

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Témouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département de Génie mécanique



Projet de Fin de Cycle
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Génie des procédés des matériaux
Domaine : Science et technologie
Filière : Génie mécanique
Spécialité : Génie des procédés des matériaux
Thème

**Synthèses et évaluation antibactérienne de
quelques hétérocycles pyrazoliques dérivés de
l'acétamide**

Présenté par :

Melle : FEKIR Samira

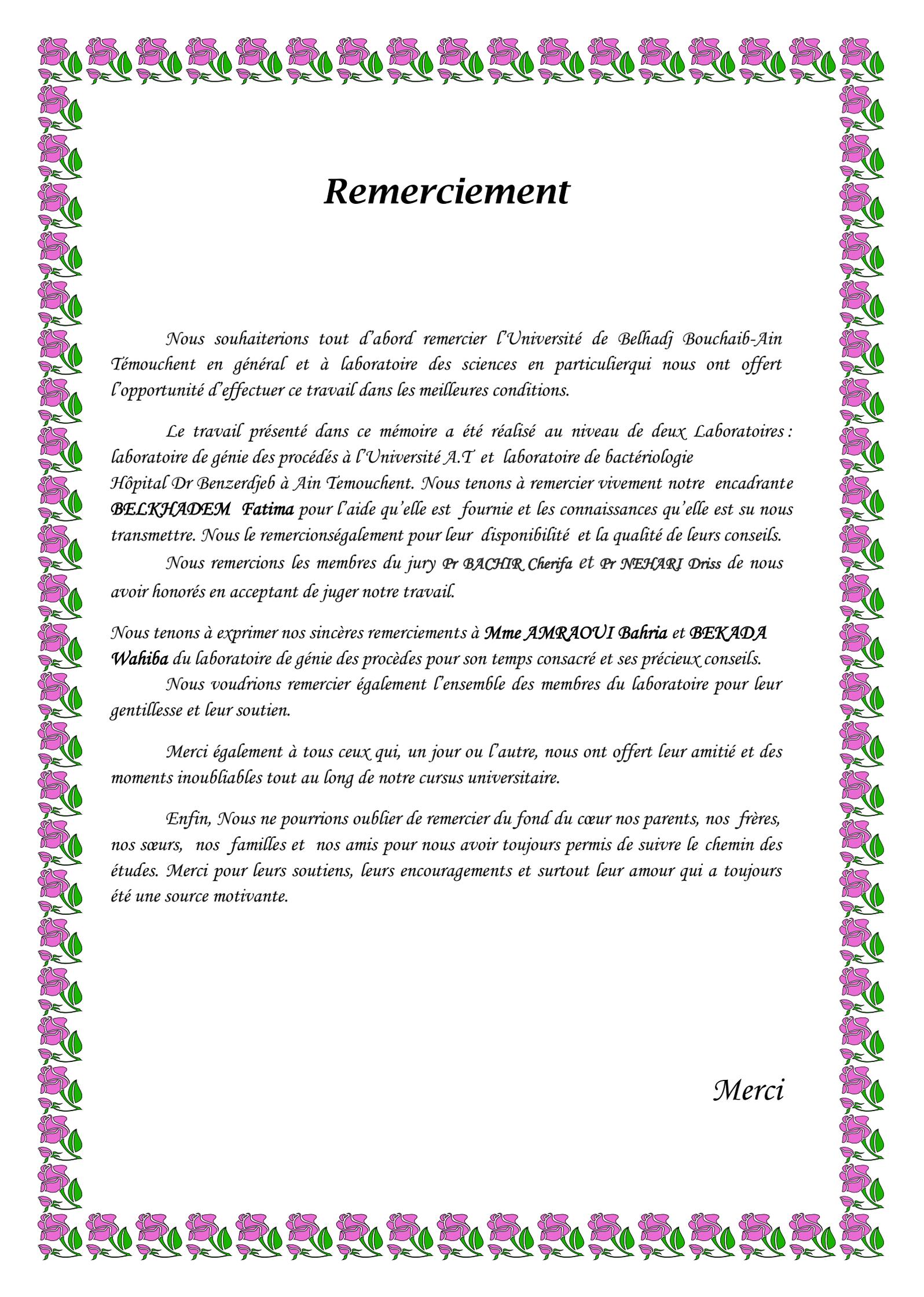
Melle : DJEDID Hamida

Soutenue le : 26/06/2023

Devant le jury composé de :

Pr NEHARI Driss	Professeur	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Président
Pr BACHIR Cherifa	Professeur	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Examinatrice
Dr Belkhadem Fatima	M.C.B	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Encadrant

Année universitaire 2022/2023



Remerciement

Nous souhaiterions tout d'abord remercier l'Université de Belhadj Bouchaib-Ain Temouchent en général et à laboratoire des sciences en particulier qui nous ont offert l'opportunité d'effectuer ce travail dans les meilleures conditions.

*Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au niveau de deux Laboratoires : laboratoire de génie des procédés à l'Université A.T et laboratoire de bactériologie Hôpital Dr Benzerdjeb à Ain Temouchent. Nous tenons à remercier vivement notre encadrante **BELKHADEM Fatima** pour l'aide qu'elle est fournie et les connaissances qu'elle est su nous transmettre. Nous le remercions également pour leur disponibilité et la qualité de leurs conseils.*

*Nous remercions les membres du jury Pr **BACHIR Cherifa** et Pr **NEHARI Driss** de nous avoir honorés en acceptant de juger notre travail.*

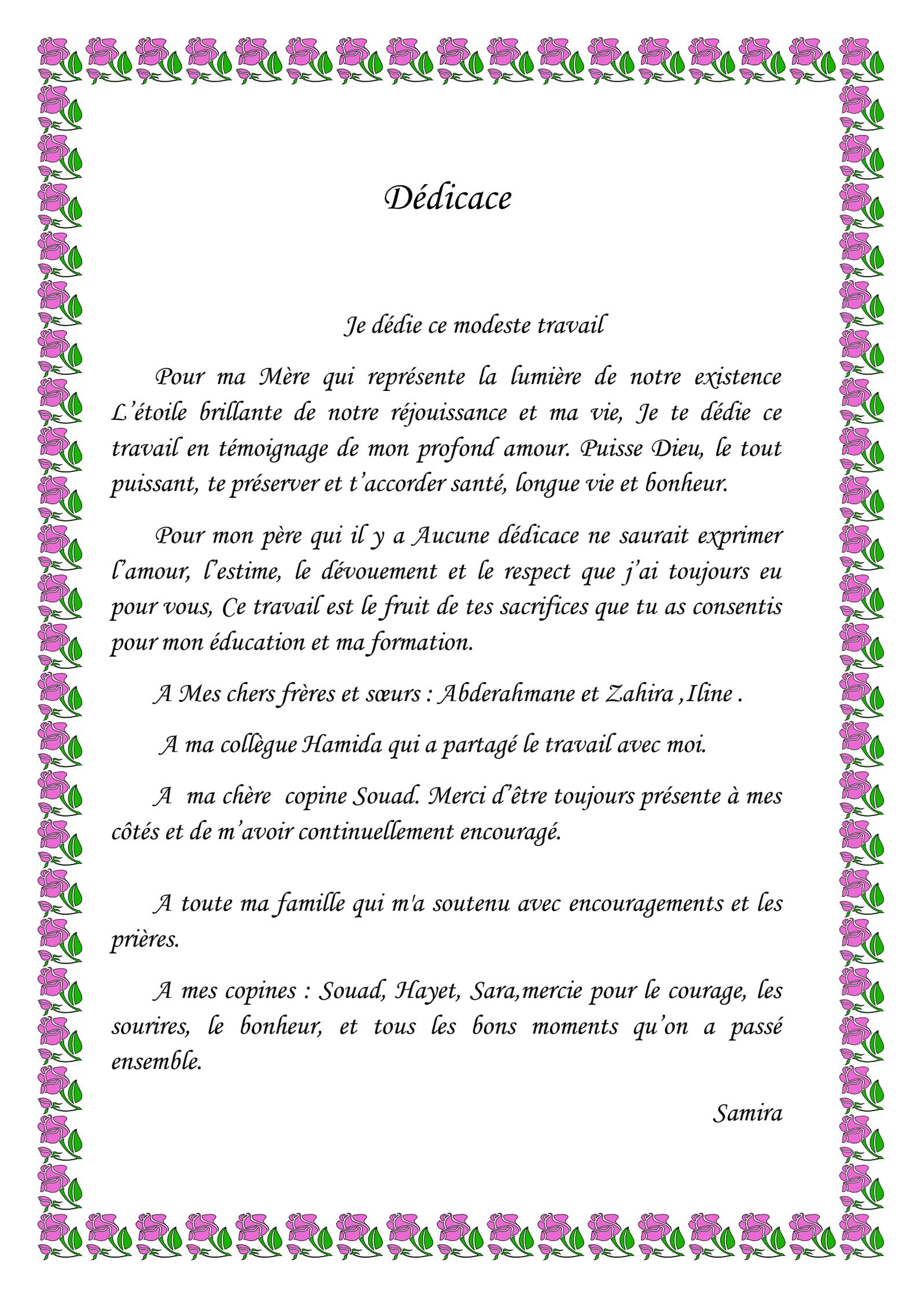
*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à **Mme AMRAOUI Bahria** et **BEKADA Wahiba** du laboratoire de génie des procédés pour son temps consacré et ses précieux conseils.*

Nous voudrions remercier également l'ensemble des membres du laboratoire pour leur gentillesse et leur soutien.

Merci également à tous ceux qui, un jour ou l'autre, nous ont offert leur amitié et des moments inoubliables tout au long de notre cursus universitaire.

Enfin, Nous ne pourrions oublier de remercier du fond du cœur nos parents, nos frères, nos sœurs, nos familles et nos amis pour nous avoir toujours permis de suivre le chemin des études. Merci pour leurs soutiens, leurs encouragements et surtout leur amour qui a toujours été une source motivante.

Merci



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*Pour ma Mère qui représente la lumière de notre existence
L'étoile brillante de notre réjouissance et ma vie, Je te dédie ce
travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout
puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*Pour mon père qui il y a Aucune dédicace ne saurait exprimer
l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu
pour vous, Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis
pour mon éducation et ma formation.*

A Mes chers frères et sœurs : Abderahmane et Zahira ,Iline .

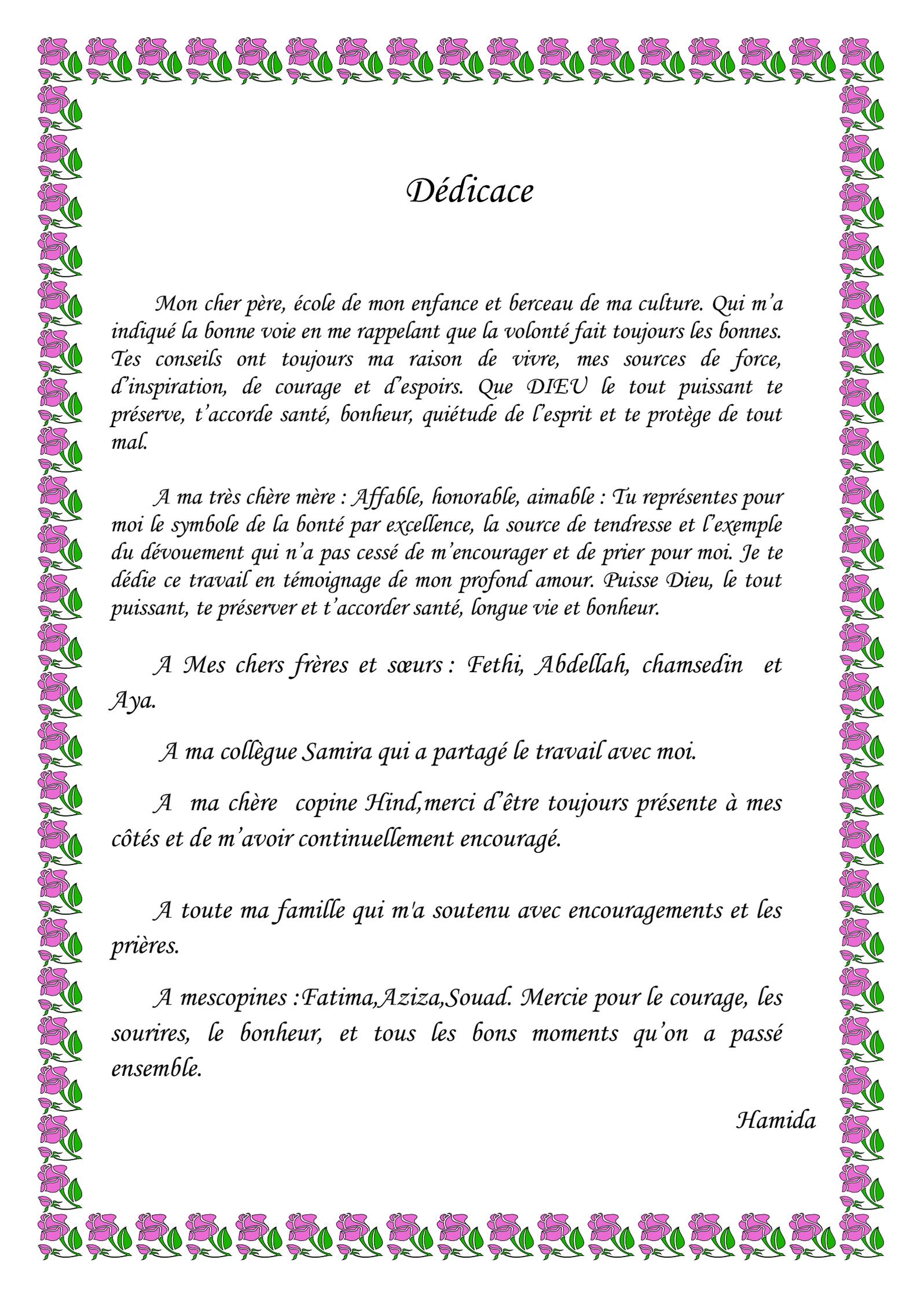
A ma collègue Hamida qui a partagé le travail avec moi.

*A ma chère copine Souad. Merci d'être toujours présente à mes
côtés et de m'avoir continuellement encouragé.*

*A toute ma famille qui m'a soutenu avec encouragements et les
prières.*

*A mes copines : Souad, Hayet, Sara,mercie pour le courage, les
sourires, le bonheur, et tous les bons moments qu'on a passé
ensemble.*

Samira



Dédicace

Mon cher père, école de mon enfance et berceau de ma culture. Qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les bonnes. Tes conseils ont toujours ma raison de vivre, mes sources de force, d'inspiration, de courage et d'espoirs. Que DIEU le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A ma très chère mère : Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A Mes chers frères et sœurs : Fethi, Abdellah, chamsedin et Aya.

A ma collègue Samira qui a partagé le travail avec moi.

A ma chère copine Hind, merci d'être toujours présente à mes côtés et de m'avoir continuellement encouragé.

A toute ma famille qui m'a soutenu avec encouragements et les prières.

A mes copines : Fatima, Aziza, Souad. Mercie pour le courage, les sourires, le bonheur, et tous les bons moments qu'on a passé ensemble.

Hamida

Remerciement

Dédicace

Listes des tableaux et figures.....	I
Abréviation.....	IV

Partie A : Rappel bibliographique

Introduction générale.....	1
Les références.....	3

Chapitre I : L'acétamide et ses domaines d'applications

I.1 Introduction	4
I.1.1 Définition de l'acétamide	4
I.2 Applications biologiques des dérivés de l'acétamide.....	5
I.2.1 Une activité analgésique	5
I.2.2 Une activité anticancéreuse	5
I.2.3 Une activité antidépresseurs	5
I.2.4 Une activité antimicrobienne	6
Les références.....	7

Chapitre II : Généralités sur Les chalcones et leurs intérêts

II.1 Introduction	8
II.2 La chalcone	8
II.3 Historique sur lasynthèse des chalcones	9
II.4 Les propriétés pharmacologiques de quelques substances naturelles.....	9
II.5 Synthèse des chalcones	11
II.5.1 Synthèse des cétones α , β -insaturées	11
II.5.2 La condensation aldolique	11
II.6 Intérêts biologiques des chalcones.....	12
II.6.1 Activité anticancéreuse	12
II.6.2 Activité anti-inflammatoire	12
II.6.3 Activité antibacterienne	13
II.6.4 Activitéantidépresseant.....	13
II.6.5 Activité antileishmanial	14
II.6.6 Activité antioxydante.....	14
Les références.....	15

Chapitre III : Les hétérocyclespyrazoliques et leurs domaine d'applications

III.1 Introduction	17
III.2 Définition	17
III.3 Les pyrazoles	18
III.3.1 Définition	18
III.3.2 Historique	18
III.4 Synthèse des pyrazolines	20
III.5 Propriétés pharmacologiques des dérivés pyrazoles.....	21
III.5.1 Effet antimicrobien	21
III.5.2 Effet antifongique	22
III.5.3 Effet antibactérien	23
III.5.4 Effet anticancéreux.....	23
III.5.5 Effet anti-inflammatoire et antalgique	24
III.5.6 Effet Anti-Alzheimer	24
III.5.7 Effet antidiabétique	24
Les Références	25

IV Généralités sur l'activité biologique

IV. Généralités sur l'activité antibactérienne

IV.1 Introduction	27
IV.2 Les antibiotiques	27
IV.3 Paramètres d'activité d'un antibiotique.....	27
IV.3.a La concentration minimale inhibitrice (CMI).....	28

IV.4 Aperçu sur les bactéries testées	28
Les Références.....	31

Partie B : Expérimentale

I. Techniques et appareillages utilisés

I.1 Introduction	32
I.2 Matériels de synthèse.....	32
I.3 Méthode de caractérisation	33
I.3.1 Point de fusion.....	33
I.3 Spectrophotométrie UV-Visible	33
I.3.3 Spectroscopie infrarouge.....	33
I.3.4 Chromatographie sur couche mince (CCM)	34

II. Synthèses des chalcones et leurs pyrazoles correspondants

B.II.1 Introduction	35
B.II.2 Mode opératoire	35
B.II.2.1 Synthèse de N-phényle-acétamide	35
B.II.2.1.a Préparation produit de départ	35
B.II.2.2 Synthèse de chalcone α , β -insaturées (C1-C4)	37
B.II.2.3 Synthèse des pyrazoles correspondants (P1-P4)	38

III Expérimental du pouvoir antibactérien des produits testés

B.III.1 Introduction	40
B.III.2 Test antibiogramme	40
B.III.3 Méthode et matériel utilisé	40
B.III.4 Principe	41
B.III.5 Les micro-organismes utilisés	41
B.III.6 Les témoins	41
B.III.7.1 Préparation des échantillons	42

B.III.7.2 Cultures bactériennes	42
Les Références:	44

Partie C : Résultats et discussions

C.I Résultats et discussions de synthèse

C.I.1 Identification Spectrale des produits synthétisés	45
1.Spectroscopie infrarouge de N-phényle acétamide.....	45
2. Spectroscopie UV de N-phényle acétamide	46
3. Les différentes chalcones synthétisées (C1-C4)	46
4. Caractéristiques spectroscopiques	47
5. Spectroscopie UV des chalcones préparées (C1-C4)	50
6. Les différents pyrazoles synthétisés (P1-P4)	51
7. Caractéristiques spectroscopiques	51
8. Spectroscopie UV des chalcones préparées (C1-C4).....	54
Les Références	55

C.II Evaluation de l'activité antibactérienne

C.II.1 Introduction	56
C.II.2 Tests antibactériens	57
C.II.3 La discussion du pouvoir antibactérien des produits testés	58
C.II.3.1 La discussion la concentration minimale inhibitrice des produits testés	59
C.II.3.2 Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) :	60
Les Références	61
Conclusion générale	62

Liste des schémas

Schéma II.1: Mécanisme d'acétamido Claisen-Schmidt condensé par une base.....	11
Schéma III.1 : Réaction de synthèse des pyrazoles par KNORR.....	18
Schéma III. 2: Différentes méthodes pour obtenir les pyrazoles substitués.....	21
Schéma B.1 Préparation de N-phényl acétamide.....	35
Schémas B.2 : La réaction de synthèse des dérivés de chalcone (C1-C4).....	37
Schéma B.3 : La réaction de synthèse des pyrazoles P1-P4.....	39

Liste des figures

Figure I.1: Quelques médicaments dérivés de N-phényl acétamide.....	4
Figure I.2: Structure d'acétamide.....	4
Figure I.3: Quelques exemples de N-phényl acétamide substitué.....	5
Figure I.4: Acétamide liés aux groupements de méthoxy-phényl.....	5
Figure I.5: Effet antidépresseur dérivé de l'acétamide.....	6
Figure I.6: Effet antibactérien de dérivé de l'acétamide.....	6
Figure II.1: Structure de flavane et chalcone.....	8
Figure II.2: Sources alimentaires des flavonoïdes.....	9
Figure II.3: Les propriétés thérapeutiques de quelques plantes naturelles.....	10
Figure II.4: La chalcone comme additifs alimentaires en parfumerie.....	10
Figure II.5: Structure de la chalcone.....	12
Figure II.6: Structure de dérivé la chalcone hydrazide.....	12
Figure II.7: Chalcone dérivés de DHIPC.....	13
Figure II.8: Chalcone dérivées de méthoxy ou hydroxy-phényl.....	13
Figure II.9: Chalcone dérivés de (E)-3-(3,4-diméthoxyphényl)-1-(2-hydroxyphényl) prop-2-en-1-one.....	14
Figure II.10: Structure des différents chalcones.....	14
Figure III.1 : Structure hétérocycles à cinq chaînons.....	17
Figure III.2 : Quelques exemples de substances naturelles contenant le pyrazole substitué.....	17
Figure III.3 : Structure de pyrazole.....	18
Figure III.4 : Structure de la plante de withania somnifera.....	18

Figure III.5 : <i>Quelques exemple des pyrazoles bioactifs</i>	19
Figure III.6 : <i>Application des pyrazoles en agrochimie</i>	20
Figure III.7 : <i>Chalcone</i>	21
Figure III.8 : <i>Pyrazole dérivé de l'imidazole</i>	22
Figure III.9 : <i>Pyrazole dérivé du thiourée d'acyle</i>	22
Figure III.10: <i>Pyrazole substitué</i>	23
Figure III.11 : <i>Molécules de pyrazole substitué</i>	23
Figure III.12 : <i>Pyrazole contenant le groupement fluoro-phényle</i>	24
Figure III.13: <i>3,5-Pyrazoles diaryliques</i>	24
Figure III.14 : <i>Acides pyrazole-4-carboxyliques substitués</i>	24
Figure IV.1 : <i>Observation de Staphylococcus aureus en microscopie électronique à Balayage</i>	28
Figure IV.2 : <i>Observation de bacillus cereus en microscopie électronique à balayage</i>	29
Figure IV.3 : <i>Observation d'Escherichia coli en microscopie électronique à balayage</i>	29
Figure IV.4 : <i>Observation Klebsiella en microscopie électronique à balayage</i>	30
Figure IV.5 : <i>Observation Pseudomonas aeruginosa en microscopie électronique à balayage</i>	30
Figure B.1 : <i>Appareil KRUSS de point de fusion</i>	33
Figure B.2 : <i>Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV- visible</i>	33
Figure B.3 : <i>Montage de la CCM</i>	34
Figure B.4 : <i>Préparation de la solution A</i>	36
Figure B.5 : <i>Préparation de N-phényle acétamide</i>	36
Figure B.6 : <i>Séparation et purification de N-phényle acétamide</i>	37
Figure B.7 : <i>Exemple de l'effet inactif du DMSO via la souche Pseudomonas aeruginosa</i> ...	40
Figure B.8 : <i>Gentamicine utilisé comme références</i>	41
Figure B.9 : <i>Dilution des produits synthétisés</i>	42
Figure B.10 : <i>Appareil de Mac Farland</i>	42
Figure B.11 : <i>Ensemencement de la bactérie sur Mueller Hinton</i>	43
Figure B.12 : <i>Méthode de diffusion des puits</i>	43
Figure B.13 : <i>La lecture des résultats</i>	43
Figure C.1 : <i>Structure de N-phényle acétamide</i>	45
Figure C.2 : <i>Le spectre IR de N-phényle acétamide</i>	45
Figure C.3 : <i>Le spectre UV de N-phényle acétamide</i>	46
Figure C.4 : <i>Les structures de différentes chalcones(C1-C4)</i>	46

Figure C.5 : <i>Le spectre IR de chalconeC1</i>	48
Figure C.6 : <i>Le spectre IR de chalconeC2</i>	48
Figure C.7 : <i>Le spectre IR de chalconeC3</i>	49
Figure C.8 : <i>Le spectre IR de chalconeC4</i>	49
Figure C.9 : <i>Le spectre UV des chalcones(C1-C4)</i>	50
Figure C.10 : <i>Les structures des pyrazoles préparés (P1-P4)</i>	51
Figure C.11 : <i>Le spectre IR de pyrazoleP1</i>	52
Figure C.12 : <i>Le spectre IR de pyrazoleP2</i>	53
Figure C.13 : <i>Le spectre IR de pyrazoleP3</i>	53
Figure C.14 : <i>Le spectre IR de pyrazoleP4</i>	54
Figure C.15 : <i>Le spectre UV des pyrazoles synthétisés (P1-P4)</i>	55
Figure C.16 : <i>Les structures des molécules testées</i>	56
Figure C.17: <i>L'effet biologique des produits testés sur les souches bactériennes</i>	58
Figure C.18 : <i>La CMI des produits synthétisés contre les bactéries Gram positif et négatif</i>	60
Figure C.19 : <i>Effet bactériostatique et bactéricide des molécules testées sur quelques souches bactériennes</i>	61

Liste des tableaux

Tableau B.1 : <i>Caractéristique des produits chimiques et les solvants utilisés</i>	32
Tableau B.2 : <i>Caractéristique physique de N-phényle acétamide préparés</i>	37
Tableau B.3 : <i>Caractéristique physique de chalcone préparés</i>	38
Tableau B.4 : <i>Caractéristique des hétérocycles pyrazoliques synthétisés [P1-P4]</i>	39
Tableau C.1 : <i>Données spectrales d'IR des différents chalcones(C1-C4)</i>	47
Tableau C.2 : <i>Données spectrales d'IR des différents chalcones (P1-P4)</i>	52
Tableau C.3 : <i>Résultats des tests in vitro de l'activité antibactérienne de différents produits</i>	57
Tableau C.4 : <i>Résultats de CMI des différents pyrazolesP2 et P4</i>	59

Liste des abréviations

- **REACTIFS**

EtOH : Ethanol

C7H6O : Benzaldéhyde

C3H6O : Acétone

C6H12 : Cyclohexane

C2H4O2 : Acide acétique

CH2Cl2 : Dichlorométhane

- **CHROMATOGRAPHIE ET SPECTROSCOPIE**

CCM : Chromatographie sur couche mince

R_f: Rapport frontal.

IR : Infrarouge.

UV-vis : Ultraviolet-visible.

R : rendement

RMN C¹³ : Résonance magnétique nucléaire du carbone 13

RMNH : Résonance magnétique nucléaire du proton

SM : Spectrométrie de masse

- **UNITES ET CONSTANTES PHYSIQUES**

° C : Degrés Celsius

min : minute

g: Gramme

h : Heures

M: Masse Molaire

T_f: Point de fusion

Mg : Milligramme

Mmol: Millimoles

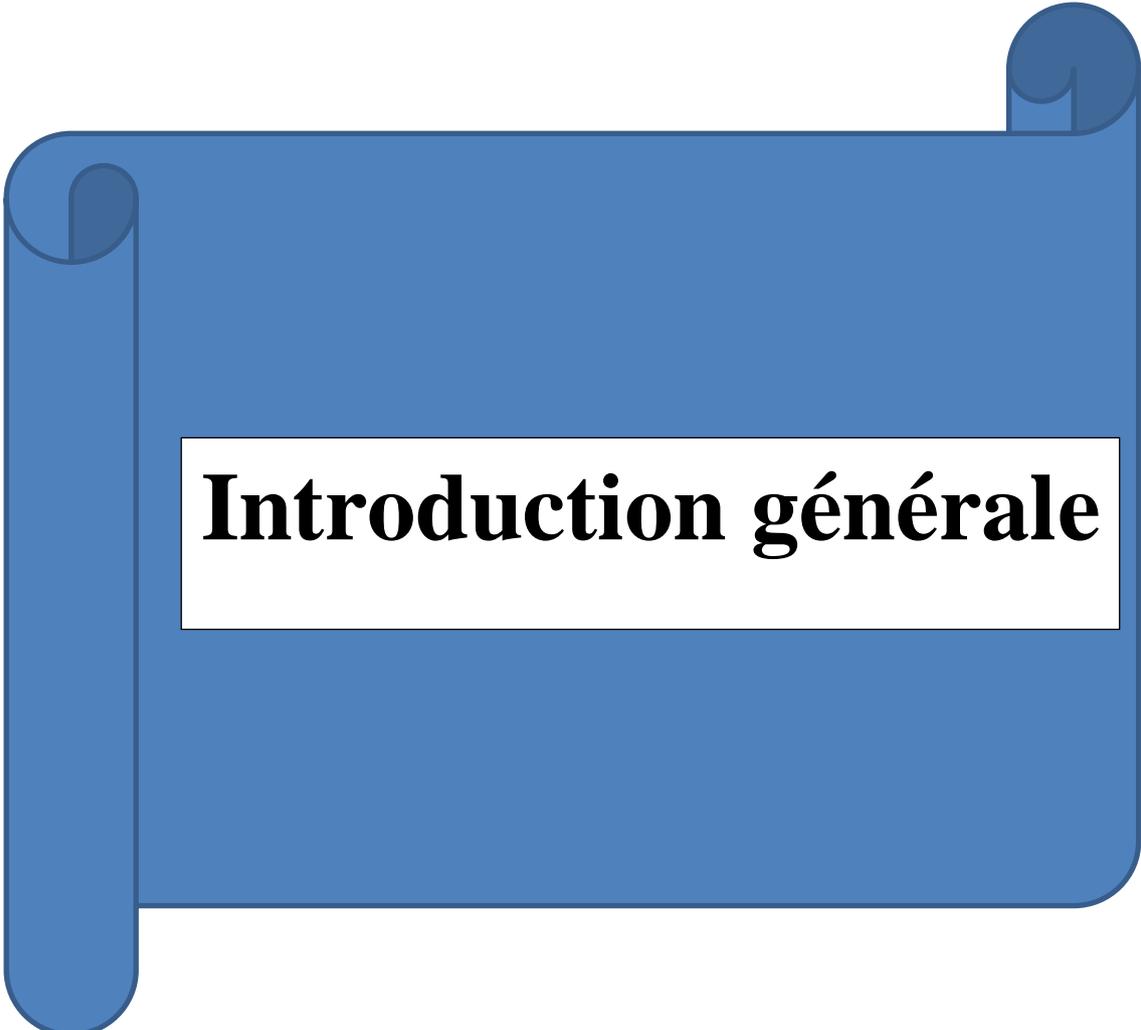
mL : millilitre

µg/mL : Microgramme/millilitre

m : masse d'échantillon

Cm : Centimètre

mm : millimètre



Introduction générale

Introduction Générale

Les hétérocycles azotés est l'un des plus importants et fascinants branches de la chimie organique, leurs intérêts sont particulier en raison de leurs différentes méthodes de synthèse et de leurs propriétés remarquables, notamment en tant que composés bioactifs ou inhibiteurs de la corrosion. De plus, ils sont utilisés dans le traitement des maladies cardiovasculaires et du cancer, ces deux maladies sont les plus dangereuses chez l'homme ¹.

Le motif pyrazole occupe une place essentielle en tant que structure hétérocyclique dans de nombreux composés biologiquement actifs. De plus, il joue un rôle important dans le domaine de l'agrochimie, où il est présent dans divers composés herbicides, fongicides et insecticides ².

Les travaux actuels pour la synthèse des molécules pyrazolidine vont éventuellement conduire vers des produits très diversifiés et des composés d'intérêt pharmaceutique et thérapeutique, par la mise en œuvre de réactifs simples et très peu coûteux et des procédures expérimentales convenables.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à la synthèse des hétérocycles de type pyrazole *via* une cyclocondensation des chalcones α , β -insaturés à partir de l'acétanilide connu par ses propriétés pharmacologiques.

Le travail présenté dans ce mémoire outre l'introduction et la conclusion générale, se divise en trois en trois parties **A**, **B** et **C**.

✓ La partie **A** comporte quatre chapitres. Le premier chapitre contenant un rappel bibliographique donnant un aperçu sur les acétanilides et leurs applications biologiques. Le deuxième chapitre comporte la généralité sur les chalcones et leurs intérêts pharmacologiques en citant quelques exemples de chalcone α , β -insaturés.

Dans le troisième chapitre, nous rapportons une mise au point bibliographique sur les pyrazole et les différentes méthodes d'accès au motif pyrazolique, on cite quelques applications thérapeutiques. Le troisième chapitre englobe les généralités sur l'activité antibactérienne.

Introduction Générale

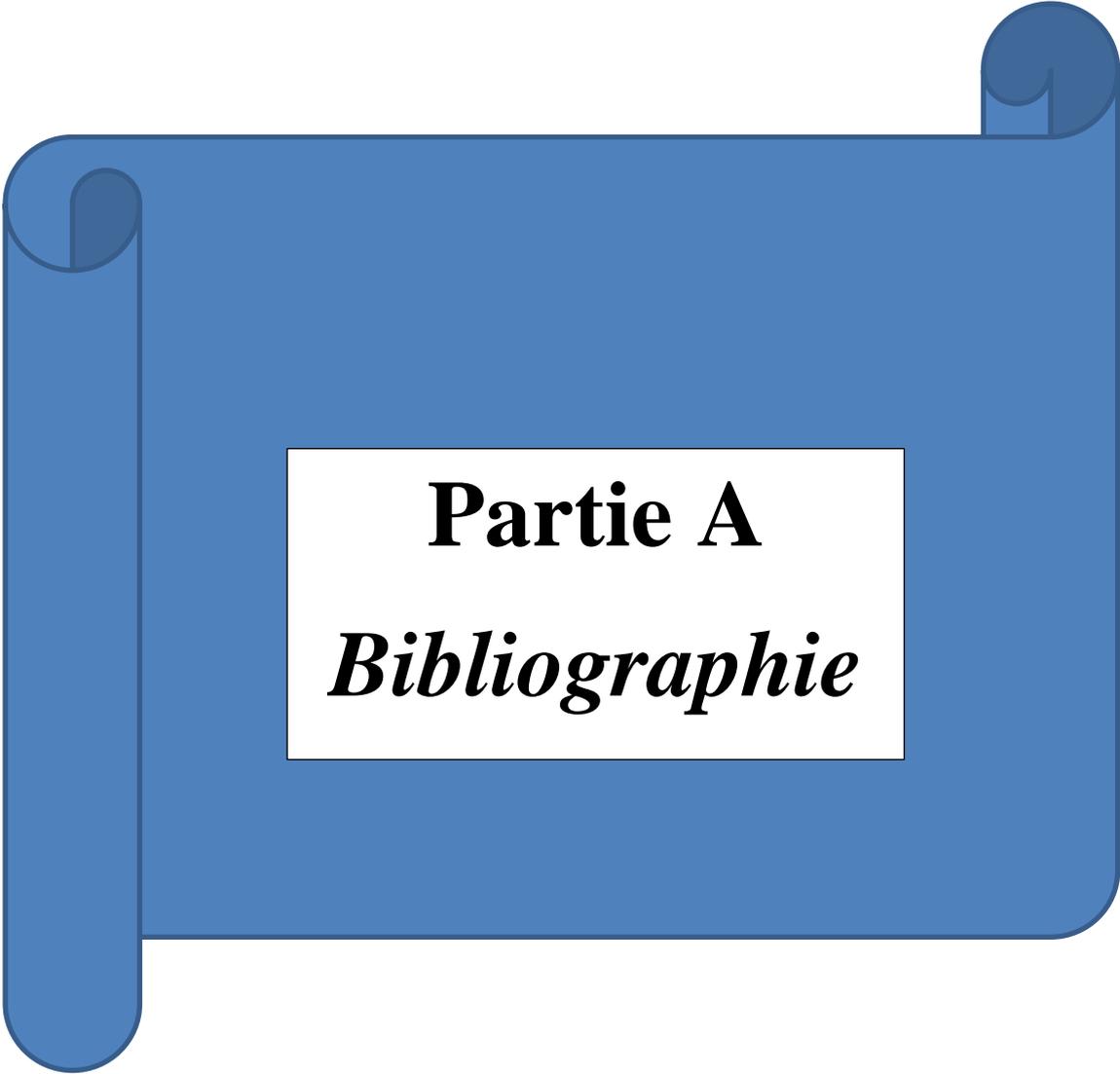
- ✓ La partie **B** inclut les appareillages et les techniques, on décrira tous les protocoles expérimentaux utilisés pour préparer et caractériser les composés concerné et la partie biologique.

- ✓ la partie **C** comporte toutes les interprétations et les discussions des résultats concernant : exploitions leur interprétation par : l'analyse par IR, UV-vis, le contrôle par CCM et l'identification des points de fusions ainsi que l'étude de l'activité antibactérienne.

Enfin une conclusion générale résumant l'essentiel des résultats et les perspectives.

Référence bibliographique

1. Eicher T, Hauptmann, S, Edition II nd, 'The Chemistry of Heterocycles: Structure, Reactions, Syntheses, and Applications', Wiley-VCH, ISBN 3527307206, **2003**.
2. (a) N.-T. Ha-Duong, S. Dijols, C. Marques-Soares, C. Minoletti, P. M. Dansette, D. Mansuy, *J. Med. Chem.*, 44, **2001**, 3622. (b) T. de Paulis, K. Hemstapat, Y. Chen, Y. Zang, S. Saleh, D. Alagille, R. M. Baldwin, G. D. Tamagnan, *P.J. Conn. J. Med. Chem.*, 49,**2006**, 3332.



Partie A

Bibliographie

Chapitre I : L'acétamide et ses domaines d'applications

I.1 Introduction :

Les résultats bibliographiques les plus récents révèlent un intérêt important pour les dérivés de l'acétamide liés aux aromatiques substitués du fait de leurs applications dans les domaines les plus divers telles la biologie, la pharmacologie et l'agrochimie...etc.

D'autre part, les dérivés de l'acétamide et leurs analogues représentent un fort potentiel d'activités biologiques notamment agents analgésiques, anti-oxydantes, anticancéreuses ¹, antimicrobiennes ², des molécules anti-COVID-19 ³. De plus, plusieurs dérivés de l'acétamide sont utilisés pour améliorer certaines enzymes qui inhibent la réplication de l'activité du virus VIH⁴. L'exemple le plus connu est le paracétamol ⁵⁻⁶ qui est l'un des agents les plus largement utilisés au monde comme analgésique et antipyrétique portant le groupe acétamide ⁷.

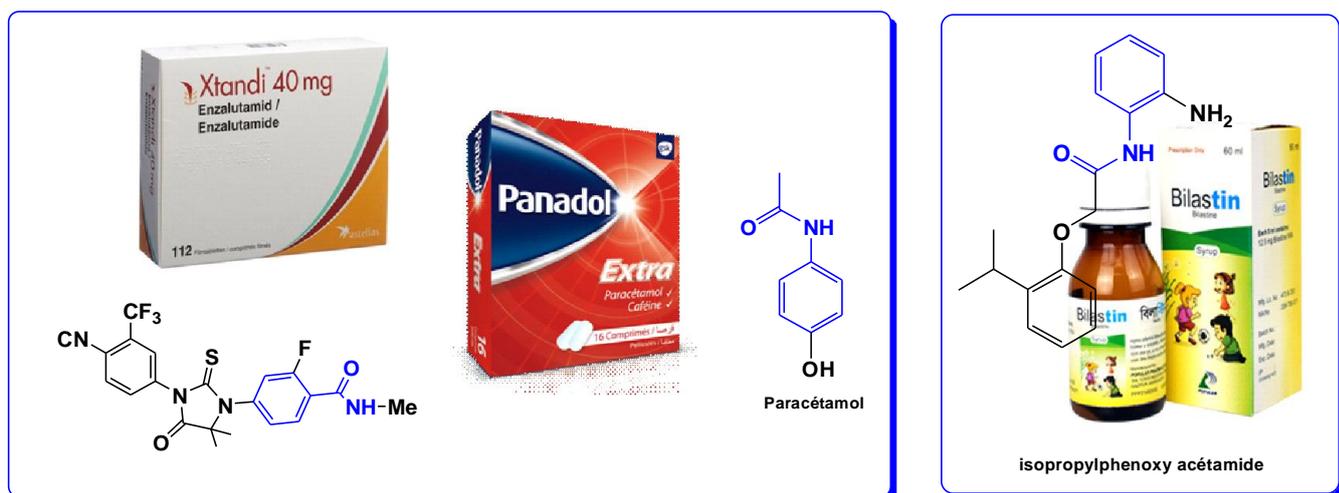


Figure I.1 Quelques médicaments dérivés de N-phényle acétamide

I.1.1 Définition de l'acétamide :

L'acétamide (également connu sous le nom éthanamide ou amide d'acide acétique) appartient à la classe de composés organiques connus sous le nom d'acides carboxamides avec la formule CH_3CONH_2 (Voir Figure I.2) ⁸. Il existe sous forme solide blanc, soluble dans l'eau et faiblement soluble dans l'acide ⁹.

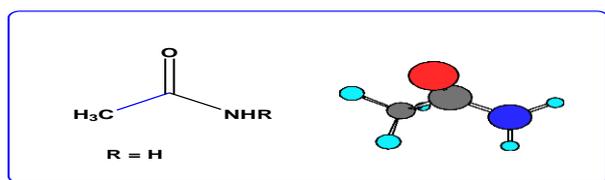


Figure I.2 Structure d'acétamide

I.2 Applications biologiques des dérivés de l'acétamide :

I.2.1 Une activité analgésique :

En 2009, Barbosa *et Coll.* ont voulu préparer une série d'analogues pyrazolique. Ils ont déduit que les dérivés substitués R_1 R_2 présentent une très bonne activité antalgique d'origine inflammatoire. R_1 R_2 tandis que le pyrazole porte l'entité R_3 révèle un pouvoir anti-hyper nociceptive intéressant¹⁰ (Voir Figure I.3).

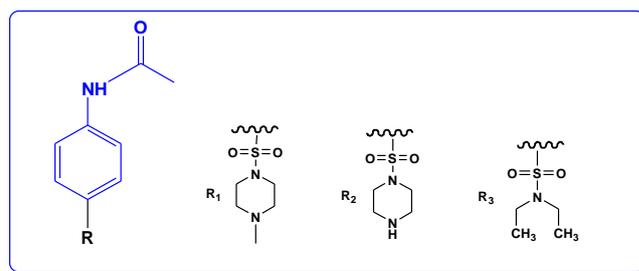


Figure I.3 Quelques exemples de N-phényle acétamide substitué

I.2.2 Activité anticancéreuse :

Récemment, en 2020 l'équipe de Khazira décidé de synthétiser les dérivés de méthoxy-phényle donc le groupe a réalisé la synthèse de N-(4-méthoxyphényle)-2-(4-pyrrolidin-1-ylquinazoline-2-sulfonyl)-acétamide (Voir Figure I.4).

Cette molécule a donné des résultats remarquables comme agent anticancéreux¹¹.

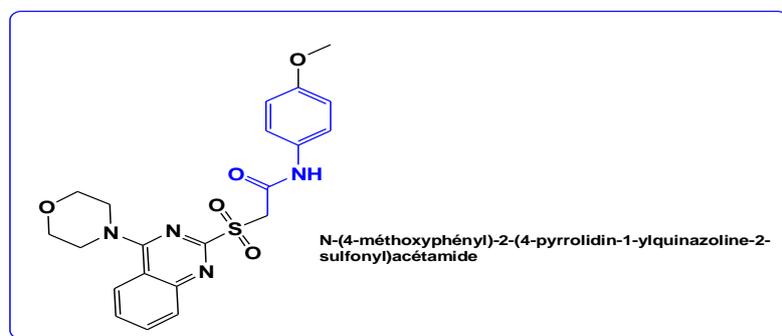


Figure I.4 Acétamide liés aux groupements de méthoxy-phényle

I.2.3 Activité antidépresseurs :

D'autre part, en 2010 Shelkeet *Coll.* Ont synthétisé acétamide lié avec un hétérocycle révèle une activité antidépresseurs considérable par rapport aux médicaments antidépresseurs standard comme le moclobémide, l'imipramine et la fluoxétine¹². (Voir Figure I.5)

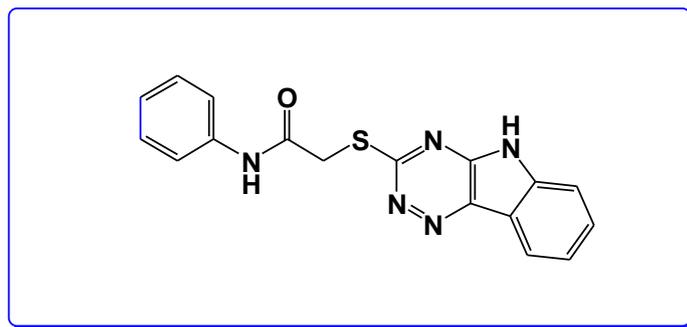


Figure I.5 Effet antidépresseurs dérivé de l'acétamide

I.2.4 Activités antimicrobienne :

Comme illustre dans l'exemple suivant (figure I.6) la série de dérivés de l'acétamide substituée présente un effet antimicrobien dont le composé 2-(4-(benzo[d]thiazol-5-ylsulfonyl) pipérazin-1-yl)-N-(3-isopropylphényl) acétamide a montré une très bonne activité antibactérien contre les bactéries à Gram-positive¹³.

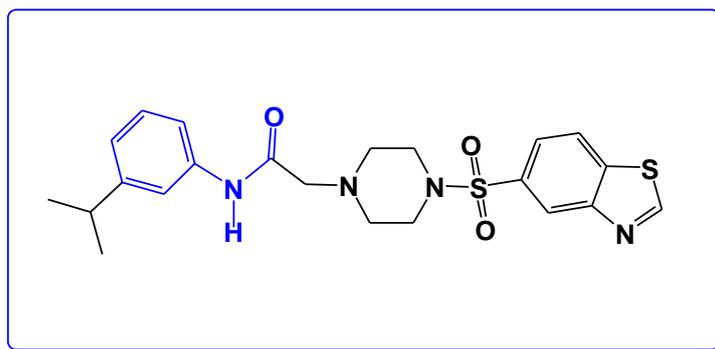


Figure I.6 Effet antibactérien de dérivé de l'acétamide

Nous avons vu dans ce chapitre que plusieurs méthodes sont déjà connues pour préparer des acétamides substitués, nous nous sommes intéressées par la synthèse de N-phényle acétamide pour synthétiser leurs chalcones correspondante.

Référence

1. J. Khazir, B.A. Mir, G. Chashoo, T. Maqbool, D. Riley, L. Pilcher, J. Heterocycl. Chem. 57, **2020**,1306–1318.
2. A.G. Mikhailovskii, E.S. Pogorelova, N.N. Pershina, R.R. Makhmudov, V.V. Novikova, Pharm. Chem. J. 53, **2020**, 1–5.
3. S.J. Mary, M.U. Siddique, S. Pradhan, V. Jayaprakash, C. James, Spectrochim. Acta, Part A 244, 118825,**2020**.
4. D. Bhavsar, J. Trivedi, S. Parekh, M. Savant, S. Thakrar, A. Bavishi, A. Radadiya, H. Vala, J. Lunagariya, M. Parmar, L. Paresh, Bioorg. Med. Chem. Lett. 21, **2011**, 3443–3446.
5. P. Rani, D. Pal, R.R. Hegde, S.R. Hashim, BioMed Res. Int. **2014**, 1–9.
6. H. Srinivasan, V.K. Sharma, V.G. Sakai, J.P. Embs, R. Mukhopadhyay, S. Mitra, J. Phys. Chem. B. 124, **2020**, 1509–1520.
7. X. Xia, Curr. Trends Med. Chem. 17, **2017**, 1709–1726.
8. G. Sharma, S. Anthal, D.V. Geetha, F.H. Al-Ostoot, Y.H.E. Mohammed, S.A. Khanum, M.A. Sridhar, R. Kant, Mol. Cryst. Liq. Cryst. 675, **2018**, 85–95.
9. M.L. Barbosa, G.M. Melo, Y.K. Silva, O. Lopes Rde, E.T. Souza, A.C. Queiroz, S. Smaniotto, M.S. Alexandre-Moreira, E.J. Barreiro, L.M. Lima, Eur. J. Med. Chem. 44, **2009**, 3612–3620.
10. J. Khazir, B.A. Mir, M. Pandita, L. Pilcher, D. Riley, G. Chashoo, Med. Chem. Res. 29, **2020**,916–925.
11. Pr Xtandi C apsules d'enzalutamide 40 mg Antiandrogène (L02BB04).Astellas Pharma Canada, Inc. Markham (ON) L3R 0B8 ®Marque déposée. Date d'approbation initiale : 28 mai 2013.Date de révision : 1er juin **2020** No de contrôle : 233563, pp 25- 59
12. S.M. Shelke, S.H. Bhosale, Bioorg. Med. Chem. Lett. 20, **2010**, 4661– 4664.
13. R.R. Shinde, D. Gaikwad, M. Farooqui, J. Heterocycl. Chem. 57, **2020**,3907–3917.

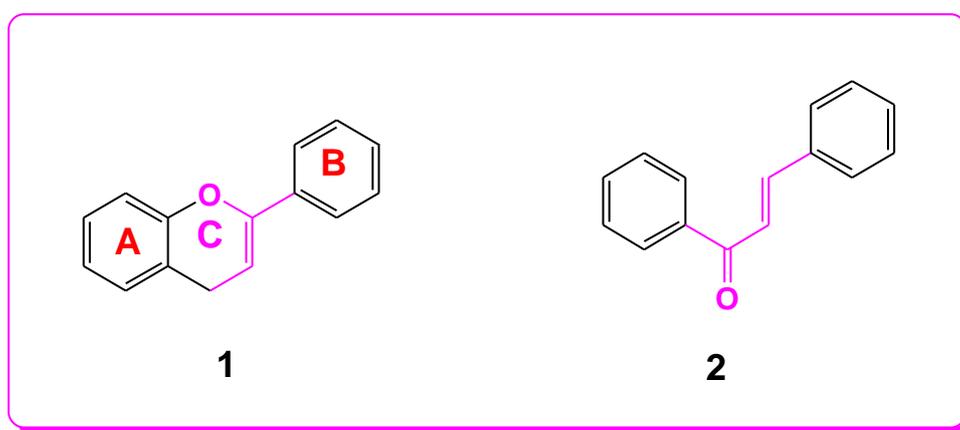
Chapitre II : Généralités sur les chalcones et leurs intérêts

II.1. Introduction

Les chalcones occupent actuellement une classe importante dans le domaine de la chimie organique, notamment en tant qu'intermédiaires de synthèse et en thérapeutique. Il est utilisé comme une base pour la composition de nombreux principes actifs présents dans les médicaments en tant que produits biologiquement actifs, elles sont la base de nombreux principes actifs utilisés dans les médicaments. L'origine de ces composés peut être naturelle, extraits de plantes ou issus d'une production hémi-synthétique ou totalement synthétique¹.

II.2 La chalcone

La chalcone d'origine naturelle, son structure chimique est simple, nommée : 1,3-diaryl-2-propène-1-one, elles sont considérées comme les précurseurs de flavonoïdes et isoflavonoïdes à chaîne ouverte où les deux noyaux aromatiques sont reliés par un trois atomes de carbone α , β et de carbonyle insaturé (Voir figure II.1)².



Les chalcones sont abondantes dans les plantes comestibles : les fruits, les légumes, les épices, le thé et affichent un éventail diversifié d'activité pharmacologique ³ (Voir figure II.2).

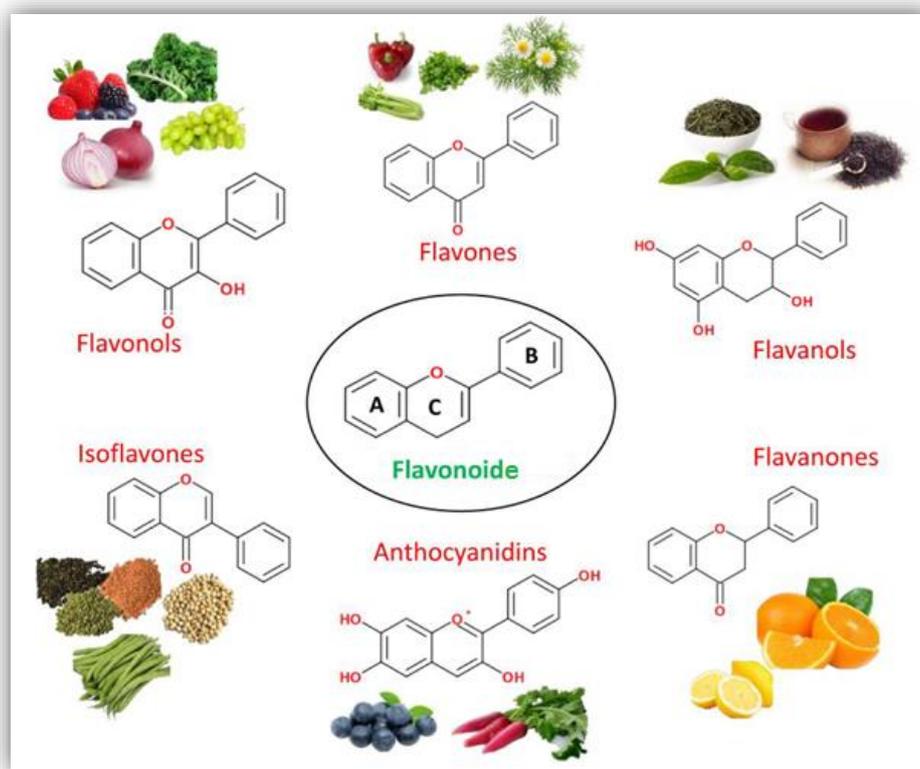


Figure II.2 : Sources alimentaires des flavonoïdes

II.3 Historique sur la synthèse des chalcones

Le terme chalcone dérivé du mot grec Chalkos, signifiant bronze ⁴. Cette association est due aux couleurs jaune et orange (comme le bronze) des tissus végétaux contenant ces composés ⁵. Ce mot a été mentionné pour la première fois par *Stanislaw Kostanecki* et *Josef Tambor*, les premiers scientifiques responsables de la synthèse de ces composés naturels aux couleurs uniques ⁶.

II.4 Les propriétés pharmacologiques de quelques substances naturelles

La nature est la source principale et la plus ancienne qui a fourni des substances biologiquement actives. De nombreuses plantes contenant des chalcones possédant des propriétés médicinales traditionnelles et ils sont utilisés pour leur efficacité dans le traitement

de diverses maladies comme agent anticancéreux, anti inflammatoire et antioxydant...etc (Voir figure II.3).



Figure II.3 : Les propriétés thérapeutiques de quelques plantes naturelles

De nos jours, plusieurs chalcones sont également utilisées comme des formulations cosmétiques et dans des additifs alimentaires¹¹ dont les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs et des fruits (Voir figure II.4).



Figure II.4 : La chalcone comme additifs alimentaires en parfumerie

II.5 Synthèse des chalcones

II.5.1 Synthèse des cétones α , β -insaturées

En 1880-1881, L. Claisen¹² et J. G. Schmidt¹³ ont publié les premiers rapports de recherche décrivant la condensation catalysée par une base entre un aldéhyde et une cétone, qui semble être la première méthode de préparation de la chalcone. Depuis lors, différentes variantes de la condensation de Claisen-Schmidt (SCC) utilisant divers catalyseurs et conditions de réaction ont été développées. Parmi ces nombreuses méthodes, la version catalysée par une base aqueuse du SCC reste la plus couramment utilisée pour la synthèse de la chalcone.

La méthode de synthèse de cétones et d'aldéhydes α , β -insaturé sont diverses ; cependant la plus répandue est la suivante :

II.5.2 La condensation aldolique

La condensation aldolique est une réaction classique en chimie organique, largement utilisée pour créer de nouvelles liaisons carbone-carbone¹⁴. Elle se produit entre deux cétones et/ou aldéhydes et peut conduire à la formation d'énones en éliminant une molécule d'eau¹⁵.

C'est l'une des méthodes les plus couramment employées pour générer des composés carbonylés différents (Voir le Schéma II.1).

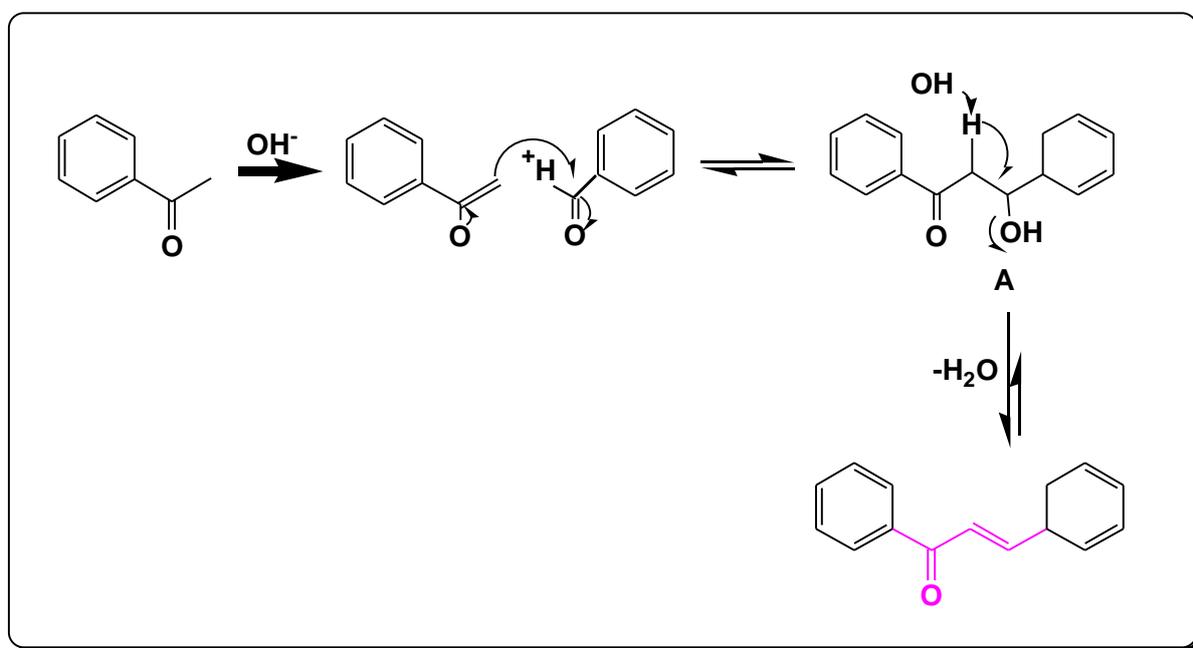


Schéma II.1 : Mécanisme d'aldolisation catalysée par une base de Claisen-Schmidt condensation

II.6 Intérêts biologiques des chalcones

Les chalcones sont connues par leurs nombreuses propriétés pharmacologiques et une grande variété d'activités biologiques telles que : l'activité anticancéreuse, anti-inflammatoire, et anti-leishmaniel...etc.

II.6.1 Activité anticancéreuse

Le groupe de Seunghyun ont déduit que ce type de chalcone possède une activité inhibitrice puissante et sélective envers les cellules cancéreuses ¹⁶.

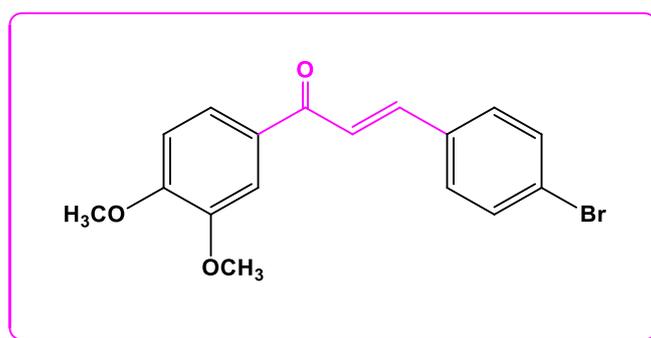


Figure II.5 : Structure de la chalcone.

II.6.2 Activité anti-inflammatoire

Amit N. Panaskar et son équipe ont synthétisé une série de chalcone hydrazide à partir de chalcone substitué et ils ont montré leur efficacité en tant qu'agents anti-inflammatoire ¹⁷.

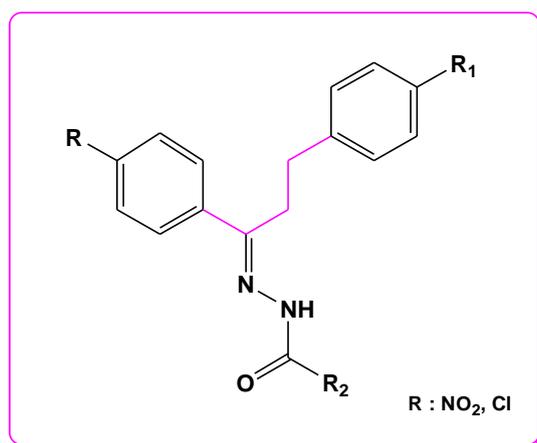


Figure II.6 : Structure de dérivé la chalcone hydrazide

II.6.3 Activité antibactérienne

Le chalcone (E)-3-(3,4-dimethoxyphényle)-1-(2-hydroxyphényle) prop-2-en-1-one présente un pouvoir antibactérien intéressant contre la souche bactérienne *Bacillus subtilis* avec une CMI qui est égale 62.5 µg/ML²⁰.

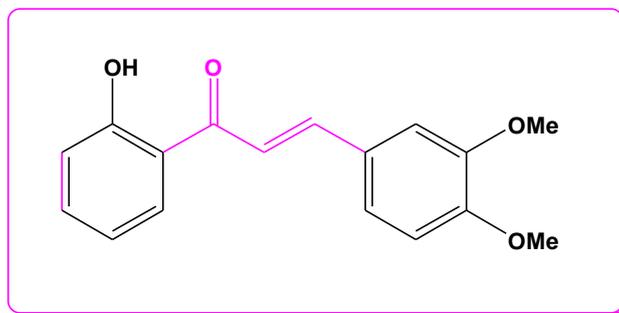


Figure II.7: Chalcone (E)-3-(3,4-dimethoxyphényle)-1-(2-hydroxyphényle) prop-2-en-1-one

II.6.4 Activité antidépressant :

Parmi les chalcones synthétiques biologiquement actives, on peut citer quelques dérivés de DHIPC (2,4-dichloro-2'-hydroxyl-4',6'-diisoprenyloxychalcone) qui a montré une activité antidépressive¹⁸.

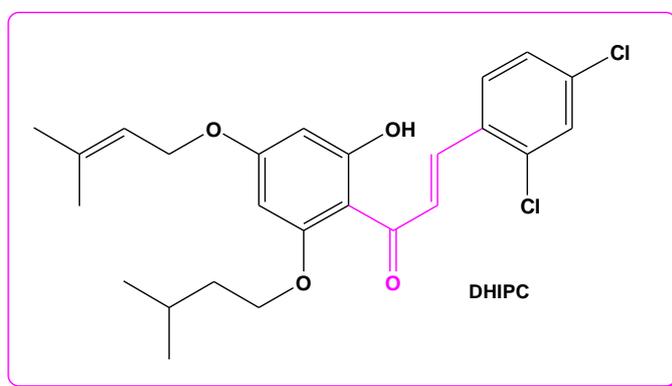


Figure II.8 : Chalcone dérivés de DHIPC

II.6.5 Activité anti-leishmanial

En 2018, l'équipe de Palmeira de Mello ont synthétisé des molécules de chalcone dérivées de méthoxy ou hydroxy-phényle, ces deux produits ont montré une très bonne activité anti-leishmanial dont la concentration IC_{50} est égale $30 \mu M$ ¹⁹.

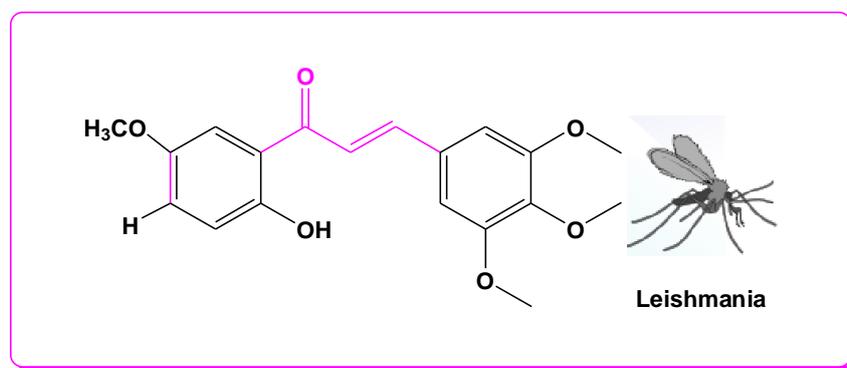


Figure II.9 : Chalcone dérivées de méthoxy ou hydroxy-phényle

II.6.6 Activité anti-oxydante

Un certain nombre de chalcone (E)-1-(2-hydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl) prop-2-en-1-one, (E)-1-(2-hydroxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one and (E)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxyphenyl) prop-2-en-1-one ont été également préparés et ont montré une activité anti-oxydante plus puissante que celle de vitamine C utilisé comme référence avec des valeurs de IC_{50} 8.22, 6.89 et $3.39 \mu g/mL$ respectivement²⁰.

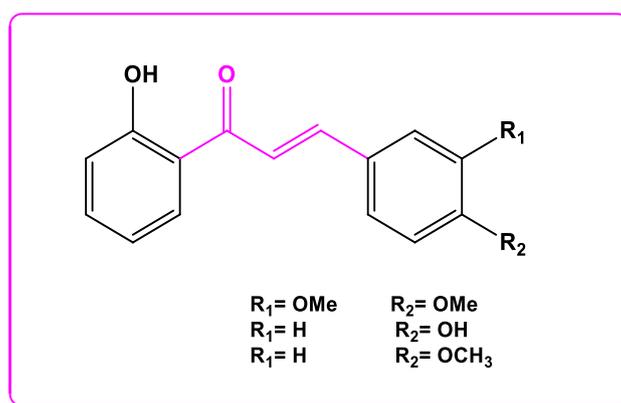


Figure II.10 : Différentes structure de chalcones

Référence

1. D.-G. Pinto, A.-M. Silva, J.-A. Cavaleiro, *Eur. J. Org. Chem*, 4, **2003**, 747-755.
2. Carlo Di. G., Mascolo N., Izzo A. A., Capasso F., *Life Sci.*, 65, **1999**, 337-353.
3. J.-C. Stoclet, V. Schini-Kerth, Flavonoïdes alimentaires et santé humaine, *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 69, **2011**, 78-90.
4. C. Zhuang, W. Zhang, C. Sheng, W. Zhang, C. Xing, Z. Miao Chalcone: a privileged structure in medicinal chemistry *Chem. Rev.*, 117, **2017**, 7762-7810.
5. N.K. Sahu, S.S. Balbhadra, J. Choudhary, D.V. Kohli Exploring pharmacological significance of chalcone scaffold: a review *Curr. Med. Chem.*, 19, **2012**, 209-225.
6. S.v. Kostanecki, J. Tambor Ueber die sechsisomeren Monooxybenzalacetophenone (Monooxychalkone).
7. Nikolic, D., and van Breem, R.B. Analytical methods for quantitation of prenylated flavonoids from hops. *curr. Anal. Chem.* 9, **2013**, 71-85.
8. Schimidt, S. (Bach-Blüten für innere Harmonie (Ed. Willkommen im Leben). ISBN: 978-3833819483, **2014**.
9. Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Damian, G., Csillag, I., Sevastre, B., Mot, A.C., Silaghi Dumitrescu, R., and Tilea, I. (Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities and Phenolic Profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. *Molecules* 19, **2014**, 5490-5507.
10. Thèse : Ali Zaiter Étude de la phytochimie de 12 plantes de la région Lorraine en fonction de la granulométrie de poudres super fines. **2017**, 24.
11. Wani, Z.A. and S. Luqman, Chalcone and their derivatives as anticancer agents. *Topics in AntiCancer Research*, 6, **2017**, 93-113.
12. Zhang, Y.; Guo, J.; Dong, H.; Zhao, X.; Zhou, L.; Li, X.; Liu, J.; Niu, Y. *Eur. J. Pharmacol.* 660, **2011**, 438-444.
13. Gupta, S. R.; Ravindranath, B.; Seshadri, T. R. *Phytochemistry*, 9, **1970**, 2231-2235.
14. AT. Neilsen; W.J. Houlihan, org. *React, international journal for rapid communication of synthetic organic chemistry*, **1968**.
15. John. D. Roberts, Majorie. C. Caserio. *Chimie organique moderne*.
16. Seunghyun Ahn, Vi Nguyen-Phuong Truong, Beomsoo Kim, Miri Yoo, Yoongho Lim, Somi Kim Cho, Dongsoo Koh, *Applied Biological Chemistry*, 65(17), **2022**, 2-14.
17. Amit N. Panaskar, Ashish Jain, Pradeep Kumar Mohanty, *JPRI*, 34(15B), **2022**, 18-26.

18. Dong-HaiZhao^a, Yan-Chun Wanga, Lian-Wen Zheng^{b*}, Bing-Yu Liucand Li-Ping Guan, IJPR, 17 (1), **2018**, 193-201.
19. M. V.Palmeira de Mello, B. de AzevedoAbraham-Vieira, T.F.SouzaDomingos, J.Barbosa de Jesus, A. Carolina Corrêa de Sousa, C. R. Rodrigues, Alessandra M. Teles de Souza,*Eur. J.of Med. Chem*, **2018,047**.
20. A.B.Mulula , A. D. Bouzina, H. B. Mambu, J. K. Ntumba, J. M. Nsomue, M. N. Tshingamb, A. A. Zaki, A. Mostafa, K. MuzeleTaba, Synthesis, *In-vitro* antibacterial and antioxidant activity of chalcone derivatives, *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, ,21,**2022**,021-030.

Chapitre III : Les hétérocycles pyrazoliques et leurs domaine d'applications

III.1 Introduction

La chimie hétérocyclique est une branche de la chimie organique, elle permet la synthèse d'un grand nombre de composés d'origine naturelle ou synthétique par diverses méthodes pour l'intérêt industrielle de compose hétérocycliques.

III.2 Définition

Un hétérocycle est un cycle contenant au moins un hétéroatome hors l'atome de carbone. « Hétéro » veut dire différent : soufre, oxygène, azote sont les atomes les plus rencontrés dans un hétérocycle. Ils peuvent être aromatiques ou non aromatiques. De notre part, nous nous sommes intéressées par les hétérocycles à cinq chaînons contenant deux hétéroatomes d'azote¹.

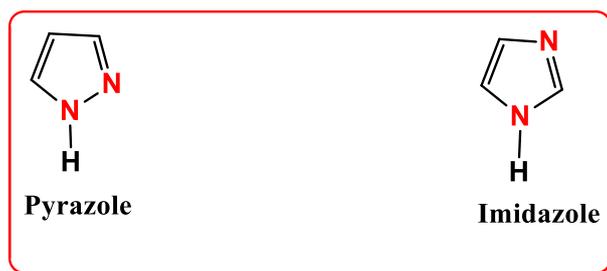


Figure III.1 : Structure hétérocycles à cinq chaînons²

L'imidazole est également très présent naturellement, on peut le trouver dans les graines de café et le cacao. (Voir figure III.2)

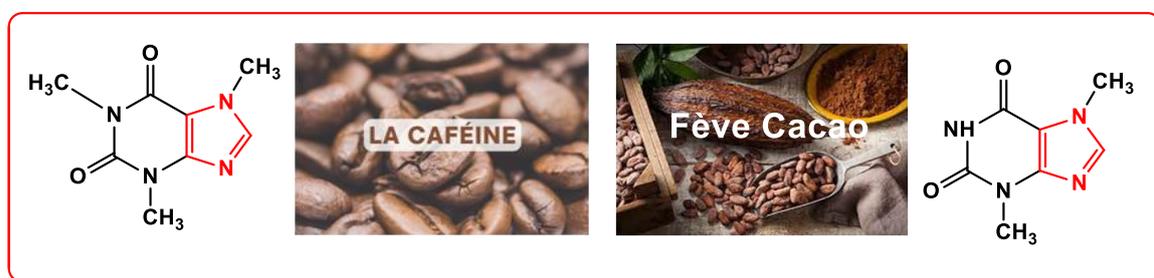


Figure III.2 : Quelques exemples de substances naturelles contenant le pyrazole substitué³⁻⁴

III.3 Les pyrazoles

III.3.1 Définition

Le mot pyrazole présente un composé hétérocyclique aromatique pentagonal, avec deux azotes voisins dans le cycle et trois carbones. La structure générale du pyrazole est comme suite ¹ :

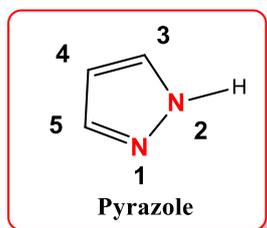


Figure III.3 : Structure de pyrazole

III.3.2 Historique

Plusieurs voies de la synthèse du pyrazole ont subi des nombreuses modifications depuis la première sa synthèse qui a été effectuée en 1883 par KNORR et Coll⁵⁻⁶ (Voir schéma III.1).

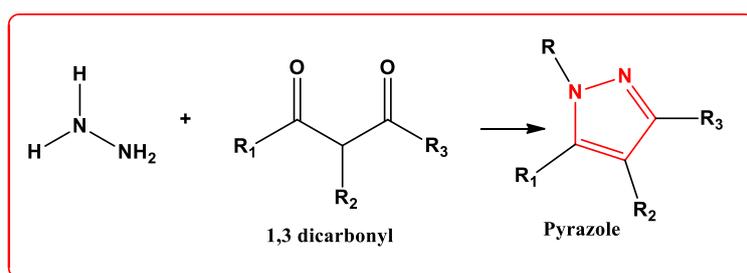


Schéma III.1 : Réaction de synthèse des pyrazoles par KNORR

Il est particulièrement rare dans la nature comme la plante *Withasomnifera* a été utilisée dans la médecine traditionnelle indienne pour le traitement de troubles légers (effets analgésique antidépresseurs)⁷.

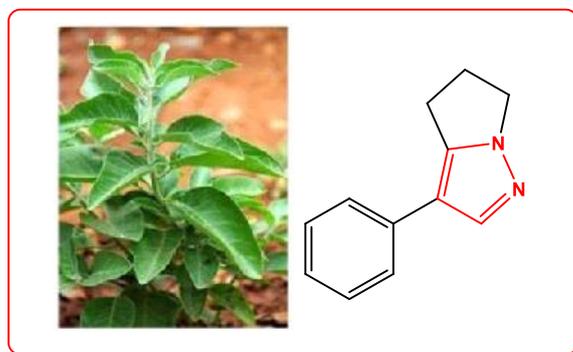


Figure III.4 : Structure de la plante de withaniasomnifera

Les hétérocycles pyrazoliques synthétisés existent dans certains médicaments, les plus puissants notamment pour le traitement : d'obésités, anti-inflammatoires, antidépresseur et antibactériennes...etc⁸⁻⁹.

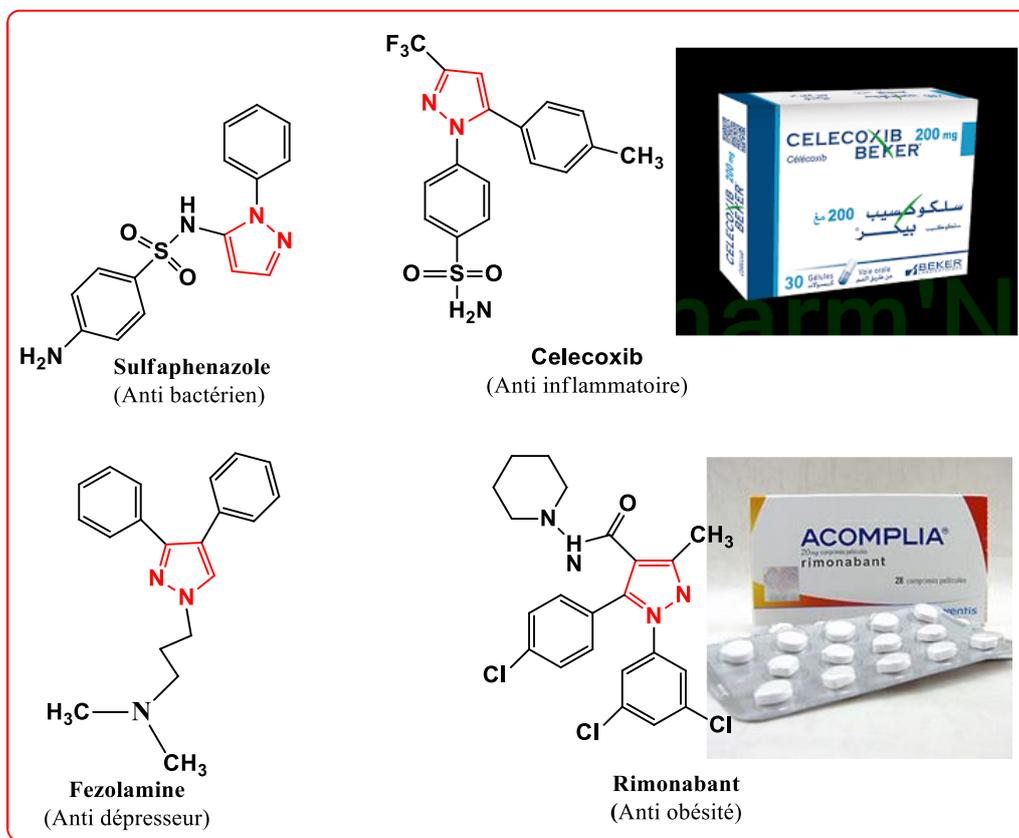


Figure III.5 : Quelques exemple des pyrazoles bioactifs

Cet hétérocycle est également très présent dans l'agrochimie, on le trouve dans de nombreux composés herbicides, fongicides et insecticides ¹⁰.

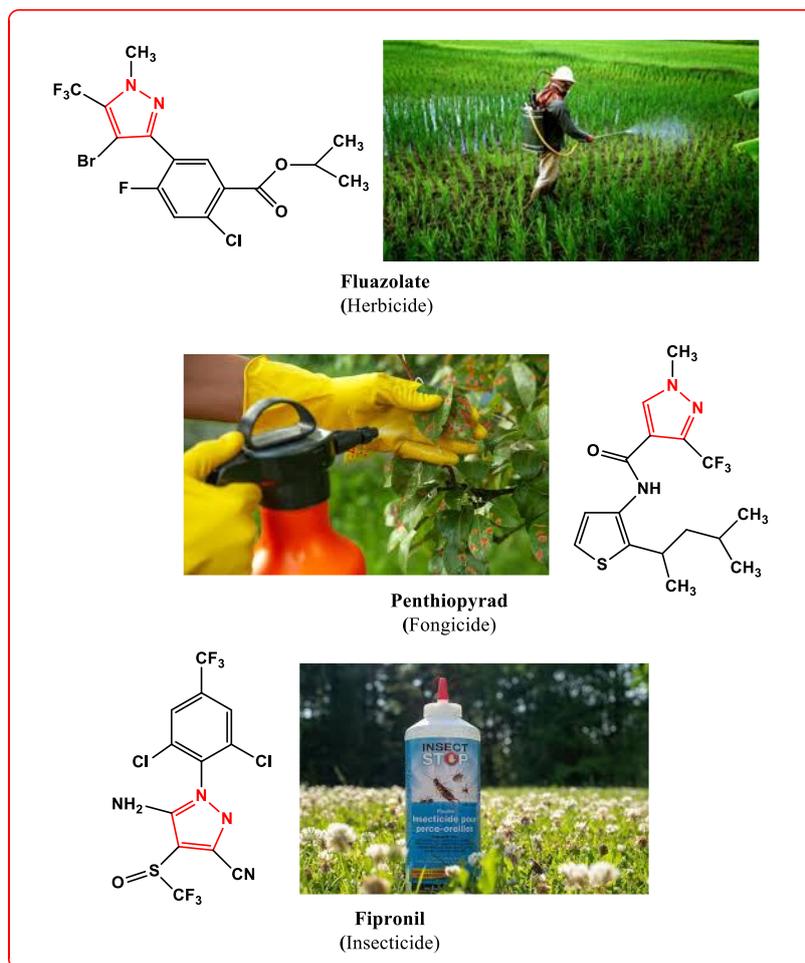


Figure III.6 : Application des pyrazoles en agrochimie

III.4.Synthèse des pyrazolines

La méthode prédominante pour la synthèse de pyrazoles substitués est la réaction de cyclocondensation. Elle implique l'utilisation d'une hydrazine appropriée en tant que nucléophile bidenté, réagissant avec une entité carbonée contenant deux carbones électrophiles en positions 1 et 3. Ces entités carbonées peuvent être des dérivés 1,3-dicarbonylés (A) ou des cétones α - β -insaturées (B, C, D) (voir schéma III.2) ¹¹.

La fonction carbonyle présente une réactivité particulière qui se réagit de différentes manières¹²:

- L'addition 1, 2, où le carbone en 2, est réalisée par un nucléophile (A)
 - Les doublets de l'oxygène, jouent le rôle d'une base réagissant avec les acides (B)
- et la fonction alcène, où la double liaison carbone-carbone est un site de forte densité électronique, elle est souvent attaquée en premier lieu par un électrophile, mais également une réactivité globale engageant l'ensemble de la structure ce qui conduit à considérer les fonctions dans les cétones α , β -insaturées comme une fonction entière. Cette réactivité globale se traduit par l'addition 1,4 où le carbone en 4 est attaqué par un nucléophile (C).

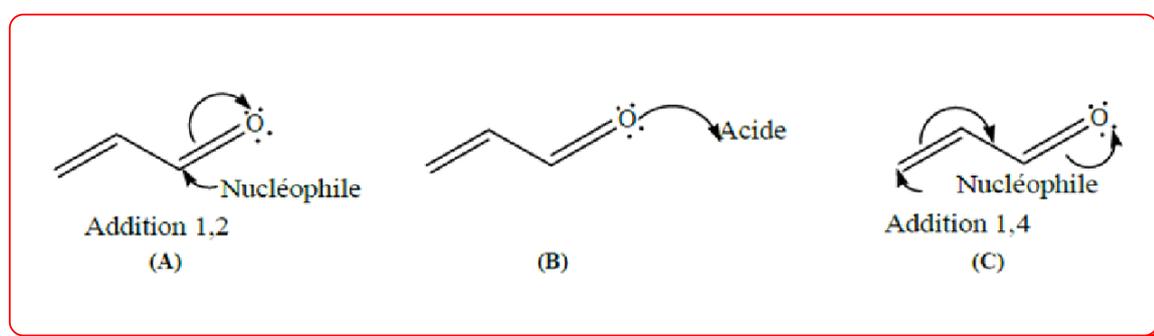


Schéma III.2 : Différentes méthodes pour obtenir les pyrazoles substitués

Nombreuses cétones α , β -insaturées sont intéressantes, en particulier les chalcones qui possèdent des noyaux aromatiques.

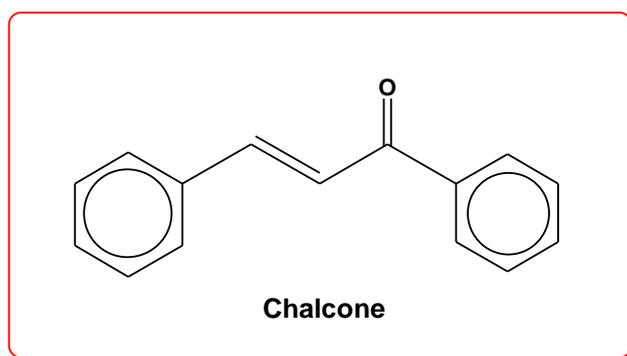


Figure III.7 : Chalcone

III.5 Propriétés pharmacologiques des dérivés pyrazoles

Les différents dérivés pyrazoles ont une activité importante surtout dans le domaine biologique et pharmaceutique. L'activité biologique de ces produits diffère selon leur structure, leur substitution et de leur stéréo-isomérie.

III.5.1.Effet antimicrobien

Synthèse d'une nouvelle série de pyrazole dérivés de l'imidazole par Vijesh et *coll.* Ensuite ces composés ont été testés pour leur activité antifongique et antibactérienne.

Parmi les synthétisés, un en particulier Le composé s'est révélé être un agent antimicrobien puissant ¹³.

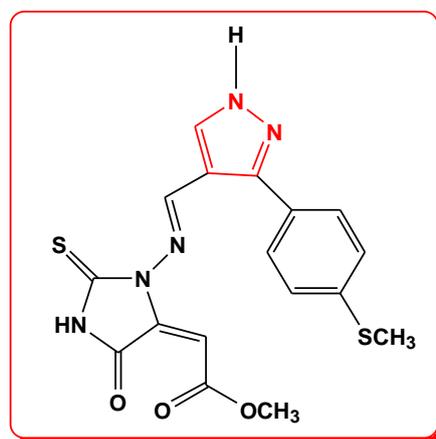


Figure III.8 : Pyrazole dérivé de l'imidazole

III.5.2.Effet antifongique

D'autre part, la synthèse de plusieurs dérivés du thiourée d'acyle pyrazole ont montré un pouvoir antifongique contre les champignons testés *G. zea*, *F. oxysporum*, *C. mandshurica*¹⁴.

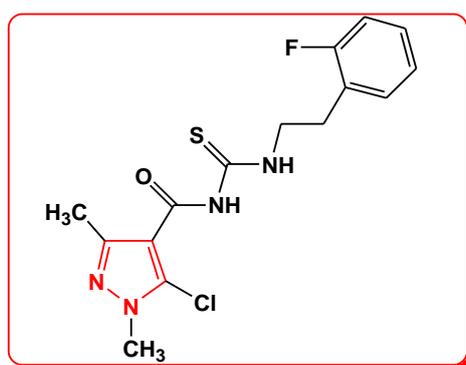


Figure III.9 : Pyrazole dérivé du thiourée d'acyle

III.5.3.Effet antibactérien

Récemment, le groupe *Desaia* préparé une nouvelle série dérivée pyrazoliques. Certains molécules est révélé un pouvoir antibactérien intéressant *via* la souche bactérienne staphylocoque doré avec une CMI de 2 mg/mL¹⁵. Une série de nouveaux dérivés pyrazolés.

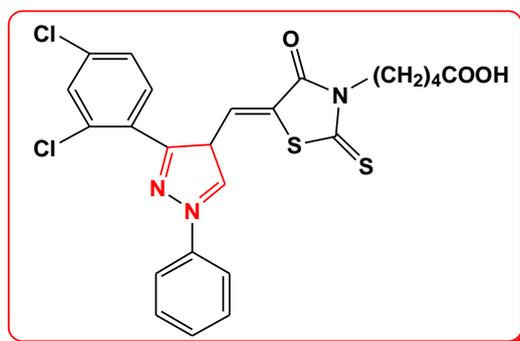


Figure III.10: Pyrazole substitué

III.5.4.Effet anticancéreux

L'équipe de Farag a synthétisé des pyrazoles substitués et évalué leur activité anti-tumorale. Le composé a été présenté une activité anticancéreuse puissant contre les cellules tumorales cancéreuses d'ascites d'Ehrlich¹⁶.

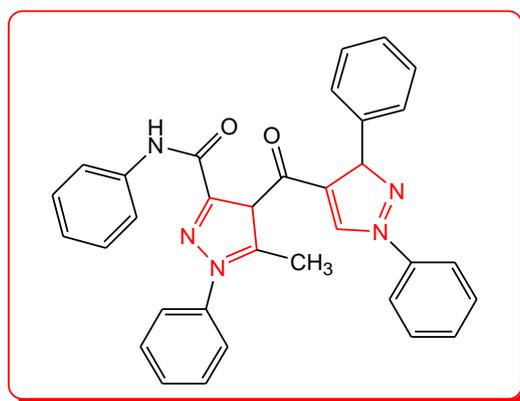


Figure III.11 : Molécules de pyrazole substitué

III.5.5. Effet anti-inflammatoire et antalgique

Une série de 1-(4-phényl)-3-phényl-1H-pyrazole-4-carbaldéhyde sont été préparées et testés pour leurs activités anti-inflammatoires et analgésiques. Parmi ces composés le pyrazole contenant le groupement 4-fluoro-phényle montre une activité anti-inflammatoire et analgésiques maximales¹⁷.

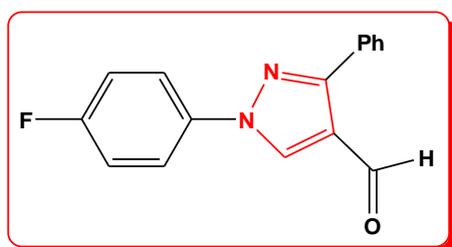


Figure III.12 : Pyrazole contenant le groupement fluoro-phényle

III.5.6. Effet Anti-Alzheimer

Le groupe *Chimenti et coll.* a préparé une série de 3,5-pyrazoles diaryliques. Plusieurs composés présentent une très bonne activité inhibitrice contre la MAO-A et la MAO-B avec une faible sélectivité¹⁸.

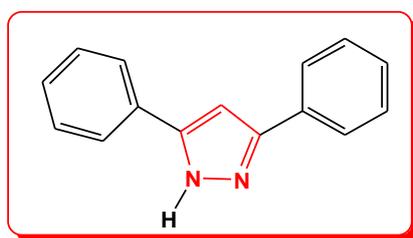


Figure III.13: 3,5-Pyrazoles diaryliques

III.5.7. Effet antidiabétique

Une nouvelle série d'acides pyrazole-4-carboxyliques substitués a été synthétisée par *Cottineau et coll.* Les résultats ont indiqué qu'une seule molécule est considérée comme un agent hypoglycémique de la série¹⁹.

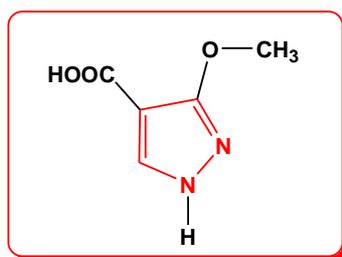


Figure III.14 : Acides pyrazole-4-carboxyliques substitués

Référence

1. J. Renaul, Chimie Organique séries Cyclique et Hétérocyclique, 2ème édition revu et corrigé, Société d'édition d'enseignement supérieur 5, (c) C.D. USEDE.Paris, **1970**.
2. Paul Arnaud, chimie organique. Cour, 16e édition, © Dunod, Paris **1997**.
3. Clifford, M. N.; Ramirez-Martinez, J. R. Phenols and Caffeine in Wet-Processed Coffee Beans and Coffee Pulp. Food Chem. 40 (1),**1991**, 35–42.
4. Li, S.; Hartland, S. A New Industrial Process for Extracting Cocoa Butter and Xanthines with Supercritical Carbon Dioxide. J. Am. Oil Chem. Soc. 73 (4),**1996**,423–429.
5. Marwa HAGUI 77 Eldebss T.Asian. Recent Advances on the Synthesis of PyrazoleContainingCompounds of Potent Biological Activities and Study Their Chemical Applications. Synthèse desdérivés d'aminopyrazoles et l'étude de leurs activités biologiques Journal of Biochemical andPharmaceutical Research.4,**2014**, 2231- 2560.
6. Valentin A-C, Vyaches E-S., SvetlanaV-S, Oleg V-S, Vladinir I-M, Sergey M-D. J. Org Chem.ControlledSwitching of Multicomponent Heterocyclization of –Amino-Narylpyrazole4-carboxamides, 1,3-cyclohexane diones, and Aldehydes.Eur **2012**,5515-5524.
7. H. B. Schroter, D. Neumann, A. R. Katritzky, R. J. Swinbourne, Tetrahedron,**22,1966**, 2895.
8. Elguero, J. Comprehensive Heterocyclic Chemistry; Pergamon: Oxford, **5,1996**.
9. Fustero, S.; Sánchez-Roselló, M.; Barrio, P.; Simón-Fuentes, A. Chem. Rev.111,**2011**, 6984.
10. C. Lamberth, Hétérocycles, 71, **2007**,1467.
11. Khalid Karrouchi, Smaail Radi, Youssef Ramli, Jamal Taoufik, Yahia N. Mabkhot, Faiz A. Al-aizari, M'hammed Ansar.Synthesis and Pharmacological Activities of Pyrazole derivatives: A Review. Molecules **2018**.
12. Djemmal Nadia. Synthèse et caractérisation d'une série de cétones A, B-Insaturées issues de la condensation de 1 et 2- acetonaphtone et des dérivés de benzaldéhyde. Essai de cyclisation, **2013**,4.
13. Vijesh, A.M.; Isloor, A.M.; Telkar, S.; Peethambar, S.K.; Rai, S.; Isloor, N. Synthesis, characterization and antimicrobial studies of some new pyrazole incorporated imidazole derivatives. Eur. J. Med. Chem. 46, **2011**, 3531–3536.
14. Wu, J.; Shi, Q.; Chen, Z.; He, M.; Jin, L.; Hu, D. Synthesis and Bioactivity of Pyrazole Acyl ThioureaDerivatives. Molecules 17, **2012**, 5139–5150.

15. Xu, L.-L.; Zheng, C.-J.; Sun, L.-P.; Miao, J.; Piao, H.-R. Synthesis of novel 1,3-diaryl pyrazole derivatives bearing rhodanine-3-fatty acid moieties as potential antibacterial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **48**, **2012**, 174–178.
16. Farag, A.M.; Mayhoub, A.S.; Barakat, S.E.; Bayomi, A.H. Regioselective synthesis and anti-tumorscreening of some novel N-phenylpyrazole derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **16**, **2008**, 881-889.
17. Selvam, T.P.; Kumar, P.V.; Saravanan, G.; Prakash, C.R. Microwave-assisted synthesis, characterization and biological activity of novel pyrazole derivatives. *J. Saudi Chem. Soc.* **18**, **2014**, 1015–1021.
18. Chimenti, F.; Fioravanti, R.; Bolasco, A.; Manna, F.; Chimenti, P.; Secci, D.; Befani, O.; Turini, P.; Ortuso, F.; Alcaro, S. Monoamine Oxidase Isoform-Dependent Tautomeric Influence in the Recognition of 3, 5-Diaryl Pyrazole Inhibitors. *J. Med. Chem.* **50**, **2007**, 425–428.
19. Cottineau, B.; Toto, P.; Marot, C.; Pipaud, A.; Chenault, J. Synthesis and hypoglycemic evaluation of substituted pyrazole-4-carboxylic acids. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **12**, **2002**, 2105–2108.

Généralités sur l'activité biologique

IV. Généralités sur l'activité antibactérienne

IV.1. Introduction

Les microbes sont des micro-organismes indispensables à l'homme et à l'environnement, Certains micro-organismes tels que les bactéries et les levures peuvent être pathogènes et causer des maladies chez l'homme, les plantes ou les animaux. Elles sont responsables de plusieurs maladies épidémiques et pandémiques. A partir d'une succession d'observation et de travaux de nombreux chercheurs dont Pasteur, Joubert, Duchesne puis Fleming, cette quête a abouti à la découverte des antibiotiques ¹.

IV.2. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances qui ont la capacité d'inhiber ou de détruire spécifiquement les bactéries sans être toxiques pour l'organisme hôte. Ils peuvent agir de deux manières : par une action toxique directe, appelée bactéricide, où ils tuent les bactéries, ou par une action bactériostatique, où ils inhibent la croissance des bactéries sans les éliminer complètement.

L'objectif du traitement antibiotique est d'aider le système immunitaire de l'organisme à éliminer les bactéries pathogènes présentes ².

IV.3. Paramètres d'activité d'un antibiotique

L'activité d'un antibiotique sur le germe peut être définie par différentes méthodes connus ³:

- ✓ Le spectre d'activité : Ensemble des bactéries sensibles à l'action d'un médicament antibiotique particulier.
- ✓ La concentration minimale inhibitrice (CMI).

IV.3.a La concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la plus petite concentration d'antibiotique nécessaire pour inhiber toute croissance visible d'une souche bactérienne après 18 heures d'incubation à 37 °C. Cette valeur est utilisée pour caractériser l'effet bactériostatique d'un antibiotique ³.

IV.4. Aperçu sur les bactéries testées

A. Gram positif

➤ *Staphylococcus aureus* : est une bactérie à Gram positif de forme Cocci qui se trouve couramment chez l'homme en tant que commensal, mais qui peut également devenir pathogène opportuniste dans certains cas. Cette bactérie est responsable d'une variété d'infections, y compris les infections nosocomiales, les intoxications alimentaires et les infections cutanées ⁴⁻⁵.

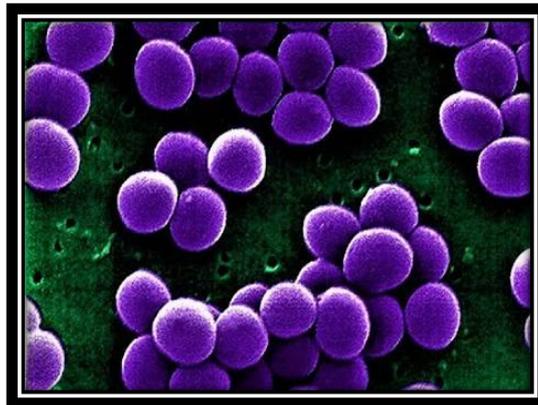


Figure IV.1 : *Observation de Staphylococcus aureus en microscopie électronique à balayage.*

➤ *Bacillus cereus* : est une bactérie responsable de deux types de maladies liées à l'alimentation. Elle provoque des infections caractérisées par des symptômes de diarrhée et des intoxications qui se manifestent par des vomissements. Cette bactérie s'agit d'un bacille à coloration de Gram positive, sporulant et aéro-anaérobie facultatif ⁶.

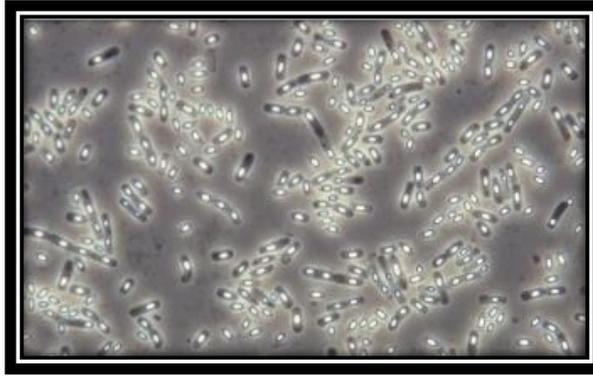


Figure IV.2 : Observation de *Bacillus cereus* en microscopie électronique à balayage.

B. Gram négatif

- *Escherichia coli* (*E. coli*) : Il s'agit d'un colibacille, une bactérie à Gram négatif de la famille des entérobactéries intestinales. Cette bactérie est largement répandue chez les mammifères très communs chez l'être humain. Découverte en 1885 par Théodore Escherichia dans des selles de nourrissons ; c'est un coliforme fécal généralement commensal⁷.

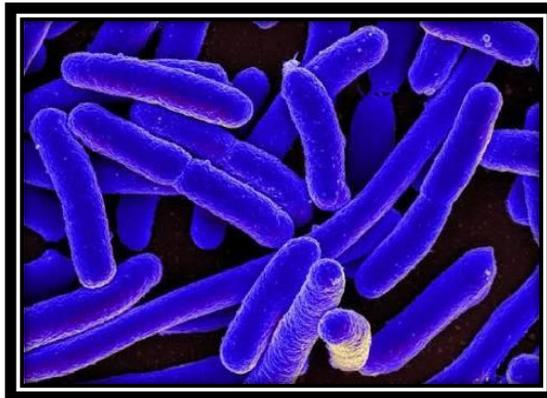


Figure IV.3 : Observation d'*Escherichia coli* microscopie électronique à balayage.

- *Klebsiella* : est un genre de bactérie bacilles Gram négatifs appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Son nom est en référence fait référence au bactériologiste Edwin Klebs⁸.

Ces bactéries sont responsables jusqu'à 5 % des infections urinaires communautaires et 9 % des nosocomiales⁹. Les infections à *Klebsiella* peuvent toucher diverses parties du corps, y compris les voies urinaires, les poumons, le sang et les plaies. Ces bactéries

peuvent présenter une résistance aux antibiotiques, ce qui peut compliquer le traitement et nécessiter l'utilisation d'agents antimicrobiens spécifiques.

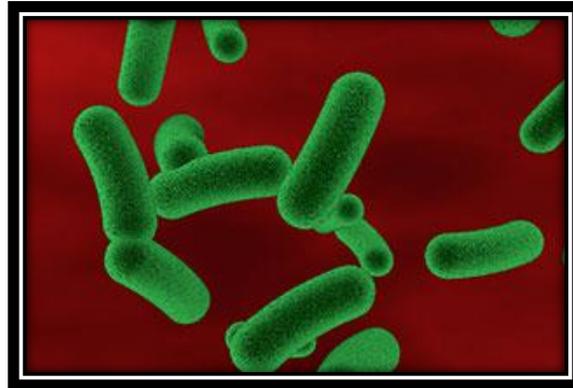


Figure IV.4 : *Observation Klebsiella en microscopie électronique à balayage.*

- ***Pseudomonas aeruginosa*** : Parmi les bactéries, elle est classé les plus difficiles à traiter cliniquement particulièrement. *P. aeruginosa*, reconnu comme pathogène opportuniste et causant des infections pulmonaires mortelles chez les patients atteints de fibrose kystique ¹⁰.

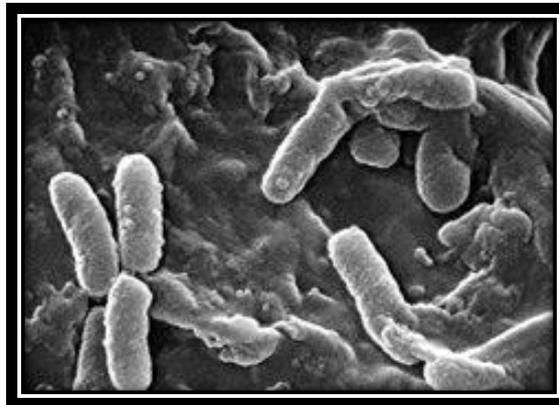
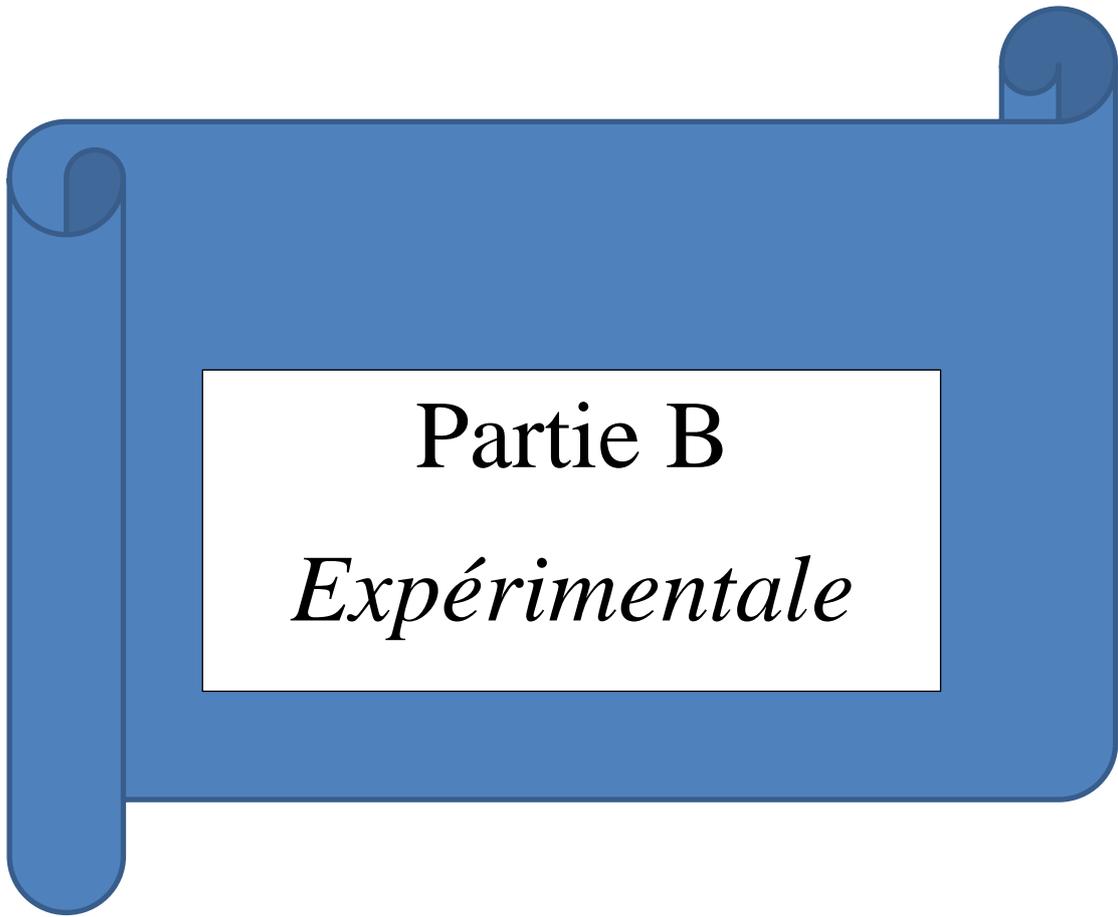


Figure IV.5 : *Observation Pseudomonas aeruginosa en microscopie électronique à balayage.*

Référence

1. Pasteur L., Joubert J. Charbon et septicémie, *Les Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 85, **1877**, 101-105.
2. Duchesne, E., Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les microorganismes, antagonisme entre les moisissures et les microbes, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon. France. *Thèse de doctorat*, **1897**, p.64.
3. Fleming, A. *British Journal of Experimental Pathology*. 10, **1929**, 229-236.
4. Ludwig W., Schleifer K.-H. et William W.B. Enterococcaceae. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. William W. B. Georgia: USA, Springer: **2009**, 594-623.
5. Fethi Benbelaid, Effets des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur *Enterococcus faecalis* responsable d'infections d'origine dentaire. *Thèse de doctorat en biologie*. **2015**.
6. Anses. « Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande d'avis complémentaire concernant les références applicables aux denrées alimentaires en tant que critères indicateurs d'hygiène des procédés » Maisons-Alfort : Anses. **2010**.
7. Boulebd H. Synthèse, caractérisation et évaluation biologique de nouveaux dérivés polyhétérocycliques à base d'imidazole. *Thèse de doctorat*. Université de Constantine. Doi: 10.13140/RG.2.1.3489.7042. **2016**.
8. Bactériologie médicale: techniques usuelles. Par François Denis, Marie-Cécile Ploy. ECBU, page 139 [archive]. Elsevier Masson, **2007** - 573 pages.
9. Trevisan V, *Atti della Accademia Fisica-Medica-Statistica di Milano* **1885**.
10. Mavrodi O., Mcspadden Gardener B., Mavrodi D., Bonsall R., Weller D., Thomashow L. Genetic Diversity Of Phd From 2,4- diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* species. *Phytopathol*. 91, **2001**, 35-43



Partie B

Expérimentale

I. Techniques et appareillages utilisés

I.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous présenterons les produits utilisés, les dispositifs de synthèse et les méthodes de caractérisation qui ont été employés pour analyser nos échantillons. Nous aborderons également le matériel et les techniques utilisés pour mener l'étude biologique.

I.2 Matériels de synthèse

- **Montage de synthèse**

Dans notre montage expérimental, nous avons utilisé les éléments essentiels suivants :

- Une plaque chauffante avec agitation magnétique.
- Un réfrigérant qui sert à condenser le solvant pendant la réaction.
- Un ballon monocol de 100 mL avec un barreau magnétique.

- **Réactifs et solvants utilisés**

Réactifs et solvants	Structure	M. (g/mol)	T _f (°C)	P _{eb} (°C)	Densité
Benzaldéhyde	C ₇ H ₆ O	106,12	-	1,046	1,046
2-Hydroxy-benzaldéhyde	C ₇ H ₆ O ₂	122,12	-	194	1,17
2-4 Dihydroxybenzaldehyde	C ₇ H ₆ O ₃	138,12	134-138	-	1.2667
Vaniline	C ₈ H ₈ O ₃	152,15	81,5	285	1.06
Hydroxide de sodium	(C ₂ H ₅) ₂ O	74,12	318	-	2.13
Charbon actif	-	12.01	3550	-	2.31
Iode	I ₂	127	113,7	184 °C	4,93
Aniline	C ₆ H ₇ N	93,13	-6,3	184,1	1,02
Hydrazine hydrate 80%	H ₄ N ₂ .H ₂ O	50,06	-	117 -119	1.02
Anhydride acétique	C ₄ H ₆ O ₃	102,09	-73,1	139,5	1,08
Méthanol	CH ₄ O	32,04	-	64,7	0.792
Ethanol	C ₂ H ₆ O	46,06	-	78,37	0.789
Acétone	C ₃ H ₆ O	58,08	-	56	0.784
Cyclohexane	C ₆ H ₁₂	84,15	-	80,75	0,779
Acide acétique glacial	C ₂ H ₄ O ₂	60,05	-	118	1.05
Acide chlorhydrique	HCl	36,458	-	-85,05	1,49
Acétate de sodium	C ₂ H ₃ NaO ₂	82,0343	-	881,4	1,53

Tableau B.1 : Caractéristiques des produits chimiques et les solvants utilisés

I.3 Méthode de caractérisation

I.3.1 Point de fusion

Les points de fusion sont mesurés dans un capillaire à point de fusion avec un appareil KRUSS ($T_{\max} = 400\text{ °C}$).



Figure B.1 : *Appareil KRUSS de point de fusion*

I.3.2 Spectrophotométrie UV-Visible

Les produits de départ et synthétisés sont analysés par l'absorption UV-Vis par un spectrophotomètre OPTIZEN (MECASYS). La cellule d'étude, en quartz, est de 1 cm d'épaisseur, le solvant adéquat pour mener cette étude est le méthanol ou l'eau distillée, selon le type de composé. Les spectres électroniques ont été tracés dans l'intervalle de 190 à 600 nm.



Figure B.2 : *Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible*

I.3.3. Spectroscopie infrarouge

Les composés solides sont analysés dans une pastille KBr pour avoir des spectres IR à partir d'un spectromètre de type Jasco V-530 entre 4000 et 400 cm^{-1} (laboratoire d'Organique, Département de Chimie, Université Es-Sénia, Oran).

I.3.4. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Chromatographie sur couche mince (CCM) : La chromatographie est une méthode de purification, de séparation et d'identification d'un mélange de constituants. Les CCM sont effectuées avec de couches minces du gel de silice sur des plaques en aluminium. Après élution dans le solvant donné, les plaques sont révélées par l'Iode avec le chauffage pour obtenir les points.

Chaque constituant migre d'une certaine hauteur, caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou rétention frontale (R_f)¹.

$$R_f = d_{\text{substance}} / d_{\text{solvant}}$$

$d_{\text{substance}}$: Distance parcourue par le composé (mesurée au centre de la tache).

d_{solvant} : Distance parcourue par le front du solvant.

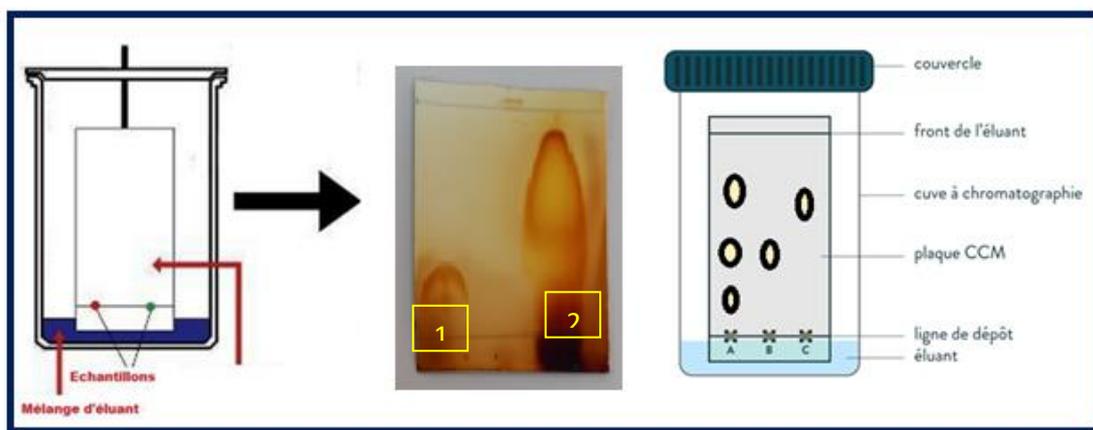


Figure B.3 : Montage de la Chromatographies sur Couche Mince

B.II Synthèses des chalcones et leurs pyrazoles correspondants

B.II.1 Introduction

Dans ce travail, nous avons synthétisées une série de chalcone α , β -insaturées à partir de N-phényle-acétamide comme produit de départ.

Les molécules préparées ont été caractérisées par le point de fusion, IR, UV-Visible afin de pouvoir distinguer entre les réactifs de départ et les produits intermédiaires ainsi que les composés finaux. L'avancement des réactions a été suivi par CCM.

B.II.2 Mode opératoire

B.II.2.1 Synthèse de N-phényle-acétamide

B.II.2.1.a Préparation produit de départ

Pour préparer N-phényle acétamide comme illustre dans le schéma suivant , on va passer par deux étapes ² :

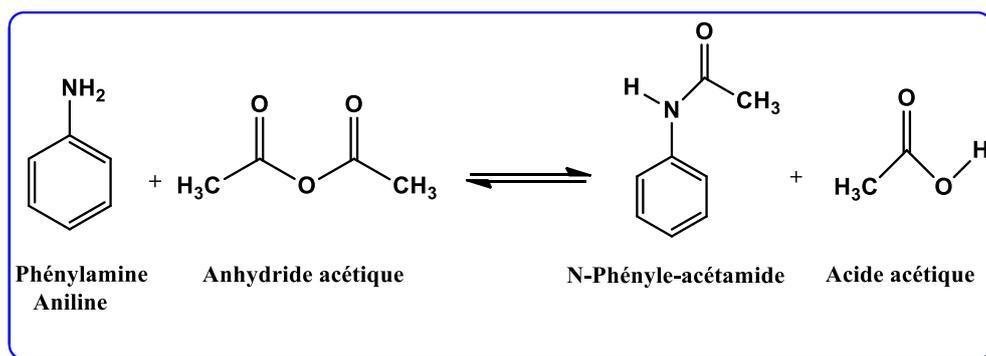


Schéma B.1 : Préparation de N-phényle acétamide

- *Préparation des réactifs*

Solution A : Dans un bécher de 400 ml 250 ml d'eau distillé, dissoudre 10 ml d'aniline en présence de quelques millilitres d'acide chlorhydrique concentré en agitant puis on ajoute le charbon actif en chauffant à 50°C environ pendant 5 minutes pour assurer la décoloration du produit final puis on filtre.

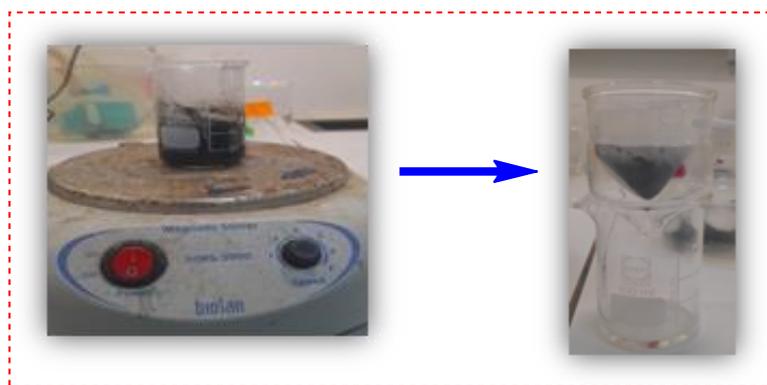


Figure B.4 : Préparation de la solution A

Solution B : Mettre le bécher contenant une solution d'acétate de sodium anhydre dans un bain de glace puis on ajoute goutte à goutte l'anhydride acétique.

- **Acétylation**

Verser immédiatement et d'un seul coup la **solution B** dans la **solution A** en agitant quelques minutes puis refroidir le milieu réactionnel dans un bain de glace pour l'apparition des cristaux blanc. La réaction est suivie par CCM.



Figure B.5 : Préparation de N-phényle acétamide

- **Séparation et Purification :**

Filtrer N-phényle acétamide brut sous vide puis laver avec un peu d'eau distillée après le séchage du solide désiré sur papier filtre ,recristalliser le produit brut dans l'eau distillée bouillante, filtrer les cristaux blancs.



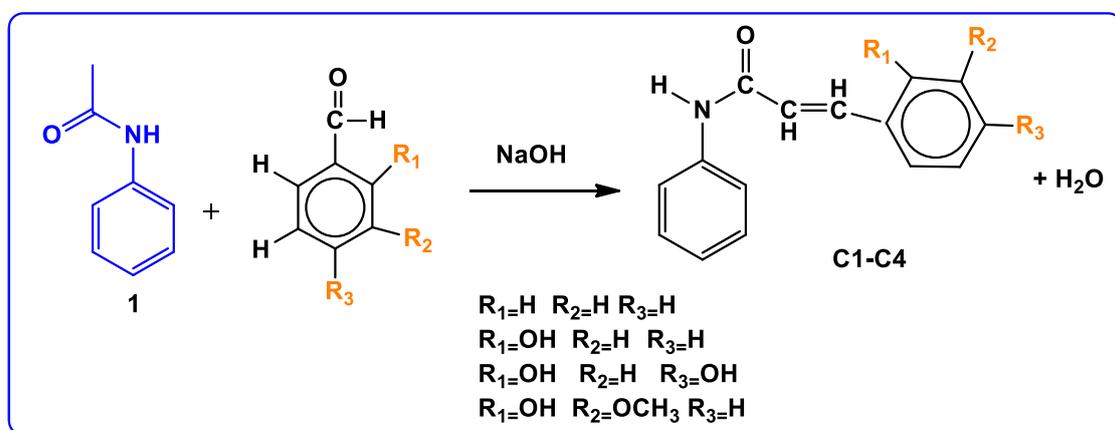
Figure B.6 : Séparation et Purification de N-phényle acétamide

Tableau B.2 : Caractéristique physique de N-phényle acétamide préparés

N-phényle acétamide	couleur	Rendement (%)	Point de fusion (°C)	R _f
A	Cristaux blanc	85	114	0,6

B.II.2.2 Synthèse de chalcone α , β -insaturées (C1-C4)

La synthèse des chalcones α , β -insaturées s'effectue par le procédé général de condensation des quantités équimolaires d'aldéhyde aromatique substitués avec le N-phényle-acétamide en milieu Ethanoïque en présence de NaOH². L'ensemble est porté sous agitation magnétique pendant 24h. La réaction est suivie par CCM (Acétone-Cyclohexane). Le mélange réactionnel est acidifié, filtré puis lavé par l'eau distillée. Le solide obtenu est purifié par recristallisation dans l'éthanol.



Schémas B.2 : La réaction de synthèse dérivés de chalcone (C1-C4)

- ✚ (Aryle)-N-phényle-acétamide (C1)
- ✚ (2-Hydroxy-aryle)-N-phényle-acétamide (C2)
- ✚ (2,4-Dihydroxy-aryle)-N-phényle-acétamide (C3)
- ✚ (2-Hydroxy-3-méthoxy-aryle)-N-phényle-acétamide (C4)

Les rendements et les points de fusion des produits obtenus pour chaque chalcone sont calculés et mesurés. Les résultats ainsi obtenus sont regroupés dans le tableau **B.2** suivant :

Tableau B.3 : Caractéristique physique de chalcone préparés

Chalcone	couleur	Rendement (%)	Point de fusion (°C)	R _f
C1	blanc	70	>317	0,5
C2	Marron foncé	68	103,2	0,76
C3	Jaune clair	75	101,5	0,7
C4	Jaune	80	71	0,6

B.II.2.3 Synthèse des pyrazoles correspondants (P1-P4)

Les hétérocycles pyrazoliques (**P1-P4**) sont obtenus en mélangeant les chalcones synthétisées avec la quantité requise d'hydrazine hydratée 80 % dans un milieu alcoolique des en présence de quelques gouttes d'acide acétique glacial (Schéma **B.3**).

Le mélange réactionnel est porté au reflux sous agitation magnétique à 80°C entre 8 à 10 h. La réaction est suivie par CCM (Acétone-Cyclohexane). Le solide obtenu après l'évaporation de solvant est recristallisée à partir de l'éthanol absolu ³.

Nous avons synthétisé des pyrazoles dont les structures proposées sont comme suit :

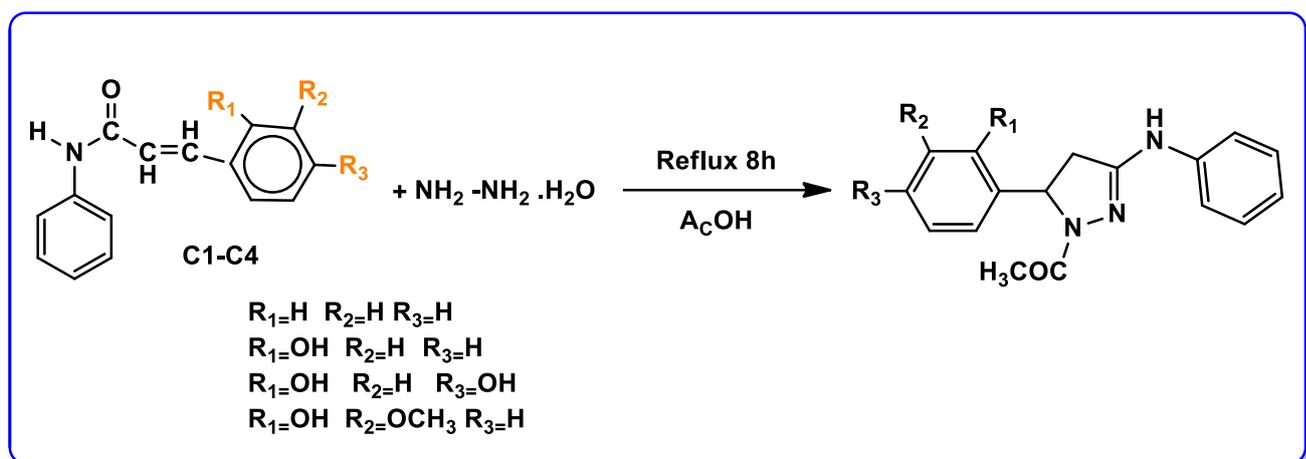


Schéma B.3 : La réaction de synthèse des pyrazoles **P1-P4**

- ✚ 1-(5-phényl-3-(phénylamino)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)-éthanone (P1)
- ✚ 1-(5-(2-hydroxyphényl)-3-(phénylamino)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)-éthanone (P2)
- ✚ 1-(5-(2,4-dihydroxyphényl)-3-(phénylamino)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)-éthanone (P3)
- ✚ 1-(5-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-3-(phénylamino)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)-éthanone (P4)

Les rendements et les points de fusion des produits obtenus pour chaque pyrazole sont calculés et mesurés. Les résultats ainsi obtenus sont regroupés dans le tableau **B.3** suivant :

Tableau B.4 : Caractéristique des hétérocycles pyrazoliques synthétisés [**P1-P4**]

Pyrazole	Couleur	Rendement%	Point de fusion °C	R _f
P1	Blanc cassé	60	>292	0,6
P2	Marron foncé	68	>220,2	0,42
P3	Jaune pale	72	130	0,8
P4	Jaune foncé	76	155 ,8	0,66

B.III Expérimental du pouvoir antibactérien des produits testés

B.III.1 Introduction

Les molécules synthétisées au cours de ce travail ont été exploitées pour leurs activités biologiques, notamment leurs activités antibactériennes au niveau de laboratoire bactériologie Hôpital Dr Benzerdjeb à Ain Temouchent.

La solution mère est préparée en dissolvant l'équivalent en poids de 30 mg de matière active dans 1 mL DMSO qui est utilisé comme solvant inactif via les souches bactériennes étudiées.



Figure B.7: *Exemple de L'effet inactif du DMSO via la souche Pseudomonas aeruginosa.*

B.III.2 Test antibiogramme

L'antibiogramme permet de déterminer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques qui sont utilisés dans cette étude ont été choisis selon leur spectre d'activité qui s'étend vers les espèces étudiées⁴.

B.III.3 Méthode et matériel utilisé

Notre travail est basé sur la méthode de diffusion dans un milieu gélosé Muller- Hinton (méthode des puits) c'est-à-dire la diffusion des produits testés selon un gradient de concentration. La méthode des puits décrite par Berghe et Vlietinck est choisie dans cette étude pour sa fiabilité et sa simplicité. Cette méthode nous fournit des résultats préliminaires sur la sensibilité des souches et les activités antibactériennes du produit testé⁵.

B.III.4 Principe

Le milieu Gélose Mueller Hinton est coulé sur boîte de pétri à une épaisseur de 8 mm, après inoculation par écouvillonnage d'une dilution du microorganisme à tester réalisée suivant une échelle de Mac Ferland, des puits de 6 mm de diamètre sont réalisés de manière concentrique sur les milieux puis, mètre 0.1mL de chaque concentration dans chaque puits au centre. Après une pré-diffusion de 45 minutes à température ambiante, les souches sont incubées à 37C°, pendant 24 heures au terme desquelles les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés en millimètres à l'aide d'un pied à coulisse ⁵.

B.III.5 Les micro-organismes utilisés

Ainsi, pour mieux valoriser nos produits synthétisés, il nous a paru intéressant d'étudier leur sensibilité.

Nous avons choisi de travailler une moyenne gamme de microorganismes afin de donner une idée sur l'étendue du champ d'activité antibactérienne de nos produits.

Les souches bactériennes sont :

- **Bactéries à Gram positif** : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ATCC 14579).
- **Bactéries à Gram négatif** : *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 70063).

Dans notre recherche, nous avons utilisé des tests antibactériens des neuf produits synthétisés contre cinq (05) bactéries, en culture *in vitro*, Il permet aussi d'identifier la concentration minimale (C.M.I) de chaque produit.

B.III.6 Les témoins

Gentamicine (GM) est un antibiotique de la famille des aminoglycosides utilisés pour traiter divers types d'infections bactériennes, en particulier celles provoquées par des bactéries à gram- négatif ⁶.



Figure B.8 : *Gentamicine utilisé comme références.*

B.III.7.1 Préparation des échantillons

30 mg de chaque composé à étudier ont été dissous dans 1mL diméthylsulfoxyde (DMSO). Cette première dilution constitue la solution mère. Les différentes dilutions des molécules testées sont : 1500, 750, 375, 187.5, 93.75 $\mu\text{g/mL}$.

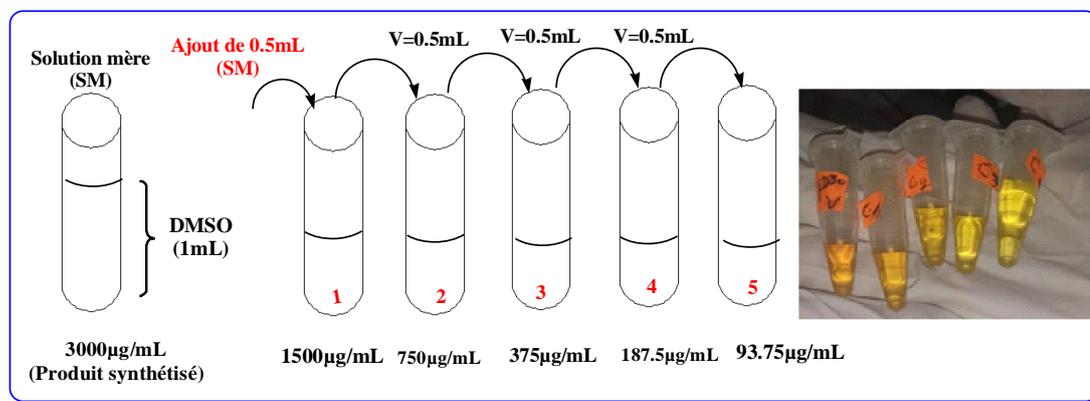


Figure B.9 : Dilution des produits synthétisés.

B.III.7.2 Cultures bactériennes

- ❖ **Revivement de bactérie** : Prendre avec un écouvillon, on prend une petite quantité de bactérie et on met dans un bouillon ou gélose nutritive et l'incubation se fait à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- ❖ **Préparation de la suspension bactérienne** : Une colonie bien isolée issue d'une culture de 18-24 h a été introduite dans 5 mL d'eau physiologique contenue dans un tube à essai. L'opacité est ensuite ajustée afin d'avoir un inoculum qui correspond à l'échelle 0,5 de Mac Farland ⁴.



Figure B.10 : Appareil de Mac Farland

- ❖ **Ensemencement ou test d'écouvillonnage** : On trempe l'écouvillon dans la suspension puis on ensemence par la suite la gélose par 1mL de suspension (eau physiologique contenant une souche active).



Figure B.11 : *Ensemencement de la bactérie sur Mueller Hinton*

- ❖ **Méthode de diffusion des puits** : Par une pipette pasteur on fait des puits après on met le disque d'antibiotique de gentamicine en milieu de la boîte pétri en remplissant les puits par nos produits synthétisé. L'incubation se fait à 37°C pendant 18 à 24 heures pour les bactéries.



Figure B.12 : *Méthode de diffusion des puits*

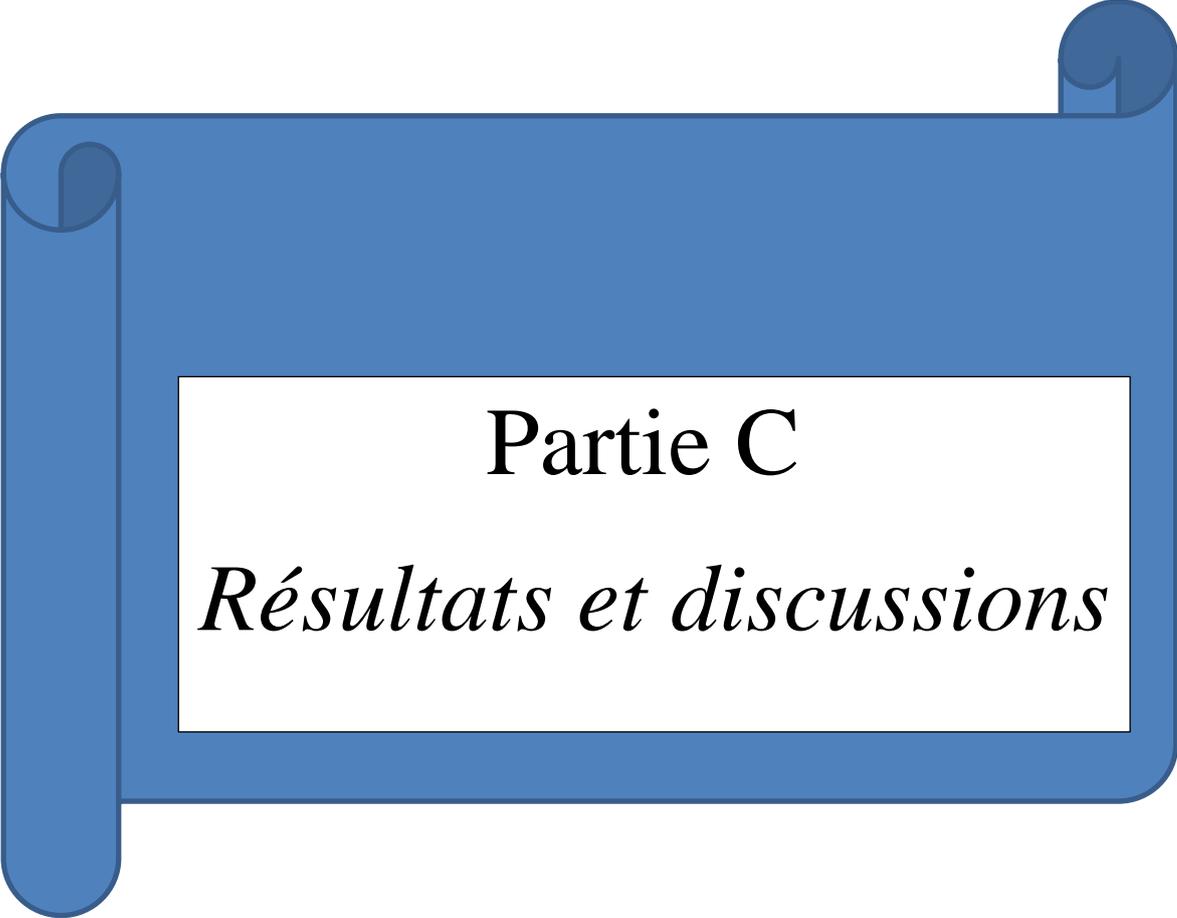
- ❖ **La lecture des résultats** : La lecture des résultats obtenus se fait en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition produite autour des puits après l'incubation.



Figure B.13 : *La lecture des résultats*

Référence

1. D. Helm, H. Labischinski, G. Schallehn, D. Nauman, *Journal of General Microbiologie*, **1991**, 69 series 137.
2. Martial Vallet, Travaux pratiques de chimie organique IA, Université de Genève.
3. C.Babu Patneedi, Synthesis of the heterocyclic chalconoid derivatives, *Der Pharma Chemica*, 7 (8), **2015**, 10-16.
4. Rahal, K., Benslimani, A, Belouni, R. Bouheraoua, M..Standardisation de l'antibiogramme 5em édition, **2008**,12-13.
5. Berghe, V.A. and Vlietinck, A.J. Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agents from Higher Plants. *Methods for Biochemistry*, 6, **1991**, 47-68.
6. Alp AS, Kilcigil G, Deniz Özdamar E, Çoban T, Eke B Synthesis and evaluation of antioxidant activities of novel 1,3,4-oxadiazole and imine containing 1H-benzimidazoles. *Turk J. Chem.* 39, **2015**, 42-53.



Partie C

Résultats et discussions

C.I Résultats et discussions de synthèse

C.I.1 Identification Spectrale des produits synthétisés

1. Spectroscopie infrarouge de N-phényle acétamide

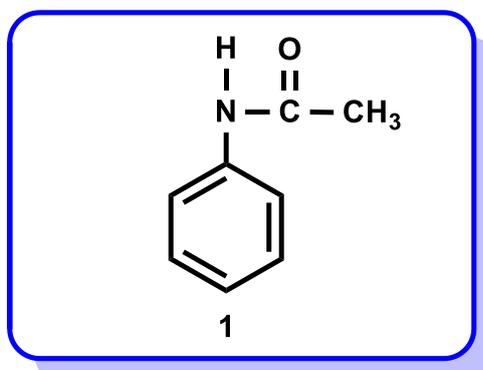


Figure C.1 : Structure de N-phényle acétamide

Le spectre infrarouge de N-phényle acétamide¹ indique l'apparition de bande située entre 3286 et 3257 cm^{-1} caractéristiques de la fonction amine NH. La présence de vibration de bande caractéristique au carbone aliphatique (CH_3) située entre 2924 et 2768 cm^{-1} sans oublier les deux bandes intenses et aiguës correspondants aux groupements carbonyle C=O apparaissent à 1659 cm^{-1} de l'acétamide et C=C aromatique révèlent à 1593 et 1534 cm^{-1} respectivement ainsi que les deux bandes du groupement C-H aromatique qui sont attribuées entre 3189 et 3131 cm^{-1} . Les résultats sont en accords avec celle de la littérature ¹.

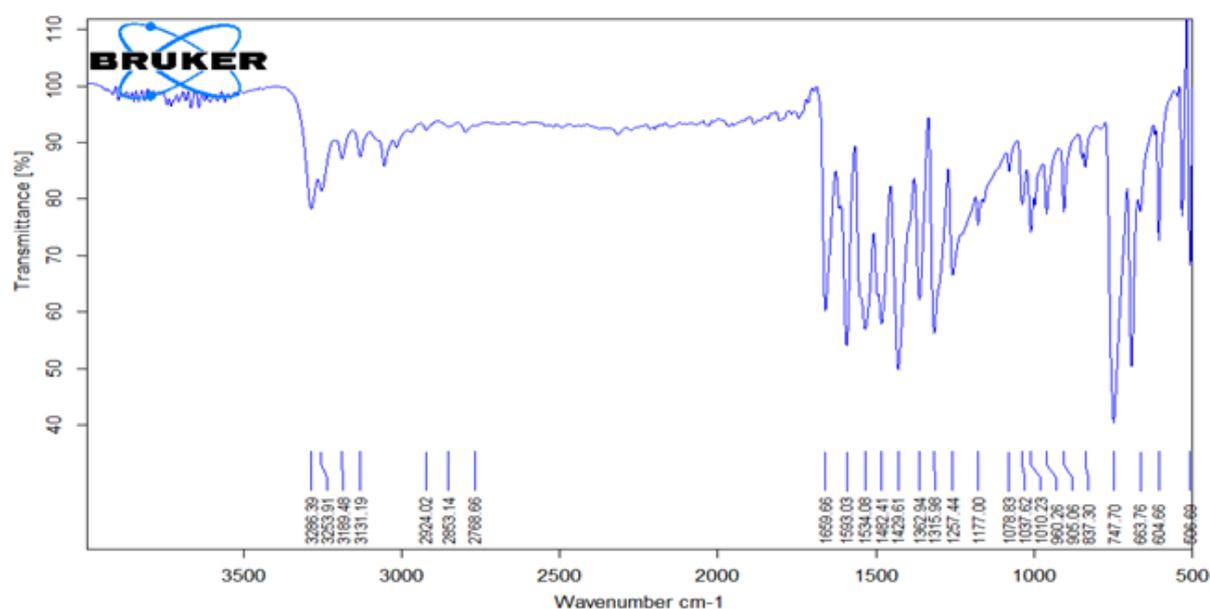


Figure C.2 : Le spectre IR de N-phényle acétamide

2. Spectroscopie UV de N-phényle acétamide

Le spectre d'analyse UV de N-phényle acétamide indique la présence d'une bande situées à 240 nm est attribuable à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ (C=O, N-H) ^{2,3}.

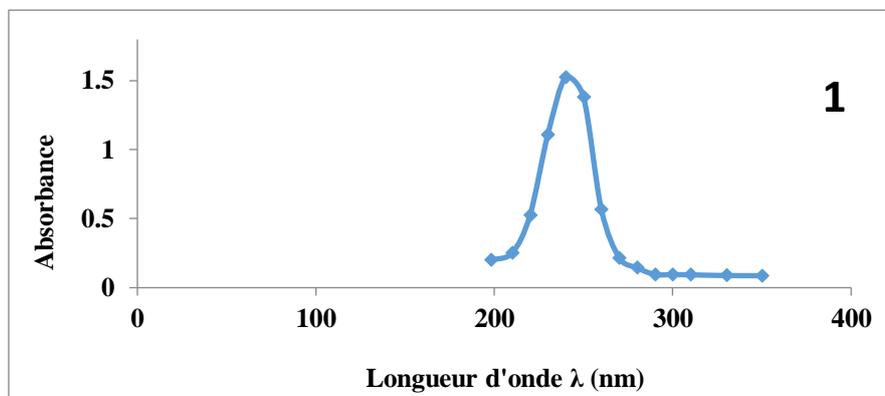


Figure C.3 : Le spectre UV de N-phényle acétamide

3. Les différentes chalcones synthétisées (C1-C4)

Les dérivés chalconiques α , β -insaturés synthétisés (C1-C4) ont été obtenus sous forme solide. Ces composé sont été recristallisés dans l'éthanol et / ou l'acétate d'éthyle, afin de les purifier et les obtenir sous forme des cristaux.

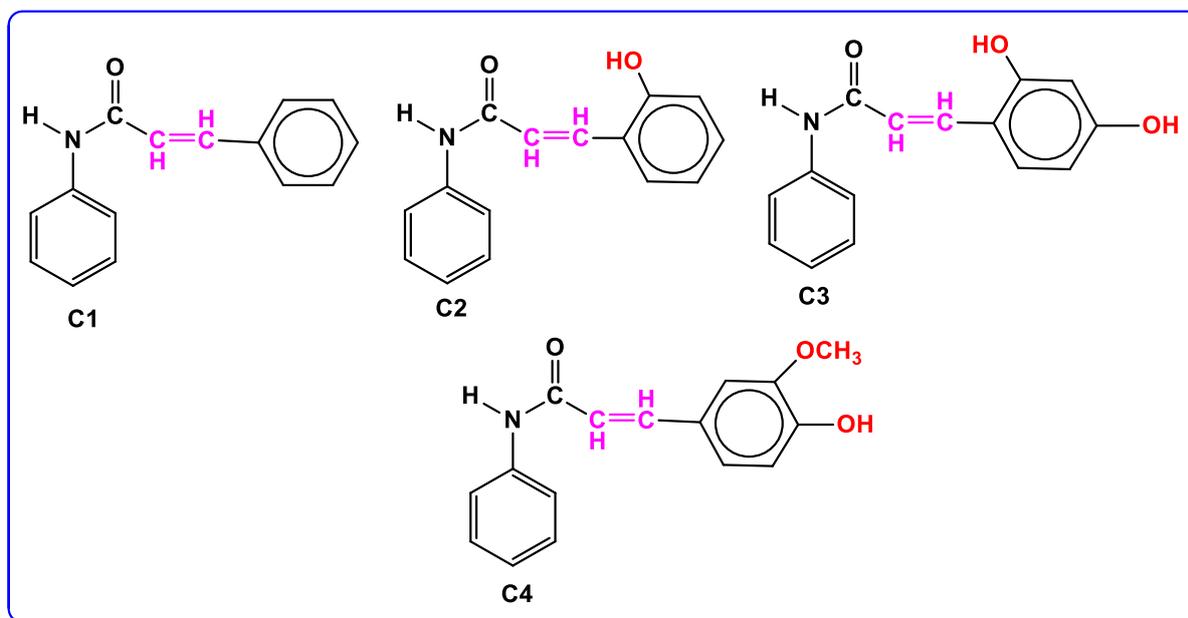


Figure C.4 : Les structures de différentes chalcones (C1-C4)

4. Caractéristiques spectroscopiques

Les structures des chalcones préparés ont été élucidées par les méthodes spectroscopiques usuelles Infrarouge et ultraviolet.

Spectroscopie infrarouge des de différentes chalcones synthétisées (C1-C4)

Les quatre spectres IR des différentes chalcones (C1-C4) révèlent des bandes larges de vibrations dans le domaine allant de 3416 à 3253 cm^{-1} et qui sont attribuées aux d'élongations de deux groupements OH et NH ainsi que l'apparition des bandes faible d'intensité révèlent entre 3163 et 3016 cm^{-1} indique le groupement CH aromatique.

Les pics intenses observés entre 1696 et 1598 cm^{-1} sont dues aux vibrations d'élongations des liaisons carbonyle C=O, sans oublié le groupement C=C aromatique qui révèle entre 1596 et 1540 cm^{-1} .

La présence des pics aigus dans l'intervalle 1625-1553 cm^{-1} sont dues aux vibrations liaisons C=C qui confirme l'existence de chalcone α , β -insaturées.

Enfin l'existence d'une bande de fréquence caractéristique au groupement C-H aliphatique O-CH₃ située environ à 2967 cm^{-1} ²⁻³.

Tableau C.1 : Données spectrales d'IR des différents chalcones (C1-C4)

Produits	IR (cm^{-1})					
	OH-NH	C-H _{ar}	C=O	C=C (Chalcone)	C=C (aromatique)	OCH ₃
C1	3287-3255	3056	1660	1594	1592	-
C2	3416-3284	3163	1598	1630	1553	-
C3	3402-3272	3160	1696	1625	1540	-
C4	3287-3253	3016	1660	1585	1560	2967

Les spectres infrarouges correspondants sont illustrés sur les figures suivantes :

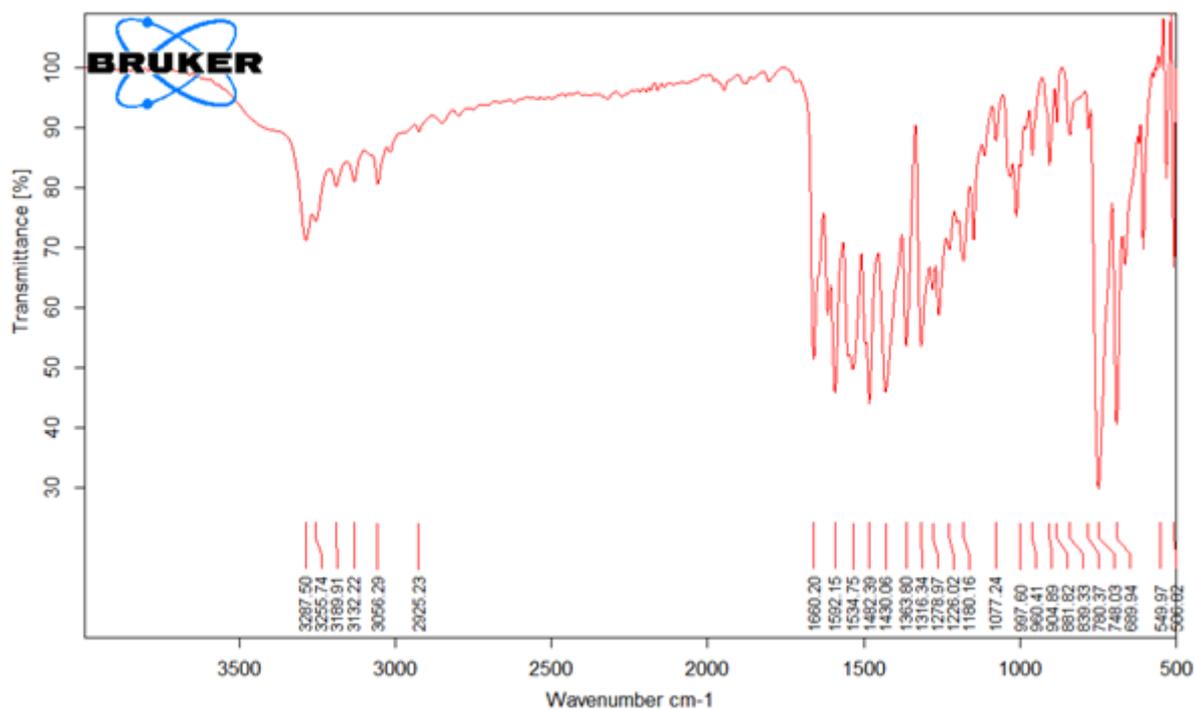


Figure C.5 : Le spectre IR de chalcone C1

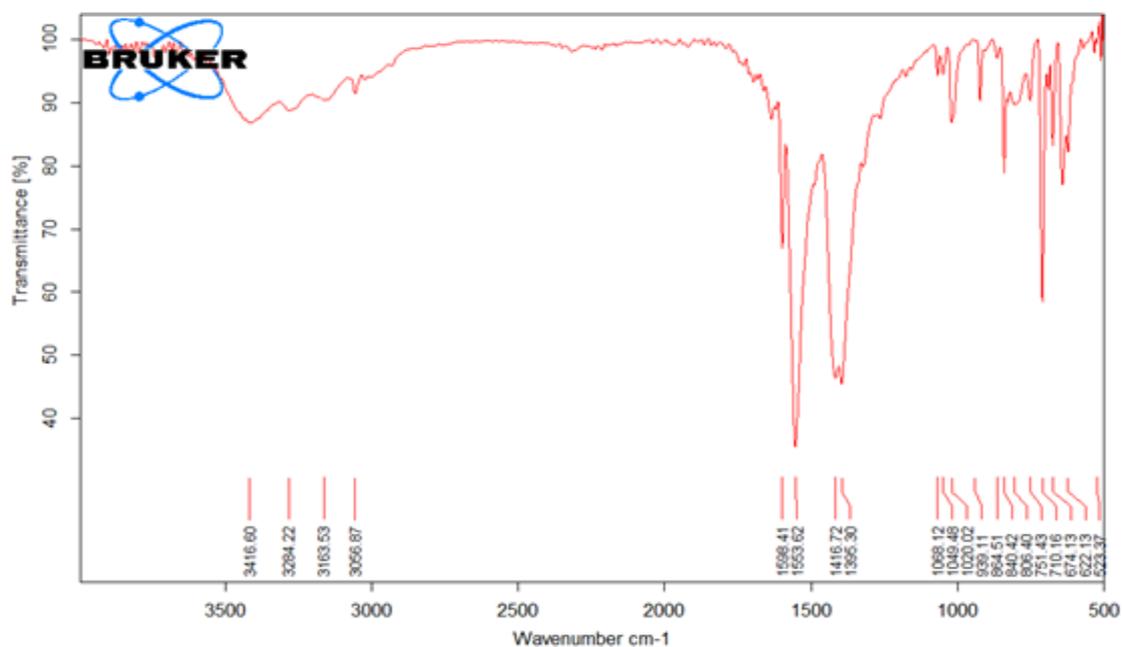


Figure C.6 : Le spectre IR de chalcone C2

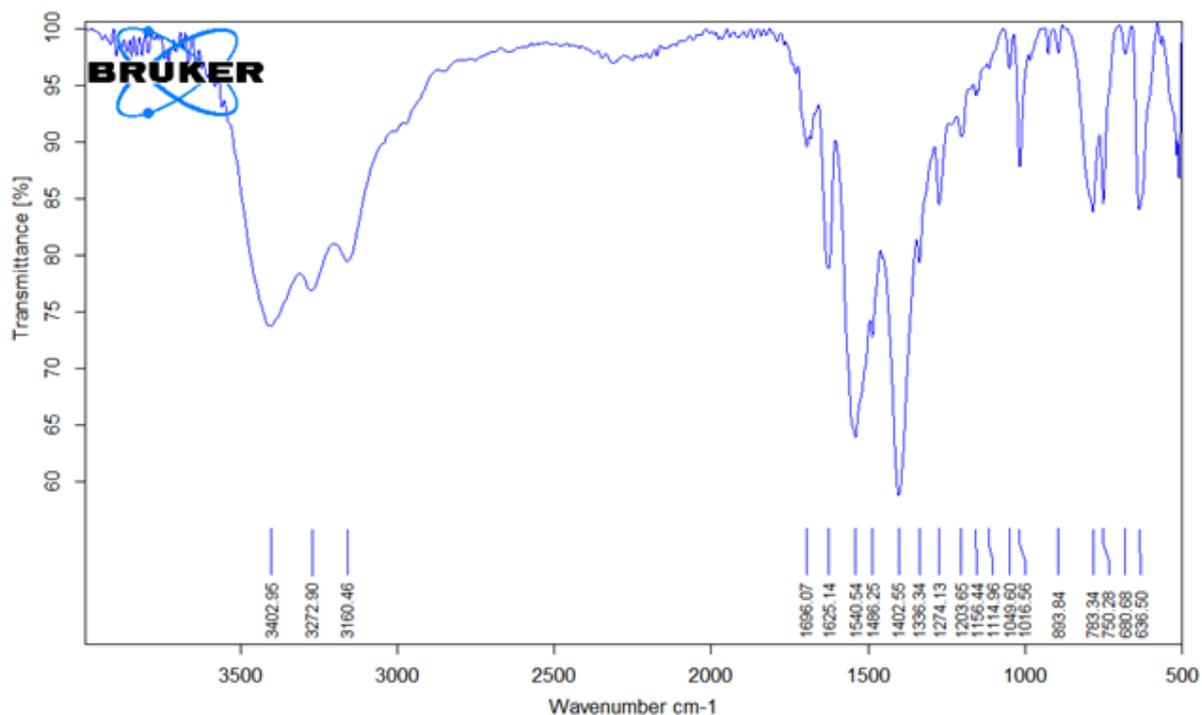


Figure C.7 : Le spectre IR de chalcone C3

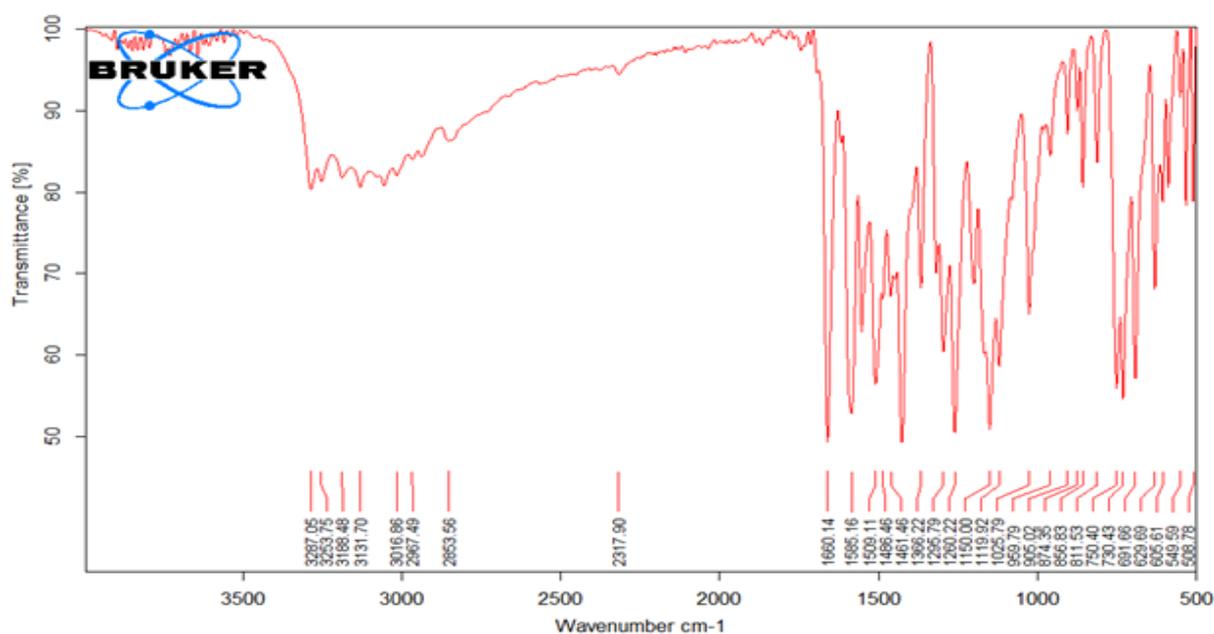


Figure C. 8 : Le spectre IR de chalcone C4

5. Spectroscopie UV des chalcones préparées (C1-C4)

Les spectres UV-visible des chalcones (C1-C3) dans l'éthanol, montrent la présence d'une seule bande d'absorption ayant des longueurs d'ondes entre 230-250 nm correspondante aux transitions $n-\pi^*$ et $\pi-\pi^*$. En revanche, le chalcone C4 montre la présence de trois bandes ayant les longueurs d'ondes 240, 280 et 310 nm attribuées respectivement aux transitions $n-\pi^*$, $\pi-\pi^*$ et $n-\sigma^*$ ²⁻³ (Voir figure C.9).

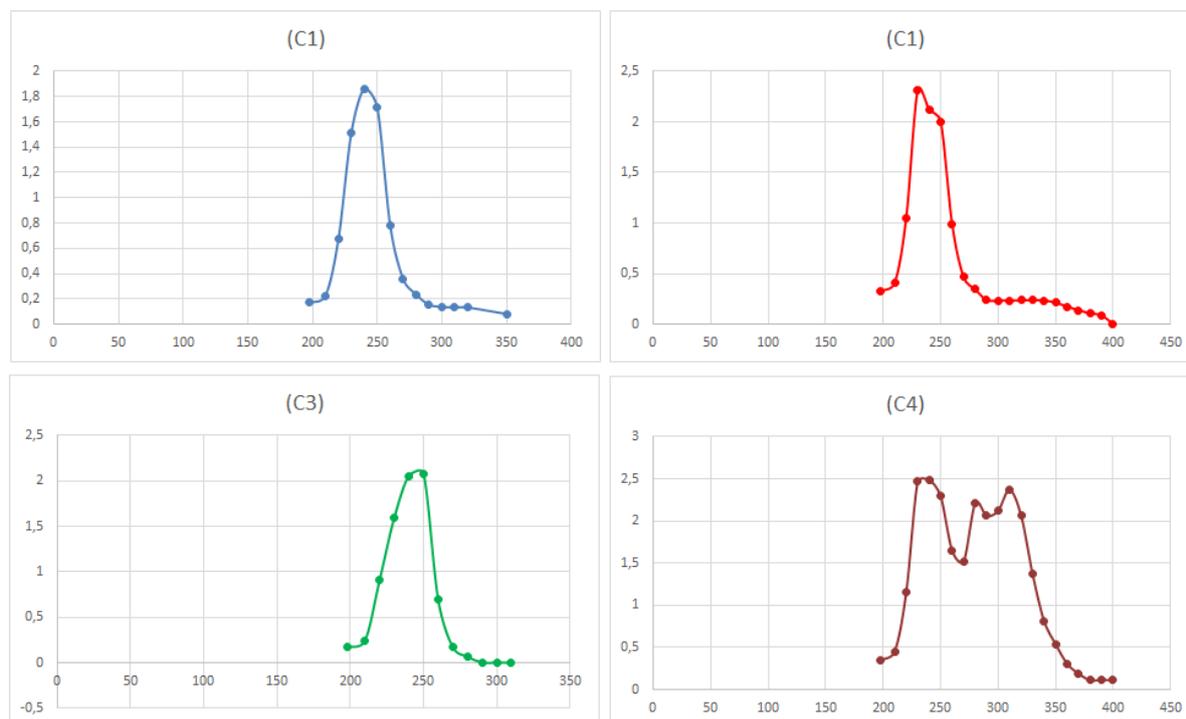


Figure C.9 : Le spectre UV des chalcones (C1-C4)

6. Les différents pyrazoles synthétisés (P1-P4)

Les composés pyrazoliques synthétisés (**P1-P4**) sont stables à cause de la bonne répartition de la conjugaison. Ils se présentent sous forme des cristaux après la recristallisation en utilisant l'éthanol afin de les purifier (Voir figure **C.10**).

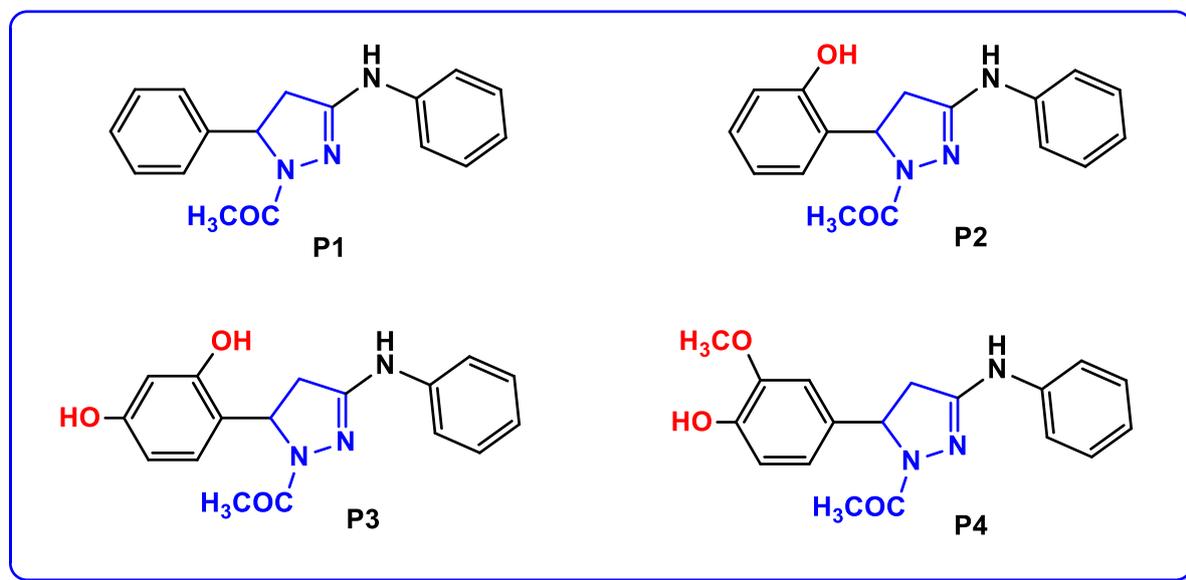


Figure C.10 : Les structures des pyrazoles préparés (P1-P4)

7. Caractéristiques spectroscopiques

Les structures des composés préparés ont été élucidées par les méthodes spectroscopiques usuelles Infrarouge et ultraviolet.

✚ Spectroscopie infrarouge des différents pyrazoles synthétisés (P1-P4)

Les spectres infrarouges des pyrazoles synthétisés (**P1-P4**) ont montré comme motif commun les bandes caractéristiques suivantes : la présence d'une bande large indique l'apparition du groupement OH-NH révèle dans l'intervalle $3467-3275\text{ cm}^{-1}$. D'une part on observe une bande correspond à la vibration d'élongation de la liaison (C=N) vers $1660-1614\text{ cm}^{-1}$ confirme l'existence de l'hétérocycle pyrazolique. D'autre part la présence de nouvelles bandes apparaissent dans l'intervalle $1597\text{ à }1538\text{ cm}^{-1}$ attribuées au groupement C=C aromatique.

Tableau C.2 : Données spectrales d'IR des différents chalcones (P1-P4)

Produits	IR (cm ⁻¹)				
	OH-NH	C-H _{ar}	C=N (pyrazole)	C=C (aromatique)	OCH ₃
P1	-	3015	1614	1590	-
P2	3403-3274	3167-3057	1633	1597	-
P3	3415-3285	3168	1633	1538	-
P4	3467-3286	3130-3015	1660	1593	2925

L'ensemble des spectres IR réalisés sont représenté dans les figures suivantes :

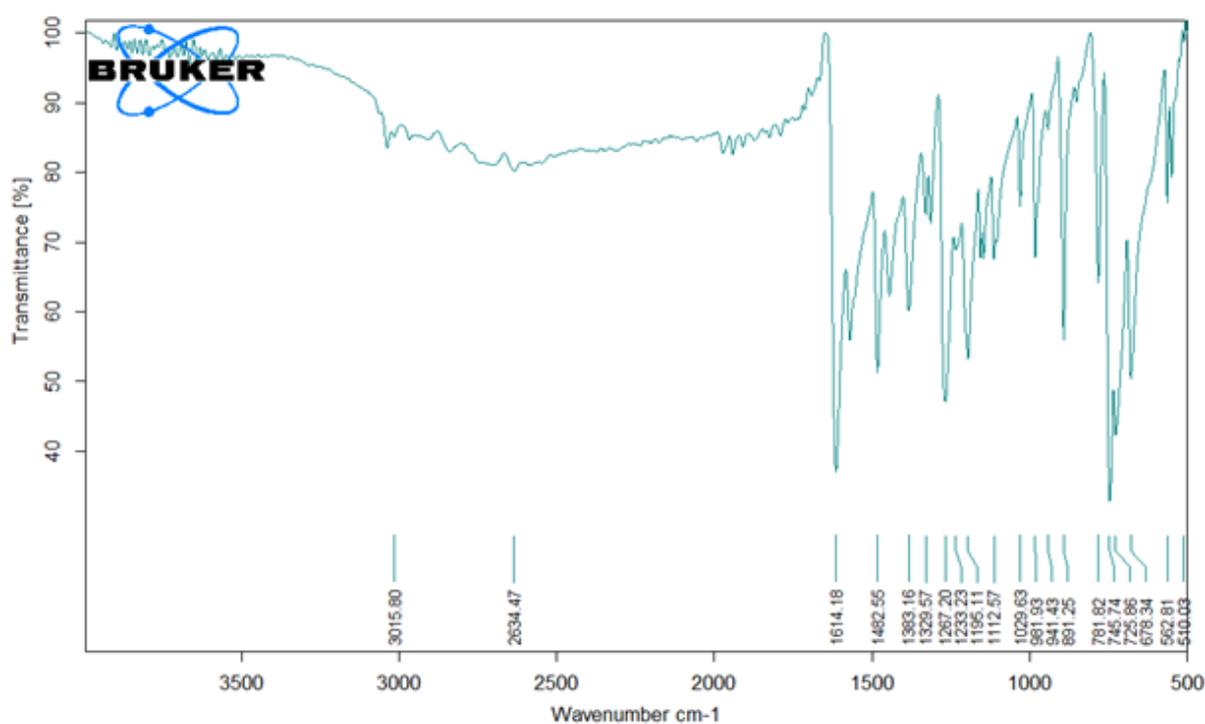


Figure C. 11 : Le spectre IR de pyrazole P1

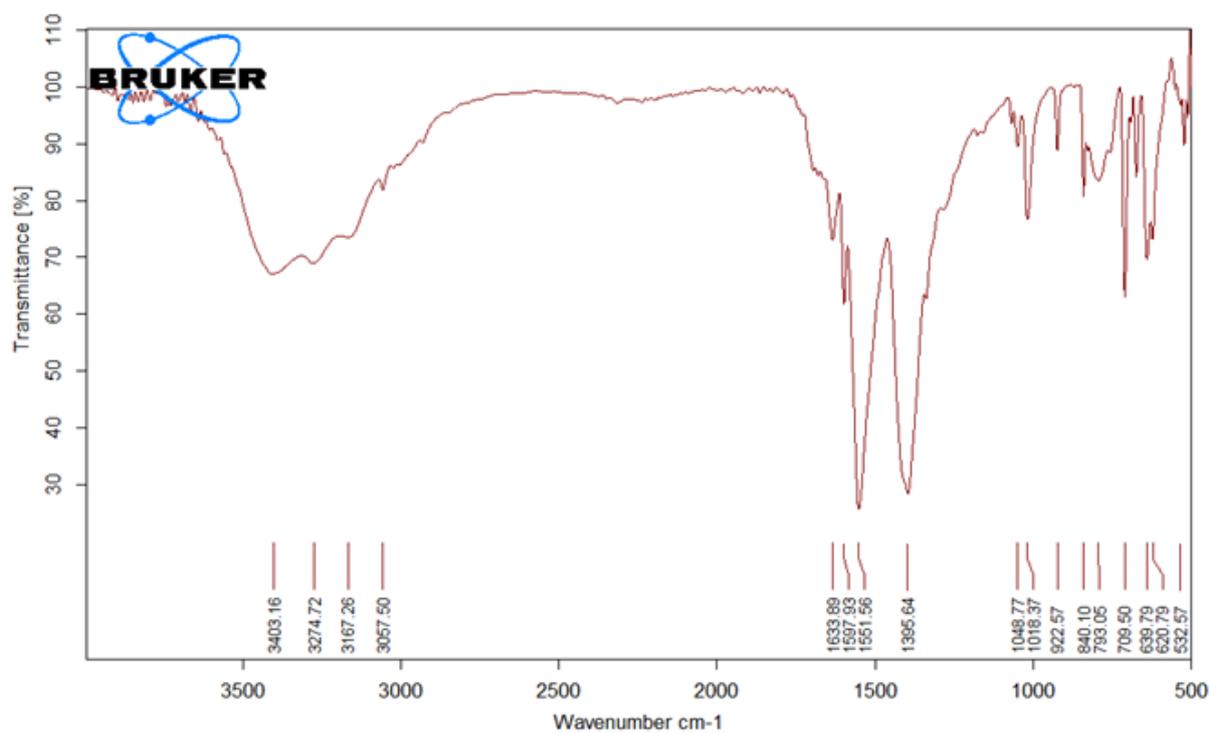


Figure C.12 : Le spectre IR de pyrazole P2

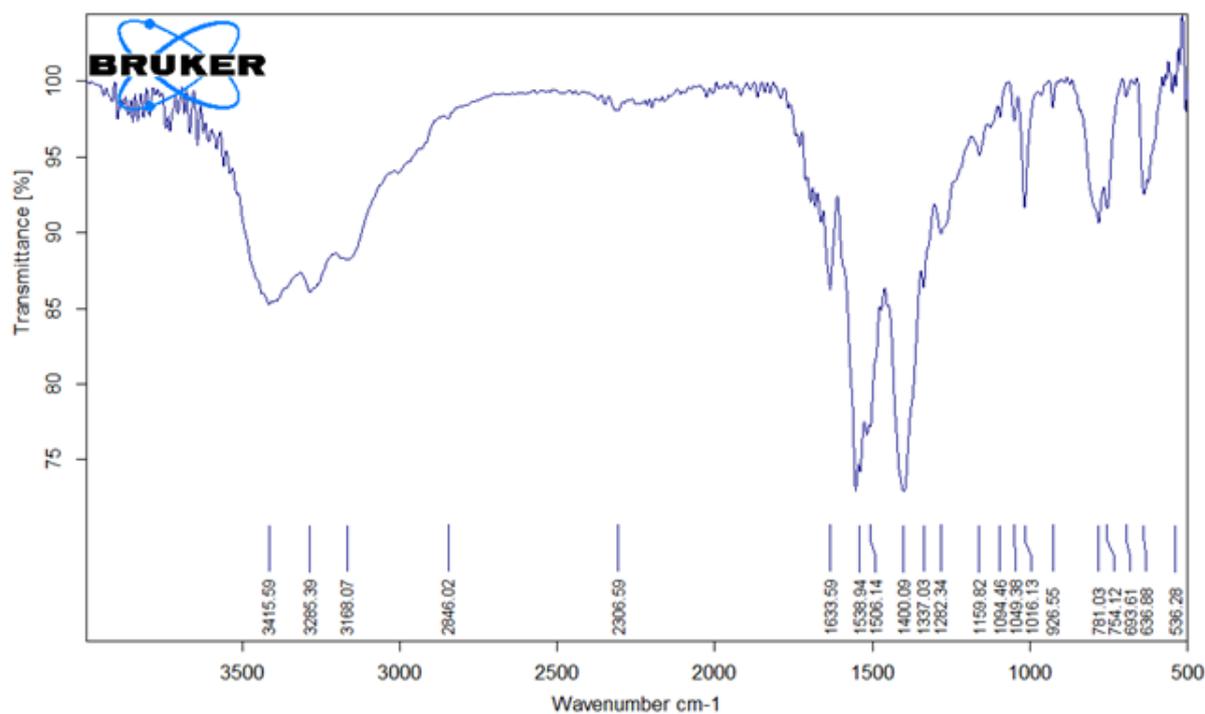


Figure C.13 : Le spectre IR de pyrazole P3

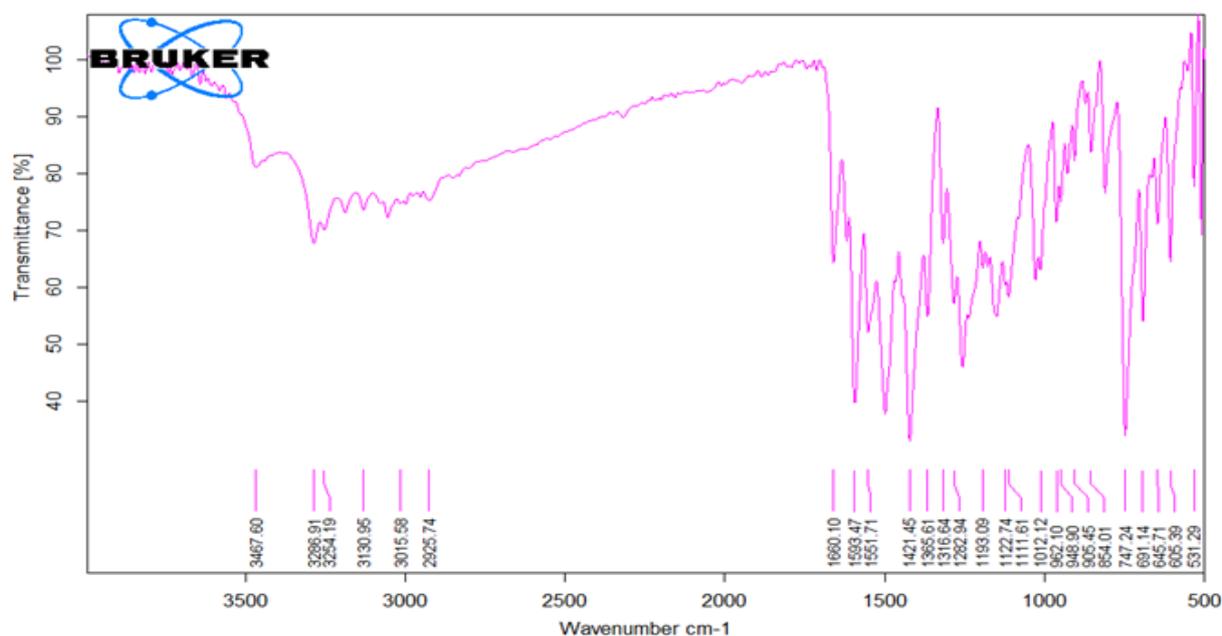


Figure C.14 : Le spectre IR de pyrazole **P4**

8. Spectroscopie UV des chalcones préparées (C1-C4)

Les pyrazoles (**P1-P4**) préparés donnent des transitions électroniques qui apparaissent généralement sur leurs spectres UV-Visible, enregistrés dans l'éthanol, sont représentés ci-dessous (la figure C.15).

Le spectre du composé **P1** donne une bande dans le domaine de l'ultra-violet, 230nm, correspondant à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ indique le groupement imine (C=N) de l'hétérocycle pyrazolique. En revanche, le produit **P3** montre la présence de deux bandes ayant les longueurs d'ondes 240, 280 nm attribuées respectivement aux transitions $n-\pi^*$, $\pi-\pi^*$ ^{2,3}.

Enfin les deux hétérocycles **P2** et **P4** indiquent de trois bandes d'absorption ayant des longueurs d'ondes 240, 290 et 360 nm attribuées respectivement aux transitions $n-\pi^*$, $\pi-\pi^*$ et $n-\sigma^*$ ^{2,3}.

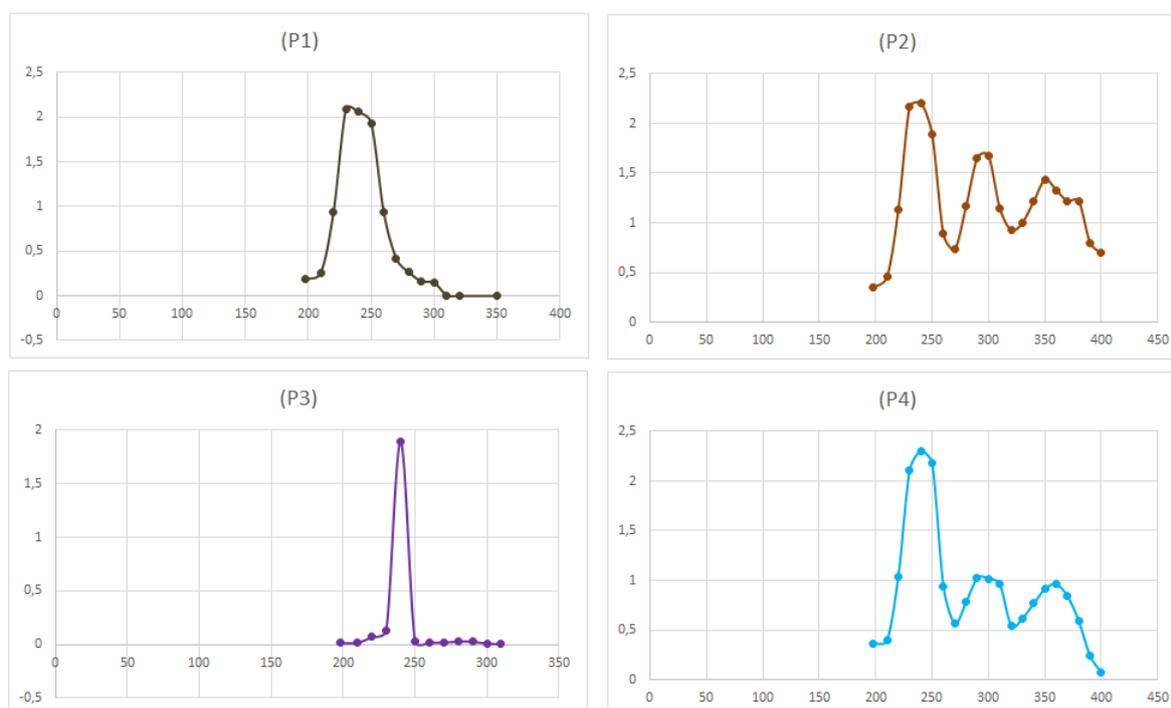


Figure C.15 : Le spectre UV des pyrazoles synthétisés (**P1-P4**)

Dans ce chapitre, nous avons préparé les chalcone α , β -insaturées (**C1-C4**) et leurs pyrazoles correspondants (**P1-P4**) à l'état solide. Pour cela, nous avons adopté une stratégie qui consistait à étudier ces produits par la spectroscopie IR et UV-visible.

Référence

1. N. Sadiq Majeed, H. Falah Mohsen, R. Abdul Baqi Aldujaili, synthesis, characterization and biological activity of Some new heterocyclic compounds derived from 4-Aminoacetophenone, *Biochem. Cell. Arch.* 18, **2018**. 1107-1116.
2. RM. Silvers, Morrill TC (2004) Identification spectrométrique de composés organiques, 4(5) : 185.
3. Pretsch, E., Bühlmann, P., Affolter, C. (2000). ^1H NMR Spectroscopy. Structure Determination of Organic Compounds, 161-243.

C.II Evaluation de l'activité antibactérienne

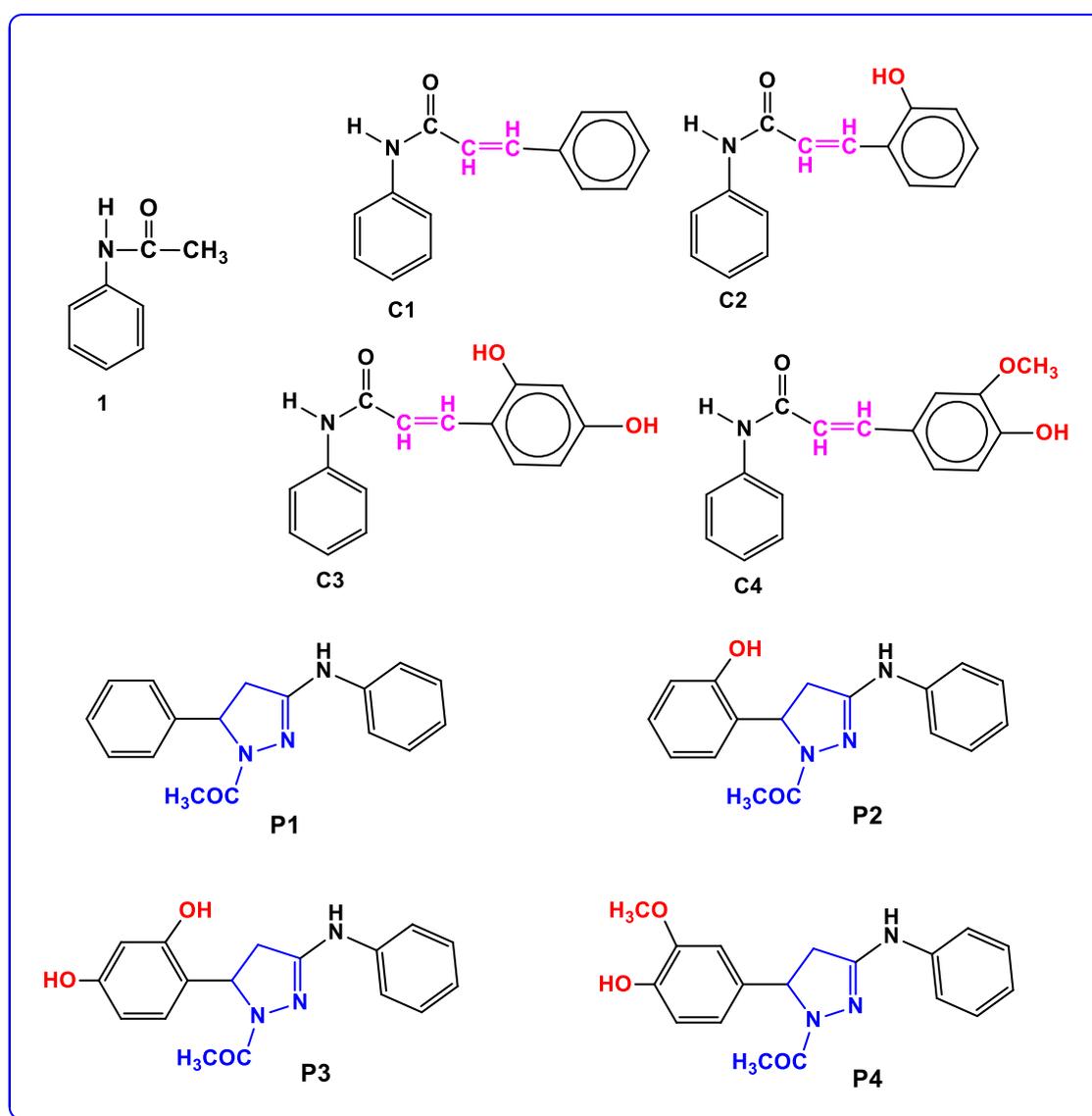
C.II.1 Introduction

L'évaluation de l'activité antibactérienne des molécules synthétisées a été effectuée au niveau de laboratoire bactériologie Hôpital Dr Benzerdjeb à Ain Temouchent.

Les souches utilisées dans les tests font parties de différent microorganismes :

- Trois souches bactériennes à Gram négatif.
- Deux souches bactériennes à Gram positif.

Elles sont testées sur les produits synthétisés d'après la figure suivante :



C.II.2 Tests antibactériens

D'après les résultats obtenus, les produits testés indiqués dans la figure C.16 semblent être doués d'une activité inhibitrice sur certaines classes de micro-organismes testés. Le diamètre d'inhibition est compris entre 10 mm et 14 mm (Tableaux C.3).

La lecture des résultats se fait par la mesure du \varnothing de la zone d'inhibition en mm selon la fourchette proposée par Ponce et coll. ¹ est comme suit :

6 mm \leq \varnothing \leq 8 mm : non sensible 9 mm \leq \varnothing \leq 14 mm : sensible
 15 mm \leq \varnothing \leq 19 mm : très sensible $\varnothing \geq 20$ mm : extrêmement sensible

Les résultats des tests de l'activité antibactérienne réalisés sur les pyrazoles synthétisés et leurs chalcones correspondants ainsi que le produit de départ préparé sur les différentes souches bactériennes en comparaison avec les antibiotiques sont indiqués dans le tableau qui suit :

Tableau C.3 : Résultats des tests *in vitro* de l'activité antibactérienne de différents produits :

Bactéries	Souches bactériennes Gram-positif (G+)		Souches bactériennes Gram-négatif (G-)		
	<i>Staph. ATCC</i>	<i>Bacillus cereus.</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>E-coli ATCC</i>	<i>Ps ATCC</i>
Produits	Zone d'inhibition (mm)				
1	-	-	-	-	-
C1	-	-	-	-	-
C2	-	-	-	-	-
C3	-	-	-	-	-
C4	-	-	-	-	-
P1	-	-	-	-	-
P2	-	10	-	10	10
P3	-	-	-	-	-
P4	11	-	11	11	14
Gentamycine	30	25	21	24	25

C.II.3 La discussion du pouvoir antibactérien des produits testés

A partir des résultats du test, on constate clairement que les composés chalconiques (C1-C4) et leurs pyrazoles correspondants (P1 et P3) ainsi que N-phényl acétamide utilisé comme produit de départ préparé n'ont présenté aucune activité inhibitrice *vis-à-vis* toutes les souches à bactérienne à Gram positif et à Gram négatif. Ces souches possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne de ces composés.

En revanche, les deux hétérocycles pyrazoliques testés substitués avec 2-Hydroxy-aryle et 2-Hydroxy-3-méthoxy-aryle (P2 et P4) respectivement possèdent une faible activité *vis-à-vis* les souches bactériennes à Gram positive (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) et les souches bactériennes à Gram négative (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) par rapport à gentamicine utilisé comme antibiotique de référence dont le diamètre de zone d'inhibition est envers 10-11 mm.

Tant dis que la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* est sensible *via* la molécule pyrazoliques liées 2-Hydroxy-3-méthoxy-aryle P4 et son diamètre de l'auréole est de l'ordre de 14 mm.

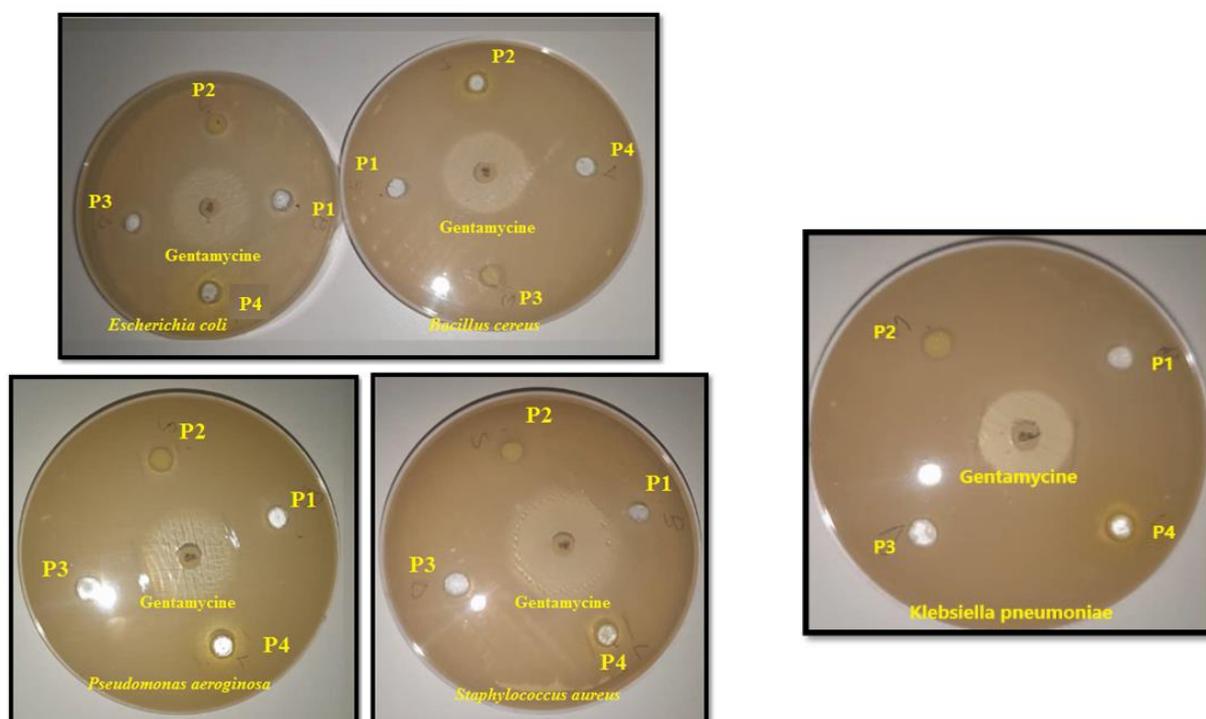


Figure C.17 : L'effet biologique des produits testés sur les souches bactériennes

C.II.3.1 La discussion la concentration minimale inhibitrice des produits testés

D'après le résultat qui sont représentés dans de tableau (C.4) et les figures (C.18). Après incubation à 37C° pendant 24 h, nous constatons une apparition des zones d'inhibition dans les deux composés **P2** et **P4** contre *Escherichia coli* dont la CMI qui est égale à 750 µg/mL. Les mêmes produits **P2** et **P4** possèdent une CMI qui est égale à 375 et 187,5 µg/mL respectivement via *Pseudomonas aeruginosa*. Tandis que la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* est sensible contre la molécule **P4** qui possèdent une CMI révèle à : 750 µg/mL.

D'autre part, les composés **P4** présente la plus faible CMI par rapport aux autres souches bactériennes dont la valeur est égale 93,75 µg/mL vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae*.

Tableau C.4 : Résultats de CMI des différents pyrazoles **P2** et **P4**.

Bactéries	Bactéries à Gram-positif (G+)		Bactéries à Gram-négatif (G-)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Composés	Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) : µg/mL				
P2	-	-	1/4 (750)	-	1/8 (375)
P4	1/4 (750)	-	1/4 (750)	1/32 (93,75)	1/16 (187,5)

CMI: 1/2: 1500 µg/mL, 1/4: 750 µg/mL, 1/8: 375 µg/mL, 1/16: 187.5 µg/mL, 1/32: 93.75µg/mL.

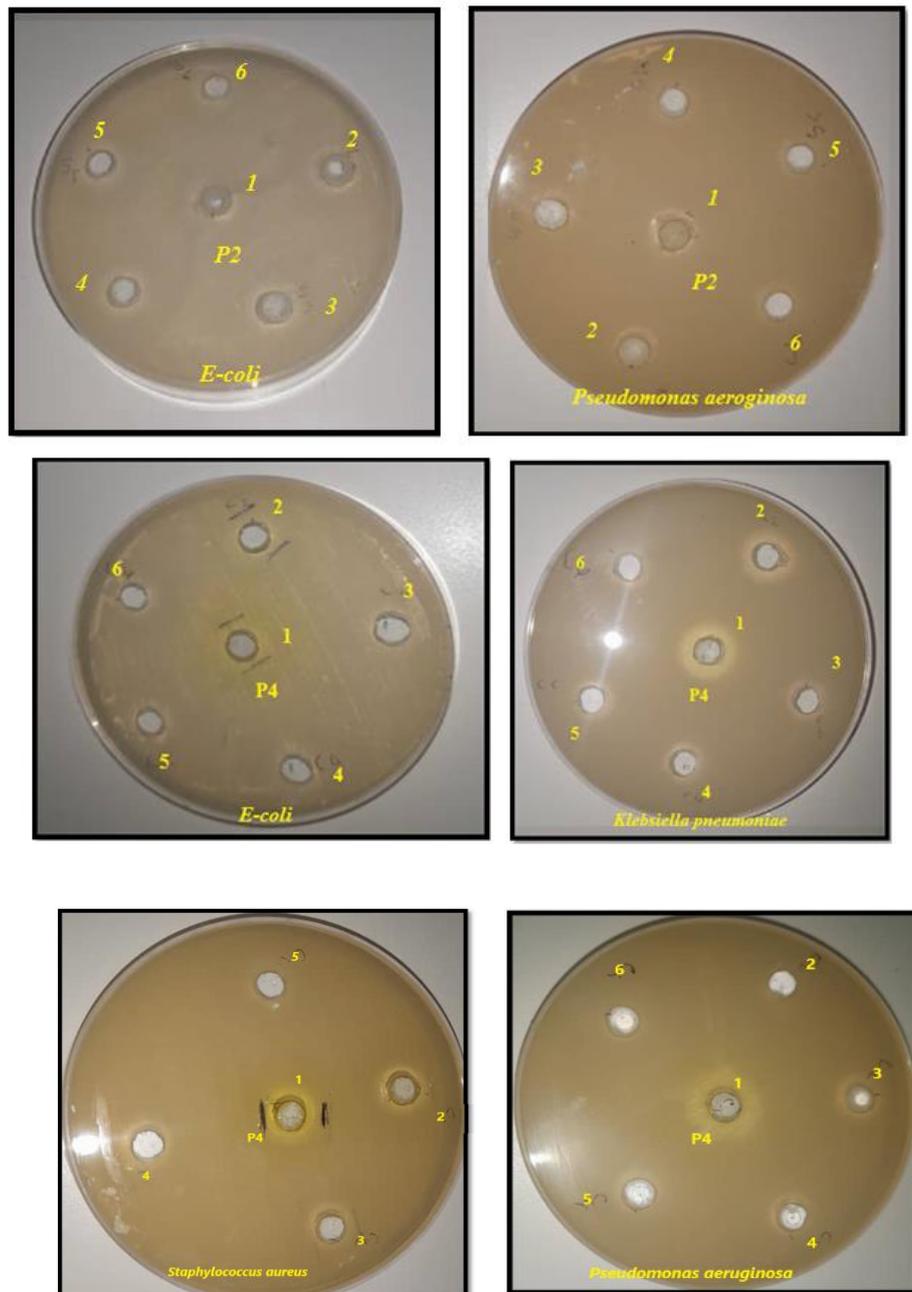


Figure C.18 : La CMI des produits synthétisés contre les bactéries Gram positif et négatif

C.II.3.2 Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) :

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration de produit synthétisé qui laisse au plus 0,01% de germes survivants. A l'aide d'une pipette pasteur, on fait un repiquage des zones d'inhibitions de la CMI. L'ensemencement a été fait par stries parallèles de 5 cm de long à la surface de la gélose. Après 24 h d'incubation à l'étuve à 37 °C, si on observe des colonies sur les stries donc le produit a un effet bactériostatique sinon le produit à un effet bactéricide ².

A partir des résultats qui sont dans la figure suivante des tests bactéricides, on remarque que la molécule hétérocyclique **P2** a montré un effet bactériostatique envers deux souches bactériennes (*E-coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

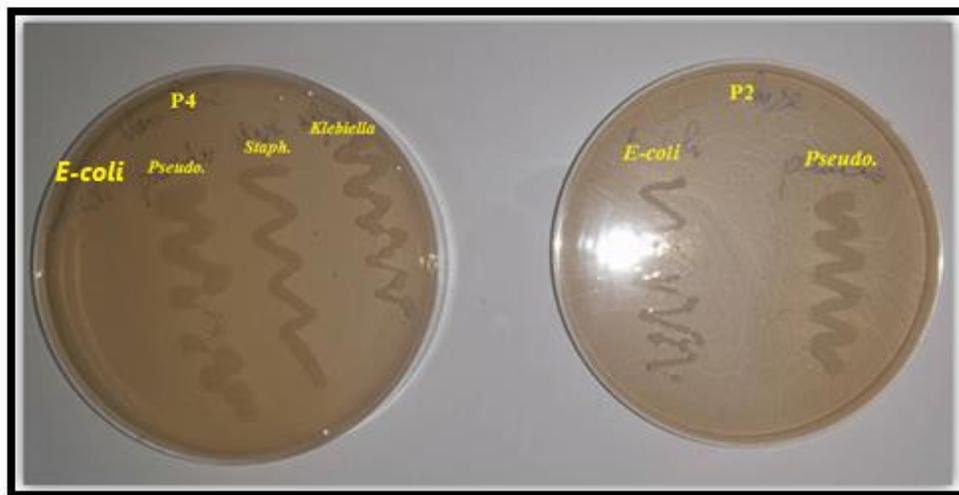


Figure C.19 : Effet bactériostatique et bactéricide des molécules testées sur quelques souches bactériennes.

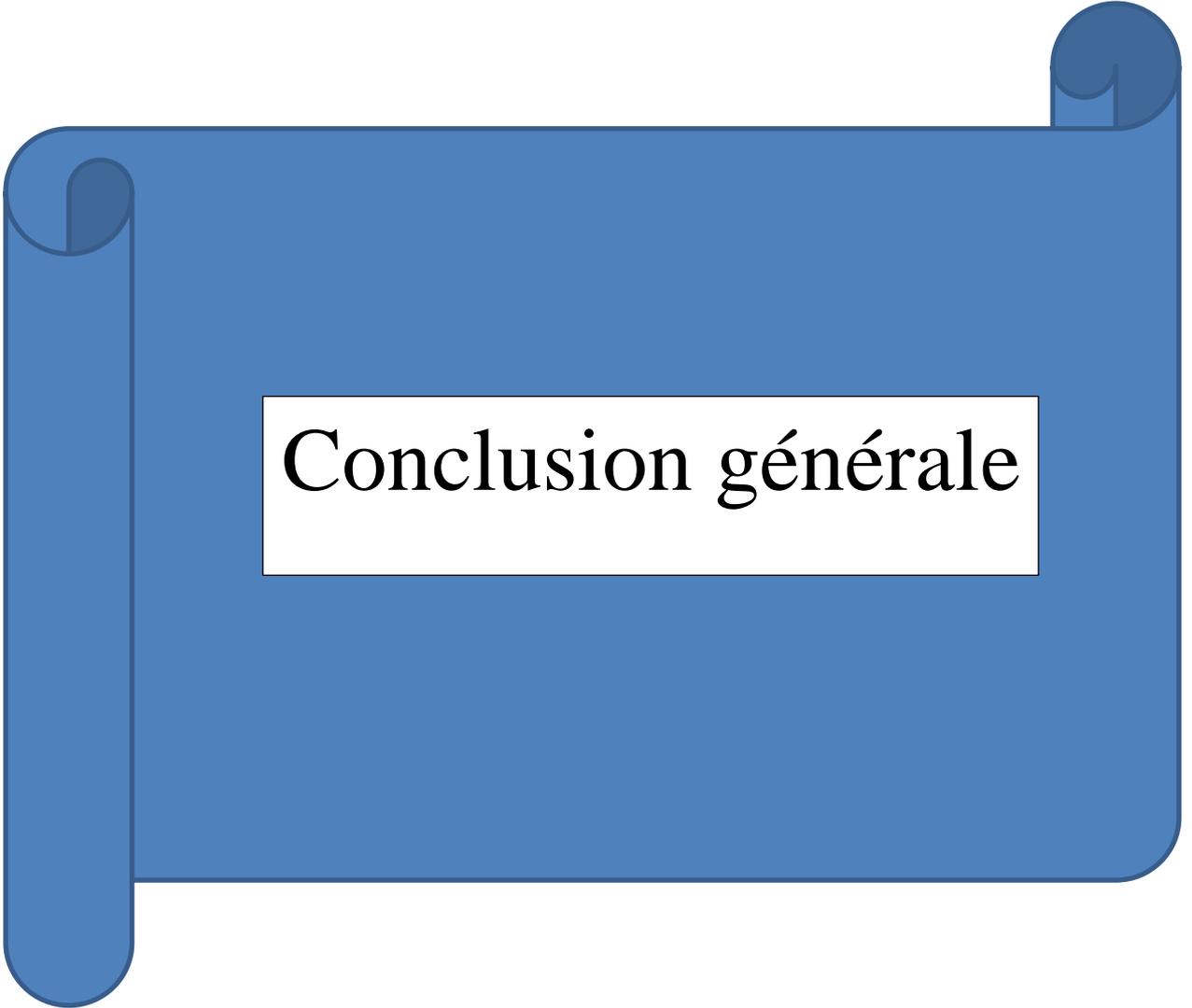
D'autre part, le produits **P4** a le même effet via la majorité des souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*) sauf la bactérie *E-coli* qui a un pouvoir bactéricide via le même composé.

En premier lieu, il faut noter que quelques composés testés ont montré des diamètres d'inhibition convenable devant celui de gentamycine.

La modification de ces molécules en changeant leurs structures ou l'un des constituants et la cyclo-addition pour avoir l'hétérocycle pyrazolique peut influencer l'activité antibactérienne

Référence

1. Ponce A.G., Fritz R., del Valle C. et Roura S.I. "Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard, Lebensm." *Wiss.u.Technol.* 36 .**2003**. p.679-684.
2. Belkhadem F, Synthèses, caractérisations et évaluation biologiques des 1, 3,4 oxadiazoles dérivés des acides halo nitro aromatiques et leurs application en agrochimie. *Thèse de Doctorat en chimie*. Université de USTO-MB d'Oran. **2018**.

A blue scroll graphic with a white text box in the center. The scroll is unrolled, showing a white rectangular area in the middle. The text "Conclusion générale" is written in a black serif font within this white area. The scroll has rounded corners and a vertical strip on the left side, suggesting it is a page from a book or document.

Conclusion générale

Conclusion générale

On a essayé de synthétiser au niveau de laboratoire quelques pyrazoles pouvant présenter une activité biologique intéressante à partir des chalcones α , β -insaturées. Ces derniers ont été préparés sous les conditions de Claisen-Schmidt à partir de la condensation aldolique des aldéhydes aromatiques avec le N-phényle acétamide en milieu basique et ce dernier a été préparé au niveau de laboratoire.

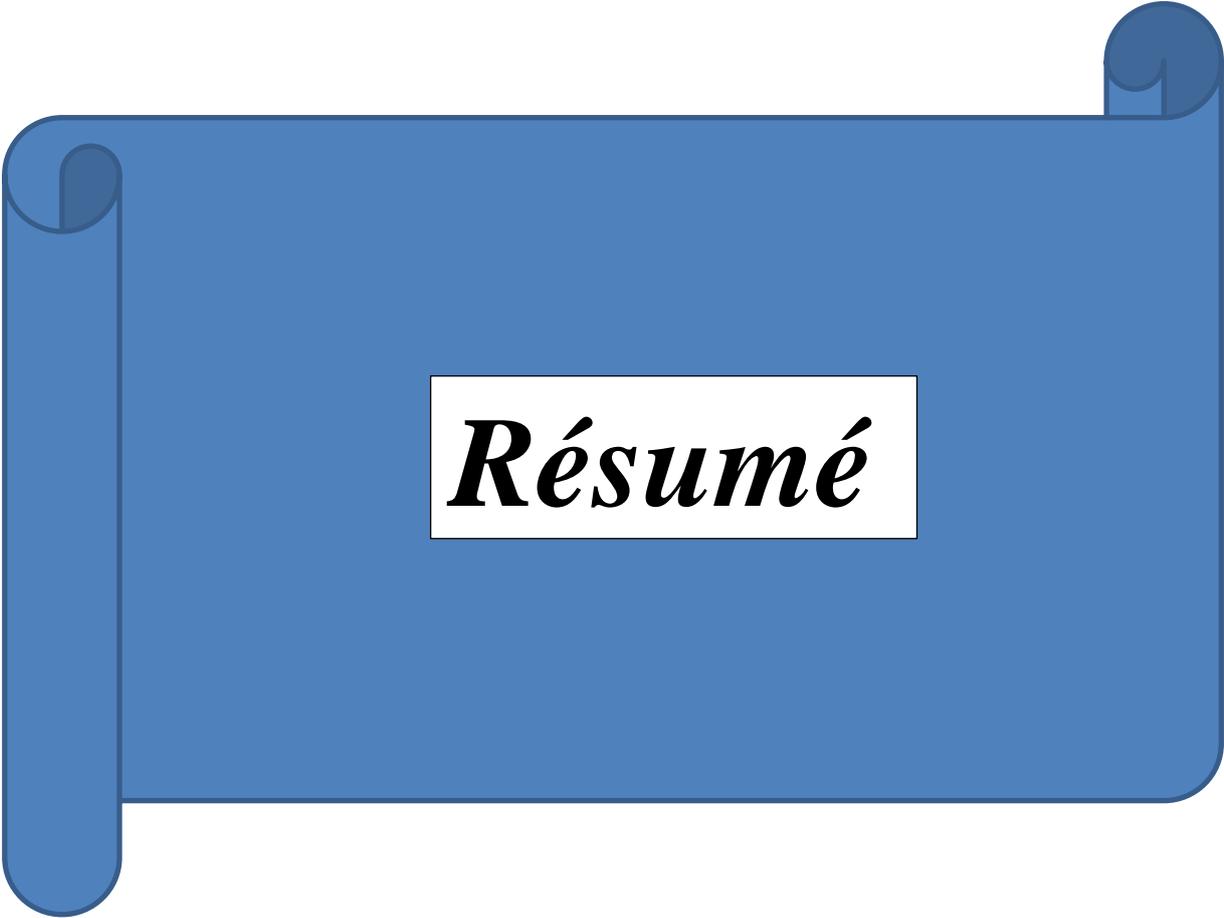
Les produits synthétisés ont été élucidés par quelques techniques usuelles, telles que le point de fusion (P_f), la chromatographie sur couche mince (CCM) et le spectroscopique infrarouge (IR) et l'UV-vis. Cette dernière confirme la structure des composés voulus par l'apparition des bandes d'absorption caractéristiques des fonctions correspondantes aux produits préparés.

La seconde partie de ce travail comporte un chapitre : Étude de l'activité biologique (tests antibactériens).

L'évaluation des propriétés antibactériennes ont montré des activités intéressantes *via* les bactéries à Gram positif et négatif pour les composés **P2** et **P4** peut être due à la présence des sites actifs qui facilitent le passage à travers la paroi bactérienne et de ce fait inhibent leurs croissances.

Les perspectives de ce travail, elles peuvent s'articuler autour des points suivants :

- ❖ Faire des analyses spectroscopiques RMN H^1 , RMN C^{13} et SM.
- ❖ Etudier de façon plus approfondie d'autres propriétés biologiques de ces composés, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antivirales et anticancéreuses des chalcones et leurs pyrazolidines correspondants.
- ❖ L'utilisation de nos différents produits dans les réactions organométallique et les utilisés comme catalyseurs dans d'autres réactions de chimie organique.



Résumé

ملخص

يندرج هذا العمل ضمن الاصطناع العضوي ويخص المركبات الكيتونية غير المشبعة α, β و البيرازولين ذا الفعالية البيولوجية و الفوائد الصيدلانية. هذه المذكرة قدمت لدراسة تحضير مشتقات الكالكونات نتيجة التكاثف الألدولي وفق تفاعل كليزن شميث و ذلك باستعمال مشتقات ألدهيد اروماتي مع كيتونات أسيتانيليد تملك هيدروجينات نشطة في الموقع α, β أما البيرازولين فهي ناتجة عن تكاثف الهيدرازين المميه ($NH_2 . NH_2 . H_2O$) مع الكالكونات لإعطاء المشتقات البيرازولين الموافقة . وتم تشخيص كل المراحل بدقة وذلك بالطرق الفيزيائية المتوفرة كتقنية كرموتوكرافيا الطبقة الرقيقة وقياس درجات الانصهار والتأكد من صيغتها التركيبية بالطرق الطيفية باستعمال أطياف الأشعة فوق البنفسجية وتحت الحمراء . كلمات مفتاحية: الكالكونات :أسيتانيليد ، ألدهيد اروماتي، كليزن شميث ، التكاثف الألدولي ، البيرازولين .

Résumé

Ce travail a été réalisé dans le cadre de la synthèse organique, particulièrement la synthèse des chalcones α, β -insaturées et leurs pyrazolines correspondants qui sont biologiquement actives et possédant des intérêts pharmaceutiques.

Nous nous sommes intéressés par : Les composés carbonylés α, β -insaturés (les chalcones) sont obtenus par la condensation aldolique selon la réaction de Claisen-Schmidt, en faisant réagir des aldéhydes aromatiques avec l'acétanilide en milieu basique, l'hydrazine hydratée ($NH_2.NH_2.H_2O$) se condense avec les chalcones préparées pour donner les dérivés pyrazoliniques correspondants.

Les structures des molécules synthétisées ont été caractérisées grâce aux données spectrales UV-visible et IR.

Mots clés : Aldéhyde aromatique, acétanilide, chalcones, condensation aldolique, pyrazolines.

Summary

This work is done in the context of organic synthesis, particularly synthesis of ketones α, β -unsaturated, pyrazolines, which are biologically active and possess pharmaceutical interest.

Carbonyl compounds α, β -unsaturated (chalcones) are obtained by the aldol condensation of the Claisen Schmidt reaction, by reacting aromatic aldehydes with acetanilide in a basic medium, the hydrazine monohydrate ($NH_2NH_2.H_2O$) condenses on the chalcones prepared to give the corresponding pyrazoline derivatives.

The identification of products obtained was determined by the usual spectroscopic methods such as the infrared (IR), UV-visible and physico-chemical parameters such as melting points, thin layer chromatography.

Key words: aromatic aldehyde, acetanilide, chalcone, aldolic condensation, pyrazoline