

République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère de L'enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique



Université Dr. MoulayTaher Saïda
Faculté des Science et de La Technologie
Département De Biologie



MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
DE MASTER II EN BIOLOGIE

Option : - Biochimie et Physiologie Cellulaire

- Biotechnologie végétale

Intitulé :

« Évaluation de l'effet d'une exposition aigue au 5-phenyl-1, 2,4-triazole-3-thiol (Khacinothionyl) chez des jeunes rats wistar. Etude neurocomportementale et histologique »

Présenté par :

- *Filali Amel.*
- *Lardjani Khadidja.*

Soutenu le : 15/06/2015Devant le jury composé de :

Mr Halla Nourredine Maître - assistant « A » U de Saïda Président
MrAdli Djalleddine Maître – assistant « A » U de Saïda Examineur
Mme Alioui Latifa Maître – assistante « A » U de Saïda Examinatrice
Mr Kahloula Khaled Maître - conférence « A » U de Saïda Encadreur
Mme Hadjadj Hassina Maître - assistante « B » U de Saïda Co. Encadreur

Année Universitaire : 2014-2015

Résumé :

L'objectif de cette étude est d'évaluer les modifications d'ordres comportementales chez les jeunes rats exposés au (Khacinothionyl) à une dose de 200mg/kg (aigue).

L'exposition aigue au (Khacinothionyl) a permis d'observer au cours du test d'open Field une diminution significative dans le nombre des carreaux traversés ($p < 0,001$) et le nombre de redressement ($p < 0,001$) qui atteste une hypoactivité locomotrice. De plus, les résultats relatifs à l'état émotionnel ont révélé une diminution significative ($p < 0,01$) dans le nombre des visites au centre ainsi qu'une réduction dans le nombre de toilettage et de défécations ($p < 0,05$; $p < 0,001$).

Cependant, le test de la nage forcé a montré une augmentation significative dans le temps d'immobilité ($p < 0,001$) chez les rats exposés comparés aux rats témoins ce qui montre l'installation d'un état dépressif.

Toutefois, les analyses sériques des sujets exposés ont présentés des valeurs significativement supérieures en terme de glycémie ($p < 0,001$) comparé aux sujets témoins.

Par ailleurs, l'exposition des rats à une dose 200mg/kg au (Khacinothionyl) a indiqué à travers le test de labyrinthe en Y une baisse significative du pourcentage d'alternance spontanée ($p < 0,05$) concernant la mémoire de travail.

L'utilisation des différentes techniques comportementales plus précisément celle de l'anxiété (labyrinthe en croix surélevé) et de la dépression (la nage forcée) dévoilent que l'exposition aigue au (Khacinothionyl) provoque un état anxieux et un état de résignation ainsi des troubles de mémoire à court terme (mémoire de travail) chez les jeunes exposés comparé aux témoins.

Les études histologique ont montré aucun différence entre le cerveau des rats exposés par rapport aux rats témoins.

En conclusion, l'exposition aigue au (Khacinothionyl) entraîne des modifications d'ordre comportementale qui reflète l'action délétère de ce composé sur système nerveux.

Mots clés :

5(phenyl)-1, 2,4 triazole-3 thiol, activité locomotrice, anxiété, système nerveux, dépression.

Remerciements

Avant toute chose, nous tenons à remercier Dieu de tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

Des remerciements au président de jury Mr Halla N, et aux examinateurs : Mme Alioui. L et Mr Adli. D d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous tenons à remercier en particulier notre très cher Encadreur Docteur Kahloula Khaled pour ces conseils précieux, sa patience, son soutien, et sa disponibilité durant tout au long de la réalisation de ce travail, ainsi pour sa compréhension et sa gentillesse.

Des remerciements au Co.Encadreur Hadjadj H

Nous remercions tous les enseignants qui ont été attribués à notre formation durant les années d'études en particulier : Mr Adli. D, Mr Benali. O, Mr Slimani.

Mr Hachem. K, Mr Ouissi .

remercions nos collègues pour les sympathiques moments passés ensemble.



Dédicace

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde.

- ✚ A ma chère mère qui m'a éclairée mon chemin et qui m'encouragé et soutenue toutes au long de mes études dans les meilleures conditions.*
- ✚ A ma grande mère, que dieu lui accorde son éternelle miséricorde.*
- ✚ A mon très cher frère : Mostafa.*
- ✚ A mes très chères sœurs : Aicha, Amel, Nourria.*
- ✚ A la famille grêle surtout Karima, Abir, Amina*
- ✚ A mon binôme Amel qui m'a beaucoup aidé et supporté
Durant la réalisation de ce travail.*

Khadija



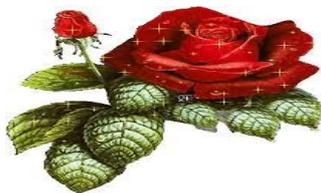


Dédicace

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde.

- ✚ A mes chères parents qui m'ont éclairées mon chemin et qui m'encouragées et soutenues toutes au long de mes études dans les meilleures conditions.*
- ✚ A mes très chers frères : Mohamed, Tarek, Sofiane.*
- ✚ A mes très chères sœurs : Jehanne, Khadidja.*
- ✚ A mon binôme Khadidja qui m'a beaucoup aidé et supporté Durant la réalisation de ce travail.*

AmEl



Abstract :

The objective of this study is to evaluate the behavioral changes of (Khacinothionyl) exposed young rats with a dose of 200mg/kg (acute).

According to the open field test, the acute exposition to (Khacinothionyl) has permitted to observe a significant decrease on the number of the crossed squares ($p < 0,001$) and the number of recovery ($p < 0,001$) which attest a locomotive hypoactivity. Thus, the relative results of the emotional state have revealed a significant decrease ($p < 0, 01$) on the number of center visits and a reduction on the number of grooming and defecation ($p < 0, 05$; $p < 0,001$).

However, the forced swimming test has showed a significant increase of the immobility time ($p < 0,001$) of exposed rats compared with witnesses due to the installation of a depressive state.

Furthermore, the serum analysis of the exposed rats presented significant higher values in term of blood sugar ($p < 0,001$) compared with witnesses.

Whereas, using the Y labyrinth, the (Khacinothionyl) exposition with a dose of 200mg/kg has indicated a significant decrease in the percentage of spontaneous alternation ($p < 0.05$) concerning the memory of the work.

The use of different behavioral techniques precisely the one of anxiety (elevated plus maze) the one of depression (the forced swimming) reveal that the (Khacinothionyl) acute exposition provokes a state of anxiety and a state of resignation in addition to some memory troubles for a short period (memory of work) in young exposed rats compared with witnesses.

In conclusion, the (Khacinothionyl) acute exposition had caused behavioral modifications that reflect the neural deleterious action of this compound.

The histological studies show no deference between the brains of rats compared to control rats.

Key words: 5(phenyl)-1, 2, 4 triazole-3 thiol, locomotive activity, anxiety, Nerves system, depression.

المخلص:

الهدف من هذه الدراسة تقديم التغييرات السلوكية عند الجرذان بعد مرحلة البلوغ المعرضة للتريازول بجرعة 200 مغ /كغ (الحادة).

التعرض الحاد للتريازول سمح بالملاحظة في اختبار (Open Field) انخفاض ملحوظ في عدد المربعات المقطوعة وكذلك في عدد محاولة الوقوف والتي تدل على نقص النشاط الحركي وزيادة على النتائج المتعلقة بحالة التأثير أظهرت انخفاض ملحوظ في عدد المربعات المركزية المقطوعة وأيضا تغييرات في عدد التنظيف وعدد البراز.

اختبار (la nage forcée) ظهر زيادة ملحوظة في وقت السكون عند الجرذان المعرضة للتريازول مقارنة بالشواهد الذي بين خلق حالة اكتئاب وكذلك تحاليل مصل الدم التي توضح ارتفاع نسبة السكر في الدم.

من جانب آخر لوحظ لدى الجرذان المعرضة للتريازول بجرعة 200مغ /كغ انخفاض ملحوظ في نسبة التناوب العفوي عند الجرذان المعرضة مقارنة بالشواهد بما يخص الذاكرة العملية (labyrinthine Y).

استعمال مختلف التقنيات السلوكية بالخصوص المتعلقة بالقلق (labyrinthine croix surélevé) والاكتئاب كشفت أن التعرض المزمن للتريازول أدى إلى حالة قلق مصحوبة بالاكتئاب عند الجرذان المعرضة مقارنة بالشواهد مع ذلك نتائج تركيز مصل الدم بينت أن هذا التعرض المزمن أدى إلى ارتفاع نسبة السكر في الدم.

بما يخص دراسة الأنسجة الدماغية لميلا حض أي تغيير عند الجرذان المعرضة مقارنة بالشواهد في الختام التعرض الحاد للتريازول أدخل تغييرات في النظام السلوكي الذي يعكس خطورة هذه المادة على الدماغ.

الكلمات المفتاحية:

الدماغ، النشاط الحركي، القلق، التريازول .

Liste des abréviations :

TIM : temps d'immobilité.

5- HT : 5- hydroxytryptanine, sérotonine.

Tf : temps de fusion.

T eb : temps d'ébullitions.

pka : Potentiel constant d'acidité.

ΔH : Enthalpie.

NADH : Nicotinamide de adénine di nucléotide + hydrogène.

ATP : Adénosine-triphosphate.

PPM : Partie par million.

LDH : Lactase déshydrogénase.

SPP : Forme pluriel, se place après le genre pour signifier « toute les espèces ».

SPA : pourcentage d'alternance spontanée

| | |
|--|----|
| <u>Liste des figures :</u> | |
| <u>Figure N°01 :</u> <i>Epreuve du labyrinthe en croix surélevé.</i> | 17 |
| <u>Figure N°02 :</u> <i>Epreuve du labyrinthe en Y.</i> | 18 |
| <u>Figure N°03 :</u> <i>Epreuve du test de l'open Field.</i> | 19 |
| <u>Figure N°04 :</u> <i>Epreuve de la nage forcée.</i> | 20 |
| <u>Figure N°05 :</u> <i>Comparaison entre le nombre d'entrées dans les bras ouverts.</i> | 24 |
| <u>Figure N°06 :</u> <i>Comparaison entre le temps passé dans les bras ouverts.</i> | 24 |
| <u>Figure N°07 :</u> <i>Comparaison entre pourcentage d'alternance spontanée.</i> | 25 |
| <u>Figure N°08 :</u> <i>Effet de (Khacinothionyl) sur l'activité locomotrice et comportement stéréotypé.</i> | 26 |
| <u>Figure N°09 :</u> <i>Comparaison du temps d'immobilité durant le test de la nage forcée .</i> | 27 |
| <u>Figure N°10 :</u> <i>Comparaison de la glycémie entre les rats.</i> | 28 |
| <u>Figure N°11 :</u> <i>observation microscopique d'une coupe de cerveau chez les rats témoins .Gr×40.</i> | 29 |
| <u>Figure N°12 :</u> <i>observation microscopique d'une coupe de cerveau chez les rats exposés au (Khacinothionyl).Gr×40.</i> | 29 |
| <u>Liste des tableaux :</u> | |
| <u>Tableau 01 :</u> <i>Quelques propriétés physico-chimiques des triazoles</i> | 3 |

Tables de matière :

Résumé.

Remerciement.

Dédicace.

Dédicace.

Abstract.

ملخص

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

| | |
|--|---|
| Avant-propos..... | 1 |
| I. Généralités | 2 |
| I.1.1. Les propriétés physico-chimiques..... | 2 |
| I.1.2. Classification des triazoles | 4 |
| I.1.2.1 La première génération | 4 |
| I.1.2.1a) Le fluronazole..... | 4 |
| I.1.2.1b) Itraconazole | 4 |
| I.1.2.2 La deuxième génération | 5 |
| I.1.2.2 a) Voriconazole | 5 |
| I.1.2.2 b) Posaconazole..... | 5 |
| I.1.2.2 c) Ravuconazole..... | 5 |
| I.3 Les domaines d’application de triazoles..... | 6 |
| I.3.1 Les applications agricoles | 6 |

| | |
|--|----|
| I.3.2 Les applications pharmacologiques | 7 |
| I.3.3 Les applications industrielles | 8 |
| I.4 La toxico-cinétique du triazole | 9 |
| I.4.1 Absorption..... | 9 |
| I.4.2 Distribution | 9 |
| I.4. 3 Métabolisme..... | 9 |
| I.4. 4 Elimination | 10 |
| I.5 La toxicité du triazole..... | 11 |
| I.5.1 Effet sur la reproduction..... | 11 |
| I.5. 2 Effets sur le développement | 11 |
| I.5.3 Effets hépatiques | 12 |
| I.5.4 Effets génétique | 13 |
| I.5. 5 Effets sur le système nerveux | 13 |
| a)Effets sur la neurotransmission | 13 |
| I.5. 6 Effets rénaux | 14 |
| I.5. 7 Effets sur système immunitaire | 14 |
| II. Matériels et Méthodes..... | 15 |
| II.1 L'objectif | 15 |
| II.2 Synthèse de 5-phényl 1, 2,4-triazole 3-thiol..... | 15 |
| II.3 Les animaux d'expérimentation | 16 |
| II.4 Répartition des groupes..... | 16 |
| II.5 Techniques comportementaux | 16 |
| II.5.1 Le labyrinthe en croix surélevé | 16 |
| II.5.2 Le labyrinthe en Y | 17 |

| | |
|---|-----------|
| II.5.3 Evaluation d'un comportement d'exploration : test de l'open Field..... | 18 |
| II.5.4Comportement de type dépressif : test de la nage forcée | 19 |
| II.6 Prélèvement sanguin | 20 |
| II.7.1 Dosage de glucose | 20 |
| II .8 Analyse statistique | 20 |
| II.9.Etude histologique des tissus prélevés | 21 |
| II.9.1-Etude macroscopique | 21 |
| II.9.2.Etude microscopique | 21 |
| II.9.2.1) Fixation | 21 |
| II.9.2.2) Déshydratation | 21 |
| II.9.2.3) Imprégnation et inclusion à la paraffine..... | 22 |
| II.9.2.4) Réalisation des coupes | 22 |
| II.9.2.5) Coloration | 22 |
| II.9.2.6.Montage des coupes | 23 |
| III. Résultats et interprétation | 24 |
| IV. Discussion | 30 |
| V. Conclusion | 33 |
| Références bibliographiques..... | 34 |

Introduction :

Le triazole et leurs dérivés hétérocycliques ont reçu une attention considérable en raison de leur importance biologique synthétique et efficace. (EPA, 2009). Le nom triazole est donné au système cyclique d'azote de carbone par Blatin qui a décrit ces dérivés en 1885 (Laib, 2009). En raison de diverses applications, est le premier composé de cette classe à être découvert par le groupe de Janssen à la fin 1960 (Mishra et al, 2011). Certains auteurs ont montré l'importance de l'activité biologique notamment pesticide, herbicide, fongicide, et encore inhibiteurs de corrosion d'une efficacité qui atteint une valeur de l'ordre de 99,9 % (Fiala, 2007).

Le noyau triazole appartient à l'une des classes la plus largement utilisée, en fonction de leur caractéristique commune il est souvent lié à diverses activités pharmacologiques notamment anti inflammatoires, stimulants de système nerveux, à la fois central et périphérique. (Zarn et al., 2003 ; Matthew et al., 2007).

En outre, les hétérocycles constituant le plus grand groupe de composé organique sont de plus en plus importants dans tous les aspects biologiques et de la chimie. Parmi ces hétérocycles, le mercaptan et thione substitué 1, 2,4-triazole ont été bien étudiés dans une variété d'activités biologiques, comme antibactérien et antifongique (Zam et al, 2003; Shaker, 2006).

Le but de ce travail est d'évaluer le statut neurocomportemental suite à une exposition aiguë au 5-phenyl 1, 2,4-triazoles 3-thiols.

Revue
Bibliographique

I. Généralité :

Dans les systèmes cycliques à cinq chaînons la présence de trois atomes d'azote définit une classe intéressante de composés, les triazoles sont des composés organiques cycliques de formule brute $C_2H_3N_3$ sont d'origine synthétique il n'existe pas à l'état naturel il ya deux types de triazoles :

- Le 1, 2,3 triazoles ou v-triazoles .
- Le 1, 2,4 triazoles ou s-triazoles .

Les triazoles ont toujours suscité un intérêt scientifique et pratique en raison de leurs propriétés chimiques très variables, la synthèse de ces composés hétérocycliques a reçu une attention considérable utilisé comme matière première dans des nombreuses synthèses chimiques (médicaments et substances phytopharmaceutiques) (ANSES, 2011).



(Laib, 2009).

I.1.1. Les propriétés physico-chimiques :

Les différentes réactions chimiques montrent que le 1, 2,4 triazole est un noyau extrêmement stable, il peut être considéré comme aromatique qui se traduit notamment par une interaction entre une liaison, dipolaire et une grande capacité à former des liaisons hydrogène. Le tableau résume quelques propriétés des molécules triazoles (Russell et Pharm., 2010).

Tableau 01 : Quelques propriétés physico-chimiques des triazoles.(**Binauld, 2009**)

| Molécule | N% | Tf (°C) | T eb(°C) | $\Delta H f$ (KJ/Kg) | pKa | Moment dipolaire 10^{-30} cm |
|------------------------|----|---------|----------|----------------------|------|--------------------------------|
| 1, 2,3-triazole | 61 | 23 | 203 | 2690 | 9.4 | 3.23 |
| 1, 2,4-triazole | 61 | 121 | 260 | 2345 | 10.1 | 9.61 |

Les composés azole sont généralement stables en température par rapport au quelques dérivés triazoles(**Journal officiel, 2006**). Les 1, 2,4 triazoles sont très solubles dans les solvants polaires (éthanol, méthanol) et faiblement solubles dans les milieux apolaires comme les éthers. Cette faible solubilité dans les solvants apolaires peut toutefois être améliorée moyennement un choix adéquat du substituant par l'atome d'azote.

Les 1, 2,4-triazoles sont solubles à la fois dans des milieux acides et basiques en raison de la formation de sel par protonation et déprotonation.(**Chen et al., 2008**).

Les triazoles font partie des dérivés hétérocycles les plus utilisés, du fait de leur caractéristique structurales à l'origine de propriétés et de solubilité :

Kétoconazole(KTZ), itraconazole (ITZ), posaconazole(PSZ) et voriconazole(VRZ) sont liposolubles contrairement au fluconazole (FCZ) hydrosoluble. Les triazoles, le fluconazole, itraconazole, voriconazole et le posaconazole, ont le même mécanisme d'action, mais leur spectre antifongique et pharmacocinétique sont déterminées par des différences structures uniques de chaque composés . (**Russell et Pharm, 2010**).

De plus, il a été établi depuis longtemps que la fonctionnalisation des noyaux triazoliques par des fonctions thione améliore sensiblement leurs propriétés biologiques, thérapeutiques et industrielles. (**PRVD, 2011**) .

I.1.2. Classification des triazoles :

Première génération de triazoles :

- Le fluconazole (FLC)
- L'itraconazole (CCI)

Deuxième génération de triazoles :

- Le voriconazole (VCZ)
- Le posaconazole (PCZ)
- Ravuconazole (RCZ)

I.1.2.1 La première génération :

Les triazoles antifongiques sont généralement bien tolérés, mais présentent un potentiel important pour les interactions médicamenteuses par leur interférence avec le cytochrome P450-dépendante du métabolisme oxydatif.

I.1.2.1a) Le fluconazole :

C'est un agent fongistatique actif contre *Candida albicans*, *Candida tropicalis*. Il est également utilisé pour traiter la méningite, la méningite à *Cryptococcus*, candidose systémique et muqueuse chez les patients normaux et immunitaire, et d'infections dus à la chimiothérapie ou la radiothérapie avant une greffe de moelle osseuse, a presque terminé la biodisponibilité orale, circule dans le plasma sous forme libre leur métabolisme hépatique négligeable est excrétée sous forme inchangée par les reins. Il est excrétée sous forme inchangée dans l'urine avec demi-vie 25 à 30 h (Groll et al.,2001 ; Tripathi,2004) .

I.1.2.1b) Itraconazole :

Présente une souche dépendante de l'activité fongicide contre les champignons filamenteux, à l'exception de certaines souches de *Cryptococcus neoformans*. Il est prise par voie orale sous forme de capsules pour traiter les infections fongiques qui commencent dans les poumons et la propagation dans tout le corps. Peut également être utilisé pour traiter les infections fongiques des ongles, les solutions orales peuvent être utilisés pour traiter la candidose orale, il est bien absorbé par le tractus gastro-intestinal avec une forte liaison protéinique important de métabolisme hépatique, est excrété sous une forme inactive par le foie et les reins (Manavathu et al., 1998 ; Burgess et Hasting, 2000) . Est excrété dans les fèces avec demi-vie 30 à 64 h (Groll et al., 1998) .

I.1.2.2 La deuxième génération :

Ce sont des agents antifongiques, agissent par un mécanisme similaire varient énormément en spectre fongique, pharmacocinétique, toxicité et certain présentent également des interactions médicamenteuse.

I.1.2.2 a) Le voriconazole :

Est un fongistatique, il a une activité fongicide contre *Aspergillus* spp.(**Denning et al., 1995**). Appartiennent à la classe des inhibiteurs de la 14 β -déméthylase, à une bonne biodisponibilité orale, mais présente une pharmacocinétique non linéaire.

Commercialisé en 2002 et approuvé en tant que traitement de première intention de la candidose œsophagienne, candidémie, aspergillose invasive, *Candida* infections de la peau, les infections de l'abdomen, les reins vessie mur, et les plaies et les infections causée par *Fusarium* spp(**Espinel et al., 2001**).

Le voriconazole est disponible par voie oral ainsi que par voie intraveineuse (iv) .Il est métabolisé dans le foie et en cas d'insuffisance rénale, l'excrétion n'est pas affectée, sa préparation (iv) est solubilisé dans sulfobutyléther β -cyclodextrine de sodium, qui est sécrétée par les reins, excrétés sous forme inchangée dans l'urine (**Pearson et al., 2003**).

I.1.2.2 b)Leposaconazole :

Il dispose d'un large éventail d'activité antifongique contre différentes souches de champignons tels que *Candida* spp.résistant aux anciennes azoles, *Cryptococcus*neoformans, *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp, *Bacillus dermatitidis*, et d'autres champignons filamenteux opportunistes (**Loi et al., 1997 ; Gonzalez et al., 2005**) .Il est principalement métabolisé par le foie, environ 77% du médicament inchangé est excrété dans les fèces et petite quantité dans l'urine (**Courtney et al., 2003**).

L'efficacité du posaconazole est la plupart du temps dans le traitement de zygomycose, la fusariose invasive, la méningite à *Cryptococcus*, coccidioïdomycose et d'autres infections du système nerveux central fongiques (**Anstead et al., 2005**) . Il a peu d'effets secondaires les plus courants tels que nausées, vomissements, maux de tête, des douleurs abdominales et de la diarrhée (**Raad et al., 2006**) .

I.1.2.2 c) Ravuconazole :

Est un triazole actuellement très actif contre un large éventail de champignons, y compris *Candida* spp., neoformans *Candida* et d'autres espèces de levures. Une étude in vitro montre que ravuconazole possède une activité inhibitrice contre d'autres espèces de

champignons filamenteux et hyalines zygomycètes et les moisissures noires (Pfaller et al., 2002). Il présente une pharmacocinétique linéaire et subit un métabolisme hépatique, il dispose d'un potentiel important pour les interactions médicamenteuses par le système enzymatique du cytochrome P450.

I.3. Les domaines d'application des triazoles :

Les triazoles ont suscité un grand intérêt par les chercheurs en raison de leurs applications dans les domaines pharmacologique, l'agriculture et l'industrielles. Depuis leur lancement en 1973, les triazoles ont fourni une plateforme pour l'échange rapide de la recherche des composés hétérocycliques, dans les secteurs de la chimie organique, pharmaceutique, analytique et médicale (Laib, 2009). Parmi les substances organiques connues, le 1, 2,4 triazole trouvent diverses applications dans la synthèse de substances actives pour les produits pharmaceutiques, vétérinaires et phytosanitaires (Binauld, 2009). Ces composés ont reçu une attention considérable en raison de leurs applications dans les domaines de la médecine (avec leur bon profil de sécurité), l'industrie et agriculture (Lokesh et al., 2010 ; Mendez et al., 1988). Il existe différentes voies de synthèses adaptées pour la synthèse de 1,2,4 triazoles. Les recherches montrent que la synthèse de 1, 2,4-triazoles à améliorer le potentiels de ces noyaux en pharmacologie. Le 1, 2,4-triazoles ont suscité un intérêt scientifique et pratique en raison de leurs propriétés chimiques très variables, Les hétérocycles représentent un groupe important des composés soufrés pour l'utilisation dans des applications pratiques, parmi ces hétérocycles, le mercaptanetthione-1, 2,4-triazole.

Les triazoles ont été bien étudiés des diverses activités agricoles, industrielles et biologiques ont un large éventail de propriétés thérapeutiques comme antibactérien, antifongique, anti-mycobactérien, antiviral, anti-inflammatoire, anticonvulsivant, antidépresseur, antituberculeux, anti-tumorale, bronchodilatateur, anti-hypertenseur, analgésique, hypoglycémique, sédatif, antiparasitaire, herbicide, insecticide (Agrawal et Pancholi, 2011 ; Shaker, 2006).

I.3.1 Les applications agricoles :

Les triazoles et ces dérivés ont acquis beaucoup d'intérêt dans la dernière décennie en raison de leur importance industrielles et agricoles comme le fluconazole, un agent antifongique à large spectre pour le traitement des infections superficielle et systémiques (Bodo et al., 2007)

En agriculture, les 1, 2,4-triazoles sont réputés être fongicides, bactéricides et d'herbicides (Lazrak et al., 2014). Les triazoles jouent un rôle important au sein de cette classe d'hétérocycles, les associations de triazoles continuent de procurer les meilleures solutions contre ces parasites.

Les triazoles tels que (prothioconazole) hautement efficace et largement utilisé pour le contrôle phytosanitaire des fruits et légumes et de certaines plantes ornementales. (Sun et al., 2004 ; Jawich, 2006).

De même le triazole et ces dérivés (téraconazole, propiconazole, hexaconazole, triadiminol) utilisés pour protéger les abeilles et les autres pollinisateurs, qui sont soumis à évaluation préalable des produits utilisés durant la floraison ou au cours des périodes de production (Journal officiel, 2006).

I .3.2 Les applications pharmacologiques :

L'application pharmacologique des composés hétérocycliques ont reçu une attention considérable en raison de leurs applications dans les domaines de la médecine avec leurs bons profils de sécurité et différentes vertus innombrables qui les caractérisent.

Un grand nombre de substances et de médicaments naturels ou de synthèse sont en fait des triazoles. (Mishra et al., 2011). Ces composés et leurs dérivés tels que (itraconazole, ravuconazole, triadimefon) possèdent très différentes activités par exemple : bactériostatique, bactéricide, antifongique, sédatif, anti carcinogène, tuberculo-statique, anti-inflammatoire, diurétique, antivirale. Il est encore non révélée d'être mené pour évaluer l'activité de triazole dans des nombreuses maladies dans le domaine de la médecine et les sciences. (Ghulm, 2008).

Activités anticancéreuses :

Les molécules organiques contenant le noyau 1, 2,4-triazole ont des activités anticancéreuses puissantes. D'une base de Chiffre de palier amino-1,2,4-triazole 2,4-dichlorophénoxy groupe.

était actif contre des lignées cellulaires de cancer avec une activité in vitro à une concentration inférieure à $20 \mu\text{M}^5$. (Holla et al., 2003).

Activités anticonvulsivantes :

Le dérivé 3,4-di substitués 1, 2,4-triazole de propénoïque a montré l'influence sur le système nerveux central, à été observé dans les études préliminaires de test comportemental par l'activité anticonvulsivante et l'action antinociceptive puissante (Banachiewicz et al., 2004).

Activités antifongiques :

Différents analogues de fluconazoles, ont montré une excellente et large activité antifongique (Lebouvier et al., 2007 ; Gupta et al., 2012).

Activités anti oxydantes :

Les dérivés de benzimidazole contenant des noyaux 1, 2,4-triazole ont été rapportés une excellente activité anti-oxydante en utilisant des études in vitro. Le noyau 1, 2,4-triazole présente une activité de piégeage de radical libre stable par rapport à l'antioxydant (Kus et al., 2008).

Activités antituberculeux :

Thiazole dérivés de triazole ont montré un grand potentiel contre Mycobacterium tuberculosis (H37RV souche), ces dérivés ont une faible résistance aux médicaments contre ces souches bactériennes. (Shiradkar et al., 2007).

Activités anti-tumorales :

Les radicaux 1, 2,4-triazole ont été rapportés à posséder une excellente activité anti-tumorale in vitro contre des lignées cellulaires tumorales. (Demirba et al., 2002).

I .3.3 Les applications industrielles :

Certains triazole ont un usage intensif dans la séparation de l'argent à partir d'autres cations métalliques dans des systèmes à membrane liquide. Les 1, 2,4-triazole et ces dérivés constituent une grande stabilité et résistance à la chaleur dans de nombreux matériaux moléculaires est principalement utilisée comme inhibiteur de corrosion et anti-rouille pour les métaux dans les systèmes de refroidissement industriels principalement. (Lazrak et al., 2014). Il est également utilisé comme additif de lubrifiant, mais aussi dans le traitement de système de circulation d'eau. (Lopez et Laurent, 2013).

Ces composés sont utilisés comme colorants synthétiques et des agents de blanchiment. Cependant, les dérivés de triazole ont de nombreuses applications dans l'industrie textile, par exemple, sel de sodium d'un dérivé de triazole possède un bon détergent sulfoné. (Ghulm, 2008).

I.4 La Toxico- cinétique du triazole :

Pour mieux localisé le triazole dans l'organisme on doit connaitre sa toxico-cinétique qui englobe l'absorption, la distribution, métabolisme et l'élimination.

I.4.1 Absorption :

L'absorption du prothioconazole fait rapidement et atteinte plus de 90% de la dose absorbée dans 48 heures suivant l'administration. La biodisponibilité absolue du triazole après administration orale est environ 96 %.son absorption n'est pas influencée par les changements du pH gastrique. Les concentrations sanguines se varient entre 1 - 27 h environ après l'administration selon la dose. Pour les doses uniques, les valeurs surviennent entre 1 et 8 h pour la dose faible et entre 4 et 27 h environ à la dose élevée (PRD, 2012).

I.4.2 Distribution :

La phase qui suit l'absorption c'est la distribution, le dérivés du triazole (prothioconazol) est largement distribué dans l'organisme principalement dans le foie, les reins, les cellules adipeuses brunes et la thyroïde et la glande surrénale .Il présent une distribution limité au tissu périphérique, essentiellement au niveau du cortex hépatique et rénal, avec une circulation entéro-hépatique importante (INRS, 2010). Le volume de distribution à l'état d'équilibre est environ 4,6 l/kg, ce qui suggère une distribution importante dans les tissus. Après l'administration de doses uniques ou répétées, les plus fortes concentrations de résidus tissulaires s'observent dans le tube digestif, le foie, les reins, les glandes surrénales et les ovaires, quel que soit la dose administrée. La baisse des concentrations tissulaires après l'administration de doses répétées est considérée comme un signe d'adaptation métabolique (PRD, 2012).

I.4.3 Métabolisme :

Le 1, 2,4- triazole est rapidement et extensivement absorbé par voie orale il est largement distribué dans l'organisme et très peu métabolisé il ne s'accumule pas il est éliminé rapidement, essentiellement dans les urines (ANSES, 2011). Leur métabolisme conduit à la formation de nombreux métabolites principalement par les réactions désulfuration, hydroxylation oxydative de la fraction.

Le métabolisme du triazole débute par des réactions d'oxydation de la fraction phényle seulement suivies de glucuro-conjugaison et méthylation des produits d'oxydation (INRS, 2010).

I.4.4 Elimination :

La principale voie d'excrétion du triazole est urinaire. Les quantités excrétées dans l'urine environ 52 à 76 % de la dose administrés(DA) sont supérieures à celles éliminées dans les matières fécales (12-36 % de la DA).

La demi-vie du prothioconazole dépend de la dose administrée et environ 6 heures pour une dose de 200 mg (voie orale). Le profil pharmacocinétique étant non linéaire ne permet pas de prévoir l'accumulation ou l'élimination du triazole **PRD, 2012**).

I.5 La toxicité du triazole :

Les triazoles peuvent être classés selon leur mode d'action : herbicides, insecticides, fongicides ou selon leur composition chimique.

Certains triazoles partagent un effet toxique soit, aiguë ou chronique et des effets indésirables ont été observés chez les animaux de laboratoire.

I.5.1 Effets sur la reproduction :

Les triazoles présentent des effets néfastes qui ont été observés dans une série d'études, les résultats montrent une diminution dans le poids corporel et le poids des testicules, épидидyme, des vésicules séminales et de la prostate, arrêt de la spermatogenèse et l'inhibition de la biosynthèse des stéroïdes (EPA, 2006). Ainsi, une diminution dans le nombre de spermatozoïdes, des anomalies, indique l'activité de la spermatogenèse altérée dans le testicule et la maturation des spermatozoïdes dans l'épididyme (Lopez et Laurent, 2013). En plus des effets sur le système de reproduction, le total des taux de thyroxine sérique a diminué. Ces effets sur la reproduction sont conformes à la perturbation de l'homéostasie testostérone comme un événement clé dans le mode d'action de la toxicité triazole. (Goetz et al., 2006). Certains auteurs montrent des effets sur la reproduction (fécondité, la fertilité, la trappe) de la fonction endocrinienne et la synthèse des stéroïdes, tels que le cholestérol, la vitellogénine (VTG), et des stéroïdes sexuels (testostérone [T], 17 β -estradiol [E2]) des concentrations dans le plasma et les changements dans l'expression des gènes stéroïdiennes gonadiques ont été réduites par l'exposition au triazole, et une diminution de la production d'œufs. (Skolness et al., 2013).

L'exposition au triazole provoque des malformations squelettiques chez les nouveau-nés, réduction du poids et taille de la portée et l'augmentation de la testostérone sérique (Inchem, 1985 ; EPA, 2006).

I.5.2 Effets sur le développement :

L'étude de toxicité à court terme sur le développement réalisé chez les rats montre une embryotoxicité et une diminution de l'index de viabilité associée à une augmentation du nombre de résorptions par portée et du nombre de portées est observée en l'absence de toxicité maternelle et une diminution de la prise pondérale et la consommation alimentaire. (Efsa journal, 2009).

De plus, une augmentation de l'incidence de côté cervicale supplémentaire est notée aux doses materno-toxiques. Par ailleurs, l'exposition à long terme a montré une hypertrophie osseuse, une hydrocéphalie plus une augmentation de la consommation d'eau et des

malformations cranio-faciales étant fréquemment observées par les dérivés triazolés (myclobutanil à la dose de 200 mg /kg/j) (INRS, 2014).

I.5.3 Effets hépatiques :

Certain études montre des effets néfastes observé après l'exposition aux triazoles, des modification des paramètres biochimiques hépatique ,une augmentation de la taille du foie ainsi une légère induction des enzymes de biotransformation, une augmentation du poids du foie est associée à une hypertrophie hépatocellulaire ,des nécroses ,présence de foyers d'hépatocytes altérés et vacuolisation hépatocellulaire , une hypertrophie cellulaire au niveau de la zone fasciculée des corticosurrénales(INRS,2014) .

Certain dérivés de triazole (myclobutanil, miconazole, kétoconazole) provoque des tumeurs hépatiques (adénomes et carcinomes) (Nesnow, 2011) et des effets néoplasiques été observés au niveau du foie ainsi qu'une augmentation des enzymes des microsomes du foie ont été observées lors d'une étude chronique(Matthew, 2007). Ainsi, l'augmentation du métabolisme hépatique et biliaire, excrétion de T4 conduisant à une augmentation TSH et surstimulation de la thyroïde menant au néoplasie (Capan et al., 1999).

D'autres études notés des effets complexes sur les enzymes des microsomes hépatiques et non, hépatique ils agissent à la fois comme inducteurs et inhibiteurs du cytochrome P450 en fonction du tissu spécifique. (Leslie et al., 1988; Sun et al., 2007).

Les triazoles modulent également le gène d'expression et l'activité de l'enzyme cytochrome P450 multiple (CYP) et d'autres enzymes métaboliques dans le foie et d'autres tissus (Barton et al., 2006; Goetz et al., 2006; Ronis et al., 1994; Sun et al., 2006; Tully et al., 2006). L'enzymes (CYP) nécessaires pour la biosynthèse et catabolisme de stéroïdes, des stéroïdes, de la vitamine D, et d'autres substances biochimiques endogènes (Nelson et al., 2004; Zarn et al., 2003).

Un grand nombre de travaux ont montrés une inhibition régulatrice des gènes de biosynthèse du cholestérol, ce qui correspond à une diminution du cholestérol sérique (Goetzetal., 2007). Le 14- α -stérol déméthylase ils agissent à la fois comme inducteurs et inhibiteurs du cytochrome P450 en fonction du tissu spécifique pour affecter l'activité et l'expression d'un certain nombre de P450 dans le foie. D'autreétudes montré que les dérivés de triazoles induire CYP1A1 ; CYP2B et CYP3A2 dans le foie et inhibent le CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 et CYP3A4 dans les microsomes hépatiques (Ronis et al., 1994; Zhang et al., 2002).

I.5.4 Effets génétique :

Les études de toxicogénomique à montrer que les triazoles, pourraient perturber les fonctions biologiques régulées par les récepteurs nucléaires et incluant l'altération de l'expression des gènes des cytochromes CYP qui peuvent perturber la fonction endocrine et la synthèse du cholestérol et les stéroïde sexuels (Skolness et al., 2013) et autres enzymes de métabolisation de xénobiotiques et de gènes impliqués dans le métabolisme des hormones stéroïdiennes.(INRS,2014).

Certains auteurs ont observés une diminution du poids des surrénales et perturbation des concentrations d'hormones (stéroïdes, thyroïdiennes et hypophysaires) dans le sang qui constituent les indicateurs les plus sensibles d'une perturbation endocrinienne chez le rat (PRD, 2012).

I.5.5 Effets sur le système nerveux :

Des études indiquent que le 1, 2,4-triazole en générale cible les systèmes nerveux central (SNC) et périphérique, il provoque des lésions cérébrales (dans le cervelet, la racine dorsale, lombaire, ganglion et d'autres nerfs périphériques à 3000ppm et à 1000/4000ppm. la dégénérescence des nerfs périphérique sa également été observée dans l'étude de neuro-toxicité sub-chronique. (Hunashal et al., 2011).

Certain auteur ont observés, une baisse de poids du cerveau, des lésions cérébrales, convulsions, une dégénérescence des nerfs périphériques. Cependant, une augmentation de l'incidence des signes cliniques (les tremblements et fasciculations musculaires, diminution de l'excitation, et une diminution de l'activité locomotrice). (Zarnet al., 2003). Au niveau dorsale cervelle ont été codées globale comme une incidence accrue de cellule, la dégénérescence et la nécrose.

Les résultats ont été caractérisés par une perte de cellules de Purkinje une atrophie subtile de la couche moléculaire, principalement au surface cérébelleuse, ou la perte de cellules granulaires qui était parfois présente (Abu Mohsen et al., 2014).

Ainsi une augmentation de la sécrétion des facteurs qui sont connus pour affecter l'apprentissage et la mémoire spatiale par exemple : l'exposition de tébuconazole produit déficits neurocomportementaux chez les rats (Moser et al., 2001).

Effet sur la neurotransmission :

A travers plusieurs études, certains auteurs montres que les triazoles produits des effets sur le système dopaminergique concernent surtout l'activité locomotrice (Crofton et

al., 1988 ; Moser et al., 1995). L'exposition à des doses élevées de triadimefon provoque des altérations du dopaminergique neurotransmetteur dans les mécanismes de synthèse, la libération, recapture, et la dégradation de la dopamine dans les terminaisons nerveuses pour induire un changement de comportement. (Crofton et al., 1989).

Certains auteurs ont observés que l'activité locomotrice accrue produite par triadiméfon n'a pas été médiatisée par la libération de catécholamines nouvellement synthétisées, mais sur la dopamine libérée ou recaptures. Il a été montré que l'hyperactivité induite par triadiméfon pourrait être par une action de dopamine réceptrice post-synaptique (Macphail et al., 1993 ; Walker et al., 1990). Les résultats observés montrent que la réserpine bloque l'augmentation de l'activité locomotrice produite par triadimefon (TDF) qui agit sur les récepteurs dopaminergiques. Le TDF agit comme un agoniste de dopamine, avec un mécanisme d'action ressemblant à celui de la cocaïne (Kalivas et al., 1993 ; Walker et Mailman, 1996). Comme tous les composés chimiques le triazole sont utilisés dans certains médicaments neuroleptiques dans le traitement des psychoses autant qu'un antagoniste de la dopamine (Mäkinen et al., 2006).

Le 1, 2,4- triazole possède des propriétés cardiotonique, et anxiolytique, a la capacité de se lier aux récepteurs gaba-ergique du système nerveux central, modulant ainsi l'action du neurotransmetteur acide-g-aminobutyrique (GABA). C'est un agent très actif dans le traitement de l'anxiété (Cédric, 2004).

I.5.6 Effet rénaux :

Certain dérivés de triazole provoque des effets au niveau des reins, une diminution du poids des reins, une augmentation des concentrations ioniques du sang et une augmentation de l'incidence accrue de cristaux et de minéralisation, des tubules dilatés ou dégénérés ainsi que de fibrose interstitielle (REG, 2007). Ainsi, une hypertrophie cellulaire au niveau de la zone fasciculée des corticosurrénales (INRS, 2014).

I.5.7 Effet immunitaire :

Dans le cadre des études de immuno-toxicité chronique chez le rat, il a été observé une augmentation de lymphocytes T : cellule B et modification du pourcentage de la population de lymphocytes dans la rate, les reins et du foie (Nikolay et al., 2001). D'autres études montrent une augmentation du nombre de globules blancs, une légère diminution du nombre de cellules formant des anticorps.

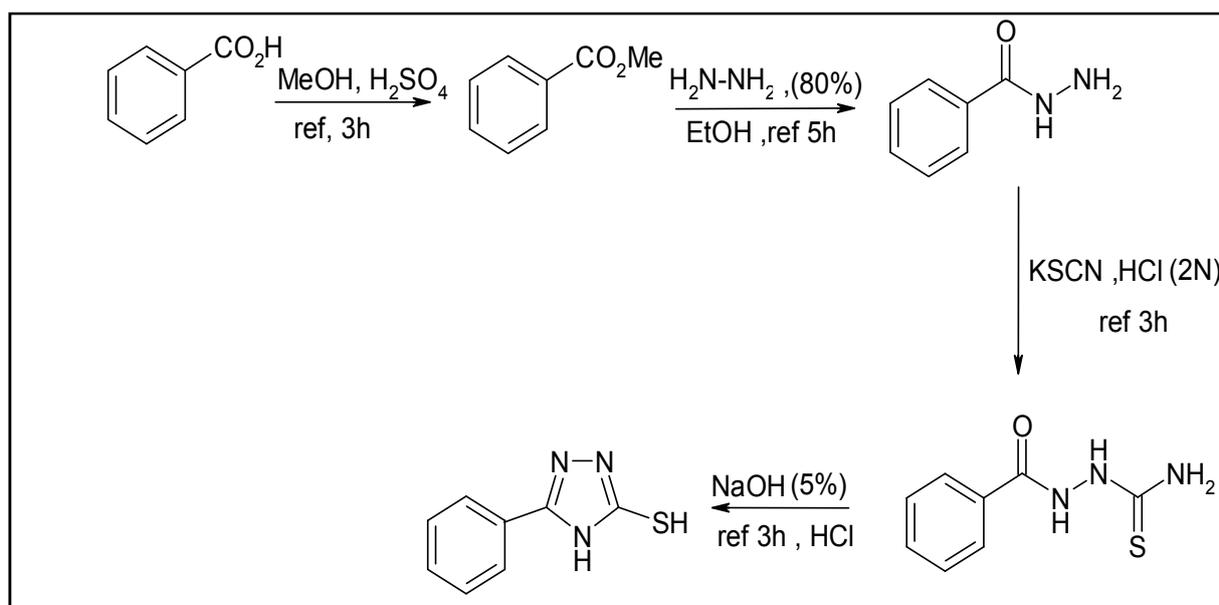
Matériels et
Méthodes

II.1 L'objectif :

Le but de ce travail est d'évaluer le statut neurocomportemental : Test de labyrinthe en croix surélevé, test de labyrinthe en Y, test d'open Field, test de la nage forcée suite à une exposition aigue au *Khacinothionyl* a une dose de 200mg /kg (Crofton et al.,1989) chez des jeunes rats wistar.

II.2 Synthèse de 5-phényl 1, 2,4-triazole 3-thiol

Les hétérocycles 1, 2,4-triazoles 3-thiones ont été synthétisés au laboratoire PFE, par l'intermédiaire hydrazide de l'acide benzoïque benzoïque(Almasiradetal., 2004;Karthikeyan,2009 ; Rostom et al.,2003). L'acide benzoïque est subit une estérification par le méthanol absolu en présence d'une quantité catalytique de l'acide H₂SO₄ concentré. Le benzoate de méthyle (1) obtenu est ensuite traité avec de l'hydrazine hydratée dans l'éthanol absolu comme solvant ce qui a abouti à la formation de benzohydrazide correspondant (2).



L'acylthiosemicarbazide(3) est préparé par addition nucléophile de benzohydrazide(2) sur le thiocyanate de potassium en milieu acide chlorhydrique pour donner l'acylthiosemicarbazides avec un bon rendement. La Cyclisation intramoléculaire de cette intermédiaires acylthiosemicarbazides (3) dans une solution d'hydroxyde desodium NaOH (4%) sous reflux conduità la formation de 5-phényl 1, 2,4-triazoles 3-thiols (4)(Agrawal et al.,2011)..

Préparation de la solution d'injection :

Notre produit a été obtenu après la synthèse par Mr Benali et Mr Ouisi sous forme solide et solubilisé dans diméthyle sulfoxyde (DMSO). Le 5(phenyle 1, 2,4 triazole) 3 thiols sous forme liquide est utilisé pour les injections de dose 200mg/kg.

II.3 Animaux d'expérimentation :

Les expériences sont réalisées sur des rats, albinos, de la souche wistar qui sont groupés par 3 dans des cages de Makrolon (L x l x H=40×25×18 cm) à raison de 2 femelles et un mâle pour l'accouplement, disposées dans une animalerie ventilée, à une température de 21°C ±1°C. Les animaux ont accès ad libitum à la nourriture et à un biberon rempli d'eau du robinet. Un éclairage artificiel établit un cycle jour/nuit (entre 7 et 19h). Les expérimentations sont effectuées entre 9 heures et 18 heures.

II.4 Répartition des groupes :

L'exposition aigue :

A J0 après sevrage d'âge 45 jours, les rats sont divisés en deux lots :

Lot *Khacinothionyl*: constitué par les animaux qui ont subis une seule injection de 5(PTT) par voie intra péritonéale à raison de 200mg/kg (n=6 rats).

Lot Témoins : constitué les animaux dont on injecte d'eau distillée par voie intra péritonéale (N=6 rats).

II.5 Techniques comportementaux :

II.5.1 Le labyrinthe en croix surélevé :

Le labyrinthe en croix surélevé permet de mesurer le degré d'anxiété d'un animal selon son aversion spontanée pour le vide. L'expérience exploite le conflit, chez les rongeurs, entre la peur des espaces ouverts et le désir d'explorer un nouvel environnement. Les bras fermés représentent la sécurité, alors que les bras ouverts offrent une valeur exploratoire. Un animal anxieux aura naturellement tendance à préférer les espaces clos et sombres aux espaces ouverts et éclairés. Partant de ce principe, l'anxiété comportementale est mesurée par le degré d'évitement des espaces ouverts du labyrinthe. Ce modèle a été initialement décrit par (Pellow et al., 1985) chez le rat. Le labyrinthe est constitué de quatre bras en bois peints en

Matériel et Méthodes

noir (L = 50 cm et l = 10 cm) qui communiquent par l'intermédiaire d'une zone centrale (10x10 cm).

Deux bras opposés comportent des parois latérales de 30 cm de hauteur (bras fermés) alors que les deux autres en sont dépourvus (bras ouverts). L'ensemble du dispositif est placé à 53 cm du sol et éclairé par une lampe halogène d'une intensité de 40 lux. L'animal est placé en zone centrale, face à un bras fermé. La capture d'image à l'aide d'une webcam permet de mesurer le nombre d'entrées, et le temps passé dans chaque compartiment pendant 5 minutes (**figure1**).



Figure 01 : Epreuve du labyrinthe en croix surélevé.

II.5 .2 Labyrinthe en Y :

Il s'agit d'un test permettant d'évaluer la tendance naturelle d'un rat à alterner son choix après avoir exploré une branche d'un labyrinthe. En effet, dans la majorité des cas, il va spontanément explorer les autres branches qui lui sont inconnues. Le labyrinthe en Y est composé de trois allées identiques disposées selon les médianes d'un triangle équilatéral. Ces allées ont une longueur de 13cm, une largeur de 4,5 cm et une hauteur de 5,5 cm.

Ce labyrinthe dispose d'un couvercle transparent figure .Le plancher est constitué de barres métallique de 2 mm de diamètre régulièrement espacées de 0,5 cm. Ce test d'alternance

Est couramment utilisé pour évaluer la mémoire de travail chez les rongeurs. Il est appelé test (d'alternance spontanée). Il a été décrit que l'alternance spontanée chez les rongeurs dépend de l'hippocampe. En effet, les animaux qui ont subi des lésions de l'hippocampe présentent de mauvaises performances de ces tests. Dans notre procédure, le rat est placé dans l'une des trois branches du labyrinthe, la tête dirigée vers le point d'intersection des 3 branches, puis il est laissé 5 minutes en libre exploration. On comptabilise l'ordre des visites, dont on extrait le nombre total de visites comme indice d'activité générale, ainsi que la distribution des visites dans les trois branches. Celui-ci est calculé selon la formule (Nombre d'alternance / Nombre de visites - 2) X 100. (Nour, 2011)

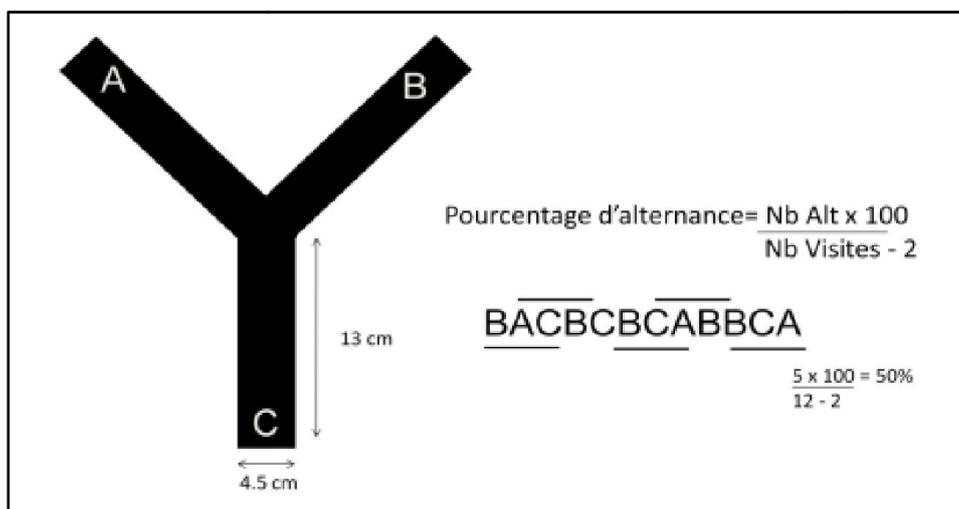


Figure 02 : test de Labyrinthe en Y

II.5.3 Evaluation d'un comportement d'exploration : test de l'open Field

L'open Field utilisé était une large boîte rectangulaire ouverte (90 cm de long, 70 cm de large, et 60 cm de haut), à fond noir, et fortement éclairée du dessus (500 lux). Des lignes noires au sol délimitaient des carreaux (10 x 10 cm) (Koutseff, 2011).

L'open Field constitue un environnement stressant pour le rat. Il s'agit en effet d'un animal nocturne, qui préfère les espaces confinés, clos et peu éclairés, est effrayé par les grandes espaces, où il va peu au centre. Chaque rat était initialement placé dans un des quatre coins de l'open Field, la tête orientée vers le coin. Son comportement était observé pendant 6 minutes. Six paramètres étaient mesurés par l'expérimentateur :

- le temps de latence (exprimé en secondes), qui correspond au temps mis par le rat pour sortir des quatre carreaux formant le coin,
- le nombre total de carreaux traversés par le rat pendant la durée du test (6 min), qui reflète l'activité locomotrice,
- le nombre de visites dans les 15 carreaux du centre,
- le nombre total de redressements (animal positionné sur ses deux pattes postérieures, droit, en équilibre dans le vide ou contre une paroi),
- le nombre total de toilettages,
- le nombre total de défécations.

Ainsi, ce test évalue les capacités exploratoires du rat dans un contexte stressant.

Le nombre de carreaux traversés et le nombre de redressements reflètent son activité exploratoire et son état émotionnel. Les autres paramètres sont plutôt des indices de son état émotionnel. (**Figure 3**).

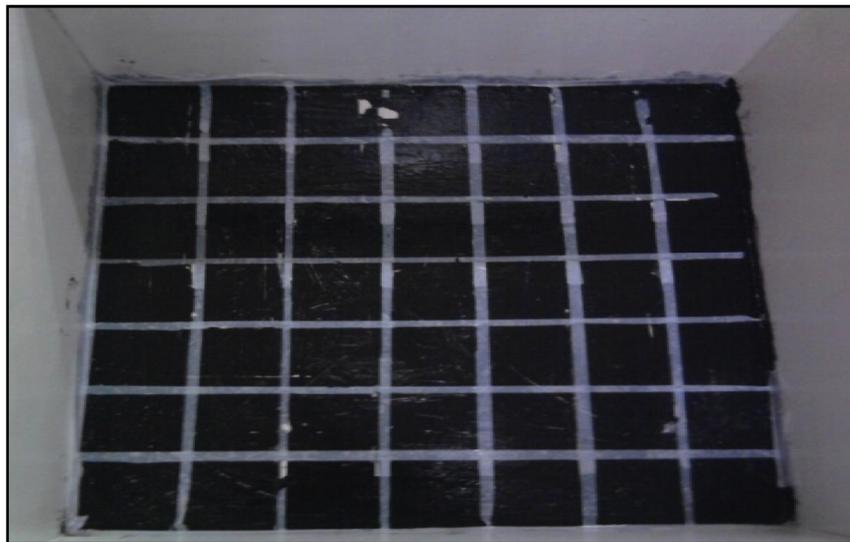


Figure 03 : Test d'open Field

II.5.4 Comportement de type dépressif : test de la nage forcée.

L'épreuve de la nage forcée a été initialement proposée par (**Porsolt et al., 1977**) comme épreuve permettant la sélection de molécules à activité antidépressive. Les rats sont placés durant 15 minutes dans la pièce où se déroule le test. Les animaux sont soumis à une épreuve de nage forcée d'une durée de 6 minutes. Les animaux sont placés à l'intérieur d'un

Matériel et Méthodes

cylindre de 20,7 cm de diamètre et de 39 cm de hauteur, dans une eau à 22°C. On mesure la durée pendant laquelle l'animal nage activement ou flotte seulement de manière à conserver la tête hors de l'eau. Après s'être débattu dans l'eau, l'animal devient presque immobile, bougeant les pattes de temps à autre pour rester à flot ou retrouver son équilibre. Cette immobilité est interprétée comme étant le reflet d'un « désespoir comportemental », qui survient lorsque l'animal réalise qu'il ne pourra pas s'échapper.

Dans le cadre de cette interprétation, l'immobilité est vue comme comportement dépressif. (figure04)



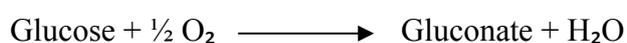
Figure 04 : L'épreuve de la nage forcée (FST).

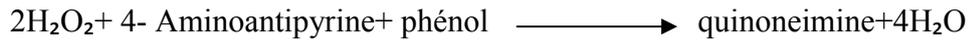
II.6 Prélèvement sanguin :

Le sacrifice des jeunes rats a lieu le matin après un jeûne de 12 heures par injection intra péritonéale d'une solution de chloral à 10% ; le sang est récupéré, dans des tubes à hémolyse contenant un anticoagulant pour le dosage des paramètres sériques.

II .7 - Dosage de glucose : (Bio Systems)

Le dosage du glucose est effectué sur le sérum après séparation du sang. Le glucose sanguin est estimé selon les réactions couplées suivantes :





Un complexe coloré est estimé par spectrophotomètre à une longueur d'onde $\lambda = 500 \text{ nm}$.

II.8 Analyse statistique :

Les résultats sont exprimés en donnant la valeur moyenne de chaque groupe et l'erreur standard à la moyenne ($m \pm \text{SEM}$), la comparaison des valeurs des paramètres biochimiques plasmatiques a été effectuée à partir du logiciel Sigma statistique, par le test d'analyse des variances (ANOVA) one way.

II.9. Etude histologique des tissus prélevés :

Les examens anatomopathologiques des différents tissus prélevés chez les rats (à savoir le cerveau a été effectué au niveau du laboratoire de pathologie du centre hospitalier universitaire d'Oran.

II.9.1- Etude macroscopique :

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude des échantillons prélevés. Le tissu du foie est examiné, mesuré, pesé, palpés puis disséqué. Chaque lésion est repérée sur un schéma et éventuellement photographiée.

L'examen macroscopique des prélèvements donne des indications sur la lésion M

- La taille et la localisation de la partie lésée au niveau du tissu.
- Il permet de sélectionner les territoires à prélever pour l'étude microscopique (Zones lésées).
- Après le choix des prélèvements destinés à l'analyse microscopique, les restes de la pièce analysée sont conservés pendant quelques jours ou semaines afin de pouvoir en cas de nécessité effectuer des prélèvements complémentaires (**Houlot, 1984**).

II.9.2. Etude microscopique :

La technique de base comporte plusieurs étapes : Fixation, déshydratation, inclusion en paraffine, réalisation des coupes et colorations, observation au microscope optique.

II.9.2.1. Fixation

Elle est indispensable pour conserver la morphologie cellulaire, elle doit être immédiate après l'obtention de prélèvement. Toute fixation défectueuse rend l'étude anatomo-pathologique difficile voire impossible (densification ou autolyse du tissu).

La durée de la fixation dépend de la taille du prélèvement ; entre 2 à 5 heures et 48 heures.

Le fixateur le plus habituellement utilisé est l'alcool formol à 10 %. Des précautions doivent être prises au cours de cette étape de la fixation, comme par exemple ; le volume du fixateur (formol) doit représenter 10 fois le volume de la pièce.

II.9.2.2.Déshydratation

Elle a lieu dans une série de bains d'alcool éthylique C₂H₅OH à degrés différents (6 bains), puis le prélèvement tissulaire passera dans des solvants organiques (acétone, xylène) afin d'éliminer l'alcool restant. La durée de la déshydratation est de 16 heures.

II.9.2.3.Imprégnation et inclusion à la paraffine :

On utilise la paraffine comme milieu d'inclusion et d'enrobage. La paraffine, de point de vue chimique, est un mélange d'hydrocarbures saturés et d'un faible pourcentage de cires. L'inclusion est une véritable imprégnation du tissu prélevé à l'échelle cellulaire et non seulement un simple enrobage. Le prélèvement tissulaire, ayant achevé leur fixation dans le formol et leur déshydratation dans une série de bains d'alcools, sera déposé directement dans des cassettes en plastiques. Puis la paraffine est coulée sur le prélèvement tissulaire en prenant soin d'orienter convenablement le prélèvement. La paraffine imprègne le tissu, et serait laissée refroidir. Une fois la paraffine refroidie, les cassettes marquées et les blocs sont prêts à la coupe.

II.9.2.4.Réalisation des coupes :

L'appareil utilisé est le microtome à paraffine (Marque : Leica 1510). Il comporte :

- Un support de rasoir.
- Un porte objet où sera inséré le bloc.
- Un système d'avance mécanique permettant le déplacement de l'objet en direction du rasoir.
- Un bouton gradué de 0 à 3 μ réglant l'épaisseur de la coupe.

Le bloc solide de paraffine contenant le tissu est coupé grâce au microtome (épaisseur de la coupe est réglée à 5 μ). Les coupes sont étalées sur des lames en utilisant de la chaleur qui permettra leurs dilutions, puis sont collées par une eau albumineuse chauffée sur les mêmes lames.

II.9.2.5.Coloration :

Avant de procéder à la phase de coloration des coupes, on doit réaliser plusieurs étapes de déparaffinage.

Matériel et Méthodes

- la 1ere étape consiste à un déparaffinage des lames ou des coupes sur une plaque chauffante.
- la 2eme étape de déparaffinage consiste à faire passer ces coupes dans une solution de xylène.
- la 3eme étape est la dissolution de la paraffine par hydratation qui consiste à éliminer le milieu d'inclusion et la réhydratation des tissus dans 03 bains d'alcools (absolu à 100°, 95°, 75°) de 5 min chacun.
- Rinçage à l'eau pour éliminer l'alcool.

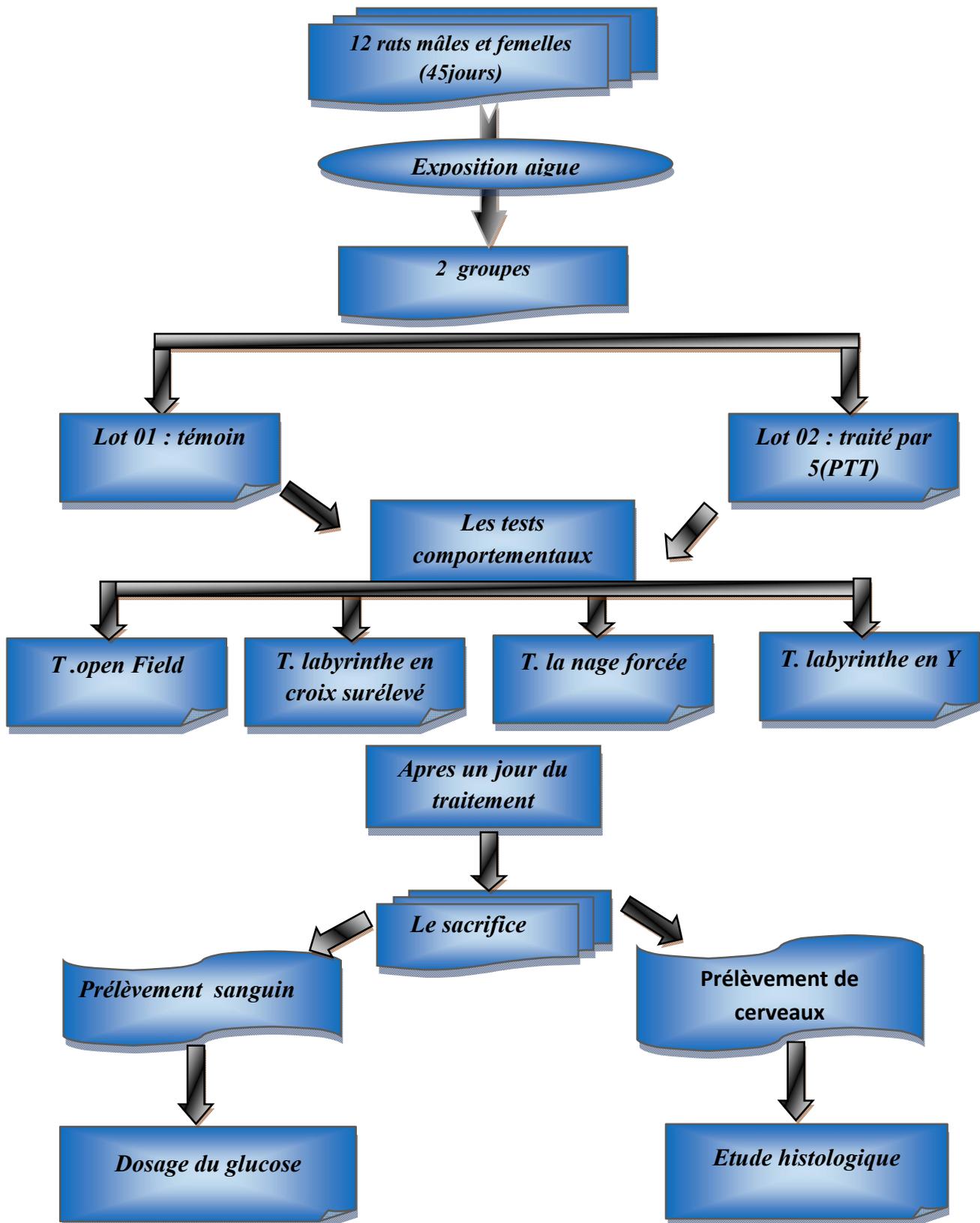
La coloration usuelle associe :

- un colorant basique nucléaire (Hématoxyline).
- un colorant acide cytoplasmique (Eosine, érythrosine, ou phloxine).

La phase de coloration des coupes déparaffinées à l'hématoxyline éosine nécessite le passage de ces coupes dans plusieurs bains d'alcool et de solvants organiques.

II.9.2.6.Montage des coupes :

- la coupe colorée est protégée par une lamelle de verre collée.
- il est nécessaire d'interposer entre la lame et la lamelle un milieu de montage.
- le milieu de montage utilisé est un liquide d'inclusion rapide (Eukite)
- une goutte de cette résine est déposée sur la lamelle puis appliquée.
- après montage des coupes, les lames seront déposées dans une étuve pour un séchage d'une heure.
- les lames seront enfin prêtes à l'observation microscopique et peuvent être conservées indéfiniment.
- Les coupes, colorées à l'hématoxyline éosine, sont examinées aux grossissements $\times 40$, $\times 100$ et $\times 400$.



Résultats et
Interprétation

III. Les résultats de l'exposition aigue :

III.1. Les Tests de comportement :

III.1.1. Le test du labyrinthe en croix surélevé :

L'analyse statistique révèle que durant le test du labyrinthe en croix surélevé, le nombre d'entrées dans les bras ouverts ainsi que le temps passé dans les bras ouverts sont significativement diminués ($p < 0,01$) chez les rats traités au Khacinothionyl par rapport aux rats témoins.

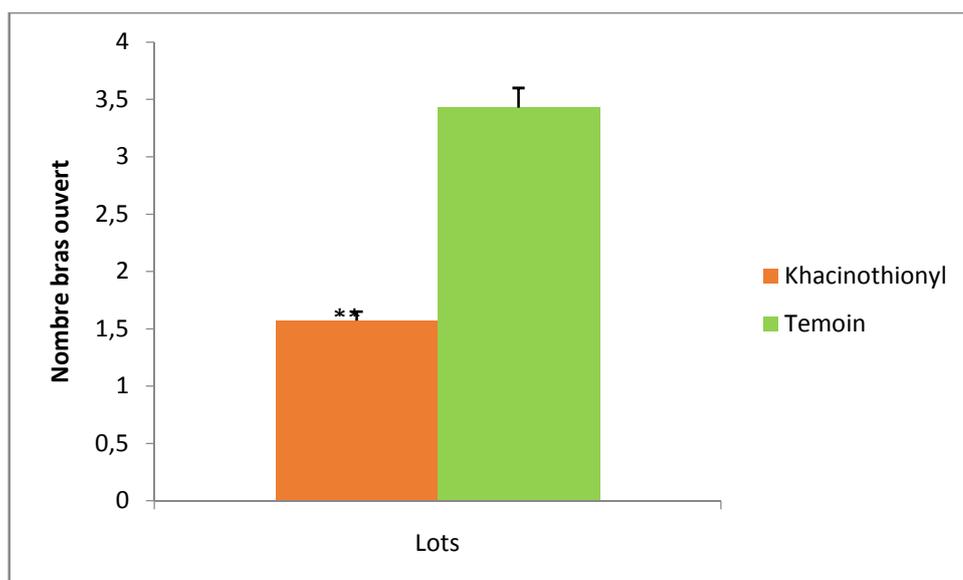


Figure 05 : Comparaison entre le nombre dans le bras ouverts chez les différents groupes exposés et non exposés. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (** : $p < 0.01$)

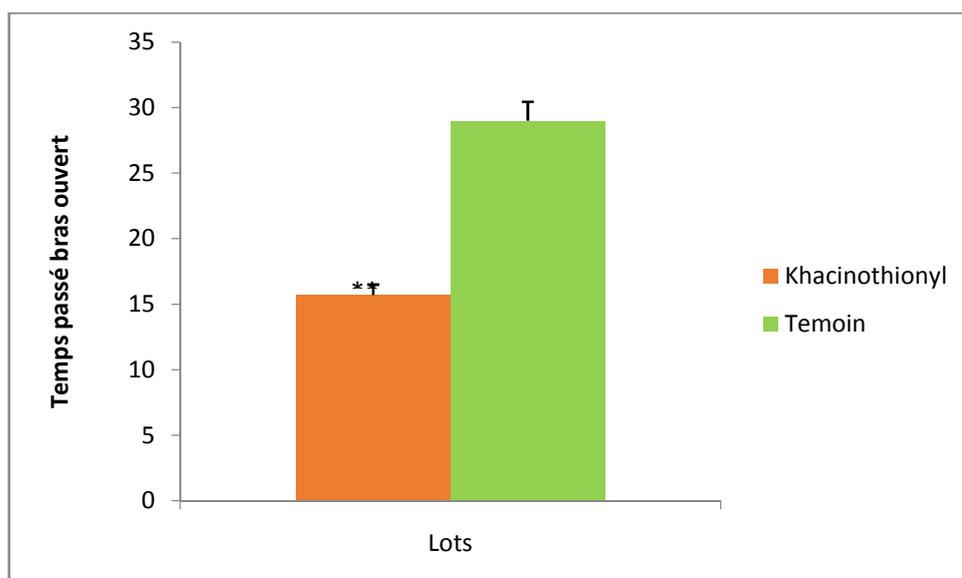


Figure 06 : Comparaison du temps passé dans le bras ouverts chez les différents groupes exposés et non exposés. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (** : $p < 0.01$)

III.1.2. Le test du labyrinthe en Y :

Les résultats obtenus pour le test de labyrinthe en Y montrent que le pourcentage d'alternance spontanée est significativement inférieur ($p < 0.05$) chez les rats exposés par Khacinothionyl par rapport aux rats témoins.

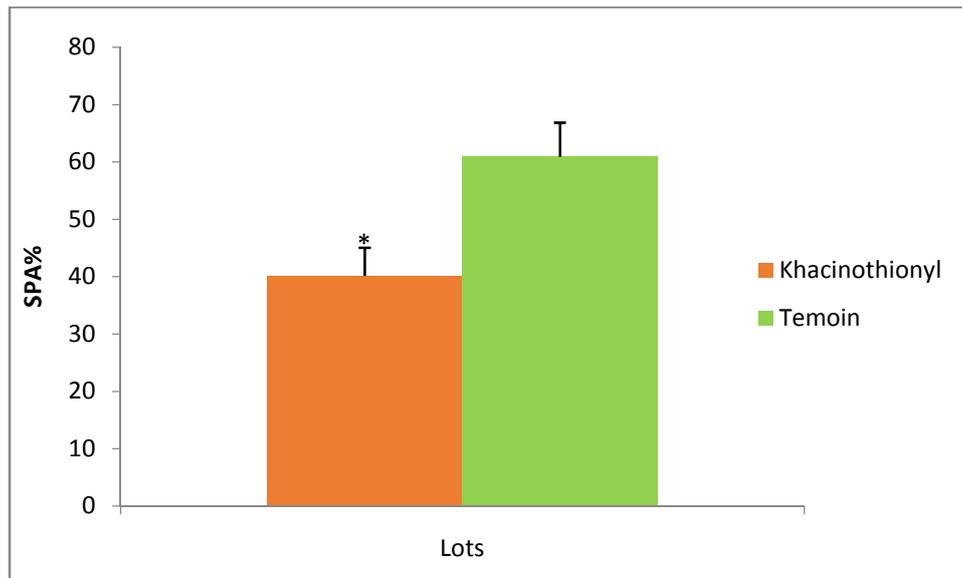


Figure 07 : Comparaison du pourcentage d'alternance spontanées entre les différents groupes traités et non traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (*: $p < 0.05$)

III.1.3. Evaluation d'un comportement d'exploration : test de l'open Field

Les résultats relatifs à ce test montrent que l'administration par voie intrapéritonéale à la dose 200mg/kg entraîne chez les sujets exposés au Khacinothionyl, une diminution significative de nombre de carreaux traversés comparés aux sujets témoins ($p < 0,001$).

Résultats et Interprétation

L'analyse statistique montre une élévation de temps de latence ($p < 0,001$), ainsi une diminution dans le nombre de carreaux traversés (l'activité locomotrice horizontale) ($p < 0,001$), qui s'accompagne par une modification dans les autres comportements stéréotypés une diminution significative de nombre défécation de lot exposé par rapport au lot témoin ($p < 0,001$).

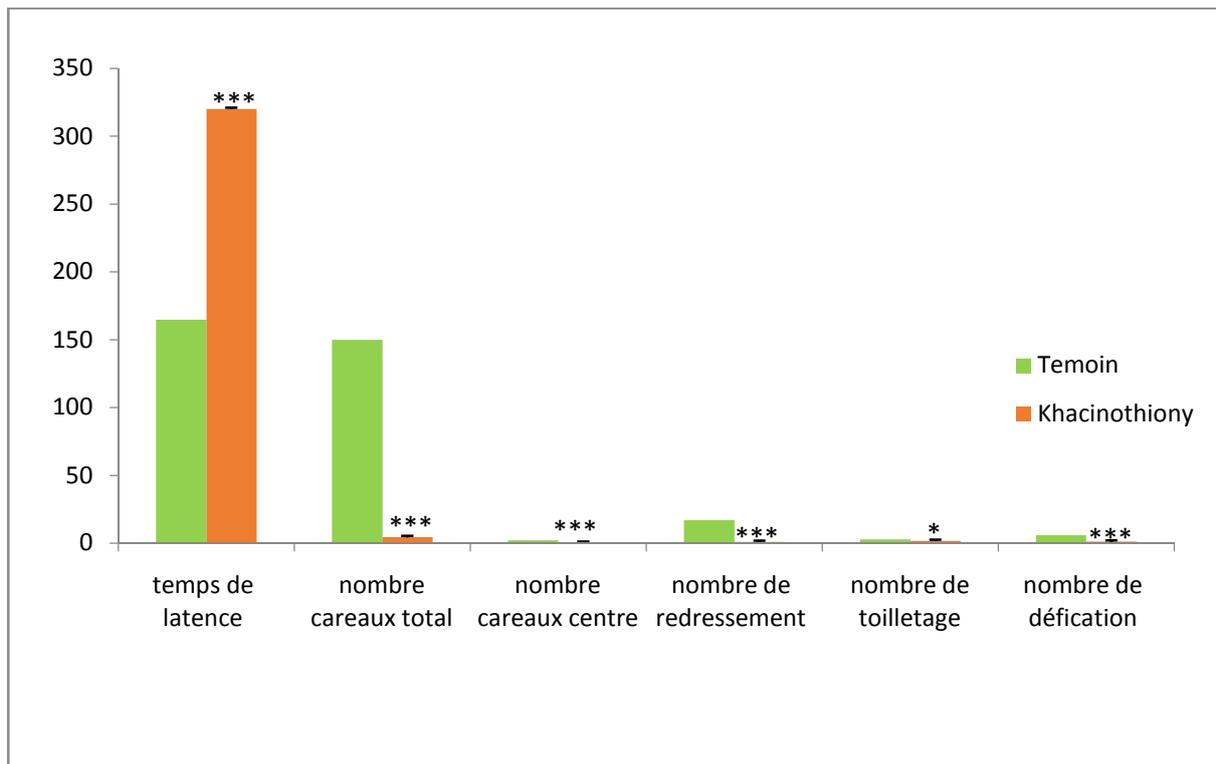


Figure 08 : Effet de l'exposition du (Khacinothionyl) sur l'activité locomotrice et comportement stéréotypé (Test open Field) comparés aux témoins. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0,001$; * : $p < 0,05$.

III.1.4. Comportement de type dépressif (Test de la nage forcée) :

Les résultats enregistrés présentent un temps d'immobilité (TIM) significativement supérieur chez les rats exposés Khacinothionyl par rapport à celui des rats témoins ($p < 0,001$).

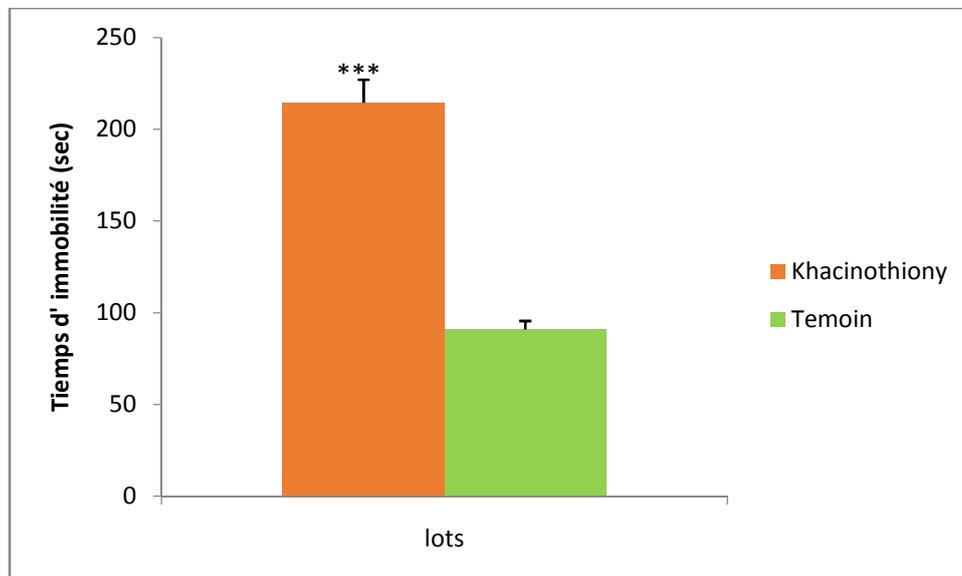


Figure 09 : Comparaison du temps d'immobilité durant le test de la nage forcée entre les sujets témoins et les sujets exposés. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (*: $p < 0,001$)

III.2. Dosage de glucose :

Afin de justifier ces données expérimentales nous avons procédé à la détermination de la glycémie chez les rats des deux lots sachant que le glucose est un bon marqueur de stress. Les résultats montrent une élévation significative ($p < 0,001$) du taux de glucose sanguin chez les sujets exposés au Khacinothionyl par rapport à celui des sujets témoins.

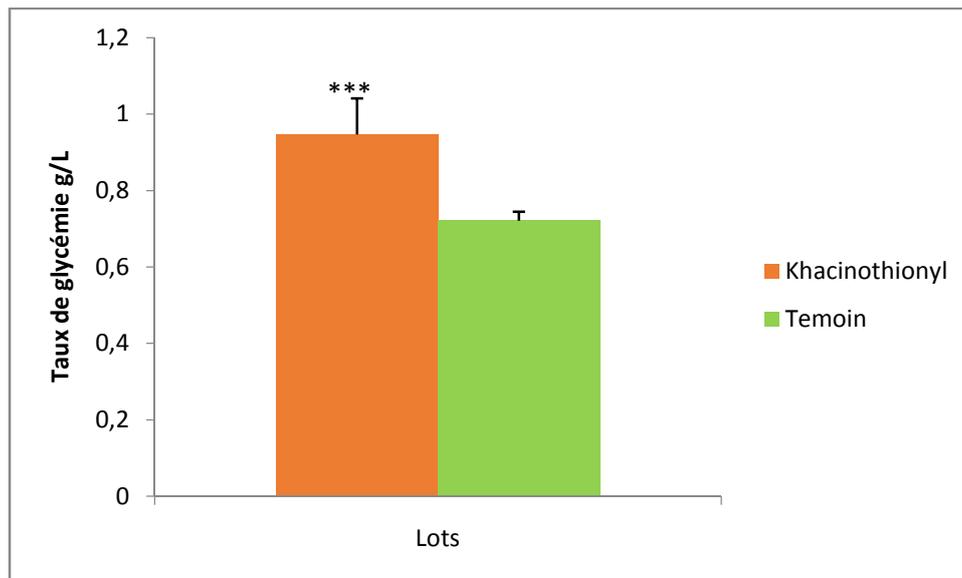


Figure 10 : Comparaison de la glycémie entre les rats témoins et les rats exposés par 5(PTT).
Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0,001$.

III.3. Etude histologique de tissu prélevé :

Les résultats obtenus présentent un aspect histologique sub normal sans signes inflammatoires, dystrophiques ou tumoraux chez les sujets exposés au Khacinothionyl par rapport à celle des sujets témoins.

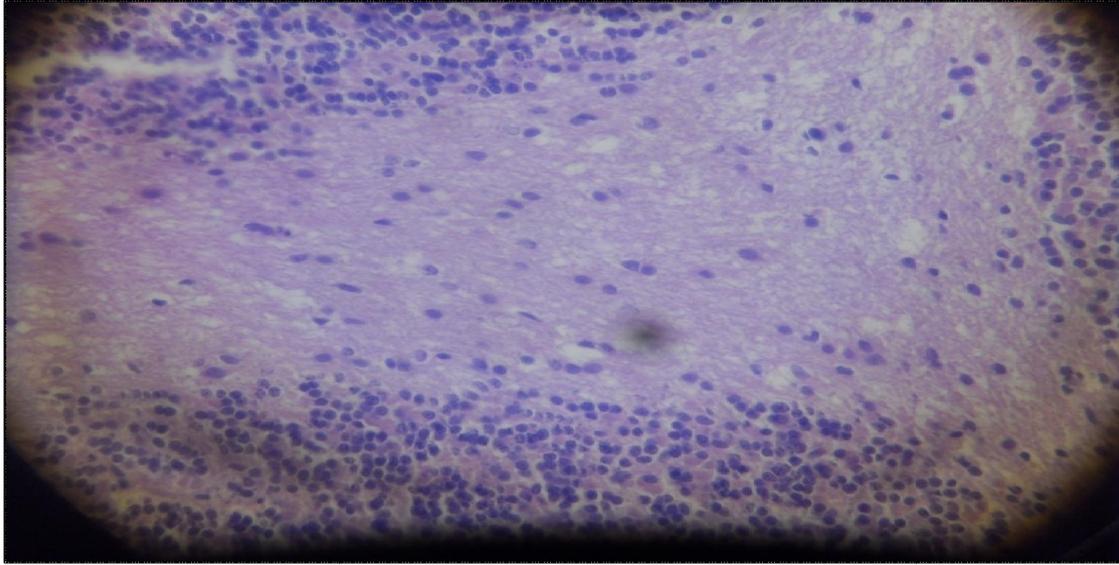


Figure 11 : observation microscopique d'une coupe de cerveau chez les rats témoins .Gr×40

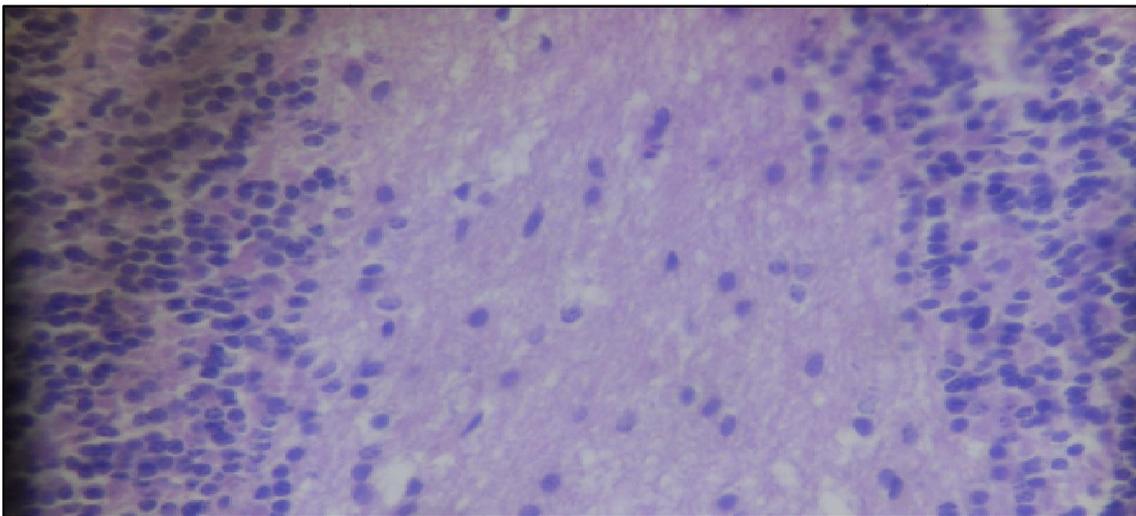


Figure 12 : observation microscopique d'une coupe de cerveau chez les rats exposés au Khacinothionyl.Gr×40

Discussion

Les 1, 2,4 triazoles constituent une classe de composés particulièrement utiles en synthèse organique et certains d'entre eux ont prouvé leur efficacité aussi bien dans le domaine pharmaceutique que médical. Ces composés sont généralement utilisés comme des inhibiteurs, des antagonistes et possèdent un effet cytotoxique sur les cellules cancéreuses **(Bouanane, 2007)**.

Ils sont également d'une grande utilité en chimie organique préparative aussi bien qu'ils ont des applications utiles dans l'agriculture et les polymères de l'industrie **(Ram et Pandey, 1974 ; Ergenc et al., 1992)**.

L'objectif de cette étude est d'évaluer les modifications d'ordres comportementales chez les jeunes rats exposés au (Khacinothionyl) à une dose de 200mg/kg (aigue).

Concernant, l'activité locomotrice et comportement stéréotypé l'exposition au (Khacinothionyl) à provoquer une diminution significative dans l'activité locomotrice horizontale et verticale, cette diminution dans l'exploration du milieu est accompagnée par la modification dans les comportements stéréotypés montrent que ce produit induit une hypoactivité locomotrice.

Ces résultats présentent que le (Khacinothionyl) permet l'installation d'un comportement d'anxiété. Il est illustré dans plusieurs études, que les changements engendrés par le triadimefon à une dose de 200mg au niveau cérébral par une altération de l'activité dopaminergique associée à une perte des récepteurs post-synaptique dans le corps strié, Ainsi l'activité noradrénergique au niveau du striatum **(Reeves et al., 2003,2004 ;Santana et al., 2009) . Crofton, 1996** a rapporté que montrent que l'exposition au triadimefon à une dose de 50-400 mg/kg induit une diminution de la recapture de la dopamine par les terminaisons pré-synaptiques. De même, d'autres chercheurs ont montré que l'action de Triadimefon induit une baisse de la synthèse, la libération de la dopamine ou par l'inhibition des récepteurs dopamine D1 et D2. **(Walker et al., 1990;Macphail et al.,1993 ;Ogren et al.,1994;Nikolay et al., 2001 ;Moser et al.,2001 ANSES,2011)**.

Par ailleurs, le test de labyrinthe en croix surélevée est un test qui a pour objectif d'évaluer le degré d'anxiété. On a noté que les animaux exposés au Khacinothionyl présentent une faible tendance à explorer les bras ouverts, ainsi que le temps passé dans (BO) ce qui indique un niveau d'anxiété significatif comparé aux témoins, ces résultats montrent bien que Khacinothionyl réduit fortement leurs facultés exploratrices par son effet anxiogène. Les désordres comportementaux observés chez l'animal anxieux orientent la réflexion vers l'existence

d'un dysfonctionnement dans la circulation ou le traitement de l'information au sein du système nerveux central (**Fairon, 2006**).

Le myclobutanil est un dérivé de triazole entraîne à une dose 1800 ppm durant 2 ans une inhibition des récepteur 5HT₂, qui sont impliqués aux niveaux central jouant un rôle dans le contrôle de l'anxiété et la dépression. Sachant que, le système sérotoninergique a un rôle central dans la modulation d'anxiété (**Voig et al., 1998**) ; une augmentation de niveaux 5-HT dans l'hippocampe est à l'origine d'un effet d'anxiogène (**Reeves et al., 2004**).

Nous avons également observés dans le test de labyrinthe en Y une diminution de pourcentage d'alternance spontanée chez le lot exposé comparés au lot témoin ceci montre que l'exposition aigue au Khaciniothionyl affecte l'apprentissage et la mémoire.

Ces résultats corroborent avec ceux de (**Lathe, 2001**), qui indiquent que l'exposition au tébuconazole produit des déficits neurocomportementaux chez les rats associée à une diminution du rendement de l'apprentissage. Ce déficit d'apprentissage est bien corrélé avec les résultats neuropathologiques (la perte de cellules pyramidales dans l'hippocampe). (**Moser et al., 2001**).

Les études montrent que l'exposition au Propiconazole, Triadimefon et Myclobutanil affecte le système glutamatergique, spécifiquement le complexe du récepteur NMDA qui entraîne une grande variété des changements de la signalisation intracellulaire et de la plasticité synaptique dans l'hippocampe qui sont connus pour interférer lors de l'apprentissage et la mémorisation (**Reeves et al, 2003**).

Cependant, les données observées pour la nage forcée ont rapportés un temps d'immobilité (TIM) significativement élevé chez le groupe exposé au Khaciniothionyl par rapport à celui de groupe témoin. Cette augmentation de (TIM) explique l'incapacité de l'animal à nager ceci est due à une diminution du tonus musculaire et l'instauration d'un comportement de désespoir l'immobilité est interprétée comme un état dépressif. Ces résultats sont en accord avec ceux (**Nikolay et al., 2001 ; Moser et al., 2001 ; Santana et al., 2009**), qui expliquent que l'exposition au triadimefon provoque l'altération des voies dopaminergiques et sérotoninergiques au niveaux cérébral principalement striatum et hippocampe.

Afin de justifier ces données expérimentales nous avons procédé à un dosage de glucose qui est un bon indicateur de stress. L'exposition au Khaciniothionyl a permis d'enregistrer une hyperglycémie chez les animaux traités comparés aux sujets témoins.

Discussion

Cela signifie que le Myclobutanil entraîne un dysfonctionnement du métabolisme énergétique, cette augmentation de la concentration sanguine de glucose est probablement le résultat de la glycogénolyse hépatique (**Gillies et al., 2008 ; Heiden et al., 2009**).

Les travaux de (**Vander Heiden et al., 2009**) confirment que l'exposition au Propiconazole à une dose 157.6 mg/kg par jour inhibe le NADH nécessaire pour la phosphorylation oxydative de la chaîne respiratoire au niveau de la mitochondrie du foie qui se traduit par une réduction de la formation d'ATP nécessaire pour la synthèse de glycogène ainsi il affecte le cycle du Krebs avec altération du métabolisme de pyruvate (**Nesnow et al., 2009**). En effet les travaux réalisés par (**Rodriguez et Acosta, 1996 ; Nesnow et al., 2011**), révèlent que l'exposition au propiconazole engendre un effet stressant qui se traduit par une hyperglycémie sous l'action des hormones de stress à savoir, la cortisone au niveau de l'hypothalamus, l'hypophyse et la glande surrénale respectivement, activant ainsi les enzymes du métabolisme glucidique.

Dans le cadre de voir si l'exposition aiguë au Khacinothionyl à une dose de 200mg/kg s'accompagne d'une altération de l'architecture tissulaire de cerveau, nous avons réalisé des coupes au niveau de cerveau chez les sujets exposés et les sujets témoins. Les résultats présentent aucune différence, l'aspect histologique normal sans signes inflammatoires, dystrophiques ou tumoraux chez les sujets exposés au Khacinothionyl par rapport à celle des sujets témoins.

Conclusion

Conclusion

Les résultats montrent que l'administration au (Khacinothionyl) par voie intra péritonéale à une dose de 200mg/kg chez les rats entraîne une diminution significative de l'activité locomotrice (verticale et horizontale), qui s'accompagne par un changement du comportement stéréotypé. Cette hypoactivité locomotrice pourrait être la conséquence de l'action de ce composé qui altère certaines voies de neurotransmetteurs. La perturbation de la synthèse des catécholamines ou bien de leur libération au niveau synaptique.

Pour la même dose de (Khacinothionyl), nous avons également observés une diminution de pourcentage d'alternance spontanée chez le lot exposé comparés au lot témoin ceci montre que l'exposition aigue au (Khacinothionyl) est neurotoxique, entraîne des troubles d'apprentissage et mémorisation.

Les résultats relatifs aux tests de comportement plus précisément ceux de l'anxiété et la dépression dévoilent clairement que l'exposition au (Khacinothionyl) entraîne un état anxieux et dépressif. Ces états ont été confirmés par le dosage de glucose indiquant ainsi une hyperglycémie chez les animaux exposés comparés aux animaux témoins.

L'exposition aigue (Khacinothionyl) à jeune âge pourrait être un facteur critique responsable des déficits comportementaux ainsi que la perturbation de certaines voies métaboliques.

A la lumière de ces résultats trouvés, il serait envisageable d'entreprendre un protocole expérimental plus approfondi portant sur différents volets :

- Elargir la batterie de test comportemental afin de mieux estimer l'effet neurotoxique du (Khacinothionyl) et son impact sur les performances d'apprentissage et la mémoire spatiale.
- Explorer les activités de certaines enzymes impliquées dans le développement cérébral à savoir phosphatase alcaline en particulier durant la gestation et lactation.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

1. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES). (2011), 27-31 av. du Général Leclerc, 94701 Maisons-Alfort Cedex.
2. **AgrawalRajkumar and Pancholi S. S.** (2011). Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial activity of a series of 1, 2,4-triazoles. *ScholarsResearch Library Der Pharma Chemica*, 2011, 3 (6) p 32-40.
3. **Abu Mohsen usama ., BediaKocuyigit-Kaymakcioglu ., AhmetOzgurCelen ; ZaferAsimKaplancikli.,** Some Urea and Thiourea Derivatives Bearing 1, 2,4-Triazole Ring and Their Anti-Acetylcholinesterase Activities, 2014.
4. **Anstead GM., Corcoran G., J Lewis, Berg D., Graybill J R.** *Clin Infect Dis.* 2005 ; 40 : 1770-1776. doi: 10.1086 / 430303 [[PubMed](#)] .
5. **A. Almasirad, S. A. Tabatabai, M. Faizi, A. Kebriaeezadeh, N. Mehrabi, A. Dalvandi , A. Shafiee,***Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.,***14** (2004) 6057–6059.
6. **R. Agrawal, S. S. Pancholi,***Der Pharma Chemica.,***3** (2011) 32-40.

B

7. **Binauld S., Hawker C. J., Fleury E ., DrockenMulleur E .,** A Modular Approach to Functionalized and Expanded Crown Ether Based Macrocycles Using Click Chemistry13, *AngewandteChemie International Edition*, **2009**, 48, p. 6654-6658 .
8. **Bodo Philippe., Maltehoff ., Florence germa., Bernhard schink., Dieter beiMborn , And Dvolkermersch - Sundermann ;** Biochemical Interpretation of Quantitative Structure-ActivityRelationships (QSAR) forBiodegradation of N-Heterocycles:A Complementary Approach to Predict Biodegradability ,2007.
9. **Barton H.A ., Tang, J., Sey Y.M., Stanko J.P., Murrell, R.N., Rockett, J.C. and Dix, D.J.** (2006). Metabolisme of myclobutanil and triadimefon by human and rat cytochrome P450 enzymes and liver microsomes. *Xenobiotica* p 36, 793-906.
10. **Banachiewicz, B. M., Banachiewicz, J., Chodkowska, A., Wójtowicz, E. J., Mazur, L.,** Synthesis and biological activity of new derivatives of 3-(3,4-diaryl-1, 2,4-triazole-5-yl)propenoic acid. *Eur. J. Med. Chem.,* **2004**, p 39, 873-877.
11. **Burgess DS, Hastings R W.** *DiagnMicrobiol Infect Dis. ,* 2000 ; 38 : 87-93. doi: 10.1016 / S0732-8893 (00) 00173-5 [[PubMed](#)] .

C

Références Bibliographiques

12. **Chen, P.-J ; Moore, T and Nesnow, S.** (2008). Cytotoxic effects of propiconazole and its metabolites in mouse and human hepatoma cells and primary mouse hepatocytes. *Toxicol. In Vitro* 22, 1476–1483.
13. **Crofton, K.M., Boncek, V.M., Macphail, R.C.** (1989). Evidence for monoaminergic involvement in triadimefon-induced hyperactivity. *Psychopharmacology* 97, 326–330.
14. **Capan, G., Ulusoy, N., Ergenc, N., Kiraz, M.** *Monatsh. Chem.* 1999, 130, 1399-1407.
15. **Crofton, K.M., Boncek, V.M., Reiter, L.W.** (1988). Hyper activity induced by triadimefon, a triazole fungicide. *Fundamental Applied Toxicology*, 10, 459–465, 0272-0590.
16. **Cédric Brule.** (2004). Dithioacétals de perfluorocétènes. Applications à la synthèse d'hétérocycles trifluorométhylés .
17. **Courtney R., S Pai, Laughlin M., J Lim., Batra V.** Antimicrob Agents Chemother. 2003 ; 47 : 2788-2795. doi: 10.1128 / AAC.47.9.2788-2795.2003 [[Article PMC gratuit](#)] [[PubMed](#)] .
18. **Crofton, K.M.** (1996). A structure–activity relationship for the neurotoxicity of triazole fungicides. *Toxicol. Lett.* 84, 155–159.

D

19. **Demirba, N., Ugurluoglu, R., Demirbas, A.** Synthesis of 3-alkyl(Aryl)-4-alkylidenamino-4,5-dihydro-1H-1, 2,4-triazol-5-ones and 3-alkyl-4-alkylamino-4,5-dihydro-1H-1, 2,4-triazol-5-ones as antitumor agents. *Bioorg. Med. Chem.*, 2002, 10, 3717-3723.
20. **Denning, Favero AD, Gluckman E, D Norfolk, Ruhnke M, Youren S, P Troke, Sarantis N** résumés de la 35e Conférence Inter science sur les agents antimicrobiens et la chimiothérapie. Washington, DC : American Society for Microbiology; 1995. UK-109,496, un roman, triazoles large spectre dérivés pour le traitement des infections fongiques : l'efficacité clinique dans l'aspergillose invasive aiguë, abstr. F80.

E

21. **EPA** (U.S. Environmental Protection Agency)., 2006. 1, 2,4-Triazole, triazole Alanine, Triazole Acetic Acid : Human Health Aggregate Risk Assessment in Support of Reregistration and Registration Actions for Triazole-derivative Fungicide Compounds.
22. **EPA** (U.S. Environmental Protection Agency) ,2009.HPV Challenge Program Test plan submission 1-H-1, 2,4-Triazole (TA) CAS No.2888-88-0.
23. **EFSA** (European Food Safety Authority)., 2009.Scientific Opinion on Risk Assessment for a Selected Group of Pesticides from the Triazole Group to Test Possible

Références Bibliographiques

Methodologies to Assess Cumulative Effects from Exposure through Food from these Pesticides on Human Health..

24. **Espinel-Ingroff A, K Boyle, J. Sheehan D** Mycopathologia. 2001 ; 150 : 101-115. doi: 10.1023 / A: 1010954803886 [[PubMed](#)] .

F

25. **Faro Rosana.** (2010). Neurotoxic Effects of Triazole Fungicides on Nigrostriatal Dopaminergic Neurotransmission, Fungicides, OdileCarisse (Ed.), ISBN: 978-953-307-266
26. **FialaAbdelali, 2007.**Synthèse et caractérisation nouvelles molécules contenant du soufre et de l'azote, études de leur effet inhibiteur sur la corrosion des métaux de transition application a là, protection du cuivre en milieux acides.

G

27. **GhulamQadeer.** (2008). Synthesis, Characterization and Biological Activities of Isocoumarins, Triazoles, Thiadiazoles and Indolinones. P, 152,54 ,55.
28. **Gupta A. K.,Prachand S., Patel A., Jain. S.,** Synthesis of some 4-amino-5 (substitutedphenyl)- 4H-[1, 2, 4] triazole-3-thiol derivatives and antifungal activity. Int. J. of Pharm. Life Sci., **2012**, 3, 1848-1857.
29. **Goetz, A. K., Bao, W., Ren, H., Schmid, J. E., Tully, D. B., Wood, C. R., Rockett, J. C., Narotsky, M. G., Sun, G., Lambert, G. R.,et al.**(2006). Gene expression profiling in the liver of CD-1 mice to characterize the hepa-totoxicity of triazole fungicides. Toxicol. Appl. Pharmacol.215, 274–284.
30. **Goetz, A.K., Ren, H., Schmid, J.E., Blystone, C.R., Thillainadarajah, I., Best, D.S., Nichols, H.P., Strader, L.F., Wolf, D.C., Narotsky, M.G., Rockett, J.C., Dix, D.J.**(2007) . Disruption of testosterone homeostasis as a mode of action for the reproductive toxicity oftriazole fungicides in the male rat. Toxicol. Sci. 95, 227–239.
31. **Groll AH., Piscitelli SC., Walsh T J.** pharmacothérapie. 2001 ; 21 : 133S-148S. doi: 10.1592 / phco.21.12.133S.34507 [[PubMed](#)] .
32. **Groll AH., Piscitelli SC., Walsh T J.** AdvPharmacol (San Diego, CA, Etats-Unis) 1998 ; 44 : 343-500.doi: 10.1016 / S1054-3589 (08) 60129-5 [[PubMed](#)] .
33. **González GM, Fothergill AW, Sutton DA, Rinaldi MG,** Loebenberg D. Med Mycol. 2005 ; 43 : 281-284. doi: 10.1080 / 13693780500088416 [[PubMed](#)] .
34. **Gillies, R. J., Robey, I., and Gatenby, R. A.** (2008). Causes and consequences of increased glucose metabolism of cancers.J. Nucl. Med. 49(Suppl. 2), 24S–42S.

H

Références Bibliographiques

35. **Holla, B. S., Veerendra, B., Shivananda, M. K., Poojary, B.**, Synthesis, characterization and anticancer activity studies on some Mannich bases derived from 1,2,4-triazoles. *Eur. J. Med. Chem.*, **2003**, *38*, 759-767.
36. **Houlot. R.** (1984), Techniques d'histopathologie et de cytopathologie ; *Ed. Maloine* : 19-21, 225-227.
37. **Hunashal RD., RonadPM ., Maddi VS ., Satyanarayana D ., Kamadod MA.** Synthesis, anti-inflammatory and analgesic activity of 2-[4-(substituted benzylideneamino)-5-(substituted phenoxyethyl)-4*H*-1, 2,4-triazol-3-yl-thio] acetic acid derivatives. *Arab J Chem* 2011 ; 1-9.
38. **Heiden Vander, Cantley M. G., L. C., and Thompson C. B.** (2009). Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 324, 1029–1033.

I

39. **INRS.** (2010) .fiche établie par les services techniques et médicaux de 'INRS (N.bonanard,D.Jargot, M.falcy) avec la participation de l'AFSSA
40. (A .fastier,S.oudar,M.O.Rambourg).
41. **INRS.** (2014) .fiche établie par les services techniques et médicaux de 'INRS (,D.Jargot, M.falcy, S.Robert) avec la participation de l'ANSES (A .Cavelier,A.Fastier,M.O.Rambourg).
42. **IPCS INCHEM.** (1985). Joint Meeting on Pesticide Residues: 733. Triadimefon, Pesticide residues in food evaluations Part II Toxicology.

J

43. **Journal officiel**, 2006, mélanges de produits phytosanitaires, Avertissement agricoles, disponible sur :<http://e-phy.agriculture.gouv.fr/> .
44. **Jawichdalal**, 2006, Etude de la toxicité de pesticides vis-à-vis de deux genres de levures : approche cinétique et moléculaire.

K

45. **Kus, C., Kılıçgil, G. A., Ozbey, S., Kaynak, F. B., Kaya, M., Coban, T., Can-Eke, B.**,
46. Synthesis and antioxidant properties of novel *N*-methyl-1, 3,4-thiadiazol-2-amine and 4-methyl-2*H*-1, 2,4-triazol-3 (4*H*)-thione derivatives of benzimidazole class. *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, *16*, 4294-4303.
47. **Kalivas, P. W., Sorg, B. A., and Hooks, M. S.** (1993). The pharmacology and neural circuitry of sensitization to psychostimulants. *Behav. Pharmacol.* 4, 315–334.
48. **Koutseff Alexis**, (2011) thèse de doctorat étude de l'interaction entre stress chronique et Polymorphisme de l'apolipoprotéine E dans le processus émotionnels et cognitifs chez

Références Bibliographiques

la Souris : implication dans la maladie d'Alzheimer. l'huile essentielle d'ylang-ylang (*Cananga odorata* (Lamarck) J.D. Hooker et Thomson).

49. **M. S. Karthikeyan**, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **44** (2009) 827-833.

L

50. **Laibhana**. (2009). Application des hétérocycles azotés à cinq chaînons comme additifs aux polymères, p26.
51. **Loi D., Moore CB., Denning D W.** *Antimicrob Agents Chemother.* 1997 ; 41 :. 2310-2311 [[Article PMC gratuit](#)] [[PubMed](#)].
52. **Lokesh, S.V., Satpati, A. K., Sherigara, B. S.**, Electrochemical behavior of 1, 2,4-triazole and benzotriazole at glassy carbon electrode in acidic media. *The Open Electrochemistry Journal*, 2010, 2, 15-21.
53. **Lazrak* L 1,2. , A. Keita2. , Y. Ramli1, K. Karrouchi1, Y. Zaoui1, M. Ansar1, J. Taoufik1 and E. M. Essassi2**, 2014, Synthesis of some new 1, 2,4-triazole derivatives, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2014, 6(12):754-759 .
54. **Lebouvier, N., Pagniez, F., Duflos, M., Pape, P. L., Min Na, Y., Bauta, G. L., Borgnea, M. L.**, Synthesis and antifungal activities of new fluconazole analogs with azaheterocycle moiety. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, 17, 3686-3689.
55. **Lopez B ., Laurent A, 2013**, Campagne exceptionnelle d'analyse des substances présentes dans les eaux souterraines de métropole. Rapport final. BRGM/RP-61853-FR
56. **Leslie C., Reidy, G. F., and Stacey, N. H.** (1988). The effects of propiconazole on hepatic xenobiotic biotransformation in the rat. *Biochem Pharmacol* **37**, 4177-81. .
57. **Lathe, R.** (2001) Hormones and the hippocampus. *J Endocrinol.* **169**, 205-231.

M

58. **Mishera Rupesh., Pendeya Surendra Nath., Pathak Ashish**, 2011, Triazole : Apotential bioactive agent (synthesis and biological activity) *IJRAP* 2011, 2 (5) 1490-1494 .
59. **Matthew T., Martin., Richard J., Brennan ., Wenyue Hu., Eser Ayanoglu., Christopher Lau., Hongzu Ren., Carmen R. Wood., J. Christopher Corton., Robert J. Kavlock, and David J. Dix**, 2007, Toxicogenomic Study of Triazole Fungicides and Perfluoroalkyl Acids in Rat Livers Predicts Toxicity and Categorizes Chemicals Based on Mechanisms of Toxicity .
60. **Manavathu EK, Cutright JL, Chandrasekar P H.** *Antimicrob Agents Chemother.* 1998 ; 42 :. 3018-3021 [[Article PMC gratuit](#)] [[PubMed](#)]
61. **Mendez, J. H., Martinez, R. C., Gonzalo, E. R.**, Electroanalytical study of the pesticide guthion. *J. Electroanal. Chem.*, 1988, **244**, 221-233.

Références Bibliographiques

62. Moser, V.C., Barone Jr., S., Smialowicz, R.J., Harris, M.W., Davis, B.J., Overstreet, D., Mauney, M., Chapin, R.E., 2001. The effects of perinatal tebuconazole exposure on adult neurological, immunological, and reproductive function in rats. *Toxicol. Sci.* 62, 339–352.
63. Moser, V.C., Cheek, B.M., Macphail, R.C., 1995. A multidisciplinary approach to toxicological screening. III. Neurobehavioral toxicity. *J. Toxicol. Environ. Health* 45, 173210.
64. MacPhail, R.C., Farmer, J.D., Chu, T.H., & Walker, Q.D. (1993). Dopaminergic participation in triadimefon-induced hyperactivity. *Society for Neuroscience Abstract*, 19, 486.1.
65. Mäkinen Milja, Tervo Leo, Tuomainen Anneli And Kangas Juhani. (2006). Triadimefon in Forestry Nurseries : Operator Exposure and the Effectiveness of Spraying Methods . *Baltic Forestry*, 12 (1): 46–50.
66. Matie Fairon, 2006, Lanxiete chez les animaux de compagnie : approches conceptuelle, clinique et therapeutique .

N

67. Nesnow Stephen ., 1 William T., Padgett, and Tanya Moore, 2011, Propiconazole Induces Alterations in the Hepatic Metabolome of Mice: Relevance to Propiconazole-Induced Hepatocarcinogenesis *TOXICOLOGICAL SCIENCES* 120(2), 297–309 (2011) .
68. Nelson, D.R., Zeldin, D.C., Hoffman, S.M., Maltais, L.J., Wain, H.M., Nebert, D.W. (2004). Comparison of cytochrome P450 (CYP) genes from the mouse and human genomes, including nomenclature recommendation for genes, pseudogenes and alternative-splice variants. *Pharmacogenomics* 14, 1-18.
69. Nikolay M. Filipov and David A. Lawrence. (2001). Developmental Toxicity of a Triazole Fungicide: Consideration of Interorgan Communication. *TOXICOLOGICAL SCIENCES* 62, 185–186.
70. Nesnow, S., Ward, W., Moore, T., Ren, H., and Hester, S. D. (2009). Discrimination of tumorigenic triazoleconazoles from phenobarbital by transcriptional analyses of mouse liver gene expression. *Toxicol. Sci.* 110, 68–83.
71. Nour yassine, 2011, lésions sélectives de deux populations de neurones affectées dans la maladie d'alzheimer : impact sur les performances cognitives et l'histopathologie des souris tg2576 page 61-62.

O

Références Bibliographiques

72. **Ogren, S. O., Rosen, L., and Fuxe, K.** (1994). The dopamine D2 antagonist remoxipride acts in vivo on a subpopulation of dopamine D2 receptors. *Neuroscience* 61, 269–283.

P

73. (PRVD). Proposed Re-evaluation Decision (2011), Fongicides techniques Propiconazole. Santé Canada.
74. (PRD). Projet de décision d'homologation(2012)- 29 Fongicides techniques Tétraconazole .Santé Canada.
75. **Pearson MM., PD Rogers., JD Cleary., Chapman S W.** *Ann Pharmacother.* 2003 ; 37 : 420-432. doi: 10.1345 / aph.1C261 [[PubMed](#)]
76. **Pfaller MA., Messer SA., Hollis RJ., Jones RN., Diekema D J.** *Antimicrob Agents Chemother.* 2002 ; 46 : 1723-1727. doi: 10.1128 / AAC.46.6.1723-1727.2002 [[Article PMC gratuit](#)] [[PubMed](#)] .
77. **Pellow S, Chopin P, File SE** (1985) Are the anxiogenic effects of yohimbine mediated by its action at benzodiazepine receptors, *neurosci Lett* 55(1) :5-9.
78. **Porsolt RD, Lepichon M, Jalfre M** (1977) Depression : a new animal model sensitive to anti depressant treatments . *Nature* 266(5604) :730-732.

R

79. **Russell Lewis., PharmD,** 2010, Triazole Adverse Effects, Toxicity, and Safety .
80. **Raad II, Graybill JR, Bustamante AB, Cornely OA, Gaona-Flores V, Afif C, Graham DR, Greenberg RN, Hadley S, Langston A, et al.** *Clin Infect Dis.* 2006 ; 42 : 1726-1734. doi: 10.1086 / 504328 [[PubMed](#)] .
81. **Ronis, M.J., Ingelman-Sundberg, M., and Badger, T.M.,** (1994). Induction suppression and inhibition of multiple hepatic cytochrome P450 isozymes in the male rats and bobwhite quail (*Colinus virginianus*) by ergosterol biosynthesis inhibiting fungicides (EBIFs). *Biochem. Pharmacol.* 48, 1953-1965.
82. **Reeves, R., Thiruchelvam, M., Richfield, E.K., Cory-Slechta, D.A.,** 2003. Behavioral sensitisation and long-term neurochemical alterations associated with the fungicide triadimefon. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 76, 315–326.
83. **Reeves, R., Thiruchelvam, M., Cory-Slechta, D.A.,** 2004. Development of behavioural sensitisation to the cocaine-like fungicide triadimefon is prevented by AMPA, NMDA, DA D1 but not DA D2 receptor antagonists. *Toxicol. Sci.* 79, 123–136.
84. **Rodriguez, R.J., Acosta Jr., D.** (1996). Inhibition mitochondrial function in isolated rat liver mitochondria by azole antifungals. *J. Biochem. Toxicol.* 11, 127–131.

Références Bibliographiques

85. **A.F. Rostom** , **A. Shalaby** , **A. El-Demellawy**, *European Journal of Medicinal Chemistry.*, **38** (2003) 959-974

S

86. **Skolness Sarah Y., Blanksma Tchad A ., Cavallin Jenna E., Churchill Jessica J., Durhan Elizabeth J., Jensen Kathleen M ., Johnson Rodney D ., Kahl Michael D ., Makynen Elizabeth A ., Villeneuve Daniel L ., et Ankley Gerald T.**(2013) Propiconazole Inhibe Steroidogenesis et reproduction dans la tête-de-boule. *Toxicol. Sci.* 132 (2): 284 – 297.
87. **Shiradkar, M.; Kumar, G. V. S.; Dasari, V.; Tatikonda, S.; Akula, K. C.; Shah, R.**, Clubbed triazoles: A novel approach to antitubercular drugs. *Eur. J. Med. Chem.*, 2007, *42*, 807-816.
88. **Sun, Q. Y.; Xu, J. M.; Cao, Y. B.; Zhang, W. N.; Wu, Q. Y.; Zhang, D. Z.; Zhang, J.; Zhao, H. Q.; Jiang, Y. Y.**, Synthesis of novel triazole derivatives as inhibitors of Cytochrome P450 14 α -demethylase (CYP51). *Eur. J. Med. Chem.*, 2007, *42*, 1226-1233.
89. **Sun S, Lou H, Gao Y, Fan P, Ma B, Ge W, Wang X** (2004) Liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for the analysis of fluconazole and evaluation of the impact of phenolic compounds on the concentration of fluconazole in *Candida albicans*. *J Pharm Biomed Anal* 34:1117–1124.
90. **Shaker Raafat M.** (2006) The Chemistry Of Mercapto- And Thione- Substituted 1, 2,4-Triazoles And Their Utility In Heterocyclic Synthesis. Chemistry Department, Faculty Of Science, El-Minya University, El-Minya, Egypt.
91. **Santanaa M.B, Rodrigues K.J.A, R. Duran, Alfonso M, Vidal L, Campos F, D’Oliveira I.M, Faro L.R.F.** (2009). Evaluation of the effects and mechanisms of action of flutriafol, a triazole fungicide, on striatal dopamine release by using in vivo microdialysis in freely moving rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 1565, 0147-6513.

T

92. **Tripathi K D.** *Essentials de la pharmacologie médicale.* 5. Delhi, Inde :Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd ; 2004. pp. 721-722.
93. **Tully, D.B., Bao, W., Goetz, A.K., Ren, H., Schmid, J.E., Strader, L.F., Wood, C.R., Best, D.S., Narotsky, M.G., Wolf, D.C., Rockett, J.C., Dix, D.J.** (2006). Gene expression profiling in liver and testis of rat to characterize the toxicity of triazole fungicides. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 215, 260-273.

Références Bibliographiques

V

94. **Voigt Jp, Rex A, Shor R, Fink H.** (1998) Hippocampal 5-HT and NE release in the transgenic rat TGR (mREN2) related to behaviour on the elevated plus-maze. *Eur. Neuropsychopharmacol* 9: 279-285.

W

95. **Walker, Q.D., Lewis, M.H., Crofton, K.M. & Mailman, R.B.** (1990). Triadimefom, a triazole fungicide, induces stereotyped behavior and alters monoamine metabolism in rats *Toxicology and Applied Pharmacology*, 102, 474 – 485, 0041-008X.
96. **Walker, Q.D. & Mailman, R.B.** (1996). Triadimefom and triadimenol: Effects on Monoamine uptake and release. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 139: 227 – 233, 0041-008X.

Z

97. **Zarn, J. A., Brusweiler, B.J., Schlatter, J.R.** (2003). Azole fungicides affect mammalian steroidogenesis by inhibiting sterol 14 alpha-demethylase and aromatase. *Environ. Health. Perspect.* 111, 255-61,0091-6765.
98. **Zhang, W., Ramamoorthy, Y., Kilicarslan, T., Nolte, H., Tyndale, R. F., and Sellers, E. M.** (2002). Inhibition of cytochromes P450 by antifungal imidazole derivatives. *Drug Metab Dispos* 30, 314–8.