

LISTE DES ABREVIATIONS

AmB : amphotéricine B

ADN : acide désoxyribonucléide

ARN : acide ribonucléique

CP450 : cytochrome P450

DMSO : diméthyl sulfoxyde

DMF : diméthyl formamide

C35 : carbone en position 35

EPPH : effet de premier passage hépatique

LCR : liquide céphalorachidien

dSNP, diseaserelated single nucleotide polymorphism

ROS : Espèces réactives de l'oxygène (Reactive oxygen species)

LISTE DES FIGURES :

<i>Figure 1 : Présentation des trois groupes de micromycètes d'intérêt médical [10]</i>	4
<i>Figure 2 : Mycoses cutanés [12].....</i>	5
<i>Figure 3 Des Antifongiques et leurs principales cibles. [14]</i>	7
<i>Figure 4 structure de l'amphotéricine B. [18].....</i>	8
<i>Figure 5 Structure de la nystine. [19].....</i>	8
<i>Figure 6 structure des triazolés A et azolés B. [21].....</i>	9
<i>Figure 7 mode d'action de l'amphotéricine B. [23]</i>	10
<i>Figure 8 Mécanisme d'action des azolés. [25]</i>	11
<i>Figure 9 structure de l'amphotéricine B. [35].....</i>	16
<i>Figure 10 Modèle d'élimination des bactéries induite par le cuivre chez les macrophages activés.[53]</i>	21
<i>Figure 11 exemples de complexes de cuivre [62]</i>	23

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	i
LISTE DES ABREVIATIONS	ii
Abstract :	vi
Résumé	vii
Introduction générale.....	1
I) Les thérapeutiques antifongiques	2
I-1) Généralités sur les Infections fongiques	2
I-2) Définition d'un antifongique	5
I-2-1) Les différentes familles d'antifongiques	6
I-2-2) Antifongiques polyéniques	7
I-2-3) Antifongiques azolés	7
I-3) Structure des antifongiques	8
I-3-1) Structure des polyènes	8
I-3-2) Structure des azolés	9
I-4) Modes d'action des antifongiques	10
I-4-1) Les polyènes	10
I-4-2) Les azolés:	10
I-5) Résistance aux Antifongiques :	11
I-5-1) Définition :	11
I-5-2) Les facteurs de risque de résistance :	12
I-5-3) Résistance aux polyènes	12
I-5-3-1) Spectre d'action et indications :	13
I-5-4) Résistance aux azolés.....	13
II) Etude théorique et propriétés des ligands	14
II-1) Les polyènes	14
II-1-1) Propriétés physico-chimie.....	14
II-1-2) Propriétés pharmacocinétique	16
II-1-3) Complexation aux lipoprotéines du sérum sanguin	16
II-2) Les azolés.....	17
II-2-1) Propriétés physico-chimiques :	17
II-2-2) Propriétés pharmacocinétique	17
II-2-3) Interaction.....	17
II-3) Associations antifongiques.....	18

II-3-1)	Objectifs des associations et méthodes d'études	18
II-3-2)	Association polyènes/azolés.....	18
III)	Etude théorique et propriétés des complexes de cuivre	19
III-1)	La chimie du cuivre	19
III-2)	Utilisation du cuivre dans le système immunitaire.....	20
III-3)	Les complexes de cuivre avec des acides aminés	21
III-4)	Généralités sur les complexes à cuivre	22
III-5)	Les complexes de cuivre thérapeutiquement actifs en tant qu'agents anticancéreux, anti-inflammatoires et antimicrobiens	23
	CONCLUSION	25
	BIBLIOGRAPHIES	26

Abstract :

Fungal infections have become a concern. They are caused by fungi and are multifactorial in origin. Genital mycosis is caused by an imbalance in the genital flora and a decrease in immunity.

It becomes necessary to look for drugs to fight against these infections by suppressing or inhibiting them at best. These drugs are called antifungals.

There are several types of antifungals such as polyenes, azoles, echinocandins, pyrimides and essential oil. In this work we studied polyenic and nitrogenous antifungals. First, we sought to understand the modes of action of each:

- polyenes that are structured by a hydrophobic part and a hydrophilic part are acid-alkaline at physiological pH which confers on these antifungals an amphoteric character.
- Azoles that are structured by a nitrogenous nucleus are generally lipophilic.

In order to deal with resistance to antifungals, the antifungal association is important. It is necessary to understand beforehand the toxicity related to each association but also to be able to estimate the efficacy of the association knowing that each antifungal association can have an antagonistic, synergistic or even an indifference.

Finally, the current interest in copper complexes comes from their potential use as antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory, antitumor and enzyme inhibitors. Copper is an essential trace element that participates in several biological processes. The fungicide action of copper has been evaluated on different types of microscopic fungi.

Résumé

Les infections fongiques sont devenues inquiétantes. Elles sont dues aux champignons et sont d'origine multifactorielle. Les mycoses génitales sont dues à un déséquilibre de la flore génitale et à une baisse de l'immunité.

Il devient nécessaire de rechercher les drogues permettant de lutter contre ces infections en les supprimant ou les inhibant aux mieux. Ces drogues sont appelées des antifongiques.

Il y a plusieurs types d'antifongiques tels que les polyènes, les azolés, les échinocandines, les pyrimidiques et l'huile essentielle. Dans ce travail nous avons étudié les antifongiques polyéniques et azolés. En cherchant premièrement à comprendre les modes d'actions de chacun :

Les polyènes ont un mode d'action fongicide

Les azolés ont un mode d'action fongistatique

Deuxièmement, la résistance aux antifongiques est classée en primaire, secondaire et clinique.

Troisièmement, les propriétés de ces ligands :

- les polyènes, qui sont structurés par une partie hydrophobe et une partie hydrophile, sont constitués de fonctions acido-basique au pH physiologique ce qui confère à ces antifongiques un caractère amphotère.
- Les azolés qui sont structurés par un noyau azolé, sont généralement lipophiles.

Dans le but de faire face à la résistance aux antifongiques, l'association antifongique s'avère importante. Il est nécessaire de comprendre au préalable la toxicité liée à chaque association mais aussi de pouvoir estimer l'efficacité de l'association sachant que chaque association antifongique peut avoir une action antagoniste, synergique ou même une indifférence.

En fin, l'intérêt actuel pour les complexes de cuivre vient de leur utilisation potentielle comme agent antimicrobien, antiviral, anti-inflammatoire, agents antitumoraux et inhibiteurs d'enzymes. Le cuivre est un oligo-élément essentiel qui participe à plusieurs processus biologiques. L'action fongicide du cuivre a été évaluée sur différents types de champignons microscopiques.

Introduction générale

La chimie de coordination constitue l'interligne entre la chimie inorganique et la chimie organique : les molécules organiques comme ligands et un ion inorganique comme élément central. Elle a connu un développement important, non seulement dans le domaine de la chimie structurale, des applications analytiques, mais en raison des propriétés biologiques ou thérapeutiques d'un certain nombre de complexes.

Les Bases de Schiff en métal de transition jouent un rôle essentiel, spécialement dans la médecine, les systèmes biologiques et les industries. Le champ de la médecine a été témoin d'une augmentation du nombre de complexes avec la valeur thérapeutique. Ces molécules sont connues pour être de bons chélateurs des métaux.

Les complexes du cuivre présentent des propriétés pharmacologiques très intéressantes, notamment antibactériennes, anticancéreuses et antifongiques.

Dans ce travail de mémoire, nous étudierons les propriétés antifongiques des complexes de cuivre. Nous essayerons d'abord de comprendre les propriétés antifongiques avec les ligands de polyènes, puis celles des azolés et enfin l'association antifongique.

I) Les thérapeutiques antifongiques

I-1) Généralités sur les Infections fongiques

Les champignons représentent les groupes les plus importants d'organismes et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes [1]. Ce sont des organismes eucaryotes dont les divisions impliquent des séquences mitotiques régulières. Les champignons sont des cryptogames à thalles (absence de fleurs et de grains), non chlorophyllien qui constitue le 5^{ème} règne fongique, le règne des mycètes [2]. On recense environ 250 000 espèces parmi lesquels 3 700 sont constamment rencontrés et environ 400 sont indexés en mycologie médicale [3]. Malheureusement ce chiffre est en constante augmentation car de plus en plus d'espèces considérées comme saprophytes deviennent capables de provoquer une infection à l'occasion de modifications générales ou locales du terrain de l'hôte [4].

Les infections fongiques sont dues à des micromycètes, levures et champignons filamenteux, capables de se développer à la température du corps humain. Une trentaine d'espèces de micromycètes est fréquemment isolée en pathologie humaine, responsables d'allergies ou d'infections superficielles bénignes, d'infections sévères invasives ou chroniques. Au niveau mondial, les infections fongiques sont responsables de plus de décès que la tuberculose ou le paludisme [5].

On estime actuellement que les infections fongiques représentent 5 à 10 % des pathologies infectieuses dans les pays développés. La fréquence des infections par les champignons s'est considérablement accrue au cours des dernières décennies, en particulier du fait de l'évolution continue des pratiques médico-chirurgicales. Cette évolution des pratiques est paradoxalement associée à une augmentation de facteurs de risque d'infections opportunistes, de par leur caractère invasif : interventions chirurgicales, poses de cathéters ou de prothèses, traitements immunosuppresseurs, chimiothérapies anticancéreuses ou antibiothérapies à large spectre. Des facteurs physiopathologiques et environnementaux contribuent également à la survenue d'infections fongiques : âges extrêmes, pathologies du système immunitaire, infections préexistantes, cancers, pathologies hématologiques, dénutrition ou encore travaux de rénovation des infrastructures hospitalières. Les infections fongiques sont de ce fait majoritairement des infections opportunistes, consécutives à un ou plusieurs de ces facteurs de risque. Elles sont une cause majeure de morbidité et de mortalité. Parmi les agents pathogènes les plus fréquents, on retrouve des levures (*Candida*, *Cryptococcus*, etc.) et des champignons filamenteux (*Aspergillus*, *Mucorales*, etc.) [6].

Les champignons filamenteux sont ubiquitaires et présents sur les plantes et dans la terre ; ils sont donc fréquemment retrouvés dans les kératomycoses post traumatisme sur cornée saine. Les levures, également très répandues dans l'environnement, sont saprophytes de la peau et des muqueuses ; elles infectent en général des cornées déjà pathologiques [7].

Les mycoses sont des infections opportunistes dont il faut absolument rechercher les facteurs favorisants et les supprimer afin d'éviter au mieux les récidives [8].

Chez les champignons microscopiques, le thalle peut être unicellulaire ou pluricellulaire.

Leur cellule est entourée d'une membrane plasmique, riche en ergostérol, protégée par une paroi rigide et épaisse formée de 3 couches :

- La couche interne, constituée de chitine, assure le maintien et la rigidité de la paroi ;
- La couche intermédiaire, constituée de beta (1,3)-glucane, qui confère une certaine élasticité à la paroi, est aussi le lieu d'ancrage des mannoprotéines ;
- La couche externe, constituée de mannoprotéines ;

L'ergostérol est un constituant lipidique essentiel de la membrane cellulaire des champignons, son équivalent chez les mammifères étant le cholestérol. Pour cette raison, sa voie de biosynthèse comporte des étapes spécifiques au règne des champignons, qui sont donc des cibles de choix pour la conception de molécules antifongiques [9].

En mycologie médicale, les champignons sont classés en trois grands groupes distincts, selon des critères morphologiques.

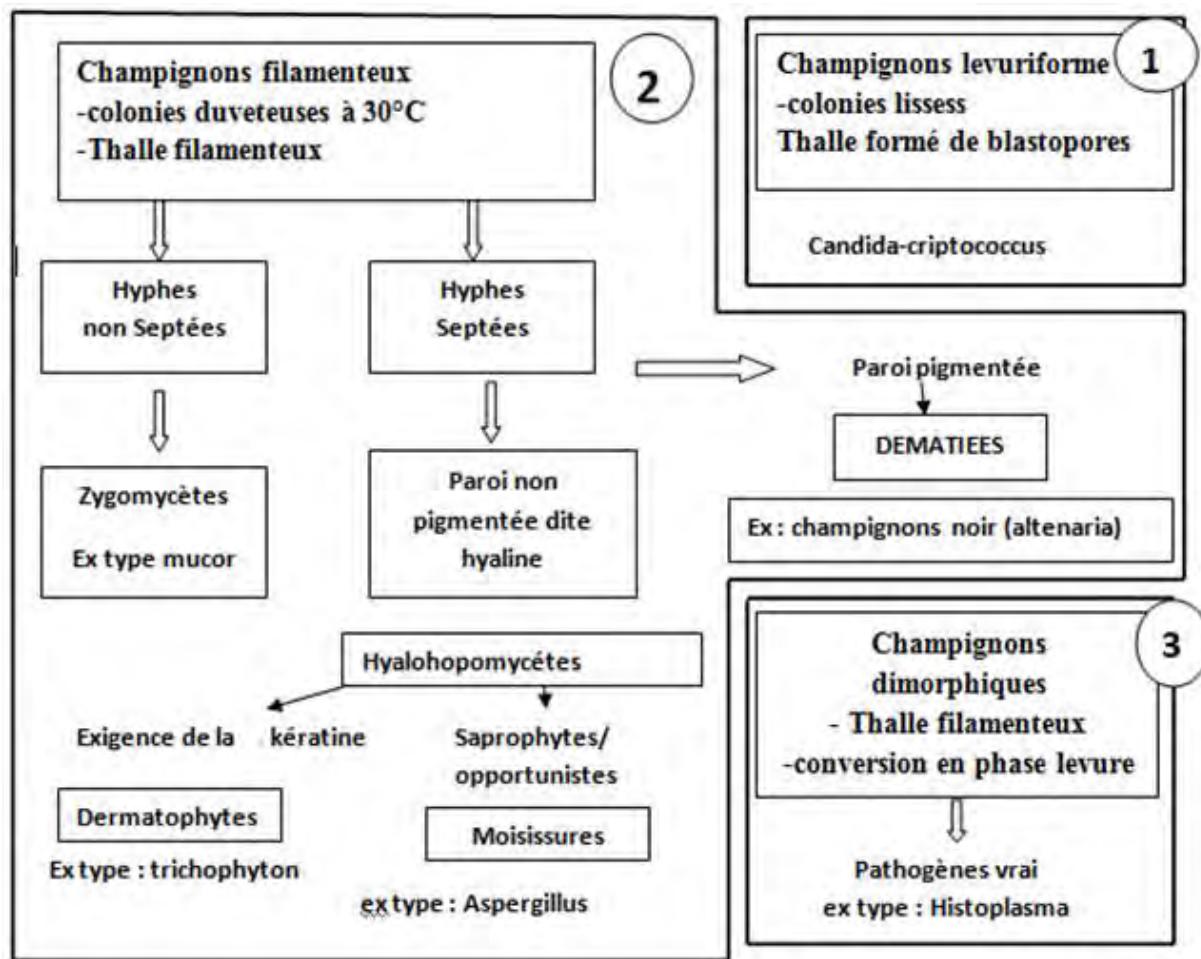


Figure 1 : Présentation des trois groupes de micromycètes d'intérêt médical [10].

Ces champignons peuvent être:

- Des champignons levuriformes: dont le thalle est la plupart du temps réduit à un élément unicellulaire dénommé blastopore. Ce groupe est important médicalement puisqu'il renferme un grand nombre d'espèces responsables de mycoses humaines.
- Des champignons filamenteux : dont le thalle est constitué de filaments ou mycélium.
- Des champignons dimorphiques : Ce sont des champignons exotiques adaptés au parasitisme, et qui se présentent sous deux morphologies différentes :
 - Une forme parasitaire levure que l'on trouve dans les organes des malades et en culture sur gélose au sang à 37°C
 - Une forme saprophytique filamentuse obtenue en culture sur les milieux usuels d'isolement et dans le milieu extérieur.

Et enfin le nouveau groupe affilié au mycètes qui est celui des Pneumocystidaceae :

«Pneumocystis jiroveci» : c'est un champignon cosmopolite, et très ubiquitaire à tropisme quasi exclusivement pulmonaire, responsable de la pneumocystose, la plus fréquente des infections opportunistes au cours du Sida dans le monde [11].

Un exemple d'infection fongique liée au *Candida albicans*



Figure 2 : Mycoses cutanées [12].

I-2) Définition d'un antifongique

Les antifongiques sont des substances chimiques produites par des micro-organismes naturels ou par synthèse chimique des molécules dérivantes des composés naturels. Ces médicaments sont utilisés pour lutter contre des mycoses qui sont des infections microscopiques. En effet, leur mécanisme est basé sur la connaissance de la composition de la paroi cellulaire et de la membrane cytoplasmique des gènes fongiques. Ces deux éléments cellulaires jouent un rôle important dans la perméabilité aux antifongiques. Ainsi dans la constitution des médicaments antifongiques, il faut tenir compte de l'hydrosolubilité et de la liposolubilité. Par ailleurs, en fonction de la localisation et de la gravité de la mycose, on utilise des antifongiques à usage systémique (sous forme de comprimés, d'ovule) ou de perfusions intraveineuses (en milieu hospitalier). Toutefois, il ne faut pas aussi sous-estimer les difficultés qui précèdent le développement d'une molécule antifongique. Ces difficultés sont liées aux champignons eux-mêmes, au terrain qu'ils envahissent et aux agents antifongiques.

Alors la conception de la triade classique de l'infection (parasite-hôte-antifongique) est d'une importance particulière en chimiothérapie des mycoses. Par ailleurs, les antifongiques sont pour la plupart toxiques. En effet, la structure déjà évoluée de la cellule fongique, la rapprochant de la cellule des mammifères explique la toxicité de nombreux antifongiques pour l'organisme de l'hôte. La plupart des antifongiques actuels ont une action aux doses thérapeutiques usuelles et fongistiques.

I-2-1) Les différentes familles d'antifongiques

Il existe pratiquement quatre grandes classes antifongiques, que sont :

- Les polyènes : troublent la perméabilité membranaire
(Amphotéricine B et Nystatine)
- Azolés : Inhibition des synthèses protéiques
(Fluconazole , itriconazole, voriconazole, posaconazole, isavuconazole)
- Echinocandines : altération de la structure de la paroi fongique
(Caspofungine, mycafungine, anudilafungine)
- Les pyrimidiques : Inhibiteurs de la biosynthèse des acides nucléiques (ADN, ARN)
(5 fluorocytosine) [13].

Cibles antifongiques

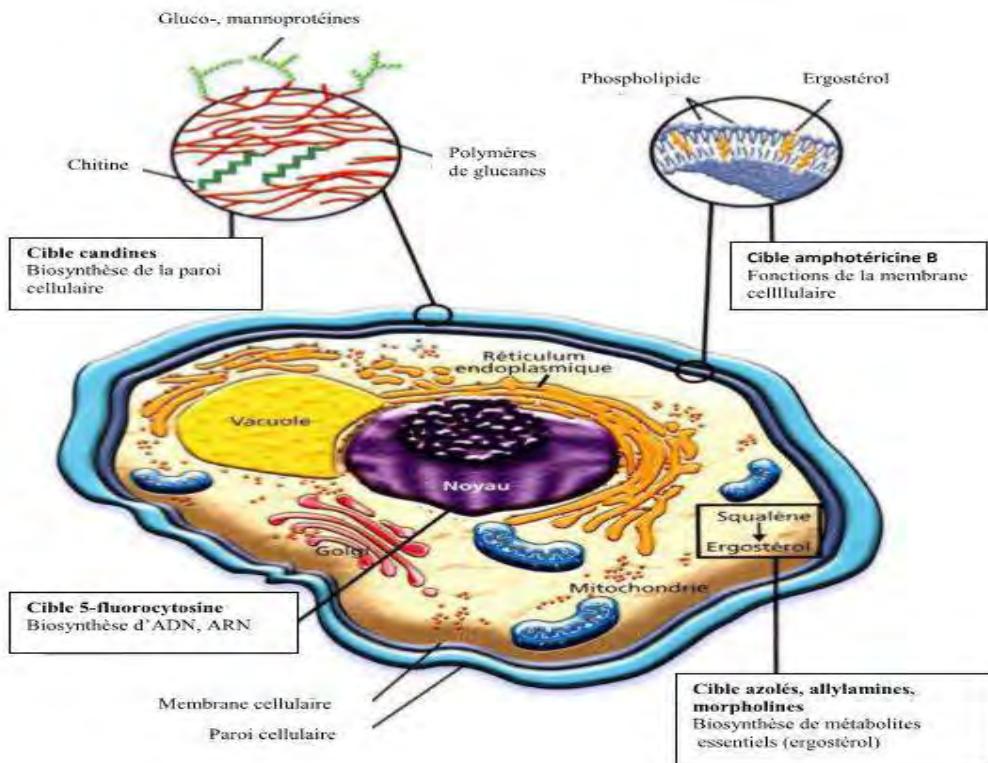


Figure 3 Des Antifongiques et leurs principales cibles [14].

I-2-2) Antifongiques polyéniques

Les polyènes sont issus des sécrétions de Streptomyces ; l'amphotéricine B et la nystatine sont les polyènes les plus couramment utilisés. Les polyènes présentent un large spectre d'action. L'amphotéricine B est active sur certaines moisissures (*Aspergillus*) et quelques protozoaires (cryptococcose, leishmaniose) [15].

I-2-3) Antifongiques azolés

Les azolés sont les médicaments de première intention pour traiter une infection fongique. Ce sont des substances entièrement synthétiques. La présence d'un noyau triazolé permet d'augmenter la spécificité d'action de l'antifongique. Les imidazolés sont bien absorbés par voie orale mais ils sont hépatotoxiques. De plus, ils interagissent avec de nombreux autres médicaments ce qui rend leur utilisation limitée. Les triazolés présentent une meilleure tolérance. Les azolés sont des antifongiques à large spectre d'action [16].

I-3) Structure des antifongiques

I-3-1) Structure des polyènes

Ces molécules sont caractérisées par un groupe chromophore formé de doubles liaisons conjuguées ($\text{CH} = \text{CH}\text{N}$, d'où le nom de polyènes. Elles ont en outre un grand anneau lactone macrocyclique et sont parfois dénommés, pour cette raison, macrolides polyéniques. La partie active de ces composés est l'anneau macrolide, avec une partie rigide lipophile et une partie flexible hydrophile. En outre, elles sont caractérisées par un spectre d'absorption aux ultraviolets (UV). D'après leurs spectres, on distingue :

- Les tétraènes : Nystatine
- Les heptaènes : Amphotéricine B [17].

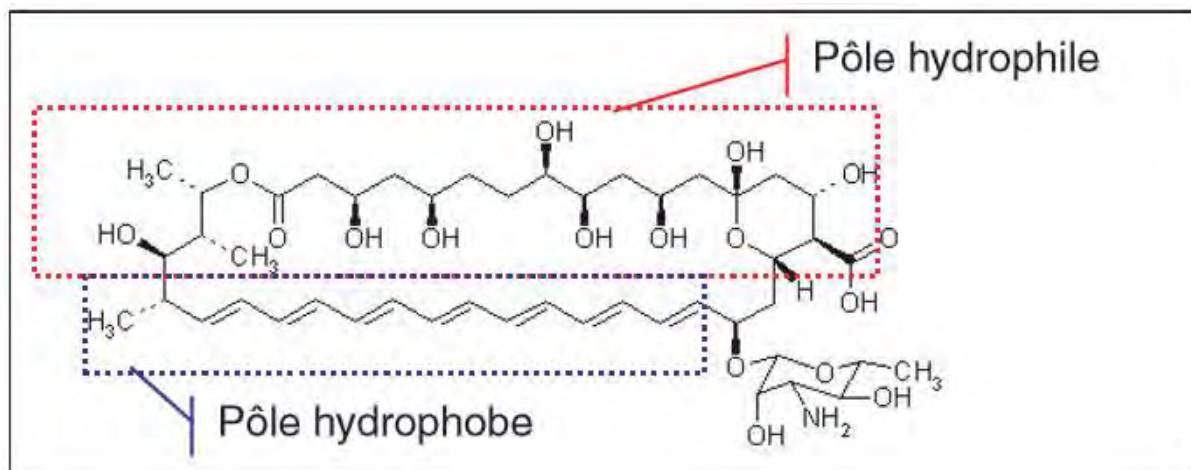


Figure 4 : Structure de l'amphotéricine B [18].

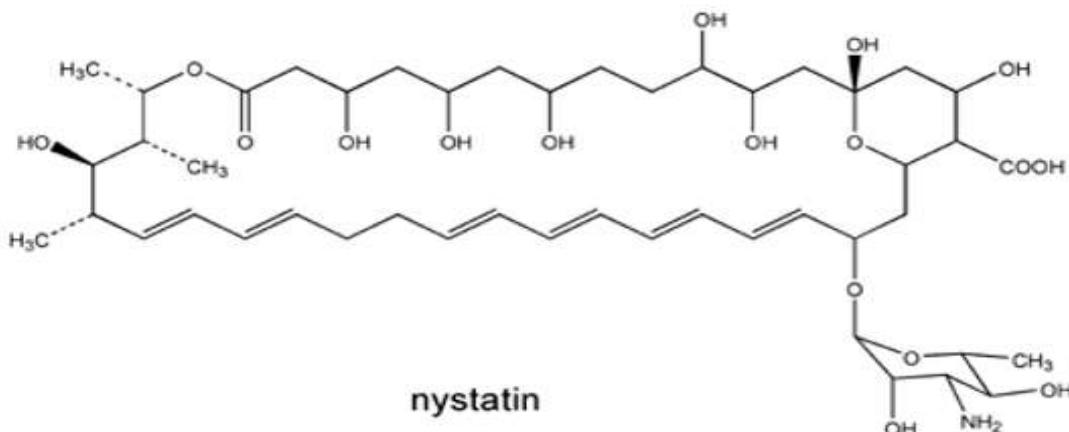


Figure 5 Structure de la nystine [19].

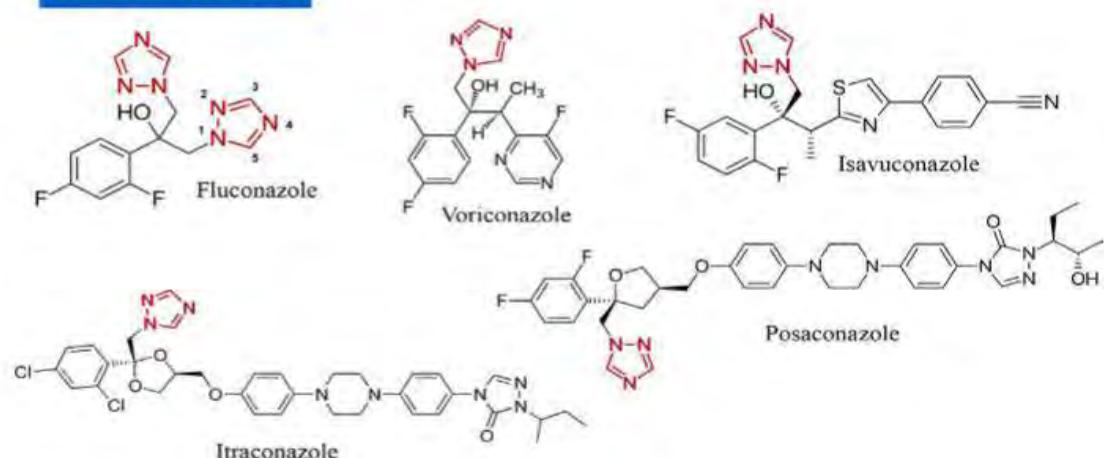
I-3-2) Structure des azolés

Les azolés sont des molécules synthétiques. Ils comprennent dans leur structure un imidazole ou un groupe triazolé.

Ils se caractérisent par leur noyau azolé, celui-ci peut contenir :

- 2 atomes d'azotes : ce sont les imidazolés (miconazole, kéroconazole...) ou
- 3 atomes d'azotes : ce sont les triazolés (itraconazole, fluconazole, voriconazole...) [20].

A. Triazolés



B. Imidazolés

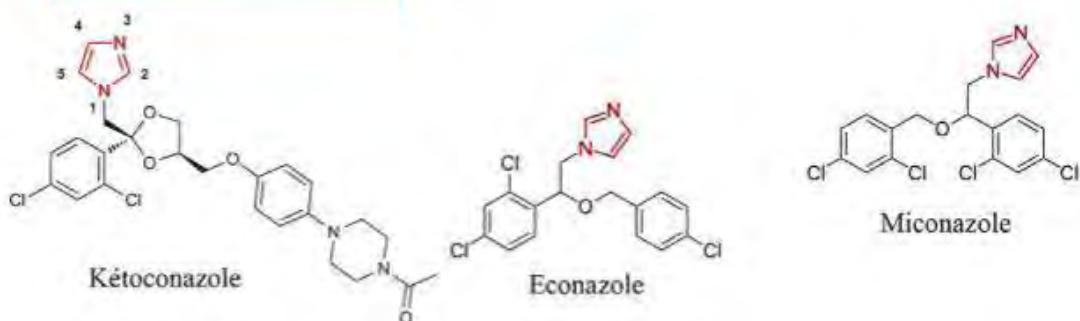


Figure 6 structure des triazolés A et azolés B [21].

I-4) Modes d'action des antifongiques

I-4-1) Les polyènes

La cible est la membrane fongique, au sein de laquelle les polyènes se fixent aux molécules d'ergostérol par leur pôle lipophile, et permettent par association des canaux transmembranaires aux ions K^+ de quitter le milieu intracellulaire pour le milieu extracellulaire, entraînant au final la mort cellulaire par déplétion potassique et fuite du matériel intracellulaire. On parle donc d'antifongique fongicide [22].

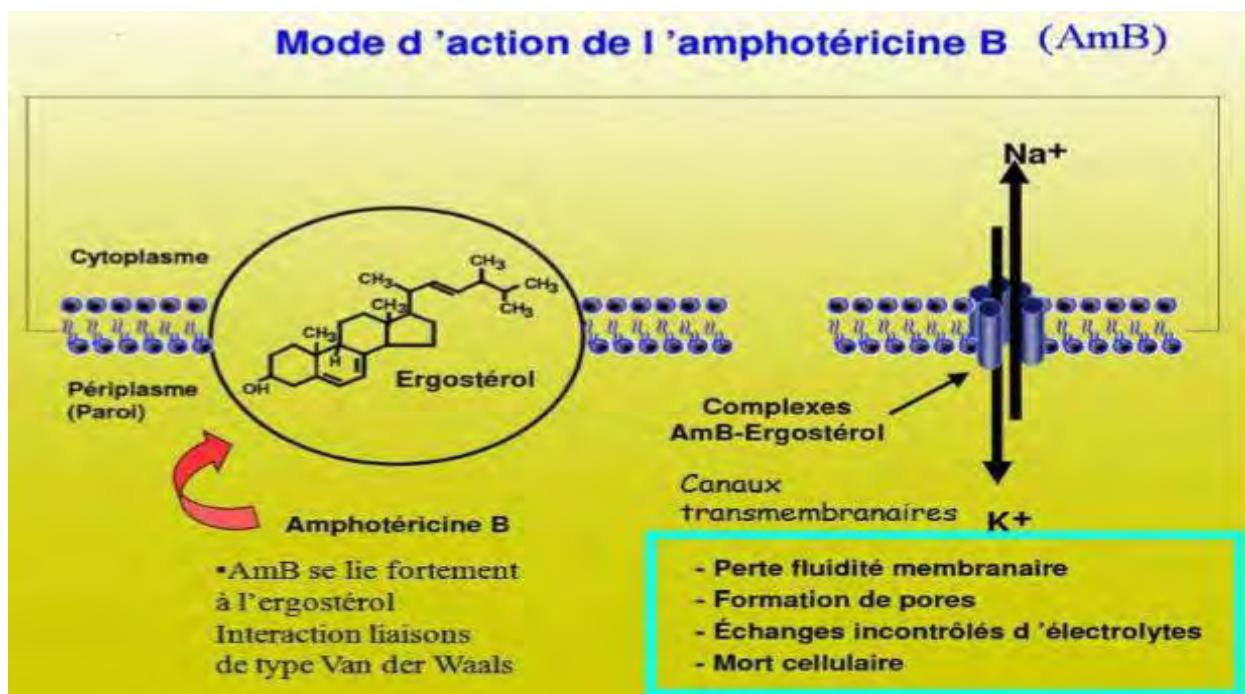


Figure 7 : mode d'action de l'amphotéricine B [23].

I-4-2) Les azolés:

L'activité thérapeutique des azolés est fongistatique, elle résulte de l'inhibition du CYP450 fongique (CYP51) qui catalyse la déméthylation du 14- α -lanostérol, phase essentielle de la biosynthèse de l'ergostérol fongique (figure 8). Cette inhibition entraîne une accumulation de 14- α -méthylstérol associée à une diminution de l'ergostérol dans la membrane cellulaire fongique qui conduit à une inhibition de la croissance fongique.

De plus, au niveau cellulaire, l'accumulation de lanostérol altère la perméabilité membranaire, la chaîne respiratoire ainsi que la synthèse de chitine provoquant la mort du champignon. Les azolés ont montré une plus grande sélectivité pour les enzymes du CYP450 fongiques que pour les autres systèmes enzymatiques du CYP450 mammifères.

Sur le plan moléculaire, un des atomes d'azote (le N-3 chez les imidazolés et le N-4 chez les triazolés) se lie à l'atome de fer de l'hème situé au niveau du site actif du CYP51 fongique, inhibant de manière irréversible l'activité de ce cytochrome. Certains azolés présentent un mode d'action complémentaire, susceptible d'élargir leur spectre d'action : le voriconazole possède par exemple une activité 24-méthylène-dihydrolanostérol déméthylase sur certaines levures/filamenteux et l'itraconazole un pouvoir inhibiteur de la chitine synthase chez les levures. On observe cependant une augmentation croissante d'échecs [24].

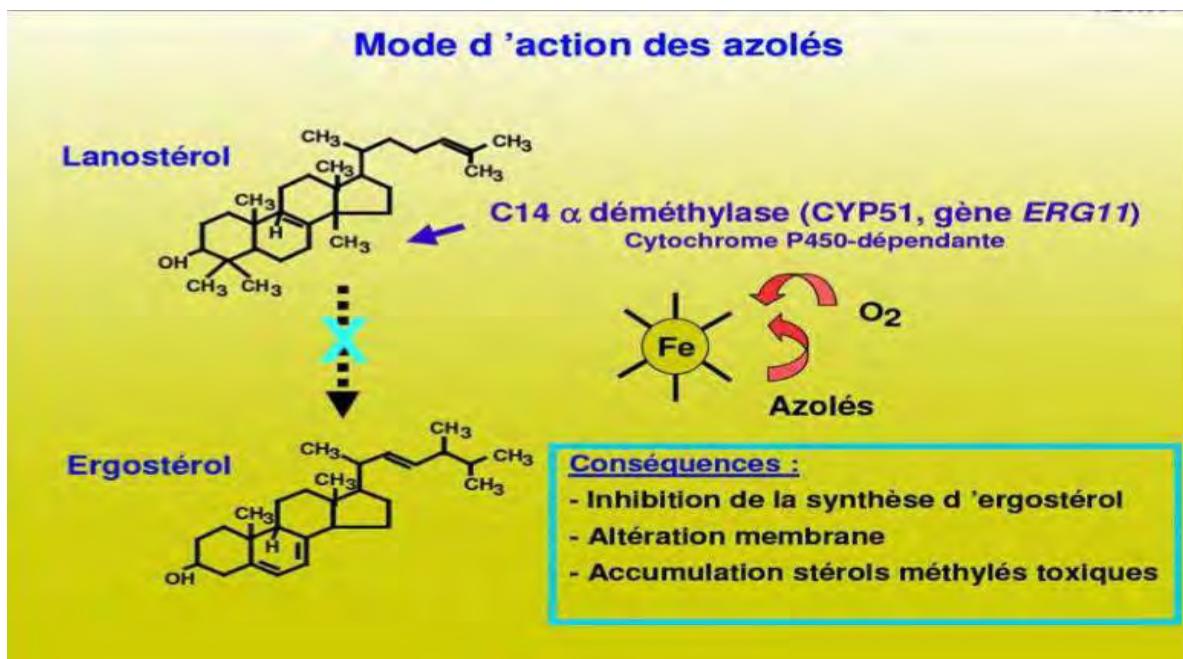


Figure 8 Mécanisme d'action des azolés [25].

I-5) Résistance aux Antifongiques :

I-5-1) Définition :

La résistance aux antifongiques est un concept large, pour décrire un organisme dont l'infection progresse malgré un traitement antifongique adapté.

L'étude des résistances au cours des infections fongiques est très complexe. Les tests de sensibilité sont encore sujets à discussion et de nombreux autres facteurs liés au champignon, au patient et à la molécule jouent un rôle fondamental dans la réponse thérapeutique. Cette résistance peut être classée en primaire, secondaire et clinique.

- **La résistance primaire ou intrinsèque:**

Elle fait intervenir les caractéristiques génétiques et biochimiques d'une espèce de champignon.

Elle se réfère à la sensibilité naturelle à un antifongique. Ce niveau inné de sensibilité est indépendant de l'exposition à la molécule.

- **La résistance secondaire ou acquise :**

Elle survient seulement après exposition de l'organisme à la drogue.

Deux types de situations peuvent se produire :

- soit l'espèce fongique de colonisation ou d'infection est initialement sensible et devient résistante sous traitement par mutation génotypique
- soit le patient est colonisé ou infecté par de multiples souches ou espèces, avec sélection sous l'effet du traitement d'une espèce ou souche intrinsèquement résistante à l'antifongique.

- **La résistance clinique :**

Ce type de résistance correspond à la progression ou à la rechute d'une infection par un isolat qui reste sensible à la drogue antifongique prescrite, sur les tests de laboratoire.

Elle est souvent liée à des facteurs de risque dépendants du patient.

I-5-2)

Les facteurs de risque de résistance :

L'identification des facteurs de risque contribuant à la résistance aux antifongiques est un problème complexe compte tenu de l'intrication de facteurs liés au patient, à la drogue et au champignon, qui peuvent intervenir dans l'échec thérapeutique ou la rechute de l'infection [26].

I-5-3)

Résistance aux polyènes

C. guillermondi et *C. lusitaniae* présentent une résistance naturelle aux polyènes. Certaines souches notamment de *C. albicans* et *C. neoformans* peuvent développer des résistances aux polyènes : ces levures ne synthétisent plus d'ergostérol, l'ergostérol n'entre plus dans la composition de leur paroi ce qui rend donc les polyènes inactifs. La disparition d'ergostérol

résulte de l'absence d'une enzyme désaturase (codée par le gène ERG3) pour *C. albicans* et d'une enzyme isomérase (codée par le gène ERG3) pour *C. neoformans*. Ces enzymes sont nécessaires à la biosynthèse du stérol ; l'enzyme n'étant plus fonctionnelle à cause d'une mutation du gène codant pour celle-ci.

I-5-3-1) Spectre d'action et indications :

Les polyènes sont actifs sur les champignons du genre *Candida* et du genre *Aspergillus*. Les formes à administration parentérale sont indiquées en cas de candidose ou d'aspergillose invasive. L'amphotéricine est également utilisée comme antiparasitaire en cas de leishmaniose. L'amphotéricine B et la nystatine ne sont pas absorbées par voie orale, lorsqu'elles sont administrées par voie orale, elles exercent une action uniquement sur les muqueuses digestives. La nystatine ne peut être utilisée que par voie orale ou en usage local, celle-ci étant toxique par voie parentérale [27].

I-5-4) Résistance aux azolés

Il existe différents types de résistance aux antifongiques : la résistance intrinsèque ou résistance naturelle des champignons aux antifongiques et la résistance acquise. La résistance acquise est une résistance qui s'acquierte au fil du temps par les champignons lors d'utilisations répétées d'antifongiques. Quelques espèces de levures présentent une résistance naturelle à des azolés spécifiques. Par exemple, *Candida krusei* présente une résistance au fluconazole. Au niveau des résistances acquises aux azolés, 3 mécanismes de résistances principaux ont été décrit. Les levures peuvent altérer le mécanisme de transport des azolés, modifier la protéine cible des azolés par mutation du gène codant ERG11 ou encore altérer la composition de leurs stérols membranaires.

- Altérations du transport des azolés :

La protéine ERG11, cible des antifongiques azolés, est une protéine intracellulaire. Les azolés doivent donc pénétrer dans le milieu intracellulaire pour être actif. La pénétration dans la cellule fongique se fait par diffusion passive. Cependant, des systèmes de flux sortants actifs empêchent la pénétration des azolés dans la cellule. On distingue 2 familles de transporteurs : les transporteurs de type ABC (ATP-binding cassette) et les transporteurs MF (major facilitator). Dans les cellules fongiques résistantes aux azolés, les gènes des transporteurs sont surexprimés.

- **Mutation du gène ERG11, gène codant pour la protéine cible des azolés :**

Les mutations du gène ERG11 peuvent avoir pour conséquence une réduction de l'affinité entre la protéine ERG11 et les azolés d'où une diminution de la sensibilité du champignon aux azolés. Les mutations du gène ERG11 peuvent également induire une modification de la structure tridimensionnelle de la protéine enzymatique empêchant l'accès de l'antifongique au site actif de l'enzyme. Le gène ERG11 peut également être surexprimé et induire une résistance aux azolés.

- **Altération dans la composition des stérols :**

Les Candidas modifient la voie de biosynthèse de l'ergostérol par certaines mutations. Ces mutations peuvent par exemple empêcher la formation de métabolites toxiques à partir de stérols méthylés et les levures acquièrent ainsi une résistance aux azolés [28].

- **Autres mécanismes de résistance : la formation de biofilm**

La formation de biofilm, assemblage structuré de cellules fongiques adhérentes à une surface et adhérente entre elles, leur permet de résister aux antifongiques azolés. Les cellules fongiques du biofilm forment alors un réseau très dense de filaments et de matériaux extracellulaires ; le biofilm forme alors une barrière physique qui les protège des antifongiques. Les biofilms peuvent se former à la fois sur les tissus biologiques et sur les surfaces synthétiques [29].

II) Etude théorique et propriétés des ligands

II-1) Les polyènes

II-1-1) Propriétés physico-chimie

L'amphotéricine B est une macrolactone (47 atomes de carbone) formée de :

- Une partie apolaire hydrophobe, essentiellement constituée d'un système rigide, sept doubles liaisons conjuguées en configuration trans.
- Une partie polaire hydrophile, caractérisée par un nombre important de groupe hydroxyle et d'une mycosamine.

La présence de ces groupements hydroxyle polaires et celle des doubles liaisons apolaire confèrent à l'amphotericine B la propriété chimique amphiphile, qui limite considérablement sa solubilité en phase aqueuse.

La rigidité de la chaîne polyénique impose au macrocycle une forme allongée en bâtonnet.

La présence des doubles liaisons conjuguées est responsable d'un intense spectre d'absorption ultraviolet dans les régions 400-280nm, ce qui permet de les étudier par spectroscopie.

De plus, la présence de deux groupements acido-basiques (COOH et NH_2) tous deux chargés au pH physiologique confère à cette drogue un caractère amphotère. Le pKa des fonctions COOH et NH_2 sont respectivement 5.7 et 10. [30]

Les nouveaux dérivés de l'amphotéricine B sont préparés à partir des modifications chimiques de ces groupements [31]. Elle se présente sous forme de poudre jaune, insoluble dans l'eau mais soluble dans les solvants organiques tel que le diméthyl sulfoxyde DMSO, diméthyl formamide DMF et peu soluble dans les alcools.

En milieu aqueux l'amphotéricine B est instable à la lumière, à l'oxygène, aux fortes températures et aux pH extrêmes. Son association au désoxycholate de sodium permet une préparation soluble dans l'eau ou le sérum glucosé sous forme colloïdale faite de micelle [32]. En solution aqueuse, l'amphotéricine B se répartit schématiquement en trois états :

Une forme agrégée responsable de la toxicité, une forme oligomère (essentiellement dimère) douée d'une moindre toxicité et une forme monomérique peu毒ique responsable de l'activité antifongique. L'équilibre entre ces trois formes n'est pas figé. Il varie selon la concentration de l'amphotéricine B et le solvant. Nous comprenons alors l'importance du choix de solubilisation pour réduire la proportion de la forme toxique d'amphotéricine B, en se rappelant que cette molécule est amphotère. L'amélioration de la sélectivité de l'action de l'amphotéricine B en solution lipidique sera donnée en fonction du ou des lipides support [33]. L'observation comme quoi que l'amphotéricine B avait une action sélective maximale vis-à-vis des anions quand ils étaient présents dans les deux côtés de la membrane lipidique et l'existence d'un groupement OH en C35 a suggéré que 2 demi-pores pouvaient se superposer au sein de la membrane par des liaisons hydrogène [34].

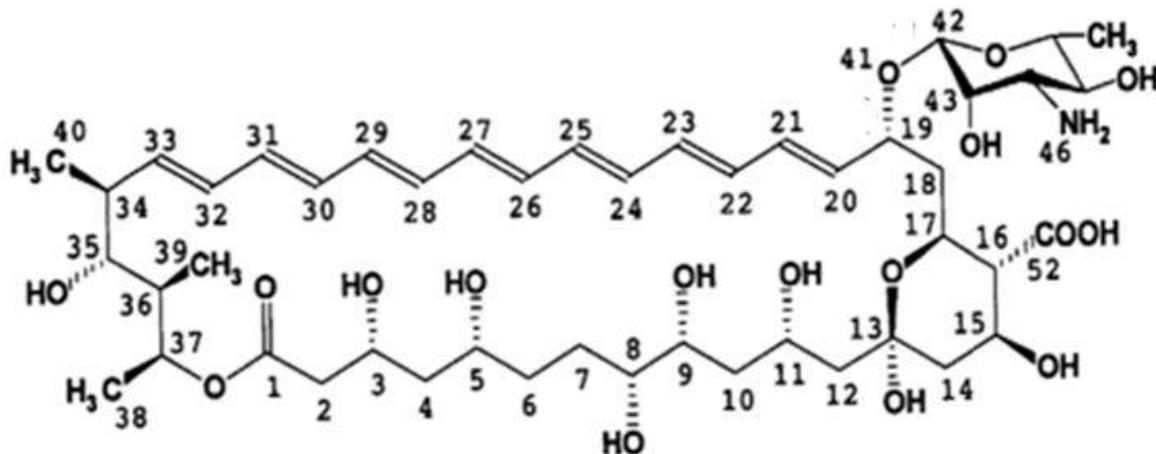


Figure 9 structure de l'amphotéricine B [35].

II-1-2) Propriétés pharmacocinétique

L'amphotéricine B ne franchit pas la barrière intestinale même à des doses élevées. Elle se lie fortement aux protéines plasmatiques (91 à 95%) après administration par voie intraveineuse et est largement distribuée dans les tissus avec un volume de l'ordre de 4 l/kg. La liaison aux protéines sériques et aux lipoprotéines sériques est très élevée. Il en est de même pour les lipoprotéines des membranes cellulaires. L'AmB se lie au cholestérol dans l'organisme, avec une affinité dix fois plus faible que pour la liaison à l'ergostérol fongique. Ainsi, plus de 90 % de la molécule est sous forme liée dans l'organisme. Pour cette raison, l'AmB n'est pas dialysable ; toutefois, une forte hyperlipidémie peut par rétention sur le filtre de dialyse, servir de substrat à l'AmB, qui est donc partiellement retenue. La concentration plasmatique maximale est de 1,5 à 2 mg/l. Sa demi-vie plasmatique de 24 à 48 heures, mais sa demi-vie d'élimination est proche de 15 jours. La distribution du médicament est tricompartmentale (un compartiment central vasculaire, un compartiment périphérique s'équilibrant rapidement avec la précédente, un troisième compartiment d'équilibration lente) [36].

II-1-3) Complexation aux lipoprotéines du sérum sanguin

Les études in vitro sur les cellules rénales en cultures, sur le globule rouge et in vivo chez des souris, mettent en évidence l'effet protecteur des lipoprotéines sériques contre l'effet toxique de l'amphotéricine B. Ce sont les lipoprotéines lourdes qui protègent le globule rouge mieux que les lipoprotéines légères.

Ces lipoprotéines protègent le globule rouge jusqu'à des concentrations élevées de l'amphotéricine B.

II-2) Les azolés

II-2-1) Propriétés physico-chimiques :

Il s'agit de poudres pratiquement insolubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques: polyéthylène glycol, alcool, chloroforme, diméthylformamide, diméthylsulfoxique. Elles sont hygroscopiques et se conservent plus d'un an à +4°C. [37] Ces molécules azolées sont généralement lipophiles. Leur biodisponibilité est majoritairement élevée et majorée par la prise au cours du repas pour l'itraconazole et le posaconazole. L'augmentation de la dose unitaire permet de saturer l'effet de premier passage hépatique (EPPH). Par ailleurs, leur liaison aux protéines plasmatiques est proche de 100% ce qui implique que les azolés ne sont pas dialysables. Tous les azolés hormis le fluconazole sont sujets à une variabilité individuelle nécessitant des dosages sériques [38].

II-2-2) Propriétés pharmacocinétique

Les antifongiques azolés à usage systémique possèdent une variabilité pharmacocinétique intra- et interindividuelle importante. Leurs propriétés physicochimiques, leur mode d'élimination et leur spectre d'action variable en font une classe thérapeutique hétérogène. Une dose de charge peut être utilisée pour certaines molécules du fait d'une demi-vie d'élimination généralement importante. La demi vie varie de 24 à 48h. [39].

Après leur administration, les concentrations plasmatiques de dérivés azolés sont détectables plusieurs heures. Ils diffusent aisément dans l'urine, la salive, le sébum, le cérumen, le liquide articulaire. De récentes études indiquent qu'ils pourraient également se répandre dans le liquide céphalorachidien (LCR).

L'élimination de ces molécules est bi-phasique : elles sont métabolisées par le foie puis les métabolites sont éliminés par le rein [40].

II-2-3) Interaction

On parle d'interaction médicamenteuse lorsque l'administration simultanée de deux médicaments, ou plus, conduit à potentialiser ou à opposer les effets désirés ou indésirables d'au moins un de ces médicaments. Certaines interactions médicamenteuses ont des conséquences cliniques graves. D'autres n'ont que des effets anodins [41].

II-3) Associations antifongiques

II-3-1) Objectifs des associations et méthodes d'études

Les objectifs des associations antifongiques sont multiples:

- l'élargissement du spectre pour couvrir des champignons intrinsèquement résistants ou de sensibilité diminuée aux antifongiques;
- l'augmentation de l'efficacité, par l'utilisation de modes d'actions ou propriétés pharmacocinétiques différents, ou par le biais de l'augmentation de la pénétration ou l'inhibition de la sortie d'une substance par une autre;
- la prévention de l'émergence de résistances sous traitement.

Cependant, les inconvénients des associations sont nombreux: cumul des toxicités de plusieurs classes médicamenteuses, majoration des interactions médicamenteuses, risques d'antagonisme *in vivo*, coût élevé. La standardisation des techniques d'études des associations antifongiques au laboratoire permet d'établir des corrélations *in vitro* *in vivo*, même si celles-ci sont encore mal évaluées. L'apport des modèles animaux est essentiel dans l'évaluation des associations, mais leurs limites sont nombreuses, et il est souvent difficile d'extrapoler des résultats de l'animal à l'homme.

II-3-2) Association polyènes/azolés

Il existe un antagonisme théorique entre les deux classes, les azolés inhibant la synthèse du substrat sur lequel se fixent les polyènes. L'utilisation préalable d'AmB donnerait une indifférence ou une synergie avec les azolés et celle préalable d'azolés antagoniserait l'AmB. Les études *in vitro* retrouvent en fait soit une indifférence, soit un antagonisme, soit une synergie. Dans les modèles expérimentaux, l'association AmB plus voriconazole est bénéfique, tandis que l'association ravuconazole plus AmB est délétère. Chez l'homme, en première ligne, l'association AmB plus itraconazole a été comparée rétrospectivement à l'AmB seule. Les taux de guérison et de survie étaient supérieurs en bithérapie, mais avec des effectifs très faibles. Une autre étude, sur des patients traités en association, ne retrouve pas de bénéfice de l'association itraconazole plus l'amphotéricine B par rapport à l'amphotéricine B seule [42].

III) Etude théorique et propriétés des complexes de cuivre

III-1) La chimie du cuivre

La recherche en chimie du cuivre et en synthèse de médicaments est dominée par les composés utilisant les états d'oxydation les plus courants [43]. Le cuivre possède trois états d'oxydation: Cu(I), Cu(II), Cu(III) et forme essentiellement deux types de composés : les composés cuivreux Cu(I) et cuivriques Cu(II). Les ions Cu(I) ont une configuration d^{10} et peuvent former des complexes avec des ligands présentant des caractéristiques de donneurs « mous », tels que ceux contenant des groupes thioéther S et des groupes azotés aromatiques [44]. Ces complexes ont tendance à présenter une géométrie linéaire, trigonale ou tétraédrique [45]. Les ions Cu(II) ont une configuration d^9 et des complexes avec une géométrie de coordination favorisent des géométries de 4 à 6 coordinées (plan-carré, bipyramidal trigonal et octaédrique) et permettent une grande variété de ligands de différentes denticités et tailles. Les ligands de Cu(II) sont favorisés vis-à-vis des donneurs N, O, S [46].

La stabilité des complexes de métaux divalents peut être prédite dans une certaine mesure en utilisant la série d'Irving-Williams (la stabilité des complexes suit presque l'ordre du tableau périodique : $Mn^{2+} < Fe^{2+} < Co^{2+} < Ni^{2+} < Cu^{2+} < Zn^{2+}$). Ainsi, Cu(II) est un bon choix de métal car les complexes seraient plus stables par rapport à d'autres espèces de métaux potentiels. La capacité du cuivre à assumer deux états d'oxydation, oxydé (Cu^{2+}) ou réduit (Cu^+), fournit le pouvoir redox permettant de conduire des réactions enzymatiques et coordiner avec des ensembles distincts préférés de ligands d'acides aminés pour une variété de structures de protéines. Par exemple, Cu^+ préfère les ligands riches en thiol et le Cu^{2+} est souvent associé à des ligands de l'azote ou de l'oxygène [47].

Bien que les ions de cuivre soient essentiels à la croissance et au développement normal des mammifères, il est probable que l'excès de cuivre s'engage dans une chimie redox qui génère des radicaux libres dommageables tels que des radicaux hydroxyles [48]. Ces revus sont exhaustives et mettent en évidence les possibilités thérapeutiques offertes par les complexes de cuivre en ce qui concerne l'hétérogénéité des ligands et la diversité des applications thérapeutiques.

Les protéines à cuivre sont impliquées dans divers processus biologiques et une déficience de ces enzymes ou une altération de leur activité provoque souvent des états pathologiques ou des conditions physiopathologiques [49].

Une protéine qui contient un ou plusieurs ions métalliques étroitement liés aux chaînes latérales d'acides aminés est appelée une métalloprotéine. Une métalloprotéine qui catalyse une réaction chimique est une métalloenzyme. Les peptides peuvent lier efficacement et spécifiquement certains ions métalliques. De plus, la possibilité d'avoir différents sites de liaison des métaux dans la séquence des peptides permet d'obtenir des complexes avec une grande variété de conformations en modifiant les contraintes énergétiques et stériques. La compréhension des éventuelles fonctions biologiques dépend de l'interaction entre les résidus de liaison du ligand et les ions métalliques. Les mécanismes moléculaires impliquent la liaison des ions métalliques avec des résidus spécifiques dans les protéines [50].

Dans les maladies associées au polymorphisme des nucléotides (les dSNP, disease-related single nucleotide polymorphism), le rôle des ions métalliques est directement lié à la maladie humaine et l'identification des résidus de liaison aux ions métalliques revêt une grande importance pour le développement de médicaments moléculaires destinés à leur traitement [51].

III-2 Utilisation du cuivre dans le système immunitaire

Récemment, il a été découvert que les ions cuivre sont impliqués dans la réponse immunitaire à une infection, et ce chez tous les mammifères. Lors d'une infection bactérienne par exemple, des facteurs pro-inflammatoires comme les lipopolysaccharides (LPS) de la membrane bactérienne vont avoir un effet sur les macrophages, en augmentant l'expression de la protéine importatrice de cuivre CTR1. Via des métallochaperonnes, les ions cuivre internalisés par le macrophage sont transportés jusqu'au phagosome contenant les bactéries. Les ions cuivre y sont alors libérés et vont induire la formation de ROS (Reactive oxygen species), délétères sur les microorganismes. Les ions cuivre sont donc utilisés par les macrophages afin d'augmenter leur capacité à détruire les microorganismes infectants [52].

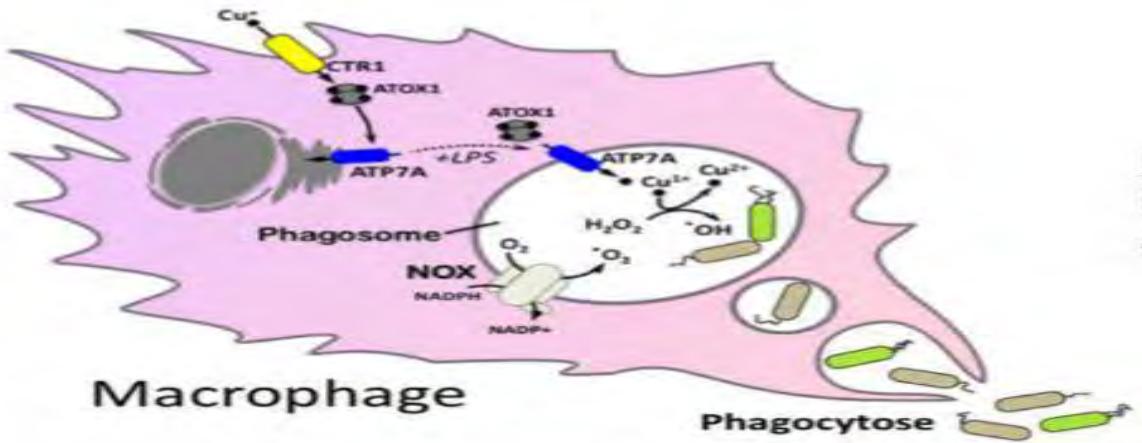


Figure 10 : Modèle d'élimination des bactéries induite par le cuivre chez les macrophages activés [53].

III-3) Les complexes de cuivre avec des acides aminés

Les fonctions d'une protéine sont déterminées à partir de ses acides aminés et dépendent de l'interaction avec les cofacteurs, de la liaison avec les ions métalliques et de l'interaction avec d'autres protéines [54]. Les complexes de métalacide aminé ont fait l'objet de nombreuses recherches expérimentales et théoriques au cours des dernières décennies en raison de leur capacité à imiter les sites actifs de divers systèmes bio-macromoléculaires. Ils sont donc apparus comme une approche fiable pour gagner de connaissance approfondie des propriétés structurelles et fonctionnelles des métalloprotéines et des métalloenzymes. De telles investigations sont plus simples et moins coûteuses que celles des macromolécules natives et permettent d'approfondir la compréhension de la nature fondamentale des interactions des ions métalliques avec les acides aminés ainsi que de leurs dérivés.

Assembler et exploiter les informations pertinentes concernant les interactions métalacide aminé devient également une nécessité de l'heure dans le domaine de la conception rationnelle des métalloprotéines [55] et de l'élargissement du spectre des propriétés des métalloprotéines conçues [56]. Le protéome de tous les organismes partage des ions métalliques et des cofacteurs de liaison des métaux pour remplir les fonctions essentielles. Il a été estimé qu'environ 30 % de toutes les protéines contiennent au moins un métal. Les nombreux ions métalliques qui se lient aux protéines sont respectivement les ions cuivre, fer, magnésium, manganèse et zinc. La série d'Irving Williams montre la tendance de l'affinité des différents ions métalliques pour la plupart des environnements protéiques [57].

Les ions métalliques sont généralement coordinés par les centres azotés, oxygénés ou soufrés des acides aminés. Ces centres peuvent être fournis par des groupes amine et carboxyle de la chaîne principale mais dans les protéines, la liaison du métal est réalisée par les chaînes latérales d'acides aminés [58].

Les complexes de cuivre(II) d'acides aminés et de peptides contenant les résidus chélateurs de bis (imidazolyle) ont été grandement passés en revue dans la littérature [59]. Les résultats révèlent que les analogues bis-imidazolyle sont des ligands très efficaces pour la liaison des métaux. Les atomes d'azote (donneurs d'électrons) de l'agent chélatant sont les principaux sites de liaison des métaux dans des conditions acides. Un grand nombre d'études réalisées sur des complexes de cuivre avec des acides aminés ont montré que la présence d'histidine dans les peptides améliore de manière significative la capacité de liaison des ligands au métal, dépendamment de la localisation des résidus histidyle dans la chaîne peptidique [60].

III-4) Généralités sur les complexes à cuivre

Dans un complexe, les interactions ne sont pas nécessairement covalentes comme il est souvent question en chimie organique. Un lien covalent est une liaison où chaque atome retient un électron mais un lien de coordination est une liaison dite « dative » où une paire d'électron partagée provient d'un seul atome. La théorie du champ cristallin permet d'organiser dans l'espace l'orientation des ligands. Pour cela, chaque ligand est considéré comme une charge ponctuelle. Idéalement, les électrons s'organisent autour de l'atome pour avoir des énergies équivalentes, or ce n'est pas le cas; certains peuvent être appariés, d'autres seuls et des orbitales peuvent être vides. Comme l'interaction avec un ligand peut être liante, non-liante ou antiliante, elle pourrait dépendre de l'organisation et l'orientation des orbitales. La façon dont le ligand approche le métal peut aussi avoir un impact sur le type d'interaction. La plupart du temps, les orbitales sont inégalement peuplées et le champ cristallin des métaux du bloc d' adoptera une symétrie octaédrique déformé. Dans ce type de symétrie, certaines interactions sont plus répulsives et les longueurs des liaisons métal-ligand seront variables.

Dans un complexe idéal, les ligands sont tous à la même distance. La densité électronique autour du cuivre n'est pas homogène par la présence des électrons de la couche, ce qui dégénère les niveaux énergétiques et donne lieu à la géométrie octahédrique déformée où les ligands axiaux sont plus distants. Comme le cuivre est à champ faible, il préfère avoir des ligands moins fortement liés que de prier ses électrons [61].

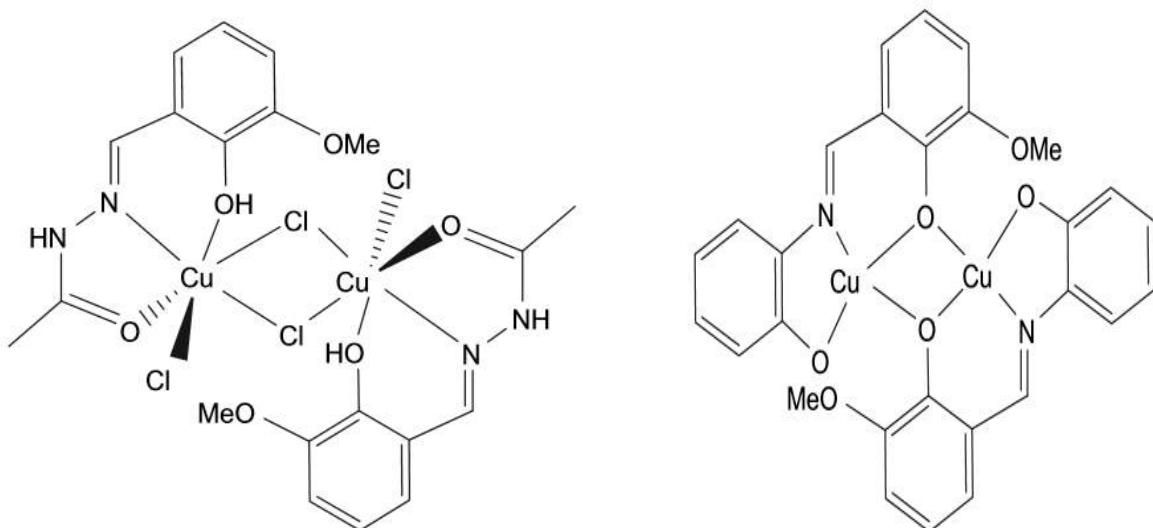


Figure 11 exemples de complexes de cuivre [62].

Le cuivre, de nombre atomique 29, possède 11 électrons externes qui s'organisent en $3d^{10}4s^1$. L'électron seul peut être donné pour former l'état d'oxydation Cu^+ qui est stable. La théorie du champ cristallin utilise l'hypothèse que les ligands sont comme des charges ponctuelles. Lorsque les électrons du métal sont en présence d'un ligand, ils ont le choix de s'apparier avec un autre électron ou de participer à la liaison. Lorsque l'énergie requise pour former une paire d'électrons est supérieure à l'énergie de liaison, l'électron s'engagera plutôt dans la coordination avec le ligand. Les complexes qui ont tendance à former des paires d'électrons sont dits à champ élevé. Selon l'énergie d'appariement de l'ion métallique et le caractère du ligand, il est possible de prédire le type de complexe formé. Les types de liaisons aussi vont influencer l'énergie des orbitales si c'est une liaison sigma ou pi, liante ou anti-liante.

Il peut être difficile de prévoir l'impact d'un champ faible ou fort sur l'environnement d'un complexe, par contre, l'appariement des électrons a un impact sur le rayon de l'atome. Ainsi, à champ fort, les atomes ont un rayon plus petit qu'à champ faible. Aussi, l'état d'oxydation a un impact sur le rayon: $Cu(II)$ est plus gros que $Cu(III)$ [63].

III-5) Les complexes de cuivre thérapeutiquement actifs en tant qu'agents anticancéreux, anti-inflammatoires et antimicrobiens

L'intérêt actuel pour les complexes de cuivre vient de leur utilisation potentielle comme agent antimicrobiens, anticancéreux, anti-inflammatoire, agents antitumoraux et inhibiteurs d'enzymes. L'action biochimique des complexes de cuivre et de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) a été récemment étudiée [64]. L'action

antimicrobienne du cuivre était déjà connue des égyptiens qui s'en servaient pour stériliser l'eau. Il y a une centaine d'année, il fut observé que les travailleurs des mines de cuivre souffraient moins de tuberculose et les complexes de cuivre permirent de traiter la maladie. Certains agents thérapeutiques ont montré une activité accrue lorsque complexés et les propriétés antifongiques, bactéricides pourraient être reliées à un meilleur transport des complexes à travers des membranes biologiques que pour les agents thérapeutiques non complexés [65].

Le cuivre est un oligo-élément essentiel qui participe à plusieurs processus biologiques chez tous les organismes vivants [66]. Il se trouve principalement sous la forme cationique Cu²⁺ en tant que composante des protéines de cuivre. Le Cu²⁺ libre, libéré lors de la perturbation de l'homéostasie du cuivre, peut devenir toxique par la génération rapide d'espèces oxygénées réactives [67].

L'action fongicide du cuivre a été évaluée sur différents types de champignons microscopiques, comme par exemple la levure *Candida albicans*. Elle est le principal champignon responsable d'infections nosocomiales et est notamment impliqué dans des infections des muqueuses et parfois dans des pneumonies [68]. L'étude de Mehtar et coll. (2008) a comparé l'effet de surfaces de cuivre sur la survie de différents types de bactéries mais également sur la survie de *Candida albicans* : il a été montré qu'une charge de 107 cellules fongiques est complètement éliminée en 60 minutes sur une surface de cuivre pur, lors d'une inoculation « humide » et avec une incubation à température et humidité ambiante [69]

CONCLUSION

Les infections fongiques sont encore trop fréquentes. Malgré les progrès considérables en thérapeutique et la mise sur le marché de nouvelles molécules mieux tolérées, l'antifongique idéal n'existe toujours pas. Une vigilance lors de l'utilisation de ces médicaments est toujours nécessaire et doit être renforcée lorsqu'il existe une ou des interactions pharmacocinétiques avec d'autres médicaments. Un dosage sanguin de l'antifongique permet d'adapter la posologie et de détecter au plus vite le surdosage [70].

Les recherches actuelles s'orientent vers la prophylaxie des patients à risque et surtout vers les associations d'antifongiques. Sachant qu'une neutropénie prolongée est un facteur de risque majeur de survenue d'infection fongique invasive, il convient de proposer aux patients cancéreux, transplantés ou ayant subi une greffe de moelle, lors de ces périodes de fragilité accrue, une prophylaxie primaire par un antifongique systémique [71].

Ce travail théorique de mémoire a permis de comprendre que le cuivre est un élément essentiel et a des propriétés antifongiques et l'ion Cu²⁺ a la capacité de se lier préférentiellement aux ligands comportant de l'oxygène, l'azote ou le soufre. La structure du polyène et celle des azolés est caractérisée par la présence des atomes d'azote et d'oxygène.

Après cette étude bibliographique, des perspectives de recherche sont envisagées :

- Premièrement, la synthèse et la spécification des ligands à propriétés antifongiques.
- Deuxièmement, la synthèse et la caractérisation des complexes de cuivre à propriétés antifongiques.
- Troisièmement, l'étude des associations antifongiques.
- Quatrièmement, l'étude de l'efficacité des complexes de cuivre dans les traitements fongiques.

BIBLIOGRAPHIES

- [1]-Müller G. M. & Schmit J. P., 2007. Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict? *Biodivers Conserv*, 16: 1-5.
- [2] -Courtecuisse R. & Duhem B., 2000. Guide des champignons de France et d'Europe (Delachaux & Niestlé, 1994-2000). 476p.
- [3]- [10] -Chabasse D, Guiguen C. & Contet-Audonneau N, 1999: Mycologie médicale. Masson, Paris , France 324 p.
- [3] -Kra A. K. M., 2001. Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*. Thèse de Doctorat 3e cycle. UFR Biosciences. Université de Cocody Abidjan, Côte d'Ivoire 126 p
- [4] -CROLL A.H., WALSH T.J. (2002). Invasive fungal infections in the neutropenic cancer patient: Current approaches and future strategies. *Infect. Med.* 19(7): 326-334
- [5] - Gaffi - 2019 Sep 25 Global Action Fund for Fungal Infections. cited
- [6]-[21]-[24]-[39] -Aurélien Schrapp, Fabien Lamoureaux ouvrage 2018 Pharmacologie des anti-infectieux chapitre 14
- [7] -Kodjikian L, Sève P. 2013 Oeil et Maladies systémiques. Lavoisier; 564 p.
- [8] -Buffaz. C, Hodille. E, Jourdy. Y, Louvrier. C, Marijon. A. 2014. Parasitologie et mycologie médicale pratique. Edition De boeck Supérieur p180-188
- [9] -I. Accoceberry. Introduction à la mycologie, Mycoses, Microsporidioses intestinales
- [11] -Chabasse D, Pihet P, .Bouchara J P 2009.Émergence de nouveaux champignons pathogènes en médecine : revue générale. Revue francophone des laboratoiresNovembre - N°416
- [12] –Alcamo E, 1997 Fundamentals of microbiology (5ème edition), The fungi, 429-461
- [13] -Enerst E. J. & Rogers D. P., 2005. Antifungal agents: methods and protocols. Totowa, N.J.: Humana Press, 2005. Collection: Methods in molecular medicine, 118p.
- [14] -Lortholary O. 2004. Associations d'antifongiques. Conférence de consensus commune SFAR, SPILF, SRLF. Ann Fr Anesth Reanim numéro spécial: 60-70pp.

[15]-[16] -Contet-Audonneau. N, Schmutz .J. 2001 Antifongiques et mycoses superficielles. La revue française des laboratoire n°332. p37-48

[17] -Association française des Enseignants de Chimie Thérapeutiques .Traité de chimie thérapeutique , Volume 5 .Principaux Antifongiques et Antiparasitaires.Tome 1 :Antifongiques

[18] Sébastien HOCHART Frédérique BARRIER Isabelle DURAND-JOLY Sandrine HORRENT Bertrand DECAUDIN, Pascal ODOU June 2008: Le Pharmacien Hospitalier Volume 43, Issue 173,

Les antifongiques systémiques: Partie 1 : éléments pharmaceutiquesSystemic antifungal agents: Part 1 : pharmaceutical aspects.

[19] -VAN BAMBEKE F. 2011-2012 : Antifongiques. FARM2233

[20] -Coudoux. S. Thèse 2006: les mycoses superficielles cutaneo-muqueuses : enquête à l'officine et propositions de conseils aux patients. Faculté de pharmacie de Grenoble. 112p

[28] -Morio .F. Thèse 2012. 220p: Bases moléculaires de la résistance aux antifongiques azolés chez *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*. Faculté de pharmacie de Nantes

[22] -.Buot.G 2007 Dermatomycoses métropolitaines. 98-380-A-10.EMC

[23]-[25]-[27] -Sibrac-Pelayo. C.2013 Thèse : les antifongiques azolés : utiles et efficaces mais non dénués de danger. Adaptation de la thérapie antifongique chez une patiente atteinte d'histoplasmose. Faculté de pharmacie de Toulouse. 109p

[26] -.Dannaoui E.2009 Principaux antifongiques systémiques Classification, mécanismes d'action, et de résistance, spectre, indications. DIU Stratégies Thérapeutiques en Maladies Infectieuses, Novembre

[29] -Dromer. F, Lortholary. O.2003 Annales de l'institut Pasteur .Edition elsevier p45-60

[30]-[32] -HUNG C.T lan F.C, Perrier D.G and souter A1988 a stability study of amphotericin B in aqueous media using factorial design int F. Pharm ; 44 :117-123

[31] -SCHAFNNER C. P 1987 amphotericin B derivatives in recent trends in the discovery development and evaluation of antifungal agents Edited by fromthing R.A 595-918

[33] -LEGRAND P. Romero E . Cohen B and Bolard J 1992 Effets of aggregation and solvant on the activity of amphotericin B on human erythrocytes antimicrob agents chemother 36.2518-22

[34] -DE KRUIJFFB and Demel R.A 1974 polyene antibiotic sterol interactions in membranes of acoleplasma laidlawii cells and lecitjin liposomes 3 molecular structure of the polyene antibiotic cholesterol complexe biochim biophys acta 339-5770

[35] -GABRIELSKA J. Gagos M. Gubernatou J. and Gruszecki W.I 2006 Binding of antibiotic amphotericin B to lipid membranes : A ¹HNMR study FEBS letters 580-2677-2685

[36] -COLETTE. N van Der Auwara P., Lopez A.P . Heymans C. and Meunier F .1989 Tissue concentration and bioactivity of amphotericin B in cancer patients treated with amphotericin B desoxycholate Antimicrob agents chemother 33-362-308

[37] -ASSOCIATION AMICALE D'ENSEIGNEMENT POST UNIVERSITAIRE DE LA REGION DE MONTMORENCY. DENIS B.2010 : Les mycoses ou infections fongiques. 12p

[38] -LORTHOLARY O., TOD M., DUPONT B. 1999: Antifongiques. EMC - Maladies infectieuses, 1-21

[40] -VANDANA S., RAKESH B.2011 : Triazoles in antifungal therapy : a review. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical, 2 : 417-427.

[41] -PRESCRIRE : Petit manuel de Pharmacovigilance 2011 : 1.28 Une démarche pour éviter les effets indésirables par interactions médicamenteuses, 31 : 11-13.

[42] –Gallen J 31(2012) 72-8, associations antifongiques dans les infections fongiques invasives. Dautremer Revue de Médecine interne

[43] -Santini, C., Pellei, M., Gandin, V., Porchia, M., Tisato, F. et Marzano, C. (2014).Advances in copper complexes as anticancer agents. Chem Rev, 114, p.815-862

[44] -Marzano, C., Pellei, M., Tisato, F. et Santini, C. (2009). Copper Complexes as Anticancer Agents. Anticancer Agents Med Chem, 9, p.185-211

[45] -Rorabacher, D. B. (2004). Electron transfer by copper centers. Chem Rev, 104, p.651697

- [46]-[64] -Iakovidis, I., Delimaris, I. et Piperakis, S. M. (2011). Copper and its complexes in medicine: a biochemical approach. *Mol Bio/ Int*, p.1-13.
- [47] -Davis, A. V. et O'Halloran, T. V. (2008). A place for thioether chemistry in cellular copper ion recognition and trafficking. *Nat Chem Bio/*, 4, p.148-151
- [48] -Halliwell, B. et Gutteridge, JM. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol*, 186, p.1-85
- [49] -Puig, Set Thiele, J. (2002). Molecular mechanisms of copper uptake and distribution. *Curr Opin Chem Bio/*, 2, p.171-180
- [50] -Festa, R. A. et Thiele, D. J. (2011). Copper: an essential metal in biology. *Curr Bio/*, 21, p.R877-883
- [51] -Harris, Z. L. et Gitlin, J. D. (1996). Genetic and molecular basis for copper toxicity. *Am J Clin Nutr*, 63, p.836S-841S
- [52]-[53] -Hodgkinson, V., & Petris, M. J. (2012). Copper homeostasis at the host-pathogen interface. *Journal of Biological Chemistry*, 287(17), 13549-13555.
- [54] -Akram, M, Asef, Met Naveed, A. (2011). Amino acids: A review article. *J Med Plant Res*, 5, p.3997-4000
- [55] -DeGrado, W. F., Summa, C. M., Pavone, V., Nastri, F. et Lombardi, A. (1999). De novo design and structural characterization of proteins and metalloproteins. *Annu Rev Biochem*, 68, p. 779-819
- [56] -Lu, Y. (2005). Design and engineering of metalloproteins containing unnatural amino acids or non-native metal-containing cofactors. *Curr Opin Chem Bio/*, 9, p.118126
- [57] -Dupont, Christopher L., Butcher, Andrew, Valas, Ruben E., Boume, Philip E. et Caetano--Anollés, Gustavo. (2010). History of biological metal utilization inferred through phylogenomic analysis of protein structures. *P Nat/ Acad Sei USA*, 107, p.10567-10572
- [58]-[60] -Wilson, E. W. Jr., Kasperian, M. H. et Martin, R. B. (1970). Binding of copper(II) to potentially tridentate amino acid ligands. *J Am Chem Soc*, 92, p.5365-5372
- [61]-[63] -Wulfsberg, Gary. (2002). Introduction aux complexes de métaux de transition : application à la biochimie. Dans Boucekkine, G. et Goubard, F. (dir.), *Chimie inorganique -*

Modèles théoriques et applications : Cours et exercices corrigés -théories et applications.
Paris: Dunod. p.427-499

[62] O.Diouf et al I.C.R chimie 10(2007)473-481 synthèse et étude des propriétés spectroscopiques, magnétiques et electrochimique des complexes de cuivre(II) et nickel(II)

[65] -Hubin, T. J., Amoyaw, P. N., Roewe, K. D., Simpson, N. C., Maples, R. D., Carder Freeman, T. N., ... Khan, M. O. (2014). Synthesis and antimalarial activity of metal complexes of cross-bridged tetraazamacrocyclic ligands. *Bioorg Med Chem*, 22, p.3239-3244

[66] -O'Dell, B. L. (1976). Biochemistry of Copper. *Med Clin N Am*, 60, p.687-703

[67] -Flemming, C. A. et Trevors, J. T. (1989). Copper toxicity and chemistry in the environment: a review. *Water. Air. Soi!. Poli.*, 44, p.143-158

[68] -Raisin, 2013 : Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012. Résultats. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire ;. 181p.

[69] -Mehtar, S., Wiid, I., & Todorov, S. D. (2008). The antimicrobial activity of copper and copper alloys against nosocomial pathogens and *Mycobacterium tuberculosis* isolated from healthcare facilities in the Western Cape: an in-vitro study. *Journal of Hospital Infection*, 68(1), 45-51.

[70] -DELAUNAY P., FISSORE C.2006 : Interactions médicamenteuses des antifongiques systémiques. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*, 16 : 152–158

[71] -GRANIER F. 2002, 31: Les traitements antifongiques : Synopsis infectiology 42th ICAAC. La Presse médicale: 1785–1791.