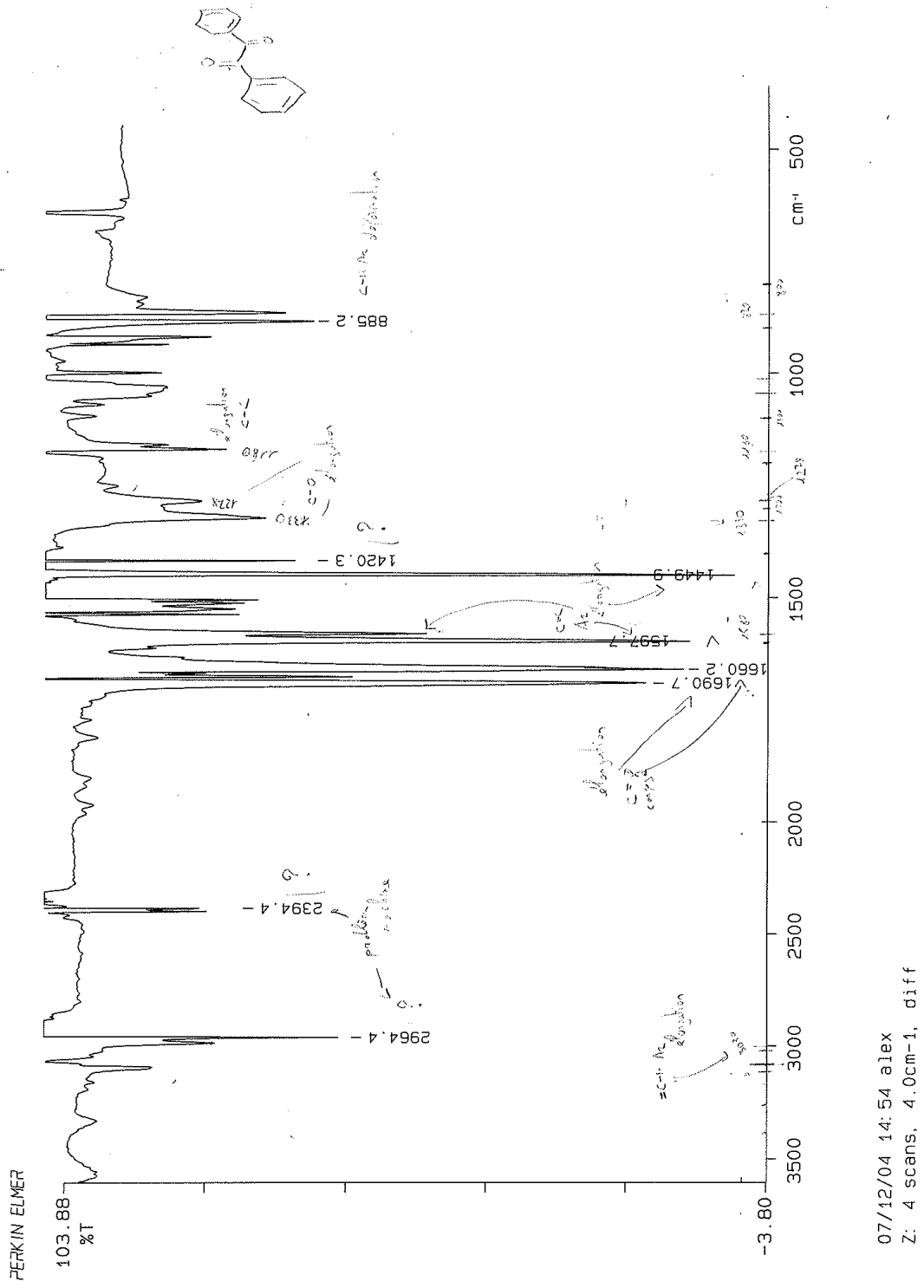


Spectre infrarouge de la benzoïne.



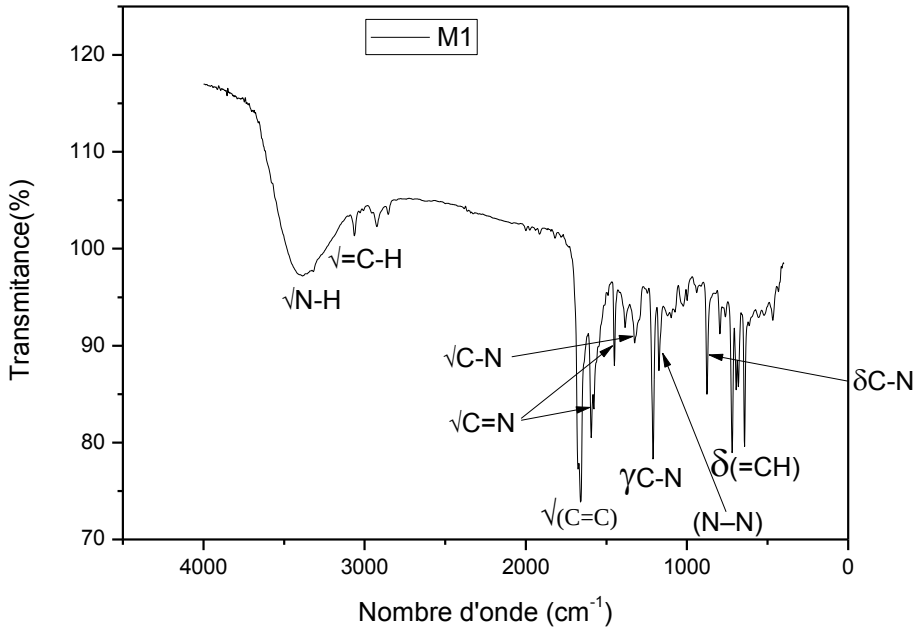
Spectre infrarouge du benzile.

Annexe III : Spectres IR

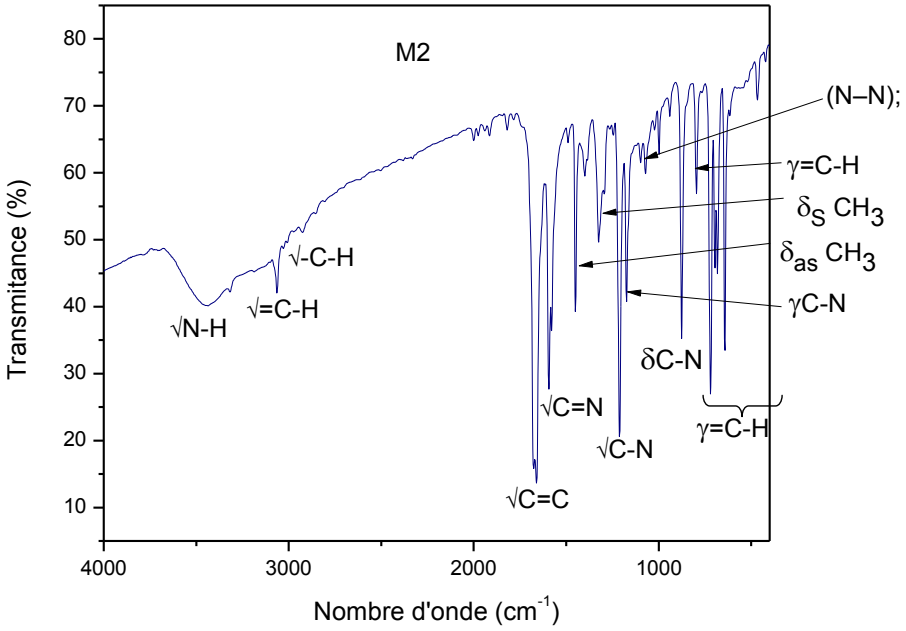


Spectre infrarouge de comparaison du benzile [261].

Annexe III : Spectres IR

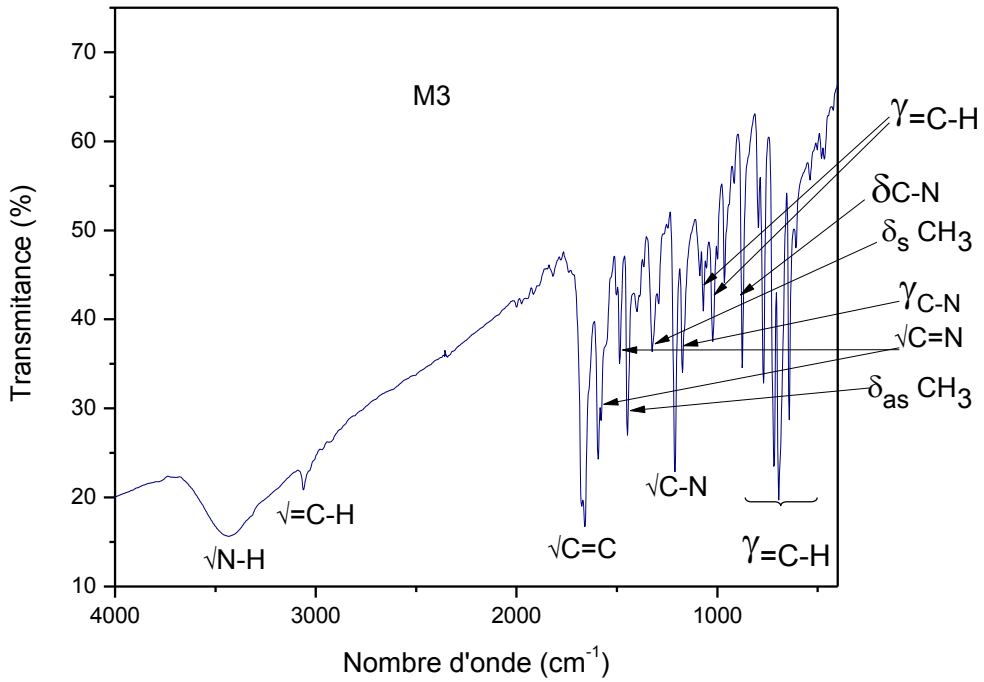


Spectre infrarouge de M1.

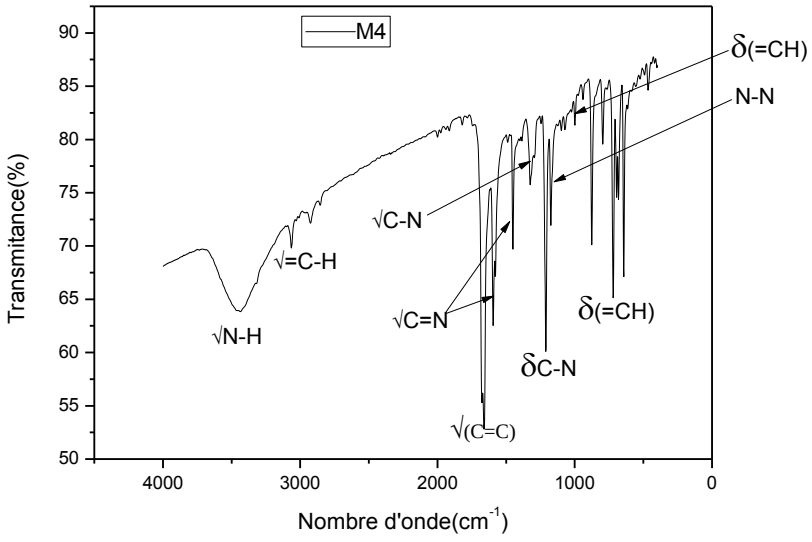


Spectre infrarouge de M2.

Annexe III : Spectres IR

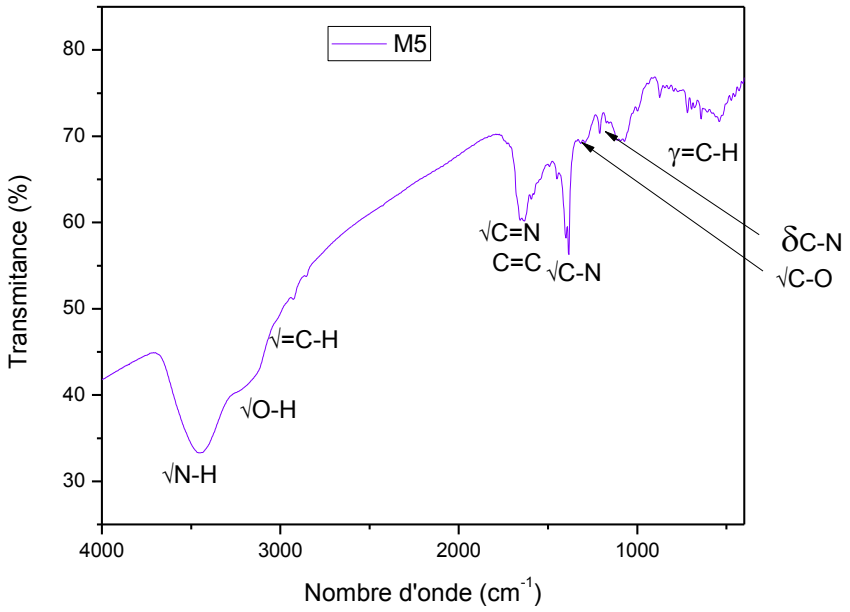


Spectre infrarouge de M3.

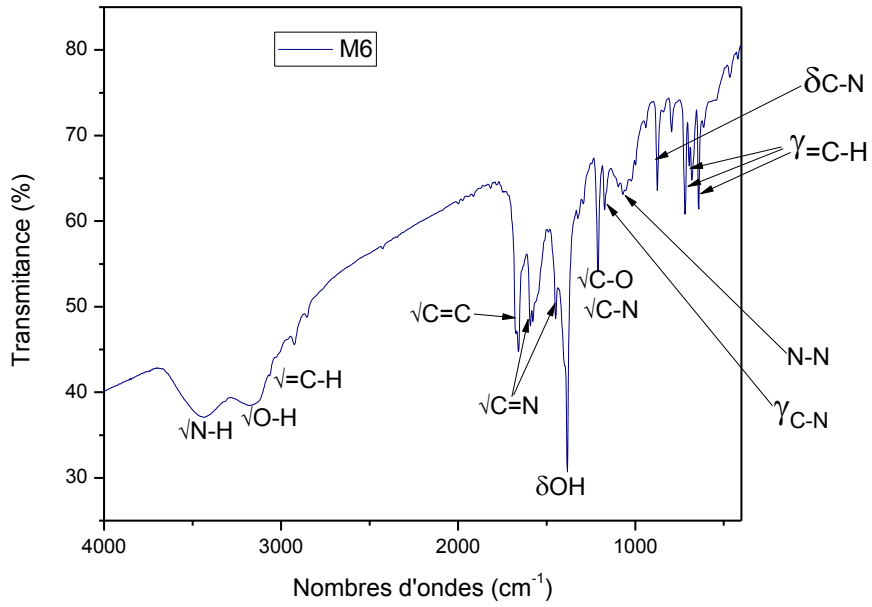


Spectre infrarouge de M4.

Annexe III : Spectres IR

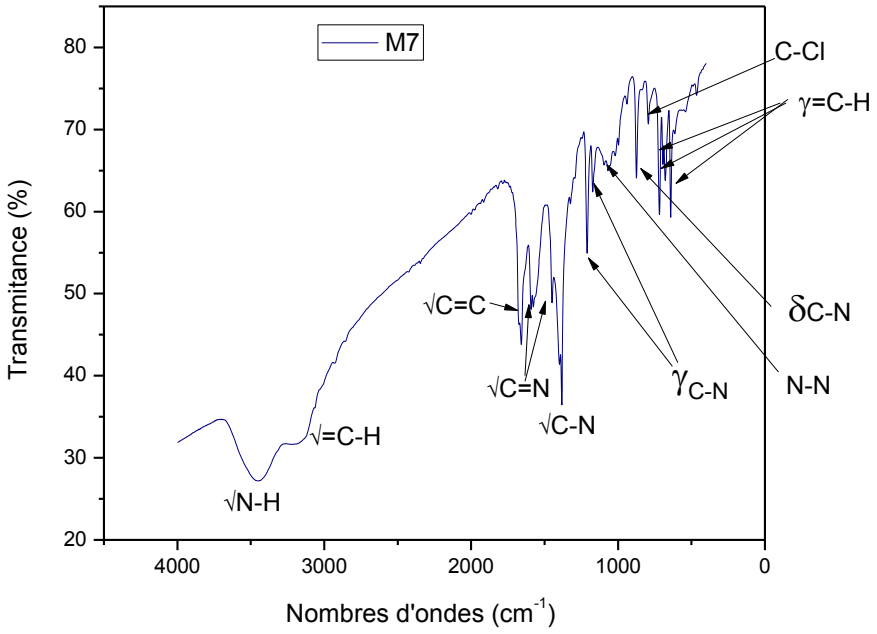


Spectre infrarouge de M5.

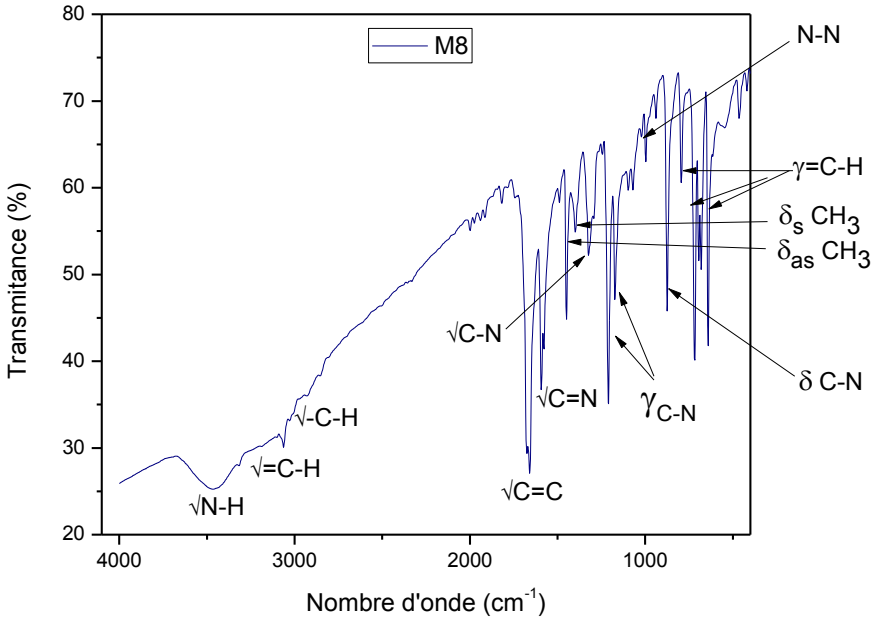


Spectre infrarouge de M6.

Annexe III : Spectres IR

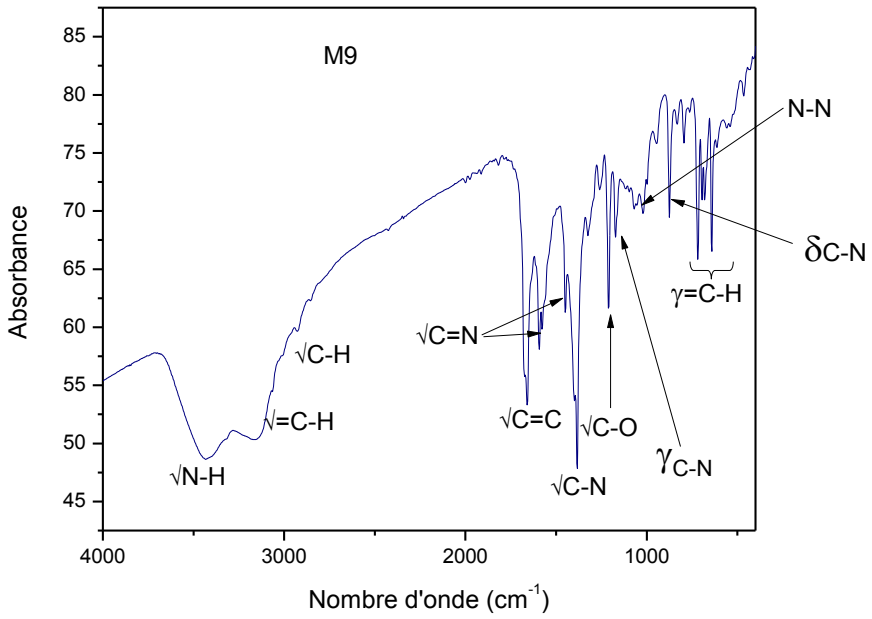


Spectre infrarouge de M7.

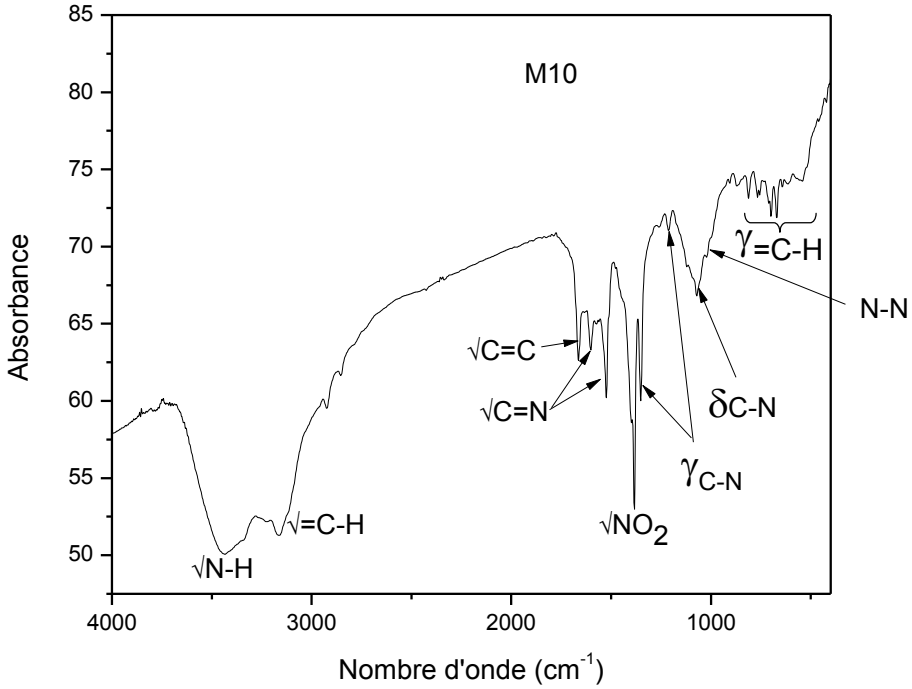


Spectre infrarouge de M8.

Annexe III : Spectres IR

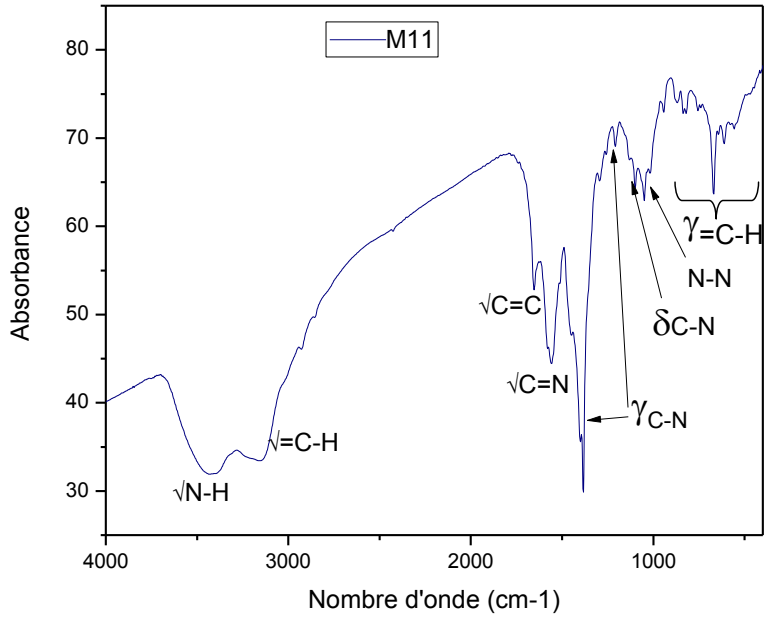


Spectre infrarouge de M9.

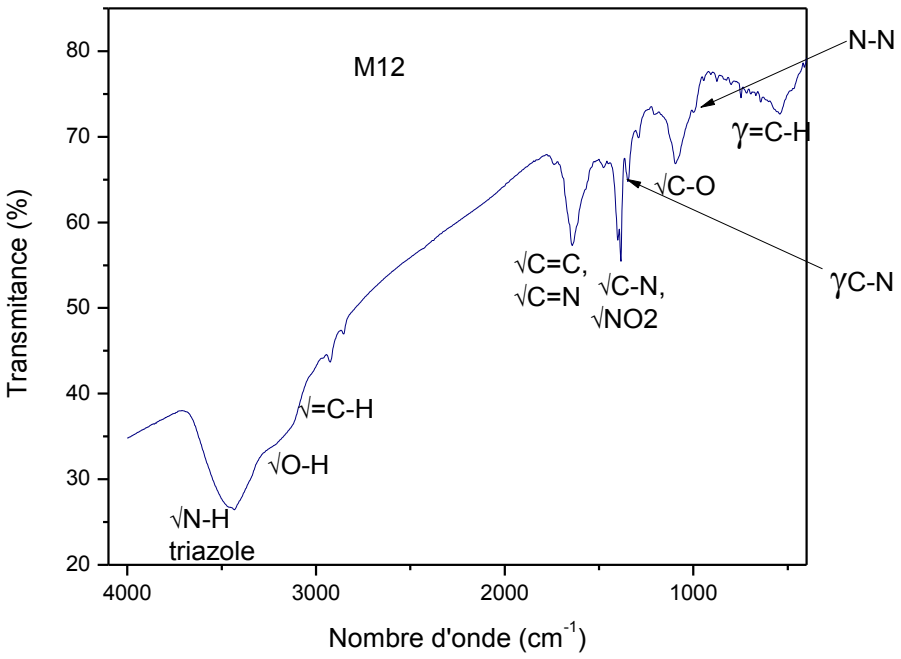


Spectre infrarouge de M10.

Annexe III : Spectres IR

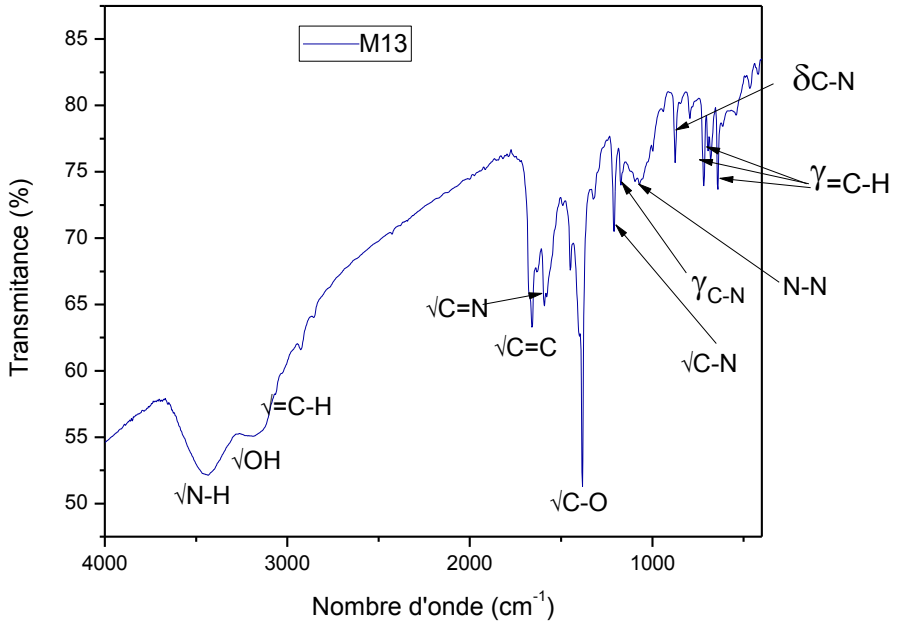


Spectre infrarouge de M11.

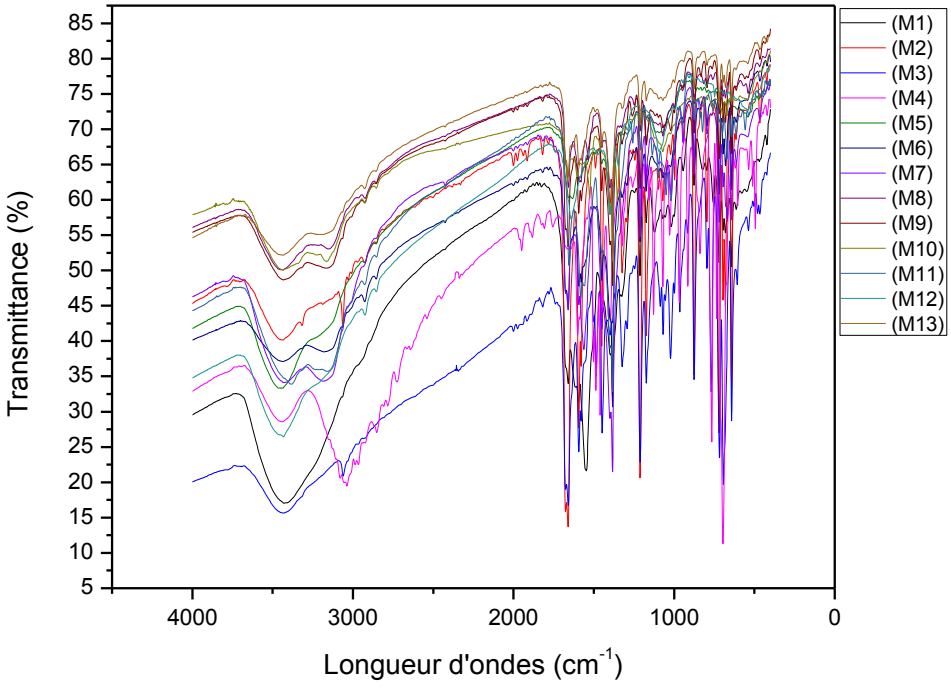


Spectre infrarouge de M12.

Annexe III : Spectres IR



Spectre infrarouge de M13.



Superposition des spectres IR (M1-M13).

ANNEXES IV: Table d'interprétation IR

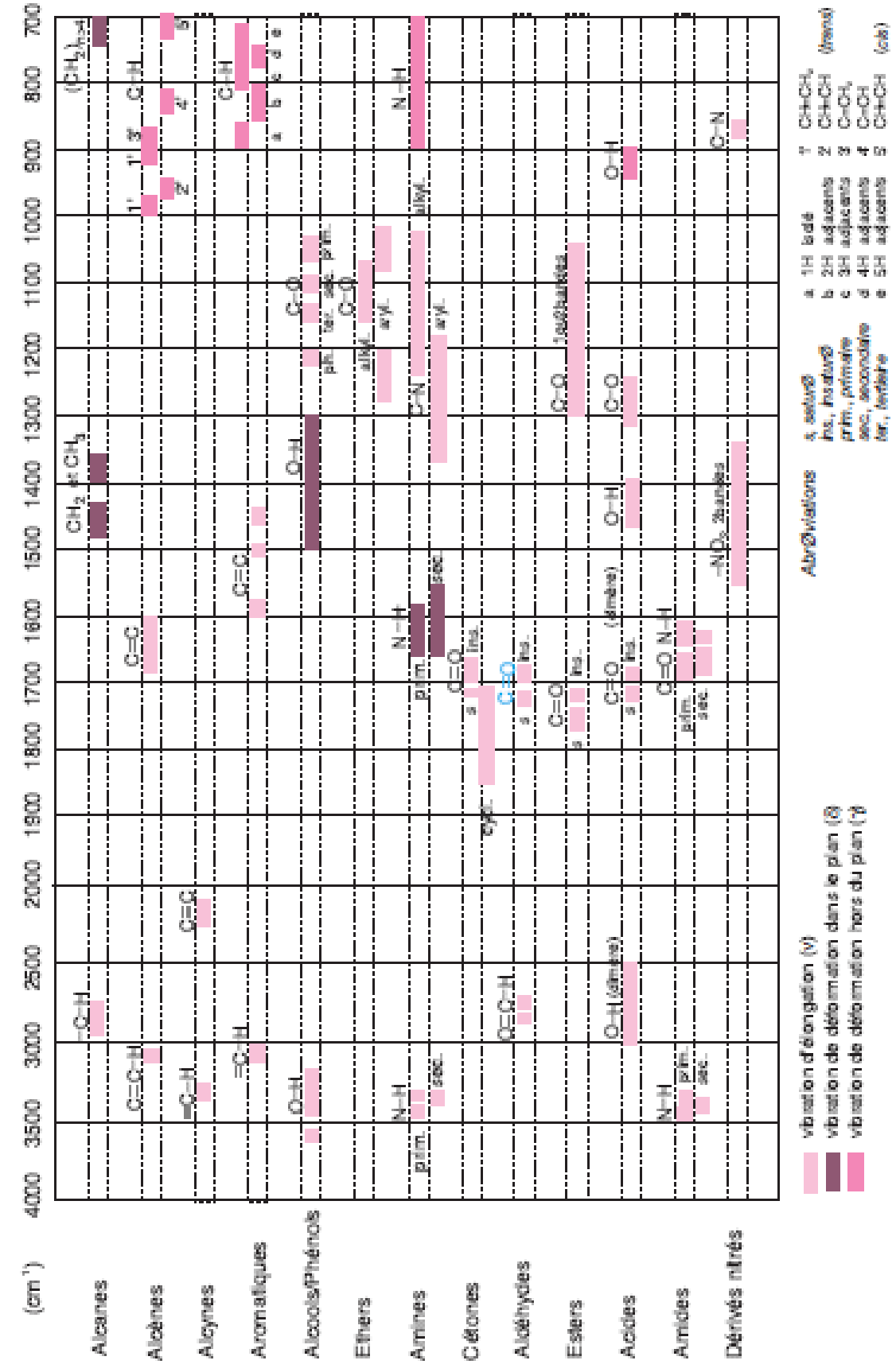
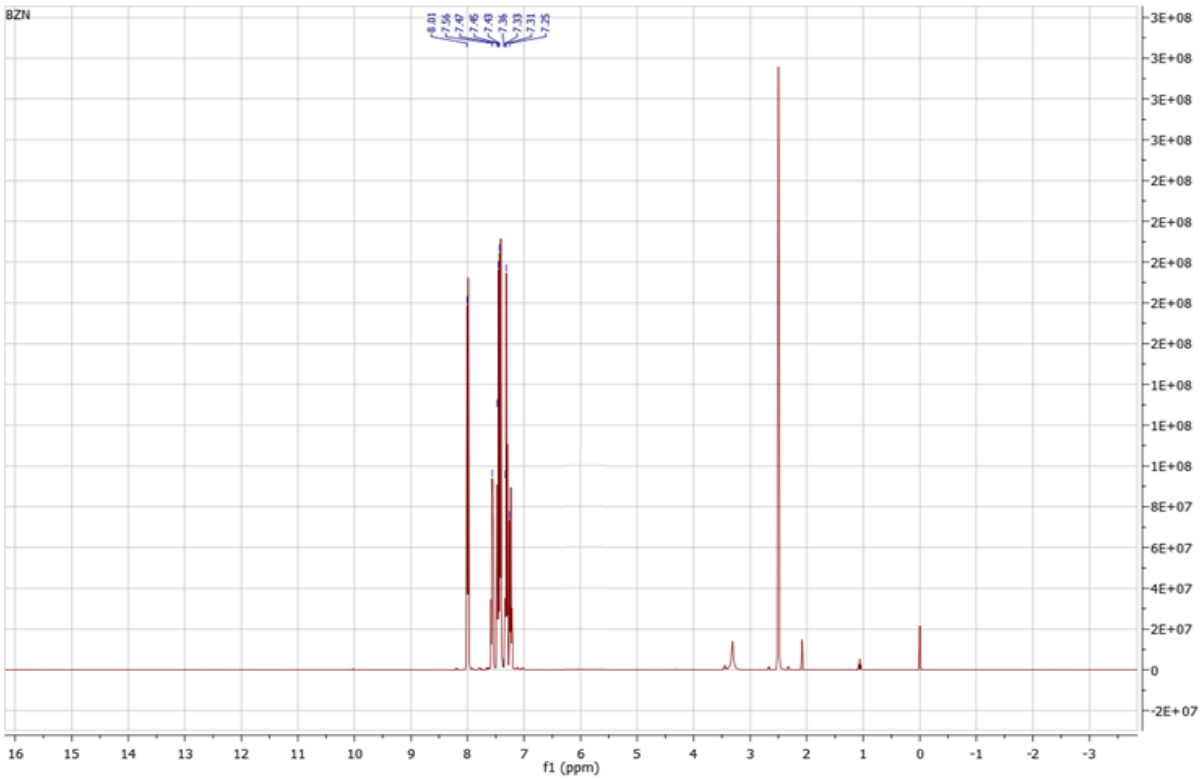


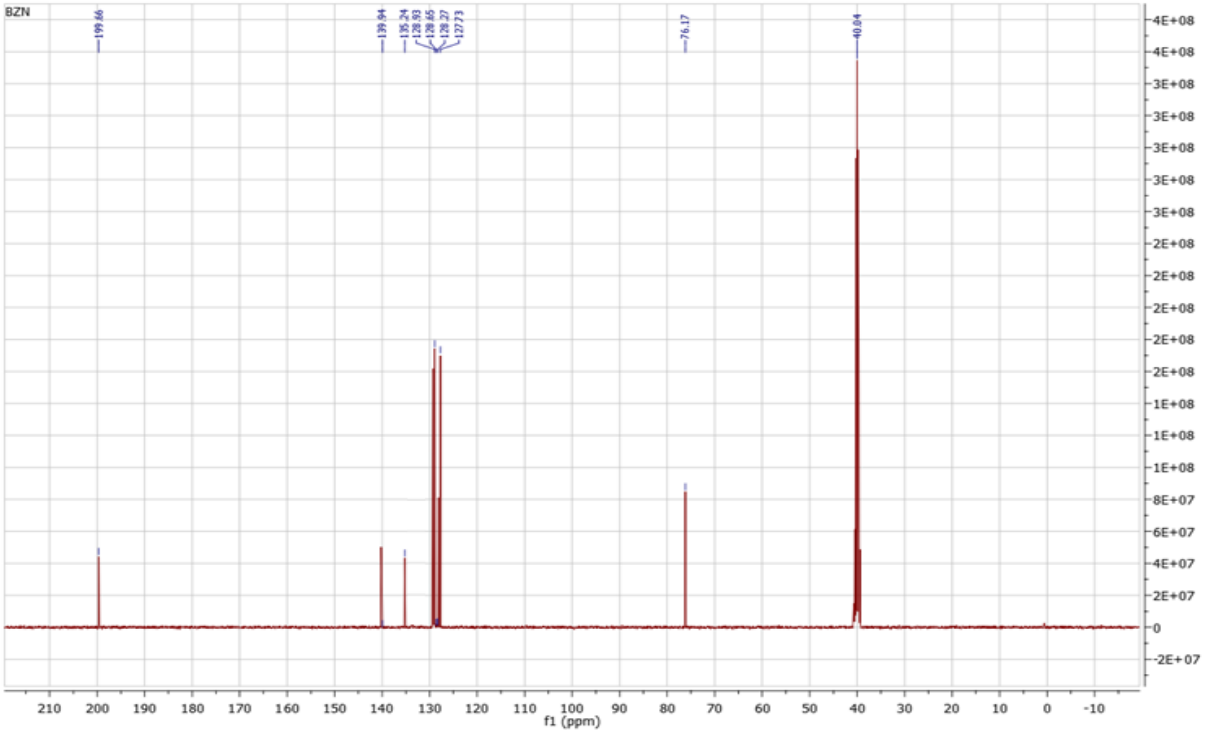
Table d'interprétaion IR [217].

ANNEXE V: Résultats RMN

Annexe V : Résultats RMN

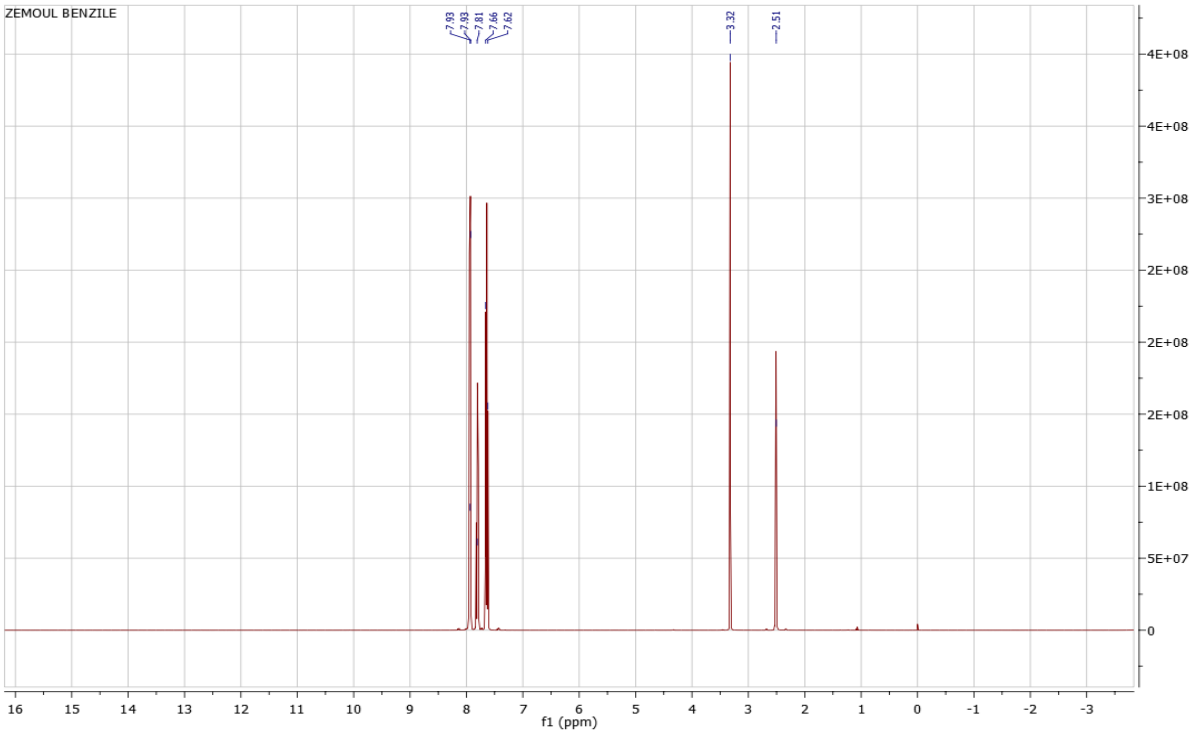


Spectre ^{1}H RMN de la benzoïne.

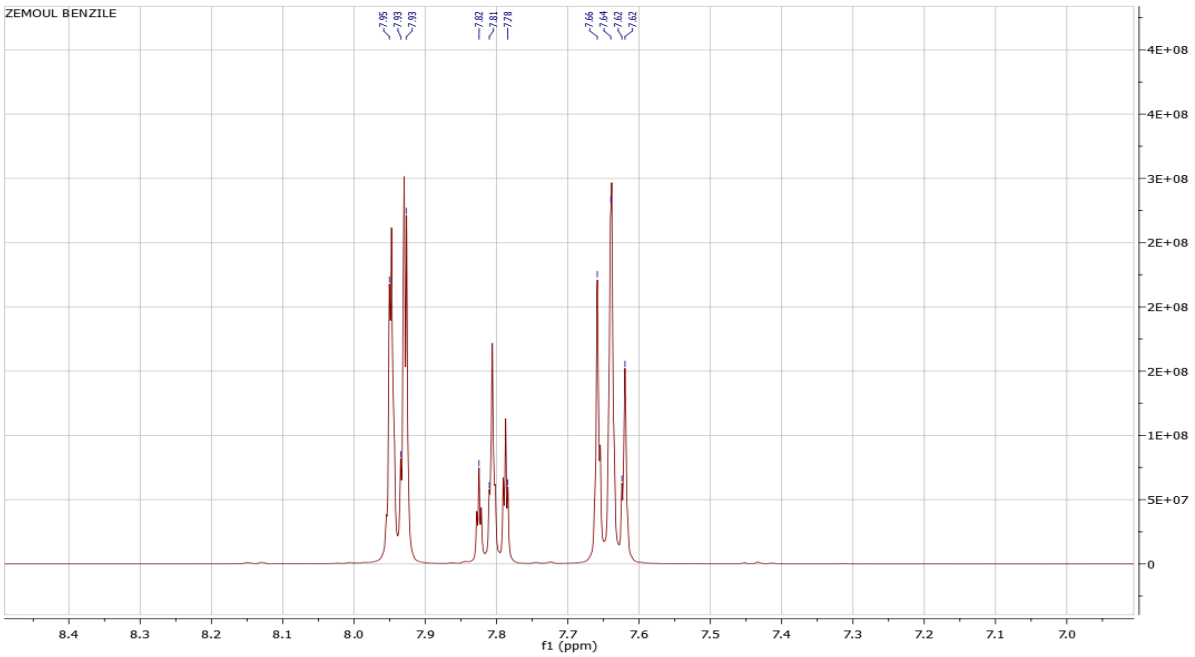


Spectre ^{13}C RMN de la benzoïne.

Annexe V : Résultats RMN

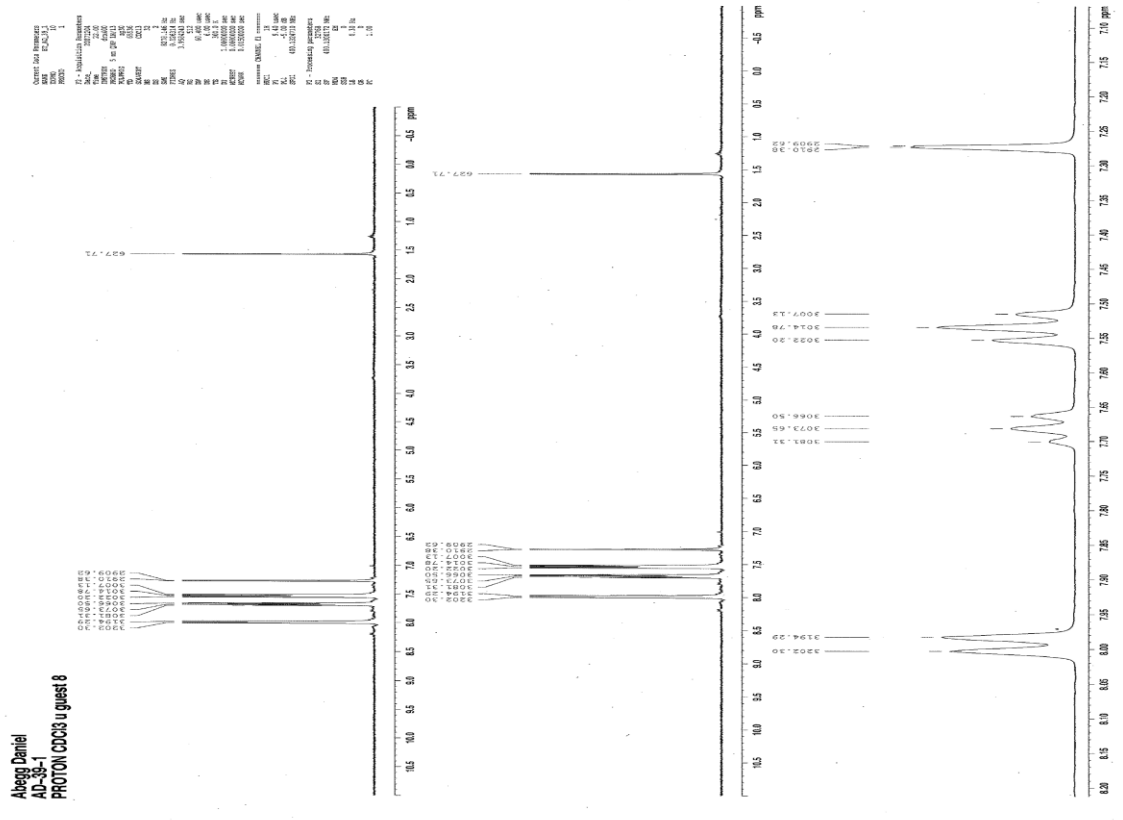


Spectre ^{1}H RMN du benzile.

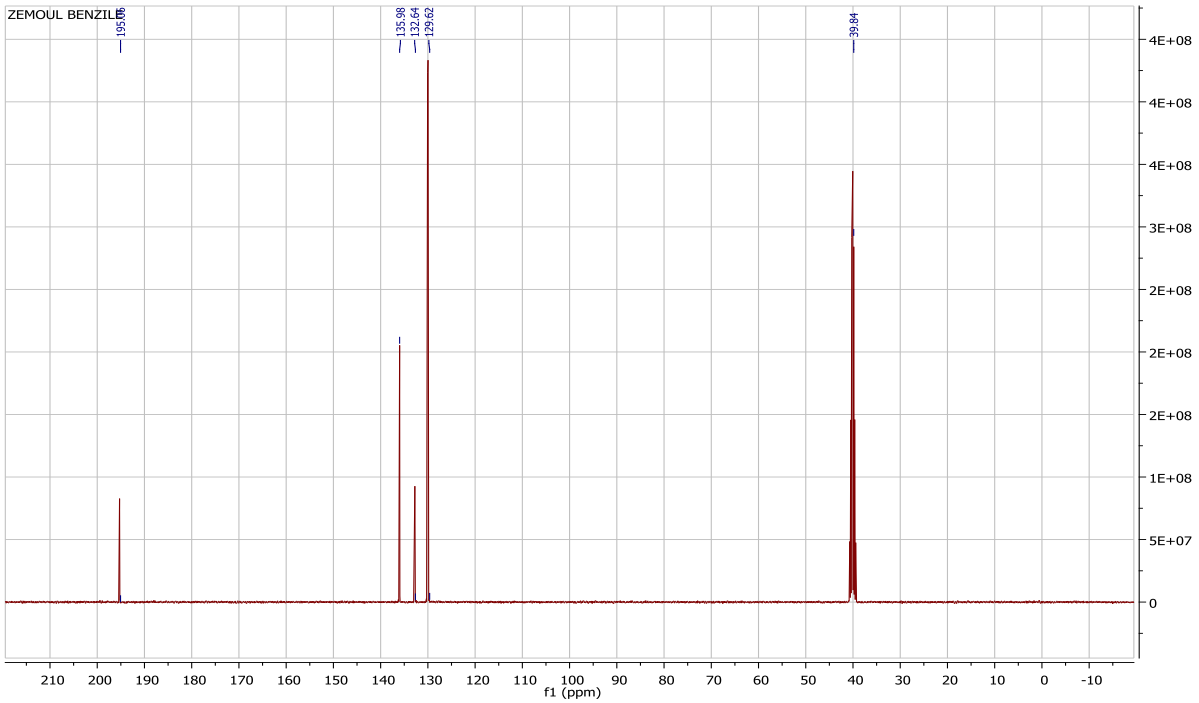


Spectre ^{1}H RMN du benzile zoomé.

Annexe V : Résultats RMN



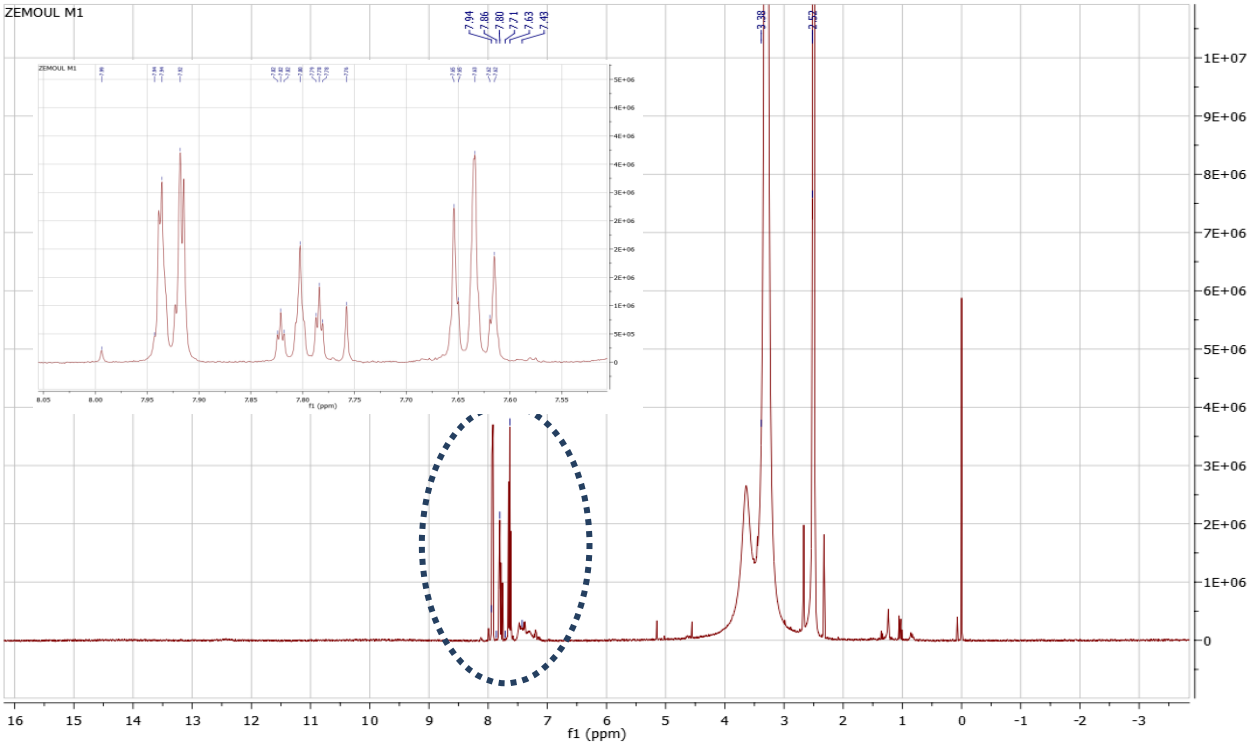
Spectre RMN ^{1}H de comparaison du benzile [261].



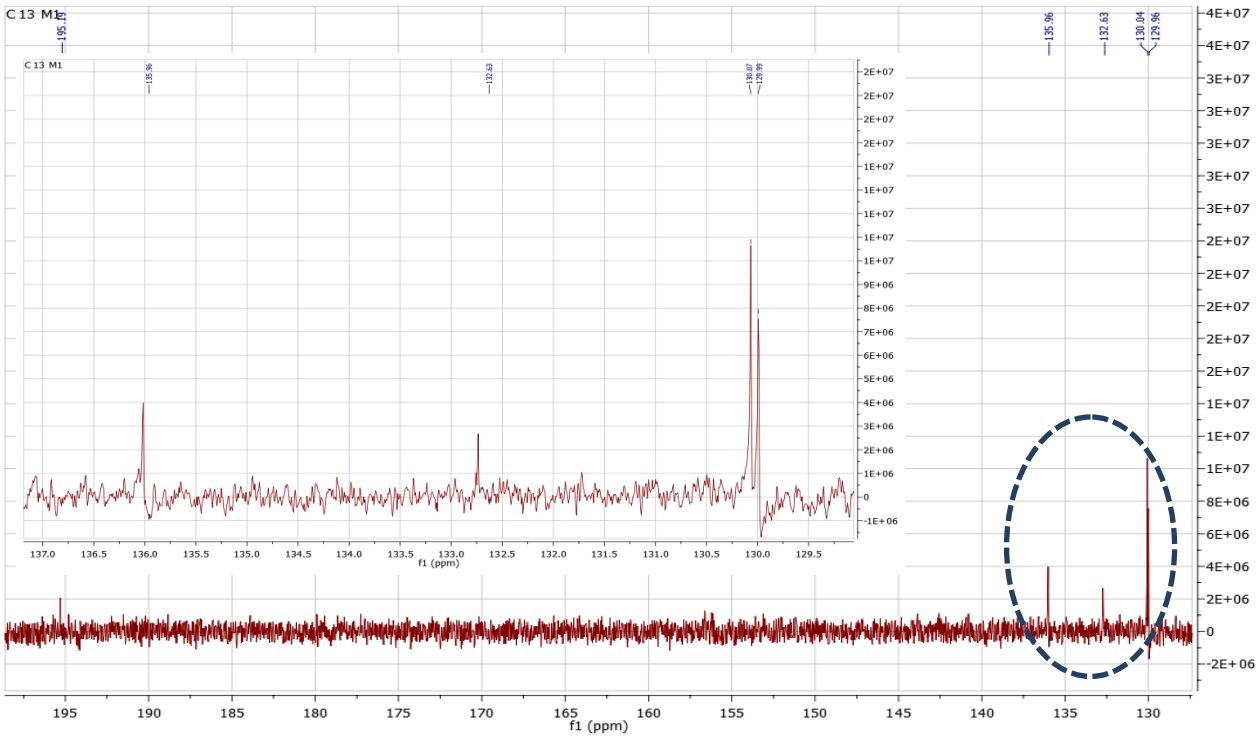
Spectre ^{13}C RMN du benzile.

Pour les résultats RMN M1-M13, la partie entourée représente la partie du spectre zoomée.

Annexe V : Résultats RMN

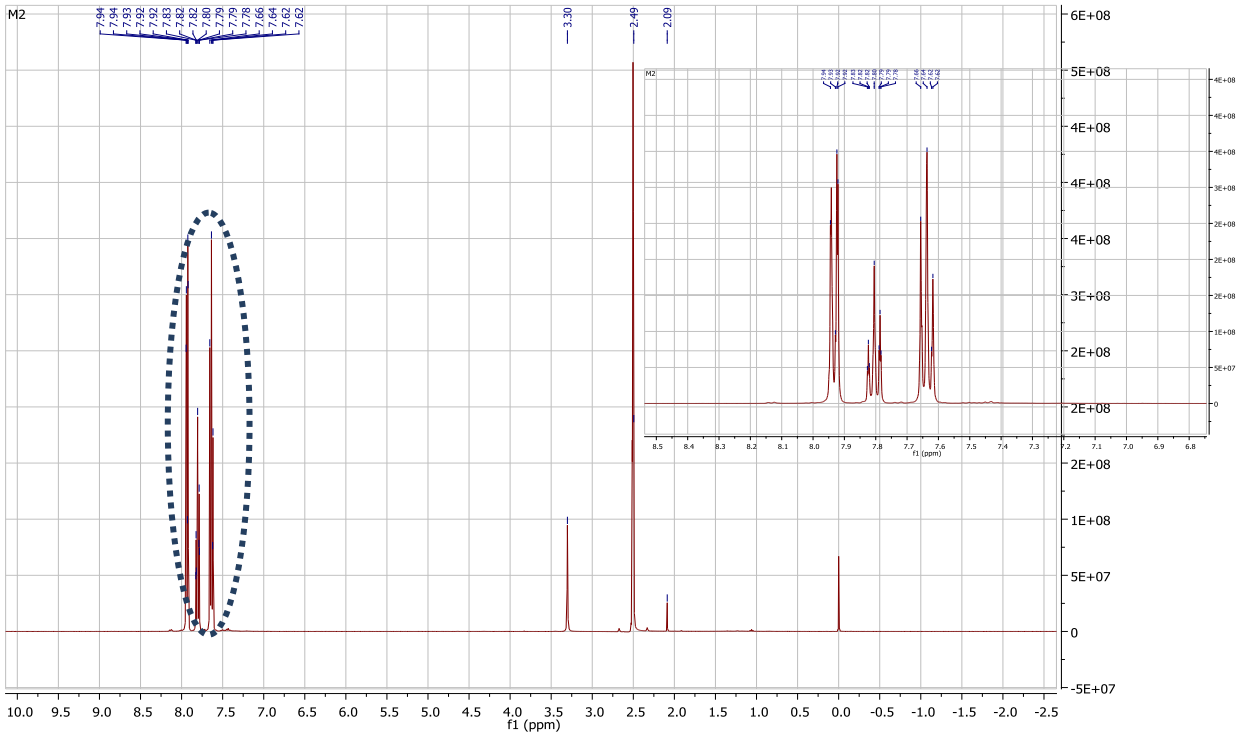


Spectre ^{1}H RMN M1.

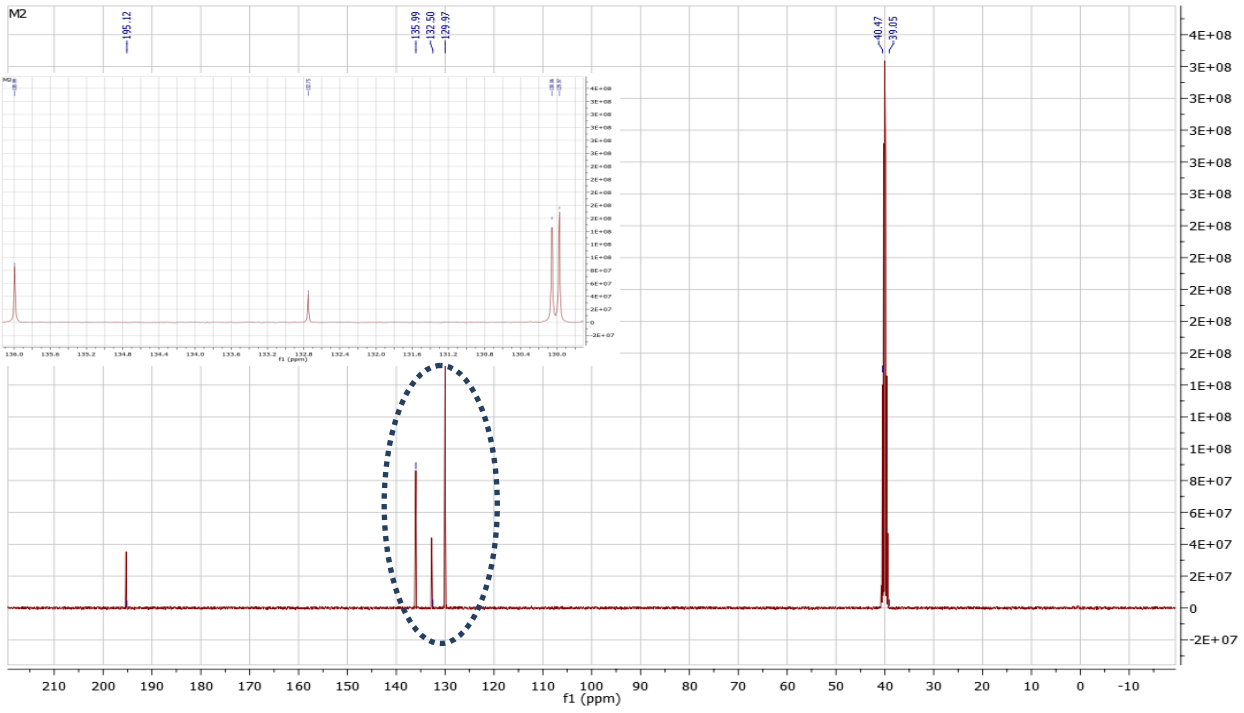


Spectre ^{13}C RMN M1.

Annexe V : Résultats RMN

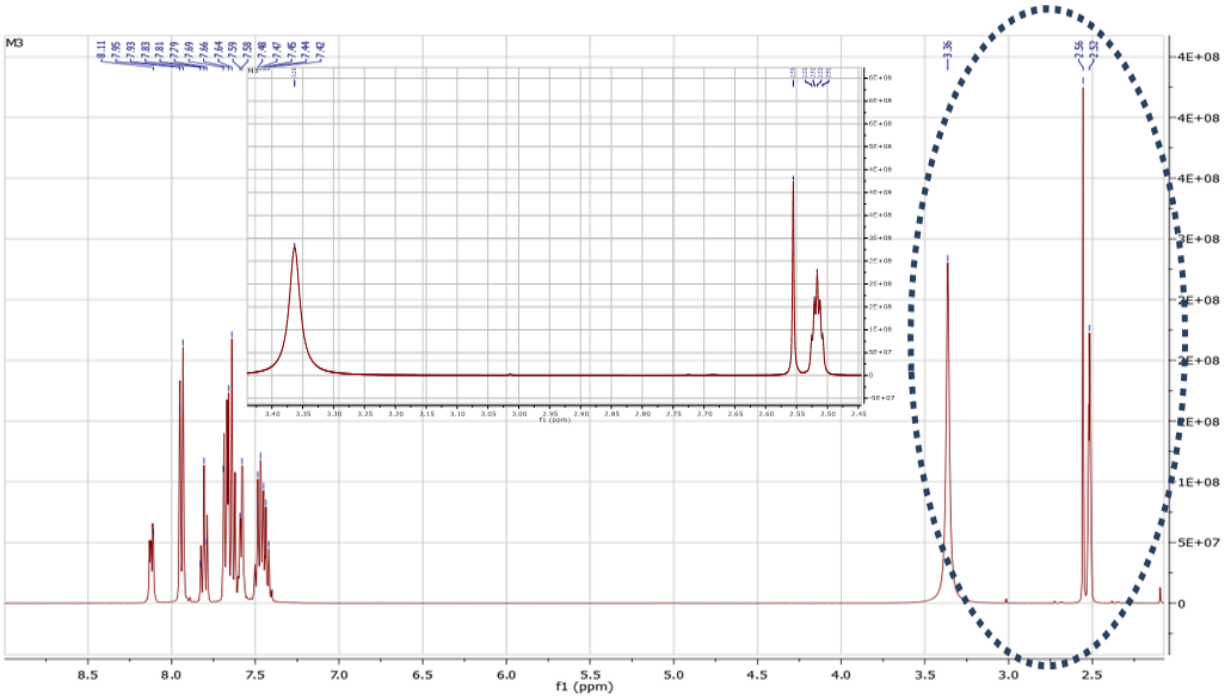


Spectre ^{1}H RMN M2.

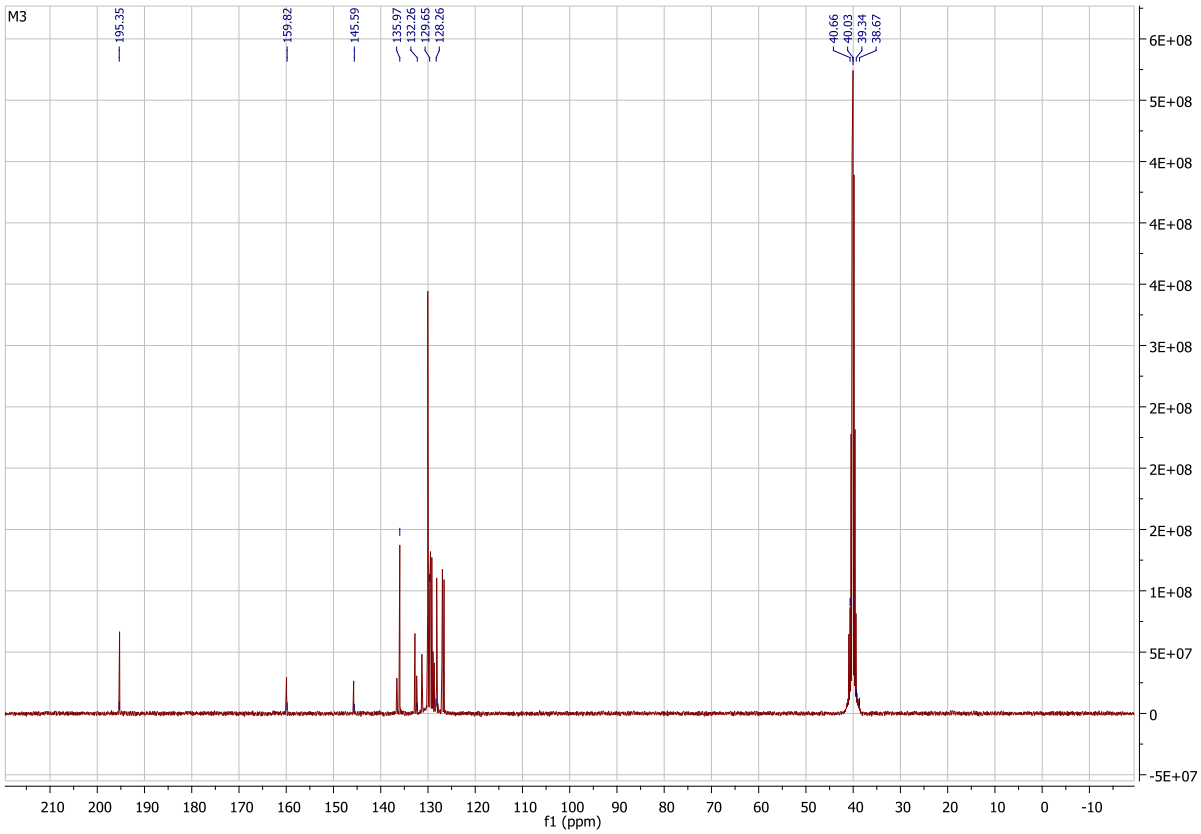


Spectre ^{13}C RMN M2.

Annexe V : Résultats RMN

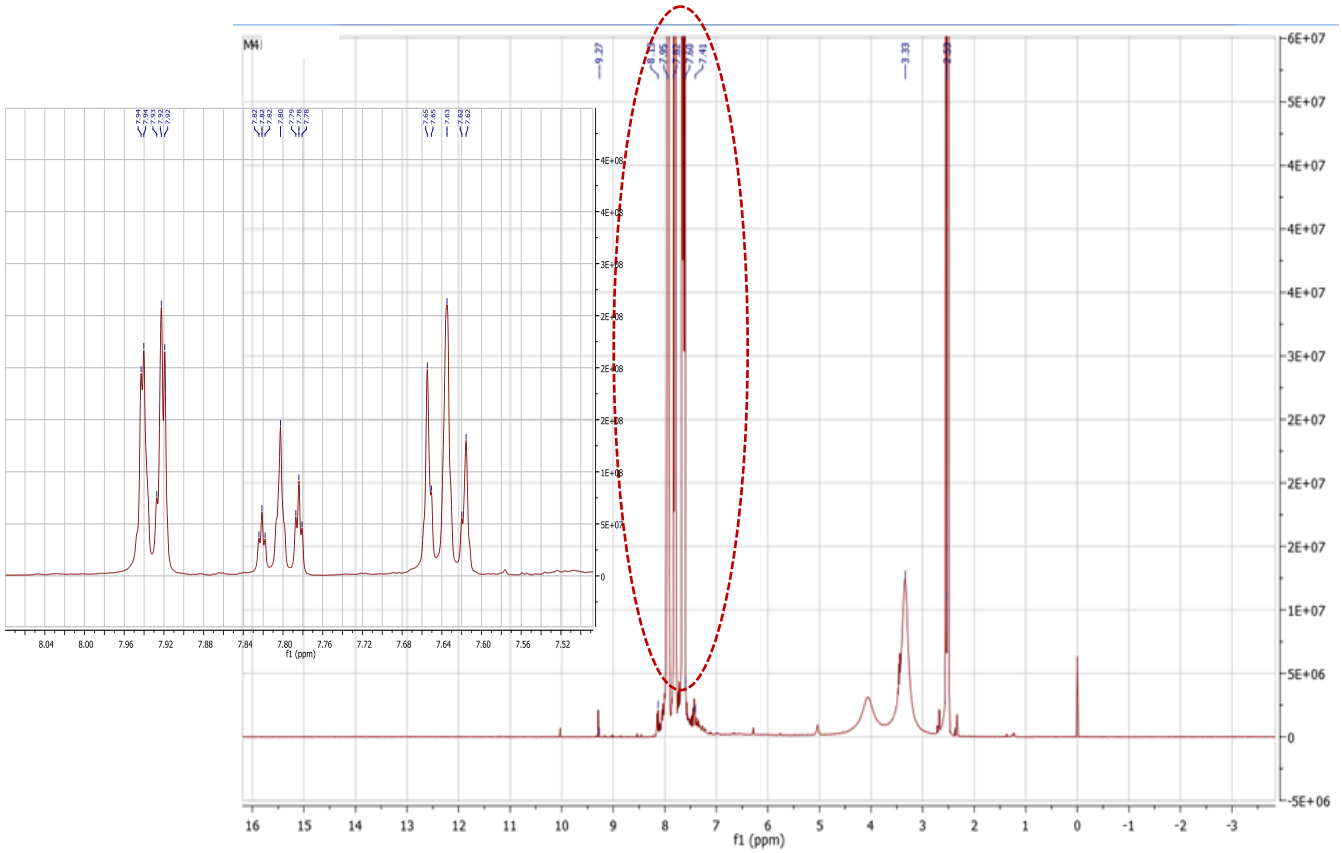


Spectre ^{1}H RMN M3.

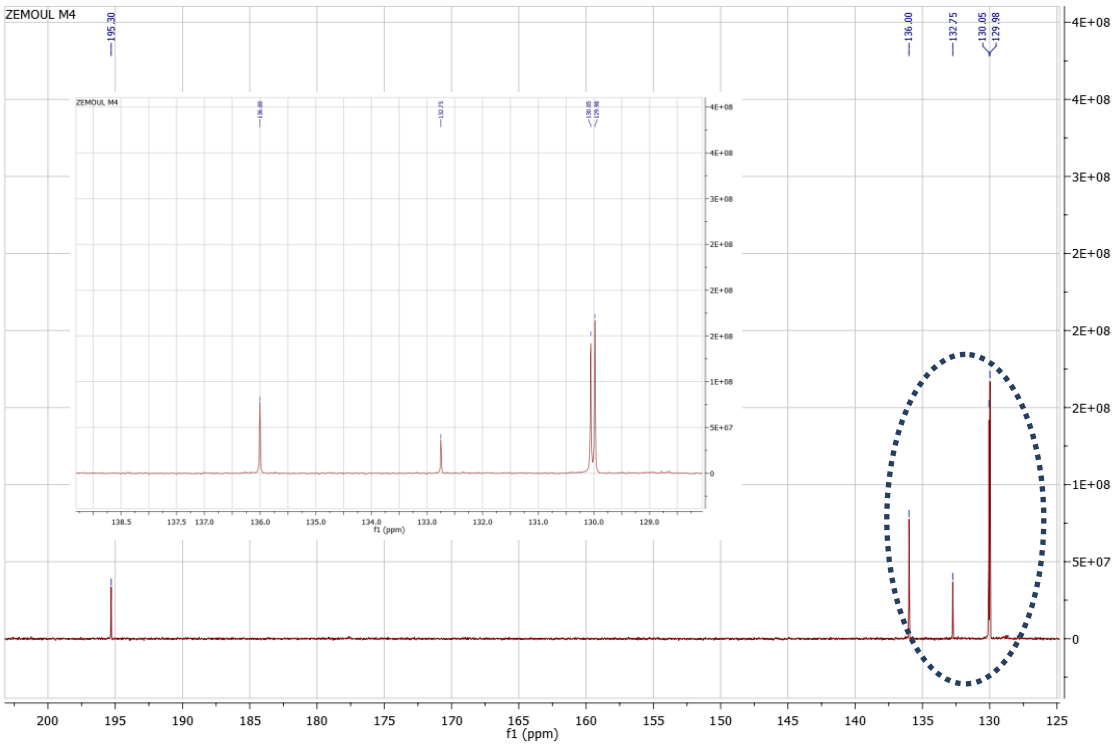


Spectre ^{13}C RMN M3.

Annexe V : Résultats RMN

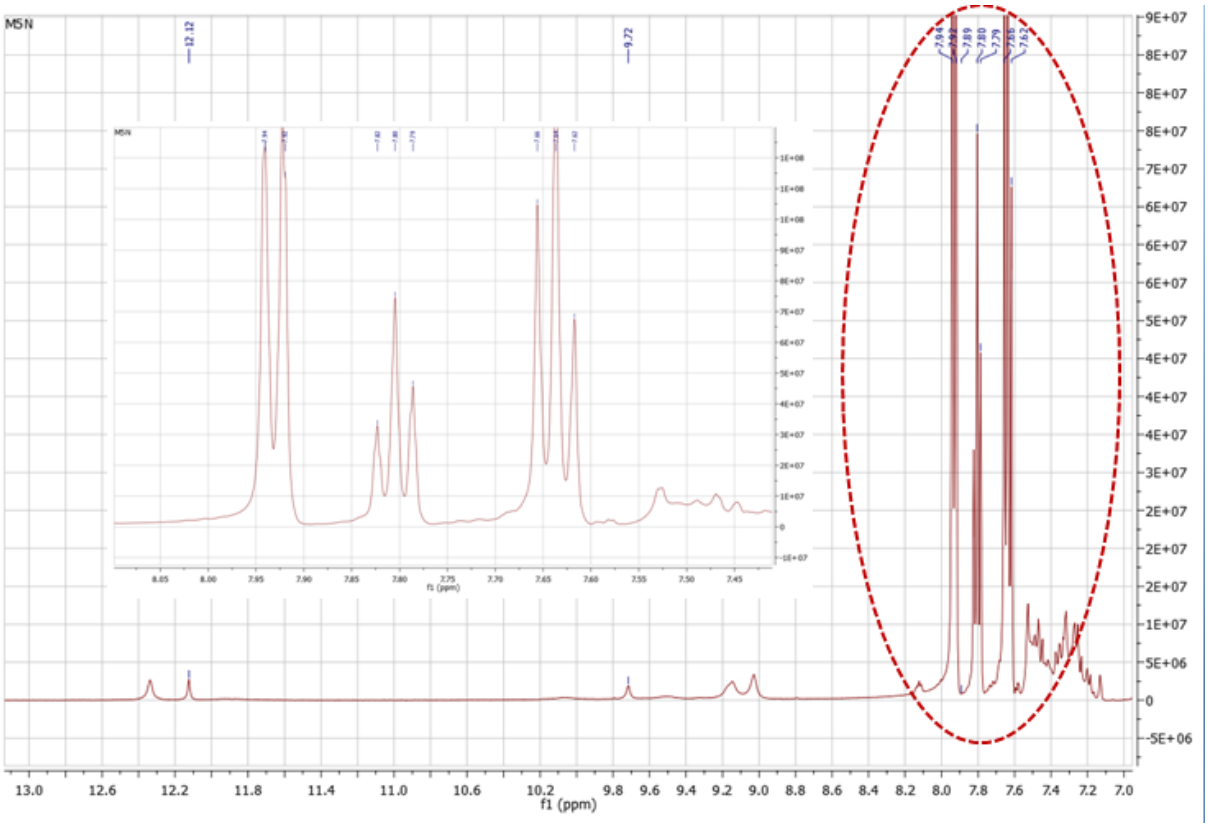


Spectre ^{1}H RMN M4.

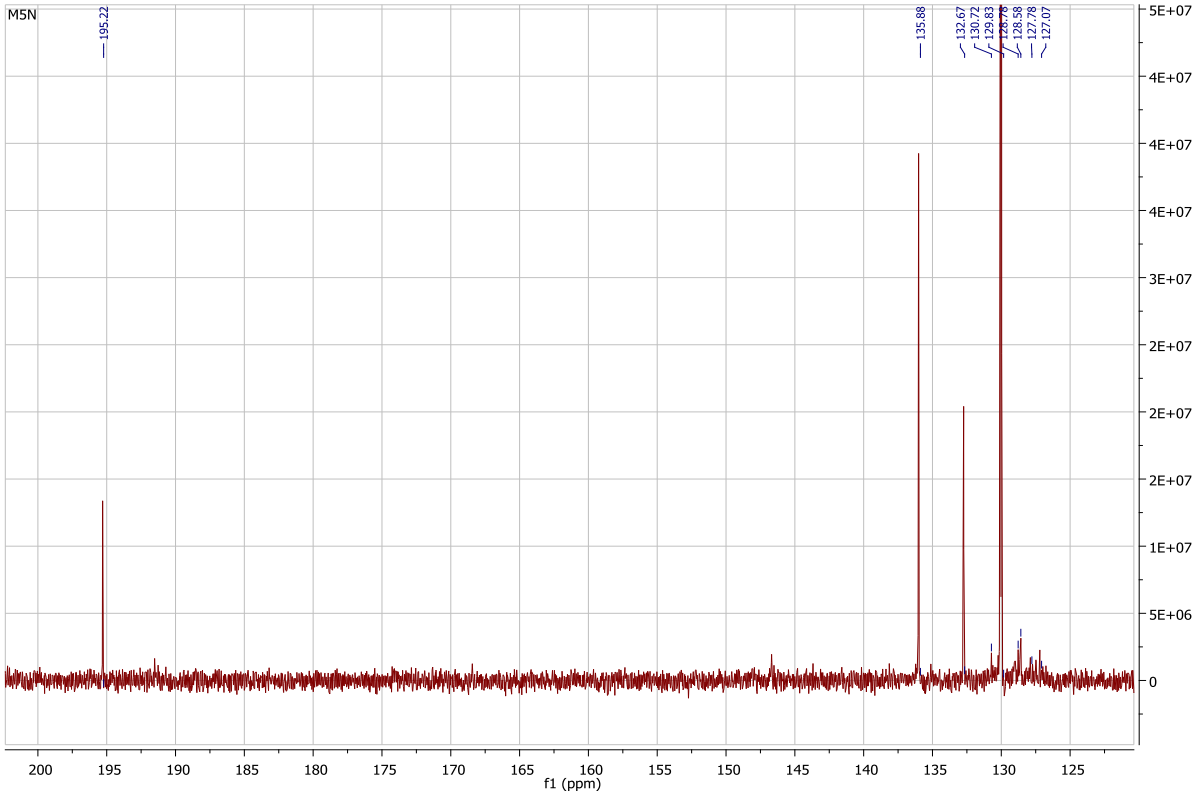


Spectre ^{13}C RMN M4.

Annexe V : Résultats RMN

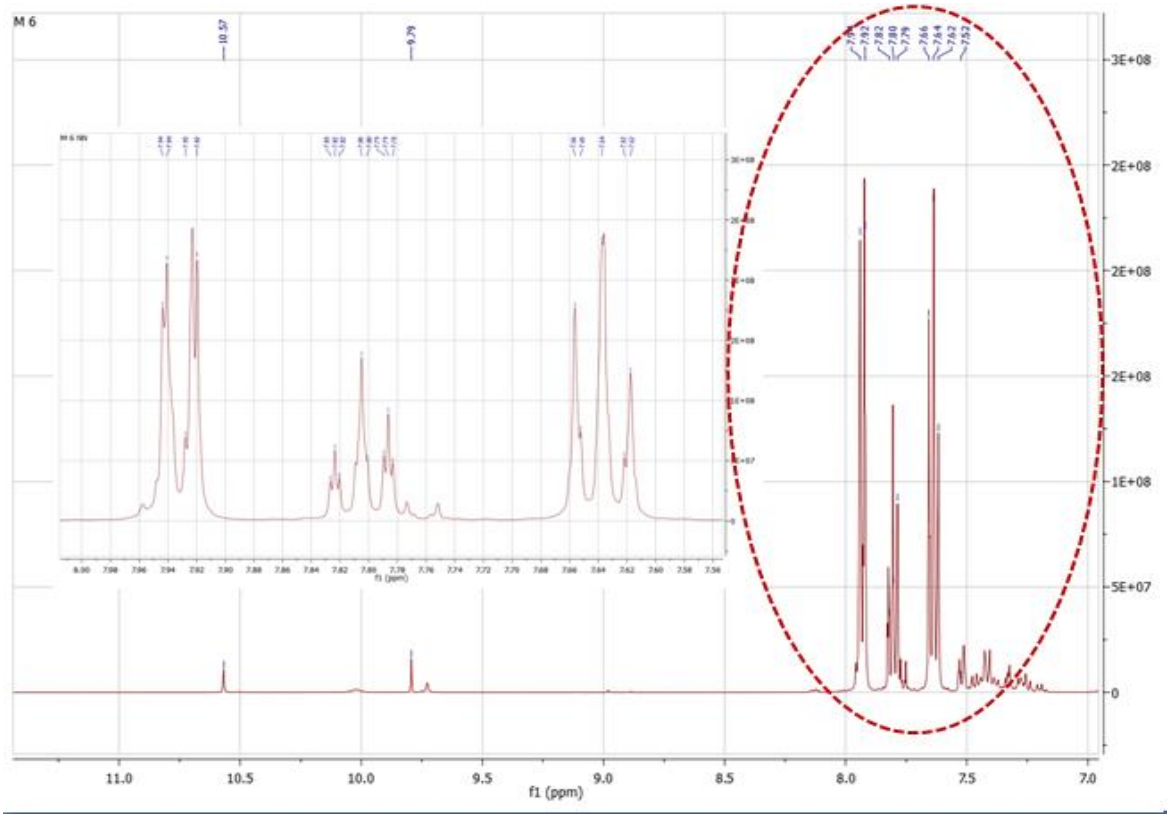


Spectre ^{1}H RMN M5**.**

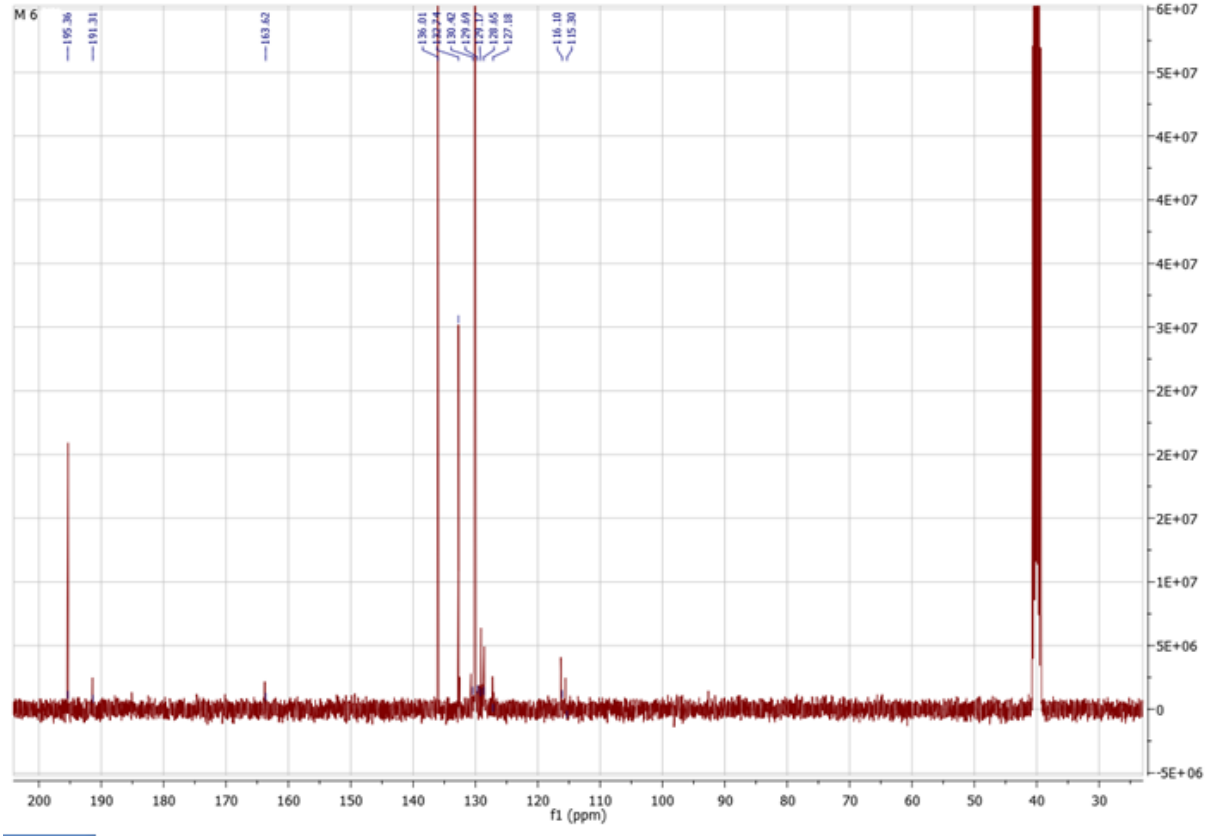


Spectre ^{13}C RMN M5.

Annexe V : Résultats RMN

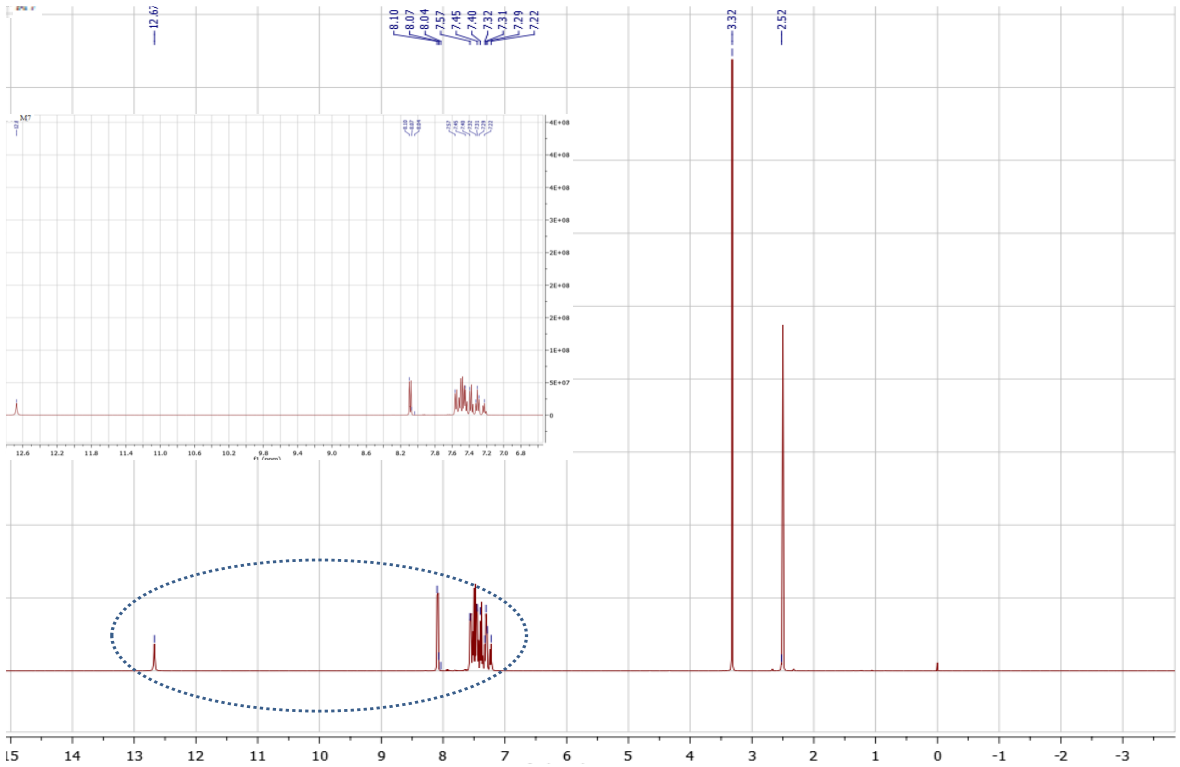


Spectre ^{1}H RMN M6.

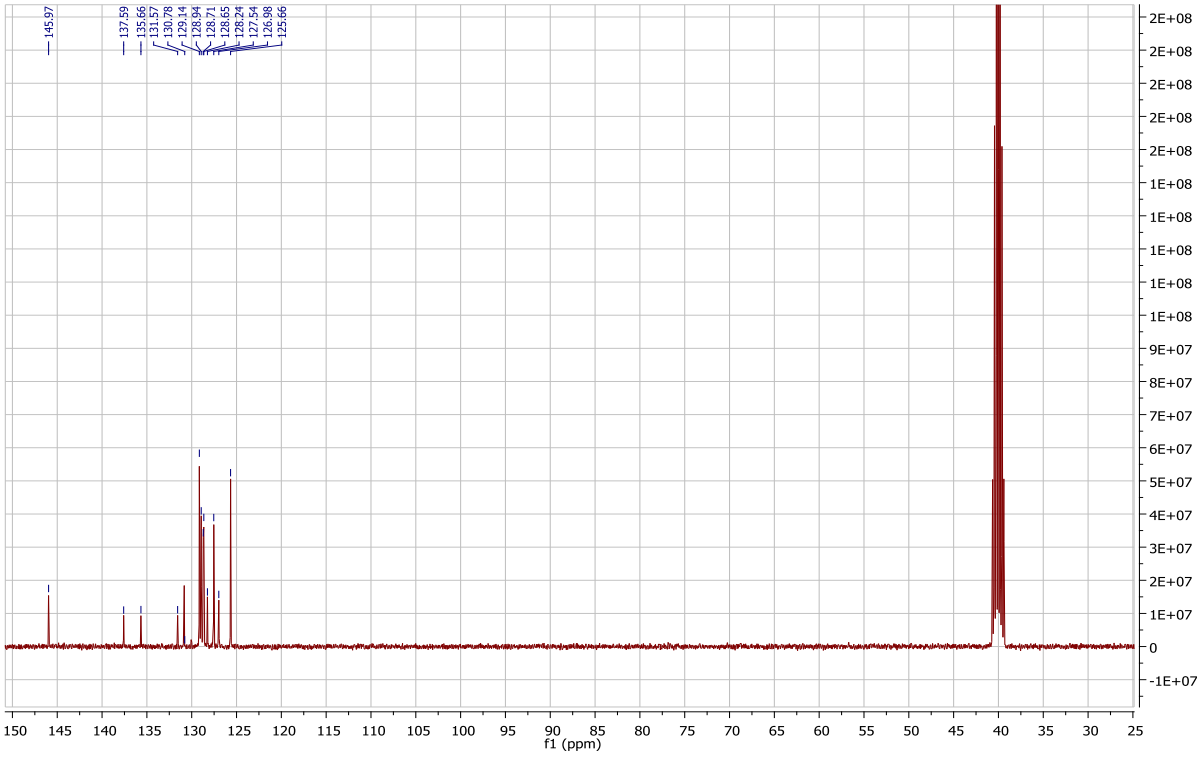


Spectre ^{13}C RMN M6.

Annexe V : Résultats RMN

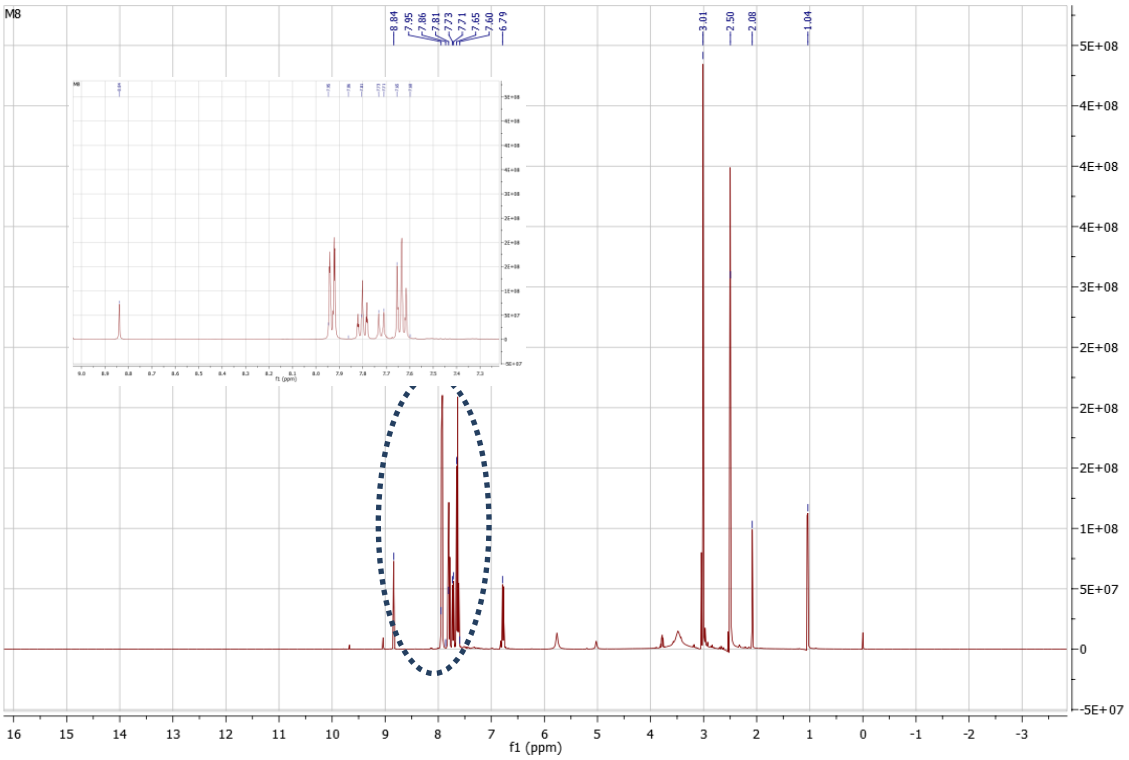


Spectre ^{1}H RMN M7.

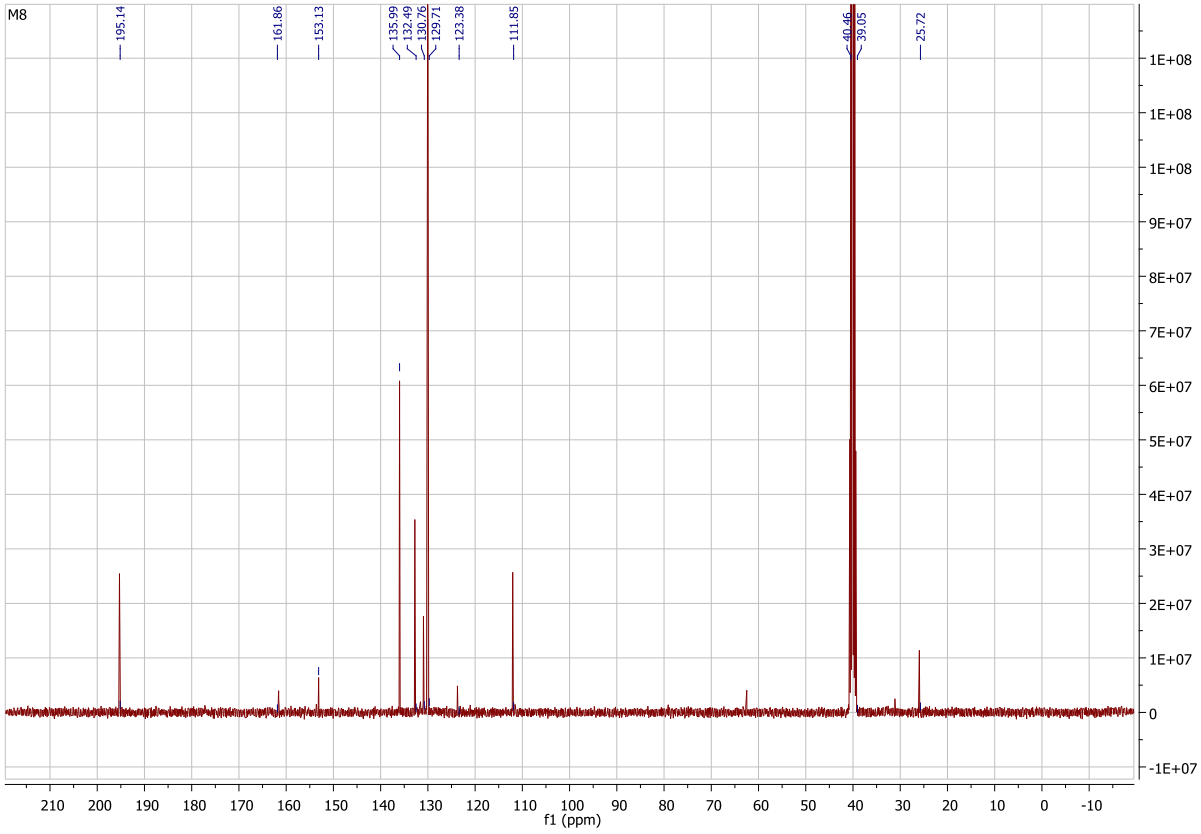


Spectre ^{13}C RMN M7.

Annexe V : Résultats RMN

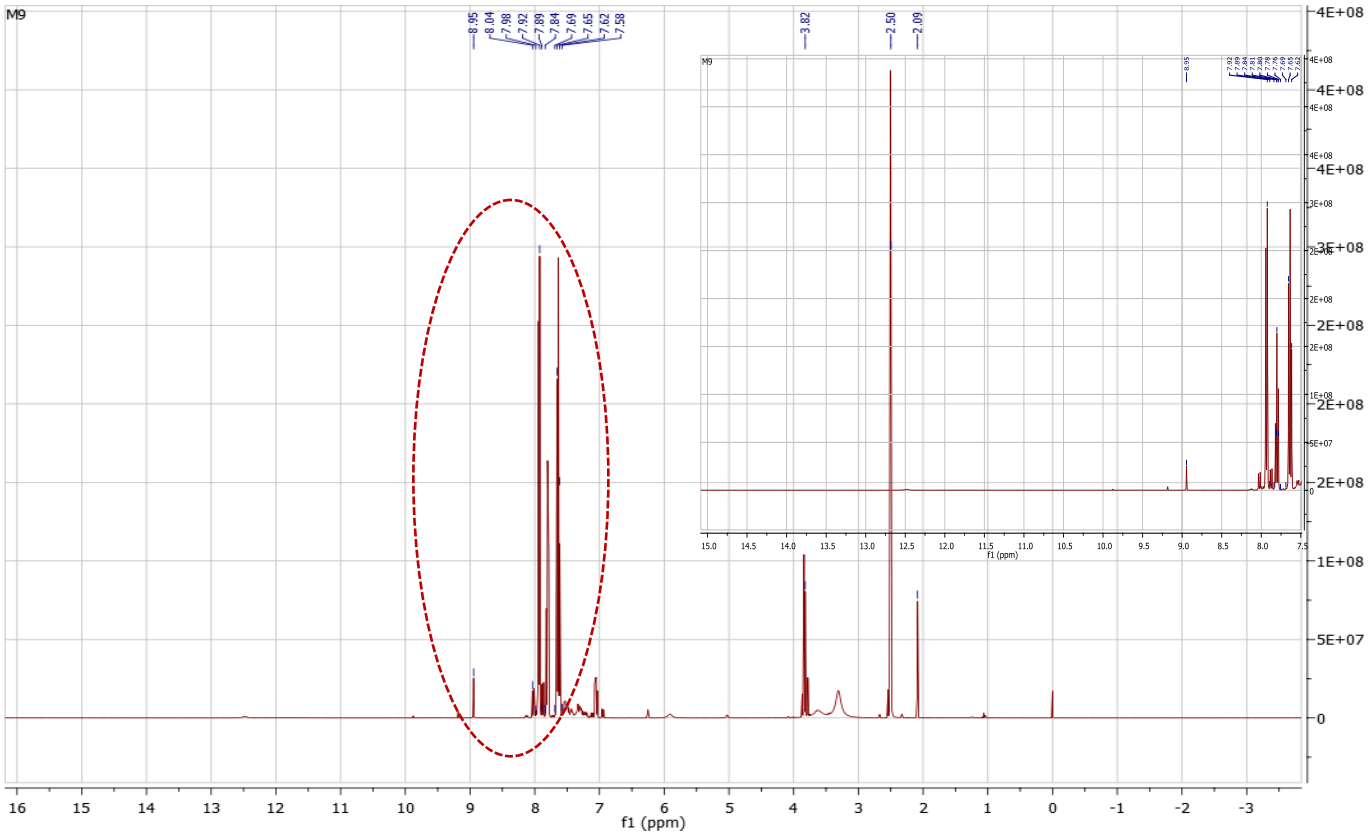


Spectre ^{1}H RMN M8.

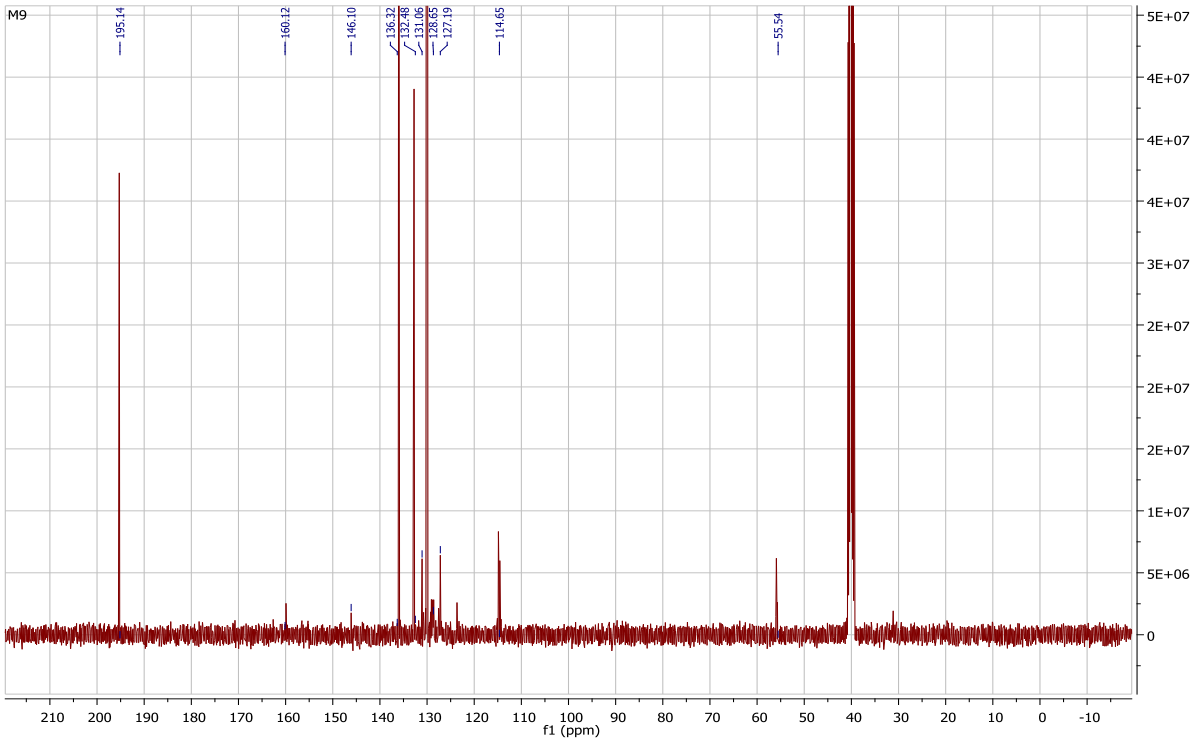


Spectre ^{13}C RMN M8.

Annexe V : Résultats RMN

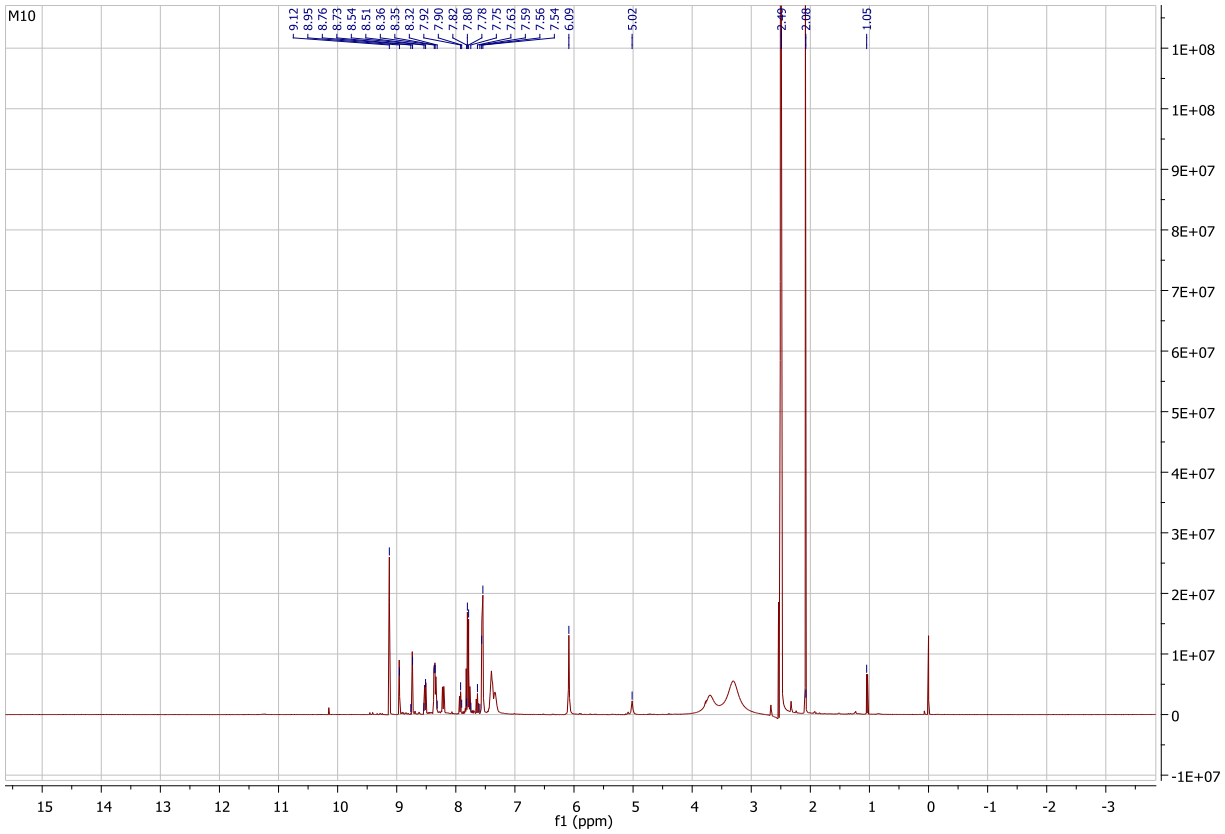


Spectre ^{1}H RMN M9.

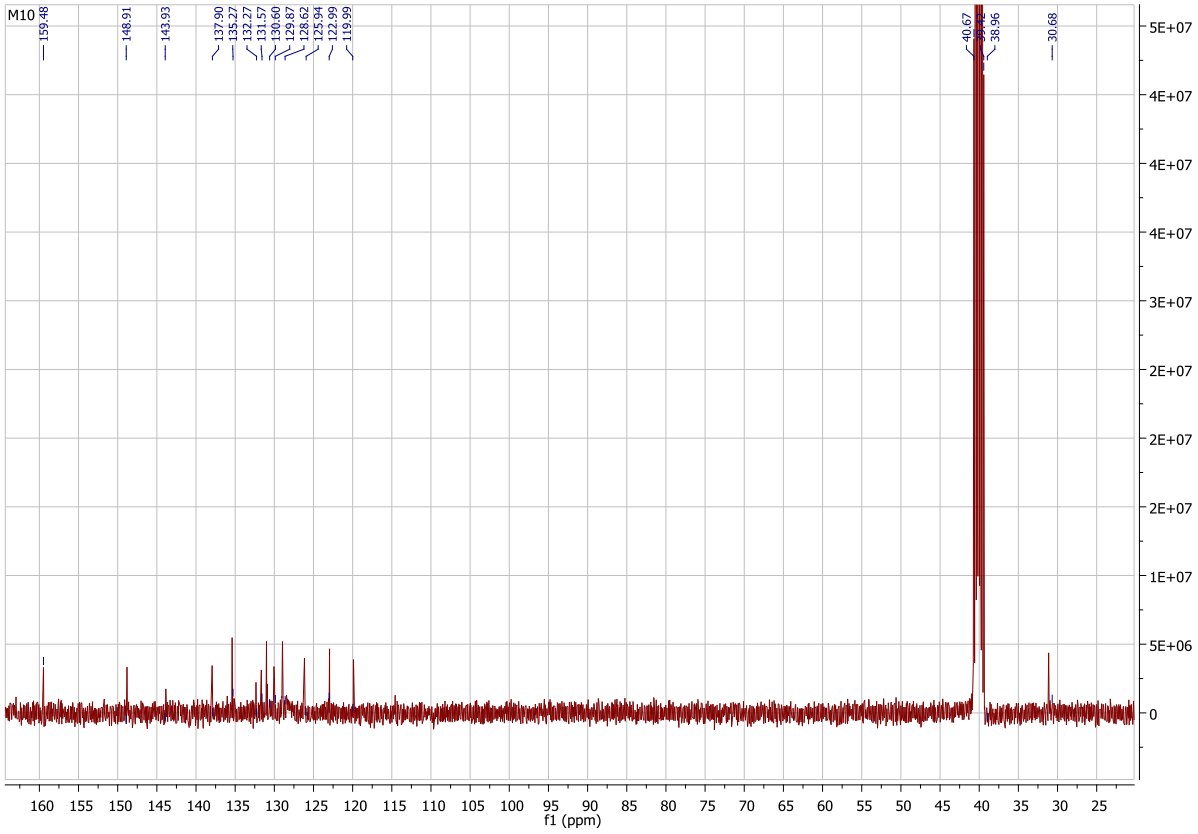


Spectre ^{13}C RMN M9.

Annexe V : Résultats RMN

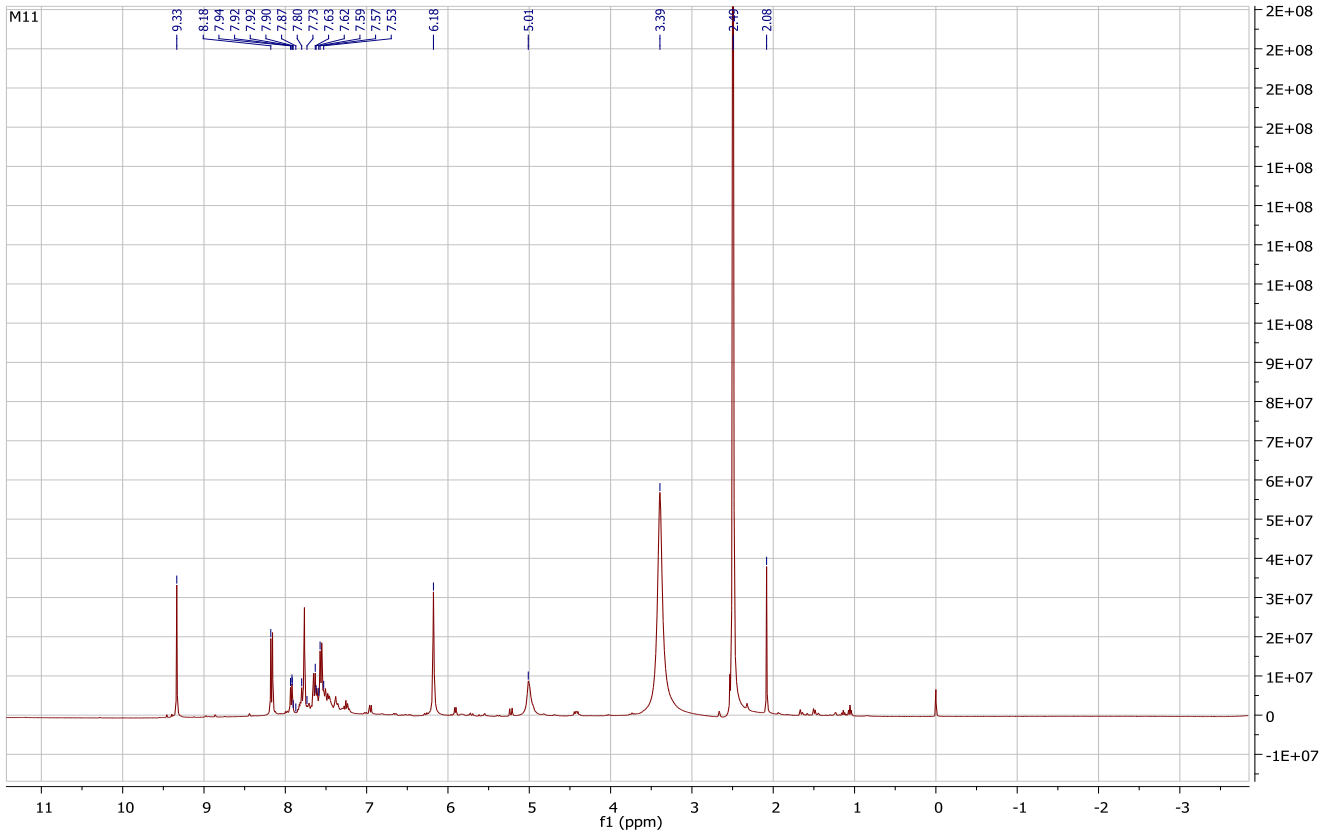


Spectre ^{1}H RMN M10.

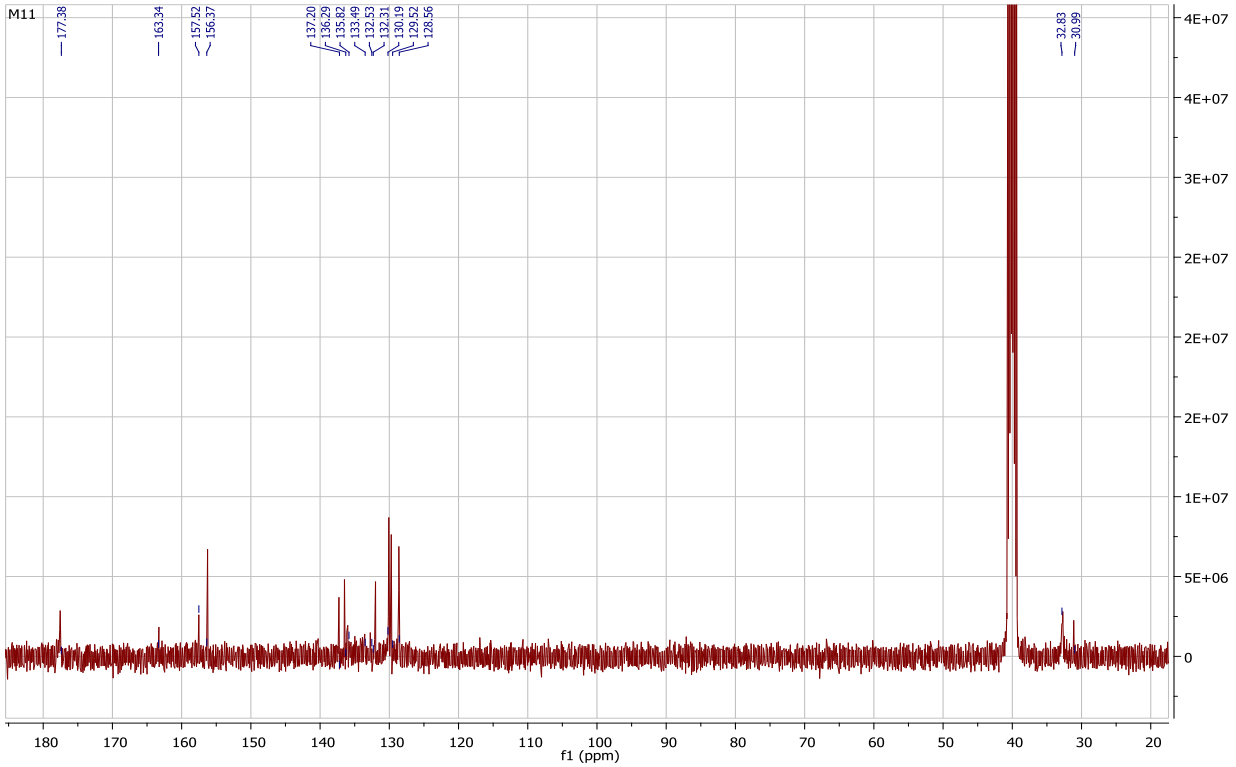


Spectre ^{13}C RMN M10.

Annexe V : Résultats RMN

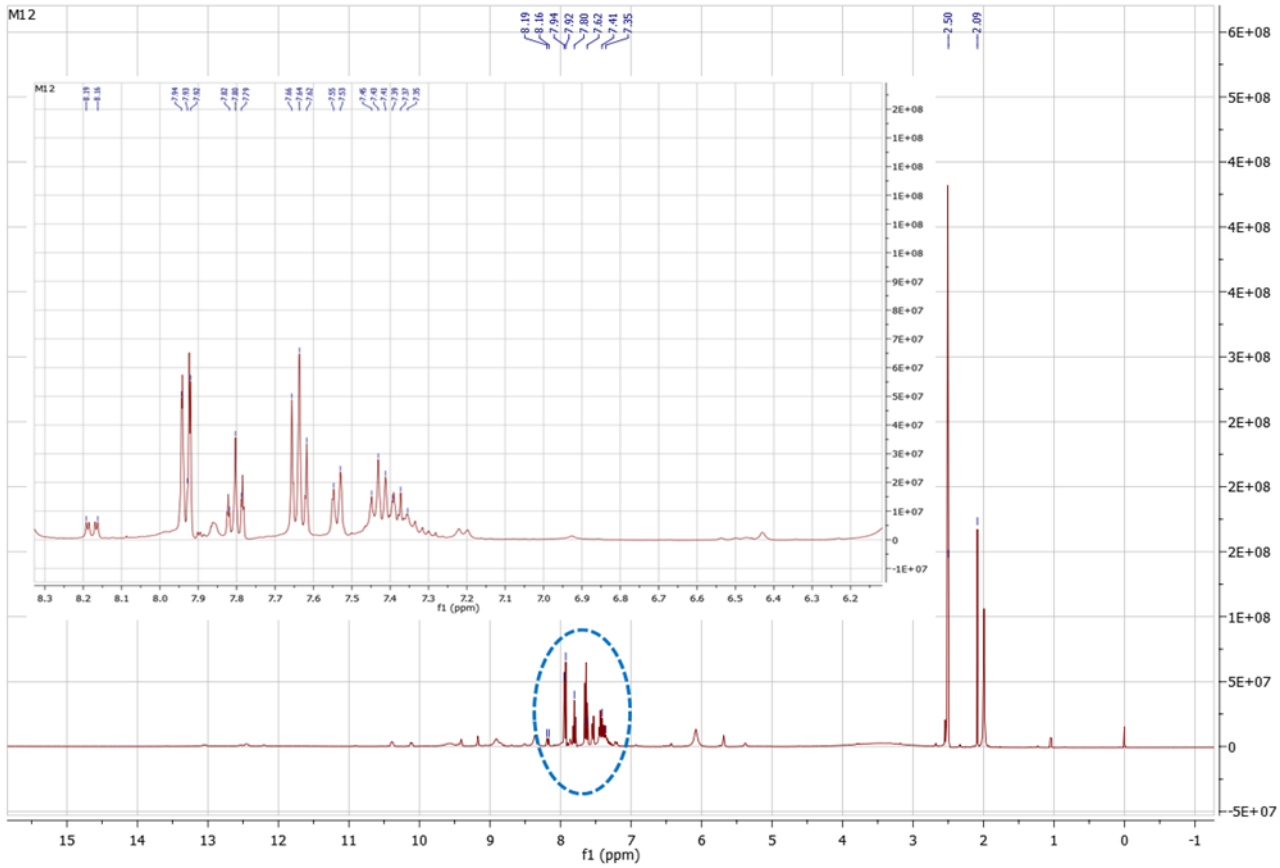


Spectre ^{1}H RMN M11.

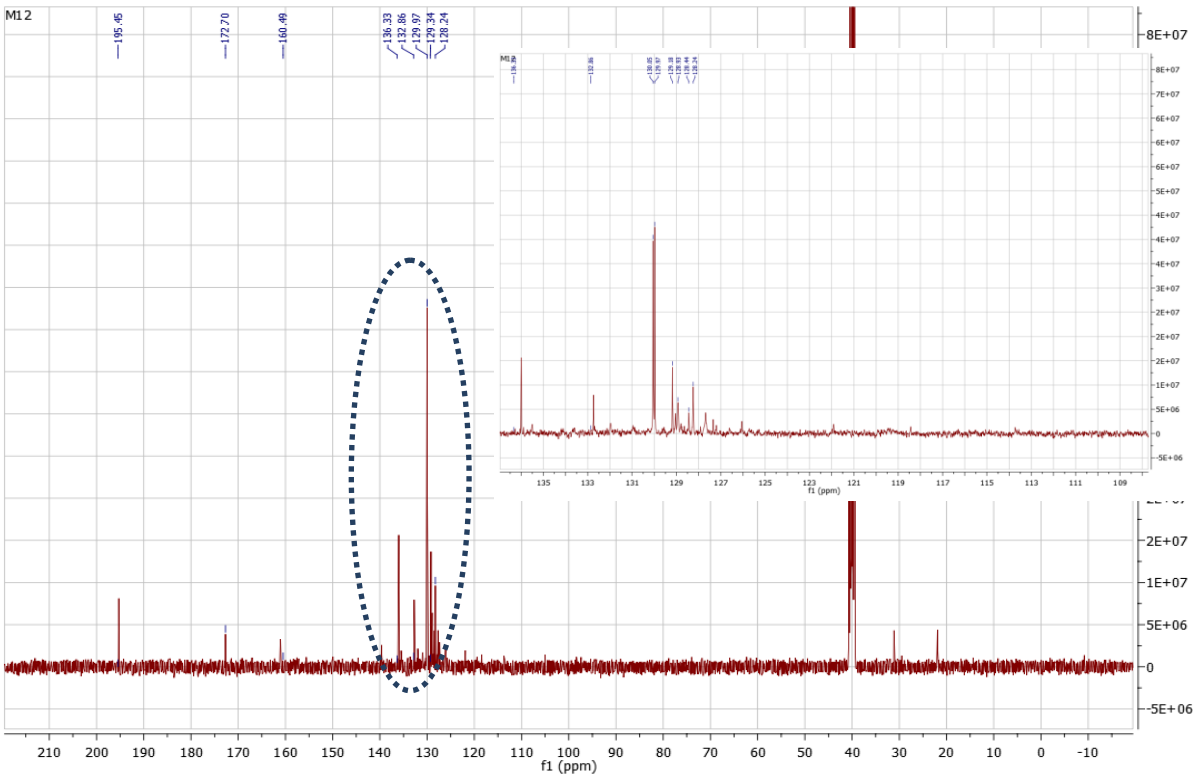


Spectre ^{13}C RMN de M11.

Annexe V : Résultats RMN

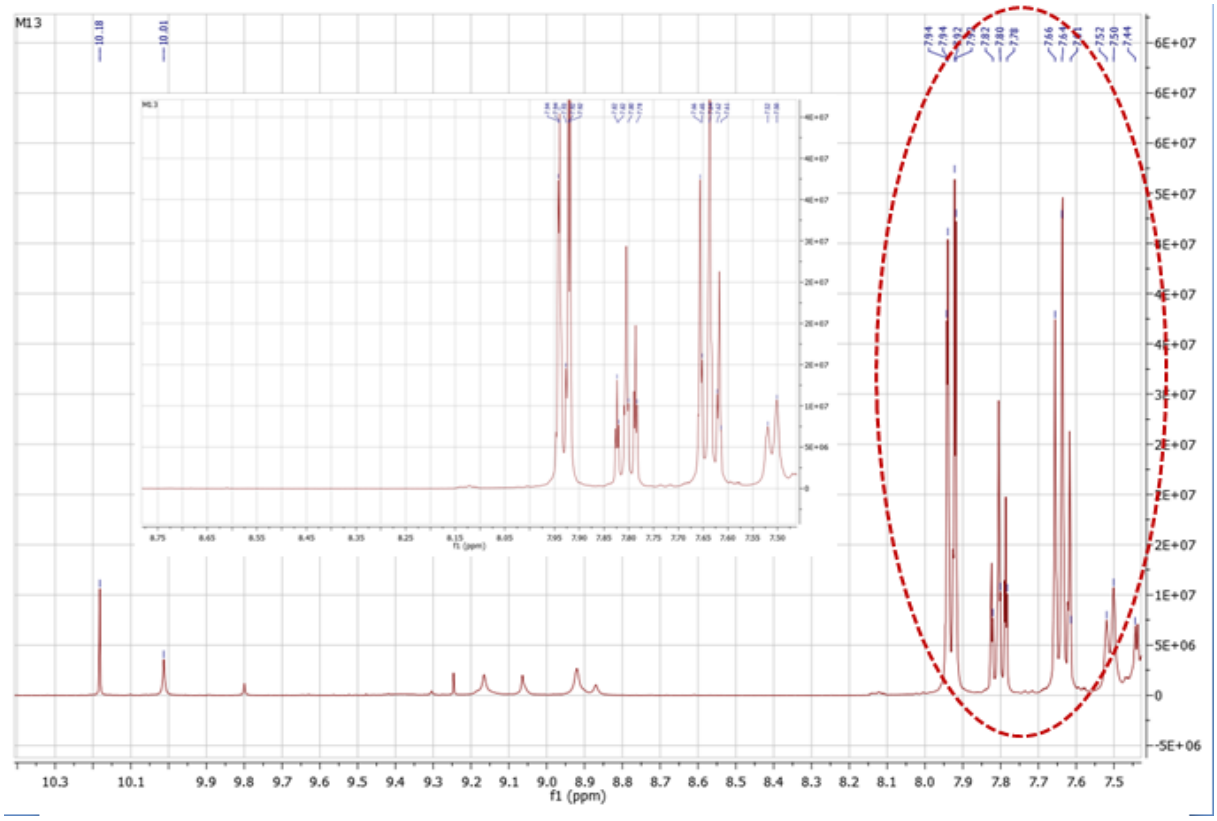


Spectre ^{1}H RMN M12.

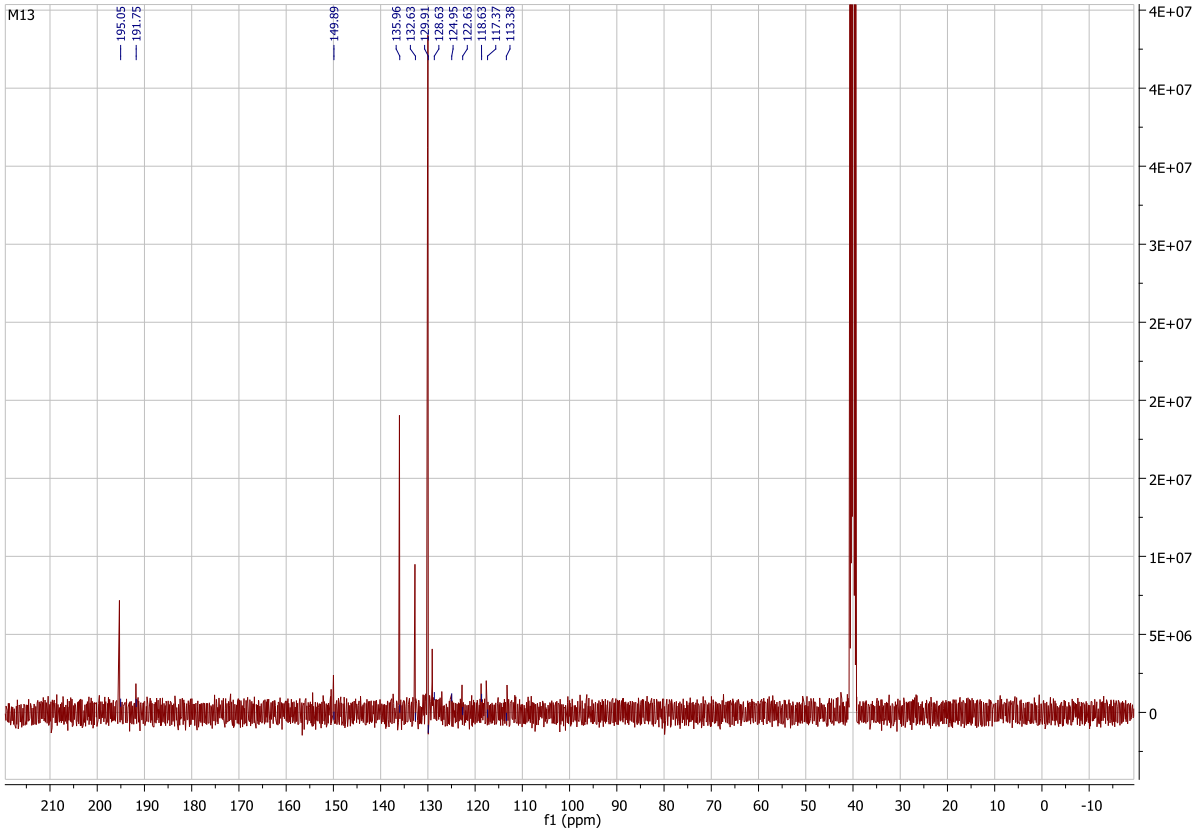


Spectre ^{13}C RMN de M12.

Annexe V : Résultats RMN



Spectre ^{1}H RMN M13.

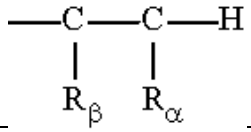
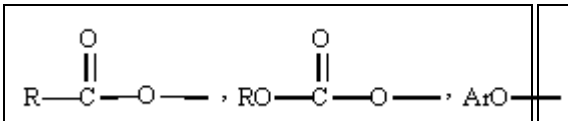
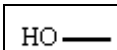
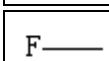
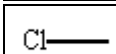


Spectre ^{13}C RMN M13.

ANNEXE VI: Tables d'interprétation ^{1}H RMN et ^{13}C RMN

Annexe VI : Tables d'interprétation ^{1}H RMN et ^{13}C RMN.

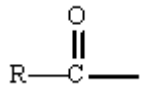
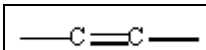
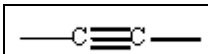
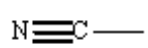
Table des déplacements chimiques ^{1}H RMN [217, 262].

Estimation du déplacement chimique du proton des carbones sp^3 		**positions Standard:** **CH_3: 0.87** **CH_2: 1.20** **CH: 1.55**	
Substituants	**Type d'hydrogène**	**Position alpha**	**Position beta**
			
	CH_3	2.88	0.38
	CH_2	2.98	0.43
	CH	3.43	
			
	CH_3	2.50	0.33
	CH_2	2.30	0.13
	CH	2.20	
			
	CH_3	3.20	
	CH_2	3.07	
	CH	2.58	
			
	CH_3	2.43	0.63
	CH_2	2.30	0.53

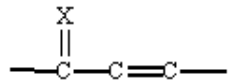
Annexe VI : Tables d'interprétation ^{1}H RMN et ^{13}C RMN.

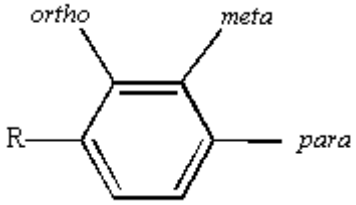
	CH	2.55	0.03
Br——			
	CH_3	1.80	0.83
	CH_2	2.18	0.60
	CH	2.68	0.25
I——			
	CH_3	1.28	1.23
	CH_2	1.95	0.58
	CH	2.75	0.00
RO——			
	CH_3	2.43	0.33
	CH_2	2.34	0.15
	CH	2.00	
Aromatic——			
	CH_3	1.40	0.35
	CH_2	1.45	0.13
	CH	1.33	
R_2N——			
	CH_3	1.30	0.13
	CH_2	1.33	0.13
	CH	1.33	

Annexe VI : Tables d'interprétation ^{1}H RMN et ^{13}C RMN.

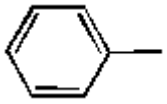
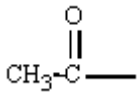
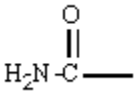
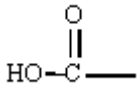
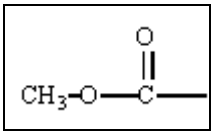
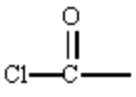
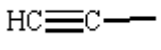
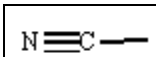
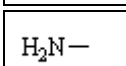
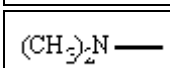
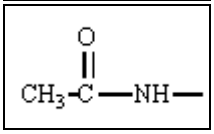
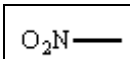
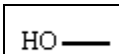
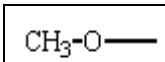
Substituants	**Type d'hydrogène**	**Position alpha**	**Position beta**
O_2N—			
	CH_3	3.09	
	CH_2	3.12	
	CH	2.53	
 Quand R est un alkyl, aromatique, HO, RO, C=O, ou N			
	CH_3	1.23	0.18
	CH_2	1.05	0.31
	CH	1.05	
			
	CH_3	0.78	
	CH_2	0.75	0.10
			
	CH_3	0.90	
	CH_2	0.87	
			
	CH_3	1.05	

Annexe VI : Tables d'interprétation ^{1}H RMN et ^{13}C RMN.

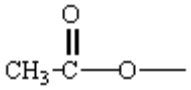
	CH_2	1.02	
Quand = O ou C			
	CH_3	1.08	

Estimation du déplacement chimique du proton dan le cas du benzène substitué	 $\delta_H = 7.27 + \Sigma z_i$			
	R	z_{ortho}	z_{meta}	z_{para}
	H—	0	0	0
Carbone				
	CH_3—	-0.20	-0.12	-0.22
	CH_3-CH_2—	-0.14	-0.06	-0.17
	$(CH_3)_2CH$—	-0.13	-0.08	-0.18
	$(CH_3)_3C$—	0.02	-0.08	-0.2
	H_2N-CH_2—	-0.07	-0.07	-0.07
	HO—CH_2—	-0.07	-0.07	0.00
	Cl—CH_2—	0.00	0.00	0.00
	F_3C—	0.32	0.14	-0.20
	Cl_3C—	0.64	0.13	0.10
	CH_2=CH—	0.06	-0.03	-0.10

Annexe VI : Tables d'interprétation ^{1}H RMN et ^{13}C RMN.

		0.37	0.20	0.10
		0.56	0.22	0.29
		0.62	0.14	0.21
		0.61	0.10	0.17
		0.85	0.18	0.27
		0.71	0.10	0.21
		0.84	0.22	0.36
		0.15	-0.02	-0.01
		0.36	0.18	0.28
Azote				
		-0.75	-0.25	-0.65
		-0.66	-0.18	-0.67
		0.12	-0.07	-0.28
		0.95	0.26	0.38
Oxygène				
		-0.56	-0.12	-0.45
		-0.48	-0.09	-0.44

Annexe VI : Tables d'interprétation ^{1}H RMN et ^{13}C RMN.

		-0.25	0.03	-0.13
Halogène				
	F—	-0.26	0.00	-0.04
	Cl—	0.03	-0.02	-0.09
	Br—	0.18	-0.08	-0.04
	I—	0.39	-0.21	0.00

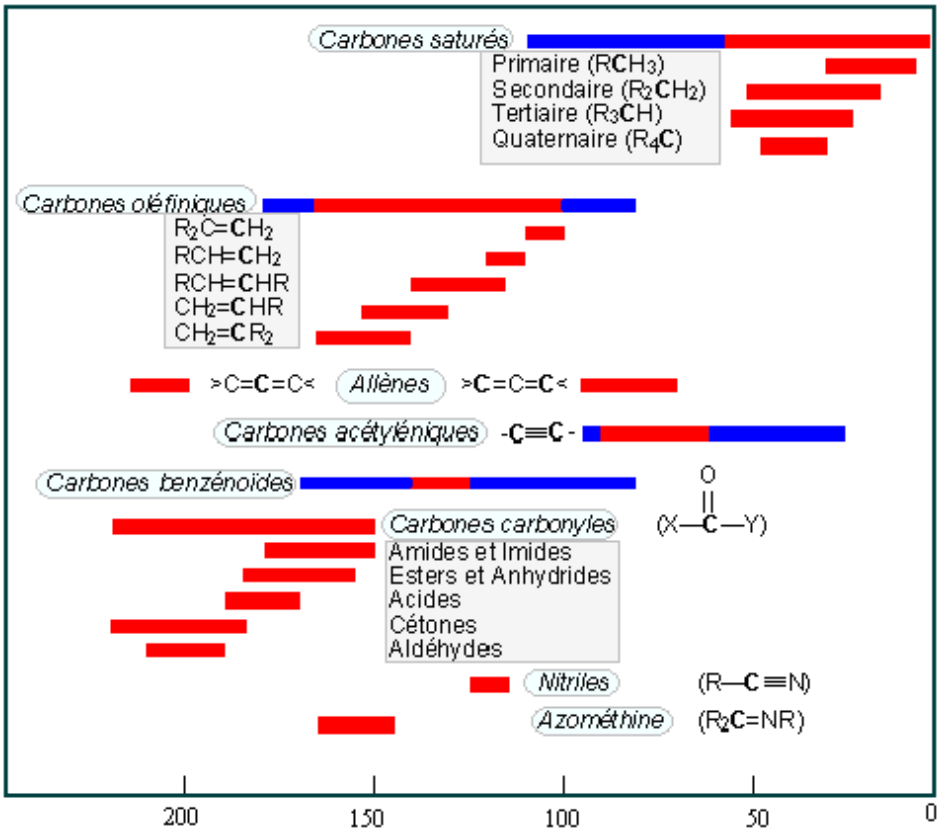
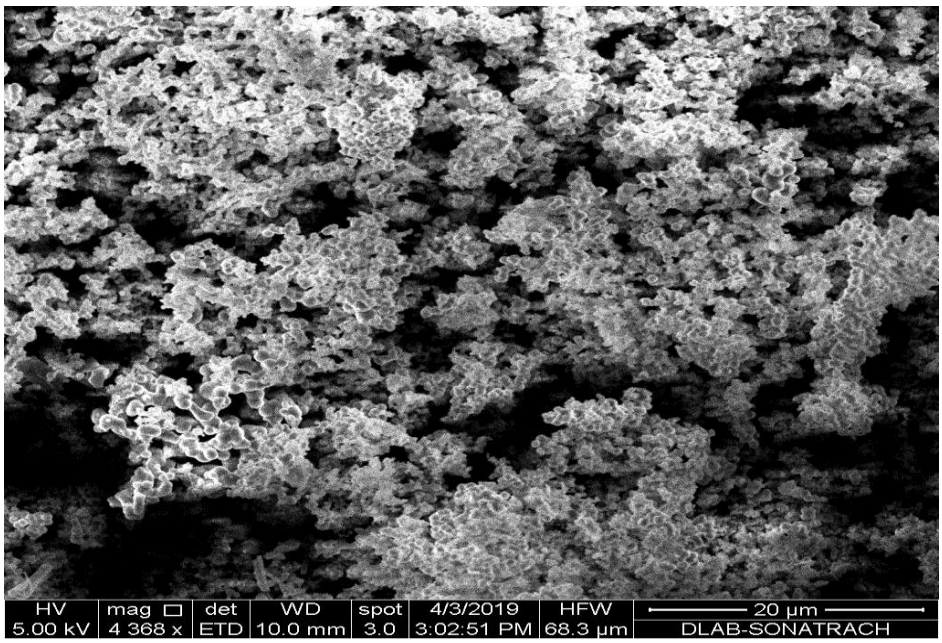
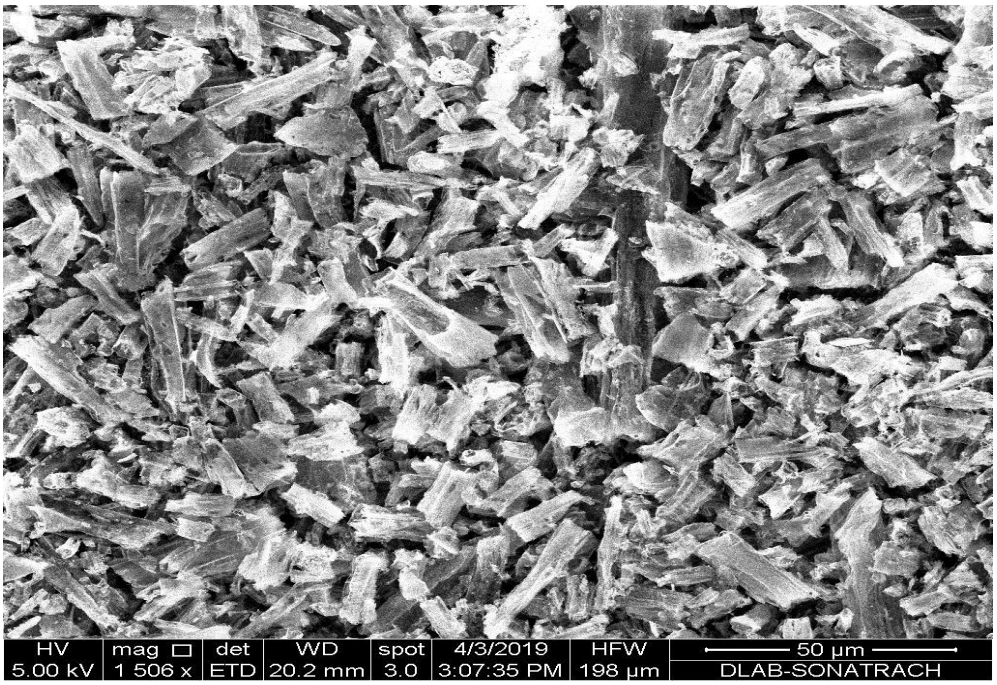


Table des déplacements chimiques ^{13}C RMN [217, 257].

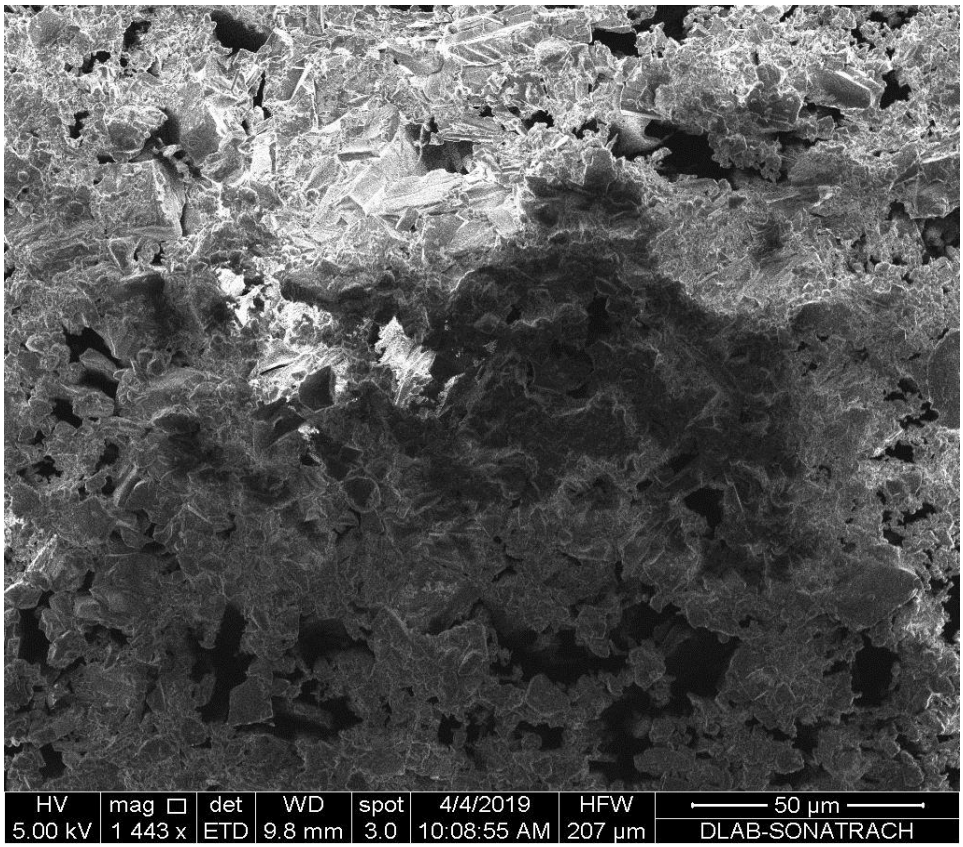
ANNEXE VII: Résultats MEB



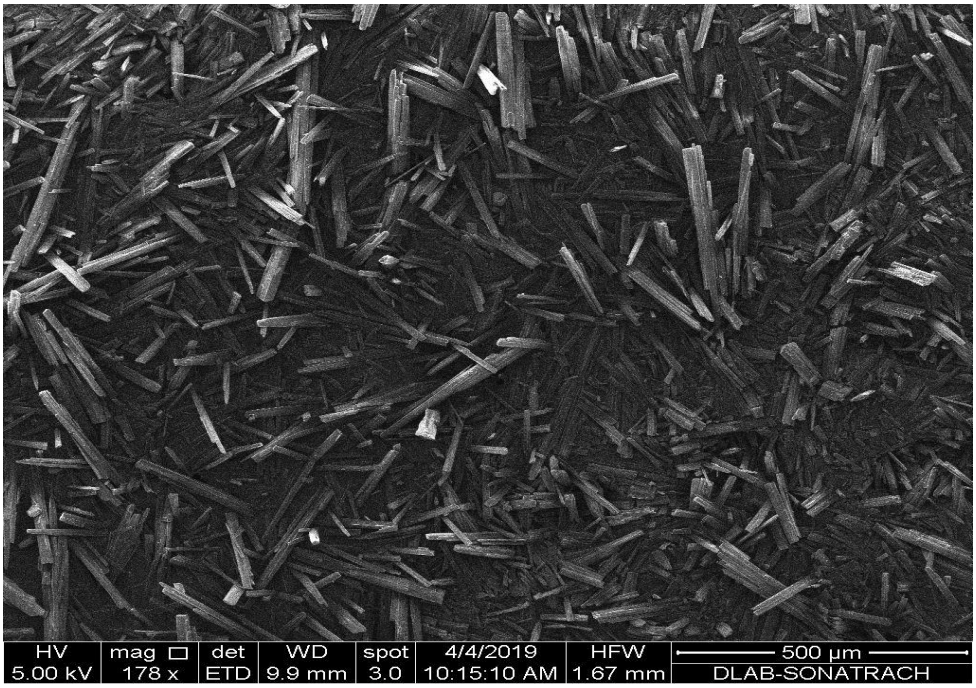
Résultat du MEB M1.



Résultat MEB M2.

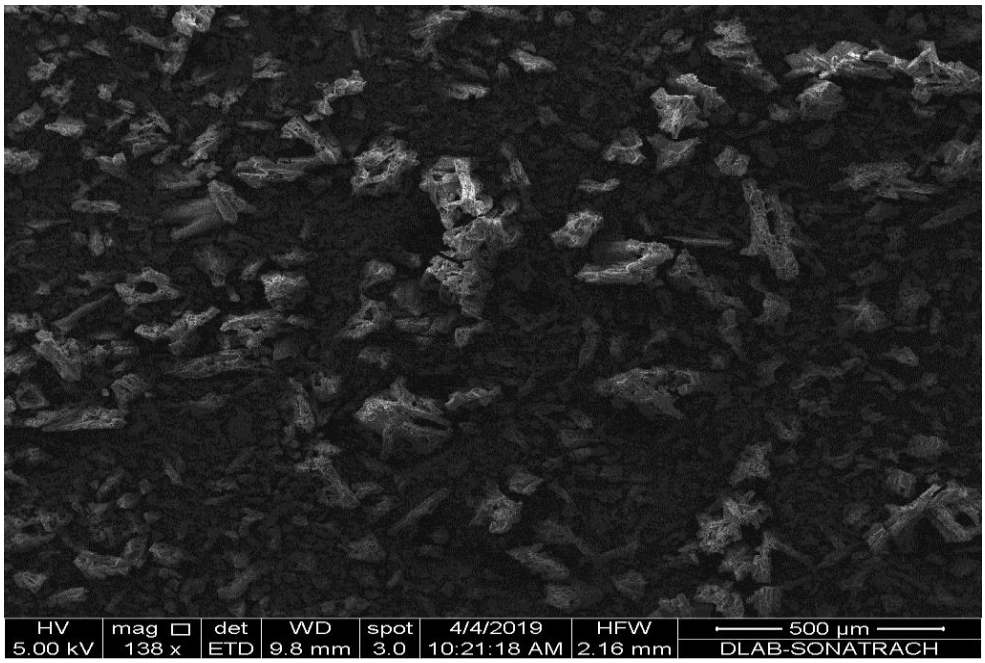


Résultat MEB M3.

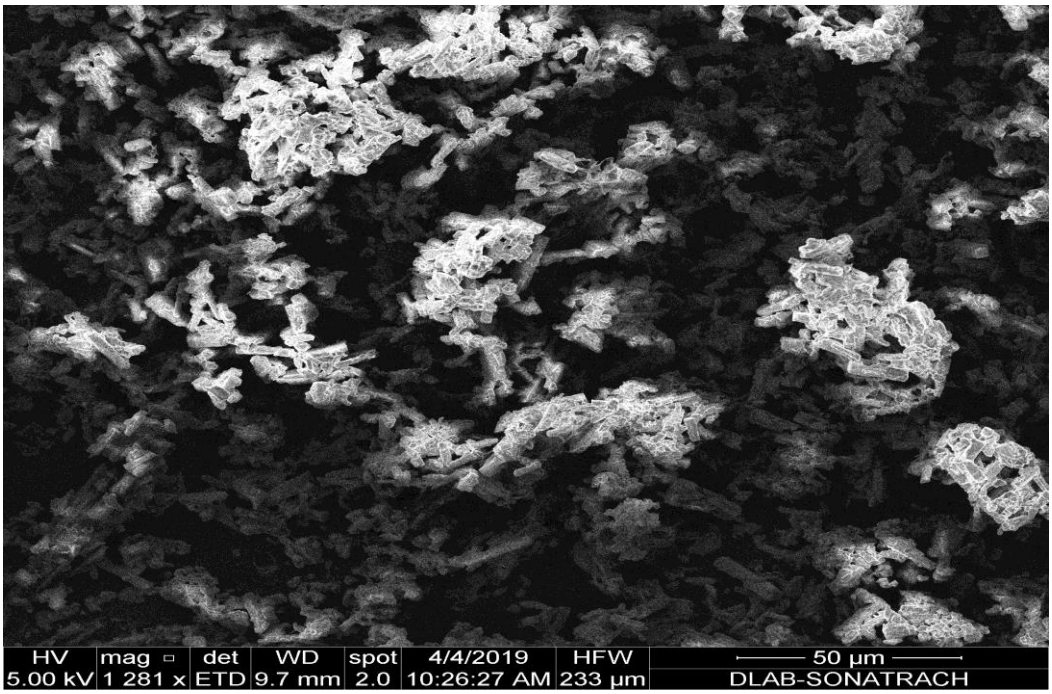


Résultat MEB M4.

Annexe VII : Résultats MEB

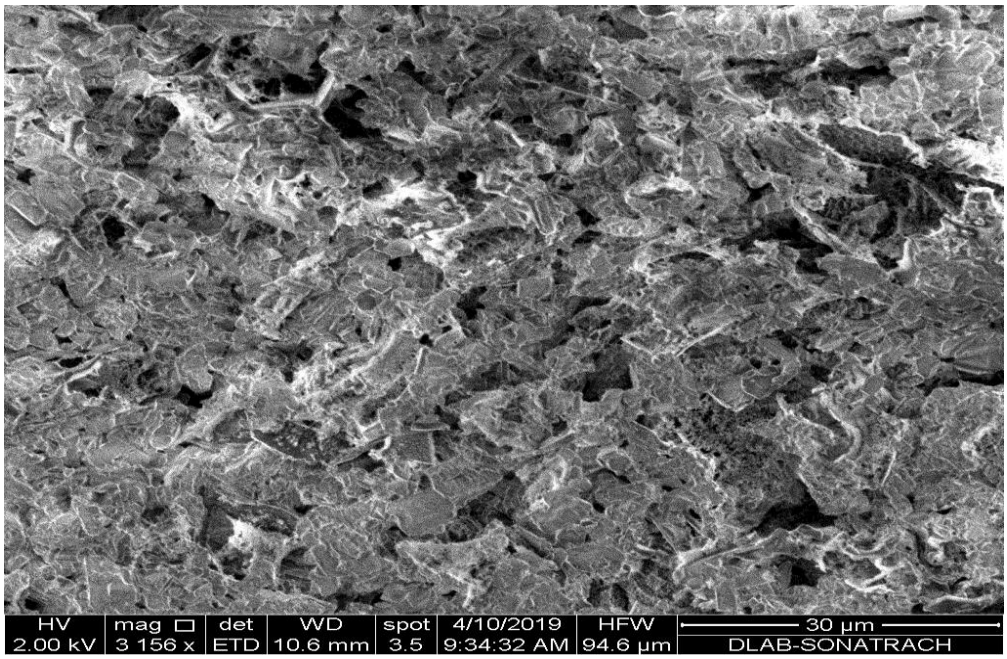


Résultat MEB M5.

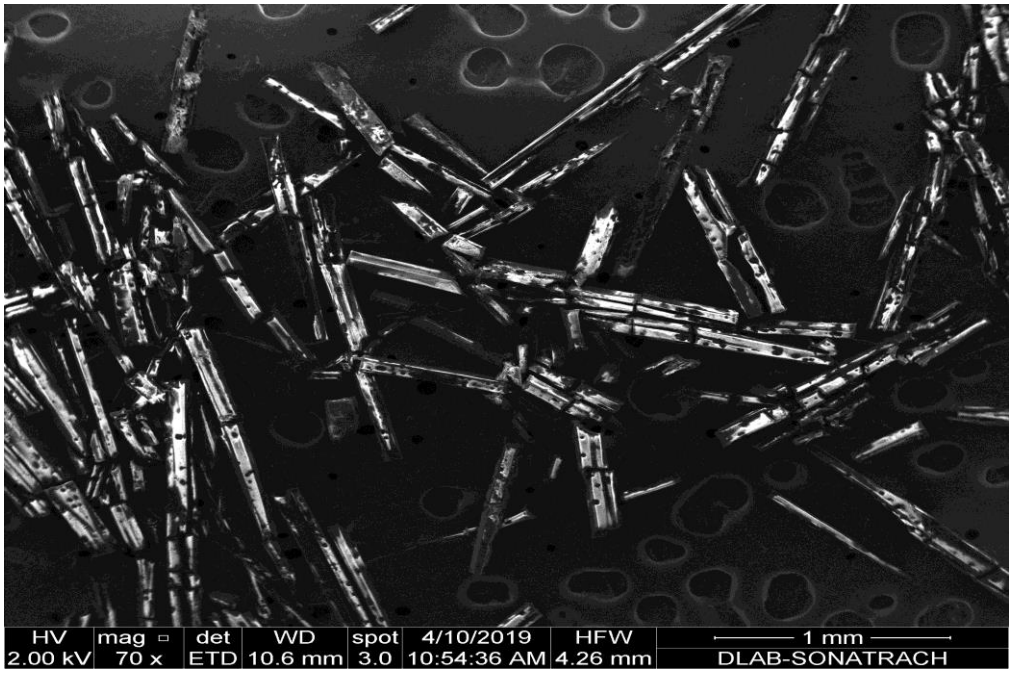


Résultat MEB M6.

Annexe VII : Résultats MEB

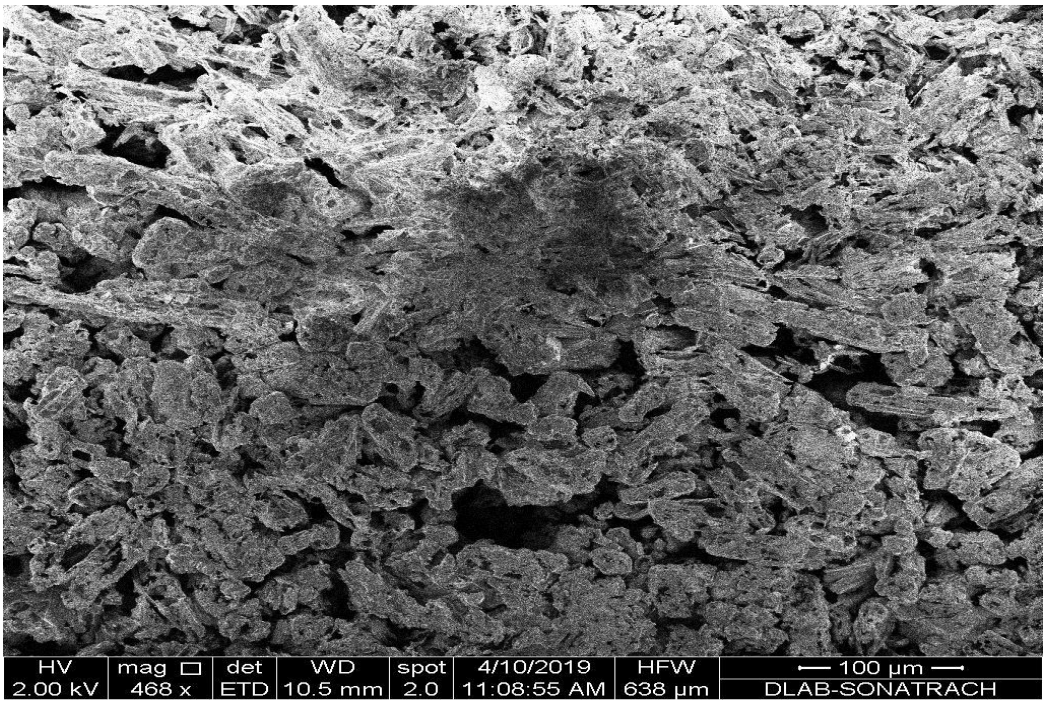


Résultat MEB M7.

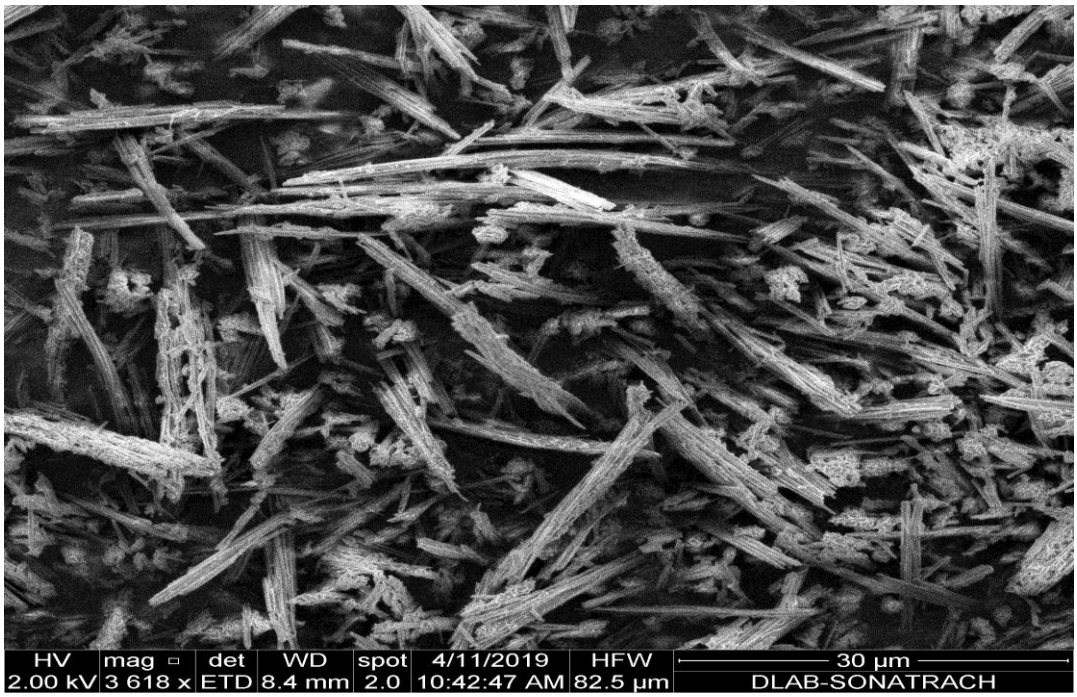


Résultat MEB M8.

Annexe VII : Résultats MEB

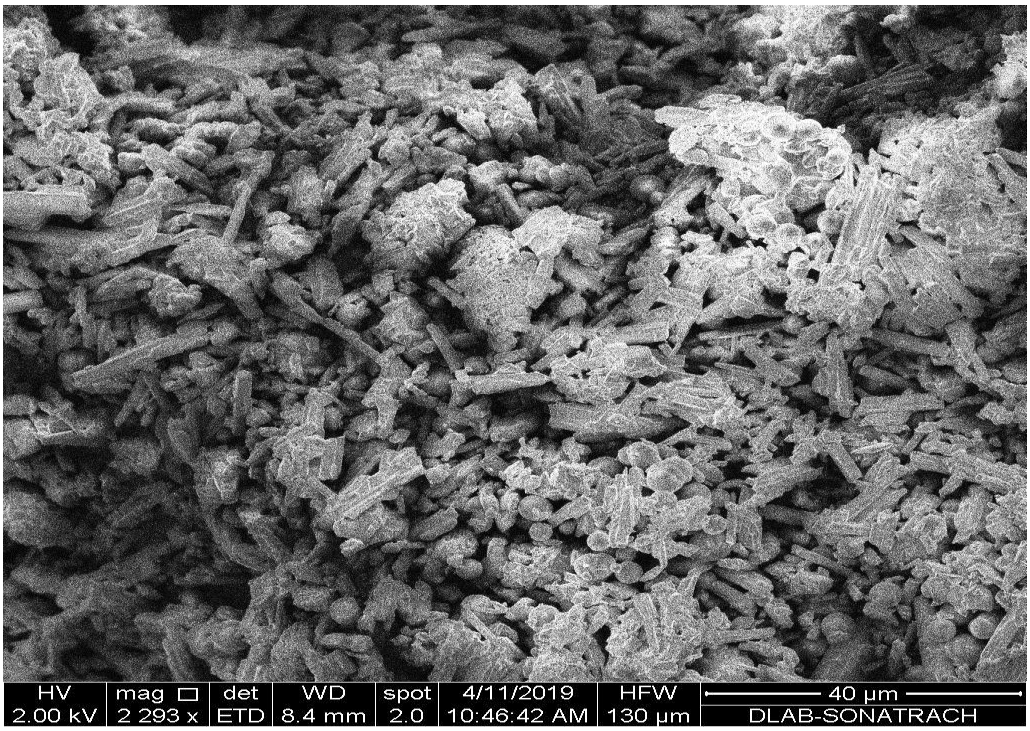


Résultat MEB M9.

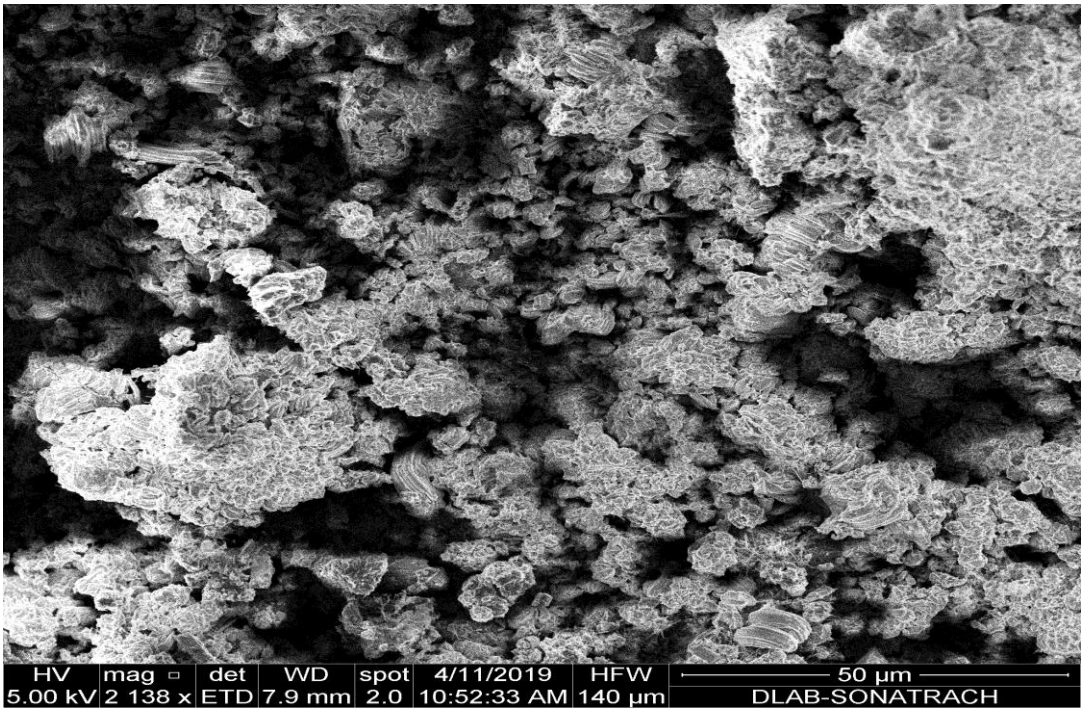


Résultat MEB M10.

Annexe VII : Résultats MEB

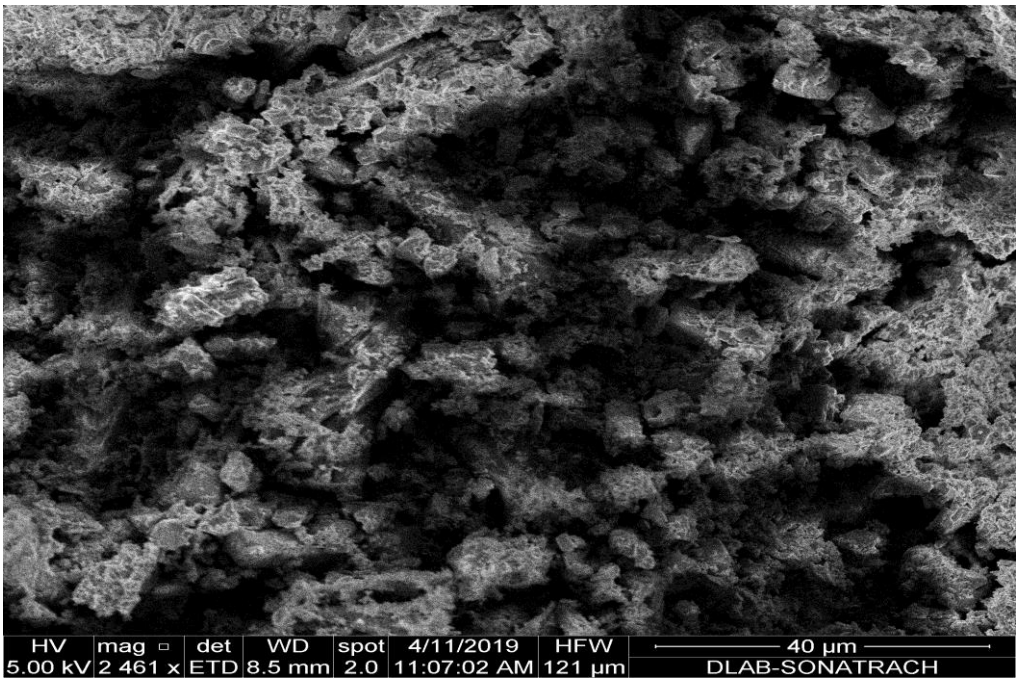


Résultat MEB M11.



Résultat MEB M12.

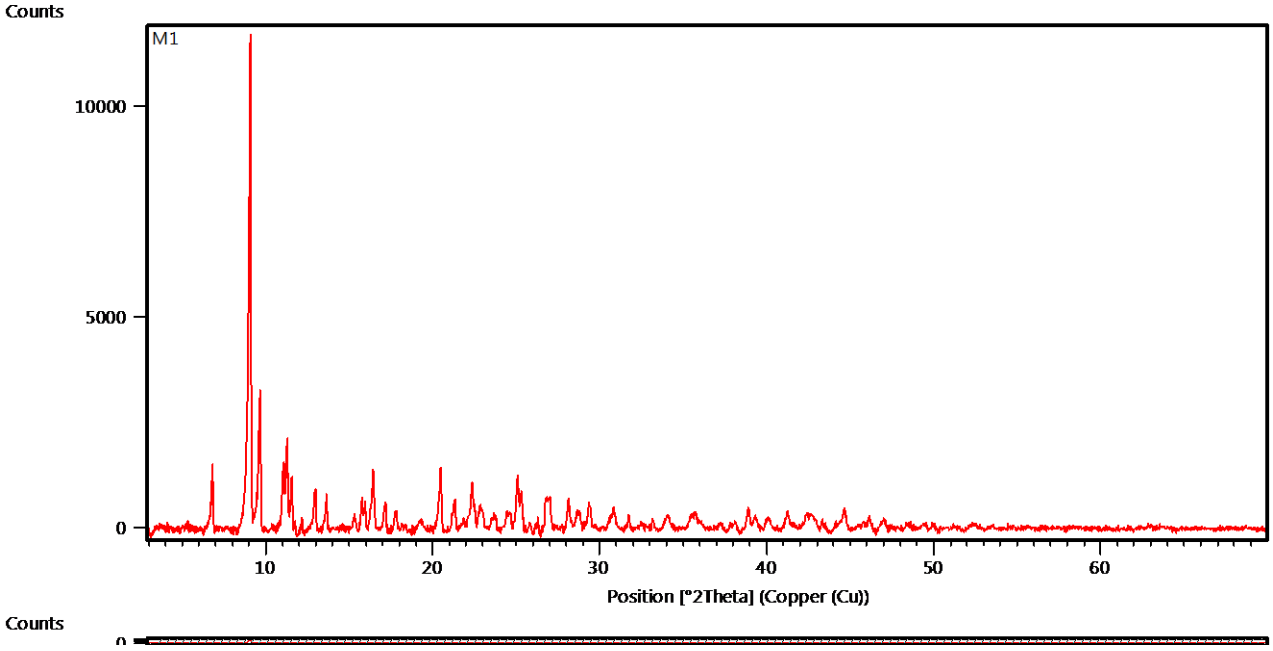
Annexe VII : Résultats MEB



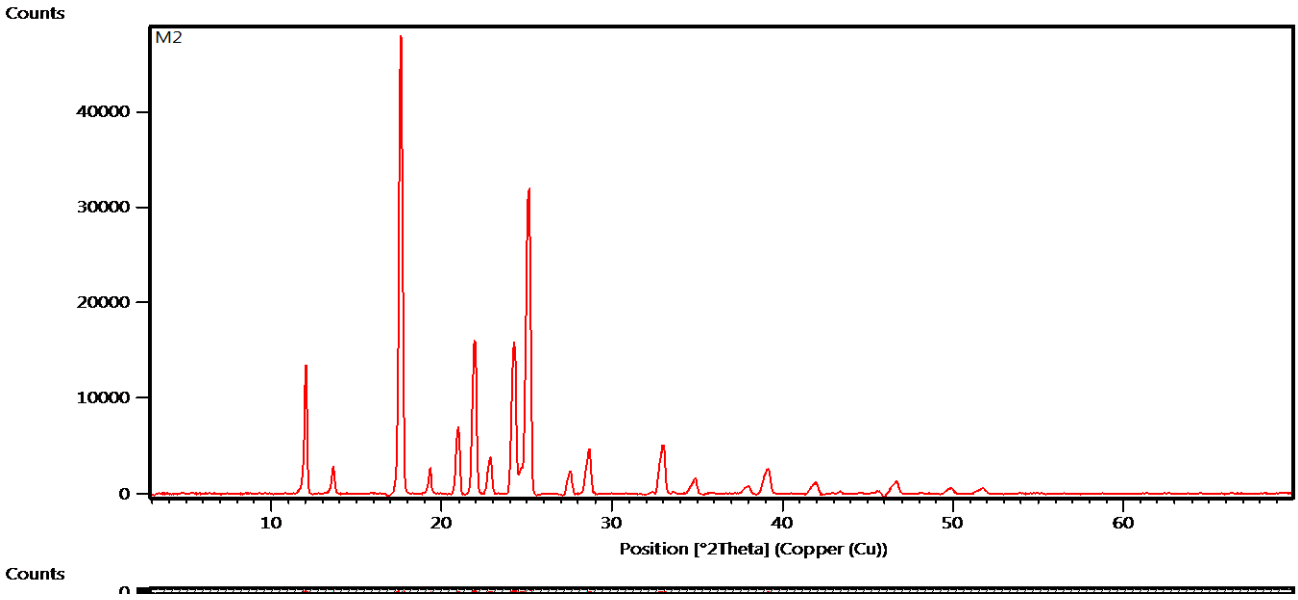
Résultat MEB M13.

ANNEXE VIII: Résultats DRX

Annexe VIII : Résultats DRX

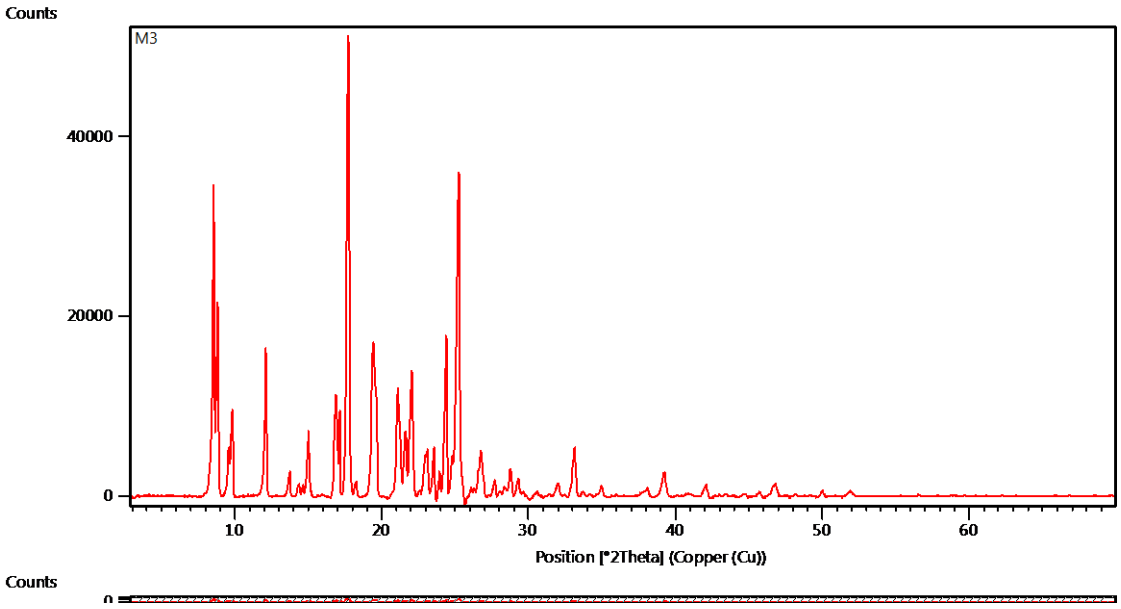


Diffractogramme M1.

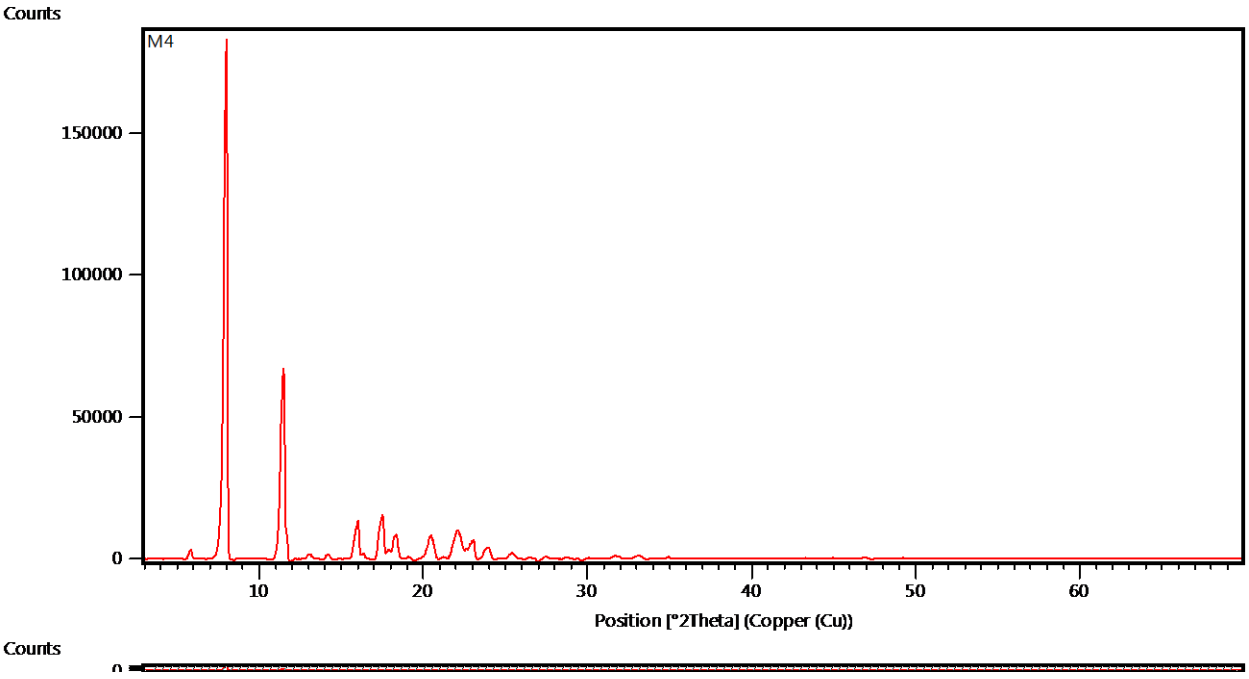


Diffractogramme M2.

Annexe VIII : Résultats DRX

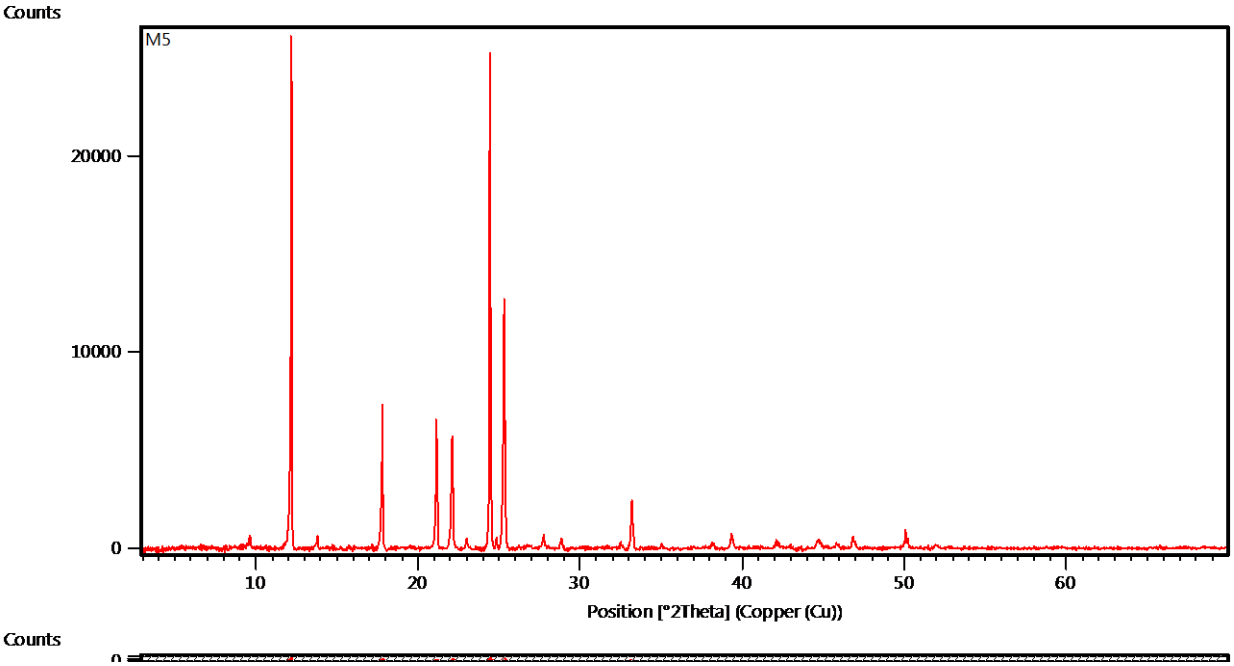


Diffractogramme M3.

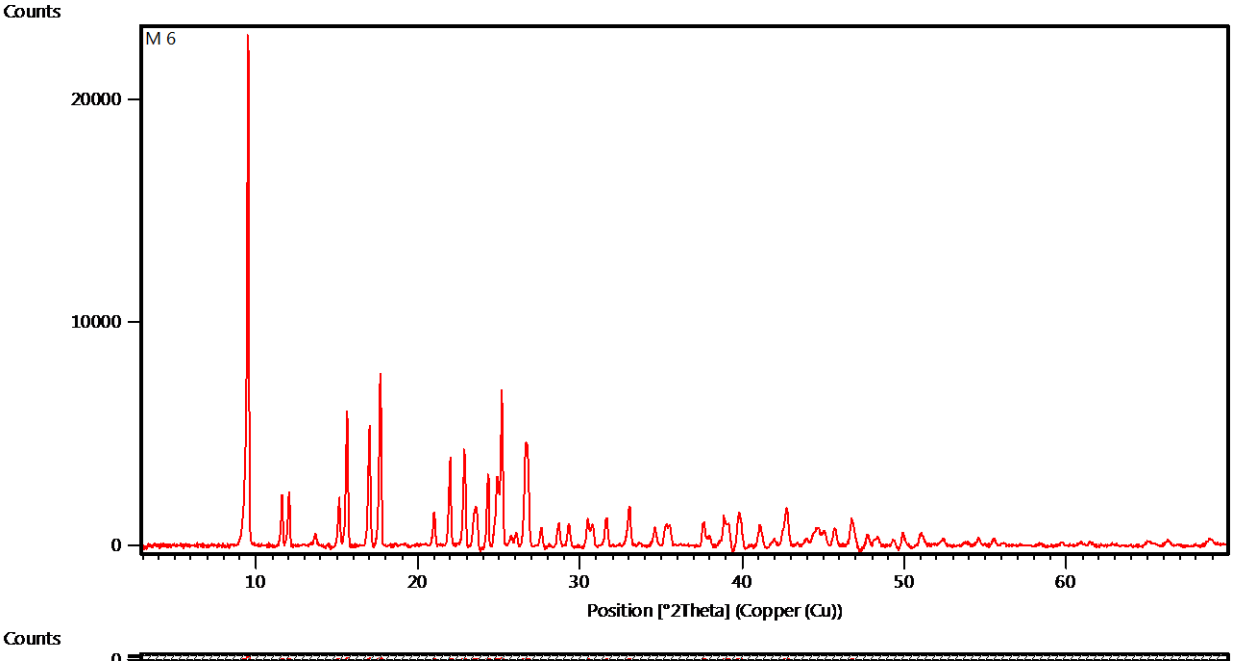


Diffractogramme M4.

Annexe VIII : Résultats DRX

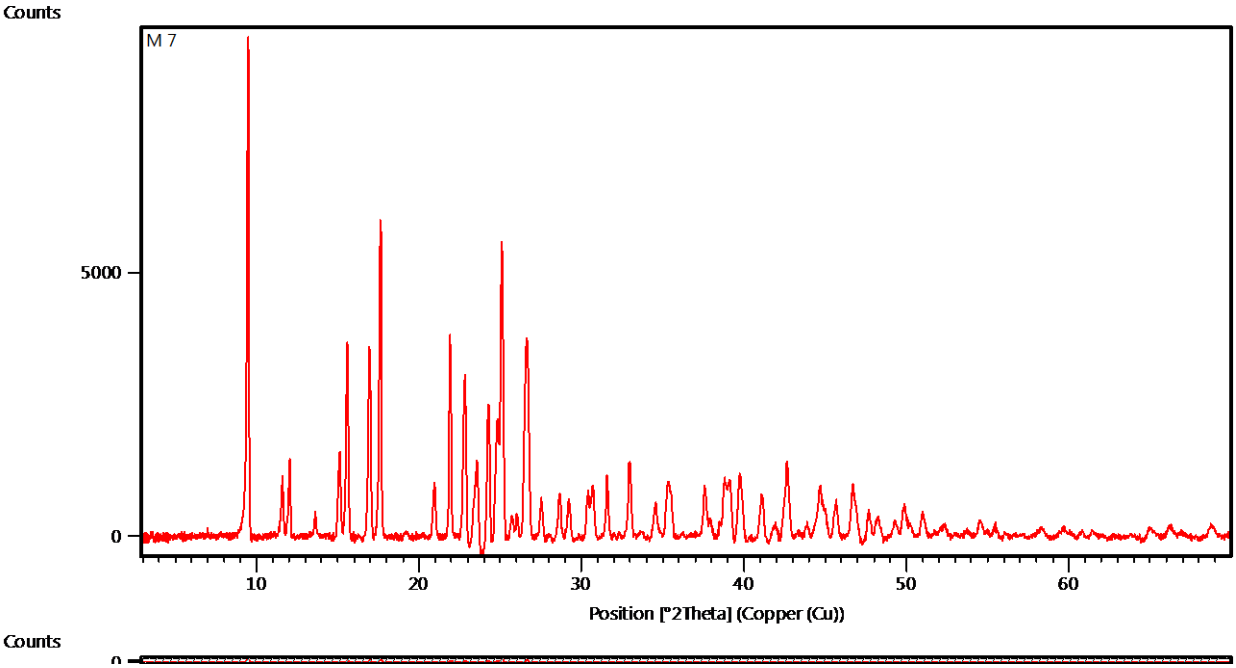


Diffractogramme M5.

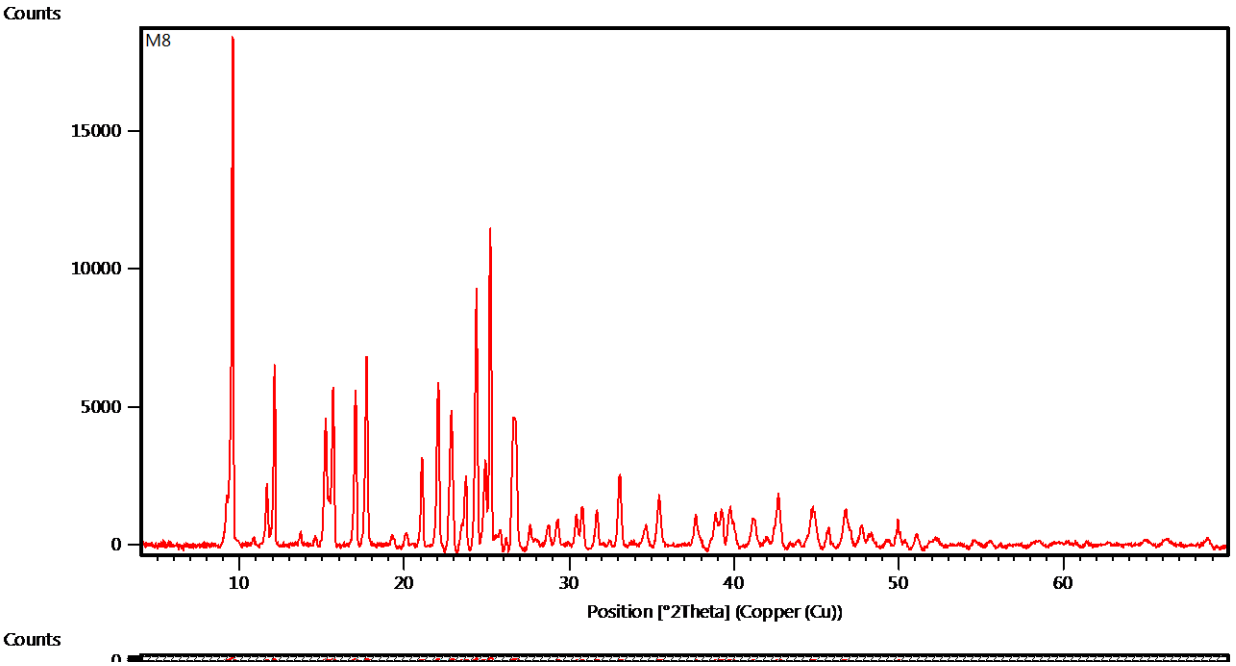


Diffractogramme M6.

Annexe VIII : Résultats DRX

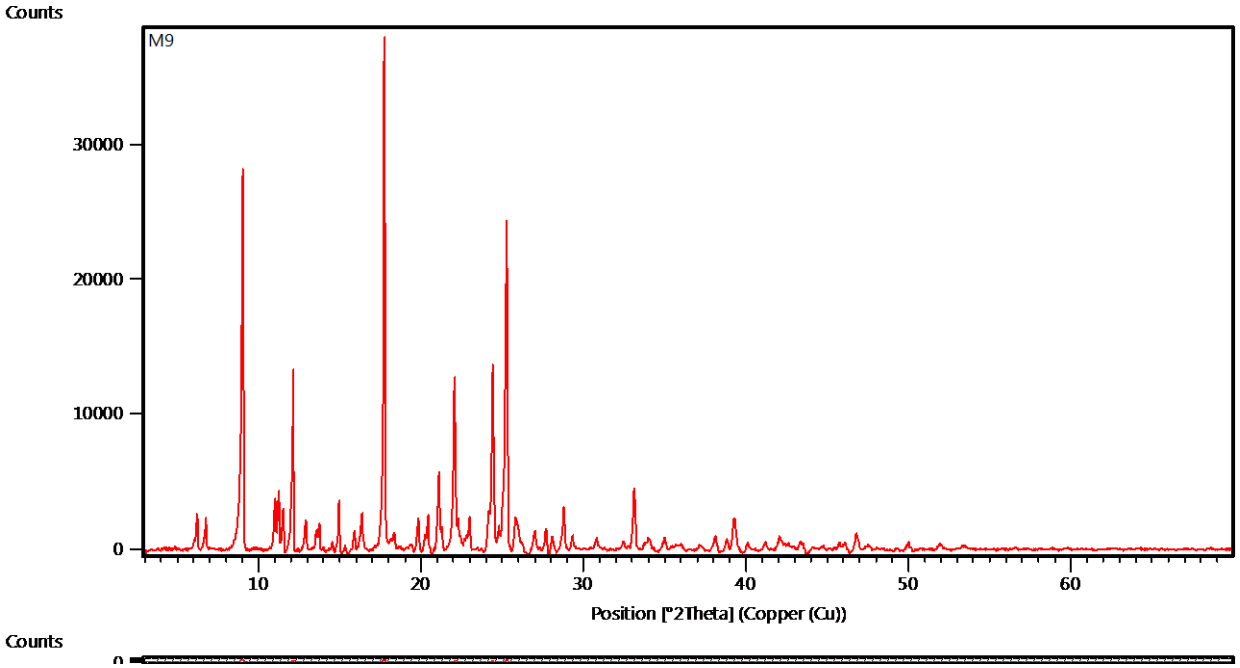


Diffractogramme M7.

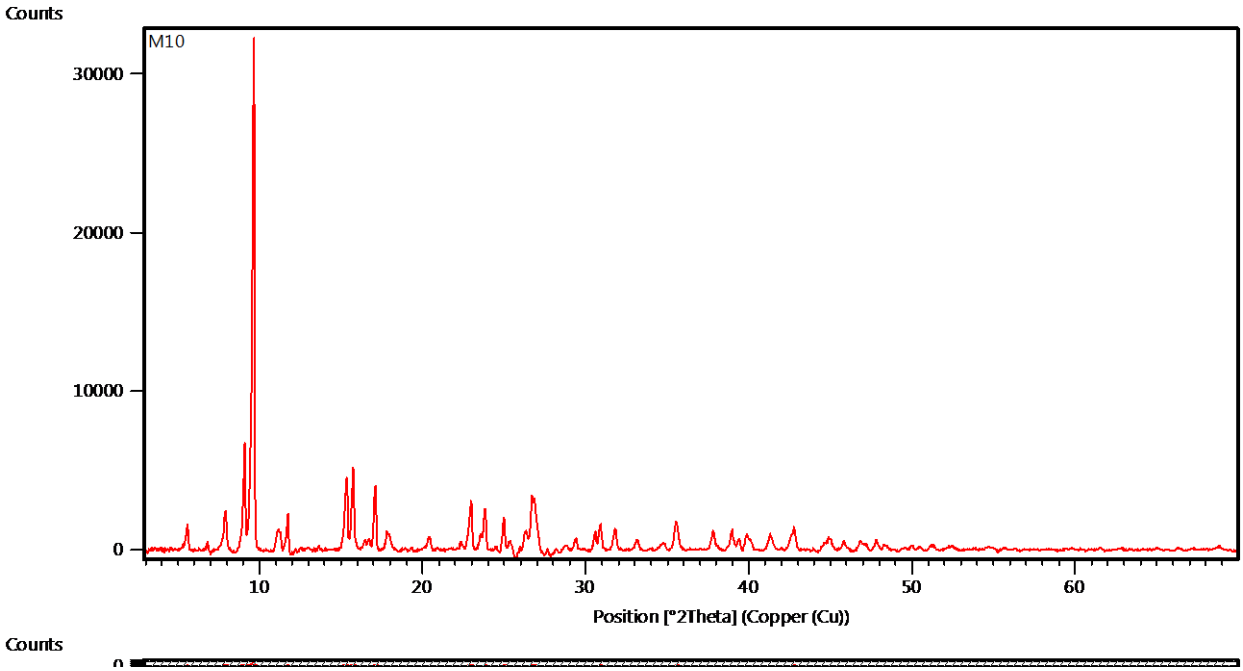


Diffractogramme M8.

Annexe VIII : Résultats DRX

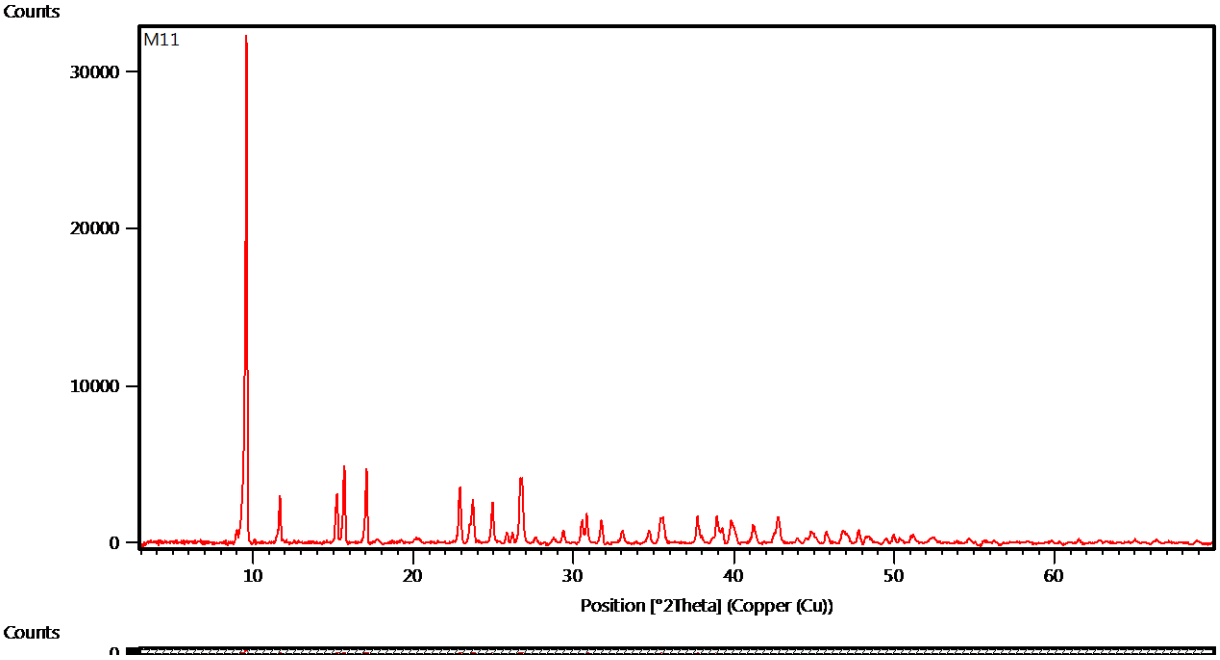


Diffractogramme M9.

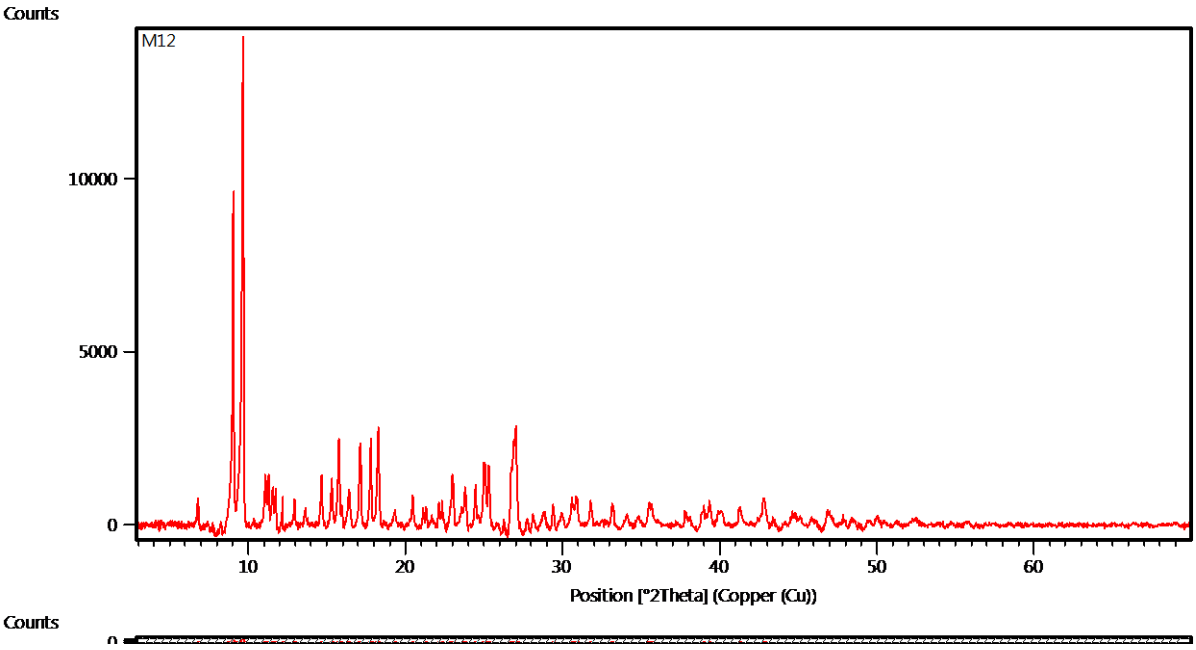


Diffractogramme M10.

Annexe VIII : Résultats DRX

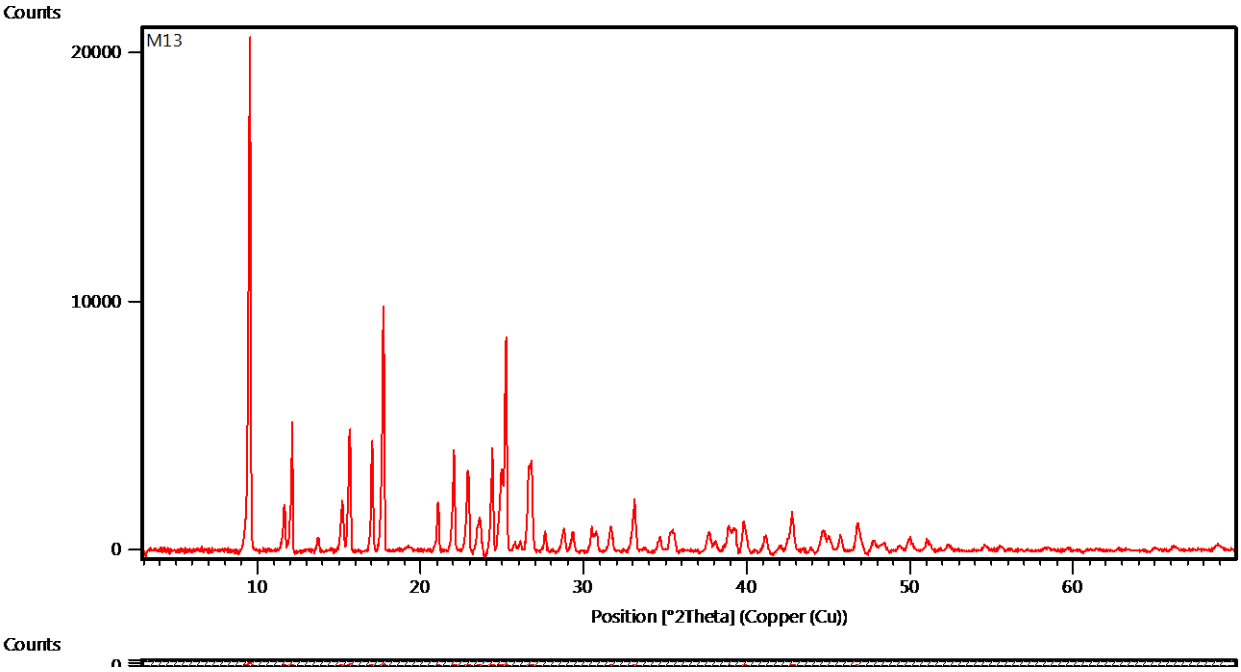


Diffractogramme M11.

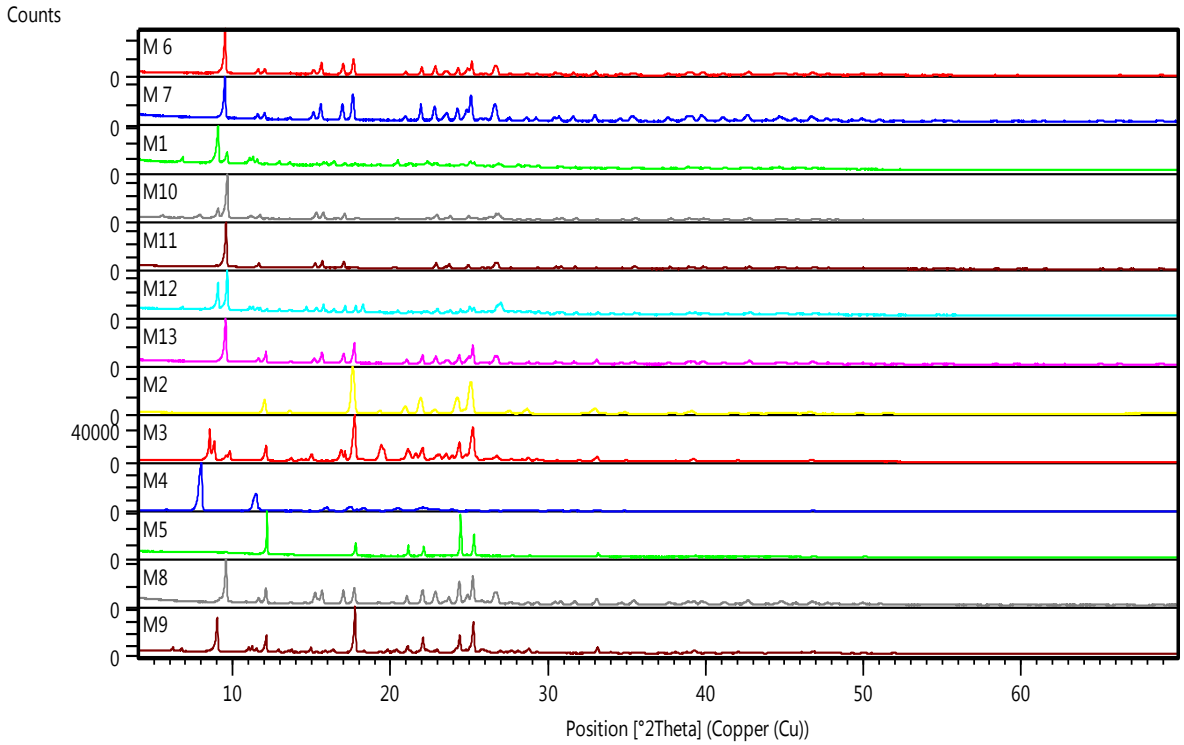


Diffractogramme M12.

Annexe VIII : Résultats DRX



Diffractogramme M13.



Superposition des diffractogrammes M1-M13.

ANNEXE IX: Table d'interprétation API *Candida*

Annexe IX : Table d'interprétation API Candida

Table d'interprétation API *Candida* [229].

api® Candida 08159H - XL - 2006/02

LISTE DES PROFILS NUMÉRIQUES / LIST OF NUMERICAL PROFILES / LISTE DER NUMERISCHEN PROFILE / LISTA DE PERFILES NUMÉRICOS / LISTA DEI PROFILI NUMERICI / LISTA DE PERFIS NUMÉRICOS / ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΩΝ ΠΡΟΦΙΛ / LISTA ÖVER NUMERISKA PROFILER / LISTE OVER NUMERISKE PROFILER / LISTA PROFILI NUMERYCZNYCH

0 403 *Trichosporon* spp 2
0 412 *Trichosporon* spp 2
0 413 *Trichosporon* spp 2
0 417 *Trichosporon* spp 2
1 000 *Candida krusei* * (2)
1 010 *Candida krusei* * (2)
1 100 *Candida glabrata*
1 300 *Candida glabrata*
1 402 *Trichosporon* spp 2
1 403 *Trichosporon* spp 2
1 407 *Trichosporon* spp 2
1 412 *Trichosporon* spp 2
1 413 *Trichosporon* spp 2
1 416 *Trichosporon* spp 2
1 417 *Trichosporon* spp 2
1 443 *Trichosporon* spp 2
1 453 *Trichosporon* spp 2
2 403 *Trichosporon* spp 2
2 412 *Trichosporon* spp 2
2 413 *Trichosporon* spp 2
2 417 *Trichosporon* spp 2
3 000 *Geotrichum* spp / *Candida parapsilosis* / *Candida krusei* * (2)
3 001 *Cryptococcus neoformans* 2
3 003 *C. neoformans* 2 / *Trichosporon* spp 2 (1)
3 020 *Geotrichum* spp (2)
3 041 *Cryptococcus neoformans* 2
3 043 *Cryptococcus neoformans* 2
3 051 *Cryptococcus neoformans* 2
3 053 *Cryptococcus neoformans* 2
3 100 *Candida famata* / *Candida glabrata* / *Geotrichum* spp (3)
7 043 *Cryptococcus neoformans* 2
7 051 *C. neoformans* 2 / *C. neoformans* 1
7 053 *C. neoformans* 2 / *Trichosporon* spp 1 / *Cryptococcus neoformans* 1 (1)
7 100 *Candida famata*
7 102 *Candida albicans*
7 104 *Candida famata*
7 110 *Candida tropicalis* / *Candida albicans* (5)
7 112 *Candida albicans*
7 120 *Candida lusitaniae* / *Candida famata* / *Candida guilliermondii* (6)
7 200 *Saccharomyces cerevisiae*
7 204 *Candida kefyr*
7 213 *Trichosporon* spp 1 / *C. neoformans* 1 (1)
7 220 *Candida guilliermondii* ** (6)
7 224 *Candida kefyr*
7 241 *Cryptococcus neoformans* 1
7 243 *C. neoformans* 1 / *C. neoformans* 2 / *Trichosporon* spp 1 (1)
7 251 *Cryptococcus neoformans* 1
7 253 *C. neoformans* 1 / *Trichosporon* spp 1 (1)
7 300 *Saccharomyces cerevisiae*
7 310 *Saccharomyces cerevisiae*
7 312 *Candida albicans*
7 320 *Candida guilliermondii* ** (6)
7 324 *Candida kefyr*
7 341 *Cryptococcus neoformans* 1
7 351 *Cryptococcus neoformans* 1
7 413 *Trichosporon* spp 1 / *Trichosporon* spp 2
7 417 *Trichosporon* spp 1 / *Trichosporon* spp 2
7 420 *Candida lusitaniae* / *Candida guilliermondii* (6)
7 441 *C. neoformans* 1 / *C. neoformans* 2

3 241 *C. neoformans* 1 / *C. neoformans* 2
3 251 *Cryptococcus neoformans* 1
3 402 *Trichosporon* spp 2
3 403 *Trichosporon* spp 2
3 407 *Trichosporon* spp 2
3 412 *Trichosporon* spp 2
3 413 *Trichosporon* spp 2
3 416 *Trichosporon* spp 2
3 417 *Trichosporon* spp 2
3 443 *Trichosporon* spp 2 / *C. neoformans* 2 (1)
3 453 *Trichosporon* spp 2
3 641 *Cryptococcus neoformans* 1
3 651 *Cryptococcus neoformans* 1
3 653 *Trichosporon* spp 1 / *C. neoformans* 1 / *Trichosporon* spp 2 (1)
5 000 *Candida famata* / *Candida parapsilosis* (3)
5 100 *Candida famata*
5 104 *Candida famata*
5 200 *Saccharomyces cerevisiae*
5 241 *Cryptococcus neoformans* 1
5 243 *Cryptococcus neoformans* 1
5 251 *Cryptococcus neoformans* 1
5 253 *C. neoformans* 1 / *Trichosporon* spp 1 (1)
5 300 *Saccharomyces cerevisiae* / *Candida famata* (4)
5 641 *Cryptococcus neoformans* 1
5 651 *Cryptococcus neoformans* 1
5 653 *Trichosporon* spp 1 / *C. neoformans* 1 (1)
6 653 *Trichosporon* spp 1
7 000 *Candida parapsilosis*
7 001 *Cryptococcus neoformans* 2
7 002 *Candida albicans*
7 003 *Cryptococcus neoformans* 2
7 012 *Candida albicans*
7 041 *C. neoformans* 2 / *C. neoformans* 1
7 453 *Trichosporon* spp 1
7 457 *Trichosporon* spp 1
7 500 *Candida lusitaniae* / *Candida tropicalis* / *Candida famata* (6)
7 510 *Candida tropicalis*
7 512 *Candida albicans*
7 513 *Trichosporon* spp 1
7 520 *Candida lusitaniae*
7 530 *Candida tropicalis*
7 553 *Trichosporon* spp 1
7 557 *Trichosporon* spp 1
7 600 *Candida guilliermondii* ** (6)
7 603 *Trichosporon* spp 1 / *C. neoformans* 1 (1)
7 611 *Trichosporon* spp 1 / *C. neoformans* 1 (1)
7 613 *Trichosporon* spp 1
7 617 *Trichosporon* spp 1
7 620 *Candida guilliermondii* ** (6)
7 641 *Cryptococcus neoformans* 1
7 643 *C. neoformans* 1 / *Trichosporon* spp 1 (1)
7 647 *Trichosporon* spp 1
7 651 *C. neoformans* 1 / *Trichosporon* spp 1 (1)
7 652 *Trichosporon* spp 1
7 653 *Trichosporon* spp 1 / *C. neoformans* 1 (1)
7 657 *Trichosporon* spp 1
7 671 *C. neoformans* 1 / *Trichosporon* spp 1 (1)
7 700 *Candida guilliermondii* ** (6)
7 713 *Trichosporon* spp 1
7 717 *Trichosporon* spp 1
7 720 *Candida guilliermondii* ** (6)
7 741 *Cryptococcus neoformans* 1
7 751 *C. neoformans* 1 / *Trichosporon* spp 1 (1)
7 753 *Trichosporon* spp 1
7 757 *Trichosporon* spp 1

* *Candida inconspicua* / *Candida norvegensis* possible / möglich / posible / possibile / possível / πιθανόν / möjlig / mulig / możliwość

** *Candida famata* possible / möglich / posible / possibile / possível / πιθανόν / möjlig / mulig / możliwość

ANNEXES X: Résultats CMI/CMF

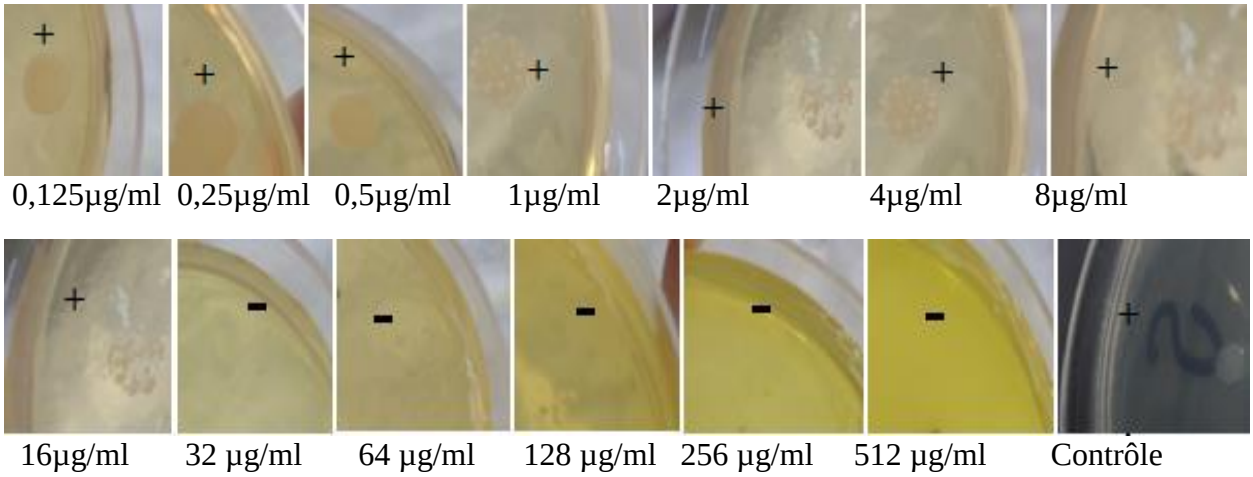
Annexe X : Résultats CMI/CMF

+ : Présence d'une pousse bactérienne ou fongique.

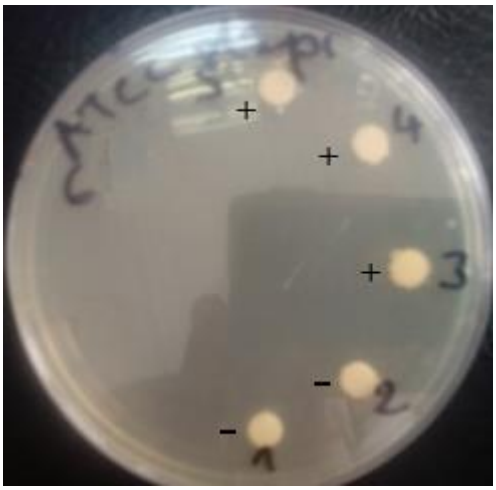
- : Absence de pousse bactérienne ou fongique.

Numérotation des dilutions pour le test de CMF/CMB

Dilutions (µg/ml)	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125
Le numéro pour le test CMF/CMB	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

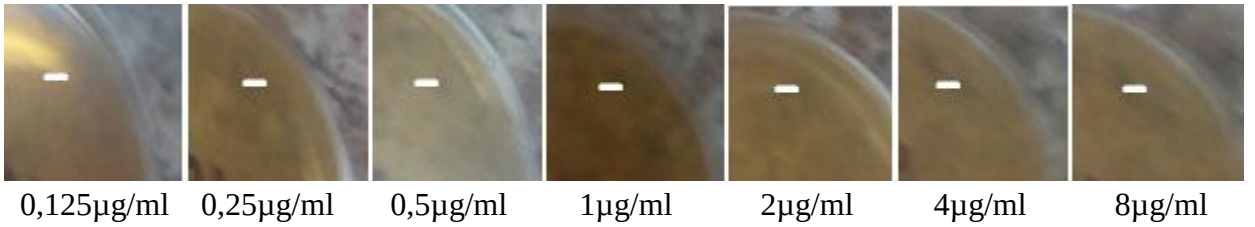


CMI de M12 vis-à-vis du *Staphylococcus aureus*

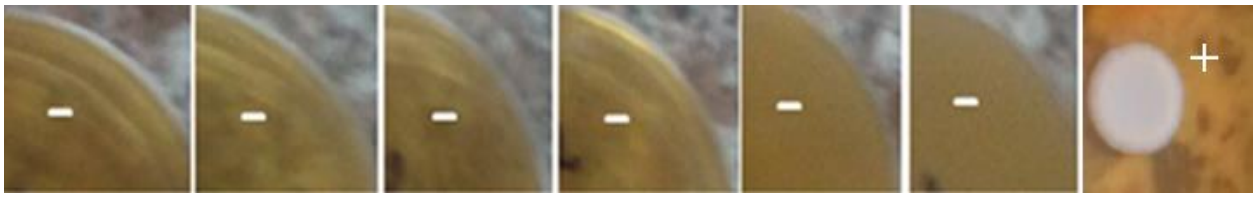


CMF de M12 vis-à-vis du *Staphylococcus aureus*

Annexe X : Résultats CMI/CMF

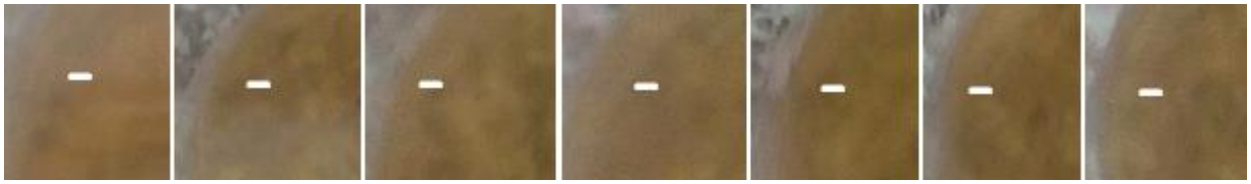


0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml

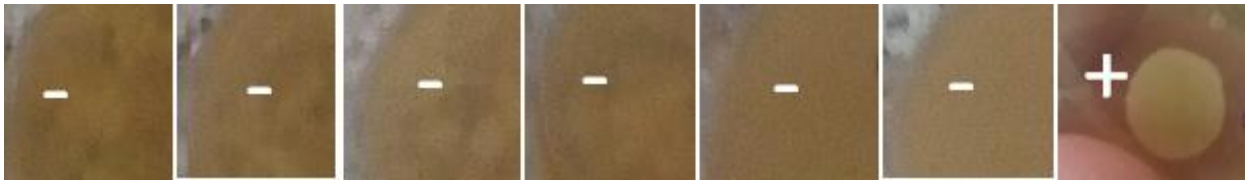


16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M2 vis-à-vis du *Candida albicans*

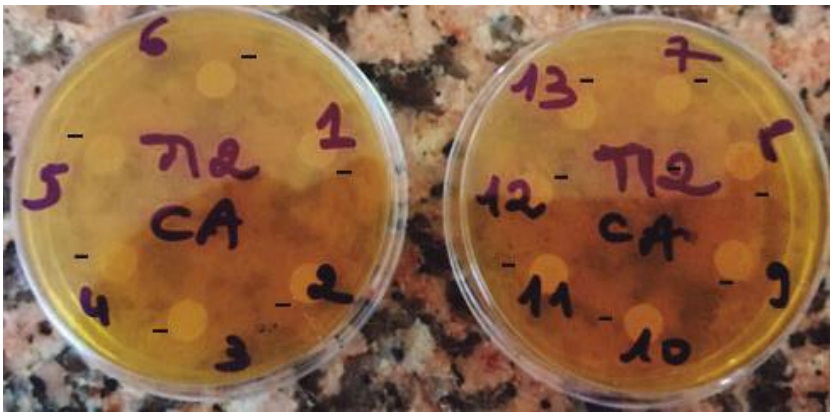


0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml



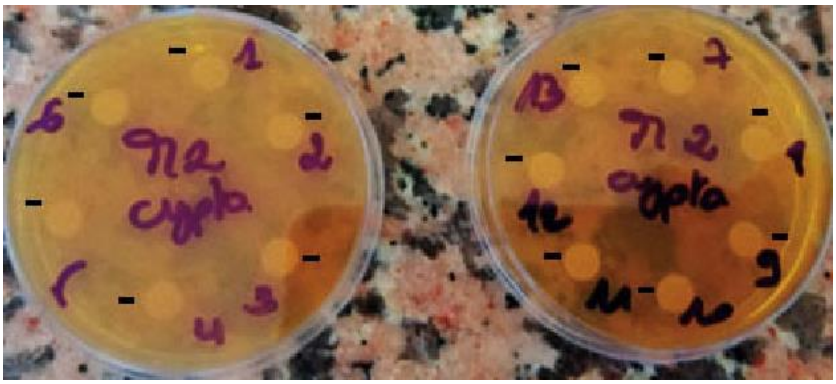
16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M2 vis-à-vis du *Cryptococcus neoformans*

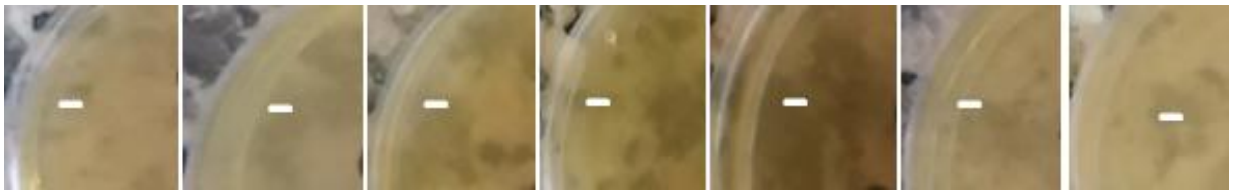


CMF de M2 vis-à-vis du *Candida albicans*

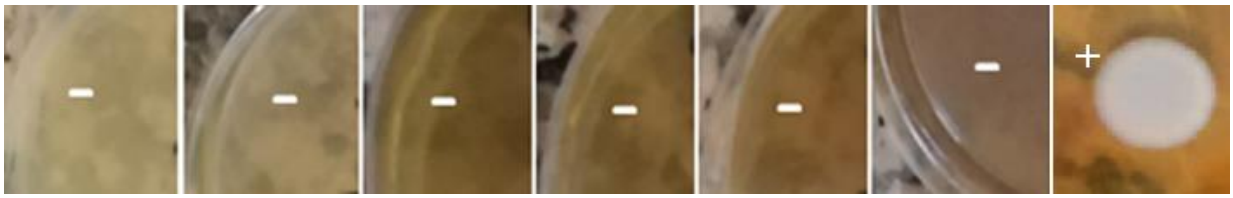
Annexe X : Résultats CMI/CMF



CMF de M2 vis-à-vis du *Cryptococcus neoformans*

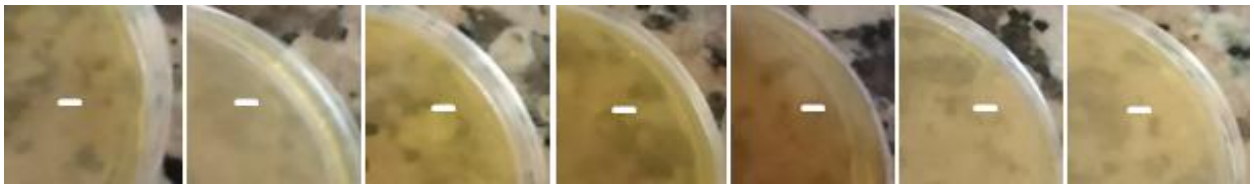


0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml

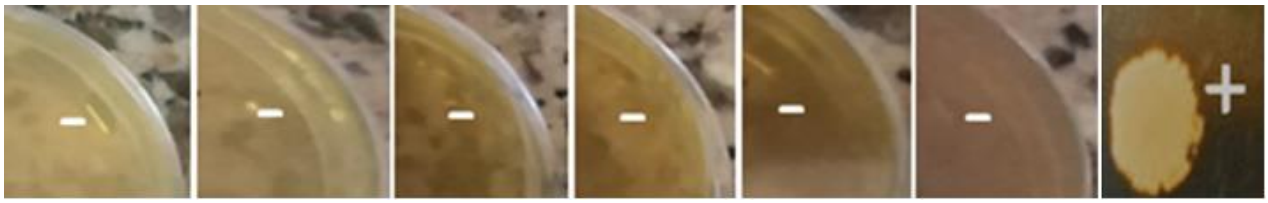


16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M5 vis-à-vis du *Candida albicans*



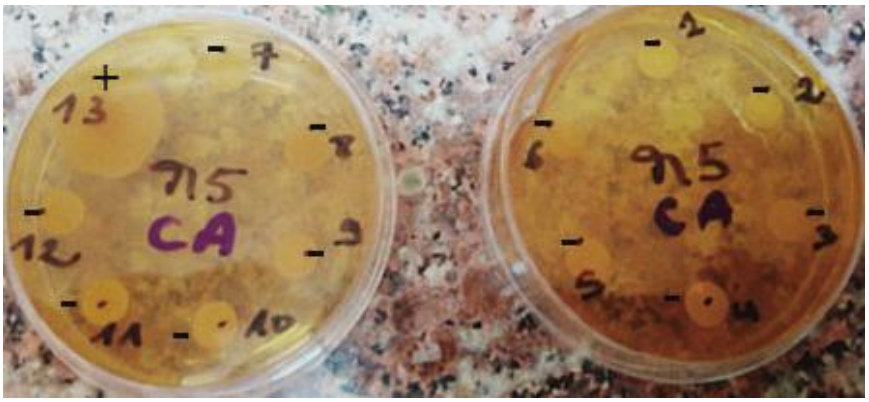
0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml



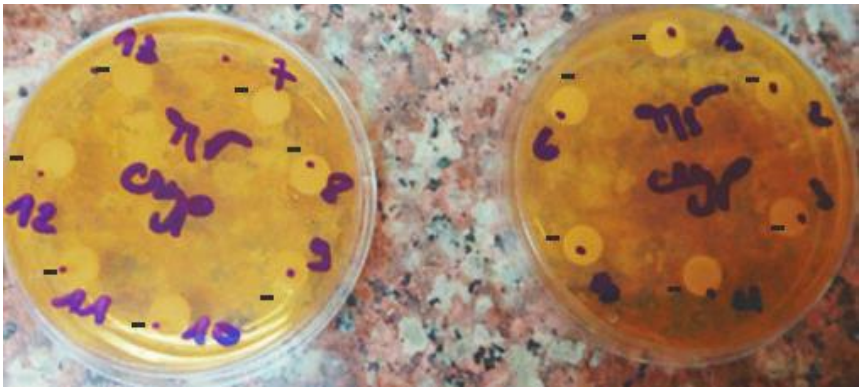
16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M5 vis-à-vis du *Cryptococcus neoformans*

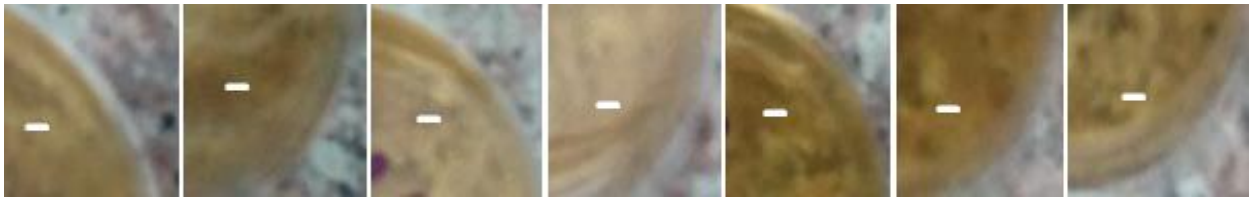
Annexe X : Résultats CMI/CMF



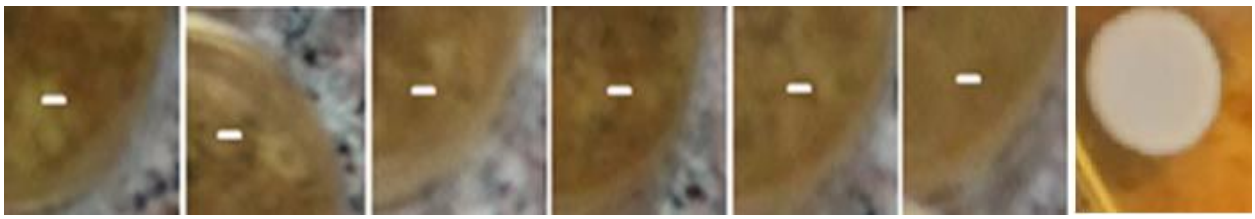
CMF de M5 vis-à-vis du *Candida albicans*



CMF de M5 vis-à-vis du *Cryptococcus neoformans*



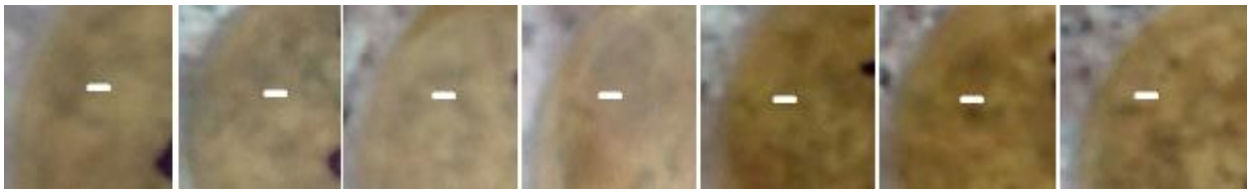
0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml



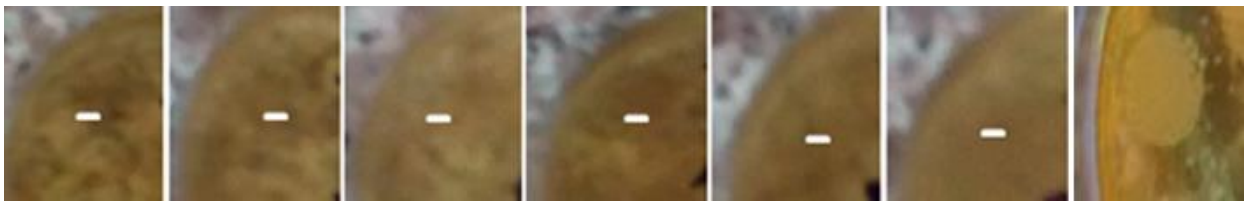
16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M6 vis-à-vis du *Candida albicans*

Annexe X : Résultats CMI/CMF

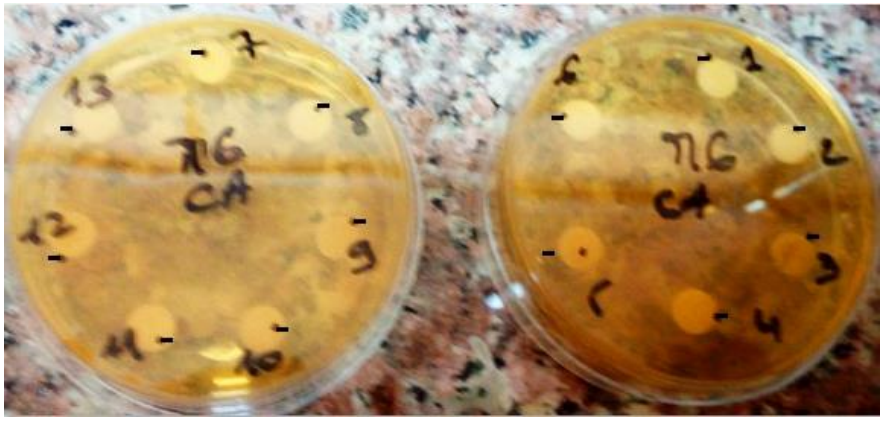


0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml

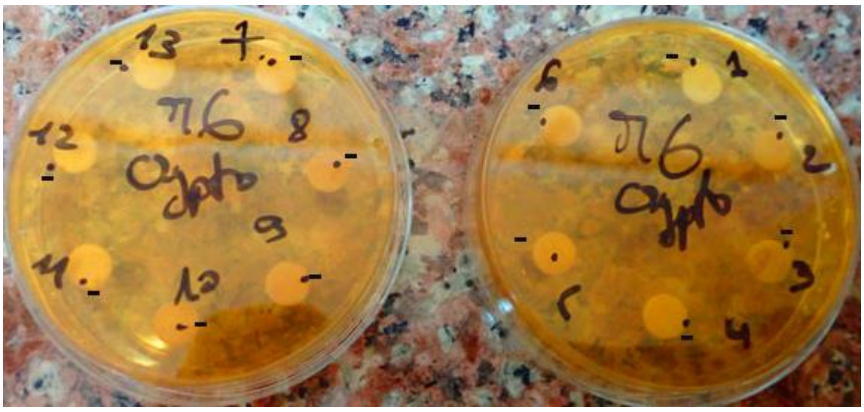


16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M6 vis-à-vis du *Cryptococcus neoformans*

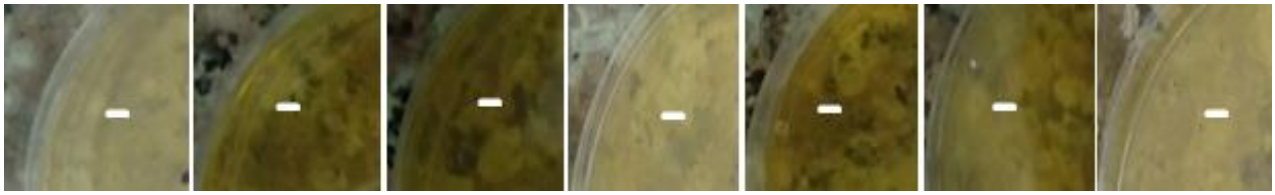


CMF de M6 vis-à-vis du *Candida albicans*

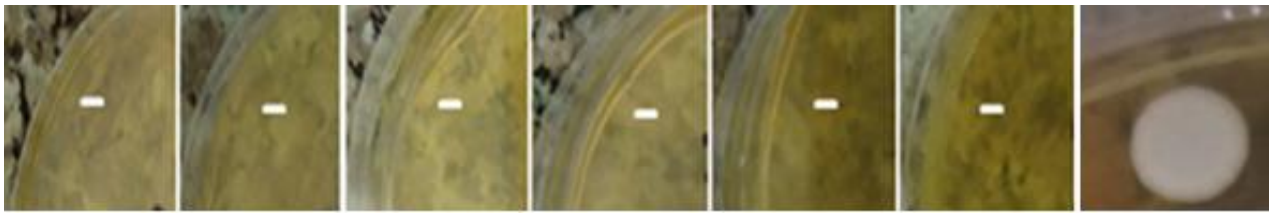


CMF de M6 vis-à-vis du *Cryptococcus neoformans*

Annexe X : Résultats CMI/CMF

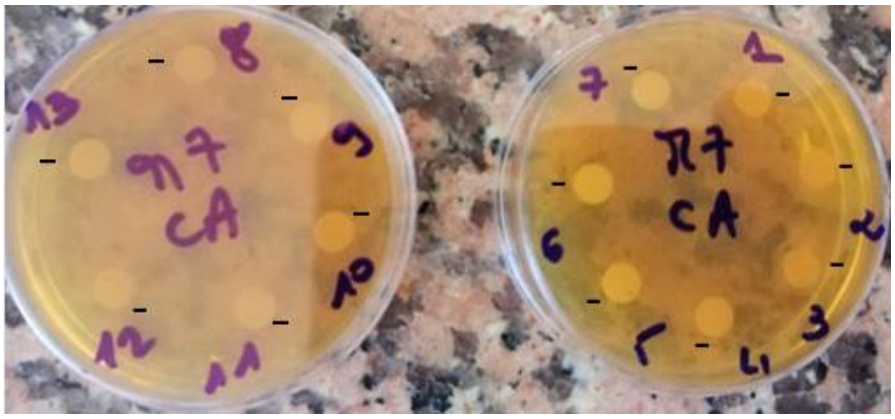


0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml

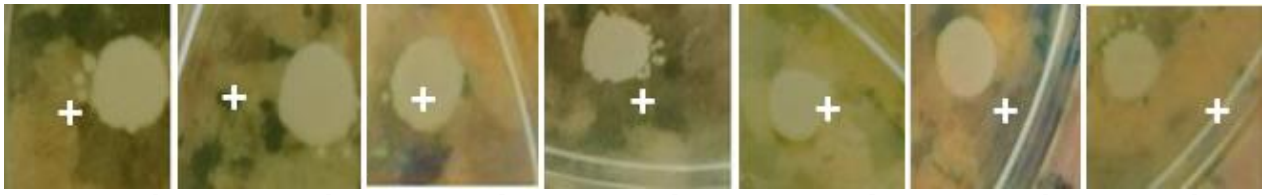


16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M7 vis-à-vis du *Candida albicans*



CMF de M7 vis-à-vis du *Candida albicans*



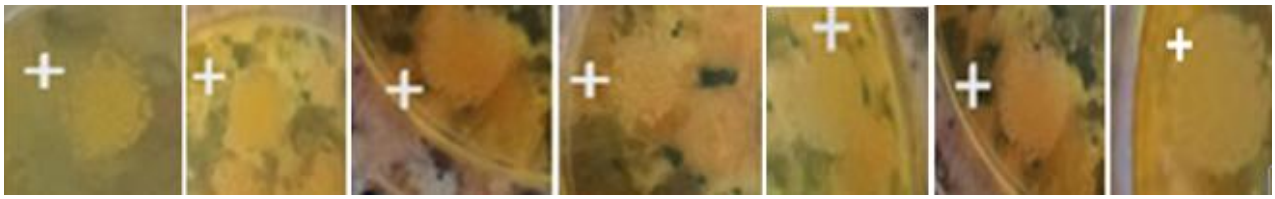
0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml

16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M8 vis-à-vis du *Candida albicans*

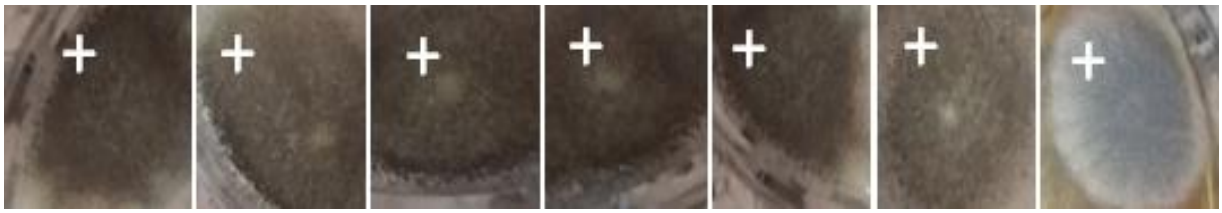
Annexe X : Résultats CMI/CMF

0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml



16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

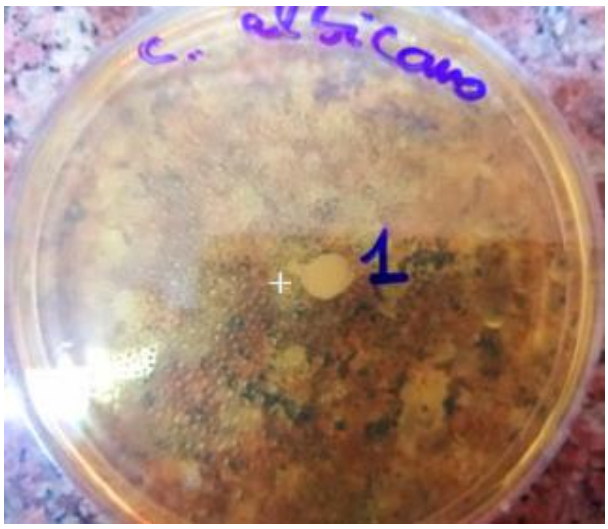
CMI de M8 vis-à-vis du *C. neoformans*



0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml

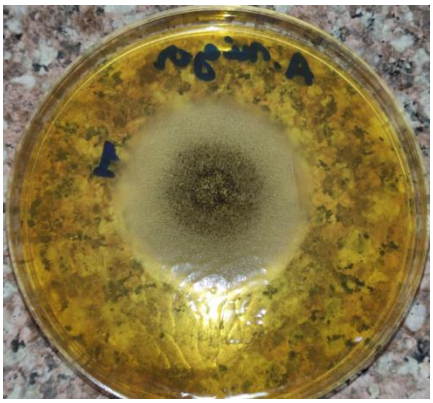
16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M8 vis-à-vis de l'*Aspergillus niger*

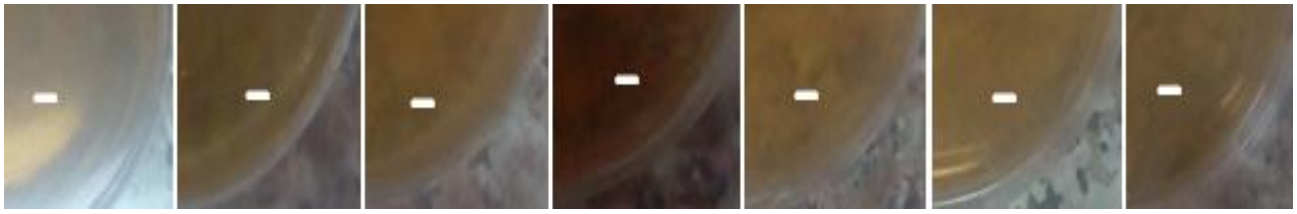


CMF de M8 vis-à-vis du *C. albicans*

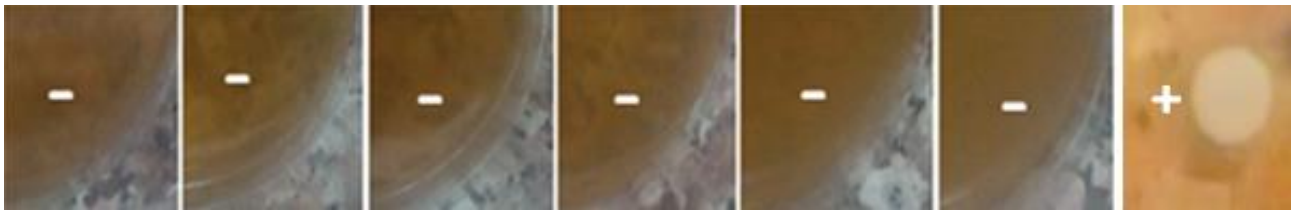
Annexe X : Résultats CMI/CMF



CMF de M8 vis-à-vis de l'*Aspergillus niger*

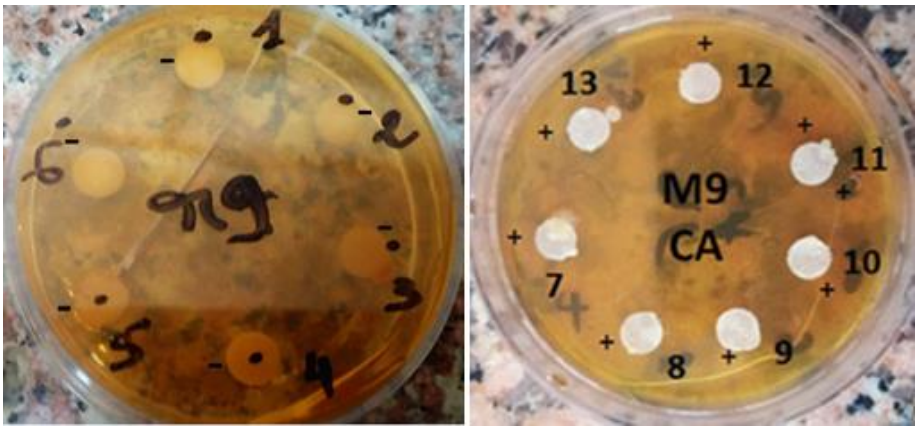


0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml



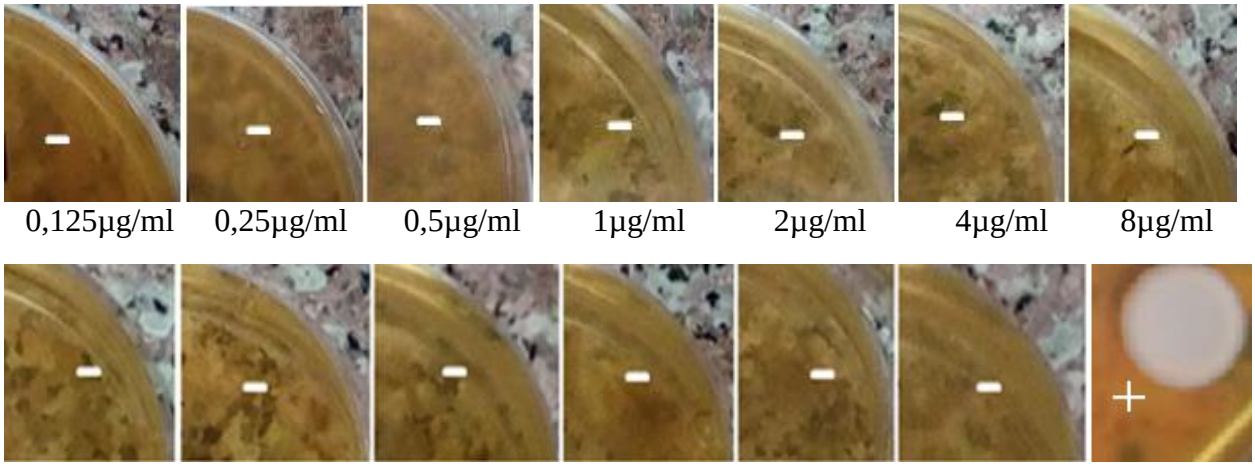
16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M9 vis-à-vis du *C. albicans*



CMF de M9 vis-à-vis du *C. albicans*

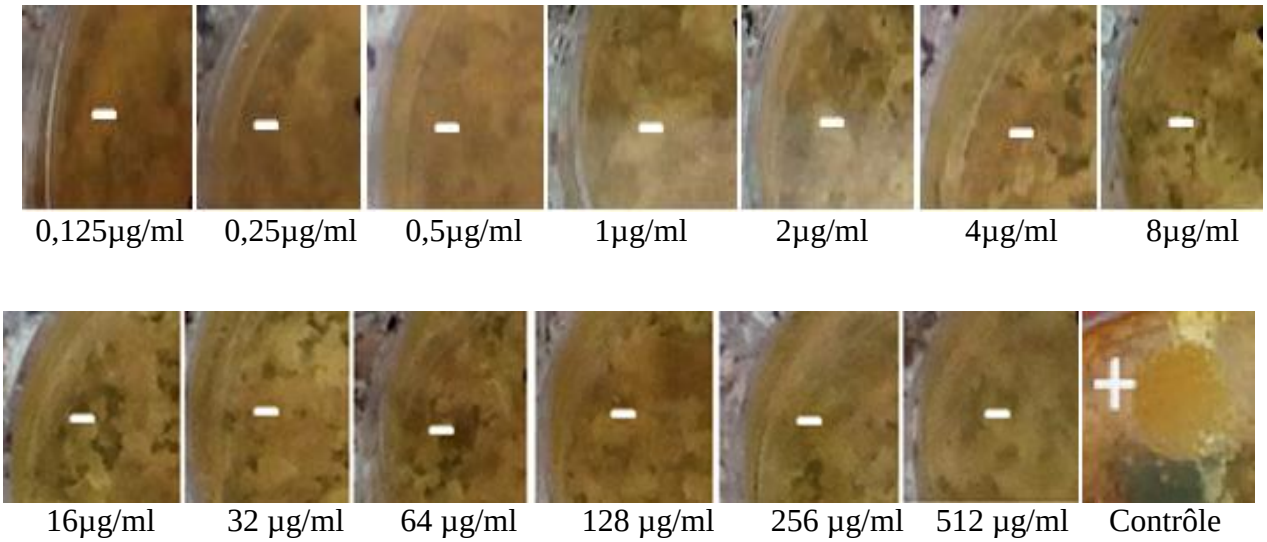
Annexe X : Résultats CMI/CMF



0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml

16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

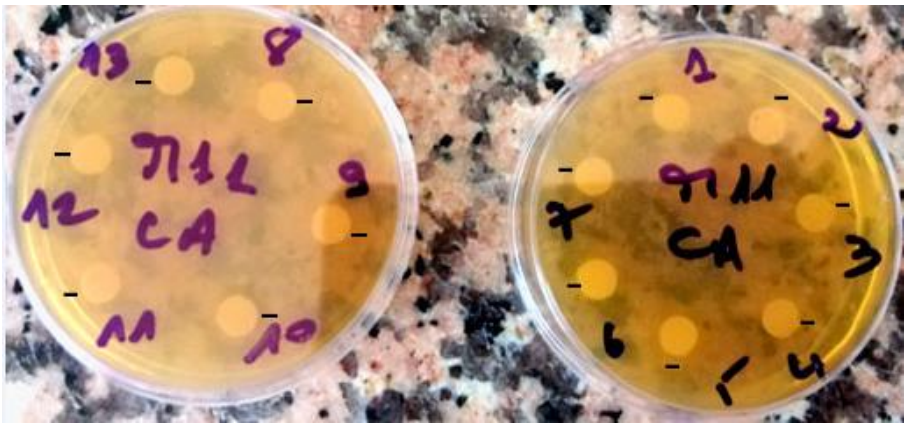
CMI de M11 vis-à-vis du *C. albicans*



0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml

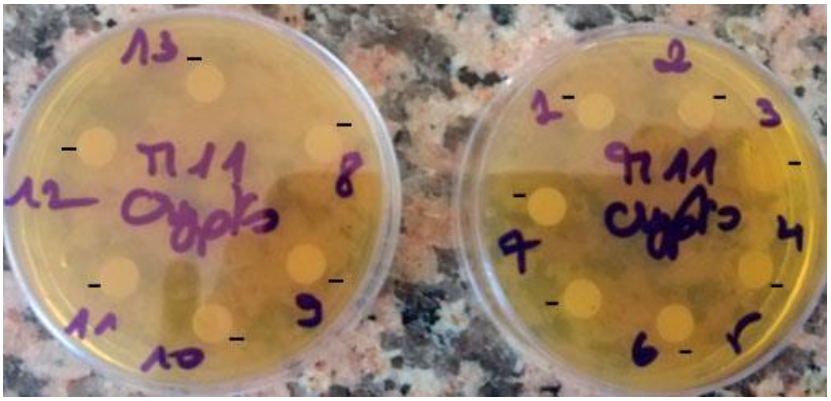
16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M11 vis-à-vis du *C. neoformans*

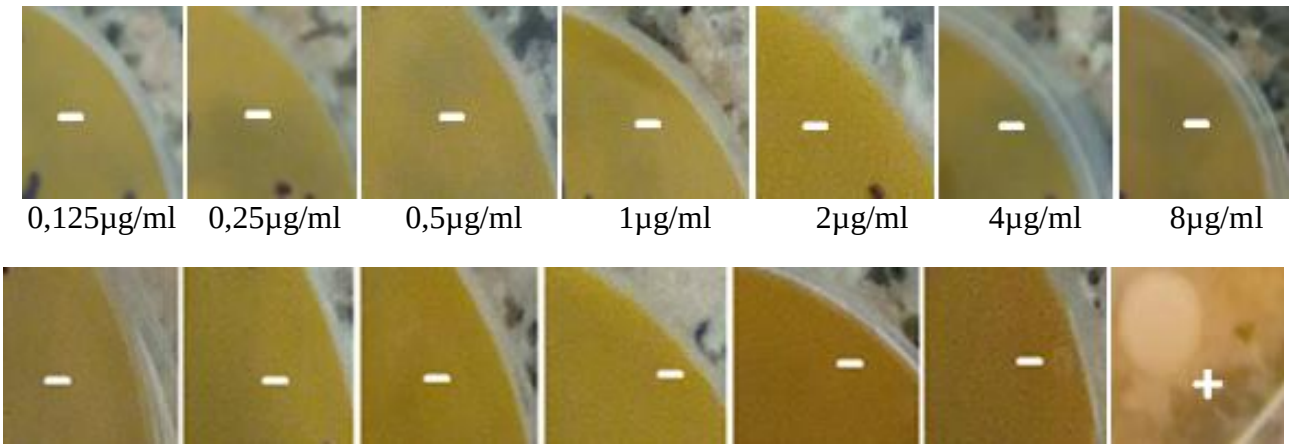


CMF de M11 vis-à-vis du *C. albicans*

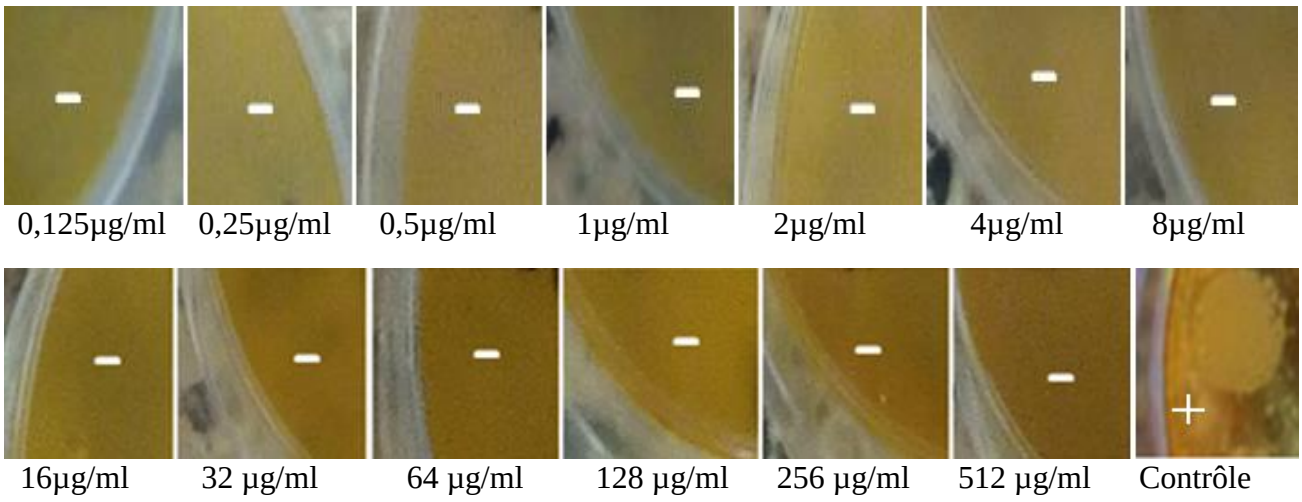
Annexe X : Résultats CMI/CMF



CMF de M11 vis-à-vis du *C. neoformans*

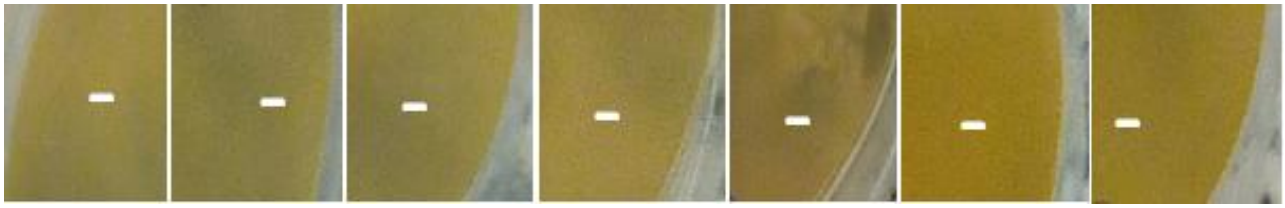


CMI de M12 vis-à-vis du *C. albicans*

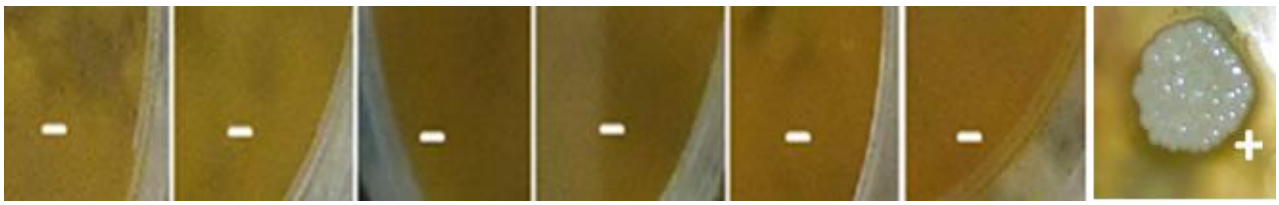


CMI de M12 vis-à-vis du *C. neoformans*

Annexe X : Résultats CMI/CMF

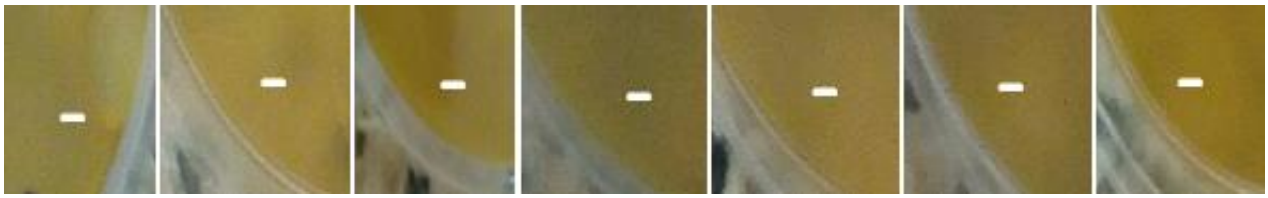


0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml

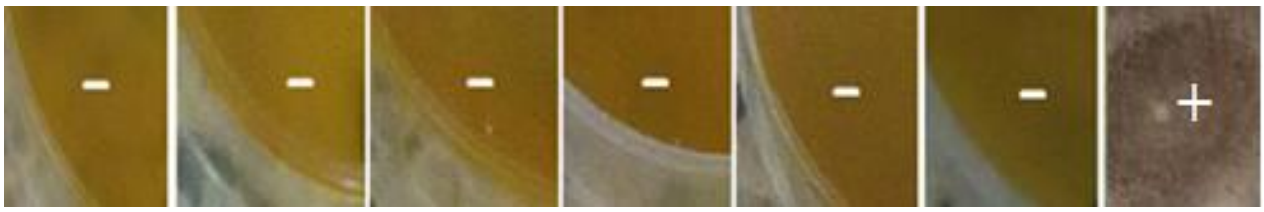


16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M12 vis-à-vis de *Trichosporon sp.*

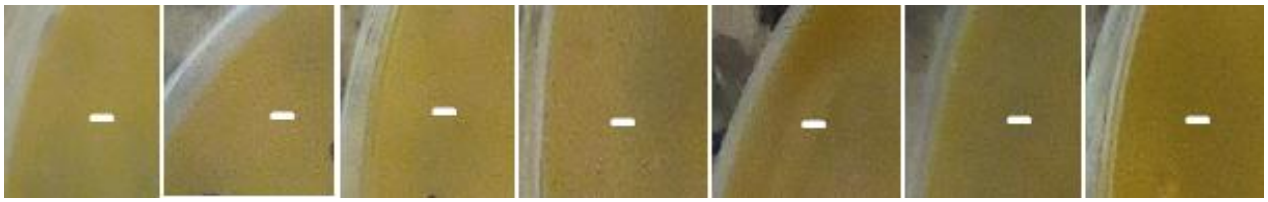


0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml

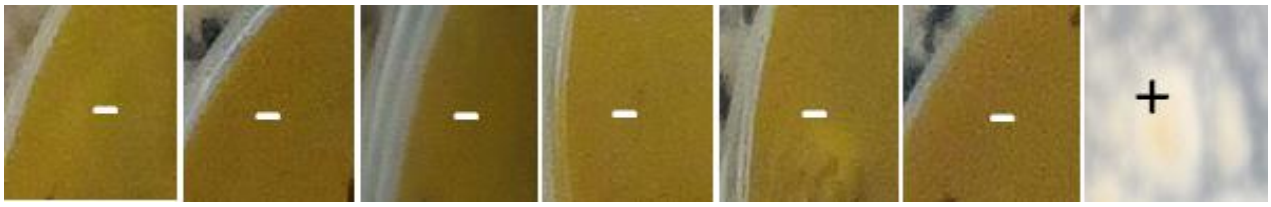


16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M12 vis-à-vis d'*Aspergillus niger*



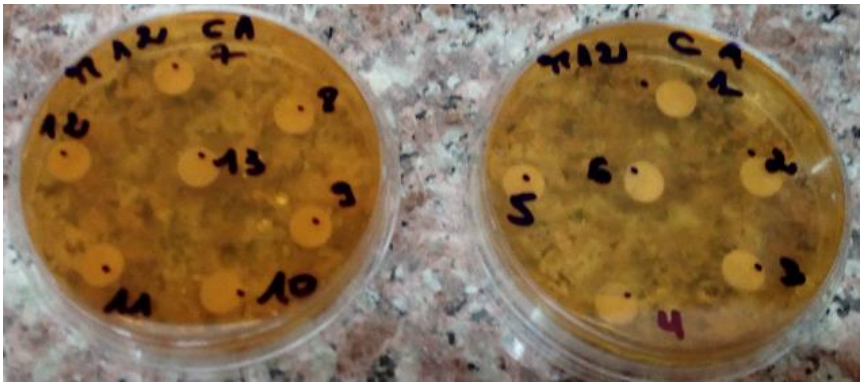
0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml



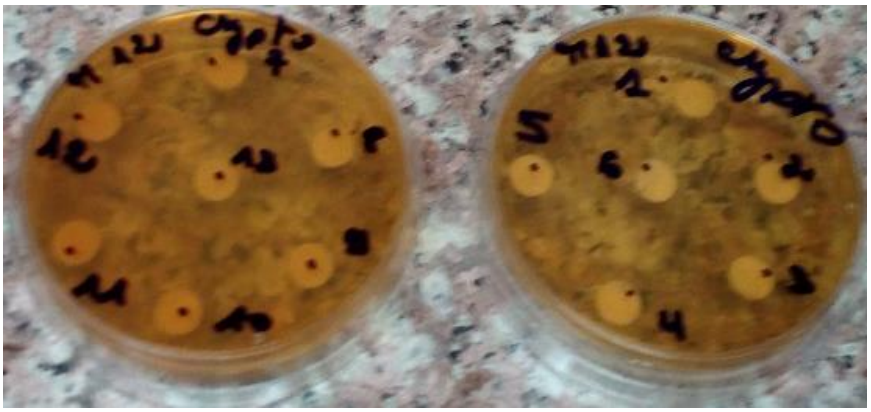
16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M12 vis-à-vis de *Microsporum gypseum*

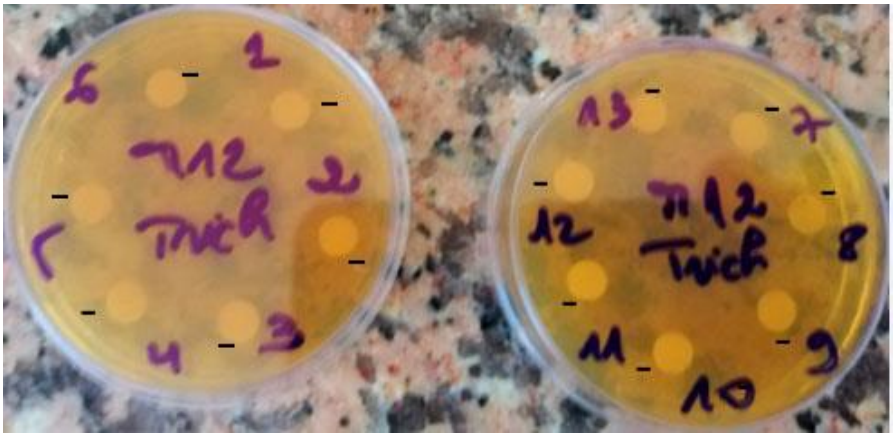
Annexe X : Résultats CMI/CMF



CMF de M12 vis-à-vis du *C. albicans*

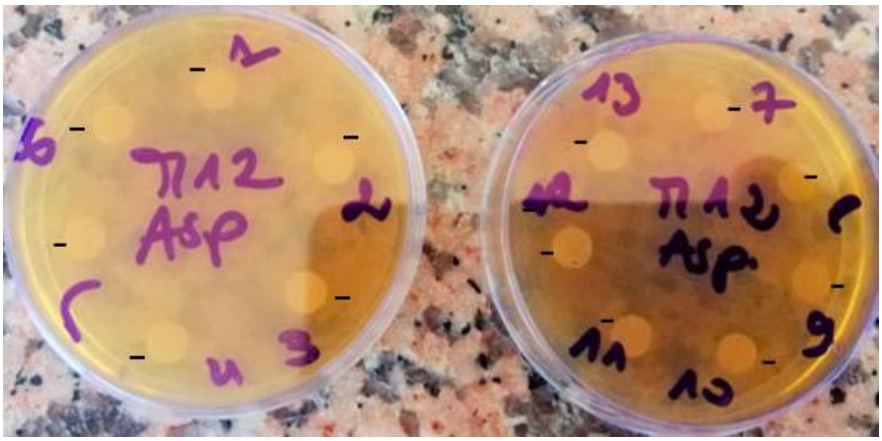


CMF de M12 vis-à-vis du *C. neoformans*

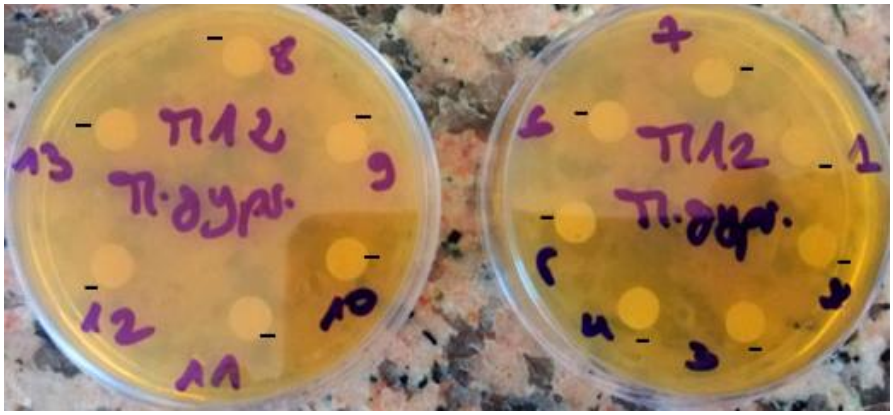


CMF de M12 vis-à-vis du *Trichosporon sp.*

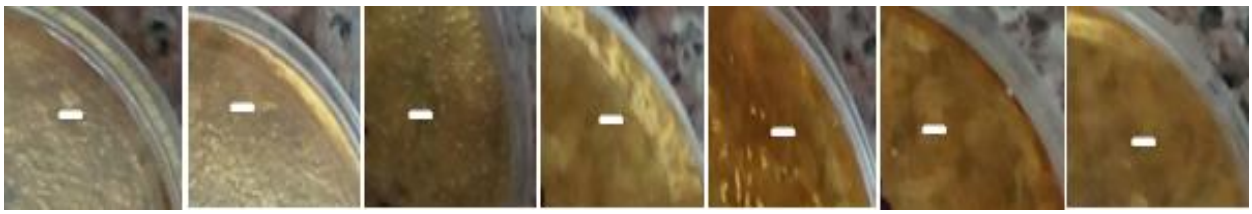
Annexe X : Résultats CMI/CMF



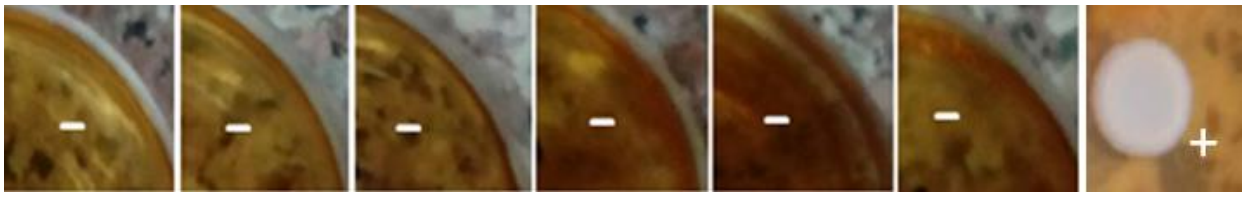
CMF de M12 vis-à-vis d'*Aspergillus niger*



CMF de M12 vis-à-vis de *Microsporum gypseum*



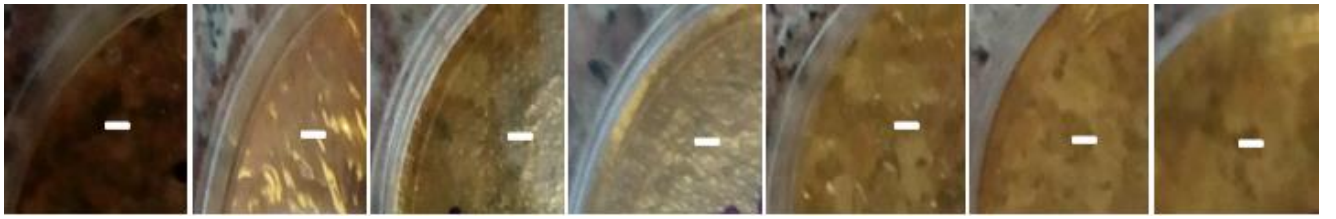
0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml



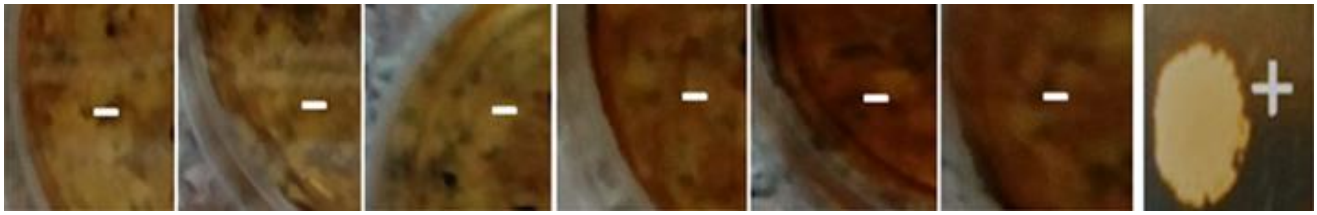
16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI de M13 vis-à-vis de *C. albicans*

Annexe X : Résultats CMI/CMF

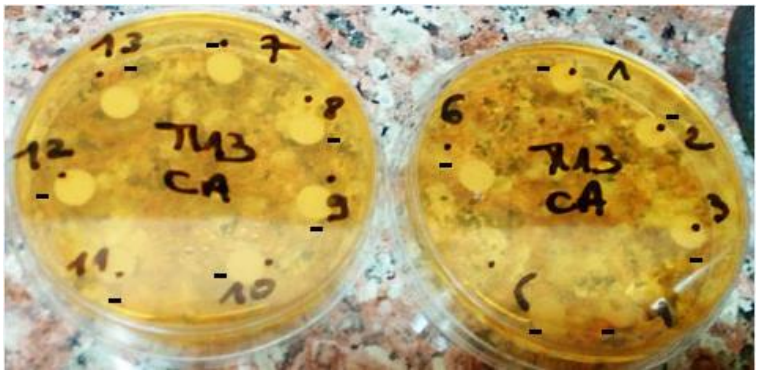


0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml



16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

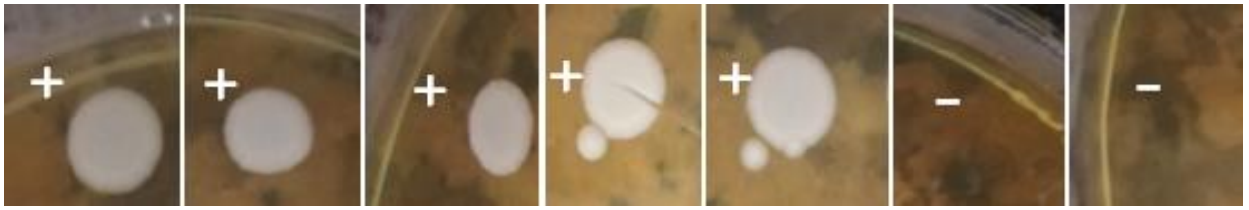
CMI de M13 vis-à-vis de *C. neoformans*



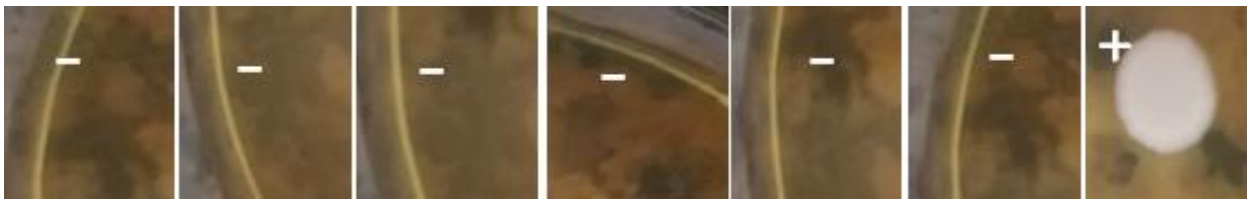
CMF de M13 vis-à-vis du *C. albicans*

CMF de M13 vis-à-vis du *C. neoformans*

Annexe X : Résultats CMI/CMF



0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml



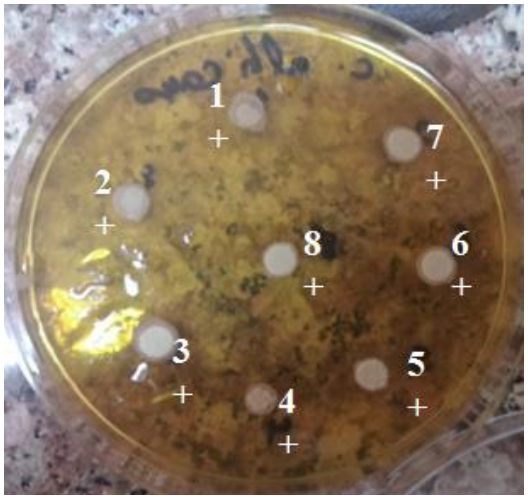
16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI fluconazole vis-à-vis du *Candida albicans*

0,125µg/ml 0,25µg/ml 0,5µg/ml 1µg/ml 2µg/ml 4µg/ml 8µg/ml

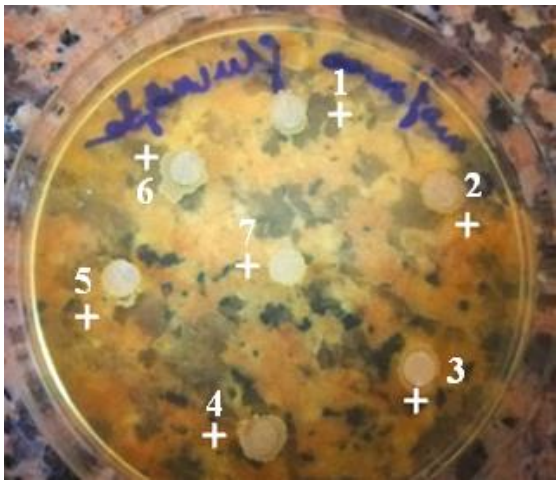
16µg/ml 32 µg/ml 64 µg/ml 128 µg/ml 256 µg/ml 512 µg/ml Contrôle

CMI fluconazole vis-à-vis du *Cryptococcus neoformans*



CMF fluconazole vis-à-vis du *Candida albicans*

Annexe X : Résultats CMI/CMF



CMF fluconazole vis-à-vis du *Cryptococcus neoformans*

ANNEXE XI: Interactions medicamenteuses (Cytochromes P450 et Glycoprotéine P) et les models ADMET SAR utilisés pour la prédiction in silico ADMET

INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES, CYTOCHROMES P450 ET P-GLYCOPROTEINE (Pgp)

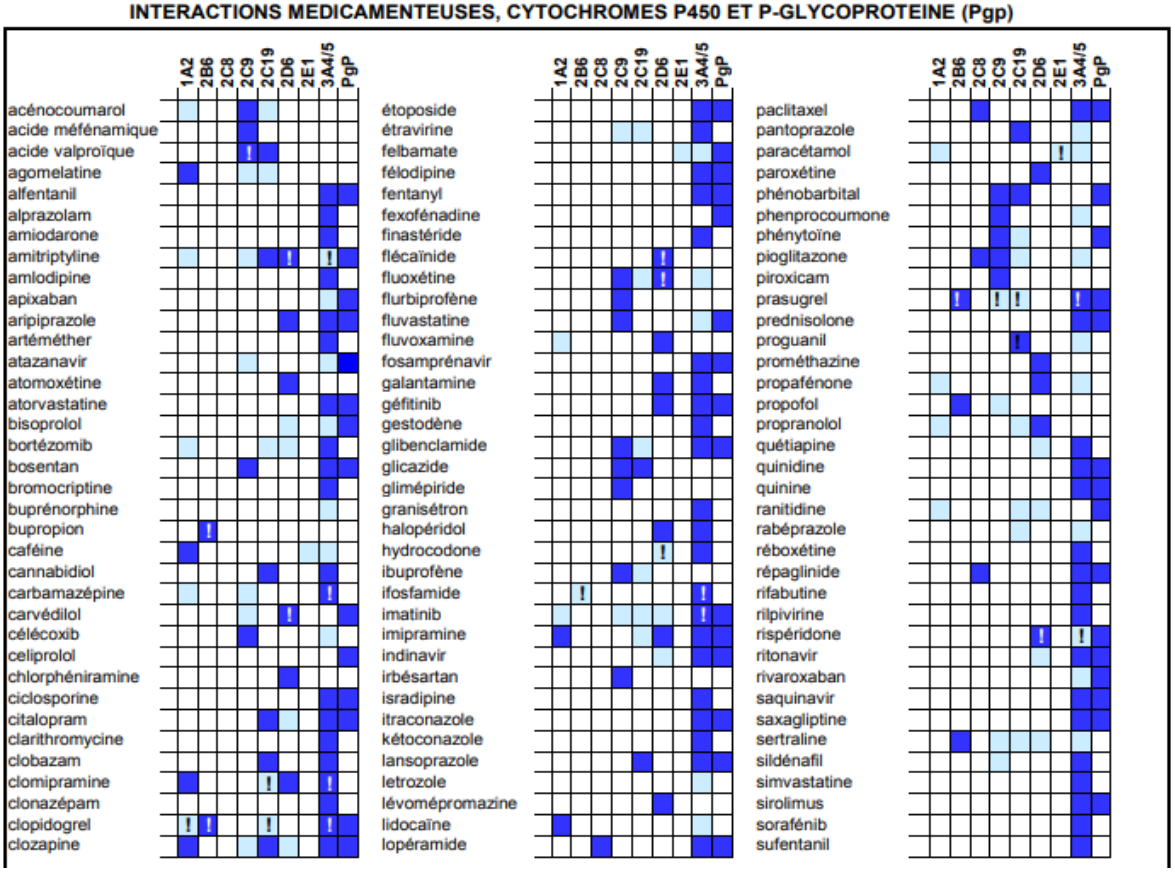


Tableau 1 : Substrats des cytochromes P450 et de la Pgp

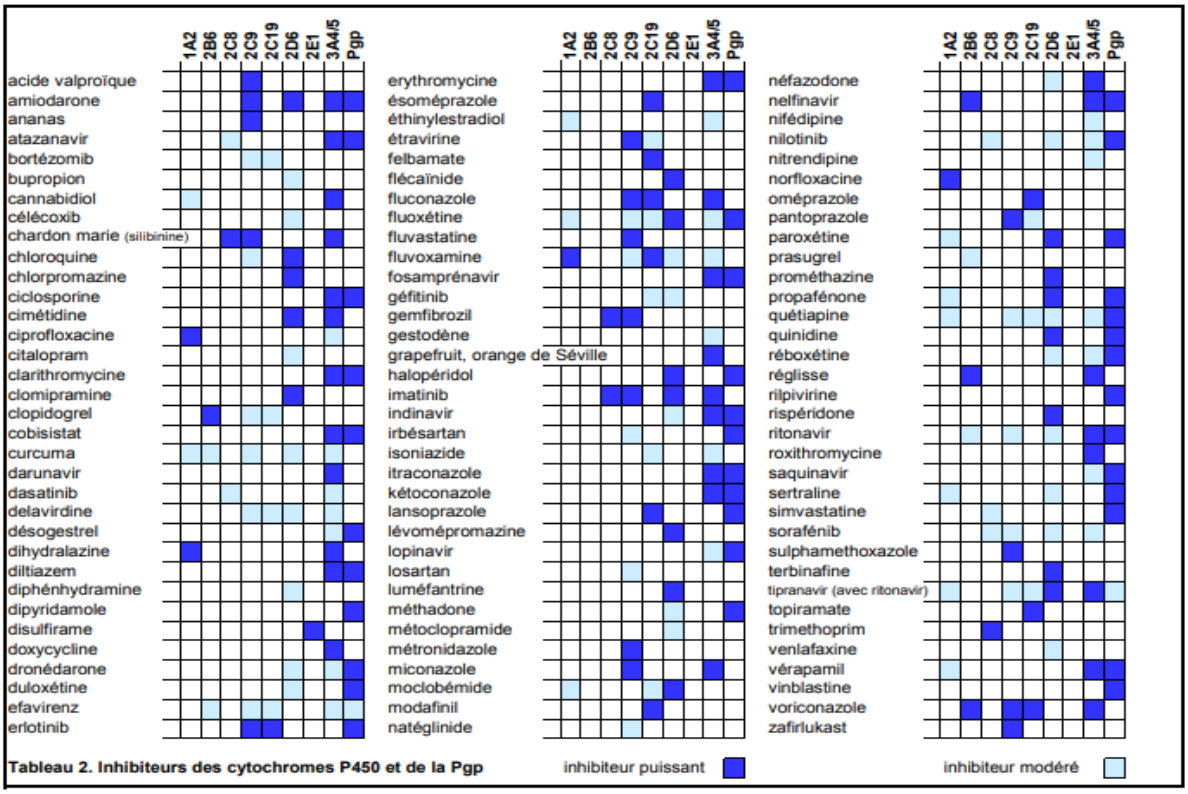


Tableau 2. Inhibiteurs des cytochromes P450 et de la Pgp inhibiteur puissant inhibiteur modéré

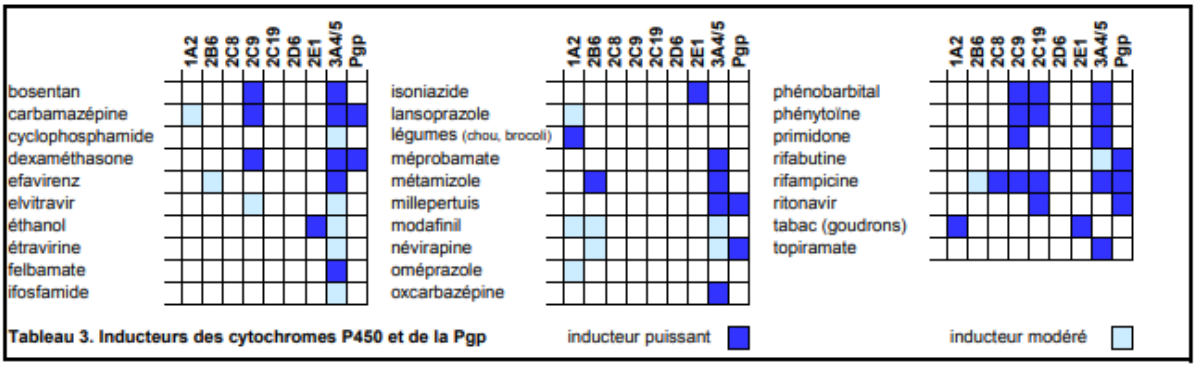


Tableau 3. Inducteurs des cytochromes P450 et de la Pgp inducteur puissant inducteur modéré

Inhibition

Cytochromes : L'impact dépend de : **a)** l'importance relative de la voie d'élimination inhibée par rapport à la clairance totale; **b)** présence ou non de métabolites actifs et **c)** concentrations d'inhibiteur. A l'arrêt du traitement inhibiteur, l'activité du CYP retourne progressivement à la normale (4 demi-vies). *Exemples* : l'amiodarone inhibe fortement l'activité du CYP2C9; associée à l'acénocoumarol, substrat du CYP2C9, elle en ralentira l'élimination, d'où un risque d'hémorragie justifiant une adaptation posologique et un suivi INR rapproché. La **fluoxétine** inhibe fortement l'activité du CYP2D6; associée à la **codéine**, elle peut en abolir l'efficacité (! signifie que la codéine génère un métabolite actif, la morphine).

P-glycoprotéine : L'impact dépend de l'affinité du substrat pour ce transporteur, de la concentration et de la puissance de l'inhibiteur. Comme pour les CYP, l'activité de la Pgp retourne progressivement à la normale à l'arrêt du traitement inhibiteur (4 demi-vies). *Exemple* : la **ciclosporine** inhibe fortement l'activité de la Pgp. Associée à l'**indinavir**,substrat de la Pgp, elle entraînera une augmentation de sa biodisponibilité.

Induction

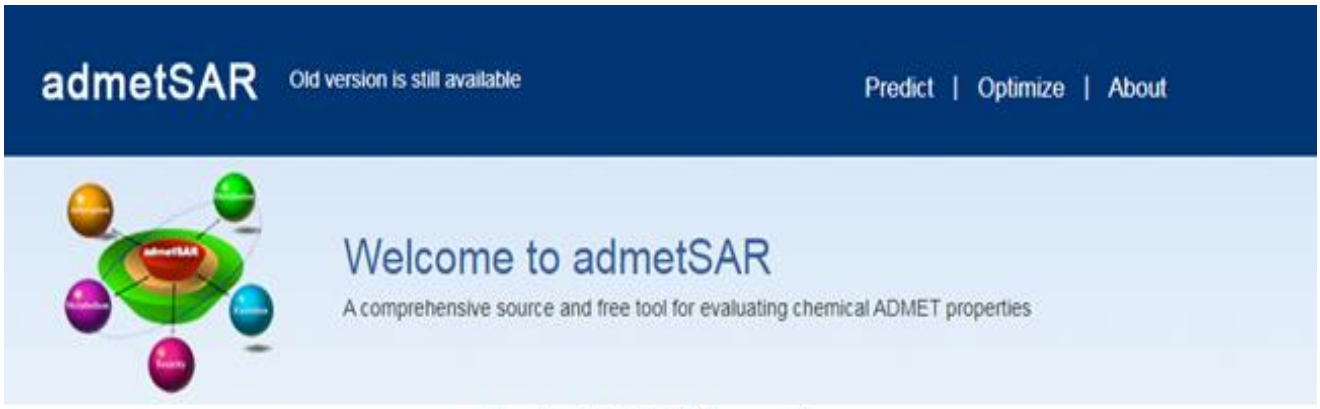
Cytochromes : L'impact dépend de : **a)** importance relative de la voie d'élimination induite par rapport à la clairance totale; **b)** présence ou non de métabolites actifs et **c)** concentrations d'inducteur. A l'arrêt du traitement inducteur, l'activité du CYP retourne progressivement à la normale (>2 semaines après disparition de l'inducteur dans le sang). *Exemple* : Le **millepertuis** induit progressivement et puissamment l'activité du CYP3A4.Il accélérera fortement l'élimination de l'**éthinylestradiol**, substrat majeur du CYP3A4, et l'effet contraceptif ne sera plus assuré; il faudra donc prévoir un autre mode de contraception.

P-glycoprotéine : L'impact dépend de l'affinité du substrat pour ce transporteur,de la concentration et la puissance de l'inducteur. Comme pour les CYP, l'activité de la Pgp retourne progressivement à la normale à l'arrêt du traitement inducteur (>2 semaines après disparition de l'inducteur dans le sang). Exemple : la **rifampicine** induit fortement l'activité de la Pgp. Associée au **rivaroxaban,** substrat de la Pgp, elle entraînera une diminution de sa biodisponibilité.

Des tableaux dynamiques régulièrement mis à jour et comprenant davantage de molécules sont accessibles sur le site www.pharmacoclin.ch, rubrique Centre d'informations thérapeutiques et de pharmacovigilance > outils > carte dynamique des interactions médicamenteuses et CYP

Centre d'informations thérapeutique et de pharmacovigilance
Service de pharmacologie et toxicologie cliniques, Hôpitaux Universitaires, 1211 Genève 14
Tél. 022 372 99 32 - Fax 022 372 99 45 - www.pharmacoclin.ch - Copyright SPTC - Genève, Octobre 2014

Models ADME SAR utilisés dans l'étude in silico ADMET



Predict ADMET Properties

Prediction of Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity Profiles for drug candidates and environmental chemicals plays an important role in drug discovery and environmental hazard assessment. Herein, we developed a chemoinformatics-based web server by integrating 50 high quality QSAR models for chemical ADMET profiling.

Models

Blood-Brain Barrier			
Model	A_BBB_I		
Desc.	The entire dataset were collected from Shen's work, which included 1839 compounds (1438 BBB+ and 401 BBB- compounds).		
Q	0.9429	SE	0.9861
SP	0.788	AUC	0.9517

Models

Caco-2 Permeability			
Model	R_A_Caco2_I		
Desc.	In total, 674 drug or drug-like molecules with Caco-2 permeability values were used.		
R2	0.564	RMSD	0.339

Models

Human Intestinal Absorption			
Model	A_HIA_I		
Desc.	The entire dataset were collected from Shen's work, which included 578 compounds (500 HIA+ and 78 HIA- compounds). If a compound with the HIA% is less than 30%, it is labeled as HIA-, otherwise it is labeled as HIA+.		
Q	0.9394	SE	0.98
SP	0.6795	AUC	0.9458

Models

P-glycoprotein Substrate			
Model	A_PgpS_I		
Desc.	In total, 332 compounds were collected from Wang et al. including 206 Pgp substrates and 126 Pgp non-substrates.		
Q	0.7349	SE	0.8689
SP	0.5159	AUC	0.7678

Models

P-glycoprotein Inhibitor			
Model	A_PgpI_I		
Desc.	In total, 1273 compounds were collected from Chen et al. including 797 Pgp inhibitors and 476 Pgp non-inhibitors.		
Q	0.7855	SE	0.872
SP	0.6408	AUC	0.8529

Subcellular localization	
Model	D_SCL_I
Desc.	In total, 491 compounds, including 132 localized in lysosome, 190 in mitochondira, 81 in nucleus, and 88 in plasma membrane, were collected from literature and trained by support vector machine. The model will give the most likely localization in cell and the propability of the query compound.

Models ADME SAR utilisés dans l'étude in silico ADMET

CYP450 1A2 Inhibitor			
Model	M_CYP1A2I_I		
Desc.	In total, 14903 compounds, including 7415 inhibitors and 7488 noninhibitors were collected from Cheng et al. A compound was assigned as a CYP inhibitor if the AC50 (the compound concentration leads to 50% of the activity of an inhibition control) value was e10 μM, and it was considered as a noninhibitor if AC50 was >57 μM. In addition, a compound was regarded as a CYP inhibitor if it has the PubChem activity score between 40 and 100, and as a noninhibitor if it has PubChem activity score equal to 0.		
Q	0.8147	**SE**	0.7985
SP	0.8307	**AUC**	0.8832

CYP450 2C19 Inhibitor			
Model	M_CYP2C19I_I		
Desc.	In total, 14576 compounds, including 6041 inhibitors and 8535 noninhibitors were collected from Cheng et al. A compound was assigned as a CYP inhibitor if the AC50 (the compound concentration leads to 50% of the activity of an inhibition control) value was e10 μM, and it was considered as a noninhibitor if AC50 was >57 μM. In addition, a compound was regarded as a CYP inhibitor if it has the PubChem activity score between 40 and 100, and as a noninhibitor if it has PubChem activity score equal to 0.		
Q	0.8054	**SE**	0.7479
SP	0.846	**AUC**	0.8712

CYP450 2D6 Inhibitor			
Model	M_CYP2D6I_I		
Desc.	In total, 14741 compounds, including 3060 inhibitors and 11681 noninhibitors were collected from Cheng et al. A compound was assigned as a CYP inhibitor if the AC50 (the compound concentration leads to 50% of the activity of an inhibition control) value was e10 μM, and it was considered as a noninhibitor if AC50 was >57 μM. In addition, a compound was regarded as a CYP inhibitor if it has the PubChem activity score between 40 and 100, and as a noninhibitor if it has PubChem activity score equal to 0.		
Q	0.8551	**SE**	0.4556
SP	0.9598	**AUC**	0.8396

CYP450 2D6 Substrate			
Model	M_CYP2D6S_I		
Desc.	In total, 671 drugs including 191 substrates and 480 non-substrates were collected from Carbon-Mangles's work.		
Q	0.7586	**SE**	0.377
SP	0.9104	**AUC**	0.7456

Renal Organic Cation Transporter			
Model	E_OCT2I_I		
Desc.	In total, 906 molecules, including 244 inhibitors and 633 non-inhibitors against the renal organic cation transporter (OCT2/SLC22A2) were collected from Kido's work for model building.		
Q	0.7949	**SE**	0.4385
SP	0.9261	**AUC**	0.8074

Human Ether-a-go-go-Related Gene Inhibition			
Model	T_hERG_I		
Desc.	368 molecules including 79 strong hERG inhibitors (pIC50> 6.0 mol/L)and 289 weak hERG inhibitors (pIC50≤6.0 mol/L) were collected from Marchese Robinson et al.		
Q	0.8696	**SE**	0.4937
SP	0.9723	**AUC**	0.82

Human Ether-a-go-go-Related Gene Inhibition			
Model	T_hERG_II		
Desc.	806 molecules including 433 hERG inhibitors (IC50> 50 μM) and 373 hERG noninhibitors (pIC50≤50 μM) were collected from Wang's work,.		
Q	0.7841	**SE**	0.7829
SP	0.7855	**AUC**	0.8492

Carcinogens			
Model	T_Carc_I		
Desc.	In total, 293 chemicals, including 64 carcinogens and 229 noncarcinogens were collected from Lagunin et al.,		
Q	0.884	**SE**	0.5625
SP	0.9738	**AUC**	0.8356

RESUME

Résumé

Dans notre étude, une série de nouveaux dérivés « [3,5-di(4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1, 2,4-triazole » a été synthétisée, selon une réaction multicomposants en une seule étape. Les structures chimiques des molécules synthétisées M1-M13 ont été confirmées par IR, ^{1}H RMN, ^{13}C RMN et spectroscopie UV-visible. L'étude de l'activité antibactérienne et antifongique a été réalisée ainsi qu'une étude in silico ADMET pour l'ensemble des molécules et un docking moléculaire pour les molécules actives. L'étude de l'activité biologique in vitro a révélé de petits diamètres d'inhibition pour les molécules M2, M5, M6, M7, M8, M9, M11 et M13 contre *Candida albicans*, et les composés M2, M5, M6, M8, M11 et M13 contre *Cryptococcus neoformans*, ainsi qu'une excellente activité antibactérienne pour « M12 » contre *Staphylococcus aureus* et une excellente activité antifongique contre *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon sp.* et *Microsporum gypseum*, et modédérée contre *Aspergillus niger*. Les molécules M1-M13 ont été prédites comme ayant une bonne absorption intestinale, non inhibitrices des cytochromes CYP1A2, CYP2C19 et CYP2D6 ni du hERG II, ni des transporteurs de cations organiques au niveau rénal. Elles sont prédites comme faiblement inhibitrices de hERG I et non cancérigènes. Le docking moléculaire a montré le meilleur score pour M12 et a prédit un bon mode de liaison dans le site actif du cytochrome P450 lanostérol 14α-déméthylase.

Mots-clés : 1,2,4-triazole, imidazole, antibactérien, antifongique, ADMET, docking.

Abstract

In this study, a new series of some [3,5-di (4',5'-diphenyl)-1'*H*-imidazol-1-yl)]-1*H*-1, 2,4-triazole derivatives were synthesized by a one-pot multicomponent synthesis reaction. The structures of these compounds were investigated by IR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR and UV-visible spectroscopy. The in vitro antibacterial and antifungal activities were evaluated and the in silico ADMET and the docking study for the active compounds were performed and discussed. The compounds M2, M5, M6, M7, M8, M9, M11 and M13 showed small inhibition zones diameters against *Candida albicans*, and the compounds M2, M5, M6, M8, M11 and M13 against *Cryptococcus neoformans*. The compound M12 showed a good antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichosporon sp.* and *Microsporum gypseum*, and a moderate antifungal activity against *Aspergillus niger*. All studied compounds were predicted as non-carcinogens, non-Renal Organic Cation Transporter (ROCTs), Weak Human Ether-a-go-go-Related Gene I (hERG) inhibitors and non hERG II inhibitors. On the other hand, all studied compounds were predicted as non-P-glycoprotein and non-CYP450 2D6 inhibitors and substrates. The synthesized compounds demonstrated an acceptable pharmacokinetic profile and human intestinal absorption (HIA). The docking study showed the best score for M12 and predicted a good mode of binding in the active site of cytochrome P450 lanosterol 14α-demethylase.

Keywords: 1,2,4-triazole, imidazole, antibacterial, antifungal, ADMET, docking.