



N°1832/17

Année : 2016 à 2017

## THESE

Présentée en vue de l'obtention du  
**DIPLÔME D'ÉTAT DE  
DOCTEUR EN PHARMACIE**

Par

**TEHE TONIHAMAN BRICE HERMANN**

*PROFIL ANTHELMINTHIQUE DE QUELQUES  
BENZIMIDAZOLYL-ACRYLONITRILES,  
ANALOGUES DES CHALCONES*

*Soutenue publiquement le vendredi 05 Mai 2017*

### COMPOSITION DU JURY

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

DIRECTEUR : Monsieur **OUATTARA MAHAMA**, Maître de Conférences Agrégé

ASSESEURS : Madame **SANGARE TIGORI BEATRICE**, Maître de Conférences Agrégé

Monsieur **KONE MAMIDOU WITABOUNA**, Maître de Conférences

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

**I- HONORARIAT**

Directeurs/Doyens Honoraires :	Professeur RAMBAUD André
	Professeur FOURASTE Isabelle
	Professeur BAMBA Moriféré
	Professeur YAPO Abbé †
	Professeur MALAN Kla Anglade
	Professeur KONE Moussa †
	Professeur ATINDEHOU Eugène

**II- ADMINISTRATION**

Directeur	Professeur KONE BAMBA Dieneba
Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie	Professeur Ag INWOLEY Kokou André
Sous-Directeur Chargé de la Recherche	Professeur Ag OGA Agbaya Serge
Secrétaire Principal	Madame NADO-AKPRO Marie Josette
Documentaliste	Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert
Intendant	Monsieur GAHE Alphonse
Responsable de la Scolarité	Madame DJEDJE Yolande

**III- PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT**

**III.1. PROFESSEURS TITULAIRES**

AKE Michèle	Chimie Analytique, Bromatologie
-------------	---------------------------------

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

### **III.2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES**

ABROGOUA Danho Pascal	Pharmacie Clinique
AHIBOH Hugues	Biochimie et Biologie Moléculaire
AKE EDJEME N'guessan Angèle	Biochimie et Biologie Moléculaire
AMARI Antoine Serge G.	Législation
AMIN N'Cho Christophe	Chimie Analytique
BONY François Nicaise	Chimie Analytique
DALLY Laba	Pharmacie Galénique
DEMBELE Bamory	Immunologie
DJOHAN Vincent	Parasitologie -Mycologie
GBASSI K. Gildas	Chimie, Physique Générale
INWOLEY Kokou André	Immunologie
IRIE N'GUESSAN Amenan	Pharmacologie

KOFFI Angely Armand	Pharmacie Galénique
KOUAKOU-SIRANSY Gisèle	Pharmacologie
KOUASSI Dinard	Hématologie
LOUKOU Yao Guillaume	Bactériologie-Virologie
OGA Agbaya Stéphane	Santé Publique et Economie de la Santé
OUASSA Timothée	Bactériologie-Virologie
OUATTARA Mahama	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
POLNEAU VALLEE Sandrine	Mathématiques-Statistiques
SACKOU KOUAKOU Julie	Santé Publique
SANGARE TIGORI Béatrice	Toxicologie
YAPI Ange Désiré	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
YAVO William	Parasitologie - Mycologie
ZINZENDORF Nanga Yessé	Bactériologie-Virologie

### III.3. MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

DIAFOUKA François Biochimie et Biologie de la Reproduction

### III.4.MAITRES ASSISTANTS

ADJAMBRI Adia Eusebé	Hématologie
AFFI-ABOLI Mihessé Roseline	Immunologie
AKARANY-GRA Armelle Adjoua S.	Pharmacie Galénique
ANGORA Kpongbo Etienne	Parasitologie - Mycologie
BARRO KIKI Pulchérie	Parasitologie - Mycologie
CLAON Jean Stéphane	Santé Publique
DIAKITE Aïssata	Toxicologie
FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Pharmacognosie
KASSI Kondo Fulgence	Parasitologie-Mycologie
KONATE Abibatou	Parasitologie-Mycologie
KOUASSI AGBESSI Thérèse	Bactériologie-Virologie
MANDA Pierre	Toxicologie
SANGARE Mahawa	Biologie Générale
VANGA ABO Henriette	Parasitologie-Mycologie
YAYO Sagou Eric	Biochimie et Biologie Moléculaire

### III.5. ASSISTANTS

ADIKO Assi Aimé Césaire	Hématologie
ADJOUNGOUA Attoli Léopold	Pharmacognosie
AMICHIA Attoumou Magloire	Pharmacologie
ALLOUKOU-BOKA Paule-Mireille	Législation
APETE Sandrine	Bactériologie-Virologie
AYE YAYO Mireille	Hématologie
BEDIAKON née GOKPEYA Kemontingni M.	Santé publique
BROU Amani Germain	Chimie Analytique
BROU N'Guessan Aimé	Pharmacie clinique
CABLAN Mian N'Ddey Asher	Bactériologie-Virologie
COULIBALY Songuigama	Chimie Thérapeutique
DIAKITE Aïssata	Toxicologie
DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Pharmacologie
DJATCHI Richmond Anderson	Bactériologie-Virologie
DONOU née N'DRAMAN Aha Emma	Hématologie
DOTIA Tiepordan Agathe	Bactériologie-Virologie
EFFO Kouakou Etienne	Pharmacologie
HOUNSA Annita Emeline Epse Alla	Santé Publique
KABRAN Tano Kouadio Mathieu	Immunologie
KACOU Alain	Chimie Thérapeutique
KAMENAN Boua Alexis Thierry	Pharmacologie

KOFFI Kouamé	Santé publique
KONAN Konan Jean Louis	Biochimie et Biologie moléculaire
KONE Fatoumata	Biochimie et Biologie moléculaire
KOUAKOU Sylvain Landry	Pharmacologie
KOUAME Denis Rodrigue	Immunologie
KPAIBE Sawa Andre Philippe	Chimie Analytique
LATHRO Joseph Serge	Bactériologie-Virologie
N'GBE Jean Verdier	Toxicologie
N'GUESSAN Alain	Pharmacie Galénique
N'GUESSAN née AMONKOU Anne C.	Législation
N'GUESSAN-BLAO Amoin Rebecca	Hématologie
N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul	Chimie Thérapeutique
N'GUESSAN Kakwokpo Clémence	Pharmacie Galénique
OUAYOGODE-AKOUBET Aminata	Pharmacognosie
SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle	Biochimie et Biologie moléculaire
TANOI NEE BEDIA Akoua Valérie	Parasitologie-Mycologie
TRE Eric Serge	Chimie Analytique
TUO Awa	Pharmacie Galénique
YAO ATTIA Akissi Régine	Santé publique
YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale
YAPO NEE YAO Carine Mireille	Biochimie



### **III.6. ATTACHES DE RECHERCHE**

ADIKO N'dri Marcelline	Pharmacognosie
LIA Gnahoré José Arthur	Pharmacie Galénique

### **III.7. IN MEMORIUM**

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

## **IV- ENSEIGNANTS VACATAIRES**

### **IV.1. PROFESSEURS**

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

#### **IV.2. MAITRES DE CONFERENCES**

KOUAKOU Tanoh Hilaire	Botanique et Cryptogamie
SAKO Aboubakar	Physique (Mécanique des fluides)
TURQUIN née DIAN Louise	Biologie Végétale
YAO N'Dri Athanase	Pathologie Médicale

#### **IV.3. MAITRE-ASSISTANT**

KONKON N'Dri Gilles	Botanique, Cryptogamie
---------------------	------------------------

#### **IV.3. NON UNIVERSITAIRES**

AHOUSSE Daniel Ferdinand	Secourisme
DEMPAH Anoh Joseph	Zoologie
GOUEPO Evariste	Techniques officinales
KEI-BOGUINARD Isabelle	Gestion
KOFFI ALEXIS	Anglais
KOUA Amian	Hygiène
KOUASSI Ambroise	Management
N'GOZAN Marc	Secourisme
KONAN Kouacou	Diététique
PAYNE Marie	Santé Publique

**COMPOSITION DES DÉPARTEMENTS DE  
L'UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES  
ET BIOLOGIQUES**

**I. BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE**

Professeur	LOUKOU Yao Guillaume	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeurs	ZINZENDORF Nanga Yessé OUASSA Timothée	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	KOUASSI AGBESSI Thérèse CABLAN Mian N'Dédey Asher DJATCHI Richmond A. DOTIA Tiepordan Agathe LATHRO Joseph Serge APETE Yah Sandrine épouse TAHOU	Maître- Assistante Assistant Assistant Assistante Assistant Assistante

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

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

SIBLI-KOFFI Akissi

Assistant

**III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE**

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

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

Professeur	ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	MALAN Kla Anglade	Professeur Titulaire
	AKE Michèle Dominique	Professeur Titulaire
	YOLOU Séri Fernand	Professeur Titulaire

	AMIN N'Cho Christophe	Maître de Conférences Agrégé
	GBASSI K. Gildas	Maître de Conférences Agrégé
	BONY Nicaise François	Maître de conférences Agrégé
Docteurs	BROU Amani Germain	Assistant
	KPAIBE Sawa André Philippe	Assistant
	TRE Eric Serge	Assistant

**V. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE**

Professeur	YAPI Ange Désiré	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeur	OUATTARA Mahama	Maître de Conférences Agrégé
Docteur	KACOU Alain	Assistant
	N'GUESSAN Deto Jean-Paul	Assistant
	COULIBALY Songuigama	Assistant

**VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE**

Professeur	MENAN Eby Ignace H.	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeur	YAVO William	Maître de Conférences Agrégé
	DJOHAN Vincent	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	BARRO KIKI Pulchérie	Maître-Assistante
	KASSI Kondo Fulgence	Maître-Assistant
	VANGA ABO Henriette	Maître-Assistante

KONATE Abibatou	Maître-Assistante
ANGORA Kpongbo Etienne	Maître-Assistant
KONATE Abibatou	Maître-Assistante

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

Professeur	KOFFI Armand A.	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeur	AMARI Antoine Serge G.	Maître de Conférences Agrégé
	DALLY Laba Ismaël	Maître-de Conférences Agrégé
Docteurs	AKA-ANY Grah Armelle A.S.	Maître-Assistante
	N'GUESSAN Alain	Assistant
	BOKA Paule Mireille épouse A.	Assistante
	N'GUESSAN Kakwopko C.	Assistante
	N'GUESSAN née AMONKOU A.	Assistante
	TUO Awa Nakognon	Assistante

**VIII. PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE, CRYPTOLOGAMIE**

Professeur	KONE BAMBA Diénéba	Professeur Titulaire Chef de Département
Docteurs	ADJOUNGOUA Attoli Léopold	Assistant
	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Maître-Assistante
	OUAYOGODE-AKOUBET Aminata	Assistante

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

Professeur	KABLAN Brou Jérôme	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Professeurs	ABROGOUA Danho Pascal KOUAKOU SIRANSY N'Doua G. IRIE N'GUESSAN Amenan G.	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé Maître-de Conférences Agrégés
Docteurs	AMICHIA Attoumou M. DJADJI Ayoman Thierry Lenoir EFFO Kouakou Etienne KAMENAN Boua Alexis KOUAKOU Sylvain Landry BROU N'GUESSAN Aimé	Assistant Assistant Assistant Assistant Assistant Assistant

**X. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE**

Professeur	ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeur	POLNEAU VALLEE Sandrine	Maître de Conférences Agrégé

**XI. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE**

Professeur	KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeur	DANO Djédjé Sébastien	Professeur Titulaire



	OGA Agbaya Stéphane	Maître de Conférences Agrégé
	SACKOU KOUAKOU J.	Maître de Conférences Agrégé
	SANGARE TIGORI B.	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CLAON Jean Stéphane	Maître-Assistant
	MANDA Pierre	Maître-Assistant
	DIAKITE Aïssata	Maître-Assistante
	BEDIAKON née GOKPEY K.	Assistant
	HOUNSA-ALLA Annita Emeline	Assistante
	YAO ATTIA Akissi Régine	Assistante
	N'GBE Jean Verdier	Assistant
	KOFFI Kouamé	Assistant



*À nos maîtres et juges*



## **A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY**

### **Monsieur le Professeur MONNET DAGUI**

- Professeur Titulaire de Biochimie clinique et générale à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët BOIGNY d'Abidjan,
- Chef du Département de Biochimie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët BOIGNY d'Abidjan,
- Chef de service de la Pharmacie du CHU de COCODY
- Directeur du Master de Biochimie et de Biologie Moléculaire
- Membre de plusieurs Sociétés savantes
- Ancien Directeur de la Pharmacie de la Santé Publique
- Ancien Directeur de l'Ecole Préparatoire aux Sciences de la Santé

*Cher Maître,*

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

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

*Recevez cher maître l'expression de notre profond respect.*

## **A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE**

### **Monsieur le Professeur OUATTARA MAHAMA**

- Maître de Conférences Agrégé de Chimie Médicinale
- Pharmacien, Docteur ès Sciences Pharmaceutiques de l'Université de Montpellier I.
- Directeur Adjoint de la Direction de la Pharmacie, Médicament et des Laboratoires de Côte d'Ivoire (DPML)
- Inspecteur des Bonnes Pratiques de Fabrication et de Distribution des Médicaments,
- Membre du Comité technique consultatif «inspection pharmaceutique» de la Cellule pour l'Harmonisation de la Règlementation et la Coopération Pharmaceutique (CHRCP) de l'UEMOA
- Expert UEMOA pour l'homologation des Médicaments Vétérinaires
- Lauréat du prix de Recherche Santé 2003 du Ministère de la Recherche Scientifique de la République de Côte d'Ivoire
- Thématique de recherche lauréate du Prix Scientifique KOUAME Egnankou 2013 des UFR Sciences de la Santé
- Thématique de recherche lauréate du Programme d'Appui Stratégique à la Recherche Scientifique en Côte-d'Ivoire de 2015 (PASRES)
- Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM)
- Membre du Réseau de Substances Bioactives Ouest Africain (ReSBOA)
- Membre de la Société de Chimie Thérapeutique de France (SCt France)
- Président de la Société Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI)

*Cher Maître,*

*Votre enseignement, mais également votre rigueur et votre ardeur au travail creusent un chemin qu'il est agréable à tout étudiant de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques de suivre. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude, vous qui avez été, êtes et serez toujours notre maître.*

## **A NOTRE MAITRE ET JUGE**

**Madame le Professeur SANGARE TIGORIBEAtrice,**

- Docteur en Pharmacie
- Maître de conférences agrégé en Toxicologie (UFR des Sciences Pharmaceutiques et biologiques de l'Université Félix Houphouët BOIGNY)
- Doctorat de l'Université Félix Houphouët BOIGNY Cote d'Ivoire, Option Toxicologie
- Experte en Toxicologie et production Pharmaceutique auprès des Tribunaux de COTE D'IVOIRE
- Pharmacien Analyste au Laboratoire National de la Santé Publique (LNSP)
- Membre de la Société Savante Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHA CI)
- Membre de la Société Ivoirienne de Toxicologie (SITOX)
- Membre de la Société Française de Toxicologie

*Cher Maître,*

*En acceptant spontanément de siéger au sein de ce jury, vous confirmez votre caractère d'humilité, de disponibilité et de simplicité.*

*Veillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon infini respect.*

## **A NOTRE MAITRE ET JUGE**

### **Monsieur le Professeur KONE MAMIDOU WITABOUNA**

- Maître de Conférences à l'UFR des Sciences de la Nature, Université NANGUI ABROGOUA
- Doctorat d'Université en Biologie végétale/Ethnopharmacologie
- Responsable de la filière « Botanique et Phytothérapie », UFR Sciences de la Nature, Université NANGUI ABROGOUA
- Responsable de Groupe de Recherche au Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire
- Responsable de l'Unité Botanique et Médecine Traditionnelle à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire
- Membre de la Société Américaine de Microbiologie (American Society of Microbiology)
- Membre de la Société Ivoirienne de Parasitologie et Mycologie (SIPAM)
- Membre de la Société Africaine de Venimologie (SAV)
- Membre de la Société Ivoirienne de Venimologie (SIV)

*Cher Maître,*

*La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger dans le jury de cette thèse malgré vos nombreuses occupations nous a émue.*

*Veillez trouver ici nos sincères remerciements pour votre contribution à la réussite de ce travail.*

## LISTE DES ABREVIATIONS

**C** : Concentration

**CL<sub>100</sub>** : Concentration Larvicide

**CSI** : Concentration de la Solution Initiale

**CMC**: Carboxyméthylcellulose

**CSRS** : Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire

**D** : Dose

**GABA** : Acide gamma-amino butyrique

**NaCl** : Chlorure de Sodium

**OPG** : Œufs Par Gramme de fèces

**P** : Poids

**PIB** : Produit Intérieur Brut

**S1** : Solution physiologique

**S2** : Solution Earle'S

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

**Tm** : Taux moyen de larves L3 développées par rapport au puit contrôle

**URSASAH** : Unité de Recherche en Sciences Appliquées à la Production et Santé Animale/Humaine

**UNA** : Université NANGUI ABROGOUA

**USA** : Etats-Unis

**V** : Volume

**VE** : Volume d'Eau ajouté

**VSI** : Volume de la Solution Initiale

LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> Animal avec un postérieur souillé par la diarrhée.....	6
<b>Figure 2:</b> Animal avec un œdème sous-glossien.....	7
<b>Figure 3:</b> Répartition géographique des helminthoses ovines .....	8
<b>Figure 4:</b> Structures de quelques benzimidazoles et probenzimidazoles anthelminthiques.....	14
<b>Figure 5:</b> Structure des imidazothiazoles.....	16
<b>Figure 6:</b> Structure de l'Ivermectine.....	17
<b>Figure 7:</b> Structure du Closantel.....	18
<b>Figure 8:</b> Structure du Monepantel.....	19
<b>Figure 9:</b> Benzimidazolyl chalcone .....	34
<b>Figure 10:</b> Structure chimique de la substance médicamenteuse de référence .....	35
<b>Figure 11:</b> Moutons de race sahélienne (fulani) dans la bergerie	35
<b>Figure 12:</b> Mouton mâle (M).....	36
<b>Figure 13:</b> Larve d' <i>Haemonchus contortus</i> .....	37
<b>Figure 14:</b> Bioisostérie de groupements fonctionnels en série des composés insaturés $\alpha$ , $\beta$ -éthyléniques.....	39
<b>Figure 15:</b> Cellules Mc Master .....	42
<b>Figure 16:</b> Récolte anale des crottes sur le mouton.....	42
<b>Figure 17:</b> Comptage des Œufs de <i>Haemonchus</i> .....	43
<b>Figure 18:</b> Crottes de mouton sur le tiroir posé sous la bergerie.....	47
<b>Figure 19:</b> Collecte des crottes.....	47



LISTE DES SCHEMAS

<b>Schéma 1:</b> Schéma synoptique d'extraction des œufs d' <i>Haemonchus contortus</i> .....	46
<b>Schéma 2:</b> Remplacement de la propénone par l'acrylonitrile.....	52
<b>Schéma 3:</b> Modulations chimiques autour de l'homocycle benzénique.	53

LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I:</b> Principaux anthelminthiques actifs contre les nématodes gastro intestinaux chez les ovins.....	21
<b>Tableau II:</b> Structures chimiques des benzimidazolyl arylacrylonitriles .....	35
<b>Tableau III:</b> Protocole de dilution des produits à tester.....	44
<b>Tableau IV:</b> Activités anthelminthiques <i>in vitro</i> des substances de référence vis à vis de <i>Haemonchus contortus</i> .....	50
<b>Tableau V:</b> Activités anthelminthiques <i>in vitro</i> des benzimidazolyl-arylpropénones vis à vis de <i>Haemonchus contortus</i> .....	50

LISTE DES ANNEXES

<b>ANNEXE 1:</b> Unité de recherche en sciences appliquées à la production et santé animale/humaine.....	71
<b>ANNEXE 2 :</b> Microplaques de titration de Nunch.....	71
<b>ANNEXE 3:</b> Fiche de lecture du test anthelminthique.....	72

## TABLE DES MATIERES

I/ LISTE DES ABREVIATIONS.....	XXIX
II/ LISTE DES FIGURES.....	XXX
II/LISTE DES SCHEMAS.....	XXXI
III/LISTE DES TABLEAUX.....	XXXII
IV/LISTE DES ANNEXES.....	XXXIII
INTRODUCTION.....	1
<i>Première partie : REVUE DE LA LITTERATURE</i> .....	5
<u>Chapitre1 : HELMINTHOSES ANIMALES</u> .....	6
I- DEFINITION.....	6
II- MANIFESTATIONS DE LA MALADIE.....	6
II-1- Evolution clinique .....	6
II-2- Evolution chronique sub-clinique.....	7
III- EPIDEMIOLOGIE DES HELMINTHOSES OVINES ET IMPACT SOCIO- ECONOMIQUE .....	7
III-1- Répartition géographique.....	7
III-2- Impact socio-économique des helminthoses.....	8
<u>Chapitre 2 : CHIMIOThERAPIE DES HELMINTHOSES ANIMALES ET LEURS LIMITES D'UTILISATION</u> .....	12
I- CHIMIOThERAPIE DES HELMINTHOSES ANIMALES.....	12
I-1- Historique et classification.....	12
I-2- Benzimidazoles et probenzimidazoles.....	13
I-2-1- Définition - Structures .....	13
I-2-2- Mécanisme d'action .....	14
I-2-3- Spectre d'action et indications .....	15
I-3- Imidazothiazoles.....	15
I-3-1- Définition Structure .....	16
I-3-2- Mécanisme d'action .....	16

I-3-3- Spectre d'action et indications .....	16
I-4- Lactones macrocycliques .....	16
I-4-1- Définition R Structure .....	16
I-4-2- Mécanisme d'action .....	17
I-4-3- Spectre d'action et indications .....	17
I-5- Salicylanilides.....	18
I-5-1- Définition R Structure .....	18
I-5-2- Mécanisme d'action .....	18
I-5-3- Spectre d'action et indications .....	19
I-6- Les dérivés de l' amino-acetonitrile.....	19
I-6-1- Définition R Structure .....	19
I-6-2- Mécanisme d'action .....	19
I-6-3- Spectre d'action et indications .....	19
II- LES LIMITE D'UTILISATION DES ANTHELMINTHIQUES DE SYNTHESE.....	22
II-1- Restrictions d'emploi .....	22
II-2- Ecotoxicité.....	22
II-3- Résistance des nématodes gastro-intestinaux aux anthelminthiques .....	23
II-3-1-Définition de la résistance aux anthelminthiques .....	23
II-3-2- Epidémiologie et facteurs de résistance.....	24
II-3-2-1- Situation de la résistance dans le monde.....	24
II-3-2-2- Facteurs favorisant l'apparition des résistances.....	27
II-3-3- Mécanismes des résistances .....	28
 <i>Deuxième partie : ETUDE EXPERIMENTALE.....</i>	 31
 <u>Chapitre 1 : MATERIEL ET METHODES.....</u>	 31
I. MATERIEL.....	31
I.1. Matériels et réactifs de laboratoire.....	31
I-1-1- Verrerie et Accessoires de laboratoire.....	31
I-1-2-Réactifs et solutés de travail.....	32
I-1-3-Appareillage.....	33
I-2-Molécules à évaluer.....	33
I-2-1- Molécules de synthèse.....	33

I-3-Substances de référence.....	34
I-4- Matériel biologique: animaux et souches d'expérimentation.....	35
I-4-1- Ovins.....	35
I-4-2- Souche helminthique.....	37
II- METHODES .....	38
II-1- Methodes chimique : Conceptualisation des arylacrylonitriles à support benzimidazolyl.....	38
II-2-Méthodes d'évaluation des activités anthelminthiques.....	39
II-2-1-Principe de la technique de développement larvaire .....	40
II-2-2-Mode opératoire.....	40
II-2-2-1-Mise en condition des animaux d'expérimentation.....	40
II-2-2-2-Infestation parasitaire et suivi de son évolution.....	41
II-2-2-3- Préparation de la gamme de dilution.....	43
II-2-2-4-Extraction des œufs.....	45
II-2-2-5-Entretien des bactéries du tube digestif du mouton.....	47
II-2-2-6-Lecture du test.....	48
II-2-2-7-Interprétation des résultats.....	48
<i>Chapitre 2: RESULTATS ET DISCUSSION</i> .....	49
I- RESULTATS ANTHELMINTHIQUES.....	49
I-1-Présentation des résultats.....	49
I-2-Recherche d'activité larvicide du CMC.....	49
I-3-Analyse des résultats.....	50
II- DISCUSSION.....	51
II-1- Pertinence de notre stratégie pharmaco-chimique.....	52
II-2- Eléments structuraux d'optimisation d'activités .....	52
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	56
BIBLIOGRAPHIE.....	59
RESUME	

# **INTRODUCTION**

Les helminthiases constituent un des obstacles majeurs au développement économique dans les pays tropicaux et subtropicaux. Leur fréquence et leur impact sont considérables au sein des populations aussi bien humaines qu'animales.

De nos jours, la prise en charge thérapeutique de ces pathologies est principalement basée sur l'utilisation de médicaments de la classe des benzimidazoles anthelminthiques [1-3]. Ceux-ci sont largement utilisés car relativement mieux tolérés tant chez les humains que chez les animaux [1,3].

Cependant, l'emploi abusif de ces médicaments a contribué au développement de souches parasitaires de plus en plus chimiorésistances [4-7]. Ainsi, les anthelminthiques benzimidazoles autrefois efficaces, le sont actuellement de moins en moins [4-7]. De ce fait, la résistance aux benzimidazoles anthelminthiques est devenue un problème mondial avec des conséquences cliniques et socio-économiques parfois graves, surtout dans l'élevage des petits ruminants. Pour ces derniers, la souche parasitaire pathogène la plus répandue dans les régions tropicales et subtropicales, demeure *Haemonchus contortus* [8,9]. Ce parasite, principal agent des diarrhées saisonnières mortelles des petits ruminants, menace l'important cheptel des ovins et caprins que recèle l'Afrique subsaharienne [10,11].

Par ailleurs, la lutte contre les helminthoses est confrontée à des difficultés de mise au point de nouveaux médicaments efficaces. En effet, depuis l'apparition de la chimiorésistance aux anthelminthiques en 1957 en Ukraine et aux USA [12], il a fallu attendre 52 ans pour la mise sur le marché ; le 31 mars 2009 en Nouvelle-Zélande et au Royaume-Uni, du Monepantel, anthelminthique efficace contre les souches résistantes de *Haemonchus contortus* [13]. Malheureusement, l'on assiste ces dernières années à des résistances multiples au Monépanel [14,15].



Dans ce contexte de chimiorésistance et d'inefficacité des benzimidazoles anthelminthiques, la principale stratégie en chimie médicinale pour combattre les helminthoses, est la mise au point de nouveaux anthelminthiques plus efficaces.

Notre stratégie a donc consisté au remplacement de l'enchaînement propénone des benzimidazolyl-arylpropénone possédant un carbonyle  $\alpha$ ,  $\beta$ -éthylénique par son isostère nitrile  $\alpha$ ,  $\beta$ -éthylénique ou acrylonitrile.

L'objectif général visé étant l'obtention de nouveaux benzimidazoles anthelminthiques à groupement fonctionnel 2-arylacrylonitrile.

Les objectifs spécifiques, assignés à cette étude sont de :

- ✓ déterminer les concentrations larvicides en série des arylacrylonitriles à support benzimidazolique vis-à-vis de *Haemonchus contortus*,
- ✓ établir une étude de relations structure-activité en série des benzimidazolés anthelminthiques à groupement fonctionnel arylacrylonitrile.

Le présent travail se décline en deux parties :

- ✓ La première partie est relative à la revue de la littérature. Elle abordera successivement :
  - Les Helminthoses vétérinaires
  - La chimiothérapie des helminthoses vétérinaires et leurs limites d'utilisation
- ✓ La seconde partie de type expérimental, sera consacrée :
  - Aux matériels et méthodes d'évaluation des activités anthelminthiques vis-à-vis de *Haemonchus contortus*,  
dont la conceptualisation des arylacrylonitriles à support benzimidazoles

- A l'analyse des résultats obtenus, suivie d'une discussion de type relations structure-activité.

Notre travail s'achèvera par une conclusion ainsi que les perspectives qui en découlent.

*Première partie :*  
**REVUE DE LA LITTERATURE**

## **Chapitre 1 : Helminthoses animales**

### **I- DEFINITION**

Les helminthoses animales sont des parasitoses provoquées par des helminthes chez certains animaux en l'occurrence chez les ovins, caprins, bovins et équidés. Selon leur localisation chez l'animal, ces vers provoquent surtout des infections broncho-pulmonaires, intestinales et gastro-intestinales [11].

### **II- MANIFESTATIONS DE LA MALADIE**

#### **II-1- Evolution clinique**

Les helminthoses évoluent le plus souvent selon un mode chronique. Les formes aiguës restent rares mais sont parfois mortelles [16]. Lors des helminthoses gastro-intestinales, les signes cliniques, lorsqu'ils existent, se classent selon deux grands syndromes: un syndrome dit digestif et un autre dit anémique [16,17].

- **le syndrome digestif.** Il est le plus fréquent et affecte simultanément plusieurs animaux âgés d'au moins deux ans. Il se traduit par une diarrhée profuse, très liquide, souillant la queue et le train postérieur de l'animal (**figure1**). L'appétit est irrégulier et si l'animal mange, il n'en "profite" pas. Cependant, l'anorexie est souvent la règle. Certains animaux présentent parfois du pica (ingestion de matières non alimentaires) et ont toujours soif [16].



**Figure 1** : Animal avec un postérieur souillé par la diarrhée

- **le syndrome anémique [16]**. Il est provoqué par les strongles hématophages. C'est le cas classique fréquent lors d'haemonchose en élevage ovin. Une haemonchose massive peut évoluer, particulièrement chez les jeunes, selon un mode suraigu. On ne peut alors que constater de nombreuses mortalités sans aucun symptôme [16]. Lorsque les signes cliniques existent, ils se traduisent par un mauvais état général et une apathie [16].

Les symptômes locaux évoquent, quant à eux, une anémie sévère: les muqueuses sont décolorées, qualifiées parfois de « porcelaines », et un œdème sous-glossien (signe d'une hypo protéinémie) (**figure 2**) se développe. L'animal perd peu à peu l'appétit et demeure prostré [16,18].



**Figure 2** : Animal avec un œdème sous-glossien

## **II-2- Evolution chronique sub-clinique**

Elle concerne surtout les adultes et se traduit par un mauvais état général, une asthénie, un poil terne et piqué, ou un amaigrissement associé à une baisse de l'appétit. Certains animaux peuvent présenter des troubles de la fécondité, et parfois des entérites ou des anémies [19,20].

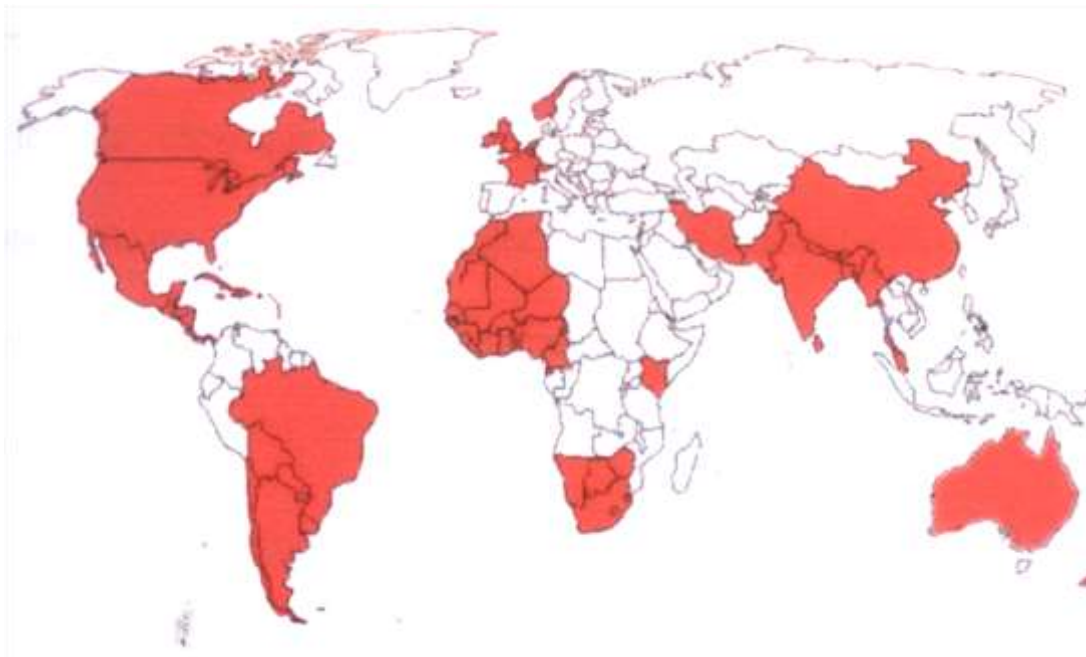
## **III- EPIDEMIOLOGIE DES HELMINTHOSES OVINES ET IMPACT SOCIO-ECONOMIQUE**

### **III-1- Répartition géographique**

Les nématodes gastro-intestinaux ont une distribution mondiale avec des prédominances d'espèces variables selon les grandes zones climatiques

(**Figure 3**). En zones tropicales et subtropicales, *Haemonchus contortus* est très largement réparti et très pathogène [21]. *H. contortus* est moins fréquent dans les élevages des zones tempérées [22].

En Côte d'Ivoire les espèces prédominantes chez les ovins, tant du point de vue de la fréquence que de l'intensité moyenne, sont *Trichostrongylus colubriformis* et *Haemonchus contortus* [23].



**Présence d'helminthes ■**

**Figure 3:** Répartition géographique des helminthoses ovines [24]

De manière synthétique, on peut différencier deux types de profils d'infestation par les strongles [25] :

- infestation mixte à prédominance de *Haemonchus contortus* : principalement dans les régions chaudes et suffisamment humides (Afrique du Sud, Australie, Tchad)

- infestation mixte à prédominance de *Teladorsagiacircuminctae* et *Trichostrongylus colubriformis* : principalement dans les régions tempérées (Nouvelle Zélande, Europe, Asie).

### **III-2- Impact socio-économique des helminthoses**

Les ovins participent de façon importante à l'économie agricole mondiale. La Chine, l'Australie, l'Inde et l'Iran ont les plus importants troupeaux de moutons avec respectivement en millions de bêtes 157,9 ; 101,1 ; 62,5 et 54,0. Sur le continent africain, l'Afrique du sud, l'Algérie et le Maroc se démarquent en matière de production ovine avec respectivement 25,3 ; 18,7 et 17,0 millions de têtes en 2004. L'Afrique de l'ouest s'illustre comme une région d'élevage par excellence mais sous-exploitée avec néanmoins 620 millions de têtes dont 33% d'ovins. En effet, ces ovins sont utilisés dans plusieurs domaines notamment dans l'industrie agro-alimentaire [26].

Dans les pays ouest-africains, l'élevage des ovins contribue à hauteur de 44% au PIB agricole [10]. De plus, les revenus de cet élevage interviennent de façon importante dans de nombreuses économies locales. Les ovins sont mêmes utilisés comme monnaie d'échange dans une économie de troc [26].

La vente de la viande est la partie la plus rentable dans l'industrie du mouton. L'intestin de mouton peut être utilisé comme boyau de saucisse. Le lait par contre est utilisé pour la confection du fromage, du beurre et d'autres produits laitiers.

Le mouton est utilisé dans d'autres domaines par exemple, les sous-produits de l'abattage des ovins ont également de la valeur : le suif peut être utilisé dans la fabrication de bougies et de savons. Les os de mouton servent à faire des objets d'art, des « osselets » pour les jeux et des boutons. Les os et les cartilages sont utilisés pour fabriquer de la colle et de la gélatine.

L'intestin d'agneau est transformé en fils de sutures chirurgicales, en cordes d'instruments de musique et en cordages de raquettes de tennis.

Des crottes de moutons ont même été stérilisées et mélangées avec des matériaux traditionnels pour faire de la pâte à papier. De l'ensemble des sous-produits du mouton, le plus précieux est peut-être la lanoline : la matière grasse, imperméable à l'eau, retrouvée naturellement dans la laine est utilisée comme base pour d'innombrables produits cosmétiques [26].

Dans les pays de l'Afrique de l'ouest, l'économie de l'industrie agro-alimentaire des ovins étant soutenue en partie par l'élevage, ces helminthoses constituent un frein à la production ovine. En effet, au Nigeria et au Tchad, cette infestation entraîne une baisse de 11% de la productivité des troupeaux alors qu'au Sénégal, cette baisse est de 33% avec des répercussions non négligeables sur l'économie sous régionale [27].

En Afrique du sud qui compte environ 29 millions de moutons et 6 millions de chèvres, l'effet de morbidité et les conséquences des pertes de production chez les petits ruminants dus à l'haemonchose sont considérables [28].

Par ailleurs, de multiples études ont montré que ce parasitisme est responsable de retard de croissance des jeunes animaux [24] que ce soit chez les agneaux ou les chevreaux qui se traduit par des réductions de poids de carcasse à l'abattage. De même, des modifications de la qualité des carcasses ou de la viande (taux de gras réduit; rétention d'eau) ont été décrites à la suite d'infestations par les nématodes [29].

Chez les femelles laitières, les infestations par les trichostrongles digestifs ont été régulièrement associées à des baisses de production de lait et, de manière plus rare, à des modifications de la composition du lait [30], observées principalement chez les plus fortes productrices.



Dans l'industrie du textile et du vêtement, les moutons fournissent une vaste gamme de matières premières. Ainsi, la laine a été l'un des premiers textiles largement répandu et les toisons sont utilisées comme matériau pour d'autres produits tels que la laine d'isolation. La peau de mouton est également utilisée pour la fabrication de vêtements, de chaussures, de tapis et d'autres produits.

Les effets néfastes que provoquent les helminthoses dans l'industrie du textile sont multiples. Par exemple en Australie et en Nouvelle-Zélande les baisses de production et les altérations de la qualité de la laine (plus fine et plus cassante) chez les animaux parasités ont été signalées [31,32].

Au niveau familial, dans les pays en voie de développement en particulier, les troupeaux peuvent faire partie de l'agriculture de subsistance plutôt que d'une agriculture commerciale [26]. En effet, l'élevage des moutons constitue une des principales activités économiques dont sont tributaires les populations les plus pauvres en tant que source d'aliments et de revenus monétaires. Il constitue aussi la principale assurance contre les risques pour des millions de populations pauvres dont les moyens d'existence reposent sur l'agriculture pluviale [33].

Au plan socioculturel, les moutons jouent aussi un rôle très important lors des cérémonies religieuses (Noël, Pâques, nouvel an, Tabaski, Ramadan), des mariages, des rites funéraires et de dons. Par exemple, la fête de Tabaski (fête musulmane) concentre à elle seule 65% des ventes de moutons en Afrique de l'Ouest [33].

Par ailleurs, cette baisse de production ovine pourrait avoir comme conséquences, des difficultés d'approvisionnement lors des cérémonies religieuses de grande importance (Tabaski).

A ces pertes économiques s'ajoute le coût des traitements. Ainsi, en Europe, notamment en France, les problèmes de santé en élevage ovin représentent 7 à 12% des coûts en élevage conventionnel et 5 à 30% en élevage biologique [34]. De même, une étude a estimé que le coût du traitement et les pertes

économiques annuelles dues aux nématodoses s'élevaient environ à 222 millions de dollars australiens [28].

## **Chapitre 2 : Chimiothérapie des helminthoses animales et leurs limites d'utilisation**

### **I- CHIMIOThERAPIE DES HELMINTHOSES ANIMALES**

#### **I-1- Historique et classification**

L'importance économique de l'élevage a conduit à la mise au point, en 1939, du premier anthelminthique de synthèse, la phénothiazine. Les premiers résultats de son utilisation furent rapportés sur les parasites des ruminants et des chevaux [35]. Au vu de son spectre étroit, cette molécule fut remplacée par d'autres produits ayant un spectre d'action plus large, les benzimidazoles, actifs sur les nématodes gastro-intestinaux.

Le premier produit synthétisé et commercialisé de cette classe chimique fut le Thiabendazole en 1963 [36]. Parallèlement aux benzimidazoles, plusieurs autres anthelminthiques ont été découverts et mis sur le marché dont les imidazothiazoles. Ces derniers, actifs dans les helminthoses gastro-intestinales des ruminants, du porc et du lapin sont représentés en thérapeutique par le Tétramisole synthétisé dans les années 60 et le Lévamisole bien après.

Onze (11) ans après (1977), un nouvel anthelminthique de la classe des salicylanilides, a été découvert : le Closantel [37]. A partir de 1975, les recherches sur les antiparasitaires ont été orientées vers des substances d'origine naturelle, radicalement différentes de celles qui étaient alors utilisées en thérapeutique vétérinaire. Ceci a abouti à la découverte de la classe chimique des lactones macrocycliques ayant un spectre d'action large et actifs dans les nématodoses gastro-intestinales, respiratoires et rénales chez les ruminants, les équidés, les porcins et les animaux de compagnie[36]. Le représentant de cette

nouvelle classe de substances naturelles à structure macro-lactonique est l'Ivermectine, mis sur le marché en 1981. Tout récemment (en 2008), une nouvelle molécule a été développée (le Monepantel) qui représente le précurseur d'une cinquième famille introduite sur le marché, celle des dérivés de l'amino-acétonitrile [13].

Au total, la chimiothérapie des infections à nématodes chez les ruminants repose principalement sur 5 grandes classes chimiques d'anthelminthiques à large spectre que sont :

- ✓ les benzimidazoles,
- ✓ les imidazothiazoles,
- ✓ les lactones macrocycliques,
- ✓ les salicylanilides,
- ✓ et celle récente des amino-acétonitrile qui renferment des molécules à spectre étroit [13,38].

## **I-2- Benzimidazoles et probenzimidazoles**

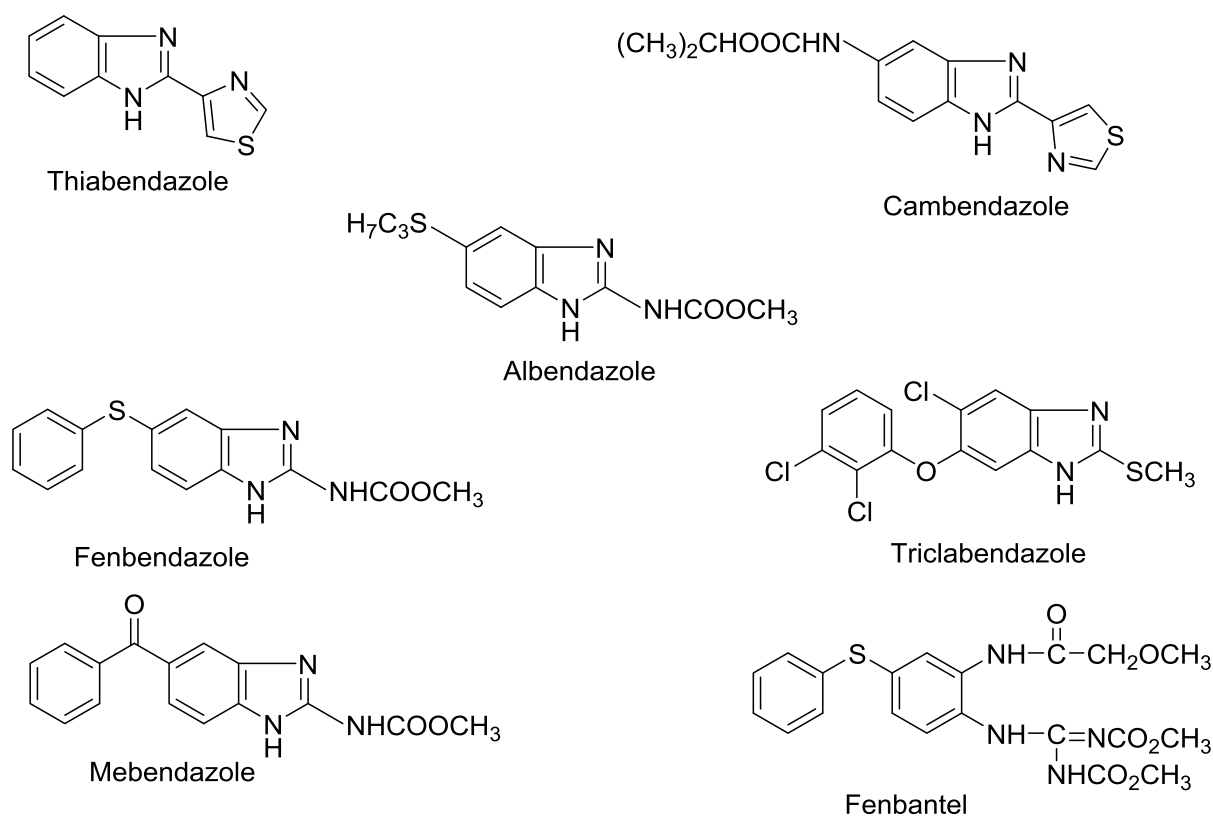
### **I-2-1- Définition - Structures**

Les benzimidazolés et les probenzimidazolés anthelminthiques [1] ont la particularité d'être utilisés tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. Cette série chimique se caractérise par la présence du noyau benzimidazolique utilisé comme support hétérocyclique. Elle comprend quatre catégories de composés :

- ✓ Les dérivés substitués en position 2 par un hétérocycle de type thiazole : deux représentants sont actuellement utilisés en médecine vétérinaire: le Thiabendazole et le Cambendazole qui possède en plus un ester carbamique en position 5[1] (**Figure 4**);
- ✓ Les dérivés substitués en position 2 par un ester carbamique et en position 5 par divers modulateurs. Ce sont les plus nombreux et les plus importants

tant en médecine humaine que vétérinaire : Albendazole, Mébendazole, Fenbendazole, etc. [1] (**Figure4**);

- ✓ Un dérivé substitué en position 2 par une fonction thio-éther, en position 5 par un halogène et en position 6 par un groupement phénoxy: le Triclabendazole, seul représentant utilisé en thérapeutique [1] (**Figure 4**)
- ✓ Pour améliorer la solubilité des benzimidazoles dans l'eau ainsi que leur absorption, différentes prodrogues ont été élaborées : ce sont les probenzimidazoles (Febantel) [1] (**Figure 4**).



**Figure 4:** Structures de quelques benzimidazoles et probenzimidazoles anthelminthiques

### **I-2-2- Mécanisme d'action**

Les benzimidazoles agissent directement sur les vers alors que les probenzimidazoles sont administrés à l'animal sous forme de prodrogues converties en molécules actives par des réactions enzymatiques, qui se déroulent en général dans le foie. Ils procèderaient tous par inhibition de la polymérisation de la tubuline en microtubules (cellules intestinales du parasite), conduisant à la désagrégation puis à la mort cellulaire des vers [1, 39].

### **I-2-3- Spectre d'action et indications**

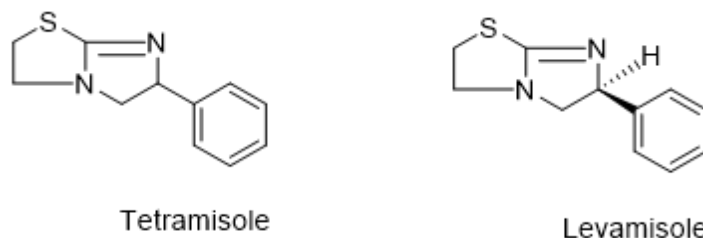
Les dérivés benzimidazoliques présentent une très bonne activité sur l'ensemble des nématodes [1]. En effet, en médecine vétérinaire les dérivés benzimidazoliques sont utilisés dans le traitement des nématodoses respiratoires, plus spécialement des bronchites vermineuses dues aux strongles, des ascaridioses, des trichostrongyloses et helminthoses de l'intestin grêle ou du gros intestin. Pour les helminthoses digestives, les dérivés benzimidazoliques sont non seulement actifs sur les formes adultes, mais aussi sur les formes immatures. De plus, les genres les plus sensibles sont *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Nematodorus*, *Chabertia* et *Oesophagostomum*.

## **I-3- IMIDAZOTHIAZOLES**

### **I-3-1- Définition – Structure**

Les imidazothiazoles constituent une classe de composés anthelminthiques actifs contre les strongles digestifs des bovins et des porcs, qu'ils soient sous forme adulte ou larvaire. Ces principes actifs présentent dans leur structure un noyau imidazole associé à un noyau thiazole (imidazothiazole) [1].

A l'heure actuelle, deux composés sont utilisés en thérapeutique : le Tétramisole est le composé racémique alors que le Lévamisole (**Figure 5**) est l'isomère lévogyre, 10 fois plus actif [1].



**Figure 5** : Structure des imidazothiazoles

### I-3-2- Mécanisme d'action

Ce sont des cholinomimétiques, capables de se fixer sur les récepteurs de l'acétylcholine au niveau des ganglions nerveux du nématode. Cette fixation induirait un changement de la perméabilité membranaire post-synaptique provoquant une contraction musculaire, entraînant une paralysie puis la mort du parasite [1,39].

### I-3-3- Spectre d'action et indications

Ces composés sont utilisés comme nématocides actifs dans :

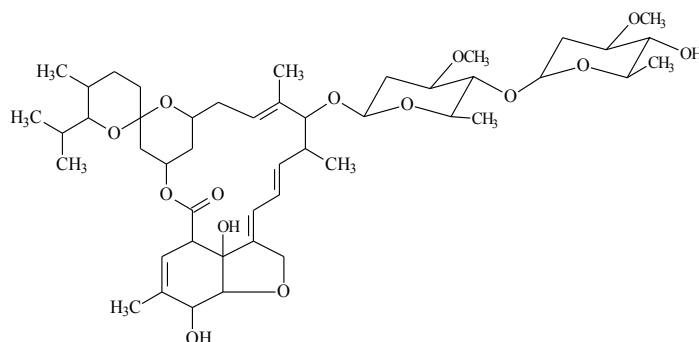
- ✓ les helminthoses gastro-intestinales des ruminants, du porc et du lapin. L'efficacité est très bonne sur *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Chabertia*, *Oesophagostomum* adultes et immatures ;
- ✓ les helminthoses respiratoires des ruminants, du porc, du veau et du chat ;
- ✓ l'ascaridiose du porc, du chien, du chat, du veau et des volailles ;
- ✓ l'ankylostomose du chien [1].

## I-4- Lactones macrocycliques

### I-4-1- Définition – Structure

Les lactones macrocycliques représentent une famille homogène d'anthelminthiques d'origine naturelle [1]. Ce sont des produits de fermentation d'actinomycètes du genre *Streptomyces*. Les espèces *Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces hygroscopicus* et *Streptomyces cyaneogrius* génèrent au cours de leur croissance de nombreux composés qui se répartissent en deux familles : les

avermectines et les milbémycines. Du point de vue de leur constitution chimique, ces molécules possèdent toutes une structure complexe comprenant de nombreux hétérocycles lactones [1]. Deux sous-familles existent: les avermectines (ex: l'Abamectine, l'Eprinomectine, la Sélamectine, l'Ivermectine (**Figure 6**) et la Doramectine) et les milbémycines (ex : Moxidectine) Les milbémycines ont une structure très proche de celle des avermectines[1].



**Figure 6** : Structure de l'Ivermectine

#### I-4-2- Mécanisme d'action

Les lactones macrocycliques se fixeraient aux canaux ioniques glutamate-dépendant [39,40] (ex : GABA ou acide gamma-amino butyrique) de la membrane des cellules neuromusculaires des nématodes et des arthropodes. Cette fixation provoquerait l'ouverture de ces canaux et une augmentation de la perméabilité aux ions chlorure. Ceci entraînerait une hyperpolarisation des cellules nerveuses et musculaires, conduisant à une paralysie flasque puis à la mort du parasite [39,40].

#### I-4-3- Spectre d'action et indications

Ils sont indiqués dans les nématodoses gastro-intestinales, respiratoires et rénales chez les ruminants, les équidés, les porcins et les animaux de compagnie[39]. Les parasites les plus sensibles sont les strongles (*Bunostomum*, *Charbertia*, *Haemonchus*, *Oesophagostomum*, *Ostertagia ostertagi*, *Trichostrongylus* adultes et immatures) [41]. D'autres nématodes sont également

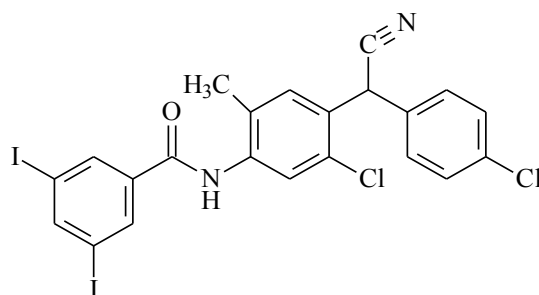
sensibles : les ascaris, oxyures, trichures et aussi les microfilaires, notamment chez les équidés. L'Ivermectine peut être également utilisé contre les insectes et les acariens piqueurs [41].

## **I-5- Salicylanilides**

### **I-5-1- Définition– Structure**

Les salicylanilides représentent une classe chimique homogène d'anthelminthiques [1], caractérisée par une fonction amide résultant formellement de la condensation entre dérivés de l'acide salicylique et l'aniline. Les substituants des groupements phényles sont le plus souvent des groupements reconnus pour contribuer aux activités antiseptiques ou antiparasitaires : Cl, Br, I, nitro, p-chlorophénoxy [1].

Le représentant le plus connu de cette classe chimique est le Closantel (**Figure 7**).



**Figure 7:** Structure du Closantel

### **I-5-2- Mécanisme d'action**

Aux doses thérapeutiques, le Closantel inhiberait la phosphorylation oxydative mitochondriale de l'ADP diminuant la synthèse de l'ATP. Le blocage du cycle de Krebs qui en résulte, aboutit à l'accumulation de l'acide lactique. Cette accumulation majeure gravement les perturbations du métabolisme du parasite qui devient alors sensible aux enzymes protéolytiques de l'hôte [1, 39].



### **I-5-3- Spectre d'action et indications**

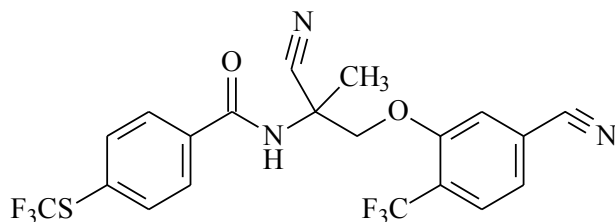
Ces composés sont essentiellement utilisés comme douvicides vis-à-vis de *Fasciola hepatica* ou *Fasciola gigantica*[1].

Certains d'entre eux sont des nématocides utilisés dans les haemonchoses ou des cestodoses utilisés dans les moniézioses [1]

### **I-6- Les dérivés de l'acétoacétonitrile**

#### **I-6-1- Définition– Structure**

Les acétoacétonitriles constituent une nouvelle classe d'anthelminthiques [13] de synthèse totale possédant un spectre d'action étroit. Leur spécificité réside dans leur efficacité vis-à-vis des souches résistantes aux autres anthelminthiques. Le seul représentant actuellement utilisé en thérapeutique vétérinaire est le Monepantel dans Zolvix<sup>R</sup>[13] (**Figure 8**).



**Figure 8** : Structure du Monepantel

#### **I-6-2- Mécanisme d'action**

Le Monepantel agirait sur le récepteur nicotinique cholinergique spécifique des nématodes de la sous-famille DEg-3[41]. La molécule provoque une hyper contraction des muscles corporels, qui conduit à des contractions spasmodiques de la portion antérieure du pharynx, à la paralysie puis à la mort du parasite [38].

#### **I-6-3- Spectre d'action et indications**

Le spectre d'activité du Monépantel inclut les stades 4 larvaires, les stades pré-adultes et adultes d'un large spectre d'espèces de nématodes. De plus, le Monépantel serait efficace contre les souches résistantes aux trois familles

d'anthelminthiques à large spectre (benzimidazoles, imidazothiazoles-tetrahydropyrimidines et lactones macrocycliques). Ces résultats d'efficacité sont complétés par la bonne tolérance et une faible toxicité pour les mammifères. L'utilisation proposée chez les ruminants est celle d'une administration unique par voie orale (2,5mg/kg ; 3,5 mg/kg de poids vif ou 5 mg/kg de poids vif, respectivement chez les ovins, caprins et les bovins) [11-16].

De plus, le Monépantel s'est révélé efficace expérimentalement sur *Ascaris lombricoïdes*, nématode commun chez l'homme dans certaines régions tropicales du monde [1].

**Tableau I** : Principaux anthelminthiques actifs contre les nématodes gastro intestinaux chez les ovins

Familles	Molécules	Noms déposés	Spectre d'action	Posologie et voie d'administration
Benzimidazoles	Oxfenbendazole	Oxfenil <sup>®</sup>	Ad, L4 et hypobiose de Hc et Tc	4,5 mg/kg VO
		Synanthic <sup>®</sup>	Ad, L4 et hypobiose de Hc et Tc	5 mg/kg VO
	Fenbendazole	Panacur <sup>®</sup>	Ad, L4 et hypobiose de Hc et Tc	5 mg/kg VO
		Rintal <sup>®</sup>	Ad, L4 et hypobiose de Hc et Tc	5 mg/kg VO
	Albendazole	Valbazen <sup>®</sup>	Ad et L4	3,8 mg/kg VO
Imidazothiazoles	Lévamisole	Lévamisole <sup>®</sup>	Ad et L4	7,5 mg/kg VO
		Némisol <sup>®</sup>	Ad et L4	7,5 mg/kg VO, injectable
Salicylanilides	Closantel	Supaverm <sup>®</sup>	Ad, L4 et hypobiose de Hc	10 mg/kg VO
		Seponver <sup>®</sup>	Ad, L4 et hypobiose de Hc	10 mg/kg VO
	Nitroxinil	Dovenix <sup>®</sup>	Ad, L4 et hypobiose de Hc	10 mg/kg SC
Lactones macrocycliques	Ivermectine	Ivomec <sup>®</sup>	Ad et L4	0,2 mg/kg SC
		Oramec <sup>®</sup>	Ad et L4	0,2 mg/kg VO
	Doramectine	Dectomax <sup>®</sup>	Ad, L4 et hypobiose de Hc et Tc	0,2 mg/kg IM ou SC
Moxidectine	Cydectine <sup>®</sup>	Ad, L4 et hypobiose de Hc, Tc et Ta	0,2 mg/kg SC ou VO	
Dérivés amino-acétonitriles	Monepantel	Zolvix <sup>®</sup>	Ad, L4 et hypobiose de Hc, Tc, Ta, Ot, Od	2,5 mg/kg VO

VO: voie orale ; SC: sous-cutanée ; IM: intra-musculaire ; Ad: adulte ; L4: 4<sup>e</sup> stade larvaire ; Hc: *Haemonchus contortus* ; Tc: *Teladorsagia circumcincta* ; Ta: *Trichostrongylus axei* ; Ot: *Ostertagia trifurcata* ; Od : *Ostertagia davtiani*.

## **II- LES LIMITES D'UTILISATION DES ANTHELMINTHIQUES DE SYNTHÈSE**

### **II-1- Restrictions d'emploi**

L'inquiétude justifiée quant à la présence éventuelle de résidus de médicaments vétérinaires dans les produits d'origine animale a conduit à établir des règles [42]. Ces règles contribuent à limiter le choix et l'utilisation des anthelminthiques de synthèse dans certaines productions, en particulier chez les espèces à vocation laitière [42].

De manière générale, le nombre d'anthelminthiques de synthèse utilisables durant la lactation est beaucoup plus limité que pendant la période de tarissement. Ces restrictions d'emploi sont justifiées car certains anthelminthiques de synthèse ou leurs métabolites sont excrétés dans le lait. Ces restrictions conduisent à des délais d'attente pour la consommation du lait (de l'ordre de quelques jours) voire une interdiction totale d'emploi de certaines molécules chez les femelles en lactation [42]. En raison du nombre plus restreint de molécules développées pour les ovins et les caprins laitiers, le nombre de familles disponibles s'avère très réduit. Ainsi, seuls le Fébantel, l'Oxfendazole et le Fenbendazole (tous des benzimidazoles) disposent d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) avec des délais d'attente nuls pendant la lactation chez les petits ruminants [42].

### **II-2- Ecotoxicité**

L'écotoxicité désigne l'effet toxique d'une substance chimique d'origine naturelle ou non sur les organismes vivants et leur écosystème. Les anthelminthiques de synthèse sont généralement métabolisés dans le tractus digestif de l'animal ou par le foie après absorption [43]. La majorité de ces molécules ou de leurs métabolites sont ainsi évacuées dans les fèces, en quantité plus ou moins importante. Depuis la fin des années 1990, des études ont

examiné les conséquences possibles de ces anthelminthiques de synthèse ou de leurs métabolites sur les écosystèmes des prairies et certains de leurs composants biotiques [43,44]. Aucune toxicité n'a été décrite, pour les métabolites fécaux des Benzimidazoles et du Lévamisol. Par contre, pour certaines formes galéniques de certaines lactones macrocycliques, une toxicité pour des coleoptères coprophages a d'abord été signalée par observations de terrain puis a été confirmée au laboratoire [42, 44]. Cette écotoxicité potentielle s'explique par le spectre d'action élargi (incluant les insectes) des endectocides et par des modes d'administration (bolus d'Ivermectine) qui entraînent une élimination prolongée des résidus dans les matières fécales.

## **II-3- Résistance des nématodes gastro-intestinaux aux anthelminthiques**

### **II-3-1-Définition de la résistance aux anthelminthiques**

D'après l'O.M.S, « une population de parasites chimiorésistants est une population de parasites ayant génétiquement acquis la capacité de résister à des concentrations d'antiparasitaires habituellement létales pour des individus de cette espèce » [45]. C'est une situation dans laquelle une dose normale d'une molécule ne permet plus une réduction conséquente des vers ou des œufs éliminés. Elle repose sur une mutation, c'est-à-dire une modification brutale du matériel génétique du parasite.

Plusieurs types de résistance ont été décrits selon les capacités des parasites à résister à une substance unique (résistance simple), à un groupe de substances ayant le même mode d'action (résistance de famille, la plus fréquente) ou à un ensemble de composés qui ont des modes d'action différents (résistance multiple) [46]. La pression environnementale (comme l'utilisation des anthelminthiques) sélectionne certaines mutations dans une population de parasites. Le succès reproductif de ces individus résistants est plus important que celui des individus sensibles. Comme le temps de génération est court chez les

helminthes, la proportion d'individus résistants augmente rapidement dans la population. La résistance est donc une adaptation par mutation dont le déterminisme est génétique et la transmission héréditaire [19].

## **II-3-2- Epidémiologie et facteurs de résistance**

### **II-3-2-1- Situation de la résistance dans le monde**

La résistance aux anthelminthiques est un phénomène d'ampleur mondiale, en augmentation constante tant sur le plan géographique, qu'au niveau des espèces de parasites affectées et du spectre des molécules impliquées [46]. Ces résistances sont décrites chez la majorité des espèces de ruminants, mais sont plus sévères chez les ovins et les caprins que chez les bovins.

Toutes les espèces de strongles ainsi que les cinq familles d'anthelminthiques à large spectre sont concernées [47]. Les études les plus importantes se rapportent aux ovins avec comme principales molécules incriminées les benzimidazoles, à cause probablement du fait qu'ils soient les premiers anthelminthiques à large spectre d'action, utilisés contre les strongles digestifs et les moins chers [48].

Le premier cas de résistance a été enregistré vis-à-vis de la phénothiazine chez les ruminants et chez les chevaux en Ukraine et aux USA [12]. L'hémisphère sud (Australie, Nouvelle-Zélande, Afrique du Sud) est la première zone concernée par ce phénomène [49]. Les conditions climatiques et le mode intensif de l'élevage y favorisent la résistance des genres *Haemonchus* et *Trichostrongylus* [50].

Dans les parties sud et nord du continent américain, le phénomène est quasi-similaire : un fort degré de résistance aux benzimidazolés a été mis en évidence [48]. Les situations sont considérées critiques dans certains pays comme l'Argentine car la résistance touche jusqu'à 32% des troupeaux [51].

Le continent européen n'est pas épargné même si l'on considère que la résistance y est moindre. En Norvège, cette résistance est toutefois bien réelle, tant dans des élevages ovins que caprins [50].

En Afrique du Sud, le développement des résistances de *Haemonchus contortus* à tous les anthelminthiques disponibles, laisse peu d'espoir aux éleveurs. Plus de 90 % des élevages ovins sont confrontés au problème et certains ont même dû être éliminés pour des raisons économiques [52]. En Afrique de l'ouest, une étude [53] a permis la découverte de cas de résistance aux benzimidazoles dans des troupeaux ovins en Gambie et au Sénégal jusqu'alors épargnés.

#### **+ CAS SPECIFIQUES DES RESISTANCES AU MONEPANTEL**

Dans ce contexte de chimiorésistance et d'inefficacité des benzimidazoles anthelminthiques, la principale stratégie en chimie médicinale pour combattre les helminthoses, est la mise au point de nouveaux anthelminthiques plus efficaces. Ainsi dans la lutte contre l'émergence de souches multi résistantes ; de nouvelles molécules continuent d'être développées ; la dernière en date (31 mars 2009) est le Monepantel, anthelminthique efficace contre les souches résistantes de *Haemonchus contortus* [24].

Malheureusement, l'on assiste ces dernières années à des résistances multiples au Monépantel [14,15].

Comme preuve, des expériences furent établies :

en 2015, fut publiée, une expérience de sélection et caractérisation de la résistance au Monepantel dans les isolats de *Teladorsagia circumcincta* en Nouvelle Zélande ; en vue de montrer comment les parasites évoluent en réponse à la pression anthelminthique.

La sélection a consisté à recueillir et cultiver des œufs de vers survivants de mouton, administrés sous dose optimal de Monépantel (zolvix), afin de fournir des larves infectieuses pour infecter d'autres brebis jusqu'à ce que des isolats résistants aient été générés (entre 9 et 13 cycles de sélection).

Ainsi, l'étude a établi que la résistance au MonépanTEL peut être artificiellement sélectionnée dans *Teladorsagia circumcincta* dans un délai aussi court que neuf générations [15].

Plus tôt en 2014, fut établi le premier rapport de la résistance au MonépanTEL par *Haemonchus contortus* dans deux fermes d'élevage de mouton en Uruguay; ce rapport a montré une faible efficacité du MonépanTEL dans le traitement des parasitoses à *Haemonchus contortus* [14].

En été 2014/2015, dans une ferme de Sydney en Australie, à la suite d'une résistance confirmée d'*Haemonchus contortus* au MonépanTEL ; diverses molécules furent testées seule ou en association. Ainsi, les résultats ont rapporté :

-une réduction de moins de 95% du nombre d'œuf d'*Haemonchus* après traitement au MonépanTEL ; à l'abamectine ; à la moxidectine ; et à la combinaison Derquantel/Abamectine.

-une efficacité supérieure à 95% obtenue pour une combinaison à 4 voies (Abamectine/Albendazole/Levamisole/Closantel).[17,18]

Plus récemment des souches résistantes au MonépanTEL d'*Haemonchus contortus* ont aussi été décrites aux Pays-Bas [19], au Brésil [20] et Uruguay [21].

La méthode utilisée pour la mise en évidence de la résistance de ces espèces dans ces différents pays est le Fecal Egg Count Reduction (FECRT). Ce test permet de révéler la réduction du nombre d'œufs fécaux selon la méthode de l'association mondiale pour la promotion de la parasitologie.

Ce test est réalisé entre deux groupes d'élevage : le premier groupe, un groupe témoin non traité et le second, groupe traité avec le MonépanTEL à des doses recommandées par le fabricant.

Il a été observé une baisse ou l'absence d'efficacité du traitement avec le MonépanTEL qui se traduit par une identification larvaire pré et post traitement coprocultures à environ 100% pour ces espèces [17-21].



### **II-3-2-2- Facteurs favorisant l'apparition des résistances**

L'apparition, le développement et la diffusion des résistances sont liés à la pression de sélection associée à l'emploi répété d'anthelminthiques de la même famille [40,45]. En effet, lorsque le déterminisme est d'origine monogénique ou oligogénique comme pour les benzimidazoles après traitement, les nématodes gastro-intestinaux porteurs d'allèles « résistants » et les homozygotes survivent contrairement à leurs congénères, sensibles. En conséquence, la proportion de vers porteurs d'allèles « résistants » augmente dans la population. L'avantage reproductif conféré ainsi à ces vers résistants va ensuite contribuer à propager les allèles de résistance dans la population de nématodes de l'élevage en question. Plusieurs facteurs intrinsèques (dépendants des nématodes) ou extrinsèques (liés à des facteurs anthropiques d'application des traitements) ont été identifiés comme favorisant la propagation des allèles de résistance dans une population de trichostrongles.

#### **✓ Facteurs intrinsèques**

Certains éléments de la biologie des nématodes, expliquant la dynamique des populations, favorisent la diffusion accélérée des résistances aux anthelminthiques. La prolificité des vers et la durée du cycle biologique, c'est-à-dire le temps séparant deux générations, sont des facteurs importants. Plus l'espèce est prolifique, plus la diffusion de la résistance va être amplifiée. De même, plus la durée du cycle est courte, plus la propagation du caractère résistant sera rapide [45,49]. Ces phénomènes expliquent notamment l'importance des cas de résistance signalés chez *Haemonchus contortus*.

#### **✓ Facteurs extrinsèques**

Plusieurs facteurs opérationnels dépendent des décisions de l'éleveur. Ils sont également impliqués dans le développement plus ou moins rapide des résistances aux anthelminthiques [12,45] :

- Le sous-dosage : L'exposition des vers à des doses non-létales conduit à une sélection élevée des individus résistants par l'élimination des vers les plus sensibles tout en conservant les vers résistants [54]. En conséquence, la fréquence des vers résistants dans la population de nématodes s'est encore accrue.
- Une fréquence élevée des traitements et l'usage répété de la même classe d'anthelminthique [52]. L'usage alterné d'anthelminthiques de différents groupes ralentit le développement de résistance. Cette alternance pourrait cependant, à long terme, entraîner une résistance multiple.
- L'absence d'une population refuge [46]. La notion de refuge est déterminée par la proportion de nématodes demeurant sensibles aux anthelminthiques dans une population totale. Si un parasite possède plusieurs hôtes possibles, par exemple des hôtes domestiques et sauvages, la pression de sélection ne concerne que les parasites présents chez les hôtes domestiques. Dans ce cas, la faune sauvage constitue une zone refuge pour les parasites sensibles et permet de ralentir la diffusion des gènes de résistance en autorisant les recombinaisons entre parasites sensibles et parasites résistants. En fait, la faune sauvage peut être considérée comme un réservoir de gènes sensibles qui permet la dilution du caractère résistant des souches sélectionnées.

### **II-3-3- Mécanismes des résistances**

Trois phénomènes généraux peuvent expliquer le développement de résistances à tout xénobiotique, ce qui inclut les anthelminthiques [49]:

- Une modification quantitative ou qualitative des récepteurs aux antiparasitaires,

- Une augmentation des capacités de détoxification et d'élimination qui induiraient l'inactivation ou l'élimination accélérée des molécules anthelminthiques ;
- Une amplification du nombre des cibles pour diluer l'activité des molécules anthelminthiques dans l'organisme du vers.

Chez les nématodes, les mécanismes de résistance font surtout appel à la détoxification et à la modification des récepteurs. Les mécanismes de résistance semblent être spécifiques à chaque famille de molécules anthelminthiques [39].

Le mécanisme de résistance aux benzimidazolés a été le plus largement étudié. Il serait dû à une mutation du gène codant la  $\mu$ -tubuline chez les nématodes. On a également découvert des mécanismes analogues concernant la résistance à l'Ivermectine.

Pour le Lévamisolé, la résistance serait associée à une modification des récepteurs nicotiniens qui répondent à l'acétylcholine [39].

Pour les lactones macrocycliques, la résistance serait un phénomène plus complexe car reposant sur des mécanismes de mutation des gènes impliqués dans la réponse cellulaire au GABA ou de surexpression de la glycoprotéine P impliquée dans la détoxification cellulaire. Ce dernier mécanisme est aussi suggéré pour expliquer les cas de résistances multiples [39]. Les mutations génétiques n'expliquent pas à elles seules l'acquisition de résistances aux anthelminthiques dans un élevage.

Un mécanisme de pression sélective doit en plus s'exercer.

Pour le Monépantel, il est donc prévisible que ce type de résistance apparaisse suite à la pression de sélection entraînée par l'utilisation de plus en plus importante de ce nouvel anthelminthique

En raison de cette forte inefficacité des anthelminthiques, il paraît impératif de mettre au point de nouvelles biomolécules plus efficaces, mieux tolérées et à spectre d'action plus large.

*Deuxième partie :*  
**ETUDE EXPERIMENTALE**

## **CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODES**

Ce travail de type expérimental a eu lieu en ce qui concerne la synthèse chimique totale des molécules au Laboratoire de Chimie Thérapeutique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et biologiques et au Laboratoire de Chimie Organique Structurale de l'UFR des SSMT de l'université Félix Houphouët BOIGNY. Les composés synthétisés appartiennent à la série des benzimidazolyl-arylacrylonitriles.

Les structures de toutes les molécules préparées ont été confirmées par les méthodes spectroscopiques habituelles (RMN :  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ; EI Masse) au Laboratoire CEISAM de Nantes.

Pour ce qui est de l'évaluation des activités anthelminthiques, elle a été réalisée durant deux (2) mois et demi (03 Novembre au 16 Janvier 2017) au laboratoire de l'Unité de Recherche en Sciences Appliquées à la Production et Santé Animale/Humaine (URSASAH/ZOONOSE) de l'Université Nangui Abrogoua (UNA) (**Annexe 1**) et au laboratoire de Parasitologie et Mycologie du Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire (CSRS).

### **I. MATERIEL**

#### **I-1-Matériel et réactifs de laboratoire**

Pour la réalisation de ce travail, nous avons utilisé le matériel et les réactifs de laboratoire suivant :

##### **I-1-1- Verrerie et accessoires de laboratoire**

- Une éprouvette 1l et des béchers 250 ml, 500 ml, 1l ;
- Des microplaques de titration Nunch 96 puits à fond plat ;
- Une pipette de 5ml avec pro-pipette
- Une micropipette (DragonLab)
- Des tubes Ependorff
- Une pipette pasteur ;

- Un seau ;
- Une cupule ;
- Des tamis de taille 32 et 50  $\mu\text{m}$  ;
- Un tamis à large maille ( $>50 \mu\text{m}$ );
- Une spatule ;
- Une cellule de Mac Master ;
- Une passoire à thé ;
- Des sachets ;
- Des tubes à centrifuger.
- Gants

#### **I-1-2- Réactifs et solutés de travail**

- Solution de Carboxy-méthyl-cellulose (CMC) ;
- Solution saturée de NaCl (400 g de NaCl pour 1 l d'eau distillée) ;
- Solution saturée de sucre (saccharose) (1kg de sucre pour 960 ml d'eau) ;
- Solution physiologique (S1)
- Solution Earle'S (S2)
- Amphotéricine B (Fungizone<sup>®</sup>) à 250  $\mu\text{g/ml}$  ;
- Agar- agar 2%.

L'agar-agar 2% est obtenu à partir de 4 g d'agar dans 200 ml d'eau distillée et le tout est stérilisé dans un pot de verre à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

La composition de la solution physiologique (S1) est la suivante:

- 810 mg de NaCl dissous dans 90 ml d'eau distillée,
- 0,5 mg d'extrait de levure
- 0,5 mg de protéose-peptone

La solution Earle'S ou Washing (S2) est préparée à partir de :

- 1,02 g de NaCl
- 0,06 g de KCl

- 0,03 g de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 0,039 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- 0,021 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- 13,83 ml d'eau distillée

### **I-1-3- Appareillage**

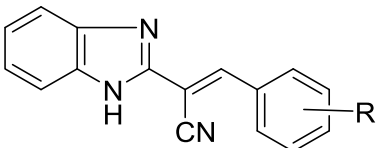
- Un agitateur vibrant type vortex (XH-D<sup>®</sup>) ;
- Une balance de précision (DeltaRange<sup>®</sup>) ;
- Une balance (Mettler<sup>®</sup>) ;
- Une centrifugeuse (Laboratory Centrifuge Machine<sup>®</sup>) ;
- Un autoclave (Model : 25-125 E et NE) ;
- Un microscope optique (Leitz<sup>®</sup>) ;
- Un réfrigérateur (Nasco<sup>®</sup>) ;
- Une étuve (Model : OBY-X80-RE1<sup>®</sup>).

## **I-2- Molécules évaluées**

### **I-2-1- Molécules de synthèse**

Les molécules de synthèse soumises à l'évaluation des activités anthelminthiques, ont été fournies sous forme de poudre pure. Il s'agit 8 dérivés benzimidazolyl arylacrylonitriles (**tableau II**).

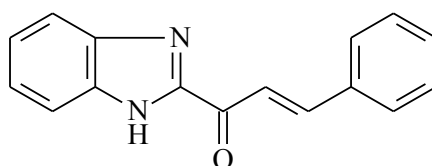
**Tableau II :** Structures chimiques des benzimidazolyl arylacrylonitriles.

Structures chimiques	Composés	R
	<b>2b</b>	H
	<b>2c</b>	4-OH
	<b>2d</b>	4-OCH <sub>3</sub>
	<b>2e</b>	3,4-diOCH <sub>3</sub>
	<b>2f</b>	4-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
	<b>2g</b>	4-Cl
	<b>2h</b>	4-Br
	<b>2i</b>	4-NO <sub>2</sub>

### I.3. Substances de référence

Pour mettre en évidence l'efficacité anthelminthique de nos composés, nous avons utilisé une molécule de synthèse et une (1) substance médicamenteuse.

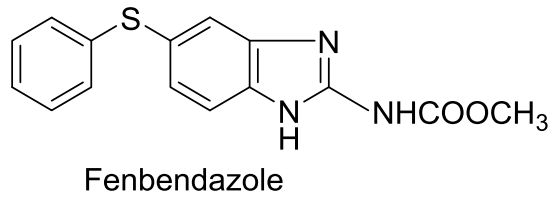
La molécule de synthèse utilisée comme référence est la benzimidazolyl chalcone [70] (**Figure 9**).



**Figure 9 :** Benzimidazolyl chalcone

En ce qui concerne la référence médicamenteuse, il s'agit du Fenbendazole, (**figure 10**) en raison de son efficacité anthelminthique liée à son spectre d'action large vis-à-vis des nématodes. Ce médicament provient de chez *Sigma chemical co* (USA)





**Figure 10:** Structure chimique de la substance médicamenteuse de référence

#### **I.4. Matériel biologique: animaux et souches d'expérimentation**

Pour cette étude, nous avons utilisé des animaux d'expérimentation en l'occurrence des ovins qui ont été infestés par une souche de *Haemonchus contortus*.

##### **I-4-1- Ovins**

Les ovins choisis dans notre étude appartiennent à la race sahélienne (fulani) qui est largement retrouvée en Afrique de l'ouest particulièrement en Côte d'Ivoire. Ce sont des moutons de grande taille et aux longues oreilles.



**Figure 11:** Moutons de race sahélienne (fulani) dans la bergerie

Certains critères ont guidé le choix de nos moutons :

- **Critères de sélection**

- âge : jeunes moutons (pelage laineux) entre 5-9 mois ;
- sexe : mâle et femelle (femelle plus sensible aux strongles et plus docile) [80] ;
- aspect général : des moutons présentant des signes cliniques montrant une infestation à *Haemonchus contortus*

- **Critères de non sélection** : être en gestation

Pour cette étude, nous avons acheté deux jeunes brebis et un jeune mouton malades de races sahéliennes âgés d'environ six (6) mois au marché de bétail de Port-Bouët (Abidjan). Ils ont été amenés à l'URSASAH/ZOONOSE et mis dans une bergerie.

Ces moutons ont été identifiés :

Pour les brebis (selon leur pelage) : Brebis B1 au pelage blanc touffu / Brebis B2 au pelage blanc lisse, et M pour le mâle.



**Figure 12:** Mouton mâle (M)

#### I-4-2- Souche helminthique

La souche helminthique est un nématode vétérinaire des petits ruminants, utilisée comme support biologique pour l'évaluation des activités anthelminthiques des produits à tester. Il s'agit d'une souche sauvage, en l'occurrence des larves de *Haemonchus contortus* car les moutons ont été infestés de façon naturelle.



**Figure 13:** Larve et oeufs d'*Haemonchus contortus* (Photo credit: © 2009 The University of Georgia College of Veterinary Medicine, microscope à fluorescence.)

## II- METHODES

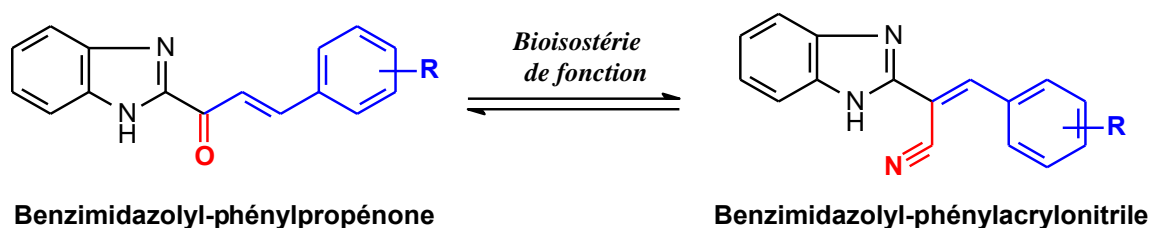
### II-1 Méthodes chimiques : Conceptualisation des arylacrylonitriles à support benzimidazoles

Dans le contexte de résistance des helminthes à la plupart des anthelminthiques médicamenteux, l'élaboration de nouvelles molécules susceptibles d'être plus efficaces est une nécessité.

C'est ainsi que le Laboratoire de Chimie Thérapeutique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques de l'université Felix Houphouët BOIGNY d'Abidjan a initié et développé depuis quelques années, une thématique de recherche de nouvelles biomolécules anti-infectieuses basée sur le couplage direct d'entités bioactives. Dès lors, plusieurs séries chimiques de composés, en l'occurrence des arylpropénones à support benzimidazolique, ont été synthétisés puis évalués pour leurs activités anthelminthiques, notamment anti-*Haemonchus* [55-58].

Ces travaux ont mis en exergue les fortes potentialités anthelminthiques de ces composés et montré que l'enchaînement arylpropénone pouvait être considéré comme un pharmacophore d'activités anthelminthiques. Dès lors de nombreuses variations structurales ont été entreprises pour optimiser lesdites activités notamment le remplacement de l'arylpropénone par l'arylacrylonitrile.

Les benzimidazolyl-arylacrylonitriles à visée anthelminthique ont été conçus par bioisostérie de groupements fonctionnels. En effet, l'enchaînement carbonyle  $\alpha$ ,  $\beta$ -éthylénique des benzimidazolyl-arylpropénones [71] a été remplacé par son isostère nitrile  $\alpha$ ,  $\beta$ -éthylénique ou acrylonitrile (**Figure 14**). L'objectif visé étant l'obtention d'un nouvel inducteur d'activité anthelminthique plus puissant en série des benzimidazoles.



**Figure 14** : Bioisostérie de groupements fonctionnels en série des composés insaturés  $\alpha$ ,  $\beta$ -éthyléniques

Le choix de l'enchaînement fonctionnel arylacrylonitrile se justifie par ses nombreuses activités biologiques en l'occurrence anticancéreuses [72], antifongiques [73], antivirales [74], antibactériennes [75] voire antituberculeuses [76].

## II.2 METHODES D'EVALUATION DES ACTIVITES ANTHELMINTHIQUES

Le travail expérimental réalisé au cours de la présente étude s'est déroulé en deux étapes à savoir le comptage des OPG et l'évaluation de l'activité anthelminthique. Cette dernière a fait appel à la technique des essais de développement larvaire. Ces deux principales étapes ont été précédées d'une phase de mise en condition des animaux d'expérimentation. Un examen hebdomadaire clinique de ceux-ci a permis de s'enquérir régulièrement de leur état de santé

### II.2.1. Principe de la technique de développement larvaire

La méthode dite « test de développement larvaire » est basée sur l'observation au microscope optique du développement larvaire, à partir d'œufs de strongles soumis en milieu gélosé à l'action de concentrations croissantes de produits à tester. Il s'agit d'une amélioration de la méthode décrite initialement par Diehl [81].

Ce test présente l'avantage d'être utilisable aussi bien pour les produits de synthèse que pour les produits naturels [81, 82], quel que soit leur profil de solubilité dans l'eau ou les lipides, à la différence du test d'inhibition d'éclosion des œufs mis au point par Le Jambre [83] et par la suite modifié par Beaumont-Schwartz [84]. De plus, ce test de réalisation relativement facile, présente l'avantage de permettre l'évaluation de l'activité anthelminthique ovicide et/ou larvicide des produits testés.

## **II.2.2. Mode opératoire**

### **II.2.2.1. Mise en condition des animaux d'expérimentation**

Les moutons achetés ont été amenés à l'URSASAH/ZOONOSE et ont été mis dans une bergerie. Pendant la semaine qui suit leur achat, aucun examen n'est effectué. Ce délai a permis aux moutons de s'habituer à leur nouvel environnement afin d'éviter des biais d'appréciation qui pourraient être liés au stress généré par le changement d'espace de vie. Durant leur séjour, ils ont été soumis à un régime alimentaire strict et à un examen clinique.

- **Régime alimentaire**

Les moutons ont été nourris avec les feuilles de (*Panicum maximum* Jacq.), de l'eau d'adduction courante et un complément alimentaire constitué de sons de maïs, de toast de poisson, de remoulage de blé, de soja, de tourteaux de coton leur est apporté pour renforcer leur immunité afin de résister à l'effet du parasite sur l'organisme.

- **Evaluation de l'état initial de parasitage**

Après une semaine de séjour, une évaluation de l'état initial de parasitage du tube digestif des agneaux, par la technique de Mac Master modifiée par Raynaud [79] a été pratiquée. La positivité des résultats de cette évaluation a, dès lors, conduit à un suivi journalier plus approfondi, puis au lancement des tests quelques jours après.

- **Examen clinique**

Après la première semaine, les moutons ont fait l'objet de leur premier examen clinique. Cet examen a permis d'évaluer les paramètres suivants:

- le poids ;
- la température ;
- l'aspect général ;
- la présence d'écoulements au niveau des oreilles et du nez ;
- la présence de diarrhée ;
- la présence de blessures et d'abcès ;
- la présence d'ectoparasites ;
- l'état des ganglions sub-mandibulaires;
- la coordination des membres.

#### **II.2.2.2. Infestation parasitaire et suivi de son évolution**

La réalisation des analyses coprologiques, quelques semaines après l'arrivée des agneaux, a permis de vérifier le taux d'infestation parasitaire.

L'évolution de l'infestation est suivie par l'excrétion fécale exprimée en nombre d'œufs par gramme de fèces (OPG). Ces OPG sont déterminés deux fois par semaine et le comptage se fait par la méthode de Mac Master. Les fèces sont recueillies par une récolte anale directement dans un sachet en plastique.

Trois (3) grammes de crottes sont alors homogénéisées dans 42 ml d'eau de robinet et le tout est filtré à travers une passoire à thé afin d'éliminer les plus grosses particules.

Le filtrat est recueilli et centrifugé à 2000 tours par minute pendant 10 minutes. Le surnageant est alors versé puis remplacé par la solution saturée de sel (NaCl) obtenue à partir de 400 g de NaCl et 1l d'eau distillée (densité = 1,2) dans une pissette. La suspension est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur et introduite dans une cellule de Mac Master.

Les œufs sont comptés au microscope optique ( $G \times 10$ ) et seuls sont considérés les œufs se trouvant entre et sur les lignes du quadrillage marqué sur la cellule de Mac Master. Le nombre d'œufs par gramme de fèces (OPG) est obtenu en multipliant par 100 le nombre (X) d'œufs comptés dans une cavité de la cellule de Mac Master, soit : **OPG = X.100**



**Figure 15:** Cellules Mc Master



**Figure 16 :** Récolte anale des crottes sur le mouton





**Figure17:** comptage des Œufs de *Haemonchus*

### II.2.2.3. Préparation de la gamme de dilution

Pour la préparation des solutions mères, l'on utilise une masse précise de chaque produit de synthèse dans  $V= 1$  ml de Carboxy-méthyl-cellulose (CMC) de sorte à obtenir une solution mère de concentration  $C= 0,05$  Mol/L.

Pour obtenir la masse à peser ( $m_e$ ), l'on utilise la formule suivante :

$$m_e(g) = M(g/mol) \times C (mol/L) \times V (L)$$

**M** étant la masse moléculaire du produit de synthèse

**C** est la concentration de la solution mère

**V** est le volume de solution mère préparée

Le tout est homogénéisé dans des tubes Ependorff grâce à un vortex. A partir de ces solutions mères (S), une série de dilutions est réalisée en microplaques de titration de Nunch à fond plat (96 puits). Cette microplaque comporte 12 (douze) colonnes de puits (numérotées de 1 à 12) et 8 (huit) lignes de puits (chacune numérotées de A à H) (**Annexe 2**). La série de dilution s'effectue à l'aide de micropipettes du puits A vers le puits G pour les produits de synthèse et pour le produit de référence ( Fenbendazole ) par dilution successive avec des concentrations allant de  $1000 \mu\text{mol/l}$  à  $0,001 \mu\text{mol/l}$  selon le protocole de dilution décrit dans le **tableau III**.

**Tableau III:** Protocole de dilution des produits à tester

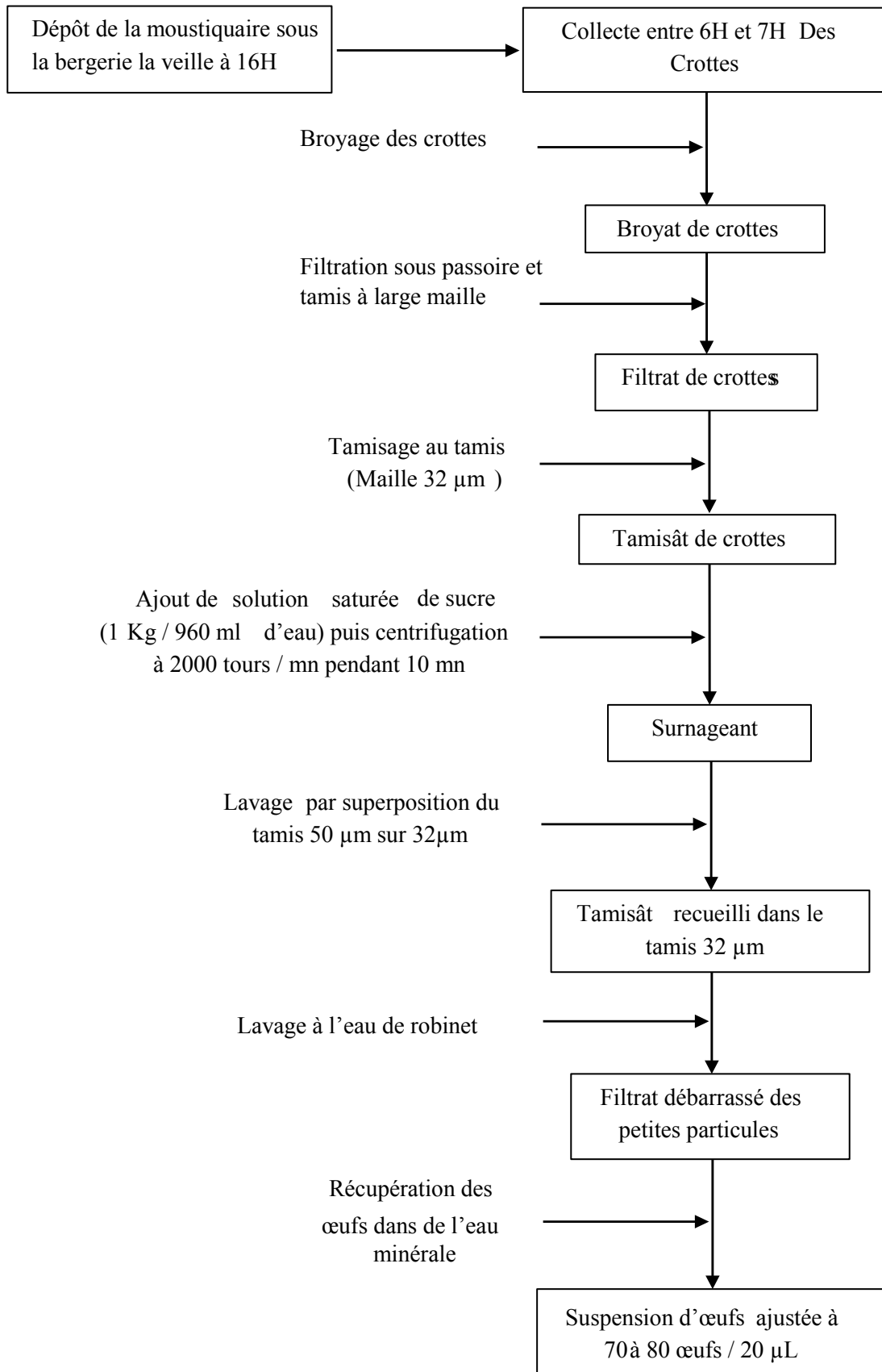
<b>Dilution</b>	<b>Mode de préparation</b>	<b>Concentration correspondante (<math>\mu\text{M/L}</math>)</b>	<b>Pourcentage de CMC dans chaque puits (%)</b>
Dilution	Puits (PA) 4 $\mu\text{l}$ de S + 196 $\mu\text{l}$ H <sub>2</sub> O	1000	2
	Puits (PB) 20 $\mu\text{l}$ de PA+ 180 $\mu\text{l}$ H <sub>2</sub> O	100	0,2
	Puits (PC) 20 $\mu\text{l}$ de PB + 180 $\mu\text{l}$ H <sub>2</sub> O	10	0,02
	Puits (PD) 20 $\mu\text{l}$ de PC + 180 $\mu\text{l}$ H <sub>2</sub> O	1	0,002
	Puits (PE) 20 $\mu\text{l}$ de PD+ 180 $\mu\text{l}$ H <sub>2</sub> O	0,1	0,0002
	Puits (PF) 20 $\mu\text{l}$ de PE+ 180 $\mu\text{l}$ H <sub>2</sub> O	0,01	0,00002
	Puits (PG) 20 $\mu\text{l}$ de PF + 180 $\mu\text{l}$ H <sub>2</sub> O	0,001	0,000002
	Puits (PH) H <sub>2</sub> O, puits contrôle du développement des larves		

Par la suite, 20  $\mu\text{l}$  de chacune de ces dilutions sont transférés dans les puits d'une nouvelle microplaque appelée microplaque-test, puis 140  $\mu\text{l}$  d'agar 2% sont ajoutés dans chaque puits. Avant l'ajout, 2 ml d'Amphotéricine B à 250  $\mu\text{g/ml}$  sont additionnés à l'agar agar après un refroidissement entre 45 et 50°C afin d'empêcher la croissance des levures et autres champignons. Lors de l'ajout de l'agar, il est important d'éviter la formation de bulles dans les puits car leur présence empêche la lecture. L'activité de chaque produit est donnée par sa concentration larvicide ( $\text{CL}_{100}$ ) exprimée en micromolaire ( $\mu\text{M}$ )

#### **II.2.2.4. Extraction des œufs**

Les crottes sont récoltées en grande quantité dans un délai de 14 à 15 heures après la mise en place du dispositif de récolte. Les crottes sont broyées à la main. Le Broyat est pressé sur un passoir puis sur un tamis à large maille afin d'éliminer les grosses particules, le filtrat du broyat est récupéré sur un tamis de 32  $\mu\text{m}$ . On procède ensuite à un tamisage (maille 32  $\mu\text{m}$ ) sous une douche à grand débit d'eau de robinet de sorte à ne récupérer qu'une petite quantité de sédiments dans un bécher.

Au sédiment est ajoutée une solution saturée de sucre (1kg pour 960 ml d'eau distillée) puis le tout est centrifugé à environ 2000 tours par minute pendant 10 minutes afin d'éliminer la plupart des déchets restants. Le surnageant est filtré au travers des deux tamis superposés : celui du dessus (50  $\mu\text{m}$ ) est destiné à retenir les petites particules tandis que les œufs passent et restent sur celui du dessous (32  $\mu\text{m}$ ). Après un lavage à l'eau de robinet, les œufs sont récupérés sur le tamis de 32  $\mu\text{m}$  dans de l'eau minérale. Le nombre d'œufs est ajusté par dilution de 70 à 80 œufs pour 20  $\mu\text{l}$  de suspension qui sont déposés sur l'agar 2% dans chaque puits de la microplaque à l'aide d'une micropipette. Cette microplaque est alors conservée à l'étuve à 27°C sous atmosphère humide pendant 6 jours. Cette incubation est très importante à ce stade de la manipulation car une première expérience sans celle-ci a eu pour effet la fonte de l'agar-agar et l'assèchement de nos dilutions.



**Schéma 1** : Schéma synoptique d'extraction des œufs de *Haemonchus contortus*



**Figure 18:** Crottes de mouton sur le tiroir posé sous la bergerie



**Figure 19:** Collecte des crottes

#### **II.2.2.5. Entretien des bactéries du tube digestif du mouton**

Les larves du parasite, aux stades 1 et 2 ( $L_1$  et  $L_2$ ), se nourrissent des bactéries du tube digestif du mouton qui sont associées aux œufs. Pour permettre une bonne croissance de ces bactéries, 20  $\mu$ l de la solution nutritive (S1) sont ajoutés 24 heures après le dépôt des œufs sur l'agar à l'aide d'une micropipette si le taux d'éclosion avoisine au moins 80%. Une fois que cette solution est ajoutée dans les puits, les microplaques-tests sont remises à incuber à 27°C à l'étuve pendant 6 jours en atmosphère humide. La nourriture des bactéries est un mélange de 4,5 ml d'une solution physiologique (S1) et de 0,5 ml d'une solution Earle'S ou Washingsalt (S2).

### II.2.2.6. Lecture du test

Elle est faite au microscope optique 6 jours après l'addition de la nourriture. Le principe est de noter le nombre de larves vivantes, leur stade de développement ( $L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$ ) et leur mobilité ( $m$  = mobilité, + = mort) (**Annexe 3**).

Le taux moyen de larves  $L_3$  développées par rapport au puits contrôle ( $T_m$ ) se calcule de la manière suivante pour une plaque :  $T_m = B \times 100/Y$ .

-  $B$  : nombre réel de larves  $L_3$  par puits contrôle dans la microplaque ( $B = A/12$  ou  $A/8$ )

-  $A$  : nombre total de larves  $L_3$  comptées dans tous les puits contrôles (les puits P8 ( $H_2O$ ) de la microplaque) après 6 jours d'incubation

-  $Y$  : nombre potentiel de larves  $L_3$  dans les puits contrôles ( $Y = P \times T_e$ )

-  $P$  : moyenne du nombre d'œufs déposée par puits (soit  $P = 80$ )

-  $T_e$  : taux d'éclosion déterminé après 24 h d'incubation (soit  $T_e = 95\%$ )

Le test est validé pour une microplaque que lorsque  $T_m \geq 70\%$ .

La concentration larvicide ( $CL_{100}$ ) est la plus petite concentration à laquelle le développement larvaire normal est complètement inhibé.

Quant à la concentration ovicide ( $CO_{100}$ ), elle est la plus petite concentration à laquelle l'éclosion des œufs est inhibée.

### II.2.2.7. Interprétation des résultats

Les produits sont déclarés actifs à une concentration donnée lorsque la valeur du taux de développement qu'ils permettent est comprise entre 0 et 5%. En d'autres termes, ces produits déclarés actifs à une concentration donnée sont ceux qui permettent à cette concentration de tuer 95 à 100% des larves de *Haemonchus contortus*

Les tests ont été répétés trois fois avec tous les produits qui ont présenté une activité.

Seules, les concentrations d'un produit donné permettant l'inhibition du développement de 95 à 100% de larves au cours des trois tests ont été retenues pour déterminer l'activité anthelminthique. Cette activité correspond donc à la plus petite concentration du produit à tester qui induit la mort de 95 à 100% des larves de *Haemonchus contortus*.

## CHAPITRE 2: RESULTATS ET DISCUSSION

### I. RESULTATS ANTHELMINTHIQUES

#### I.1. Présentation des résultats

Les résultats obtenus lors de l'évaluation des activités anthelminthiques vis à vis de *Haemonchus contortus* des benzimidazolyl arylacrylonitriles, ainsi que des substances de référence ; benzimidazolyl chalcone (**2a**), Fenbendazole sont rassemblés dans les **Tableaux IV et V**.

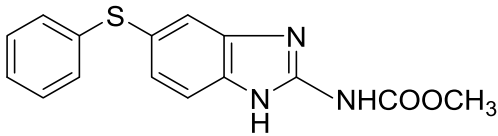
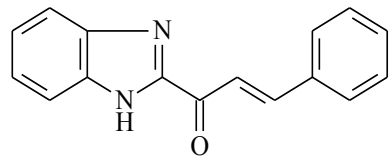
L'activité de chaque produit est donnée par sa concentration larvicide 100 (CL<sub>100</sub>) exprimée en micromolaire ( $\mu\text{M}$ ).

#### I-2-Recherche d'activité larvicide du CMC

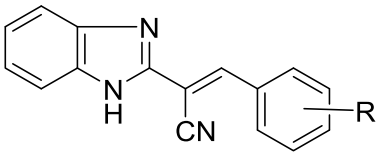
Pour la préparation des solutions mères, la dissolution des composés à évaluer a nécessité l'utilisation de 1 ml de CMC.

La recherche d'activité larvicide du CMC a été réalisée à différents pourcentages (2% à 0,000002%), pour vérifier son innocuité vis-à-vis des larves d'*Haemonchus contortus*. Après lecture, le CMC n'a présenté aucune activité larvicide.

**Tableau IV :** Activités anthelminthiques *in vitro* des substances de référence vis à vis de *Haemonchus contortus*

Structures chimiques	PM (g/mol)	CL <sub>100</sub> (μM)
 <p>Fenbendazole</p>	299,35	≤ 0,001
 <p>Benzimidazolyl-chalcone</p>	431,83	100

**Tableau V:** Activités anthelminthiques *in vitro* des benzimidazolyl-arylacrylonitriles vis à vis de *Haemonchus contortus* (**composés 2b-2i**)

Structures chimiques	Composés	R	PM (g/mol)	CL <sub>100</sub> (μM)
	<b>2b</b>	H	259,31	10
	<b>2c</b>	4-OH	273,34	≤ 0,001
	<b>2d</b>	4-OCH <sub>3</sub>	275,31	≤ 0,001
	<b>2e</b>	3,4-diOCH <sub>3</sub>	289,34	1
	<b>2f</b>	4-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	302,38	≤ 0,001
	<b>2g</b>	4-Cl	293,76	1
	<b>2h</b>	4-Br	338,21	0,1
	<b>2i</b>	4-NO <sub>2</sub>	>304,31	10



### I.3. Analyse des résultats

Les résultats rapportés font ressortir que :

- ✓ La souche clinique helminthique *Haemonchus contortus* présente une sensibilité relative aux différents produits testés à des concentrations différentes.
- ✓ Le Fenbendazole utilisé comme substance médicamenteuse de référence, possède de puissantes activités anthelminthiques avec une  $CL_{100} \leq 10^{-3}$   $\mu\text{M}$  (**Tableau IV**).
- ✓ Ainsi, le benzimidazolyl chalcone **2a** (**Tableau IV**), la substance de référence, a induit une activité anthelminthique ( $CL_{100} = 100 \mu\text{M}$ )
- ✓ En série des benzimidazolyl arylacrylonitrile, les huit (8) composés (**2b**, **2c**, **2d**, **2e**, **2f**, **2g**, **2h**), (**Tableau V**) ont tous induit des activités anthelminthiques.

Cinq d'entre eux, ont des activités inférieures au Fenbendazole ( $CL_{100} \leq 0,001 \mu\text{M}$ ), il s'agit de **2b**, **2i**, **2e**, **2g** et **2h**. Par contre trois (**2c**, **2d** et **2f**) ont des activités qui lui sont superposables.

Ainsi par ordre décroissant de concentration larvicide on a :

- **2b** et **2i** possèdent des concentrations larvicides élevées ( $CL_{100} = 10 \mu\text{M}$ )
- **2e** et **2g** ont des concentrations larvicides de 1 micromolaire ( $CL_{100} = 1 \mu\text{M}$ )
- **2h** des concentrations larvicides faibles ( $CL_{100} = 0,1 \mu\text{M}$ )
- **2c**, **2d** et **2f** des concentrations larvicides très faibles ( $CL_{100} \leq 0,001 \mu\text{M}$ ) égale à celle du Fenbendazole; substance médicamenteuse de référence ( $CL_{100} \leq 0,001 \mu\text{M}$ )

## II. DISCUSSION

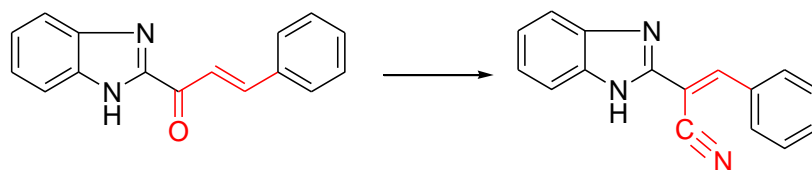
À la suite du criblage anthelminthique en séries des benzimidazolyl-arylacrylonitriles, nous nous sommes livrés dans cette autre partie de notre travail, à une discussion des résultats expérimentaux obtenus.

Une telle discussion, de type relations structure-activité vise deux objectifs :

- ✓ la pertinence du concept pharmacochimique de bioisostérie comme méthode pratique d'élaboration de biomolécules d'intérêt anthelminthique,
- ✓ la détermination des éléments structuraux qui concourent à l'apparition voire à l'amélioration des activités anthelminthiques recherchées.

### II.1. Pertinence de notre stratégie pharmaco-chimique

Notre stratégie a consisté au remplacement de la propénone par l'acrylonitrile



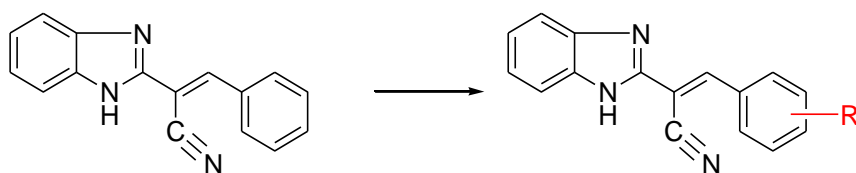
**Schéma 2** : Remplacement de la propénone par l'acrylonitrile

Le remplacement de l'enchaînement propénone [71] de type carbonyle  $\alpha$ ,  $\beta$ -éthylénique par son isostère acrylonitrile ou nitrile  $\alpha$ ,  $\beta$ -éthylénique conduit effectivement à une nouvelle biomolécule possédant une plus grande activité anthelminthique. En effet, le composé benzimidazolyl-phenylacrylonitrile (**composé 2b**) obtenu, possède une activité larvicide de 10  $\mu$ M, présentant une efficacité anti-*Haemonchus* 10 fois supérieure à celle du composé benzimidazolyl-phenylpropénone ou **composé 2a** ( $CL_{100} = 100 \mu$ M).

Ce résultat corrobore les potentialités antiparasitaires intrinsèques du noyau benzimidazole et du groupement arylacrylonitrile [57-62, 65-68].

## II.2. Eléments structuraux d'optimisation d'activités

Au vu de l'activité anthelminthique remarquable par rapport à celle du benzimidazolyl arylpropenone, il était opportun d'entreprendre d'autres modulations chimiques autour de la benzimidazolyl arylacrylonitrile ou composé **2b** dans le but d'améliorer ses activités nématocides. Une telle entreprise pourrait également nous permettre d'établir les éléments structuraux favorables à l'amélioration desdites activités. Pour cela, des variations structurales ont été entreprises sur le **composé 2b**, au niveau de l'homocycle benzénique, en position 3' de l'acrylonitrile par suite d'introduction de divers modulateurs de type hydroxylé, méthoxylé, halogéné et nitré.



**Schéma 3** : Modulations chimiques autour de l'homocycle benzénique

Les études de relations structure activités en série des benzimidazolyl-acrylonitriles permettent d'établir que :

- ✓ L'introduction de groupement hydroxyle sur l'homocycle benzénique en position 4 (**composé 2c**) conduit à des activités larvicides exaltées ( $CL_{100} \leq 0,001\mu M$ ) vis-à-vis de *Haemonchus Contortus*. Ce dérivé hydroxylé possède effectivement une efficacité anthelminthique de l'ordre du nanomolaire qui est comparable au Fenbendazole ( $CL_{100} \leq 0,001\mu M$ ) et 100.000 fois supérieure à notre Benzimidazolyl-Chalcone de référence.
- ✓ La méthylation de l'homocycle benzenique en sa position 4 (**composé 2d**) conduit également à d'excellentes activités anthelminthiques ( $CL_{100} \leq 0,001\mu M$ ). En effet, ces activités sont superposables à celle du Fenbendazole ( $CL_{100} \leq 0,001\mu M$ ) ; et 100.000 fois plus actives que la Benzimidazolyl Chalcone. (**composé 2a**)

- ✓ La présence concomitante de 2 groupements méthoxy en position 3 et 4 de l'homocycle benzénique (**composé 2e**) entraîne par contre, une baisse des activités larviques ( $CL_{100} = 1\mu M$ ) ; Ces activités, même si elles sont insuffisantes en comparaison à celles du Fenbendazole, demeurent 100 fois supérieures à celles du benzimidazolyl-chalcone ( $CL_{100} = 100\mu M$ ) (**composé 2a**)
- ✓ L'introduction d'un autre groupement diméthylamino en position 4 de l'homocycle benzénique (**composé 2f**) conduit à une concentration larvicide ( $CL_{100} \leq 0,001\mu M$ ) de l'ordre du nanomolaire. ces activités anthelminthiques sont donc superposables à celles du Fenbendazole.
- ✓ La présence d'un groupement chloro en position 4 de l'homocycle benzénique (**composé 2g**) ; provoque une baisse de la performance anthelminthique ( $CL_{100} = 1\mu M$ ) comparé au Fenbendazole. Par contre les activités anthelminthiques du **composé 2g** sont 10 fois supérieures à celles du composé non substitué **2b** ( $CL_{100} = 10\mu M$ )
- ✓ Le remplacement du chlore par un autre halogène à savoir le brome toujours en position 4 de l'homocycle benzénique (**composé 2h**), concourt à une amélioration substantielle des activités larviques recherchées. En effet, même si les activités générées ( $CL_{100} = 0,1\mu M$ ) sont 100 fois supérieures à celles de la benzimidazolyl acrylonitrile non substitué **2b** ( $CL_{100} = 10\mu M$ ), elles sont inférieures à l'activité du Fenbendazole, substance médicamenteuse de référence.

L'halogénéation de l'homocycle benzénique (chlore ou brome) ne semble pas être favorable à une exaltation des activités anthelminthiques

- ✓ Le remplacement du groupement chloro, par le nitro (**composé 2i** :  $CL_{100} = 10\mu M$ ) n'a pas amélioré les activités larviques recherchées. En effet, celles-ci restent inférieures à celles du composé **2g**. Toutefois, ces activités restent équivalentes à celles de la benzimidazolyl acrylonitrile non substitué **composé 2b** ;  $CL_{100} = 10\mu M$ ).

Un tel essai de modulation des activités anthelminthiques par un groupement très fortement électroattracteur semble ne pas être propice à l'amélioration des activités antiparasitaires attendues.

Il ressort de toutes les modulations réalisées autour de l'homocycle benzénique en série des benzimidazolyl phénylacrylonitriles que l'obtention d'excellentes activités anthelminthiques superposables à celle du Fenbendazole ( $CL_{100} \leq 0,001\mu\text{M}$ ) ; substance médicamenteuse de référence est assujettie soit à :

- La présence d'un groupement hydroxy en position 4 de l'homocycle benzénique : **composé 2c** ( $CL_{100} \leq 0,001\mu\text{M}$ ),
- la présence d'un groupement méthoxy en position 4 de l'homocycle benzénique **composé 2d** ( $CL_{100} \leq 0,001\mu\text{M}$ ),
- La présence du groupement diméthylamino en position 4 de l'homocycle benzénique **composé 2f** ( $CL_{100} \leq 0,001\mu\text{M}$ )

## **CONCLUSION-PERSPECTIVES**

Le présent travail de type expérimental, s'inscrit dans le cadre de la recherche pharmaco-chimique de nouveaux benzimidazoles anthelminthiques pour contribuer à la lutte contre les helminthoses vétérinaire et humaine.

Nous avons pour notre part, évalué suivant la méthode du développement larvaire sur *Haemonchus contortus*, les activités anthelminthiques d'une nouvelle série de benzimidazoles à groupement fonctionnel 2-arylacrylonitrile ; bioisostère fonctionnel des benzimidazolyl-arylpropénone.

Par la suite, ont été établis dans une étude de relations structure-activité, les différents éléments structuraux indispensables aux dites activités.

Les études de relations structure-activité entreprises permettent d'établir que :

- ✓ L'isostère de l'enchaînement arylpropénone, à savoir l'arylacrylonitrile est propice à l'amélioration des activités anthelminthiques recherchées.
- ✓ La 4-hydroxybenzimidazolyl phénylacrylonitrile **2c**; la 4-methoxybenzimidazolyl phenylacrylonitrile **2d** et la 3-4 dimethoxybenzimidazolyl phenylacrylonitrile composé **2f** possèdent les meilleures activités anthelminthiques avec une efficacité à l'échelle du micromolaire ( $CL_{100} = 0,001 \mu M$ ).

Au final, ces trois composés (**2c** ; **2d** ; **2f**) peuvent être retenus comme « molécules hits » à partir desquelles d'autres pharmaco modulations pourront être entreprises en vue d'obtenir des candidats-médicaments pour le développement pharmaco chimique de cette nouvelle sous classe d'anthelminthiques à profil Benzimidazolyl-phenylacrylonitrile.

D'un point de vue fondamental, il serait aussi intéressant, non seulement d'élucider le mécanisme d'action anthelminthique de ces nouveaux benzimidazoles arylacrylonitriles sur *Haemonchus contortus*, mais aussi d'étendre l'évaluation des activités anthelminthiques à d'autres helminthes, surtout des souches chimiorésistantes.

Les molécules obtenues dans ce travail de thèse constituent des fondements solides, sous réserve des études de toxicologie et de pharmacologie pour une alternance thérapeutique dans la lutte contre les helminthoses vétérinaires voire humaines.



**REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

1. **A F E C T.** Traité de chimie thérapeutique. Principaux antifongiques et antiparasitaires. *Condé-sur-Noireau : Tec & Doc Lavoisier*, 1998, 5 : 544p.
2. **Dubey A., Sanyal P.** Benzimidazoles in a Wormy World. *Online Veterinary Journal*, 2010, 5(2): 63, 1-6.
3. **Sanyal P.** Worm control in ruminants in India: Prospects of biological control for integrated nematode parasite management. In: Biological control of nematode parasites of small ruminants in Asia. *FAO Animal Production and Health Paper*, 2002, 76-86.
4. **Berrag B.** La résistance aux anthelminthiques chez les ruminants : Situation actuelle et mesures de contrôle. *Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA*, 2008, 168 : 1-4.
5. **Geerts S., Gryseels B.** Drug resistance in human helminthes: current situation and lessons from livestock. *Clinical Microbiology Review*, 2000, 13(3): 207-222.
6. **Lefrileux Y.** Strongles digestifs : utilisation des anthelminthiques. Institut Nationale de Recherche Agronomique (INRA), Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA). *Institut de l'élevage*, 2012, <http://www.Idele.fr> (consulté le 04 /01/2017).
7. **Domke A., Chartier C., Gjerde B. et al.** Prevalence of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of sheep and goats in Norway. *Parasitology Research*, 2012, 111: 185-193.

8. **Roos M., Boersema J., Borgsteede F. et al.** Molecular analysis of selection for benzimidazole resistance in the sheep parasite *Haemonchus contortus*. *Moléculaire Biochimique Parasitologique*, 1990, 43: 77-88.
9. **Lacroux C.** Régulation des populations de nématodes gastro-intestinaux (*Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus colubriformis*) dans deux races ovines, INRA 401 et Barbados Black Belly. *Thèse de doctorat agronomique, Institut National Polytechnique de Toulouse*, 2006, 234p.
10. **Kamuanga M., Somda J., Sanon Y. et al.** CEDEAO, CSAO/OCDE. Élevage et marché régional au Sahel et en Afrique de l'Ouest : Potentialités et défis. 2008. <http://www.oecd.org/swac/publications/1848366.pdf>. (Consulté le 04 /01/2017).
11. **Achi Y., Zinstag J., Yéo N. et al.** Les nématodes gastro-intestinaux des bovins de la région des savanes de la Côte-d'Ivoire : enquête d'abattoir. *Médecine Vétérinaire*, 2003, 154: 105-112.
12. **Drudge J., Elam G.** Preliminary observations on the resistance of horse strongyles to phenothiazine. *Journal of Parasitology*, 1961, 47: 38-39.
13. **Kaminsky R., Gauvry N., Schorderet W. et al.** Identification of the amino-acetonitrile derivative monepantel (AAD 1566) as a new anthelmintic drug development candidate. *Parasitology Research*, 2008, 103: 931-939.
14. **Mederos, America E., Ramos, Zully et al.** First report of monepantel *Haemonchus contortus* resistance on sheep farms in Uruguay. *Revue Parasites and Vectors* 2014 ; 7:598p

- 15. Bartley D., Devin L.** Selection and characterisation of Monepantel resistance in *Teladorsagia circumcincta* isolates. *Revue International Journal for Parasitology : drugs and drug resistance*, 2015, 5(2): 69-76
- 16. Gaillard L.**, Impact de la distribution de plantes riches en tanins condensés sur les strongyloses digestives et différents paramètres zootechniques chez les caprins. Th Vétérinaire: Université Claude- Bernard - Lyon I, 2004, 43 :149p
- 17. Bussieras J., Chermette R.** Parasitologie vétérinaire-Helminthologie. fasc III. 2e Ed. Paris : Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort, 1995, 299p
- 18. Brard C., Chartier C.** Quand suspecter une strongylose digestive chez les ovins et les caprins et conduite à tenir. *Point Veterinary*, 1997, 28: 83-88
- 19. Fillet R.** Strongyloses gastro-intestinales des caprins. *Bulletin Groupement Technique Vétérinaire*, 1981, 3: 55-57
- 20. Picquart H.** Contribution à l'étude des relations entre l'infestation parasitaire, l'alimentation et la production de lait des caprins en région Rhône-Alpes. Th Vétérinaire: Lyon. Université Claude-Bernard Lyon I, 1997, 167p
- 21. Koné M., Kamanzi K., Traoré D. et al.** Anthelmintic activity of medicinal plants used in northern Côte d'Ivoire against intestinal helminthiasis. *Pharmaceutical Biology*, 2005, 43: 72-78

- 22. Koné M., Kamanzi A., Traoré D.** Plantes et médecine traditionnelle dans la région de Ferkessedougou (Côte d'Ivoire). *Annales de Botanique de l'Afrique de l'Ouest*, 2002, 2: 13-23
- 23. Koné M., Vargas M., Keiser J.** Anthelmintic activity of medicinal plants used in Côte d'Ivoire for treating parasitic diseases. *Parasitologie de Recherche*, 2012, 110: 2351-2362
- 24. Urquhart G., Armour J., Duncan J. et al.** *Veterinary Parasitology*. 2e Ed. Oxford: Blackwell Science, 1996, p307
- 25. Robert N.** Evaluation de l'infestation par les parasites gastro-intestinaux dans un élevage d'ovin. Mémoire Agronomie: Namur Haute Ecole de la Province de Namur, 2006, p 2701
- 26. FAO. Rome.** Animaux vivants. (04 /01/2017). <[http://faostat3.fao.org/home/index\\_fr.html?locale=fr](http://faostat3.fao.org/home/index_fr.html?locale=fr)>
- 27. Aumont G, Pouillot R, Simon R. et al.** Parasitisme digestif des petits ruminants dans les Antilles françaises. *INRA Production Animale*, 1997, 10: 79-89
- 28. McLeod.** Cost of major parasites to the australien live stok industries. *Journal international de parasitology*, 1995, 14: 1363-1367
- 29. Sykes A., Coop R.** Intake and utilization of food by growing lambs with parasitic damage to the small intestine caused by daily dosing with *Trichostrongylus colubriformis* larvae. *Journal of agricultural science*, 1976, 86: 507-515

- 30. Veneziano V., Rinaldi L., Caputo A. et al.** The quality of goat products. Bella: IGA-CRA, Ed., 2007, p142-145
- 31. Brunet S.** Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances. Th Vétérinaire. Toulouse. Université de Toulouse, 2008, 458p
- 32. Knox M., Torres-Acosta J., Aguilar-Caballero A.** Exploiting the effect of dietary supplementation of small ruminants on résilience and resistance against gastro intestinal nématodes. Parasitologie veterinaire, 2006, 139 (4): 385-393
- 33. Toure, Yo T., Tanoh K. et al.** Commercialisation des moutons à Bouaké, Côte d'Ivoire: variations des prix sur le marché de petits ruminants. Revue Élevage et Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux, 2005, 58 (1-2): 95-101
- 34. Cabaret J.** Parasitisme helminthique en élevage biologique ovin : réalités et moyens de contrôle. INRA Production Animale, 2004, 17 (2): 145-154
- 35. Roberson E.** Veterinary pharmacology and therapeutics. 5e Ed. Mississippi: Booth N. and M.C. Donald L, 1982, p803-851
- 36. Brown H, Matzuk A, Ilves I et al.** Antiparasitic drugs IV. 2-(4'-Thiazolyl)-benzimidazole a new anthelmintic. Journal de l'American Chemical Society, 1961, 83:1764-1765
- 37. Janssen M., Sipido V.** Antiparasitic salicylanilide derivatives. United States Patent, 1977, 4005: 218

38. **Swan G.** The pharmacology of halogenated salicylanilides and their anthelmintic use in animals. *Journal de l'association vétérinaire sud-africain*, 1999, 70: 61-70
39. **Samsom-Himmelsjerna V.** Anthelmintic and resistance: a review. SWITZERLAND: NOVARTIS Ed, 2007, p23-33
40. **Arena J., Liu K, Paress P. et al.** The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditiselegans*: correlation between activation of sensitive chloride current, membrane binding, and biological activity. *Parasitology*, 1995, 81(2): 286-294
41. **Rufener L, Mäser P, Roditi I, et al.** Haemonchus contortus acetylcholine receptors of the DEg-3 subfamily and their role in sensitivity to monepantel. *PLoSPathogene*, 2009, 5(4):e1000380
42. **Chartier C, Hoste H.** La thérapeutique anthelminthique chez les caprins. *Le Point Vétérinaire*, 1997, 28: 1907-1914
43. **McKellar Q.** Ecotoxicity and residues of anthelmintic compounds. *Veterinary Parasitology*, 1997, 72:413-435
44. **Erzen N., Kolar N., Flajs V. et al.** Degradation of abamectin and doramectin on sheep grazed pasture. *Ecotoxicology*, 2005, 14, p627-635
45. **Prichard R., Hall C., Kelly J. et al.** The problem of anthelmintic resistance in nematodes. *Australian veterinary journal*, 1980, 56: p239-251

- 46. Sangsters N., Gill J.** Pharmacology of anthelmintic resistance. *Parasitology Today*; 15 (4), 1999, p141-146
- 47. Prichard R.** Anthelmintic resistance in nematodes: extent, recent understanding and future directions for control and research. *International Journal of Parasitology*, 1990, 20: p515-523
- 48. Roos M., Boersema J., Borgsteede F. et al.** Molecular analysis of selection for benzimidazole resistance in the sheep parasite *Haemonchus contortus*. *Moleculaire Biochemique Parasitologique*, 1990, 43: 77-88
- 49. Louis C, Gasbarre A, Larry L et al.** The identification of cattle nematode parasites resistant to multiple classes of anthelmintics in a commercial cattle population in the US. *Veterinary Parasitology*, 2009, 166: p281-285
- 50. Domke A., Chartier C., Gjerde B. et al.** Prevalence of anthelmintic resistance in gastro intestinal nematodes of sheep and goats in Norway. *Parasitology Research*, 2012, 111:p185-193
- 51. Suarez V., Cristel S.** Anthelmintic resistance in cattle nematode in the western Pampeana Region of Argentina. *Veterinary Parasitology*, 2007, 144: p111-117
- 52. Sutherland I., Leathwick D.** Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle: a global issue? *Trends in Parasitology*, 2011, 27(4):176-181
- 53. Ba H., Geerts S.** La résistance aux benzimidazoles des nématodes gastro-intestinaux des petits ruminants en Gambie et au Sénégal. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 1998, 51(3): p 207-210



- 54. Raynaud J.** Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations Parasitaire des bovins, équins et porcins. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 2001, 45 : 321-342
- 55. Otchoumou O.** Activités anthelminthiques de 6 dérivés de 5-benzoylbenzimidazolyl-chalcones. Doctorat d'Etat, Université FHB, Abidjan, 2013, 76p
- 56. Sika L.** Profil nématocide de 6 dérivés de nouvelles chalcones à support 5-chlorobenzimidazole. Doctorat d'Etat, Université FHB, Abidjan, 2013, 73p
- 57. Ehui A.** Activités nématocides de nouvelles chalcones à support 5-fluorobenzimidazole. Doctorat d'Etat, Université FHB, Abidjan, 2013, 73p
- 58. Véhi O.** Etude de corrélation structure- activités en série des benzimidazolyl-arylpropénones à forte potentialité nématocide. Doctorat d'Etat. Université FHB, Abidjan, 2013, 119p
- 59. Kazmierczuk Z., Upcroft J., Upcrof P. et al.** Synthesis, antiprotozoal and antibacterial activity of nitro and halogeno-substituted benzimidazole derivatives. *Acta Biochimica Polonica*, 2002, 49(1): 185-195
- 60. Tonelli M., Simone M. et al.** Antiviral activity of benzimidazole derivatives. II. Antiviral activity of 2-phenylbenzimidazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2010, 18: 2937-2953

- 61. Patil D., Chaturvedi S., Kale D. et al.** Synthesis and antimicrobial activity of some benzimidazole derivatives. *Continental Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2008, 2: 44 - 48
- 62. Baviskar B., Shiradkar M., Deokate U. et al.** Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Novel Benzimidazolyl Chalcones. *E-Journal of Chemistry*, 2009, 6(1): 196-200
- 63. Canan K., Fatma S., Benay C. et al.** Antioxidant and antifungal properties of benzimidazole derivatives. *Zeitschrift Naturforsch*, 2010, 65: 537-542
- 64. Sudeer B., Selvakumar S.** Synthesis, characterization, antibacterial and antifungal activities of some potent 2-substituted benzimidazolyl chalcones *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research*, 2012, 3(2): 275-283
- 65. Dhar D.** *The Chemistry of Chalcones and Related Compounds*. New York: John Wiley, 1981, 56p
- 66. Di carlo G., Mascolo N., Izzo A. et al.** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sciences*.1999, 65(4): 337-353
- 67. Nilesh R., Bairwa R., Ray M. et al.** Design, synthesis and biological evaluation of 4- (5-nitrofuranyl) prop-2-en-1-one derivatives as potent antitubercular agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2010, 20: 6175-6178
- 68. Nowakowska Z.** A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2007, 42(2): 125-137

- 69. Biswajit C., Mariappan G., Saha S.** Anthelmintic and anti-microbial activity of some novel chalcones derivatives. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2010, 2(1): 113-120
- 70. Dimmock J., Elias D., Beazely M. et al.** Bioactivities of chalcones. *Current Medicinal Chemistry*, 1999, 6 (12): 1125-1149
- 71. Ouattara M., Sissouma D., Koné M. et al.** Synthesis and anthelmintic activity of some hybrid Benzimidazolyl-chalcone derivatives. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2011; 10 (6): 767-775
- 72. Carta A., Sanna P., Palomba M. et al.** Synthesis and antiproliferative activity of 3-aryl-2-(1H-benzotriazol-1-yl) acrylonitriles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2002, 37: 891-900.
- 73. Madkour H., El-Shiekh Y., Ahmed A. et al.** Fungicidal efficacy of some new Azoles Towards *F. oxysporum*, *R. solani*, and *S. rolfsii*. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 2011, 9(4): 520-526.
- 74. Mugnaini C., Rajamaki S., Tintori C. et al.** Toward novel HIV-1 integrase binding inhibitors: Molecular modeling, synthesis, and biological studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2007, 17: 5370-5373.
- 75. Saczewski F., Stencel A., Bienczak A. et al.** Structure-activity relationships of novel heteroaryl-acrylonitriles as cytotoxic and antibacterial agents. *European Journal of Medicinal chemistry*, 2008, 43(9):1847-1857

- 76. Sanna P., Carta A., Nikookar M.** Synthesis and antitubercular activity of 3-aryl substituted-2-[(1H(2H) benzotriazol-1(2)-yl] acrylonitriles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2000, 35(5): 535-543.
- 77. Koné A.** Synthèse de quelque 2-(1H-benzimidazol-2-yl)-3-arylacrylonitriles à visée anti-infectieuse. Master II. Université FHB, Abidjan, 2013, 30p.
- 78. Zon D.** Synthèse et Réactivité de 1-(1H-benzimidazol)-2-yl)-propénones. DEA. Université de Cocody, Abidjan, 2007, 36p.
- 79. Hranjec M., Karminski-Zamola G.** Synthesis of Novel Benzimidazolyl-substituted Acrylonitriles and Amidino-substituted Benzimidazo[1,2-a]Quinolines. *Molecules*, 2007, 12(8), 1817-1828.
- 80. Barger I.** Influence of sex and reproductive status on susceptibility of ruminants to nematode parasitism. *International Journal for Parasitology*, 1993, 23(4): 463-469.
- 81. Diehl M.** Activité anthelminthique des plantes médicinales présentes en Côte-d'Ivoire. Travail de diplôme. Institut de Zoologie, Université de Neuchâtel, Suisse, 1998, 114p.
- 82. Zouiten H.** Résistance aux anthelminthiques des nématodes parasites du tube digestif chez les ovins et les équidés au Maroc. Thèse de doctorat de biologie, Université Mohamed V, Rabat, 2006, 2312 : 141 p.
- 83. Le Jambre L., Southcott W., Dash K.** Resistance of selected fines of *Haemonchus contortus* to Thiabendazole, Morantel tartrate and Levamisole. *International Journal for Parasitology*, 1976, 6: 217- 222.

- 84. Beaumont-Schwartz C., Kerboeuf D., Hubert J.** Méthodes de mise en évidence de souches de strongles gastro-intestinaux résistantes aux anthelminthiques. *Revue de Medecine Veterinaire*, 1987, 163: 683- 688.

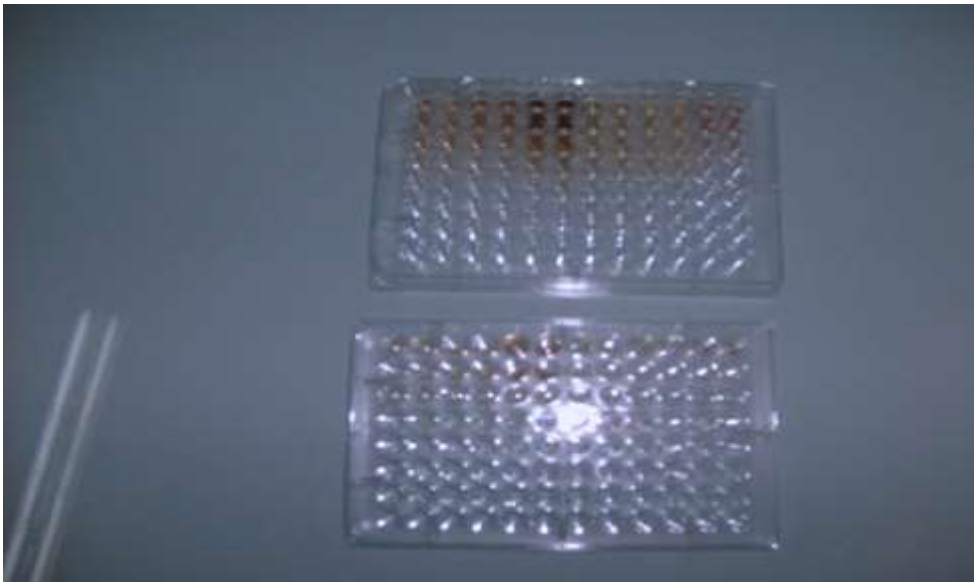
## **ANNEXE 1**

Unité de recherche en sciences appliquées à la production et santé animale/humaine



## **ANNEXE 2**

Microplaques de titration de Nunch



### **ANNEXE 3**

#### Fiche de lecture du test anthelminthique

##### **Fiche de lecture test anthelminthique (concentration en µg/ml)**

Date :

N° de la plaque :

Nombre d'œufs/puits :

Date de réalisation :

A	B	C	D	E	F	G	H
Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt
Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt
Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt
Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt
Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt
Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt
Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt
Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt
Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt
Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt
Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd Mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt
Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt	Nlv Sd mbt

Nlv : nombre de larves vivantes

Sd : stade larvaire

mbt : mobilité

## RESUME

Les helminthes sont des vers parasites affectant l'homme et les animaux et causant des pathologies pouvant être sévères jusqu'à créer de lourdes pertes économiques dans les élevages notamment chez les ruminants. Le moyen de lutte le plus efficace à ce jour est l'utilisation des anthelminthiques.

Malheureusement, l'usage intensif de ces molécules a progressivement débouché sur l'émergence de souches de parasites capables de résister à l'action de ces substances.

Face à l'ampleur du problème de pharmacorésistance, nous nous sommes proposé comme objectif dans ce présent travail de tester de nouvelles molécules médicamenteuses.

Pour atteindre notre objectif, des composés de type benzimidazolyl arylacrylonitrile ont été conceptualisés suivant le principe d'hybridation moléculaire et de bioisostérie de fonction ; avec le remplacement de l'enchaînement propénone par un autre accepteur de Michael de type acrylonitrile.

Ainsi, ce sont huit composés issus de cette conceptualisation qui ont été évalués. Les activités anthelminthiques exprimées en micromolaire ont été déterminées *in vitro* sur l'espèce *Haemonchus Contortus* comparativement aux activités du Fenbendazole ; notre substance médicamenteuse de référence.

Les résultats obtenus montrent que le composé benzimidazolyl phenyl acrylonitrile **2b** (10 $\mu$ M) présente une efficacité anti-haemonchus dix fois supérieure à son bioisostère fonctionnel nommé benzimidazolyl phenyl propénone **2a** (actif à 100  $\mu$ M) ;

aussi, les variations structurales entreprises sur le Composé **2b** au niveau de son homocycle benzénique ont permis d'obtenir soit un maintien de l'activité *anti-Haemonchus* à 10  $\mu$ M comme le dérivé non substitué : Composé **2i** ; soit une légère amélioration de l'activité anthelminthique, avec des CL<sub>100</sub> 10 à 100 fois inférieur à celle du dérivé non substitué : Composés **2e**, **2g**, et le Composé **2h**; soit une exaltation des activités à l'ordre du nanomolaire, il s'agit des composés (**2c**, **2e**, **2f**). Ces derniers composés possèdent tous des groupements électrodonneurs en position 4 de l'homocycle benzénique, avec respectivement, des groupements hydroxy ; méthoxy ; et diméthylamino.

Ces trois composés se sont révélés être les plus efficaces avec des performances anthelminthiques comparables au Fenbendazole ; substance médicamenteuse de référence (CL<sub>100</sub>  $\leq$  0,001  $\mu$ M)

Notre approche pharmacochimique nous a permis d'établir que l'enchaînement fonctionnel phenylacrylonitrile, bioisostère de la phenylpropénone des Chalcones peut être considéré au vu des résultats de cette étude comme un nouveau pharmacophore anthelminthique.

De plus, la présence d'un groupe électrodonneur de type hydroxylé, méthoxylé ou diméthylaminé en position 4 de l'homocycle benzénique est indispensable à l'induction des activités anthelminthiques attendues en série des Benzimidazolyl-phenylacrylonitrile.

Au final, les composés **2c**, **2e**, **2f** peuvent être retenus comme « molécules hits » à partir desquelles d'autres pharmacomodulations pourront être entreprises en vue d'obtenir des candidats-médicaments pour le développement pharmacochimique d'une nouvelle classe d'anthelminthiques à profil Benzimidazolyl-phenylacrylonitrile.

Mots clés : Bioisostérie, Benzimidazole, Phenylacrylonitrile, Anthelminthique.