



N°1834/17

Année : 2016 R 2017

## THESE

Présentée en vue de l'obtention du

### DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

**TRAORE CLEDIOBO ABDOUL**

## **Activités anthelminthiques et tolérance de quelques 5-chlorobenzimidazolyl-chalcones**

*Soutenue publiquement le 11 Mai 2017*

### **COMPOSITION DU JURY :**

**Président de jury** : Monsieur MENAN HERVE, Professeur Titulaire

**Directeur de thèse** : Monsieur OUATTARA MAHAMA, Maître de Conférences Agrégé

**Assesseurs** : Monsieur SISSOUMA DRISSA, Professeur Titulaire

Monsieur DJOHAN VINCENT, Maître de Conférences Agrégé

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

**I- HONORARIAT**

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

**II- ADMINISTRATION**

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

**III- PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT**

**1- PROFESSEURS TITULAIRES**

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

**2- MAITRES DE CONFERENCES AGREGES**

MM ABROGOUA Danho Pascal	Pharmacie Clinique
AHIBOH Hugues	Biochimie et Biologie moléculaire
Mme AKE EDJEME N'guessan Angèle	Biochimie et Biologie moléculaire
MM AMARI Antoine Serge G.	Législation
AMIN N'Cho Christophe	Chimie analytique
DEMBELE Bamory	Immunologie
GBASSI K. Gildas	Chimie, Physique Générale
INWOLEY Kokou André	Immunologie
KOFFI Angely Armand	Pharmacie Galénique
Mme KOUAKOU-SIRANSY Gisèle	Pharmacologie
MM KOUASSI Dinard	Hématologie
LOUKOU Yao Guillaume	Bactériologie-Virologie
OGA Agbaya Stéphane	Santé Publique et Economie de la Santé
OUASSA Timothée	Bactériologie-Virologie
OUATTARA Mahama	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
YAPI Ange Désiré	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
YAVO William	Parasitologie - Mycologie
ZINZENDORF Nanga Yessé	Bactériologie-Virologie
BONY François Nicaise	Chimie Analytique
DALLY Laba Ismael	Pharmacie Galénique
DJOHAN Vincent	Parasitologie & Mycologie
Mmes IRIE N'GUESSAN Amenan	Pharmacologie
SACKOU KOUAKOU Julie	Santé Publique
SANGARE TIGORI Béatrice	Toxicologie
POLNEAU VALLEE Sandrine	Mathématiques-Statistiques

**3- MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE**

M DIAFOUKA François	Biochimie et Biologie de la Reproduction
---------------------	--

**4- MAITRES ASSISTANTS**

MM ADJAMBRI Adia Eusebé	Hématologie
Mmes AFFI-ABOLI Mihessé Roseline	Immunologie
AKA-ANY-GRA Armelle Adjoua S.	Pharmacie Galénique

M	ANGORA Kpongbo Etienne	Parasitologie - Mycologie
Mme	BARRO KIKI Pulchérie	Parasitologie - Mycologie
MM	BONY François Nicaise	Chimie Analytique
	CLAON Jean Stéphane	Santé Publique
Mme	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Pharmacognosie
M	KASSI Kondo Fulgence	Parasitologie-Mycologie
Mmes	KONATE Abibatou	Parasitologie-Mycologie
	KOUASSI AGBESSI Thérèse	Bactériologie-Virologie
M	MANDA Pierre	Toxicologie
Mmes	SANGARE Mahawa	Biologie Générale
	VANGA ABO Henriette	Parasitologie-Mycologie
M	YAYO Sagou Eric	Biochimie et Biologie Moléculaire

#### **5- ASSISTANTS**

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

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

## **6- ATTACHES DE RECHERCHE**

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

## **7- IN MEMORIUM**

Feu KONE Moussa	Professeur Titulaire
Feu YAPO Abbé Etienne	Professeur Titulaire
Feu COMOË Léopold	Maître de Conférences Agrégé
Feu GUEU Kaman	Maître Assistant
Feu ALLADOUM Nambelbaye	Assistant
Feu COULIBALY Sabali	Assistant

Feu TRAORE Moussa	Assistant
Feu YAPO Achou Pascal	Assistant

#### **IV- ENSEIGNANTS VACATAIRES**

##### **1- PROFESSEURS**

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

##### **2- MAITRES DE CONFERENCES**

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

##### **3- MAITRE-ASSISTANT**

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

##### **4- NON UNIVERSITAIRES**

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

**COMPOSITION DES LABORATOIRES  
ET DEPARTEMENTS DE L'UFR DES  
SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET  
BIOLOGIQUES**

**I- BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE**

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

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

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

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

Professeur SAWADOGO Duni	Professeur Titulaire Chef du Département
Professeurs INWOLEY Kokou André	Maître de Conférences Agrégé
KOUASSI Dinard	Maître de Conférences Agrégé
DEMBELE Bamory	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs SANGARE Mahawa	Maitre-assistante
AFFI-ABOLI Mihessé Roseline	Maître-Assistante
ADJAMBRI Adia Eusèbe	Maitre-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
ADIKO Assi Aimé Cézaire	Assistant
DONOU NEE N'DRAMAN Aha E.	Assistante

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

Professeur ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire Chef du Département
Professeurs MALAN Kla Anglade	Professeur Titulaire
AKE Michèle Dominique	Professeur Titulaire
YOLOU Séri Fernand	Professeur Titulaire
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 du Département
Professeur OUATTARA Mahama	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs KACOU Alain	Assistant
N'GUESSAN Deto Jean-Paul	Assistant
COULIBALY Songuigama	Assistant
SICA née DIAKITE Amelanh	Assistante

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

Professeur MENAN Eby Ignace H.	Professeur Titulaire
	Chef du Département
Professeurs 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
ANGORA Kpongbo Etienne	Maître-Assistant
KONATE Abibatou	Maître-Assistante
TANOHO née BEDIA Akoua Valérie	Assistante

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

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

**VIII- PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE,**

**CRYPTOGAMIE**

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

**IX- PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE, ET**

**PHYSIOLOGIE HUMAINE**

Professeur KOUAKOU Siransy N'doua G.	Maître de Conférences Agrégé
	Chef du Département
Professeurs ABROGOUA Danho Pascal	Maître de Conférences Agrégé
IRIE N'GUESSAN Amenan G.	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs AMICHIA Attoumou M.	Assistant
DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Assistant
EFFO Kouakou Etienne	Assistant
KAMENAN Boua Alexis	Assistant
KOUAKOU Sylvain Landry	Assistant
BROU N'GUESSAN Aimé	Assistant

**X- PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET**

**INFORMATIQUE**

Professeur ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire
	Chef du Département
Professeur POLNEAU VALLEE S.	Maître de Conférences Agrégé

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

Professeur KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire
	Chef du département
Professeurs DANO Djédjé Sébastien	Professeur Titulaire
OGA Agbaya Stéphane	Maître de Conférences Agrégé
SANGARE TIGORI B.	Maître de Conférences Agrégé
SACKOU KOUAKOU J.	Maître de Conférences Agrégé

Docteurs CLAON Jean Stéphane	Maître-assistant
MANDA Pierre	Maître-assistant
DIAKITE Aïssata	Maître-assistant
HOUNSA-ALLA Annita Emeline	Assistante
YAO ATTIA Akissi Régine	Assistante
N'GBE Jean Verdier	Assistant
KOFFI Kouamé	Assistant
BEDIAKON née GOKPEYA K.M.	Assistante
KOUAME Jérôme	Assistant

**À  
NOS MAÎTRES ET JUGES**

**À NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY**

**Professeur MENAN EBY HERVE**

- ✓ *Professeur Titulaire de Parasitologie et Mycologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan ;*
- ✓ *Chef du département de Parasitologie – Mycologie – Zoologie – Biologie Animale de l'UFR SPB ;*
- ✓ *Docteur ès sciences pharmaceutiques et biologiques de l'Université de Montpellier I (Thèse unique, PhD) ;*
- ✓ *Directeur du Centre de Diagnostic et de recherche sur le SIDA et les autres maladies infectieuses (CeDReS) ;*
- ✓ *Directeur Général de CESAM, laboratoire du Fonds de Prévoyance Militaire ;*
- ✓ *Officier supérieur (Colonel) du Service de Santé des Armées de la RCI ;*
- ✓ *Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan (Lauréat du concours 1993) ;*
- ✓ *Lauréat du prix PASRES-CSRS des 3 meilleurs chercheurs ivoiriens en 2011 ;*
- ✓ *Membre du Conseil Scientifique de l'Université FHB ;*
- ✓ *Membre du Comité National des Experts Indépendants pour la vaccination et les vaccins de Côte d'Ivoire ;*
- ✓ *Vice-Président du Groupe scientifique d'Appui au PNLP ;*
- ✓ *Ex- Président de la Société Ivoirienne de Parasitologie (SIPAM) ;*
- ✓ *Vice-Président de la Société Africaine de Parasitologie (SOAP) ;*
- ✓ *Membre de la Société Française de Parasitologie ;*
- ✓ *Membre de la Société Française de Mycologie médicale.*

*Cher Maître,*

*Vous faites partie des sommités de notre UFR et avez bien voulu présider ce jury. En espérant être à la hauteur de l'honneur que vous m'avez fait, recevez toute l'expression de ma profonde admiration.*

**À NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THÈSE**

**Professeur OUATTARA MAHAMA**

- *Professeur Agrégé de Chimie Médicinale*
- *Pharmacien, Docteur es 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*
- *Membre de la Liste des Experts du Médicament Vétérinaire (LEMV) de l'UEMOA*
- *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 rigueur et votre sens du travail bien fait m'ont guidé dans la réalisation de cet ouvrage. Vous êtes pour moi un modèle de perfectionniste. Recevez ici mes sincères remerciements pour la patience et surtout pour la grande disponibilité dont vous avez toujours fait preuve à mon égard.*

*Infiniment merci.*

## À NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE

### **Professeur DRISSA SISSOUMA**

- *Professeur titulaire de Chimie organique UFR des sciences des structures de la Matière et Technologie (SSMT) ;*
- *Docteur d'Etat es-Sciences Physiques de l'Université de Cocody-Abidjan : option Chimie organique ;*
- *Doctorat de 3<sup>ème</sup> cycle es-Sciences de l'Université de Cocody-Abidjan : option chimie organique ;*
- *Ancien Directeur du Laboratoire de Chimie Organique Structurale ;*
- *Membre du conseil scientifique de l'UFR SSMT ;*
- *Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM)*
- *Membre du Réseau des Substances Bioactives Ouest Africain (ReSBOA)*
- *Membre du Réseau de Recherche sur la sécurité alimentaire du CAMES ;*
- *Lauréat du Prix de la Recherche 2000.*

*Cher Maître,*

*Vous donnez l'image d'une personne toujours aimable, accueillante et prête à aider les étudiants que nous sommes. Il n'est donc pas surprenant que vous ayez tout de suite accepté de juger ce travail. Ce geste nous honore.*

*Soyez-en remercié.*

**À NOTRE MAITRE ET JUGE DE THÈSE**

**Monsieur DJOHAN Vincent**

- *Maitre de conférences agrégé à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, au département de Parasitologie-Mycologie-Zoologie-Biologie animale*
- *Titulaire d'un doctorat de Parasitologie, option Entomologie médicale*
- *Entomologiste médical à l'institut Pierre Richet de Bouake*
- *Docteur en Pharmacie diplômé de l'Université Félix Houphouët Boigny d'Abidjan*
- *Biologiste des hôpitaux (CES de Parasitologie-Mycologie, CES d'Immunologie, CES d'Hématologie biologie, DEA d'entomologie médicale et vétérinaire)*
- *Ancien Interne des hôpitaux d'Abidjan (Lauréat du concours de 2001)*
- *Membre de la Société Africaine de Parasitologie*
- *Membre de la Société Ivoirienne de Parasitologie et de Mycologie*

*Cher Maître,*

*Votre disponibilité et votre simplicité forcent respect et admiration.*

*C'est donc un grand honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury.*

*Soyez assuré de mon profond respect et ma reconnaissance.*

## TABLE DE MATIERE

LISTE DE ABREVIATIONS.....	XXIX
LISTE DE FIGURES.....	XXX
LISTE DES TABLEAUX.....	XXXI
LISTE DES SCHEMAS.....	XXXII
INTRODUCTION.....	1
<i>Première partie:REVUE DE LA LITTERATURE</i> .....	4
Chapitre 1 : Helminthoses vétérinaires .....	5
I- DEFINITION.....	5
II- MANIFESTATIONS DE LA MALADIE .....	5
II-1- Evolution clinique.....	5
II-2- Evolution chronique subclinique .....	6
III- EPIDEMIOLOGIE DES HELMINTHOSES OVINES ET IMPACT SOCIO- ECONOMIQUE.....	7
III-1- Répartition géographique .....	7
III-2- Impact socio-économique des helminthoses .....	8
Chapitre 2 : Chimiothérapie des helminthoses vétérinaires et leurs limites d'utilisation .....	12
I- CHIMIOThERAPIE DES HELMINTHOSES VETERINAIRES .....	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.....	15
I-2-3- Spectre d'action et indications.....	15
I-3- IMIDAZOTHIAZOLES.....	15
I-3-1- Définition R Structure .....	15
I-3-2- Mécanisme d'action.....	16
I-3-3- Spectre d'action et indications.....	16
I-4- Lactones macrocycliques .....	17
I-4-1- Définition R Structure .....	17
I-4-2- Mécanisme d'action .....	17
I-4-3- Spectre d'action et indications.....	18
I-5- Salicylanilides .....	18
I-5-1- Définition R Structure .....	18
I-5-2- Mécanisme d'action .....	19
I-5-3- Spectre d'action et indications .....	19
I-6- Les derives de l' amino-acetonitrile .....	19
I-6-1- Définition R Structure .....	19
I-6-2- Mécanisme d'action.....	20

I-6-3- Spectre d'action et indications .....	20
II- LES LIMITES D'UTILISATION DES ANTHELMINTHIQUES DE SYNTHÈSE .....	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 .....	26
II-3-3- Mécanismes des résistances.....	28
<i>Deuxième partie:ÉTUDE EXPÉRIMENTALE</i> .....	30
A.....REALISATION DES TESTS ANTHELMINTHIQUES ANTI- <i>HAEMONCHUS</i> <i>CONTORTUS</i> .....	31
Chapitre 1: Matériel et méthodes .....	31
I- MATERIEL .....	31
I-1-Type d'étude et cadre de travail .....	31
I-2-Matériel et réactifs de laboratoire.....	31
I-2-1- Verrerie et accessoires de laboratoire .....	31
I-2-2- Réactifs et solutés de travail .....	32
I-2-3- Appareillage.....	33
I-3- Molécules à tester.....	33
I-3-1- Molécules de synthèse : .....	33
I-3-2- Substances de référence .....	34
I-4- Matériel biologique: animaux et souches d'expérimentation.....	35
I-4-1- Ovins .....	35
I-4-2- Souche helminthique.....	36
II-METHODES .....	38
II.1. Méthodes chimiques : Conceptualisation des benzimidazolyl-chalcones.....	38
II.2. Méthode biologique : Evaluation des activités nématocides.....	41
II-2-1- Principe de la technique de développement larvaire .....	41
II-2-2- Mode opératoire.....	42
II-2-2-1-Mise en condition des animaux d'expérimentation.....	42
II-2-2-2-Infestation parasitaire et suivi de son évolution .....	43
II-2-2-3-Préparation de la gamme de dilution.....	45
Préparation de la gamme de dilution.....	45
Tableau III : Protocole de dilution des produits à tester .....	46
II-2-2-4-Extraction des œufs .....	47

II-2-2-5-Entretien des bactéries du tube digestif du mouton.....	51
II-2-2-6-Lecture du test .....	51
II-2-2-7-Interprétation des résultats.....	52
CHAPITRE 2:RESULTATS ET DISCUSSION .....	53
I-RESULTATS.....	53
I-1-Recherche d'activité larvicide du DMSO .....	53
I-2- Présentation et Analyse des résultats .....	54
II- DISCUSSION .....	56
II-1-Pertinence de notre stratégie pharmacochimique.....	56
II-2-Eléments structuraux d'optimisation d'activités.....	57
III-CONCLUSION PARTIELLE .....	60
B.....ÉVALUATION DE LA TOLERANCE DE LA 5-CHOROBENZIMIDAZOLYL- CHALCONE .....	61
INTRODUCTION.....	61
CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODES .....	62
I. Matériel.....	62
I.1 Matériel chimique .....	62
I.2 Matériel biologique .....	62
I.3. Matériel technique .....	63
II. Méthode .....	63
II-1 Test de solubilité .....	63
II-2- Toxicité aiguë.....	64
Chapitre 2 : RESULTATS ET DISCUSIONS .....	66
I.RESULTATS .....	66
I.1 Toxicité aigue.....	66
I.2. Effets de la substance (5-chorobenzimidazolylchalcone) sur le poids corporel .....	66
I.2. 1 Les rats témoins .....	67
I. 2.2. Les rats traités à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel .....	68
I.2. 3. Comparaison des gains pondéraux des différents lots .....	68
II. DISCUSSION.....	70
III- CONCLUSION PARTIELLE .....	70
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	71
REFERENCE BIBLIOGRPHIQUE.....	75
ANNEXE.....	86

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

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

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

**CSI** : Concentration de la Solution Initiale

**CSRS** : Centre Suisse de Recherche Scientifiques

**DL50** : Dose Létale 50

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**DMT** : Dose Maximale Tolérée

**ENS** : Ecole Normale Supérieure

**ESM** : Erreur Standard sur la Moyenne

**GABA** : acide gamma-amino butyrique

**NaCl** : Chlorure de Sodium

**OPG** : Œufs Par Gramme de fèces

**PIB** : Produit Intérieur Brut

**SGH** : Système de classification Globalement Harmonise

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

**UNA** : Université Nangui Abrogoua

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

**USA** : Etats-Unis

**V** : Volume

**VE** : Volume d'Eau ajouté

**VSI** : Volume de la Solution Initiale

**T<sub>m</sub>** : Le Taux moyen de larves L3 développées par rapport au puits contrôle

**LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 1</b> : Animal avec un postérieur souillé par la diarrhée-----	5
<b>Figure 2</b> : Animal avec un œdème sous-glossien-----	6
<b>Figure 3</b> : Répartition géographique des helminthoses ovines -----	7
<b>Figure 4</b> : Structures de quelques benzimidazolés et probenzimidazolés 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-----	19
<b>Figure 8</b> : Structure du Monepantel-----	20
<b>Figure 9</b> : Moutons de race sahélienne (fulani) dans la bergerie-----	35
<b>Figure 10</b> : Mouton mâle de race sahélienne (fulani)-----	36
<b>Figure 11</b> : larve de <i>Haemonchus sp</i> -----	37
<b>Figure 12</b> : œufs de <i>Haemonchus contortus</i> -----	37
<b>Figure 13</b> : Entités chimiques des 5-chlorobenzimidazolyl-chalcones-----	38
<b>Figure 14</b> : Structure de la chalcone ou 1,3-di phénylpropénone-----	40
<b>Figure 15</b> : Conceptualisation des 5-Chlorobenzimidazolyl-chalcones à visée anthelminthique-----	40
<b>Figure 16</b> : Cellules Mc Master-----	44
<b>Figure 17</b> : Récolte anale des crottes sur le mouton-----	44
<b>Figure 18</b> : Comptage des Œufs de <i>Haemonchus</i> -----	44
<b>Figure 19</b> : Crottes de mouton sur le tiroir -----	51
<b>Figure 20</b> : Collecte des crottes-----	51
<b>Figure 21</b> : Rat albinos ( <i>Rattus norvegicus</i> ) de la souche Wistar-----	63
<b>Figure 22</b> : Evolution des poids moyens des rats au cours du temps de suivi-----	67

**LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau I</b> : Principaux anthelminthiques actifs contre les nématodes gastro intestinaux chez les ovins -----	21
<b>Tableau II</b> : Structure chimique des benzimidazolyl-chalcones-----	34
<b>Tableau III</b> : Protocole de dilution des produits à tester-----	46
<b>Tableau IV</b> : Activités nématocides <i>in vitro</i> des <b>composés 2a-2i</b> , de l'Albendazole, du Fenbendazole et de l'Ivermectine vis-à-vis de <i>Haemonchus contortus</i> .-----	54
<b>Tableau V</b> : Poids absolus et moyen journaliers des animaux testés-----	67
<b>Tableau VI</b> : Gains pondéraux des rats pendant 14 jours-----	69

**LISTE DES SCHEMAS**

<b>Schéma 1</b> : Schéma synoptique d'extraction des œufs de <i>Haemonchus contortus</i> ...	49
<b>Schéma 2</b> : Schéma synoptique du test anthelminthique.....	50
<b>Schéma 3</b> : Modulation entreprise autour de la benzimidazolyl-chalcone.....	56
<b>Schéma 4</b> : modulations chimiques autour de la 5-chloro benzimidazolyl chalcone.....	57

# **INTRODUCTION**

La parasitose gastro-intestinale à *Haemonchus contortus*, principal agent des diarrhées saisonnières mortelles des petits ruminants, menacent grandement l'énorme potentiel en matière d'élevage que recèle l'Afrique subsaharienne [1,2]. Cette menace est d'autant plus alarmante que l'élevage de ces animaux (ovins et caprins) contribue à hauteur de 8 à 15% du Produit Intérieur Brut (PIB) dans la zone ouest africaine [1]. De plus, l'élevage constitue un élément central de la sécurité alimentaire. En effet, il constitue 34% des revenus monétaires des ménages ruraux [1]. A cette menace s'ajoute la mauvaise couverture vétérinaire liée au manque croissant de médicaments anthelminthiques efficaces vis-à-vis de ce parasite en raison de l'émergence et la prolifération de souches chimiorésistantes [3,4]. Dans ce contexte d'inefficacité de la plupart des anthelminthiques, la sécurité alimentaire et économique des populations rurales est hypothétique.

Pour résoudre ce problème socio-économique, plusieurs solutions peuvent être envisagées. Parmi celles-ci, la mise au point par voie pharmacochimique de nouveaux anthelminthiques plus performants constitue une excellente voie.

L'objectif général assigné à ce travail est dès lors, un essai d'optimisation des activités anthelminthiques *in vitro* en agissant sur la position 5 métabolique et sur l'homocycle benzénique de l'enchaînement propénone, en vue de sélectionner de futurs candidat-médicaments antiparasitaires à profil chimique 5-chlorobenzimidazolylchalcone. Quant aux objectifs spécifiques, il s'agit de :

- déterminer *in vitro* les concentrations larvicides des 5-chlorobenzimidazolyl-chalcones vis-à-vis de *Haemonchus contortus*,
- établir les éléments structuraux favorables aux activités anthelminthiques attendues, suite à une étude de relation structure activité.
- évaluer la tolérance des molécules les plus actives.

Pour ce faire le présent travail se décline en deux parties :

- ❖ la première est relative à la revue de littérature sur les helminthoses vétérinaires, leur chimiothérapie, et leur limite d'utilisation.
- ❖ la seconde, de type expérimentale, se déroulera en deux étapes suivie d'une conclusion.

La première étape consistera à réaliser des tests anthelminthiques anti-*Haemonchus contortus* qui abordera successivement :

- la description de la méthodologie y compris la conceptualisation des benzimidazolyl-chalcones,
- l'analyse des résultats obtenus suivie de discussions de type relations structure-activité,
- la conclusion partielle.

La deuxième étape quant à elle consistera à évaluer la tolérance de la 5-chlorobenzimidazolyl-chalcone

- La description de la méthodologie
- L'analyse des résultats obtenus suivie de discussion
- La conclusion qui découle dudit travail.

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

## **Chapitre 1 : Helminthoses vétérinaires**

### **I- DEFINITION**

Les helminthoses vétérinaires 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 [2].

### **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 [5]. 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 [6,5].

- **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 [5].



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

- **le syndrome anémique.** [5] 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 [5]. Lorsque les signes cliniques existent, ils se traduisent par un mauvais état général et une apathie [5].

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 [5 ,7].



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

## **II-2- Evolution chronique subclinique**

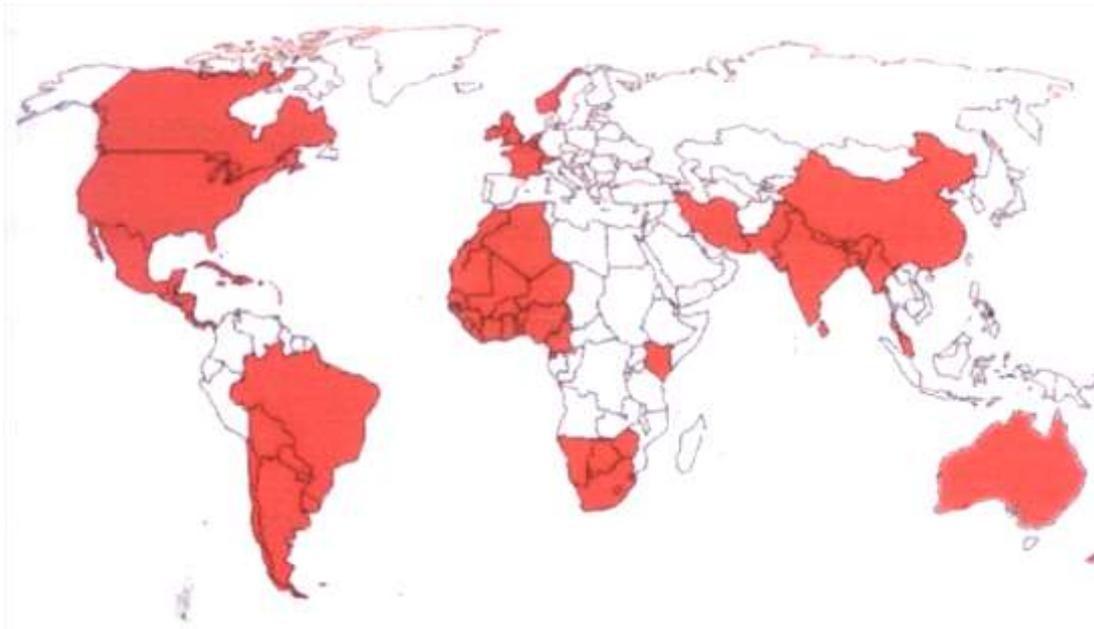
Elle concerne surtout les adultes et se traduit par un mauvais état général, une asthénie, un poil terne et piqué, ou un amaigrissement associé à une baisse de l'appétit. Certains animaux peuvent présenter des troubles de la fécondité, et parfois des entérites ou des anémies [8,9].

### 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 [10]. *H. contortus* est moins fréquent dans les élevages des zones tempérées [11].

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* [12].



- Présence d'helminthoses vétérinaires
- Absence d'helminthoses vétérinaires

**Figure 3:** Répartition géographique des helminthoses ovines [13]

De manière synthétique, on peut différencier deux types de profils d'infestation par les strongles [14] :

- 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 *Teladorsagia circumincta* 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 bêtes en 2004. L'Afrique de l'ouest s'illustre comme une région d'élevage par excellence mais sous-exploitée avec néanmoins 620 millions de bétails dont 33% d'ovins. En effet, ces ovins sont utilisés dans plusieurs domaines notamment dans l'industrie agro-alimentaire [15].

Dans les pays ouest-africains l'élevage des ovins contribue à hauteur de 44% au PIB agricole [1]. 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 [15].

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 [15].

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 [16].

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 dues à l'haemonchose sont considérables [17].

Par ailleurs, de multiples études ont montré que ce parasitisme est responsable de retard de croissance des jeunes animaux [13] 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 [18].

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 [19], 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 [20,21].

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 [15]. 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 [22].

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 [22].

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 [23]. 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 [17].

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

### **I- CHIMIOThERAPIE DES HELMINTHOSES VETERINAIRES**

#### **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 [24]. 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[25]. 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 [26]. 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 nématodes gastro-intestinales, respiratoires et rénales chez les ruminants, les

équidés, les porcins et les animaux de compagnie [25]. Le représentant de cette nouvelle classe de substances naturelles à structure macrolactonique 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 [27].

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

- ✓ les benzimidazoles,
- ✓ les imidazothiazoles et
- ✓ les lactones macrocycliques.

A cela, il convient d'ajouter la classe chimique des salicylanilides et celle récente des amino-acétonitrile qui renferment des molécules à spectre étroit [27,28].

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

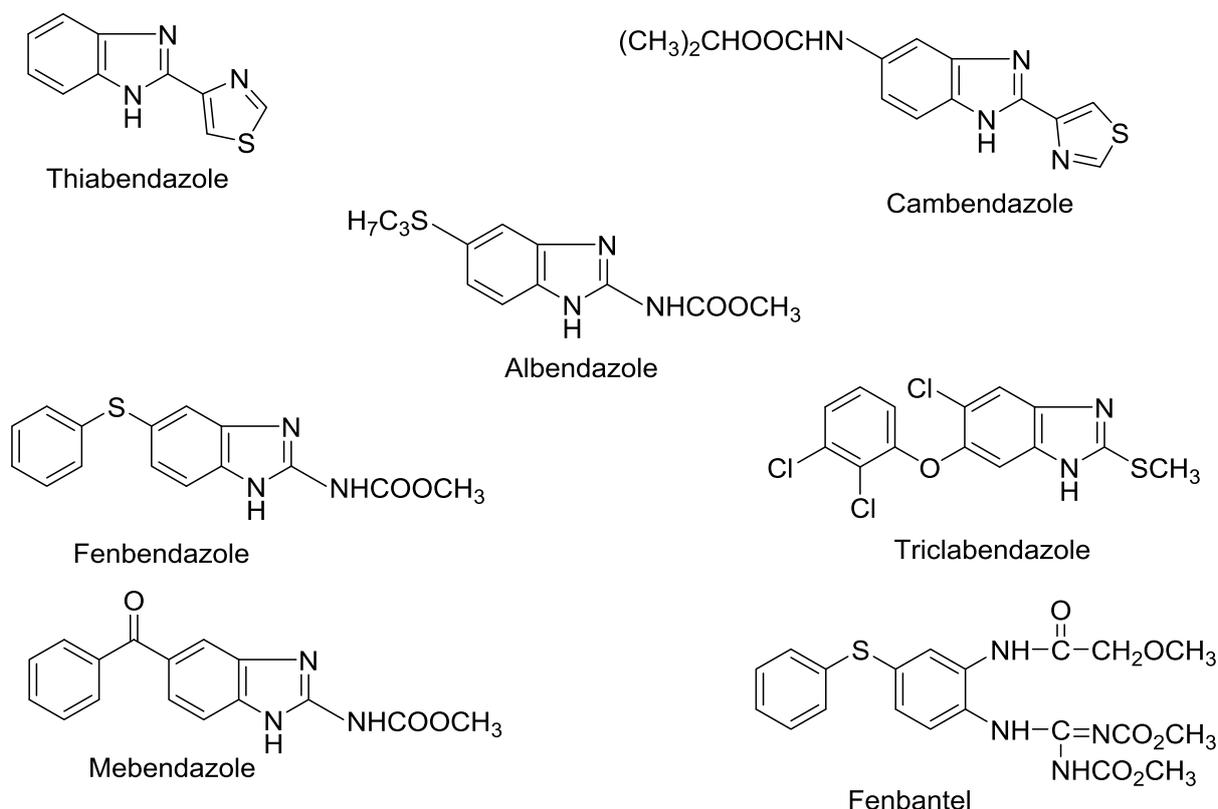
### **I-2-1- Définition - Structures**

Les benzimidazolés et les probenzimidazolés anthelminthiques [29] 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 [29] (Figure 4);

- ✓ Les dérivés substitués en position 2 par un ester carbamique et en position 5 par un divers modulateur. Ce sont les plus nombreux et les plus importants tant en médecine humaine que vétérinaire : Albendazole, Mébendazole, Fenbendazole etc. [29] (Figure4);
- ✓ Un dérivé substitué en position 2 par une fonction thioéther, en position 5 par un halogène et en position 6 par un groupement phénoxy: le Triclabendazole, seul représentant utilisé en thérapeutique [29] (Figure 4)
- ✓ Pour améliorer la solubilité des benzimidazolés dans l'eau ainsi que leur absorption, différentes prodrogues ont été élaborées : ce sont les probenzimidazolés (Febantel) [29] (Figure 4).



**Figure 4:** Structures de quelques benzimidazolés et probenzimidazolés anthelminthiques

### **I-2-2- Mécanisme d'action**

Les benzimidazolés agissent directement sur les vers alors que les probenzimidazolés 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 procéderaient 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 [29, 30].

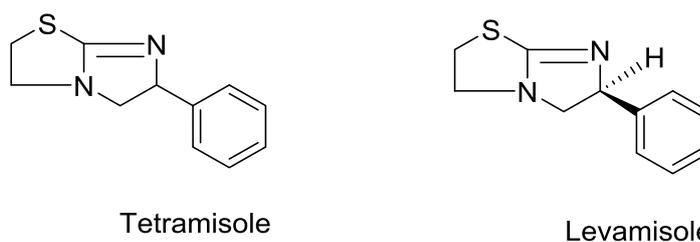
### **I-2-3- Spectre d'action et indications**

Les dérivés benzimidazoliques présentent une très bonne activité sur l'ensemble des nématodes [29]. 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 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) [29]. 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 [29].



**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 [29,30].

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

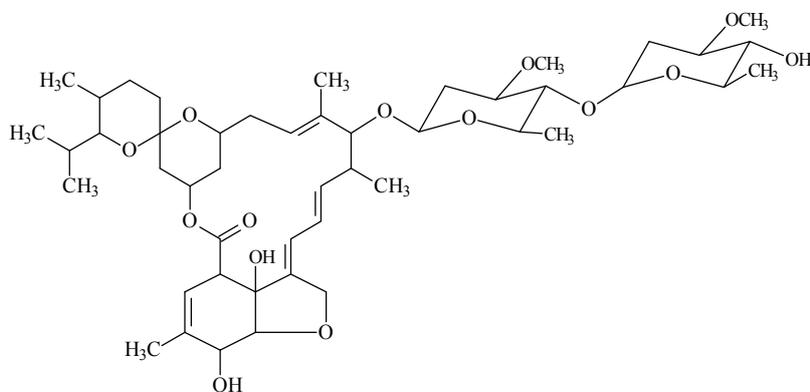
Ces composés sont utilisés comme nématocides actifs dans :

- ✓ 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 [29].

## I-4- Lactones macrocycliques

### I-4-1- Définition – Structure

Les lactones macrocycliques représentent une famille homogène d'anthelminthiques d'origine naturelle [29]. Ce sont des produits de fermentation d'actinomycètes du genre *Streptomyces*. Les espèces *Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces shgyroscopicus* 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 [29]. 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[29].



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

### I-4-2- Mécanisme d'action

Les lactones macrocycliques se fixeraient aux canaux ioniques glutamate-dépendant [30,31] (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 [30,31]

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

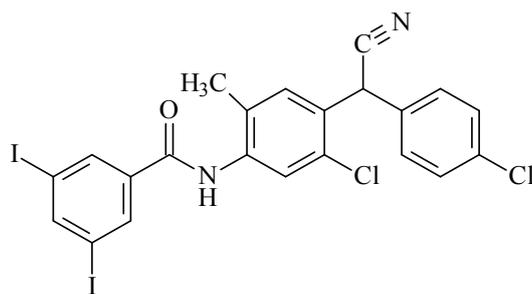
Ils sont indiqués dans les nématodoses gastro-intestinales, respiratoires et rénales chez les ruminants, les équidés, les porcins et les animaux de compagnie [32]. Les parasites les plus sensibles sont les strongles (*Bunostomum*, *Charbertia*, *Haemonchus*, *Oesophagostomum*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus* adultes et immatures) [32]. 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 [32].

## **I-5- Salicylanilides**

### **I-5-1- Définition– Structure**

Les salicylanilides représentent une classe chimique homogène d'anthelminthiques [29], 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-chlorophenoxy[29].

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 [29, 30].

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

Ces composés sont essentiellement utilisés comme douvicides vis-à-vis de *Fasciola hepatica* ou *Fasciola gigantica* [29].

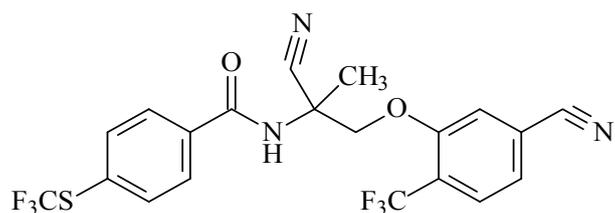
Certains d'entre eux sont des nématocides utilisés dans les haemonchoses ou des cestodoses utilisés dans les moniézioses [29]

## I-6- Les derives de l'acéto-nitrile

### I-6-1- Définition– Structure

Les acéto-nitriles constituent une nouvelle classe d'anthelminthiques [27] 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> [27] (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[32]. 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 [33].

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

Le spectre d'activité du Monepantel inclut les stades 4 larvaires, les stades preadultes et adultes d'un large spectre d'espèces de nématodes. De plus, le Monepantel serait efficace contre les souches résistantes aux trois familles d'anthelminthiques à large spectre (benzimidazoles, imidazothiazoles 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, chez les ovins, caprins et les bovins, respectivement) [33 - 36]. De plus, le Monepantel s'est révélé efficace expérimentalement sur *Ascaris lombricoïdes*, nématode commun chez l'homme dans certaines régions tropicales du monde [29].

**Tableau I** : principaux anthelminthiques actifs contre les nématodes gastro intestinaux chez les ovins [37].

Familles	molécules	Noms déposés	Spectre d'action	Posologie et voie d'administration
benzimidazoles	Oxfenbendazole	Oxfenil <sup>®</sup> Synanthic <sup>®</sup>	Ad, L4 et hypobiose de Hc et Tc	4,5 mg/kg VO
	Fenbendazole	Panacur <sup>®</sup>	Ad, L4 et hypobiose de Hc et Tc	5 mg/kg VO
	Febantel	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> Némisol <sup>®</sup>	Ad et L4 Ad et L4	7,5 mg/kg VO 7,5 mg/kg VO, injectable
Salicylanilides	Closantel	Supaverm <sup>®</sup> 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 VO
			Ad, L4 et hypobiose de Hc	10 mg/kg SC
Lactones macrocycliques	Ivermectine	Ivomec <sup>®</sup> Oramec <sup>®</sup>	Ad et L4	0,2 mg/kg SC
	Doramectine	Dectomax <sup>®</sup>	Ad et L4 Ad, L4 et hypobiose de Hc et Tc	0,2 mg/kg VO 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 [38]. Ces règles contribuent à limiter le choix et l'utilisation des anthelminthiques de synthèse dans certaines productions, en particulier chez les espèces à vocation laitières [38].

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 éliminés par 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 [38]. 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 benzimidazolique) disposent d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) avec des délais d'attente nuls pendant la lactation chez les petits ruminants [38].

### **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 [39]. 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 [39,40]. 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 coléoptères coprophages a d'abord été signalée par observations de terrain puis a été confirmée au laboratoire [38;40]. 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 chimiorésistantes 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 » [41]. 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) [42]. 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 [8].

## **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 [42]. 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 trois familles d'anthelminthiques à large spectre sont concernées [43]. Les études les plus importantes se rapportent aux ovins avec comme principales molécules incriminées les benzimidazolés, 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 [44].

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 [45]. L'hémisphère sud (Australie, Nouvelle-Zélande, Afrique du Sud) est la première zone concernée par ce phénomène [46]. Les conditions climatiques et le mode intensif de l'élevage y favorisent la résistance de genres *Haemonchus* et *Trichostrongylus* [47].

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

[44]. Les situations sont considérées critiques dans certains pays comme l'Argentine car la résistance touche jusqu'à 32% des troupeaux [48].

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 [47].

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 [49]. En Afrique de l'ouest, une étude [50] a permis la découverte de cas de résistance aux benzimidazolés dans des troupeaux ovins en Gambie et au Sénégal jusqu'alors épargnés.

Le monepantel dernier anthelminthique apparut en 2008, la présence de souches résistantes de *Teladorsagia circumincta* et de *Trichostrongylus colubriformis* ont déjà été rapportée, tout d'abord en Nouvelle-Zélande puis en Australie [51,52]. Plus récemment des souches résistantes au Monepantel d'*Haemonchus contortus* ont aussi été décrites aux Pays-Bas [53], au Brésil [54] et Uruguay [55].

La méthode utilisée pour la mise en évidence de la résistance de ces espèces dans ces différents pays est le test de réduction du nombre d'œufs fécaux (FECRT : Fécal Egg Count Réduction). Ce test permet de révéler la réduction du nombre d'œuf 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 Monepantel à des doses recommandées par le fabricant.

Il a été observé une baisse ou l'absence d'efficacité du traitement avec le Monepantel qui se traduit par une identification larvaire pré et post traitement coprocultures à environ 100% pour ces espèces [51- 55].

### **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 [31,40]. En effet, lorsque le déterminisme est d'origine monogénique ou oligogénique comme pour les benzimidazolés 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 [41,46]. 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 [41,45] :

- 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 [56]. 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 [49]. 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 [42]. 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 [46]:

- 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 [30].

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 nicotiniques qui répondent à l'acétylcholine [30].

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 [30]. 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 monepantel, 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 [51- 55]

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:*  
**ÉTUDE EXPÉRIMENTALE**

## **A. REALISATION DES TESTS ANTHELMINTHIQUES ANTI- *HAEMONCHUS CONTORTUS***

### **Chapitre 1: Matériel et méthodes**

#### **I- MATERIEL**

##### **I-1-Type d'étude et cadre de travail**

Ce travail expérimental a eu lieu en ce qui concerne la synthèse chimique totale des chalcones à support benzimidazole au Département de Chimie Organique et Chimie Thérapeutique et de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Felix Houphouët - Boigny d'Abidjan.

Quant à la caractérisation spectroscopique des molécules, elle a eu lieu au laboratoire de Chimie Et Interdisciplinarité : Synthèse, Analyse, Modélisation (CEISAM ) de NANTE.

Pour ce qui est de l'évaluation des activités anthelminthiques, elle a été réalisée durant environs (2) mois (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) et au laboratoire de Parasitologie et Mycologie du Centre Suisse de Recherche Scientifiques (CSRS) en Côte d'Ivoire.

##### **I-2-Matériel et réactifs de laboratoire**

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

###### **I-2-1- Verrerie et accessoires de laboratoire**

- Une éprouvette 1l et des béciers 250 ml, 500 ml, 1l ;
- Des microplaques de titration Nunch 96 puits à fond plat ;
- Une pipette de 5ml avec propipette

- Une micropipette (DragonLab)
- Des tubes Ependorff
- Une pipette pasteur ;
- Un seau ;
- Une cupule ;
- Des tamis de taille 32  $\mu\text{m}$  ;
- 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-2-2- Réactifs et solutés de travail**

- Solution de Diméthylsulfoxyde (DMSO) ;
- 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  $\mu\text{g/ml}$  ;
- Solution Agar- agar 2%.

L'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 CaCl<sub>2</sub>. 2H<sub>2</sub>O
- 0,039 g de MgSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O
- 0,021 g de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O
- 13,83 ml d'eau distillée

### **I-2-3- 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>).

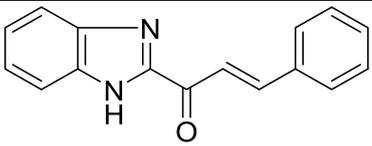
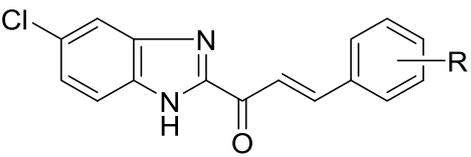
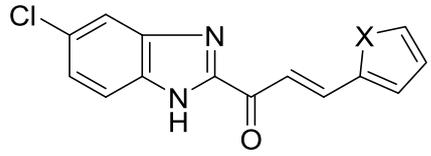
### **I-3- Molécules à tester**

Il s'agit de neuf (9) molécules de synthèse et d'une (1) molécule médicamenteuse utilisée comme référence, le Fenbendazole.

#### **I-3-1- Molécules de synthèse :**

Les benzimidazolyl chalcones soumis à l'évaluation nématocide sont sous forme de poudre pure. C'est-à-dire 1 g de poudre correspond à 1 g de produit. Ils sont au nombre de neuf (9) dont une (1) benzimidazolyl chalcone et huit (8) 5-chloro benzimidazolylchalcone. L'homocycle benzénique en position 3' du groupement fonctionnel propénone a été substitué par divers modulateurs (**Tableau II**).

**Tableau II :** Structure chimique des benzimidazolyl-chalcones

Structure générale	Composés	X	R
	<b>2a</b>	-	-
	<b>2b</b>	-	H
	<b>2c</b>	-	4-CH <sub>3</sub>
	<b>2d</b>	-	4-OCH <sub>3</sub>
	<b>2e</b>	-	4-Cl
	<b>2f</b>	-	2,4-diCl
	<b>2g</b>	-	4-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
 X= O, S	<b>2h</b>	S	-
	<b>2i</b>	O	-

### I-3-2- Substances de référence

Pour mettre en évidence l'efficacité anthelminthique de nos nouvelles molécules, nous avons utilisé une molécule médicamenteuse de référence, en l'occurrence le Fenbendazole afin de montrer la pertinence de son efficacité.

#### **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 naturellement par une souche sauvage de *Haemonchus contortus*.

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

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



**Figure 9** : Moutons de race sahélienne (fulani) dans la bergerie (photo prise par Traore)

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) [47] ;

- 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 male 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 male.



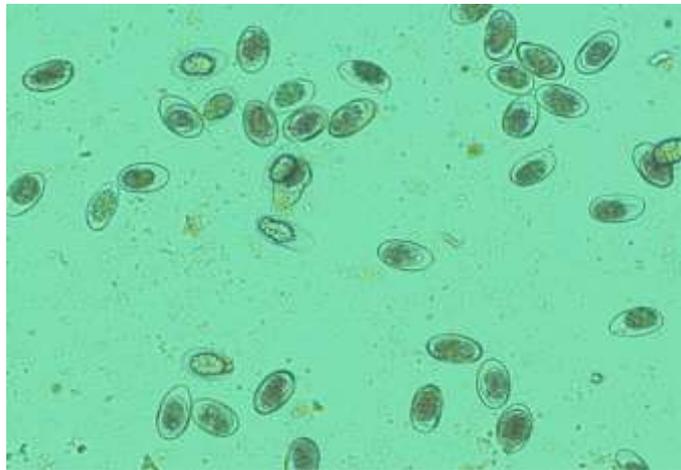
**Figure 10:** mouton mâle de race sahélienne (fulani) (photo prise par Traore)

#### **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 nos moutons ont été infestés de façon naturelle.



**Figure 11:** larve de *Haemonchus sp*



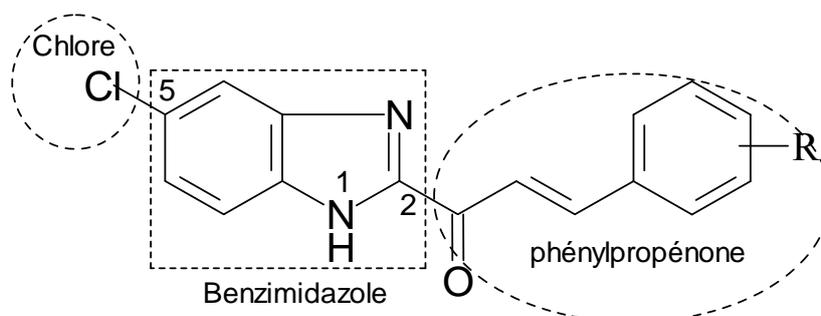
**Figure 12 :** œufs de *Haemonchus contortus*

## II-METHODES

### II.1. Méthodes chimiques : Conceptualisation des benzimidazolyl-chalcones

Dans le contexte de résistance des helminthes à la plupart des anthelminthiques médicamenteux, l'élaboration de nouvelles molécules susceptibles d'être plus efficaces reste une arme essentielle. Aussi, nous sommes-nous intéressés à la série chimique des 5-chlorobenzimidazolyl-chalcones dans le cadre de nos activités de recherche pour la mise au point de nouvelles biomolécules à visée antiparasitaires.

Le profil chimique 5-chlorobenzimidazolyl-chalcone (**Figure 13**) a été conceptualisé selon les méthodologies pharmacochimiques de juxtaposition moléculaire d'entités à potentialité anthelminthique. Dans ce profil, un diaza-hétéroaryle de nature benzimidazolique est porteur en position 2 d'un enchaînement fonctionnel arylpropénone présent dans les chalcones et en position 5 d'un atome de Chlore.



**Figure 13:** Entités chimiques des 5-chlorobenzimidazolyl-chalcones

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

La première entité chimique, en l'occurrence le benzimidazole, constitue le support aromatique de nombreuses molécules actives en infectiologie. En effet,

outre ses propriétés antiprotozoaires [57], antivirales [58], antibactériennes [59, 60] et antifongiques [61, 62], cet hétérocycle à lui seul constitue le vecteur pharmacophore de la classe chimique des Benzimidazolés anthelminthiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire [29] (**Figure 4, page 14**).

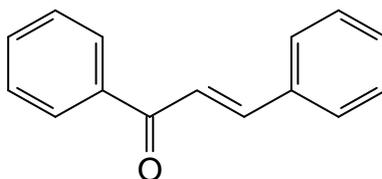
Quant à l'atome de chlore, notre seconde entité chimique, il est présent dans de nombreuses molécules médicamenteuses comme les Benzimidazolés anthelminthiques (Triclabendazole) (**Figure 4, page 14**) et les Salicylanilides (Closantel) (**Figure 7, page 19**). Il serait dans ces biomolécules, un excellent modulateur de performances anthelminthiques [63].

Par ailleurs, le choix de la position d'introduction du chlore sur le benzimidazole (position 5) n'est pas fortuit car les positions 5 et/ou 6 du benzimidazole sont connues comme étant ses sites privilégiés de métabolisation [64]. Ainsi, le blocage de ces sites de métabolisation par l'introduction de divers modulateurs (benzoyle, thioalkyle, thioaryle, arylsulfinyle, halogène etc.), (**Figure 4, page 14**) est favorable au maintien de l'action anthelminthique *in vitro* et surtout exalte cette activité *in vivo* des anthelminthiques benzimidazolés [64].

Tous ces atouts font de motif 5-chlorobenzimidazole une entité à forte potentialité anthelminthique.

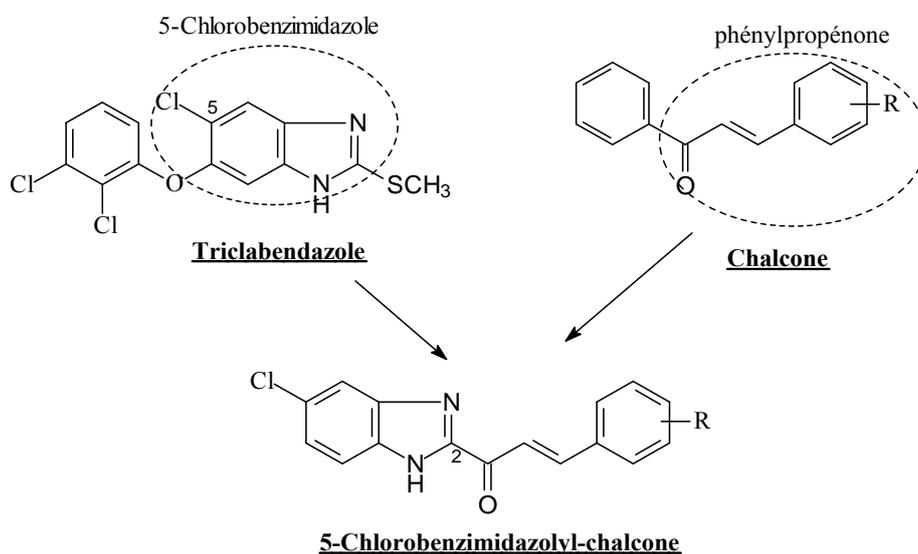
La troisième entité chimique à savoir l'enchaînement phénylpropénone des chalcones (**Figure 14**), tient ses multiples activités biologiques en particulier anti-infectieuses (antivirale, antibactérienne, antifongique et antiparasitaire) de la présence dans leur molécule du groupement fonctionnel de type propénone ou carbonyle  $\alpha,\beta$ -éthylénique (**Figure 14**) [65, 66].

En effet, cet enchaînement fonctionnel porté par un groupement aryle, serait à l'origine de l'inhibition par complexation de certaines enzymes microbiennes et cancéreuses à fonction thiol [65- 67].



**Figure 14** : Structure de la chalcone ou 1,3-di phénylpropénone

C'est ce qui explique la thématique de recherche du Département de Chimie Thérapeutique de l'UFR de Sciences Pharmaceutiques d'Abidjan, portant sur l'élaboration de nouveaux benzimidazolés anthelminthiques porteur en position 2 de l'enchaînement phénylpropénone des chalcones [68] (**Figure 15**).



**Figure 15** : Conceptualisation des 5-Chlorobenzimidazolyl-chalcones à visée anthelminthique

Tous ces dérivés de Chalcone à support 5-chlorobenzimidazole ont été synthétisés et caractérisés grâce à la collaboration avec deux laboratoires à savoir le laboratoire de SSMT de l'université Félix Houphouët Boigny de Cocody et le laboratoire CEISAM de Nantes.

Pour notre part nous nous sommes uniquement focalisé sur l'évaluation anthelminthique de ces dérivés préparélabement synthétisés.

## **II.2. Méthode biologique : Evaluation des activités nématocides**

Le travail expérimental réalisé au cours de la présente étude s'est déroulé en deux étapes à savoir le comptage des œufs par gramme de selle (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 ayant permis de s'enquérir régulièrement de leur état de santé.

### **II-2-1- Principe de la technique de développement larvaire**

La méthode anthelminthique utilisée 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 décroissantes de produits à tester. Il s'agit d'une amélioration de la méthode décrite initialement par Diehl [65].

Ce test présente l'avantage d'être utilisable aussi bien pour les produits de synthèse que pour les produits naturels [11, 65, 66], 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 [67] puis modifié par Beaumont-Schwartz [68]. 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 agneaux ont été nourris avec les feuilles de (*Panicum maximum* Jacq.) et avec de l'eau d'adduction courante. Un complément alimentaire constitué de sons de maïs, de toast de poisson, de remoulage de blé, de soja, de tourteaux de coton leur sont apportés pour renforcer leur immunité afin de résister à l'effet du parasite sur leur 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 [69] a été pratiquée. L'évaluation a révélé la présence en quantité importante d'œufs d'*Haemonchus contortus* (supérieur à 3000) dans 3g de selle. La positivité des résultats de cette évaluation a dès lors conduit à un suivi journalier plus approfondi et 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 submandibulaires ;
- la coordination des membres.

### **II-2-2-2-Infestation parasitaire et suivi de son évolution**

La réalisation des analyses coprologiques, une semaine après l'arrivée des moutons, 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 :

$$\text{OPG} = X.100$$



**Figure 16:** Cellules Mc Master (photo prise par Traore)



**Figure 17 :** Récolte anale des crottes sur le mouton (photo prise par Traore)



**Figure 18 :** comptage des Œufs de *Haemonchus* (photo prise par Brice)

### II-2-2-3-Préparation de la gamme de dilution

#### 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 DMSO de sorte à obtenir une solution mère de concentration  $C=0,05$  Mol/L.

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

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

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) de lignes de puits (chacune numérotées de A à H). 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 la molécule 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**.

Le pourcentage de DMSO dans chaque puits est aussi inscrit dans le tableau après calcul selon la formule suivante :

$$\begin{array}{ccc} (P1) 4 \mu\text{l de S} + 196 \mu\text{l H}_2\text{O} & \longleftrightarrow & 1000 \mu\text{M/L} & \longleftrightarrow & 2 \% \text{ de DMSO} \\ & & \swarrow \quad \searrow & & \\ \text{Pour un puits P} & & \text{concentration} & & \text{?\% de DMSO} \end{array}$$

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

<b>Dilution</b>	<b>Mode de préparation</b>	<b>Concentration correspondante (µM)</b>	<b>Pourcentage de DMSO dans chaque puits (%)</b>
Dilution	Puits (PA) 4 µl de S + 196 µl H <sub>2</sub> O	1000	2
	Puits (PB) 20 µl de P1+ 180 µl H <sub>2</sub> O	100	0,2
	Puits (PC) 20 µl de P2 + 180 µl H <sub>2</sub> O	10	0,02
	Puits (PD) 20 µl de P3 + 180 µl H <sub>2</sub> O	1	0,002
	Puits (PE) 20 µl de P4+ 180 µl H <sub>2</sub> O	0,1	0,0002
	Puits (PF) 20 µl de P5+ 180 µl H <sub>2</sub> O	0,01	0,00002
	Puits (PG) 20 µl de P6 + 180 µl 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 µl de chacune de ces dilutions sont transférés dans les puits d'une nouvelle microplaque appelée microplaque-test, puis 140 µl d'agar 2% sont ajoutés dans chaque puits. Avant l'ajout, 2 ml d'Amphotéricine B à 250 µg/ml sont additionnés à l'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 des bulles dans les puits car leur

présence empêcherait la lecture. L'activité de chaque produit est donnée par sa concentration larvicide (CL<sub>100</sub>) exprimée en micromole par litre (μM/L) ou en micromolaire (μM)

**NB : Méthode de calcul des concentrations**

$$\text{Conc} = \frac{\text{CSI } (\mu\text{M/L}) \times \text{VSI } (\mu\text{l})}{\text{VSI } (\mu\text{l}) + \text{VE } (\mu\text{l})}$$

**Conc** : Concentration Correspondante

**CSI** : Concentration Solution Initiale

**VSI** : Volume Solution Initiale

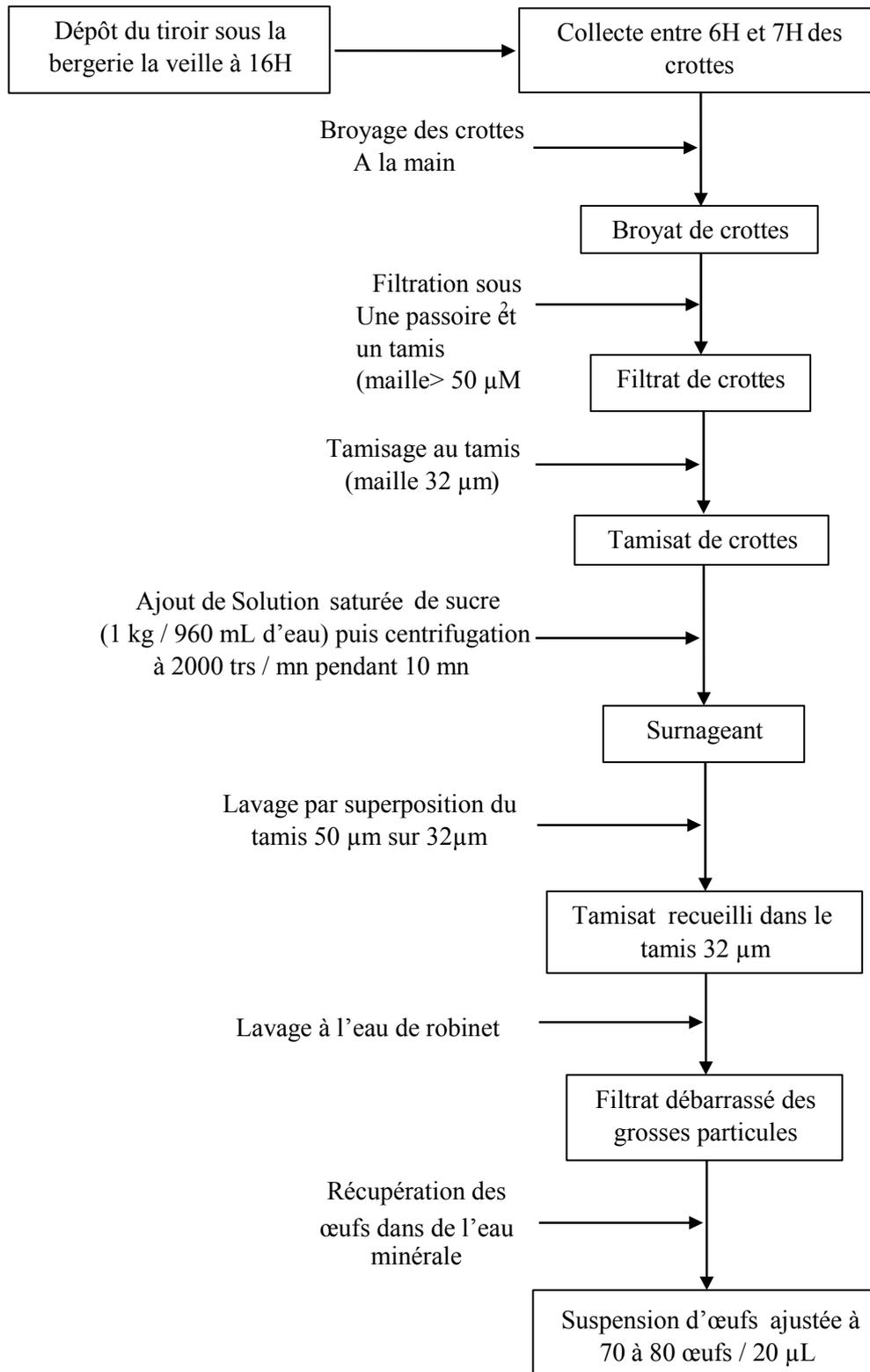
**VE** : Volume d'Eau ajouté

**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 μm. On procède ensuite à un tamisage (maille 32 μm) 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 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 μm) est destiné à retenir les petites particules tandis que les œufs passent et restent sur celui du dessous (32 μm). 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 à 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 conservation à l'étuve 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 et l'assèchement de nos dilutions.



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

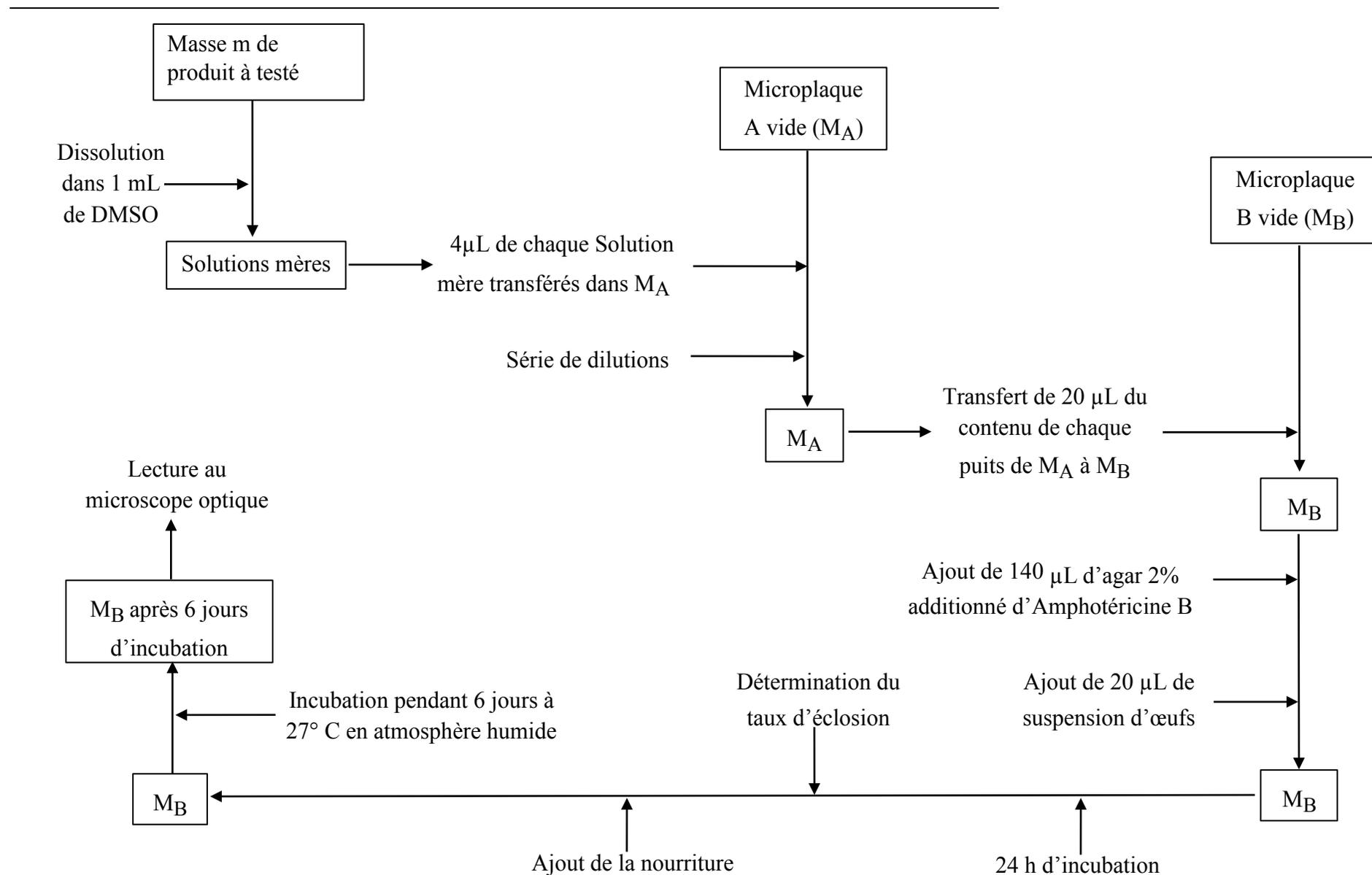


Schéma : 2 Schéma synoptique du test anthelminthique



**Figure 19** : Crottes de mouton sur le tiroir (photo prise par Traore)



**Figure 20** : Collecte des crottes (photo prise par Traore)

#### **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 5 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 2**) (**Voir figure 11**).

Le Taux moyen de larves L3 développées par rapport au puits contrôle (Tm) se calcule de la manière suivante pour une plaque :  $Tm = B \times 100/Y$ .

- B : nombre réel de larves L3 par puits contrôle dans la microplaque ( $B = A/12$  ou  $A/8$ )

- A : nombre total de larves L3 comptées dans tous les puits contrôles (les puits P8 (H<sub>2</sub>O) de la microplaque) après 6 jours d'incubation

- Y : nombre potentiel de larves L3 dans les puits contrôles ( $Y = P \times Te$ )

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

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

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

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 inhibé.

### **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 de 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**

Les résultats biologiques obtenus lors de l'évaluation des activités nématocide vis à vis de *Haemonchus contortus* des benzimidazolyl- chalcones (**2a-2i**) montrent que certaines possèdent de puissantes activités anthelminthiques comparativement à la substance de référence, le Fenbendazole.

L'activité de chaque produit est donnée par sa concentration larvicide 100 (CL<sub>100</sub>) exprimée en micromolaire (μM).

#### **I-1-Recherche d'activité larvicide du DMSO**

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

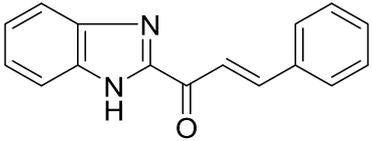
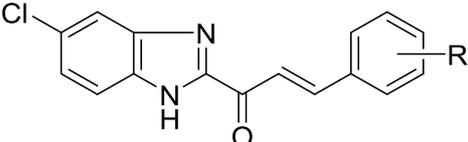
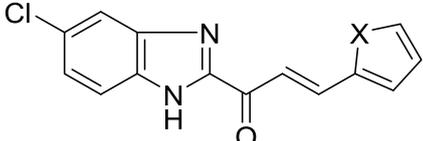
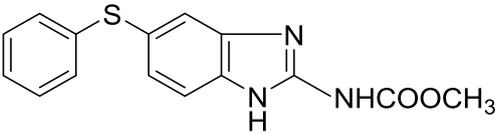
La recherche d'activité larvicide du DMSO a été réalisée à différents pourcentages (2% à 0,000002%), pour vérifier son innocuité vis-à-vis des larves de *Haemonchus contortus*.

Le DMSO a présenté une activité larvicide pour un pourcentage supérieur ou égale à 2%.

Les composés ayant une activité larvicide (CL<sub>100</sub> ≥ 1000 μM) à l'issu du criblage, ont été considéré comme inactifs car cette activité pourrait être due à l'action du DMSO.

## I-2- Présentation et Analyse des résultats

**Tableau IV :** Activités nématocides *in vitro* des composés **2a-2i**, et du Fenbendazole vis-à-vis de *Haemonchus contortus*.

Structure générale	Composés	R	X	PM (g /mol)	CL <sub>100</sub> (μM) <i>H.contortus</i>
	<b>2a</b>	-	-	248,28	<b>100</b>
	<b>2b</b>	H	-	282,73	≤0.001
	<b>2c</b>	4-CH <sub>3</sub>	-	296,76	> 1000
	<b>2d</b>	4-OCH <sub>3</sub>	-	312,75	1000
	<b>2e</b>	4-Cl	-	317,17	100
	<b>2f</b>	2,4-diCl	-	351,62	10
	<b>2g</b>	4-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-	352,79	100
 X= O, S	<b>2h</b>	-	S	288,75	10
	<b>2i</b>	-	O	272,69	1000
 Fenbendazole				299,35	≤ 0.001
DMSO (2%)					1000

Les résultats rapportés font ressortir que :

- ✓ Les larves de *Haemonchus contortus* présentent une sensibilité relative aux différents produits testés à des concentrations différentes (**Tableau IV**).
- ✓ La substance de référence, le Fenbendazole, a présenté des activités nématocides  $\leq 0,001 \mu\text{M}$ .
- ✓ La benzimidazolyl-Chalcone **2a**, présente une concentration larvicide élevée ( $\text{CL}_{100}=100\mu\text{M}$ ) par rapport à celle de notre substance de référence ( $\text{CL}_{100} \leq 0,001 \mu\text{M}$ ).
- ✓ La 5-chlorobenzimidazolyl-chalcone **2b** possède une concentration larvicide très faible ( $\text{CL}_{100} \leq 0,001 \mu\text{M}$ ) qui est comparable à celle de notre substance de référence ( $\text{CL}_{100} \leq 0,001 \mu\text{M}$ ).
- ✓ les composés **2c**, **2d** et **2i** possèdent une concentration larvicide très élevée ( $\text{CL}_{100} \geq 1000 \mu\text{M}$ ) par rapport à celle de notre substance de référence ( $\text{CL}_{100} \leq 0,001 \mu\text{M}$ ). Par ailleurs ces composés possèdent une activité larvicide comparable à celle du **DMSO** ( $\text{CL}_{100} \geq 1000 \mu\text{M}$  équivaut à **2% de DMSO**), donc sont considérés inactifs.
- ✓ les 5-chlorobenzimidazolyl-chalcones **2e-2h** issues de la modulation du composé **2a**, ont également présenté des concentrations larvicides très largement supérieures à celle de notre molécule de référence ( $\text{CL}_{100} = 100 \text{ à } 10 \mu\text{M}$ ).

## II- DISCUSSION

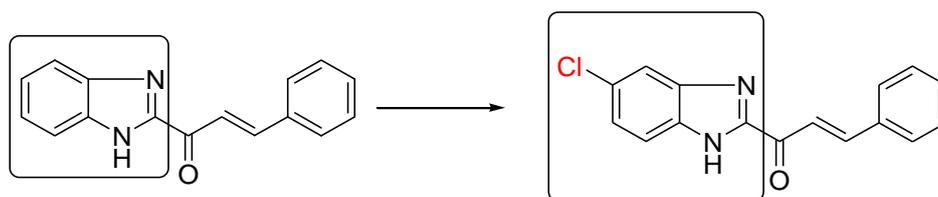
À la suite du criblage anthelminthique en série des benzimidazolyl-chalcones, nous nous sommes limités dans cette autre partie de notre travail, à la seule discussion des résultats expérimentaux obtenus.

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

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

### II-1-Pertinence de notre stratégie pharmacochimique

Notre stratégie de conceptualisation de nouveaux candidat-médicaments par suite de juxtaposition moléculaire permet d'établir que l'introduction d'un groupement électrodonneur de type chlore (Cl) en position 5 du benzimidazoles (composé **2b**) conduit à l'apparition et à l'exaltation de l'activité anti-*Haemonchus* à l'échelle du nanomolaire ( $CL_{100} \leq 0.001 \mu\text{M}$  ou 1 nM).



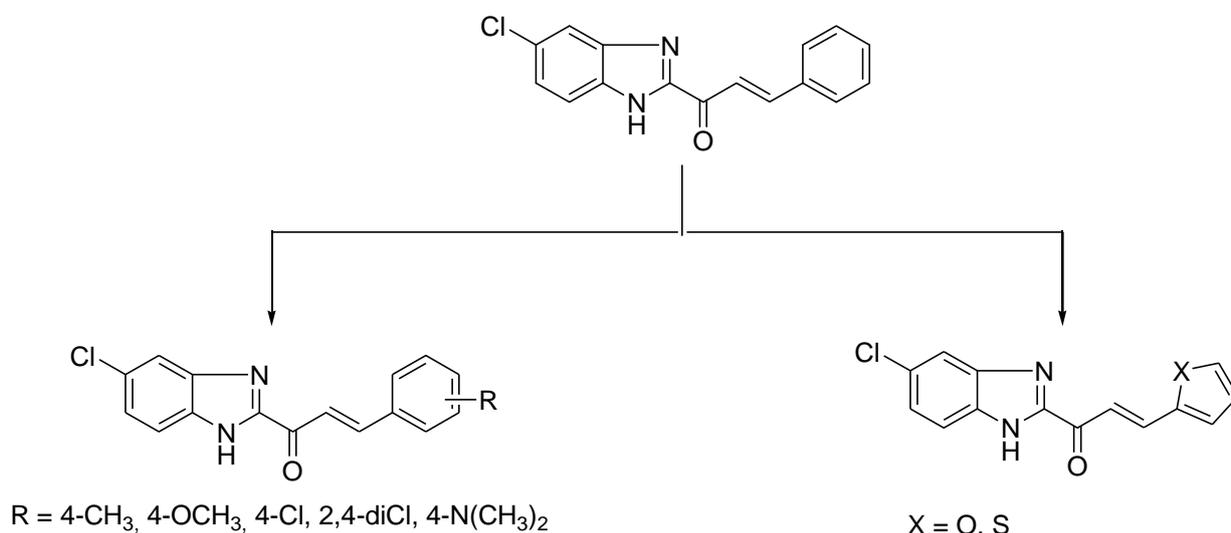
**Schéma 3**: Modulation entreprise autour de la benzimidazolyl-chalcone

Une telle activité anthelminthique est **100000** fois supérieure à celle de la benzimidazolyl-Chalcone (composé **2a**). Par ailleurs le composé **2b** a présente une performance anthelminthique superposable à celle de notre substance de référence, Fenbendazole ( $CL_{100} \leq 0.001 \mu\text{M}$  ou 1 nM).

Ces résultats montrent d'une part que le blocage de la position 5 du benzimidazole, site de métabolisation des anthelminthiques benzimidazoles, par un halogène de type chloré est favorable à l'apparition d'une amélioration des activités antiparasitaires. D'autre part, ils permettent de valider la juxtaposition moléculaire comme méthode pratique d'élaboration de biomolécules anthelminthiques.

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

Une variation structurale sur l'homocycle benzénique en position 3' de l'enchaînement propénone a permis l'introduction de divers modulateurs (**schéma 4**).



**Schéma 4** : modulations chimiques autour de la 5-chloro benzimidazolyl chalcone

Les études de relations structure activités effectuées sur cette série des benzimidazolyl chalcones permettent d'établir que :

- l'introduction de groupements de type méthyle (**2c**) ou hydroxylé (**2d**) en position 4 sur l'homocycle benzénique entraîne par contre une perte de l'activité larvicide ( $CL_{100} \geq 1000 \mu\text{M}$ ) comparativement aux composés **2a** et **2b**.
- Par contre la présence d'un autre groupement de type diméthylamine en position 4 (Composé **2g**) conduit à la diminution de l'activité anthelminthique ( $CL_{100} = 100\mu\text{M}$ ) de **10** fois comparativement au

composé **2f** ( $CL_{100} = 10\mu M$ ). Cette activité est comparable à celle des composés **2a** et **2e** ( $CL_{100} = 100\mu M$ ).

- le remplacement des groupements méthyle ou méthoxylé par un groupement chloro (composé **2e**) entraîne par contre l'apparition d'une activité larvicide ( $CL_{100} = 100\mu M$ ) comparable à celle du composé **2a** ( $CL_{100} = 100\mu M$ ). Cette activité demeure toutefois insuffisante au regard des excellentes activités obtenues avec la 5-chlorobenzimidazolyl chalcone **2b** ( $CL_{100} = 0,001\mu M$ ).
- la duplication du chlore sur l'homocycle benzénique (**2f**) conduit à l'apparition d'activité nématocides ( $CL_{100} = 10\mu M$ ) supérieure celle du composé mono chloré (**2e**) ( $CL_{100} = 100\mu M$ ).

Cependant cette modulation ne permet pas d'optimiser l'activité de la 5-chlorobenzimidazolyl chalcone **2b**. **Mais** contrairement aux groupements méthyle et hydroxyle, une telle variation structurale engendre une plus faible baisse des activités anthelminthiques.

Toujours dans l'optique du maintien voir l'amélioration de l'activité anthelminthique deux variations structurales sur l'homocycle benzénique en position 3' de la phenylpropenone par suite de l'introduction des hétérocycles de type thiophène ou furanne.

- Le remplacement de l'homocycle benzénique par le thiophène (composé **2h**) conduit à l'apparition d'une activité anthelminthique non négligeable ( $CL_{100} = 10\mu M$ ). Cette activité même si elle constitue une amélioration comparativement à la benzimidazolyl chalcone (composé **2a** ;  $CL_{100} = 100\mu M$ ), demeure toutefois inférieure à celle de l'homologue benzénique (composé **2b**).

- Le remplacement du thiophène par le furanne (composé **2i**) conduit à une annihilation de l'activité nématocide anti-*Haemonchus* ( $CL_{100} = 1000\mu\text{M}$ ). D'où, l'hétérocycle furanique tout comme le thiofène n'a pas permis l'apparition d'excellentes activités anthelminthiques.

Au final, seule la 5-chlorobenzimidazolyl chalcone (composé **2b**) a présenté des activités anthelminthiques de l'ordre du nanomolaire équivalentes à celle de la référence médicamenteuse. Toutes les modulations entreprises autour de cette molécule n'ont pas concouru au maintien voir à l'amélioration de ses activités nématocides anti-*Haemonchus*.

### III-CONCLUSION PARTIELLE

Les relations structure-activités entreprises à la suite de l'évaluation des activités anthelminthiques vis-à-vis de *Haemonchus contortus* ont permis d'établir que:

- ✓ La 5-chlorobenzimidazolyl-chalcone **2b** issue du composé **2a**, par introduction d'un chlore en position 5 du benzimidazole a présenté des activités anthelminthiques comparables à celle de la substance de référence (1 nM).
- ✓ Les dérivés (**composés 2c à 2i**) issues de modulations du composé **2b** au niveau de l'homocycle benzénique, n'ont pas montrées des activités anthelminthiques *in vitro* supérieures ou égales à celles de la molécule de départ.

En définitive, ces résultats nous permettent de valider que l'introduction d'un atome de chlore en position 5 métabolique du benzimidazole concourt à l'optimisation des activités anthelminthiques. Cependant aucune donnée sur sa toxicité n'est disponible. Cette situation a suscité une étude portée sur l'évaluation de sa tolérance et de sa toxicité.

## **B. ÉVALUATION DE LA TOLERANCE DE LA 5-CHOROBENZIMIDAZOLYLCHALCONE**

### **INTRODUCTION**

Au vu de la performance anthelminthique de la 5-chorobenzimidazolylchalcone, il nous est apparu nécessaire de nous intéresser à l'étude de sa toxicité.

Ledit travail a été réalisé par l'équipe de Jean David N'guessan au Laboratoire de Pharmacodynamique-Biochimique de l'UFR Biosciences de l'Université Félix Houphouët Boigny.

Le travail avait pour objectif de déterminer l'innocuité chez le rat et la toxicité potentielle pour l'espèce humaine. Plus spécifiquement, il s'agira de :

- classer la molécule dans une gamme de toxicité par la détermination de la DL50, via un essai de toxicité aiguë chez les rats femelles, plus sensibles à la létalité des substances [69].

## CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODES

### I. Matériel

#### I.1 Matériel chimique

Le matériel chimique est constitué par une poudre de la 5-chlorobenzimidazolylchalcone. Il s'agit d'une poudre pure qui a été purifiée par recristallisation dans l'hexane.

#### I.2 Matériel biologique

Le matériel biologique est constitué de rats albinos (*Rattus norvegicus*) de la souche Wistar pesant entre 75 et 106 grammes (**figure 21**). Ces rats ont été obtenus auprès du Laboratoire de Physiologie Animale et ont été acclimatés à l'Animalerie de l'Ecole Normale Supérieure (ENS) de Cocody. Ces animaux ont été répartis par lot de trois (3) dans des cages. Les cages sont placées dans un endroit bien ventilées, maintenues dans les mêmes conditions de température ( $25\pm 2$  °C), avec une humidité relative située entre 40 et 70%, avec un cycle de lumière et d'obscurité de 12 heures. Les rats ont été nourris aux pains et au maïs séché. Par ailleurs, ils ont reçu de l'eau de robinet comme eau de boisson. L'utilisation des animaux a été faite en conformité avec les guides d'utilisation des animaux de Laboratoire [70].



**Figure 21** : Rat albinos (*Rattus norvegicus*) de la souche Wistar

### **I.3. Matériel technique**

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

- Des Seringues 10 mL, 5 mL
- Un trocart
- Des tubes secs et EDTA
- Des automates
- l'huile de maïs

## **II. Méthode**

### **II-1 Test de solubilité**

Pour solubiliser notre substance, notre choix s'est porté sur l'huile de maïs qui s'avère être un bon véhicule car ne présentant aucun antécédent pour l'organisme et permet l'obtention de résultats fiables [71]. Cependant il est bon de noter que la

solubilité de notre composé dans cette huile était partielle, mais sans conséquence pour une étude de toxicité.

## **II-2- Toxicité aiguë**

La méthode utilisée est celle indiquée par les lignes directives 423 des recommandations de l'organisation de coopération du développement économique (OCDE) [72].

### ▪ *Préparation des animaux pour l'administration de la substance*

Les animaux ont été choisis par pesée, marqués pour permettre une identification individuelle et gardés dans leurs cages pour les acclimater aux conditions de laboratoire pendant cinq jours avant l'expérience. Les animaux sont maintenus à jeun avant l'administration de la substance : la nourriture est supprimée, mais pas l'eau, pendant la nuit. Après la période de jeûne, les animaux ont été à nouveau pesés.

### ▪ *Préparation des doses à administrer*

Le composé **2b** a été administré à volume constant pour toute la gamme de doses en variant la concentration de la préparation. L'évaluation du risque de cette substance se fait ici par l'utilisation du produit non dilué, donc à concentration constante. Les doses étant préparées juste avant l'administration. La poudre de 5-chlorobenzimidazolylchalcone (poudre jaunâtre) est partiellement dissoute dans l'huile de maïs pour donner les différentes concentrations.

#### *Exemple de dose convertie en concentration*

Les doses (D) doivent être converties en concentrations (C) afin de déterminer les quantités de poudre à prélever. Considérons que le poids du rat (P) auquel nous devons administrer notre solution par voie orale est d'environ 109 g.

Soit  $D = 300 \text{ mg/Kg}$  de Poids corporel (c'est à dire 300 mg de poudre de 5-chlorobenzimidazolylchalcone pour un animal pesant 1 kilogramme) la dose et  $V = 1.09 \text{ mL}$  le volume à administrer.

On sait le volume à administrer à un animal est 1 mL/100g de Poids corporel.

La concentration exprimée en mg/mL) se détermine selon la formule suivante :

$$C = \frac{D \times P}{V}$$

C = 200 mg/ml c'est-à-dire 200 mg de poudre à homogénéiser dans 1 mL d'huile de maïs

▪ ***Administration des doses***

La substance est administrée par voie orale en une seule dose en utilisant une sonde gastrique aux rats. Neuf rats repartis en 3 lots de 3 reçoivent par administration orale (par gavage) les doses suivantes :

- 1 ml d'huile de maïs (à l'aide d'une sonde gastrique) au premier lot représentant le lot témoin,
- 2000 mg/kg de Pc de la solution de 5-chlorobenzimidazolylchalcone au lot test.

Après l'administration de la substance, les animaux sont à nouveau privés de nourriture, pendant 3 à 4 heures.

▪ ***Observation***

Les animaux sont observés individuellement une fois pendant les premières 30 minutes et régulièrement pendant les premières 24 heures après le traitement. Une attention particulière leur a été accordée pendant les premières 4 heures et quotidiennement pendant 14 jours après l'administration de la substance.

▪ **Analyse statistique des données**

Les analyses statistiques des résultats ont été réalisées à l'aide du logiciel *Graph Pad Prism version 5*. Toutes les données ont été exprimées sous forme de moyenne, erreur standard sur la moyenne (ESM).

## **Chapitre 2 : RESULTATS ET DISCUSSIONS**

### **I. RESULTATS**

#### **I.1 Toxicité aigue**

Les résultats de la toxicité aiguë par voie orale ne révèlent aucune mortalité chez les rats traités. L'observation des animaux s'est effectuée toutes les 48 heures pendant 14 jours. Ils n'ont montré aucun changement dans l'apparence physique générale et dans la motricité durant la période d'observation. Aucune manifestation de tremblements, convulsions, salivation, diarrhée, coma, ou de comportements anormaux tels que l'automutilation ou la marche à reculons n'a été observée. Des manifestations de sommeil ont été observées chez les traités les 30 premières minutes après le gavage. Ce sommeil n'était réversible qu'après quelques heures chez les traités. Une léthargie transitoire s'observait chez les animaux traités à la 5-chlorobenzimidazolylchalcone quelques heures après le gavage. Aucune autre modification liée au traitement, ni aucune morbidité ou mortalité, n'a été observée chez les animaux sur la période de 14 jours suivant l'administration orale de la dose 2000 mg/kg.

#### **I.2. Effets de la substance (5-chlorobenzimidazolylchalcone) sur le poids corporel**

Les animaux sont pesés tous les 48 heures pour observer les effets du composé **2b** sur leurs poids corporels. Les résultats sont consignés dans le **tableau V**.

La détermination des poids moyens a permis d'obtenir les tracés de la **figure 22** qui montre bien la variation pondérale des lots traités par rapport au lot témoin.

Tableau V : Poids absolus et moyen journaliers des animaux testés

Lots		Temps (jrs)								
		J-1	J0	J2	J4	J6	J8	J10	J12	J14
Lot témoin	Rat 1	75	69	70	75	71	73	70	77	72
	Rat 2	90	83	92	94	93	91	94	96	95
	Rat 3	80	72	80	74	73	74	73	80	80
	Poids moyens	81,7±7,6	74,7±7,4	80,7±11,0	79,7±11,3	80,3±12,2	79,3±10,1	79,0±13,1	84,3±10,2	82,3±11,7
Lot Test	Rat 1	83	73	74	83	83	78	79	77	78
	Rat 2	80	72	71	78	79	79	80	86	85
	Rat 3	83	73	76	84	83	81	83	86	84
	Poids moyens	82,0±1,7	72,7±0,6	73,7±2,5	81,7±3,2	81,7±2,3	79,3±1,5	80,7±2,1	83,0±5,2	82,3±8,2

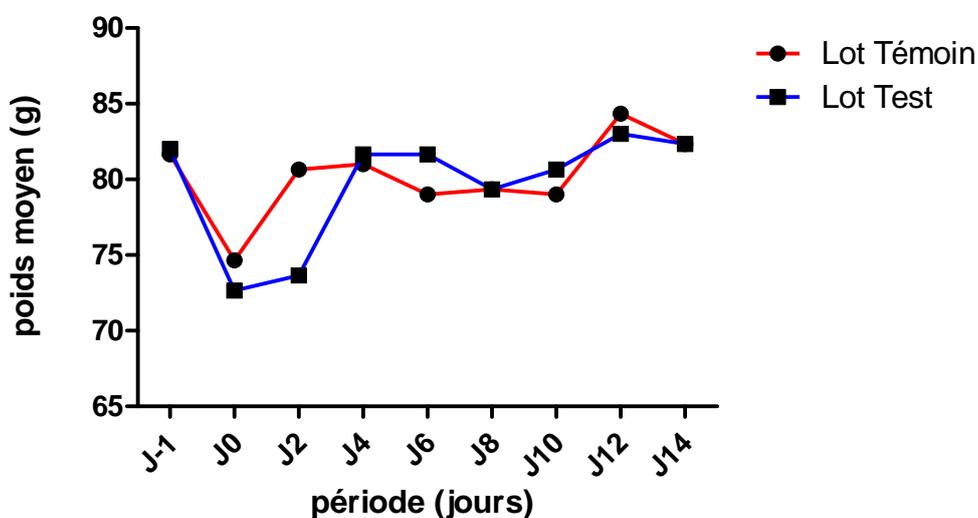


Figure 22 : Evolution des poids moyens des rats au cours du temps de suivi

### I.2. 1 Les rats témoins

L'analyse du graphique (**figure 22**) nous montre une forte baisse de poids entre J<sub>-1</sub> et J<sub>0</sub>, puis une augmentation tout aussi légère du poids des animaux témoins durant la période d'essai.

### **I. 2.2. Les rats traités à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel**

Nous observons une légère perte de poids entre  $J_{-1}$  et  $J_0$ , puis une augmentation assez faible du poids des rats du lot 1 après gavage (**Figure 22**).

### **I.2. 3. Comparaison des gains pondéraux des différents lots**

Le **tableau VI** de comparaison des gains pondéraux des différents lots de rats montre que le lot 1 (2000 mg/kg) est celui qui a eu le plus de gain pondéral avec une moyenne **+0,047%** nettement supérieure à celle des rats du lot 2 (2000 mg/kg) dont la moyenne pondérale est une perte de poids de **-0,65%**. Mais comparativement au lot Témoin dont le gain pondéral moyen est de **+0,23%**, les animaux des lots tests présentent une perte pondérale.

**Tableau VI: Gains pondéraux des rats pendant 14 jours**

		<b>GP (J<sub>-1</sub> - J<sub>0</sub>)</b>	<b>GP (J<sub>0</sub> - J<sub>2</sub>)</b>	<b>GP (J<sub>2</sub> - J<sub>4</sub>)</b>	<b>GP (J<sub>4</sub> - J<sub>6</sub>)</b>	<b>GP (J<sub>6</sub> - J<sub>8</sub>)</b>	<b>GP (J<sub>8</sub> - J<sub>10</sub>)</b>	<b>GP (J<sub>10</sub> - J<sub>12</sub>)</b>	<b>GP (J<sub>10</sub> - J<sub>14</sub>)</b>	<b>G P moyen</b>
<b>Témoins(%)</b>	<b>R1</b>	-8	1,45	1,43	5,63	-2,67	-4,11	10	-6,49	-0,34
	<b>R2</b>	-7,78	10,84	2,17	-1,06	-2,15	3,30	2,13	-1,04	0,80
	<b>R3</b>	-10	11,11	-7,5	-1,35	1,37	-1,35	9,59	0	0,23
<b>Moyenne des gains pondéraux des témoins</b>										<b>0,23</b>
<b>Lot Test (2000 mg/kg) en %</b>	<b>R1</b>	-13,33	1,45	12,86	0	-6,67	1,37	-2,86	1,30	-0,73
	<b>R2</b>	-8,89	-1,20	7,61	1,06	0	1,10	6,38	-1,04	0,63
	<b>R3</b>	-12,5	4,17	10	-1,35	-2,74	2,70	4,11	-2,5	0,24
<b>Moyenne des gains pondéraux du lot test</b>										<b>0,047</b>

## II. DISCUSSION

### *La DL<sub>50</sub>*

Il faut souligner qu'à la dose limite de 2000 mg /Kg de PC, le composé **2b** semble être dénué de toute toxicité. La DL<sub>50</sub> n'a donc pu être déterminée avec exactitude dans la mesure où, à cette dose limite, nous n'avons observé aucun cas de décès parmi les animaux testés. Selon **Yeo et al [73]**, le seul paramètre toxicologique qui peut être déterminé en pareille situation (puisque'il n'y a pas de mort dans les lots de rats traités) est la DMT (Dose Maximale Tolérée) : **DMT > 2000 mg/kg de PC**. Cela permet de classer le composé **2b** parmi les substances non toxiques selon le système de classification globalement harmonisé (SGH) de l'OCDE [69].

### *Le Suivi pondéral*

Le suivi de l'évolution pondérale des animaux durant quatorze jours montre de manière générale une diminution du poids corporel le premier jour. Cette diminution du poids pourrait être due au stress. Passé ce délai, ce poids augmente normalement (**Figure 22**). Cette diminution significative du poids des animaux traités par rapport aux témoins, quel que soit la dose, pourrait être liée à une perte de l'appétit des animaux causée par le composé **2b**, et qui aurait pour conséquence une réduction de leur consommation de nourriture. Cependant nous notons quelques irrégularités observées au niveau des variations de poids de certains de ces animaux s'expliqueraient certainement par le régime alimentaire auquel ils étaient soumis.

## III- CONCLUSION PARTIELLE

Il était question dans ce travail d'identifier les dangers potentiels pour la santé animale que représente le traitement au composé **2b**, qui pourrait être utilisé en médecine pour traiter les parasitoses dues aux helminthes. Le test de toxicité

orale aiguë chez le rat a permis d'obtenir une  $DL_{50} > 2000$  mg/kg, caractéristique des substances à très faible toxicité. Aucun signe d'intoxication majeur lié au traitement n'a été observé sur toute la durée d'observation. Ces résultats suggèrent que la consommation du composé **2b** à dose inférieure à 2000 mg/Kg de PC présente de faibles risques pour la santé des rats, soutenant ainsi l'utilisation de ce produit dans le traitement des helminthiases. Cependant, aucune information relative à la toxicité absolue du composé **2b** n'est connue aujourd'hui

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

## **Conclusion**

Les helminthoses vétérinaires constituent un véritable problème socio-économique mondial. Ce problème est majoré par l'émergence et la prolifération de souches chimiorésistantes de *Haemonchus contortus*. D'où l'inefficacité des anthelminthiques couramment utilisés dans cette parasitose.

C'est dans ce contexte que nous avons proposé la conception et l'évaluation des activités anthelminthiques d'une nouvelle série de chalcones à support 5-chlorobenzimidazole vis-à-vis de *Haemonchus contortus* par la méthode du test de développement larvaire.

Les études de relations structures activités que nous avons entreprises ont permis d'établir que:

- La présence de l'atome de chlore sur le site de métabolisation C5 des dérivés benzimidazolés (**2b**) améliore l'activité nématocide attendue comparativement à son analogue non chloré en C5 (composé **2a**)
- Les essais d'optimisation des activités par suite de la substitution de l'homocycle benzénique par divers modulateurs, n'a pas été bénéfique puisque celles-ci demeurent inférieures aux activités du dérivé **2b**
- Le remplacement de ce même homocycle benzénique par des hétéroaryles n'a pas amélioré également les activités comparativement au composé **2b**

Au final, il ressort que le composé **2b** ou 5-chlorobenzimidazolylchalcone induit et optimise les activités nématocides recherchées jusqu'à l'échelle du nanomolaire.

Le test de toxicité orale aiguë du composé **2b** chez le rat a permis d'obtenir une  $DL_{50} > 2000$  mg/kg, caractéristique des substances à très faible toxicité.

## **Perspectives**

Au vu de ces résultats, il nous paraît nécessaire de poursuivre ces travaux de pharmacochimie afin d'optimiser les activités anthelminthiques obtenues. Dans cette perspective, diverses variations structurales à partir de la 5-chlorobenzimidazolyl-chalcone (**composé 2b**) seront envisagées ; par exemple :

- ✓ en remplaçant l'enchaînement propénone par un autre accepteur de Michaël de type acrylonitrile;
- ✓ en vérifiant l'impact de la cyclisation de la propénone pour obtenir une cyclohexénone sur les activités anthelminthiques.

D'un point de vue fondamental, il serait aussi intéressant, non seulement d'élucider le mode d'action de cette nouvelle chalcone (**2b**) sur *Haemonchus contortus*, mais aussi d'étendre son évaluation anthelminthique à d'autres nématodes vétérinaires et humains pathogènes.

Le composé **2b** obtenu dans ce travail de thèse constitue un fondement solide, sous réserve des études toxicologie approfondies et de pharmacocinétiques pour une alternance thérapeutique.

**REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

1. **Kamuanga M J B, Somda J, Sanon Y, et al.** CEDEAO, CSAO/OCDE. Livestock and regional market in the Sahel and West Africa. *Potentials and challenges* ; 2008. (consulté le 04/01/2017) sur <<http://WWW.oecd.org/swac/publications/1848366.pdf>>
2. **Achi Y L, Zinstag J, YéoNet al.** Les nématodes gastro-intestinaux des bovins de la région des savanes de la Côte-d'Ivoire : enquête d'abattoir. *Revue Médecine Vétérinaire*; 2003, 154: 105-112.
3. **Kwa M S, Veenstra J G, Roos M H.** Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in beta-tubulin isotype 1. *Moléculaire et Biochimique Parasitologie*; 1994, 63(2): 299-303.
4. **James C E, Hudson A L, Davey M W.** Drug resistance mechanisms in helminths: is it survival of the fittest? *Trend Parasitol*; 2009, 25(7): 328-335.
5. **Gaillard L.** Impact de la distribution de plantes riches en tanins condensés sur les strongyloses digestives et différents paramètres zootechniques chez les caprins. *These d'exercice Médecine Vétérinaire Université Claude-Bernard - Lyon I* ; 2004, 43 :149p.
6. **Bussieras J, Chermette R.** Parasitologie vétérinaire-Helminthologie. fasc III. 2e Ed. Paris : Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort ; 1995, 299p.
7. **Brard C, Chartier C.** Quand suspecter une strongylose digestive chez les ovins et les caprins et conduite à tenir. *Point Vétérinaire* ; 1997, 28: 83-88.

8. **Fillet R.** Strongyloses gastro-intestinales des caprins. *Bulletin Groupement Technique Vétérinaire* ; 1981, 3: 55-57.
  
9. **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. *These d'exercice Medecine Vétérinaire, Université Claude-Bernard Lyon I* ; 1997, 167p
  
10. **Koné M, Kamanzi K, Traoré D, Betschart B.** Anthelmintic activity of medicinal plants used in northern Côte d'Ivoire against intestinal helminthiasis. *Pharmaceutical Biology*; 2005, 43: 72-78.
  
11. **Koné M W, Kamanzi A K, 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.
  
12. **Koné W 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.
  
13. **Urquhart G.M, Armour J, Duncan J.L, et al.** *Veterinary Parasitology*. 2e Ed. Oxford: Blackwell Science; 1996, 307p.
  
14. **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

**15.FAO. Rome.** Animaux vivants. Consulter le (04 janvier 2017).

<[http://faostat3.fao.org/home/index\\_fr.html?locale=fr](http://faostat3.fao.org/home/index_fr.html?locale=fr)>

**16.Aumont G, Pouillot R, Simon R. et al.** Parasitisme digestif des petits ruminants dans les Antilles françaises. *INRA Production Animale*; 1997, 10: 79-89.

**17.McLeod.** Cost of major parasites to the australien livestock industries. *Journal international de parasitologie*; 1995, 14: 1363-1367.

**18.Sykes A.R, Coop R. L.** 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.

**19.Veneziano V, Rinaldi L, Caputo A R, et al.** the quality of goat products. *Bella:IGA-CRA, Ed*; 2007, 142-145.

**20.Brunet S.** Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances. *These Vétérinaire Université de Toulouse*; 2008, 458p.

**21.Knox M R, Torres-Acosta J F , Aguilar-Caballero A J.** Exploiting the effect of dietary supplementation of small ruminants on résilience and resistance against gastrointestinal nématodes. *Parasitologie vétérinaire*; 2006, 139 (4): 385-393.

- 22. Toure, Yo T, Tanoh K G. 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.
- 23. Cabaret J.** Parasitisme helminthique en élevage biologique ovin : réalités et moyens de contrôle. *INRA Production Animale* ; 2004, 17 (2): 145-154.
- 24. Roberson E.** *Veterinary pharmacology and therapeutics*. 5e Ed. Mississippi: Booth N. and M.C. Donald L; 1982, 803-851
- 25. 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.
- 26. Janssen M A C, Sipido VK.** (1977) antiparasitic salicylanilide derivatives. *United States Patent*; 1977, 4005: 218
- 27. Kaminsky R, Gauvry N, Schorderet W S et al.** Identification of the amino-acetonitrile derivative monepantel (AAD 1566) as a new anthelmintic drug development candidate. *Journal de parasitologie de Recherche*; 2008, 103: 931-939.
- 28. Swan G E.** The pharmacology of halogenated salicylanilides and their anthelmintic use in animals. *Journal de l'association vétérinaire sud-africain*; 1999, 70: 61-70.

- 29. A F E C T. Paris.** Traité de chimie thérapeutique. Vol. 5. principaux antifongiques et antiparasitaires. Condé-sur-Noireau : TEC & DOC LAVOISIER Ed ; 1998, 544p.
- 30. Samsom-Himmelsjerna G V.** *Anthelmintics and resistance: a review.* SWITZERLAND: NOVARTIS Ed; 2007, 23-33
- 31. Arena J P, Liu K, Paress PS et al.** The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditis elegans*: correlation between activation of sensitive chloride current, membrane binding, and biological activity. *Parasitology*; 1995, 81(2): 286-294.
- 32. Rufener L, Mäser P, Roditi I, et al.** *Haemonchus contortus* acetylcholine receptors of the DEg-3 subfamily and their role in sensitivity to monepantel. *PLoS Pathogens*; 2009, 5(4):e1000380
- 33. Kaminsky R, Ducray P, Jung M, Clover R, Rufener L et al.** A new class of anthelmintics effective against drug-resistant nematodes. *Nature* ; 2008 Mar 13;452(7184):176-80.
- 34. Kaminsky R<sup>1</sup>, Mosimann D, Sager H, Stein P, Hosking B.** Determination of the effective dose rate for monepantel (AAD 1566) against adult gastro-intestinal nematodes in sheep. *Int J Parasitol* ; 2009 Mar, 39(4):443-6
- 35. Rolfe PF, Giraudel JM, MacKenzie K, Browning A, Allan B, Sager H.** Efficacy, safety and pharmacokinetics of monepantel in goats. *N. Z. Soc. Parasitol. Proc. Annu. Meeting* ; 2009, 37, 18p.

- 36.Sager H, Hosking B, Bapst B, Stein P, Vanhoff K, Kaminsky R.** Efficacy of the amino-acetonitrile derivative, monepantel, against experimental and natural adult stage gastro-intestinal nematode infections in sheep. *Vet. Parasitol* ; 2009, 159, 49-54.
- 37.HAFSI F, CHINA B & HALMI F.** Le monepantel, un nouvel anthelminthique efficace contre les nématodes gastro-intestinaux des ovins. *Annale de Médecine Vétérinaire* ; 2012, 156: 66-76.
- 38.Chartier C, Hoste H.** La thérapeutique anthelminthique chez les caprins. *Le Point Vétérinaire*; 1997, 28: 1907-1914.
- 39.McKellar Q A.** Ecotoxicity and residues of anthelmintic compounds. *Veterinary Parasitology*; 1997, 72:413-435.
- 40.Erzen N K, Kolar N K, Flajs V C et al.** Degradation of abamectin and doramectin on sheep grazed pasture. *Ecotoxicology*; 2005, 14, 627-635.
- 41.Prichard R K, Hall C A, Kelly J D et al.** The problem of anthelmintic resistance in nematodes. *Australian veterinary journal*; 1980, 56: 239-251.
- 42.Sangsters N C, Gill J.** Pharmacology of anthelmintic resistance. *Parasitology Today*; 1999, 15 (4): 141-146.
- 43.Prichard R K.** Anthelmintic resistance in nematodes: extent, recent understanding and future directions for control and research. *Internatinnal Journal of Parasitology*; 1990, 20: 515-523.

- 44. Roos M H, Boersema J H, Borgsteede F H et al.** Molecular analysis of selection for benzimidazole resistance in the sheep parasite *Haemonchus contortus*. *Moléculaire Biochimique Parasitologique*; 1990, 43: 77-88.
- 45. Drudge J H, Elam G.** Preliminary observations on the resistance of horse strongyles to phenothiazine. *Journal of Parasitology*; 1961, 47: 38-39.
- 46. 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: 281-285
- 47. Domke A V M, 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.
- 48. Suarez V H, Cristel S L.** Anthelmintic resistance in cattle nematode in the western Pampeana Region of Argentina. *Veterinary Parasitology*; 2007, 144: 111-117.
- 49. Sutherland I A, Leathwick D M.** Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle: a global issue? *Trends in Parasitology*; 2011, 27(4):176-181.
- 50. 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): 207-210.

- 51. Leathwick D, Miller C, McMurty L.** Resistance to monepantel in two nematode species in goats. *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology: The 24th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP), Buenos Aires, Argentina; August 2013.*
- 52. Scott I, Pomroy WE, Kenyon PR, Smith G, Adlington B, Moss A.** Lack of efficacy of monepantel against *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. *Vet. Parasitol* ; 2013, 198, 166-171.
- 53. Van den Brom R, Moll L, Kappert C, Vellema P.** Monepantel resistance of *Haemonchus contortus* in sheep. *Vet Parasitol* ; 2015 Apr 30; 209(3-4):278-80.
- 54. Costa-Júnior L, Gracione Sousa-Filho J, Sousa-Junior A, Traesel L et al.** Failure of anthelmintic treatment with monepantel in sheep in Brazil. *Proceedings: 25th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP). 16-20 August 2015, Liverpool, UK ; 2015, 560p.*
- 55. Mederos AE, Ramos Z, Banchemo GE.** First report of monepantel *Haemonchus contortus* resistance on sheep farms in Uruguay. *Parasites & Vectors* ; 2014, 7: 598p.
- 56. Barnes E H, Dobson R J, Barger I A.** Worm control and anthelmintic resistance: adventures with a mode. *Parasitology Today*; 1995, 11: 56-63.

- 57. Kazmierczuk Z, Upcroft J A, Upcroft P, Górski A, Starościak B, Laudy A.** Synthesis, antiprotozoal and antibacterial activity of nitro and halogeno-substituted benzimidazole derivatives. *Acta Biochimica Polonica.*; 2002, 49(1): 185-195.
- 58. 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.
- 59. Baviskar B A, Baviskar B, Shiradkar M R, Deokate U A et Khadabadi S S.** Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Novel Benzimidazolyl Chalcones. *E-Journal of Chemistry*; 2009, 6(1): 196-200.
- 60. Patil D N, Chaturvedi S C, Kale D L, Kakde R B et Dahikar S B.** Synthesis and antimicrobial activity of some benzimidazole derivatives *Continental J. Pharmaceutical Sciences* ; 2008, 2: 44 - 48.
- 61. Canan K, Fatma S, Benay C, Tulay C.** Antioxidant and antifungal properties of benzimidazole derivatives. *Z.Naturforsch*; 2010, 65c: 537-542.
- 62. Sudeer Babu I et 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.
- 63. Coles G.C.** Anthelmintic activity of triclabendazole. *J Helminthol.* 1986; 60(3):210-2.

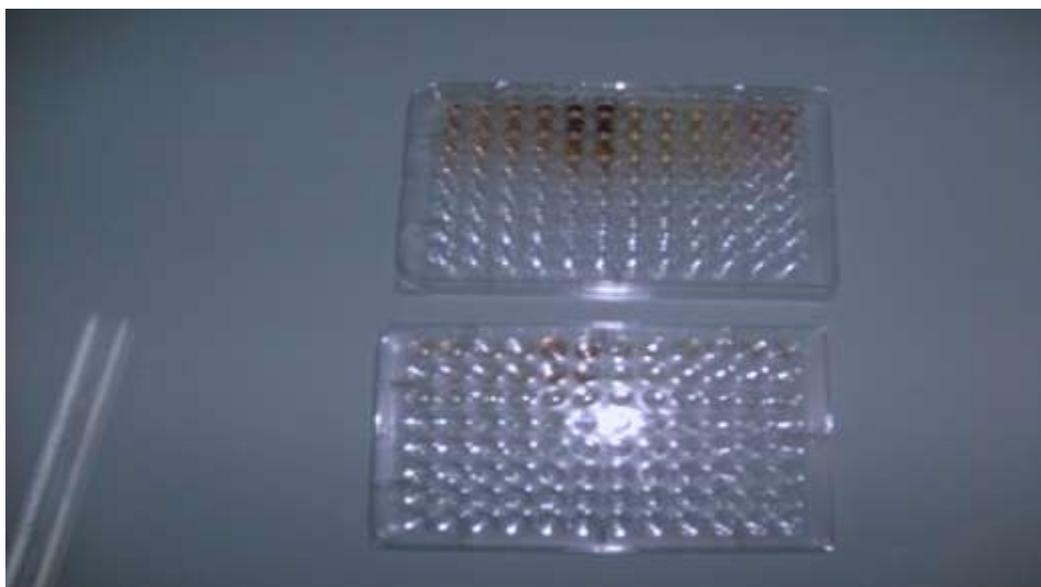
- 64. Velik J, Baliharova V, Fink-Gremmels J et al.** Benzimidazole drugs and modulation of biotransformation enzymes. *Research in Veterinary Science*; 2004, 76: 95-108.
- 65. Dimmock J R, Elias D W, Beazely M A et al** Bioactivities of chalcones. *Current Medicinal Chemistry*; 1999, 6: 1125-1149.
- 66. Nowakowska Z.** A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *European Journal of Medicinal Chemistry*; 2007, 42(2): 125-137.
- 67. Biswajit C D, Mariappan G, Sudip S et al.** Anthelmintic and anti-microbial activity of some novel chalcone derivatives. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*; 2010, 2(1):113-120.
- 68. Ouattara M, Sissouma D, Kone M W, Menan H, Seikou A T, Ouattara L.** Synthesis and anthelmintic activity of some hybrid. *Tropical Journal of Pharmaceutical research*; 2011, 10(6):768
- 69. OCDE.** Toxicité orale aiguë - Méthode de la dose prédéterminée. In *Lignes directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques* ; 2001, 1 (4), pp 1-15. OCDE, Paris.
- 70. Anonyme 2.** Guide pour les Soins et l'Utilisation des Animaux de Laboratoire. *Institute of Laboratory Animal Resources*. National Academy Press: Washington, D.C ; 1996

- 71. Takahashi M., Kato H., Doi Y., Hagiwara A., Hirata-Koizumi M., Ono A., Kubota R., Nishimura T. and Hirose A.** Sub-acute and toxicity study with fullerene C60 in rats. *The Journal of Toxicological Sciences (J. Toxicol. Sci.)* ; 2012, 37, N° 2, 353-361.
- 72. OCDE (2009).** Études de toxicité chronique. In *Lignes directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques* ; 2009, 1 (4), pp 1-16. OCDE, Paris.
- 73. Yeo D., Bouagnon R., Djyh B. N., Tuo C., N'guessan J. D. (2012):** Acute and Subacute Toxic Study of Aqueous Leaf Extract of *Combretum Molle*. *Trop J Pharm Res*, 11 (2): 217-223.

**ANNEXES**

**ANNEXE 1**

Microplaques de titration de Nunch



**ANNEXE 2**

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 : nombre de larves vivantes

Sd : stade larvaire

mbt : mobilité

## RESUME

### Justification

Les helminthoses gastro-intestinales à *Haemonchus contortus*, sont des parasitoses classées parmi les principales causes de baisse de productivité chez les petits ruminants. Les médicaments anthelminthiques fréquemment utilisés pour traiter ces parasitoses sont confrontés à une émergence et à une prolifération de souches d'helminthes de plus en plus chimiorésistances.

Dans ce contexte de risque d'inefficacité de la plupart des anthelminthiques, et pour contribuer à l'élaboration de nouveaux médicaments susceptibles d'être plus efficaces, nous sommes-nous proposés d'établir le profil nématocide de 9 dérivés de nouvelles chalcones à support benzimidazole. L'objectif général assigné à ce travail est dès lors, un essai d'optimisation des activités anthelminthiques en agissant sur la position 5 métabolique et sur l'homocycle benzénique de l'enchaînement propénone des benzimidazoles chalcone, en vue de sélectionner de futurs candidat-médicaments antiparasitaires à profil chimique 5-chlorobenzimidazolyl-chalcone.

### Matériel et méthodes

Ces dérivés de chalcones ont été conceptualisés suivant les méthodologies de juxtaposition moléculaire. Leurs activités nématocides ont été déterminées *in vitro* sur une souche de *Haemonchus contortus* selon la méthode visuelle de développement larvaire. Les dites activités étaient exprimées en concentration larvicide 100 (CL<sub>100</sub>) comparées à celle de notre molécule de référence, le Fenbendazole.

### Résultats

Nous avons évalué les activités nématocides de (9) nouveaux composés benzimidazoliques dont une (1) benzimidazolyl-chalcone et huit (8) 5-chloro benzimidazolyl-chalcone. Les résultats montrent que dans cette série des benzimidazolyl-chalcone, toutes les modulations entreprises n'ont pas concouru à l'induction, au maintien voir à l'amélioration des activités nématocides anti-*Haemonchus*. Parmi ces composés, seule la 5-chlorobenzimidazolyl-chalcone (composé **2b**) a présenté une activité anthelminthique de l'ordre du nanomolaire (CL<sub>100</sub> ≤ 0.001 μM ou 1nM) comparable à l'activité anthelminthique de notre substance de référence, Fenbendazole (CL<sub>100</sub> ≤ 0.001 μM ou 1 nM).

Le test de toxicité orale aiguë de cette 5-chlorobenzimidazolyl-chalcone chez le rat a permis d'obtenir une DL<sub>50</sub> > 2000 mg/kg, caractéristique des substances à très faible toxicité.

### Conclusion

Notre approche pharmacochimique a permis de valider 5- chlorobenzimidazolyl-chalcone comme chef de file d'une nouvelle classe chimique à activité anthelminthiques. La forte potentialité nématocide de cette chalcone ainsi que sa très faibles toxicité et très bonne tolérance, ouvre des voies d'investigations non négligeables vers la mise au point d'une nouvelle classe chimique de benzimidazolés anthelminthiques de synthèse.

**Mots clés** : 5-chlorobenzimidazole. Chalcone. Anthelminthique. Nématocide. *Haemonchus contortus*. Tolérance. Toxicité.