

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE
FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THEME

Synthèse et Caractérisation de Nouveaux Ligands de Type Hydrazone à Effet Thérapeutique

Présenté par : MALLEM Hamida et REMANE Yamina

Soutenu publiquement, le 03/07/2018, devant le Jury composé de :

NAIT ABDELLAH ZAHRA	MCB	UMMTO	PRESIDENT
KICHOU NORA	MCB	UMMTO	ENCADREUR
IGHILAH RIZ KARIMA	MAA	UMMTO	Co-ENCADREUR
BENAZOUZ AMINA	MCB	UMMTO	EXAMINATEUR
ABDOUN AMAR Pharmacien Microbiologiste		CHUTO	EXAMINATEUR

Remerciements

Avant tout, on tient à remercier Dieu le tout puissant pour nous avoir donné la force, la volonté, la patience et le courage nécessaire pour réaliser ce travail.

Ce travail a été effectué au Laboratoire de chimie pharmaceutique, département de chimie de la faculté des sciences de l'UMMTO.

Nos remerciements vont :

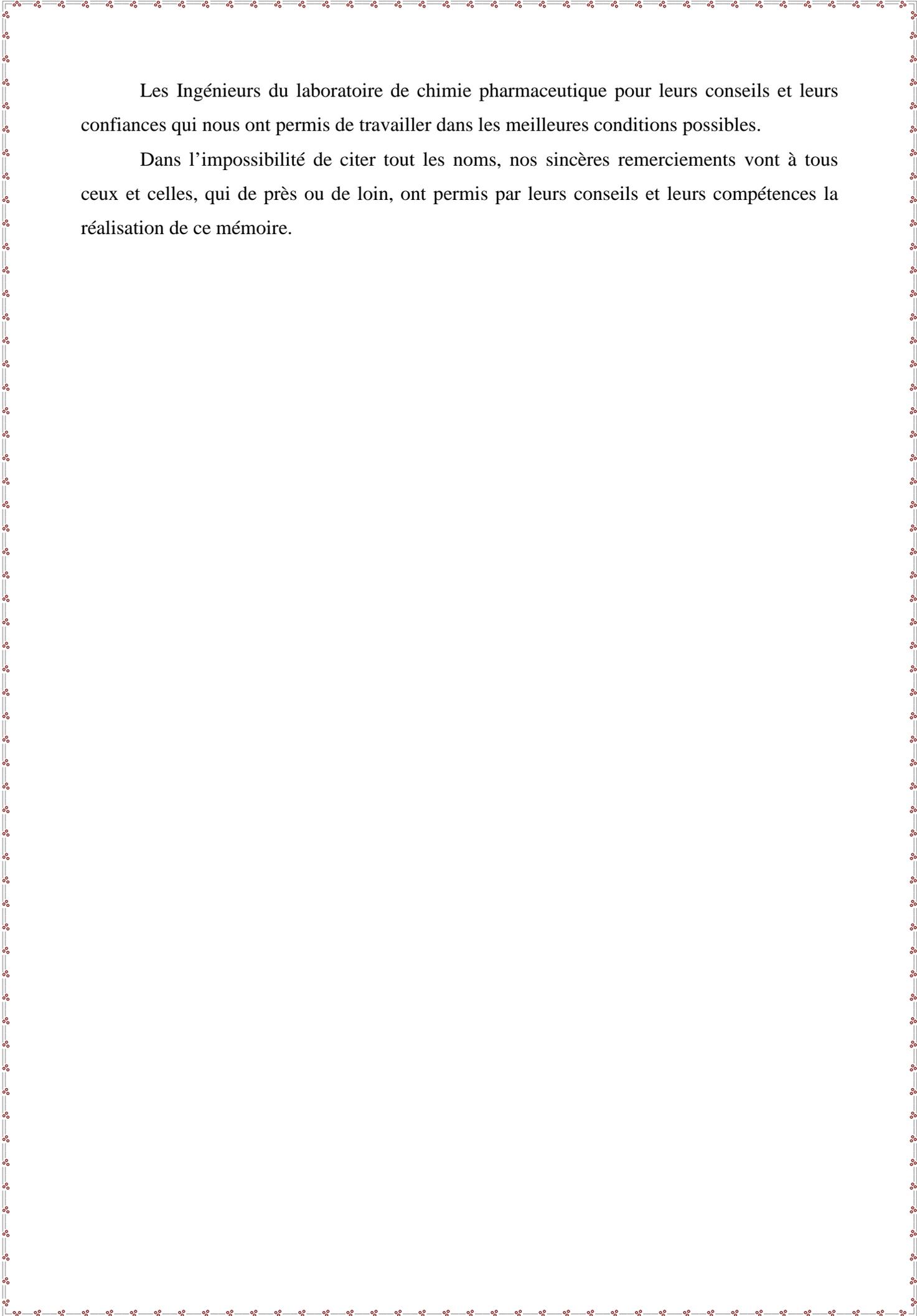
A notre promotrice, **Madame KICHOU Nora** Maître de Conférences classe B à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, et notre Co-promotrice **Madame IGHILAHIRIZ Karima** Maître Assistante A à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour leurs encadrements qui nous a été très bénéfique pour la réalisation de ce travail, avec beaucoup de compétences, d'enthousiasme et de disponibilité.

A **Madame NAIT ABDELLAH ZAHRA**, Maître de Conférences classe B à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, qui nous fait le grand honneur de présider ce jury de soutenance. A **Madame BENAZOUZ AMINA**, Maître de Conférences classe B à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, et **Docteur ABDOUN AMAR**, Pharmacien résident en Microbiologie à l'hôpital C.H.U de Tizi-Ouzou, qui nous fait l'honneur de juger ce travail. Nous le remercions également pour leur aide concernant la réalisation des tests biologiques.

Professeur MECACHER, responsable du laboratoire de toxicologie du département de pharmacie à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou et **Madame HEDADI Kenza** pour leurs gentillesse et leurs aides dans la réalisation des analyses IR.

On n'oublie pas de remercier vivement **Monsieur A. ADKHIS** professeur au département de chimie de l'UMMTO, pour nous avoir permis l'enregistrement des spectres UV-Visible au sein de son laboratoire.

Nous remercions **Docteur AZZAM Amina**, chef d'unité du Laboratoire microbiologie du C.H.U de TIZI-OUZOU, de nous avoir permis de réaliser ce travail au sein du laboratoire microbiologique de département pharmacie et pour les moyens matériels mis à notre disposition.



Les Ingénieurs du laboratoire de chimie pharmaceutique pour leurs conseils et leurs confiances qui nous ont permis de travailler dans les meilleures conditions possibles.

Dans l'impossibilité de citer tout les noms, nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,
L'amour, le respect, la reconnaissance...
Aussi, c'est tout simplement que*

Je dédie ce modeste travail

*A la mémoire de mon très cher père que j'aurais tant aimé voir à mes côtés en ce moment,
que Dieu t'accueille dans son vaste paradis*

*A ma très chère maman, pour ton dévouement, ton amour, tes sacrifices et tes
encouragements. Que ce travail soit, pour toi, un témoignage de ma profonde affection et
tendresse, que Dieu te protège et te garde.*

*A mon très cher frère Smail que Je remercie spécialement pour sa contribution à la
réalisation de ce travail. Je ne pourrais d'aucune manière exprimer mon immense gratitude
pour tous les sacrifices consentis, votre aide et votre générosité extrêmes ont été pour moi une
source de courage, de confiance et de patience, J'implore DIEU qu'il vous apporte bonheur,
et que vos rêves se réalisent.*

*A ma très chère sœur Chafia et son mari Kamel et ses enfants Massi et Dihia que j'adore
beaucoup Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous,*

*A ma très chère et adorable sœur Nadia Je te dédie ce travail avec tout mes vœux de
bonheur, de santé et de réussite surtout dans tes études, tu mérites le meilleur.*

*A ma belle sœur Nawal qui ne cessait jamais de m'encouragée pendant tout long de mon
parcours. Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que
je porte pour toi. Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé.*

A ma grand-mère faroudja que Dieu lui procure une longue vie

*A ma très chère petite nièce « « Hinane » » que j'adore beaucoup puisse Dieu vous garde,
éclaire votre route et vous aide à réaliser à votre tour vos vœux les plus chères.*

*A ma chère binôme « Hamida » et à toute sa famille ainsi que ma meilleure
amie« Yamina ».*

A tous ceux que j'ai connus qui m'ont aidée et soutenue

*A tous mes camarades de la promotion 2018 et à tous les étudiants en chimie
pharmaceutiques*

YAMINA.R

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*A mon père MOHAMMED et ma mère DJAMILA qui
m'ont soutenue moralement et tout au long de mes
études.*

A mon grand-père et ma grand-mère

*Aussi je dédie ce travail A mes frères: Mohammed et
Koceila*

*A ma sœur Farida, son mari Nourdine et ses enfants
Lydia, Massi et Celia.*

A mes sœurs : Nassima, Lynda, Dyhia.

A mes oncles et mes tantes.

A tous mes amis et camarades

A ma chère binôme Yamina et à toute sa famille.

A mon meilleur ami Yacine qui m'encourage.

A tous ceux que j'ai connus qui m'ont aidée et soutenue

*A tous mes camarades de la promotion 2018 et à tous
les étudiants en chimie pharmaceutiques*

HAMIDA. M

Liste des abréviations

A	Absorbance
ATCC	American Type Culture Collection
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
Cm	Centimètre
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
C	concentration de l'espèce (mol/l)
ϵ	Coefficient d'extinction molaire (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
CTX30	Cefotaxime 30 mg
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DHA	Dihydro acétique acide
E. coli	Escherichia coli
FT-IR	Spectroscopie infrarouge à transformation de fourrier
HPLC	Chromatographie liquide de hautes performances
IR	Infra Rouge
INH	Isonicotinique hydrazide acide
I₀	Intensité du rayonnement avant le passage dans la solution absorbante
I	Intensité du rayonnement après le passage dans la solution absorbante
KBr	Bromure de potassium
l	Longueur de la cellule ou trajet optique (cm)
L	Ligand
mmol	Milli moles

MH	Milieu de culture Müller Hinton
nm	Nanomètre
pH	Potentiel d'hydrogène
Pf	Point de fusion
Pf litt	Point de fusion de littérature
P.aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
R	Radical
Rf	Rapport frontale
Rdt	Rendement
RIF50	Rifampicine 50mg
S.aureus	Staphylococcus aureus
TSI	Trois Sucres à identifier
UFC	Unité formant colonie
UV-Vis	Ultraviolet-visible
W	watt
µl	Microlitre
λ	Longueur d'onde
%	Pourcentage

Liste des Figures

Figure 1 : Structure générale de l' hydrazone	2
Figure 2 : Réaction de condensation d'isoniazide avec dérivés d'aldéhydes	15
Figure 3 : Réaction de condensation d'isoniazide avec DHA.....	16
Figure 4 : Mécanisme de synthèse des composés 3a-j et 5	18
Figure 5 : Ensemencement par les suspensions microbiennes	30

Liste des tableaux

Tableau 1: Points de fusion et Rendements des composés 3(a-j) et 5	17
Tableau 2 : Rapports frontaux des composés 3(a-j)	19
Tableau 3 : Temps de rétention et la pureté des produits 3 a-j et 5	20
Tableau 4 : les principales vibrations des composés 3a-j et 5	21
Tableau 5 : Résultats du spectre UV/Vis du composé 3a-j et 5	22
Tableau 6 : Conditions opératoires de synthèse des complexes	23
Tableau 7: Propriétés physico-chimiques des complexes.....	24
Tableau 8: Résultats de caractérisation des souches bactériennes et fongiques	29
Tableau 9 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) pour les composés étudiés	31
Tableau 10: Résultats de la CMI pour les germes testés	33

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

Chapitre 1 : Rappel bibliographique

1. Etude bibliographique des hydrazones.....	2
1.1. Les hydrazones	2
1.2. Dérivés des hydrazones	2
1.3. Applications biologiques des hydrazones	3
1.4. Principales activités biologiques des hydrazones.....	3
1.4.1. Activité anti-convulsant	3
1.4.2. Activité antimicrobienne	4
1.4.3. Activité anti-inflammatoire	5
1.4.4. Activité anti-malarique.....	6
1.4.5. Activité Anti-tumorale	7
1.4.6. Activité Anti- dépression	8
1.4.7. Activité Anti-oxydante	9
1.5. Complexes de coordination.....	10
1.5.1. Ligand.....	10
1.5.2. Métaux de transition.....	10
1.5.2.1. Nickel	10
1.5.2.2. Cobalt	11
1.5.2.3. Zinc.....	11
2. Techniques expérimentales de caractérisation	12
2.1. Point de fusion.....	12
2.2. Chromatographie sur couche mince	12
2.3. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	13
2.4. Spectroscopie infrarouge.....	13
2.5. Spectroscopie UV-Visible.....	14

Sommaire

Chapitre 2 : Synthèse et caractérisation des ligands et leurs complexes

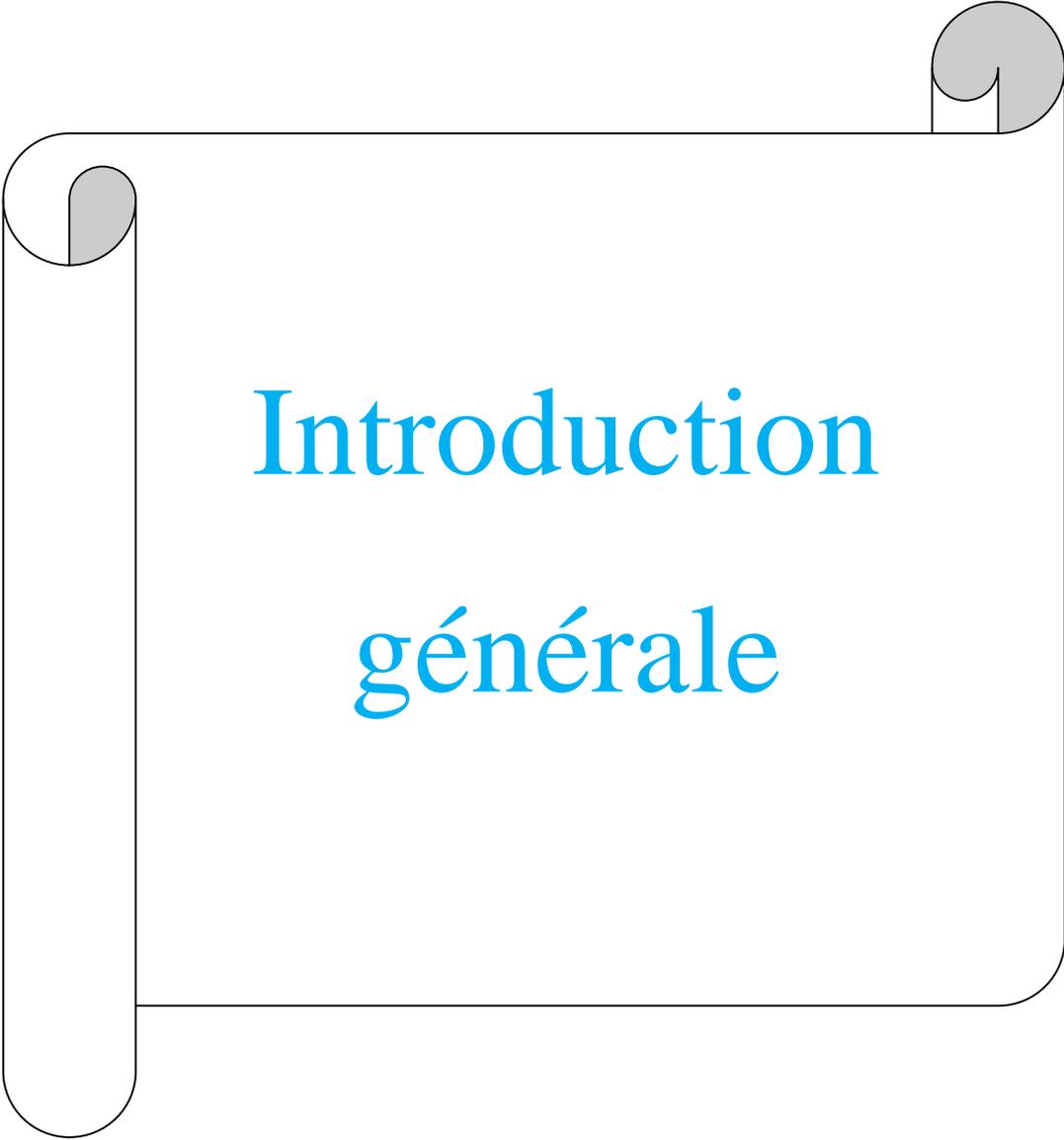
1. Synthèse et caractérisation des ligands	15
1.1. Synthèse des ligands à base des aldéhydes	15
1.2. Synthèse des ligands avec des cétones	16
1.3. Mécanisme réactionnel	18
1.4. Caractérisation des ligands	18
1.4.1. Etude par chromatographie sur couche mince	18
1.4.2. Etude par chromatographie en phase liquide HPLC	19
1.4.3. Etude par Spectroscopie Infrarouge.....	20
1.4.4. Etude par spectroscopie UV/ Visible	21
2. Synthèse des complexes	22
2.1. Synthèse des Complexes Métal-Ligands.....	22
2.2. Caractérisation des Complexes	23

Chapitre 3 : Evaluation qualitative et quantitative de l'activité biologique

1. Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne et antifongique	25
1.1. Microorganismes utilisés.....	25
1.2. Caractérisation et purification des souches	26
1.2.1. Ré-isolément et Repiquage des souches.....	26
1.2.2. Examen macroscopique.....	26
1.2.3. Examen microscopique	26
1.2.3.1. Etat frais	26
1.2.3.2. Coloration de gram.....	27
1.2.4. Tests d'orientations	27
1.2.4.1. Test de catalase.....	27
1.2.4.2. Test de l'oxydase.....	27
1.2.4.3. Test coagulase	27
1.2.5. Galerie biochimique	28
1.2.5.1. Test de TSI	28
1.2.5.2. Test de Simmons	28

Sommaire

1.3. Résultats de caractérisations des souches bactériennes.....	28
1.4. Réalisation de l'activité antibactérienne et antifongique	29
1.4.1. Préparation de milieu de culture.....	29
1.4.2. Préparation de l'inoculum	30
1.4.3. Ensemencement des boites de pétri.....	30
1.4.4. Dépôt des disques	30
1.5. Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique des ligands.....	31
2. Evaluation quantitative de l'activité antimicrobienne et antifongique des composés étudiés.....	32
2.1. Détermination de la CMI.....	32
2.1.1. Préparation des boites pétries	32
2.1.2. Méthode de dilution sur les boites de pétri	32
2.1.3. Dépôt des spots à la surface de la gélose	33
Conclusion générale	35
Références bibliographiques	
Annexe	
Résumé	



Introduction générale

Introduction générale

La recherche de nouvelles molécules d'intérêt thérapeutique et le développement de nouvelles méthodologies de synthèse de molécules actives, à la fois simples et efficaces, sont devenues un des centres d'intérêt des chimistes.

La chimie des composés azotés est depuis longtemps la source privilégiée de nombreux sujets d'étude. L'atome d'azote est présent dans de nombreuses molécules naturelles ou d'intérêt pharmacologique et de très nombreuses méthodes ont été mises au point pour accéder aux composés azotés, ainsi les hydrazones et leurs dérivés présentent une classe de composés polyvalents en chimie organique en raison de leur facilité de synthèse, leur stabilité et leur diversité structurale [1].

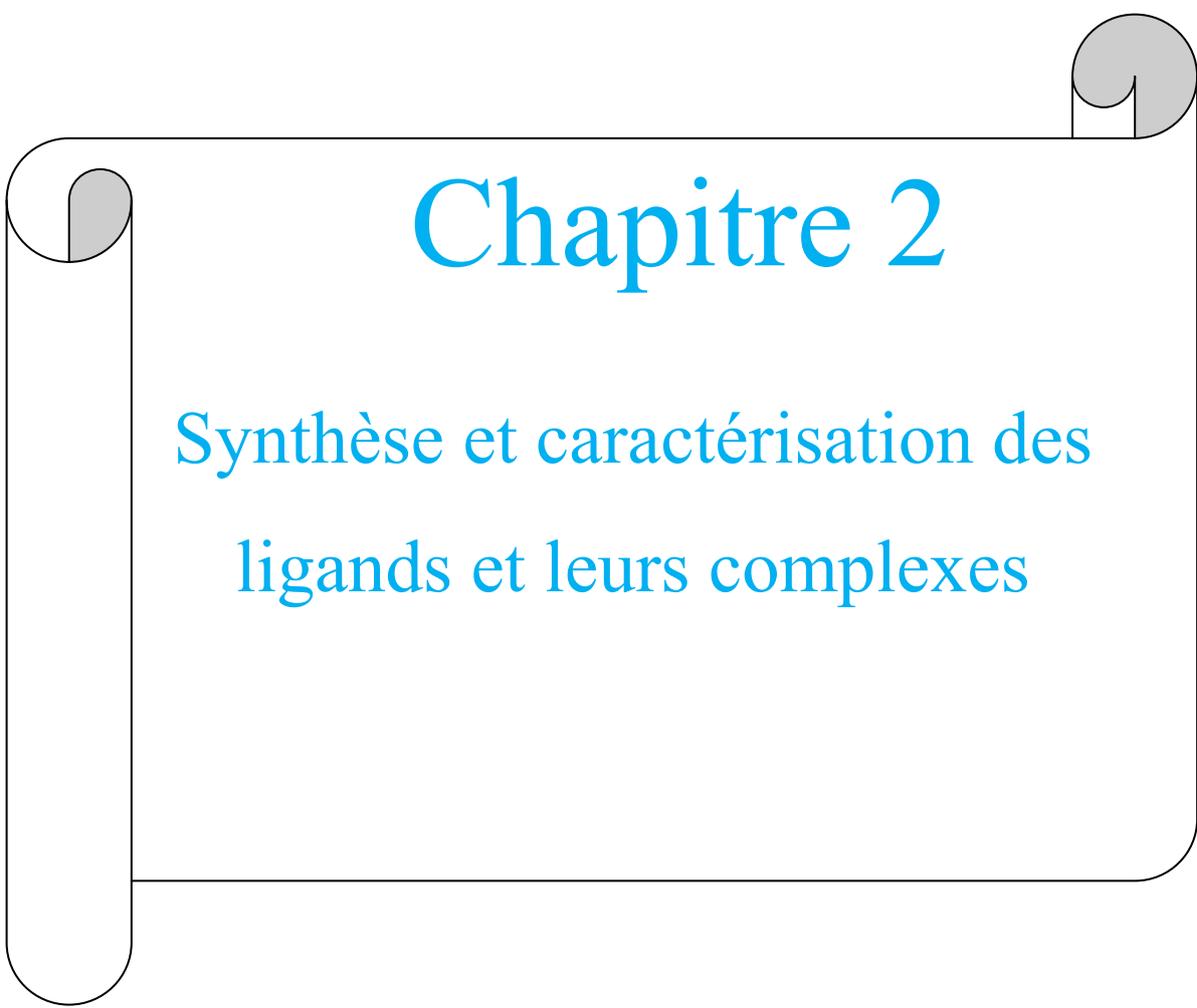
Les hydrazones constituent une classe importante de composés qui a reçu beaucoup d'intérêts ces dernières années, à cause de leurs caractéristiques biologiques diverses, telles que des activités antimicrobiennes, anticonvulsivants, activités analgésiques, anti-inflammatoires, antiplaquettaires, antituberculeuses et antitumorales [2–11]. Ces derniers se comportent comme des ligands mono-, bis- et polydentés pour former des complexes à base des métaux de transition avec diverses applications : environnementales, biologiques et médicinales.

Dans ce contexte l'objectif de ce travail est de synthétiser une série de ligands dérivés de N-benzylidene isonicotino hydrazide et le composé N-(1-(4-hydroxy-6-méthyl-2-oxo-2H-pyrane-3-yl) éthylidene) isonicotino hydrazide puis à leurs caractérisations par des méthodes physico-chimiques et spectrales. Afin de déterminer leur potentiel biologique, nous avons envisagé d'étudier leur activité antibactérienne et antifongique. La réactivité de ces derniers sur quelques éléments de transition tels que Ni (II), Co(II) et Zn(II) a été menée.

Ce manuscrit s'articule autour de trois chapitres dont le premier est consacré pour le rappel bibliographiques.

Le deuxième est basé sur la synthèse des ligands et leurs complexes ainsi que leurs caractérisations avec différentes techniques d'analyse physico-chimique et spectrale.

Enfin, le troisième s'intéresse à l'évaluation qualitative et quantitative de l'activité microbiologique de nos ligands.

A decorative graphic of a scroll with a black outline and grey shading on the rolled-up ends. The text is centered within the scroll.

Chapitre 2

Synthèse et caractérisation des
ligands et leurs complexes

Dans ce chapitre, nous rapportons la procédure de synthèse d'une série des ligands dérivés de benzylidene isonicotino hydrazide et N-(1-(4-hydroxy-6-méthyl-2-oxo-2H-pyrane-3-yl) éthylidene) isonicotino hydrazide à effets thérapeutiques et des complexes à base des ions métalliques suivants: Co(II), Ni(II) et Zn(II). Ces derniers sont isolés à l'état de poudre par synthèse classique (sous reflux).

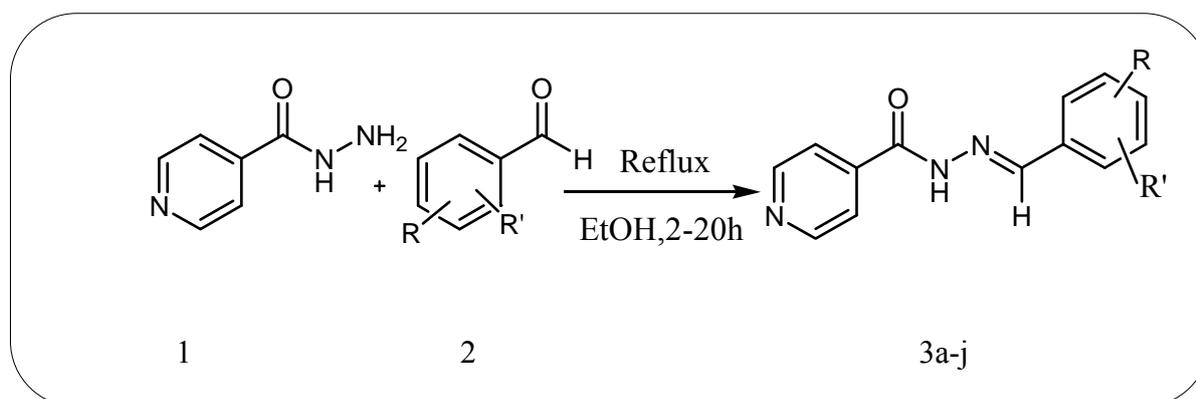
1. Synthèse et Caractérisation des ligands

La synthèse a été effectuée par la méthode classique « chauffage à reflux » dont le but est de chauffer jusqu'à l'ébullition sans perte de matière.

1.1. Synthèse des ligands à base des aldéhydes

Dans un ballon de 250 ml, ont été introduites un mélange équimolaire d'isoniazide (isonicotinique hydrazide acide, INH) et d'aldéhyde dans 10 ml d'éthanol. Le mélange réactionnel a été porté sous reflux sous agitation pendant (2 à 20 heures) un solide s'est formé après refroidissement. Ce dernier est récupéré par filtration et purifié par lavage avec l'éthanol.

Les ligands que nous avons synthétisés sont obtenus par condensation d'isoniazide avec des dérivés d'aldéhydes selon la réaction suivante :



3a: R= H, R'=H

3f: R=2-Cl, R'=6-Cl

3b: R= H, R'= 3-OH

3g: R= H, R'=4-N(CH₃)₂

3c: R= H, R'= 4-OH

3h: R= H, R'= 2-NO₂

3d: R= H, R'= 4-Cl

3i: R= H, R'= 4-NO₂

3e: R=2-Cl, R'=4-Cl

3j: R= H, R'= 4-OCH₃

Figure 2 : Réaction de condensation d'isoniazide avec dérivés d'aldéhydes.

Chapitre 2 Synthèse et caractérisation des ligands et leurs complexes

Tableau 1: Points de fusions et Rendements des composés **3a-j** et **5**

Composé	Durée d'agitation (heures)	Pf (°C)	Pf lit. (°C) [58]	Rdt (%)	Couleur
3a	13	192	148	73,00	Blanc
3b	12	268	-	97,93	Blanc
3c	20	291	264-268	92,53	Blanc cassé
3d	11	212	218-221	89,20	Blanc
3^e	13	215	-	93,88	Blanc
3f	2	200	-	59,52	Blanc
3g	4	199	104-106	39,18	Jaune
3h	9	228	229-231	83,33	Beige
3i	5	274	255-257	42,22	Jaune orangé
3j	3	160	170-173	47,05	Blanc
5	2	222	-	98 ,6	Orange

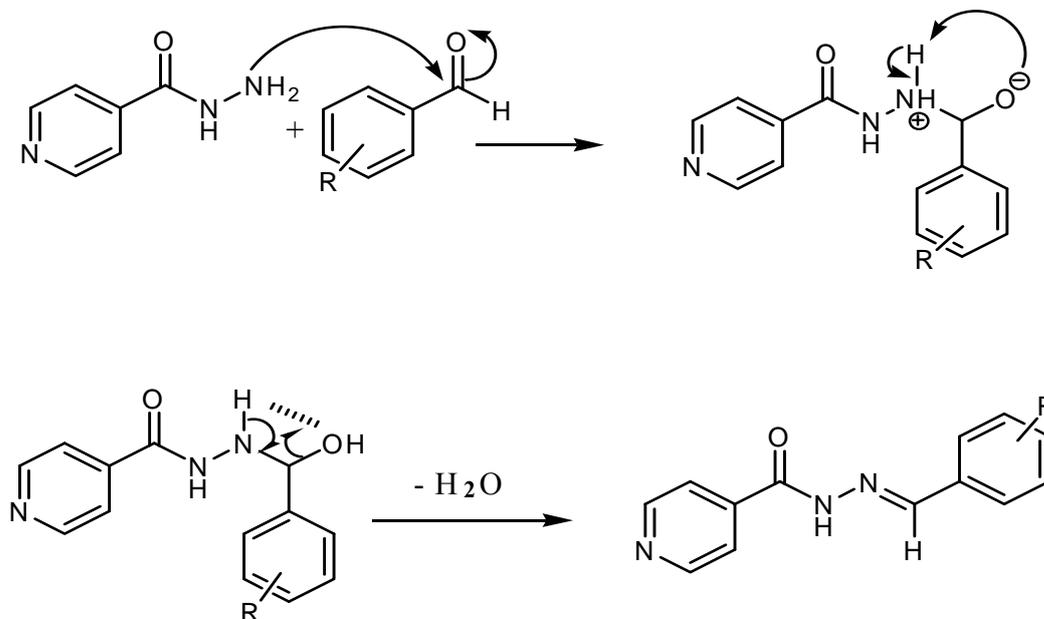
D'après le tableau 1 on peut conclure que le rendement des composés **3a-j** obtenus à partir d'isoniazide varie de 39% à 97%. Nous remarquons que ces rendements sont influencés par la nature des substituants électro-donneurs ou électro-attracteurs sur les aldéhydes (composés **2**).

En effet, la position d'un groupement attracteur en position para (NO₂) sur l'aldéhyde diminue son caractère électrophile, cependant nous observons également en position para de chlore les rendements des composés **3d** et **3e** sont supérieurs à celui de composé **3f** ou les chlores sont en position 2 et 6 (89% et 93% contre 59%), cette différence de rendements est due à l'encombrement stérique des chlores.

Nous observons également que le meilleur rendement a été obtenu avec les produits **3b** et **3c** (hydroxyde).

1.3. Mécanisme réactionnel

Le mécanisme réactionnel de la formation du composé 3 se résume comme suit:
L'attaque nucléophile de groupement amine de l'isoniazide sur la fonction carbonyle suivi de départ d'une molécule d'eau et la formation d'imine.



1.4. Caractérisation des ligands

1.4.1. Etude par chromatographie sur couche mince

La pureté des ligands synthétisés a été contrôlée par CCM en utilisant des plaques prêtes à l'emploi en gel de silice de type 60 F254 à support en aluminium. Les produits sont dissous dans le méthanol et l'éluant utilisé est un mélange de chloroforme/méthanol (9ml/1ml). La révélation des produits a été effectuée en utilisant l'iode sublimé.

Nous avons obtenu une seule tache dont les rapports frontaux obtenus sont donnés par la relation suivante :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcouru par le composé}}{\text{Distance parcouru par l'éluant}}$$

Les résultats des Rf sont reportés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 2 : Rapports frontaux des composés **3a-j**

Composé	R et R'	Rf
3a	R= H, R'=H	0,67
3b	R= H, R'= 3-OH	0,56
3c	R= H, R'= 4-OH	0,69
3d	R= H, R'= 4-Cl	0,69
3e	R=2-Cl, R'=4-Cl	0,80
3f	R=2-Cl , R'=6-Cl	0,68
3g	R= H,R'=4-N(CH ₃) ₂	0,59
3h	R= H, R'= 2-NO ₂	0,70
3i	R= H, R'= 4-NO ₂	0,65
3j	R= H , R'= 4-OCH ₃	0,57
5	/	0,49

1.4.2. Etude par chromatographie en phase liquide HPLC

La pureté des composés **3a-j** et **5** a été vérifiée par l'analyse chromatographique en phase liquide HPLC. Cette étude a été effectuée sur une colonne C18 en mode inverse utilisant comme phase mobile acétonitrile / H₂O (70/30) à $\lambda=273\text{cm}^{-1}$, avec un débit de 1ml/min, le volume injecté est de 20 μl . Le produit a été dilué dans l'acétonitrile grade analytique HPLC. Les chromatogrammes sont donnés en Annexe II.

Nous reportons dans le tableau **3**, le temps de rétention (tr), la pureté des composés **3a-j** et **5**.

Tableau 3 : Temps de rétention et la pureté des produits **3 a-j** et **5**

Composés	tr (min)	Pureté %
3a	2,675	99,48
3b	2,385	94,41
3c	2,322	98,66
3d	3,020	99,07
3e	3,710	98,88
3f	3,108	98,58
3g	2,753	98,12
3h	2,743	99,44
3i	2,713	98,63
3j	2,637	95,58
5	1,747	95,38

1.4.3. Etude par Spectroscopie Infrarouge

Les spectres IR des dérivés des composés **3a-j** et le composé **5** (Annexe III) révèlent l'apparition des bandes caractéristiques à $3100-3500\text{ cm}^{-1}$, $1650-1780\text{ cm}^{-1}$ et $1550-1650\text{ cm}^{-1}$ [58-60] qui correspondent respectivement aux vibrations d'élongation du groupement -NH, du groupement carbonyle C=O et du groupement imine C=N.

Le tableau suivant résume les principales bandes de vibration correspond aux différents groupements fonctionnels des composés **3a-j** et **5**.

Tableau 4 : les principales vibrations des composés 3a-j et 5

Fonction	v (NH)	v (C=O)	v (C=N)
Composés			
3a	3450,79	1691,25	1565,40
3b	3240,13	1658,19	1575,60
3c	3231,37	1657,71	1555,40
3d	3458,11	1667,81	1592,85
3^e	3086,14	1679,66	1589,93
3f	3468,39	1680,82	1596,10
3g	3415,57	1665,09	1592,38
3h	3194,40	1679,89	1561,58
3i	3438,51	1685,31	1562,42
3j	3440,68	1656,25	1598,17
5	3415,25	1696,97	1572,06

1.4.4. Etude par spectroscopie UV/ Visible

Les spectres UV-Visible (Annexe IV) ont été enregistrés en solution dans l'actéonitrile (concentration des solutions est 10^{-5} M).

Les spectres UV-Visible des composés **3a-j** et **5** mettent en évidence deux absorptions, la plus intense est attribuée à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$, la plus faible caractérise la transition électronique $n \rightarrow \pi^*$ [17].

Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 5 : Résultats du spectre UV/Vis des composé 3a-j et 5

Composé	λ (nm)	transition
3a	240	$\pi \rightarrow \pi^*$
3b	240 319	$\pi \rightarrow \pi^*$ $n \rightarrow \pi^*$
3c	242 322	$\pi \rightarrow \pi^*$ $n \rightarrow \pi^*$
3d	242 295	$\pi \rightarrow \pi^*$ $n \rightarrow \pi^*$
3e	290	$\pi \rightarrow \pi^*$
3f	240	$\pi \rightarrow \pi^*$
3g	358	$\pi \rightarrow \pi^*$
3h	240 333	$\pi \rightarrow \pi^*$ $n \rightarrow \pi^*$
3i	277 325	$\pi \rightarrow \pi^*$ $n \rightarrow \pi^*$
3j	312	$\pi \rightarrow \pi^*$
5	240	$\pi \rightarrow \pi^*$

2. Synthèse des complexes

La réactivité de quelques ligands substitués en position para par des groupements attracteur et donneur par effet mésomère vis-à-vis de Cobalt, de Nickel et de Zinc a été aussi étudiée.

Les complexes à base des ligands **3a**, **3c**, **3d**, **3g**, **3i** et **3j** notés L^1 , L^2 , L^3 , L^4 , L^5 et L^6 respectivement, ont été préparés à partir des Nitrates métalliques de : Cobalt, de Zinc et de Nickel en utilisant une méthode de synthèse classique « chauffage au reflux ».

2.1. Synthèse des Complexes Métal-Ligands

Dans un ballon de 100 ml, on introduit 2 mmol de ligand dissout dans 5 ml de l'éthanol avec 1 mmol du Nitrate de métal dissoute dans 5 ml de l'éthanol. Le mélange est chauffé à reflux sous agitation pendant 3h. Aucun précipité n'a été formé.

La littérature relate que l'ajout d'une base au milieu réactionnel de synthèse renforce le pouvoir complexant des ligands vis à vis du métal [61].

Pour ceci, quelques gouttes de NH_3 concentré sont ajoutées jusqu'à $pH = 9$, un précipité apparaît instantanément. Le mélange est maintenu sous reflux pendant 3h. Après

Chapitre 2 Synthèse et caractérisation des ligands et leurs complexes

refroidissement, les complexes obtenus sont filtrés puis lavés avec l'éthanol et enfin sont séchés.

Le tableau suivant résume les conditions opératoires de synthèse ainsi que la notation des complexes :

Tableau 6 : Conditions opératoires de synthèse des complexes

Masse des sels métalliques (g)	Ligands	Masse Des Ligands (g)	PH du Mélange	Temps de réaction (heures)	Masse expérimentale du complexe (g)	Notation des complexes
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O 0,03	L ¹	0,06	9	6	0,020	A1
	L ²	0,07	9	6	0,050	A2
	L ³	0,07	9	7	0,002	A3
	L ⁴	0,06	9	6	0,003	A4
	L ⁵	0,06	9	6	0,020	A5
	L ⁶	0,06	9	6	0,042	A6
Zn(NO ₃) ₂ .4H ₂ O 0.03	L ¹	0,06	9	6	0,020	A1'
	L ²	0,07	9	3	0,042	A2'
	L ³	0,07	9	6	0,005	A3'
	L ⁴	0,06	9	6	0,042	A4'
	L ⁵	0,06	9	6	0,046	A5'
	L ⁶	0,06	9	6	0,033	A6'
Ni(NO ₃) ₂ .6H ₂ O 0.03	L ¹	0,06	9	6	0,050	A1''
	L ²	0,07	9	3	0,025	A2''
	L ³	0,07	9	3	0,024	A3''
	L ⁴	0,06	9	6	0,048	A4''
	L ⁵	0,06	9	3	0,023	A5''
	L ⁶	0,06	9	6	0,007	A6''

2.2. Caractérisation des Complexes

Les complexes ont été isolés sous forme de poudre. Ils sont stables à l'air et à température ambiante.

La nature monomérique de nos complexes est déduite par les valeurs des points de fusion qui sont inférieure à 390°C.

Les tests de solubilité sur l'ensemble des complexes synthétisés montrent qu'ils sont insolubles dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques. En revanche, ils sont peu solubles dans le DMSO et dans l'éthanol.

Chapitre 2 Synthèse et caractérisation des ligands et leurs complexes

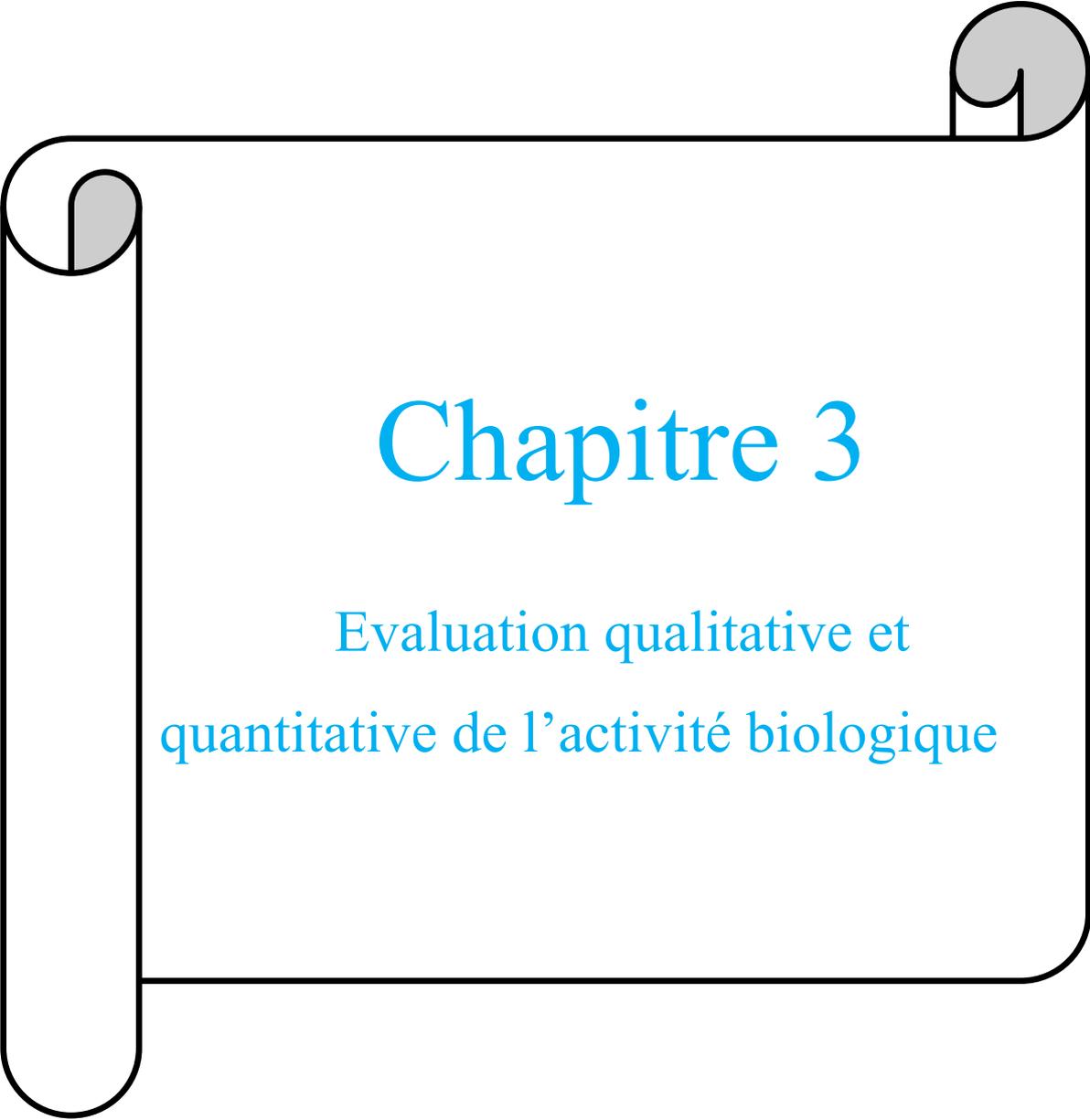
Le tableau suivant récapitule les résultats de ces études.

Tableau 7: Propriétés physico-chimiques des complexes

Complexe	Couleur	Pf (°c)	Solubilité						
			Eau	Ether	Ethanol	Méthanol	Acétone	DMSO	Acétonitrile
A ¹	Orange claire	280	I	I	S	S	S	S	I
A ²	Moutarde	350	I	I	PS	I	I	S	I
A ³	Marron foncé	360	I	I	S	S	PS	S	PS
A ⁴	Marron claire	283	I	I	S	S	S	PS	PS
A ⁵	Marron	375	I	I	S	S	S	S	PS
A ⁶	Orange	342	I	I	PS	S	I	PS	I
A ^{1,}	Beige	157	I	I	S	S	S	S	S
A ^{2,}	Jaune	275	I	I	S	I	I	S	I
A ^{3,}	Jaune	348	I	I	S	S	I	S	I
A ^{4,}	Jaune	169	I	I	S	S	PS	S	I
A ^{5,}	Jaune claire	260	I	I	PS	I	I	S	I
A ^{6,}	Beige	214	I	I	S	S	I	S	I
A ^{1,,}	Beige	320	I	I	S	I	PS	S	PS
A ^{2,,}	Beige	269	I	I	S	I	PS	S	S
A ^{3,,}	Rouge	383	I	I	PS	I	I	S	I
A ^{4,,}	Jaune	360	I	I	PS	I	PS	S	I
A ^{5,,}	Jaune claire	300	I	I	PS	S	I	S	I
A ^{6,,}	Orange	355	I	I	PS	I	I	S	I

I : insoluble, **P.S** : partiellement soluble et **S** : soluble.

Par contrainte de temps et manque de moyens de caractérisation au niveau de nos laboratoires, nous n'avons caractérisé nos complexes qu'avec les techniques qui étaient disponibles. D'autres techniques plus pointues sont requises pour décrire le plus fidèlement possible un complexe, notamment la Résonance paramagnétique électronique (RPE), la Résonance magnétique nucléaire (RMN) de ¹H et ¹³C et l'Analyse Élémentaire.



Chapitre 3

Evaluation qualitative et
quantitative de l'activité biologique

Les antibiotiques et les antifongiques ont été le principal moyen de sauver d'innombrables vies humaines. Malgré tout, les infections demeurent un problème important dans la santé publique, causant au-delà de 13 millions de décès à chaque année [62].

Ce problème est aggravé par plusieurs facteurs, notamment l'accessibilité croissante aux transports et l'utilisation abusive des antibiotiques et des antifongiques dans le milieu hospitalier et dans l'industrie alimentaire [63].

Aujourd'hui où la résistance des germes aux antibiotiques et antifongiques devient de plus en plus préoccupante, de nouveaux composés organiques montrent leur efficacité.

Le présent travail a eu pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique de nos ligands sur la croissance in-vitro de souches bactériennes et fongiques.

L'étude de l'activité antibactérienne et antifongique d'une série des ligands dérivés de benzyldene isonicotino hydrazide et de N-(1-(4-hydroxy-6-méthyl-2-oxo-2H-pyran-3-yl)éthylidene) isonicotino hydrazide a été réalisée au laboratoire de microbiologie de département de pharmacie d'UMMTO.

1. Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne et antifongique

1.1. Microorganismes utilisés

L'activité antibactérienne et antifongique des ligands a été évaluée sur des souches obtenues auprès du laboratoire de microbiologie département de pharmacie de l'UMMTO.

Bactéries à Gram positif : Staphylococcus aureus (ATCC 25923).

Bactéries à Gram négatif : Escherichia coli : (ATCC 25922) et Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853).

Levure : Candida sp.

➤ Staphylococcus aureus

Les staphylocoques sont des bactéries, impliquées dans des pathologies variées et souvent responsables d'infections contractées dans les hôpitaux. Leur habitat naturel est constitué par les flores cutanées et muqueuses humaines et animales. Les staphylocoques sont des cocci à gram positif classiquement disposés en amas. Certaines espèces de staphylocoques sont actuellement identifiées, dont l'espèce principale : Staphylococcus aureus (plus communément appelé staphylocoque doré) [64].

➤ **Escherichia coli**

Escherichia coli (E.coli) est un bacille à coloration de gram négative, mobile, aérobie qui appartient à la famille des entérobactéries. Cette bactérie présente la caractéristique unique d'être à la fois un germe commensal de la flore intestinale présent chez tous les individus a des taux de 10^6 à 10^9 ufc /g de selles et le premier germe pathogène responsable d'infection communautaire [65].

➤ **Pseudomonas aeruginosa**

Pseudomonas aeruginosa (PA), ou bacille pyocyannique, est un germe Gram négative, très répandu dans l'environnement, pathogène opportuniste, parfois commensal de sujets sains, fréquemment résistant aux biocides et aux antibiotiques [66].

➤ **Candida sp**

Le Candida sp est un champignon microscopique, est un micro-organisme de la famille des levures que l'on retrouve normalement dans l'organisme humain en quantité relativement limitée. A l'état normal, cette levure vit en harmonie sur les muqueuses de nos organes digestifs, dans notre bouche, notre estomac et nos intestins sans y causer le moindre trouble [67].

1.2. Caractérisation et purification des souches

1.2.1. Ré-isolément et Repiquage des souches

Il est nécessaire de revivifier les souches à étudier en commençant par leur ré-isolément sur des milieux sélectifs.

Le contrôle de pureté des souches a été fait par ré-isolément de chacune des souches utilisées sur le milieu d'isolement spécifique. Le repiquage des souches a été fait à partir du milieu de conservation sur le milieu sélectif, avec incubation à 37°C pendant 18h à 24h.

1.2.2. Examen macroscopique

L'examen macroscopique nous a permis l'identification de la couleur, la taille et l'aspect des colonies fraîches de 18h.

1.2.3. Examen microscopique

Il permet d'étudier la coloration de Gram et l'observation à l'état frais.

1.2.3.1. Etat frais

C'est une méthode rapide consiste à observer par un microscope optique entre lame et lamelle une suspension bactérienne à l'objectif 40. Les renseignements obtenus par cette observation concernent principalement la mobilité des bactéries [68].

1.2.3.2. Coloration de gram

Elle permet l'étude microscopique des bactéries à l'objectif 100 par l'huile d'immersion, cette coloration différentielle distingue les bactéries en fonction de la structure de leur paroi, deux colorants sont employés : la couleur violet pour les bactéries Gram positif et rose à celle des Gram négatif.

La distinction entre bactéries Gram positif et bactéries Gram négatif repose sur une différence de composition pariétale, en effet les bactéries à gram négatif leur paroi riche en lipides qui facilite le passage de l'alcool qui décolore la paroi alors que, chez les bactéries à gram positif la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool et le reste coloré en violet.

1.2.4. Tests d'orientations

1.2.4.1. Test de catalase

Certaines bactéries ont la faculté de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En présence d'une bactérie productrice de catalase, on observe à partir d' H_2O_2 une libération d'oxygène gazeux selon la réaction :



La présence d'une catalase est révélée immédiatement par des bulles de gaz qui correspondent à l'oxygène dégagé.

1.2.4.2. Test de l'oxydase

Les bactéries possédant une chaîne respiratoire complète sont dotées d'une cytochrome oxydase. La mise en évidence de cette oxydase est effectuée en présence d'une solution aqueuse de chlorhydrate de diméthyle paraphénylène diamine qui forme un complexe violet au contact de cette enzyme. Les colonies sont prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur [68].

Ce test consiste de déposer les disques sur une lame à l'aide d'une pince flambée et imbibée avec d'eau physiologique stérile.

1.2.4.3. Test coagulase

La coagulase libre est présente chez *S. aureus*. La détection de cette coagulase s'effectue en ajoutant dans un tube à hémolyse 0.5 ml de plasma de lapin et 0.5 ml d'une culture *S.aureus* de 24 h en bouillon. La lecture s'effectue après 2h, 4h et 24h par inclination du tube à 180°. Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum [69].

1.2.5. Galerie biochimique (Galerie API 20)

L'identification des souches à Gram négatif (*E.coli*, *Pseudomonas*) a porté sur une série de tests biochimiques. Les tests biochimiques ayant servi à l'identification sont :

1.2.5.1. Test de TSI

Sur le milieu TSI (Trois Sucres à Identifier) est ensemencé avec la souche à étudier, il est incubé à 37°C pendant 24 heures. Ce test permet la mise en évidence de la fermentation du glucose, du lactose et du saccharose, la réaction est dite positive si le milieu devient jaune orange [70].

1.2.5.2. Test de Simmons

Ce test permet la mise en évidence du citrate perméase : enzyme permettant à la souche l'utilisation du citrate comme seule source de carbone, après incubation à 37°C pendant 24heures, l'utilisation du citrate se traduit par la libération des ions « -OH », qui alcalinisent le milieu en se traduisant par une couleur bleue après le virage du vert de bromothymol [71].

1.3. Résultats de caractérisations des souches bactériennes

Les résultats de caractérisation des souches bactériennes utilisées sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 8: Résultats de caractérisation des souches bactériennes et fongiques

	E.coli ATCC 25922	P.aeruginosa ATCC 27853	S.aureus ATCC 25923	Candida sp
Aspect macroscopique des colonies	-colonies ronds -Jaunâtre en milieu Hektoène	-Colonies fines -Vert claire en milieu Hektoène	-Colonies ronds -Jaunâtre en milieu Chapman	-Colonies ovale -blanche en milieu saboraaud
Etat frais	Mobile autour d'elle-même	Très mobile	Immobile	Immobile
Coloration de gram	-Coccobacilles -Gram(-)	- Bacilles très fins -Gram(-)	-Cocci gram (+) en amas	/
Catalase	Catalase(+)	Catalase(+)	Catalase(+)	/
Oxydase	Oxydase(-)	Oxydase(+)	Oxydase(-)	/
Coagulase	/	/	Coagulase(+)	/
Galerie biochimique	-TSI(+) -Citrate(-)	-TIS(-) -Citrate (+/-)	/	/

1.4. Réalisation de l'activité antibactérienne et antifongique

L'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique de nos ligands notés L¹⁻¹¹ se fait en plusieurs étapes :

1.4.1. Préparation de milieu de culture

L'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique de nos ligands, ont été réalisés par la méthode de diffusion en milieu solide.

Ce milieu est liquéfié au bain marie (à une température de 95°C) puis, on prélève à chaque fois 20 mL que l'on coule sur des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm tout en veillant à manipuler obligatoirement dans la zone stériles autour du bec Bensen. On les laisse refroidir et bien séchées avant l'emploi [72].

1.4.2. Préparation de l'inoculum

Un inoculum est préparé à partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement approprié. Quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide d'une pipette paster flambée, déchargée dans 5ml d'eau physiologique stérile.

La suspension bactérienne est bien homogénéisée et ajustée jusqu'à atteindre une opacité équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une densité optique de 0,08 à 0,10 lue à 625nm [73].

1.4.3. Ensemencement des boîtes de pétri

Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne ou fongique, essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum, puis frotté sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées.

L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, l'ensemencement est fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose, l'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'une boîte de Pétri est ensemencée [74] (figure 5).



Figure 5 : Ensemencement par les suspensions microbiennes.

1.4.4. Dépôt des disques

Les disques utilisés sont des disques stériles de papier wattman de 6mm de diamètre, Ils sont déposés, à l'aide d'une pince stérile, sur la surface des géloses préalablement ensemencé par les suspensions microbiennes, les disques doivent être espacés d'au moins 24mm centre à centre [72].

Pour chaque boîte de pétri, on dépose 5 ou 6 disques,

- Des disques qui sont imprégné de 10µl de différentes solutions de nos ligands préalablement dissouts dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) prélevé à l'aide d'une micropipette de 10 µl.
- Un disque qu'on imprègne de 10µl de DMSO comme témoin négative également prélevé à l'aide de la micropipette.
- Des disques d'antibiotiques utilisés comme témoins positifs pour chaque souche bactérienne (CTX30 pour E.coli ATCC 25922, RIF5 pour S. aureus ATCC 25923), les boîtes sont ensuite incubées immédiatement pendant 18 à 24 heures à 37°C.

1.5. Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique des ligands

A l'aide d'un pied à coulisse, on mesure les diamètres des zones d'inhibitions de la prolifération bactérienne autour des disques imprégnés de différentes solutions des ligands pour toutes les souches testées et le résultat sera exprimé en mm.

Les résultats de nos ligands sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 9 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) pour les composés étudiés.

Composé étudié	E.coli ATCC 25922	P.aeruginosa ATCC 27853	S.aureus ATCC 25923	Candida sp
	Zone d'inhibition (mm)			
L ¹	6	9	11	11
L ²	6	6	9	12
L ³	8	8	15	13
L ⁴	9	13	13	12
L ⁵	10	11	13	11
L ⁶	8	10	31	11
L ⁷	11	8	10,5	13
L ⁸	10	10	9	11
L ⁹	9	11	8	13
L ¹⁰	8	11	6	15
L ¹¹	6	8	6	13
Témoin négative	10	8	6	11
Témoin positif	13	/	33	/

Fortement inhibitrice (+++) : $D > 20$ mm : Les bactéries sont extrêmement sensible.

Moyennement inhibitrice (++) : $16\text{mm} \leq D \leq 20\text{mm}$: Les bactéries sont très sensible.

Faiblement inhibitrice (+) : $8\text{mm} \leq D \leq 15\text{mm}$: Les bactéries sensibles.

Non inhibitrice (-) : $D \leq 8\text{mm}$: les bactéries non sensibles.

Comme le montre le tableau 9 et l'annexe V,

L'activité antibactérienne varie selon le germe testé, en effet les produits L³, L⁴, L⁵ et L⁶ montrent un effet inhibiteur de la croissance bactérienne vis-à-vis des deux germes (S.aureus ATCC 25923 et P.aeruginosa ATCC 27853), le résultat de cette activité pour le composé L⁶ montre une zone d'inhibition plus grande ceci peut s'expliquer par les positions de chlores. Contrairement aux autres produits L¹, L², L⁷, L⁸, L⁹, L¹⁰, L¹¹ qui montre moyennement des effets inhibiteurs.

Par rapport à l'activité antifongique comme le montre le tableau les composés L³, L⁷, L⁹, L¹⁰ et L¹¹ présente une activité moyenne.

2. Evaluation quantitative de l'activité antimicrobienne et antifongique des composés étudiés

Cette évaluation consiste à déterminer la CMI qui correspond à la plus petite concentration inhibant toute croissance bactérienne visible à l'œil nue, en utilisant la technique de dilution en milieu solide.

2.1. Détermination de la CMI

Pour les composés ayant une grande zone d'inhibition qui ont montré une sensibilité lors de la première étape, une mesure de la CMI est réalisée pour les composés L³, L⁶, L⁷, L¹⁰ et L¹¹.

2.1.1. Préparation des boîtes pétries

Division de la boîte en quatre zones dans lesquelles on a mentionné les noms des souches bactérienne et la levure.

2.1.2. Méthode de dilution sur les boîtes de pétri

Peser 51.2mg de nos produits diluer dans 10 ml de solvant (DMSO) en suite on a procédé à des dilutions de concentration différente qui sont réparti comme suit :

Concentration 1 : 4ml de la solution mère

Concentration 2 : 2ml de la solution1 + 2ml de DMSO

Concentration 3 : 2ml de la solution2 + 2ml de DMSO

Concentration 4 : 2ml de la solution3 + 2ml de DMSO

A chaque fois on a pris 2ml de chaque concentration avec 18ml de la gélose MH, liquéfié et homogénéisé délicatement sans faire de bulle le contenu des boites par de mouvement circulaire. Puis on a solidifié les boites dans un réfrigérateur pendant 30 minutes.

2.1.3. Dépôt des spots à la surface de la gélose

Déposer les spots dans les 15 mn suivant la préparation de l'inoculum, marquer les boites de dilution pour localiser et identifier chaque spot.

Appliquer chaque spot sur la gélose, en utilisant une micropipette déposer les spots de 2µl verticalement sur les différentes boites en allant de la plus faible concentration à la concentration la plus forte, puis incubé les boites à 37°C pendant 18 à 24h

Les résultats des CMI sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 10: Résultats de la CMI pour les germes testés.

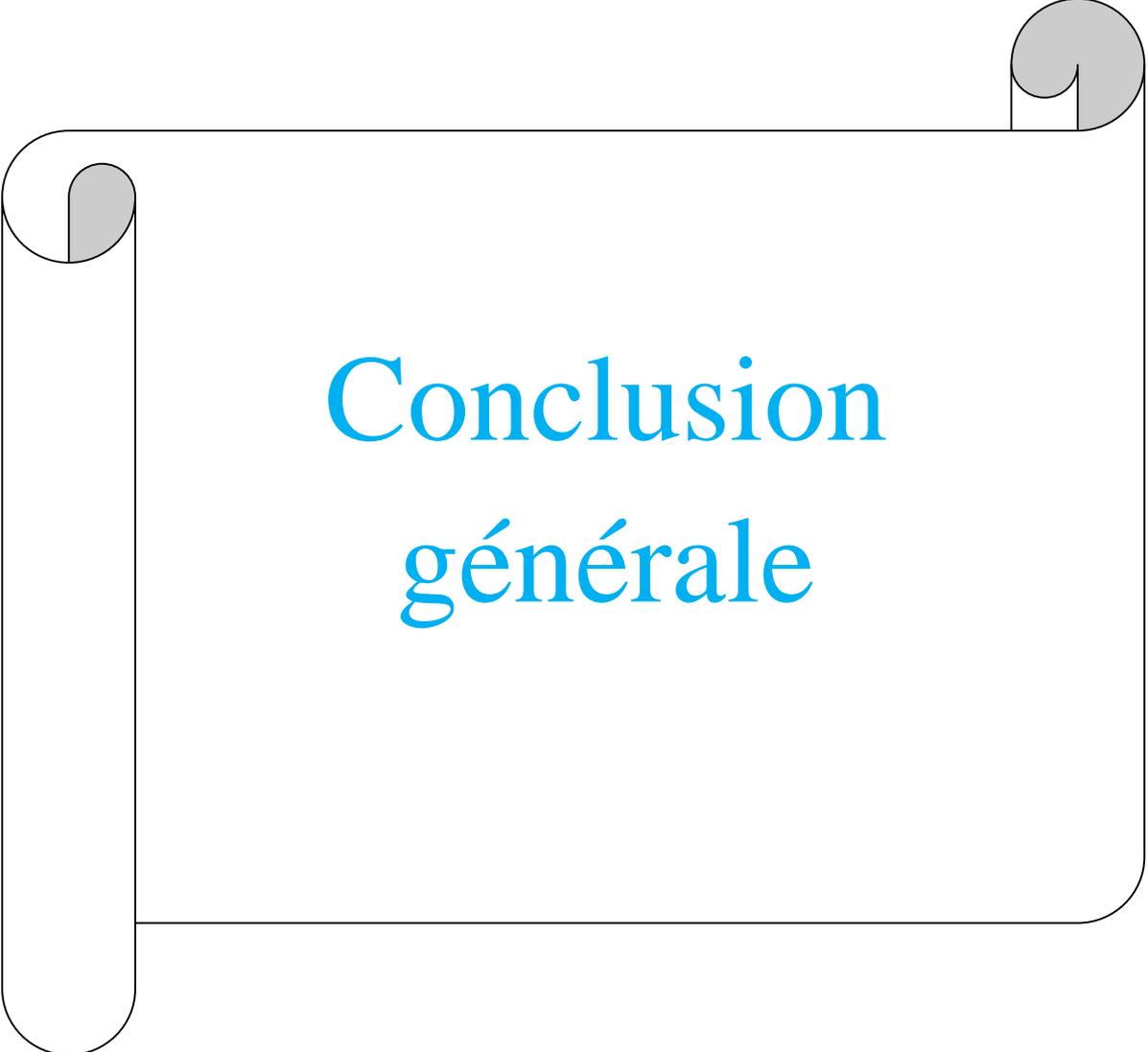
Composés	Concentrations (mg/ml)	E.coli ATCC25922	P.aeruginosa ATCC27853	S.aureus ATCC 25923	Candida sp
L ³	5,12.10 ⁻¹	+	+	+	+
	2,56.10 ⁻¹	+	+	+	+
	1,28.10 ⁻¹	+	+	+	+
	6,40.10 ⁻²	+	+	+	+
L ⁶	5,12.10 ⁻¹	+	-	+	+
	2,56.10 ⁻¹	+	-	+	+
	1,28.10 ⁻¹	+	-	+	+
	6,40.10 ⁻²	+	-	+	+
L ⁷	5,12.10 ⁻¹	-	-	+	+
	2,56.10 ⁻¹	-	-	+	+
	1,28.10 ⁻¹	-	-	+	+
	6,40.10 ⁻²	-	-	+	+
L ¹⁰	5,12.10 ⁻¹	-	-	+	+

	$2,56.10^{-1}$	- (CMI)	- (CMI)	+	+
	$1,28.10^{-1}$	+	+	+	+
	$6,40.10^{-2}$	+	+	+	+
L¹¹	$5,12.10^{-1}$	+	-	+	+
	$2,56.10^{-1}$	+	-	+	+
	$1,28.10^{-1}$	+	-	+	+
	$6,40.10^{-2}$	+	-	+	+

(+) : prolifération microbienne (-) : absence de prolifération microbienne

Les résultats montrés que le composé L¹⁰ a une efficacité sur les souches bactériennes E.coli ATCC25922 et P.aeruginosa ATCC27853. En effet, leur CMI est $2,56.10^{-1}$ mg/ml.

Pour S.aureus ATCC 25923 et candida sp sont résistants donc la CMI est supérieur à la concentration initiale.



Conclusion générale

Conclusion générale

Au terme de ce travail, nous pensons avoir contribué à réaliser la condensation de l'hydrazine ou isonicotinique hydrazide acide avec un aldéhyde ou une cétone ce qui nous a donné des dérivés de benzylidene isonicotino hydrazide et N-(1-(4-hydroxy-6-méthyl-2-oxo-2H-pyrane-3-yl) éthylidene) isonicotino hydrazide. Les produits isolés ont été analysés par des méthodes spectroscopiques, en l'occurrence l'infrarouge, l'UV-Visible, HPLC, qui nous a permis de confirmer la structure de tous les produits et leur pureté.

Ces derniers possédants des sites donneurs tels que N et O qui présentent des doublets non liants ce qui leur permet de se coordiner aux ions métalliques.

De là, de nouveaux complexes de Ni(II); Co(II) et de Zn(II) avec des dérivés de benzylidene isonicotino hydrazide ont été synthétisés. Ces composés sont stables à l'air libre.

L'évaluation de l'activité biologique des ligands montre que Les composés L³, L⁴, L⁵ et L⁶ présentent une bonne activité inhibitrice vis-à-vis des deux souches bactériennes (*S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853). Par contre, les autres composés L¹, L², L⁷, L⁸, L⁹, L¹⁰, L¹¹ ont moyennement des effets inhibiteurs. Les composés L³, L⁷, L⁹, L¹⁰ et L¹¹ présentent une légère activité inhibitrice pour la levure *Candida sp.*

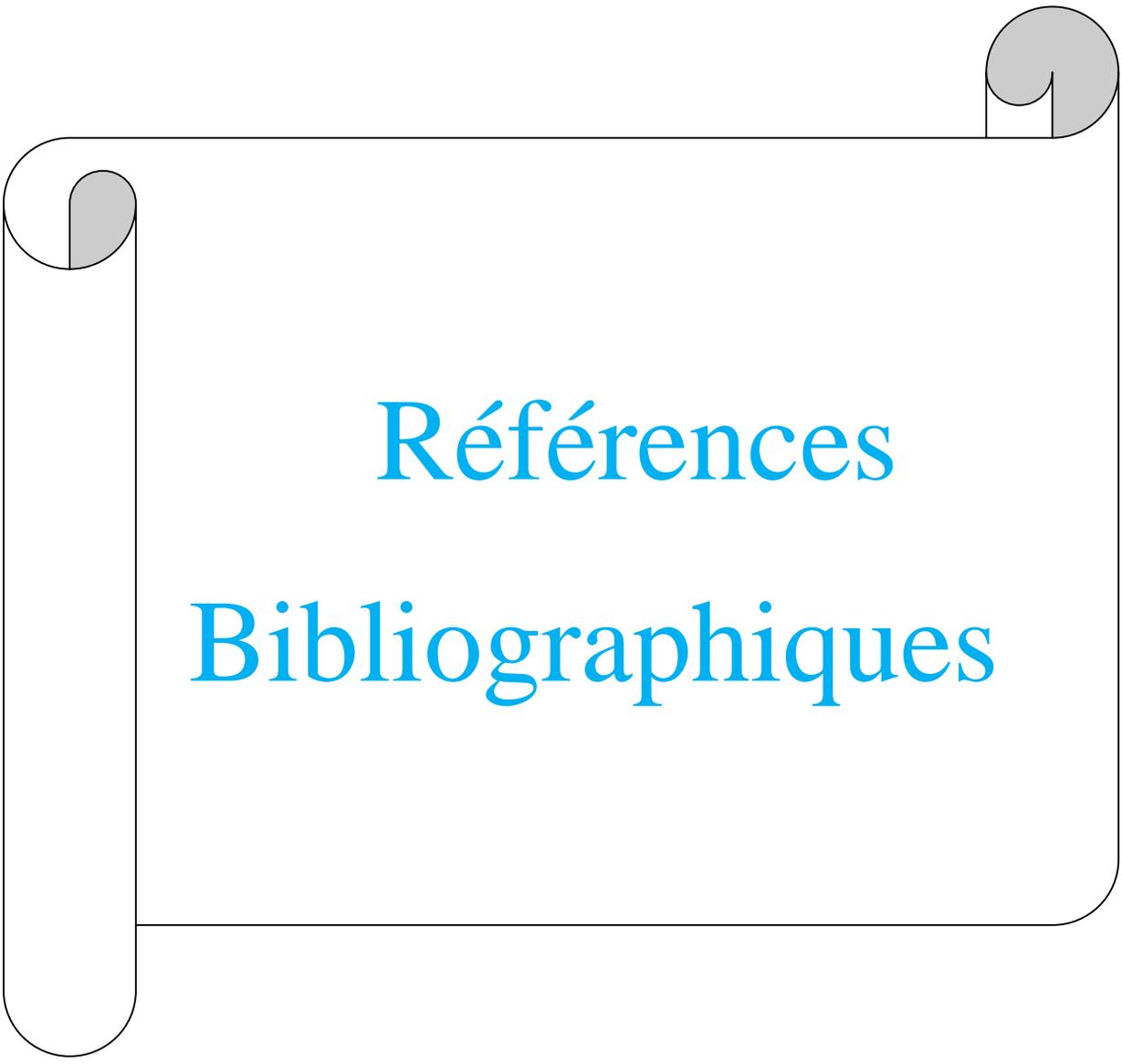
L'étude des CMI (concentration minimale inhibitrice) donne des résultats intéressants pour les produits vis-à-vis des souches bactériennes (*E. coli*, *P. aeruginosa*). En effet, leur CMI est $2,56 \cdot 10^{-1}$ mg/ml.

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

- Dans nos travaux intérieurs, nous allons s'intéresser à la synthèse de ces ligands avec d'autres méthodes telle que l'irradiation par micro-ondes ou ultrasons. Afin de manipuler avec un gain de temps considérable et un environnement beaucoup plus sain.
- Les résultats des tests microbiologiques obtenus ouvrent un axe de recherche pour la réalisation d'autres évaluations biologiques. Cette étude devrait s'étendre sur des tests anti-inflammatoires, antiparasitaires, anti-convulsant, anti-malarique, anti-tumorale, anti-dépression et anti-oxydante car la littérature donne énormément des résultats intéressants sur ces sujets. Aussi d'autres bactéries et champignons devrait être sélectionnés pour élargir l'investigation.

Conclusion générale

- Caractérisation des complexes obtenus par des méthodes d'analyses analytiques et spectrales.
- Nous essayerons d'identifier parmi nos produits ceux qui peuvent être de nouvelles sondes fluorescentes.



Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

- [1].HADROT Simon. Développements méthodologiques dans la chimie des hydrazones et des isonitriles.Doc. Chimie organique : école polytechnique.**2006**.
- [2].JADON.G; KUMAWAT.L. Inter.j.pharm.sci and research, 2, 10, 2572. **2011**.
- [3].PHILIP.J.E;ANTONY.S.A;ETTINILKUNNATHIL.S.J;KURUP.M.R.P;VELAYUDHAN .M.P. Inorganica Chimica Acta,469,87.**2017**.
- [4].ROLLAS.S; KÜÇÜKGÜZEL.S.G. Molecules. 12, 1910.**2007**.
- [5].SINGH M .RAGHAV N. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 3, 4, 26.**2011**.
- [6].OMPRAKASH G.BHUSNURE., SHAM S. MOKALE., YOGESH S.NALWAR., YASHEWANT B. VIBHUTE. Journal of pharmaceutical and biological sciences, 6, 6.**2011**.
- [7].SELEEM H.S., EL-SHETARY B.A., KHALIL S.M.E., SHEBL M. Original scientific paper. 68, 10, 729.**2003**.
- [8].SELEEM HS. Seleem Chemistry Central Journal, 5, 35.**2011**.
- [9].SELEEM H.S., EL-INANY G.A., EID M.F., MOUSA M., HANAFY F.I. J. Braz. Chem. Soc., 17, 4, 723.**2006**.
- [10].RICHARDSON .D.R. antimicrobial agents and chemotherapy, 41, 9, 2061.**1997**.
- [11].KACHARE A.A., KUMBALPURI S.A., SHANKARWAR S.G., CHONDHEKAR T.K. Pelagia Research Library. 6, 7, 87.**2015**.
- [12].HORDE P. « Hydrazone - Définition » issu de Sante-Médecine.**2015**.
- [13].KITAEV Y., BUZYKIN B., TROEPOLSKAYA T.Russian Chem. Reviews, 441.**1970**.
- [14].DU-HOI D., XUONG N, HAM N., BINON F., ROGER R., CHEM J.Soc.**1953**.
- [15].POZDNYAKOVA I., STAFSHEDE P.Biochemistry, 40, 13728.**2001**.
- [16].ROLLAS S., KÜÇÜKGÜZE S.G. Molecules, 12, 1910.**2007**.
- [17].FASINA T.M., EJIAH F.N., REVAPRASADU N., FAMILONI O.B. Trends in Science & Technology Journal,2,262,**2017**.
- [18].RIED W., KEIL G. Liebigs Ann. Chem. 605, 167.**1957**.
- [19].RIED W., KEIL G. Liebigs Ann. Chem. 616, 108.**1958**.
- [20].MICHAUT Valérie. Comportement nucléophile des N-arylhydrazones : Réaction de Mannich et applications. Doc : Chimie Organique : école polytechnique.**2003**.
- [21].SAVANI L., CHIASSERINI L., GAETA A., PELLERANO C. Bio. Med. Chem.10, 2193.**2002**.
- [22].ANDRADE M.M., MARIA T.B., Comb J. Chem, 12, 245.**2010**.
- [23].KOBAYASHI S., MORI Y., FOSSEY H.S., SALTER M. Chem. Rev.111, 2626.**2011**.
- [24].LAZNY R., NODZESWSKA A. Chem. Rev. 110, 1386.**2010**.

Références Bibliographiques

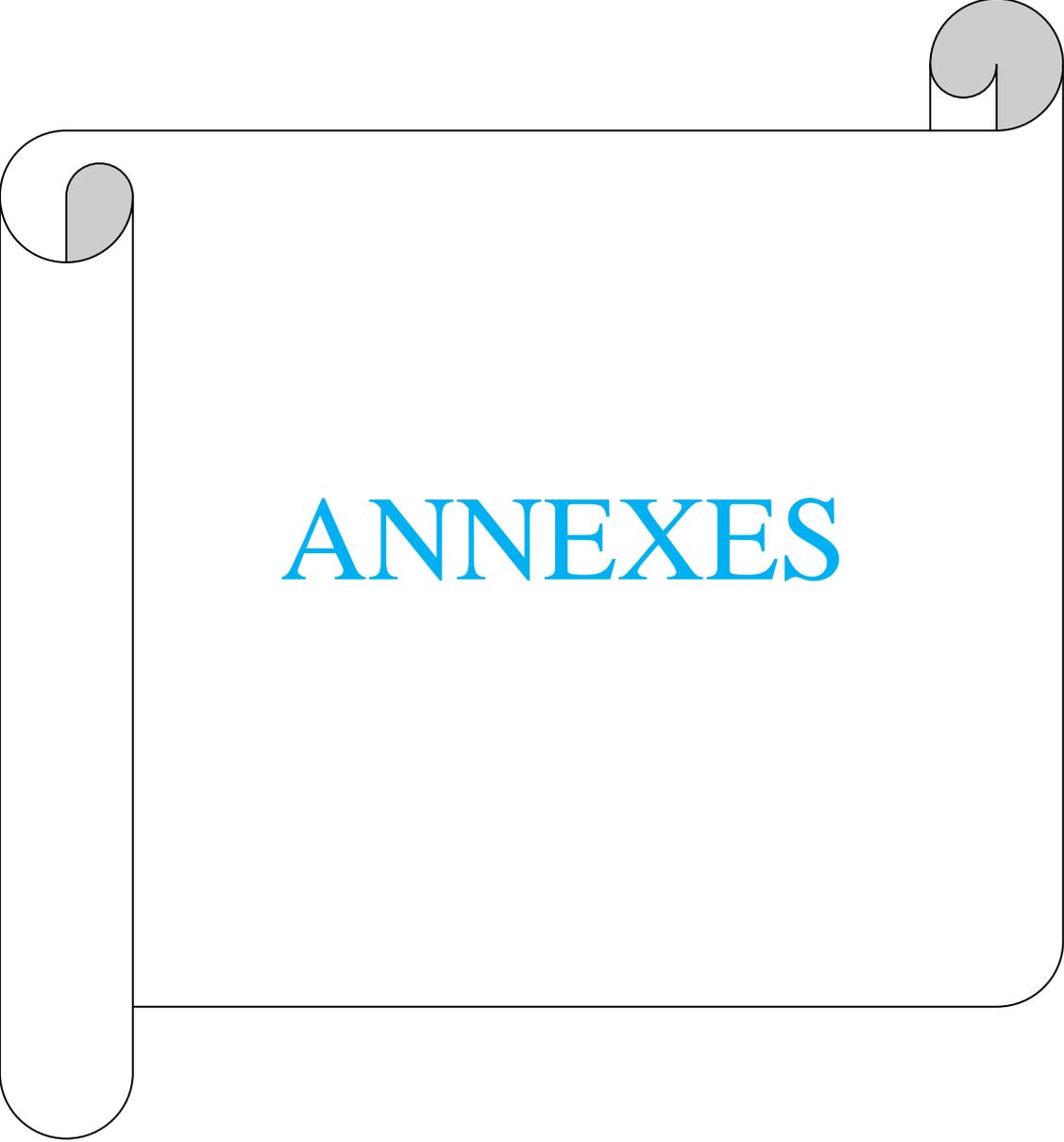
- [25].TATUM L. A., SU X., APRAHMIAN I. *Acc. ChemRes*, 47, 2141.**2014**.
- [26].BINAULD S., STENZEL M. H. *J. Chem. Commun*, 49, 2082.**2013**.
- [27].MAHMUDOV K.T., KOPYLOVICH M.N., POMBEIRO A. J., *Coord L. Chem. Rev.*257, 1244.**2013**.
- [28].DUTTA R.L., HOSSAIN MD.M. *J. Sci. Ind. Res*, 44, 635.**1985**.
- [29].SINGH N.K., AGRAWAL N., AGGARWAL R.C., *INDIAN J.Chem*, 23, 5.**1984**.
- [30].HOLLA B., UDUPA K.V., *INDIAN J. Chem. Soc*, 65, 5. **1988**.
- [31].KUMAR A., SETHI P.D., JAIN. C.J., *INDIAN J. Chem. Soc*, 67, 9.**1990**.
- [32].GURSOY A., TERZIOGLU N., OTUK G. *J. Med. Chem*, 32, 7.**1997**.
- [33].POPP F.D. *J. Heterocyclic Chem*, 21, 5.**1984**.
- [34].MOHAN J., PUJARI H.K., *INDIAN J. Chem*, 13, 9.**1975**.
- [35].GUPTA G.D., PUJARI H.K., *INDIAN J. Chem*, 16, 31.**1978**.
- [36].RAGAVENDRAN J. V., SRIRAM D., PATEL S. K.,REDDY I.V., BHARATHWAJAN N., STABLES J.,YOGESHWARI P., *EUR. J. Med. Chem.*,42, 146, **2007**.
- [37].DIWAKERAWADH J., *INTER J. pharm.*, 2(11), 110, **2011**.
- [38].BAQUERO F., *ANTIMICROB. Chem. other.* 39, 1, **1997**.
- [39].RICE L. B., *Biochem. Pharmacol.*,71(7), 5, **2006**.
- [40].ONKOL T.,GOKCE M., TOSUN A. U., POLAT S.,SERIN M. S., TAZKEN S.,TURK J. *Pharm. Sci.*,5,3,155, **2008**.
- [41].HAN M. I., GÜROL G., YILDIRIM T., KALAYCI S., SAHIN F., KUÇUKGUZEL S. G., *Marmara Pharm. J.*, 21,4, 961, **2017**.
- [42].LIMA P.C., LIMA L.M., DA SILVA K.C.M., LEDAPHO., DE MIRANDA A.L.P., FRAGA C.A.M, BARREIRO E.J. *Eur. J. med. Chem.*, 35,2, 187, **2000**.
- [43].TODESCHINI A.R., DE MIRANDA A.L.P., DA SILVA K.C.M., PARRINI S.C., BARREIRO E.J., *Europ. J. med. Chem.*, 33,3, 189, **1998**.
- [44].BREMAN, J. G, *J. Trop. Med. Hyg.*, 64, 1, **2001**.
- [45].KAPLANCIKLI Z. A., ALTINTOP M. D., OZDEMIR A., ZITOUNI G. T., KHAN S.I.,ATLI, O., GOKALP I. A., *Lett. Drug Design & Discovery*, 9, 310, **2012**.
- [46].WARDAKHAN W. W., EL-SAYED N. N., MOHAREB R. M., *Acta Pharm.*, 63, 45, **2013**.
- [47].MOHAREB R. M., EL-SHARAWY K.A, HUSSEIN M. M., EL-SEHRAWI H.M., *J. Pharm. Sci. res.*, 24, 185, **2010**.

Références Bibliographiques

- [48].CONSTANTIN S., PANZARIU A., VASINCU I., APOTROSOAEI M., CONFEDERAT L., BURON F., ROUTIER S., PROFIRE L., Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iasi, 119, 3, **2015**.
- [49].HENNI Abdelhak. Synthèse et caractérisations des ligands, complexes de zinc et complexes de zinc-Alcalino-terreux. Mag : chimie : université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.**2013**.
- [50]. <http://quotidienne-agera.fr> nickel-metal-diableetincelles/#sthash.oxhDD0ZU.dpuf.**2013**.
- [51]. KAIM W., SCHWEDERSKI B. An Introduction and Guide, John Wiley.**1994**.
- [52].FRASTODASILVA J.J., WILLIAMS R.J.P. The Inorganic Chemistry of Life, Clarendon Press: Oxford. **1993**.
- [53].PANDIYAN T., ENRIQUEZ M.A.R., BERNÈS S., BAZUA C.D.D.1999.Polyhedron, 18, 3383. **1999**.
- [54].PELOUZE T.J., FREMY E. Traité de chimie, général, analytique, industrielle et agricole, 3ed, Victor masson et fils, paris ,593.**1865**.
- [55].BOBBITT J.M., WARTING A.E.SOH., GRITYTER R.J. Introduction à la chromatographie, Gauthier-villar.**1972**.
- [56].BENAISSA Akila. Etude de la dégradation photocatalytique d'un colorant synthétique et d'un tensioactif.Doc. Génie des procédés. Université Mentouri Constantine. **2011**.
- [57].WOLF S.P., DEAN R.T. J. Biochem, 234, 399.**1986**.
- [58].THOMAS A.B., NANDA R.K., KOTHAPALLI L.P., HAMANE S.C. Arabian Journal of Chemistry, 9, S79.**2011**.
- [59].SARIKA R.Y., AMIT R.Y., GAURAV B.P., ANAND S. A. American-Eurasian Journal of Scientific Research, 4, 4, 229.**2009**.
- [60].DHANDE V.V., BADWAIK V.B., ASWAR A.S. Russian Journal of Inorganic Chemistry, 2007, 52, 8, 1206.**2007**.
- [61].BENBELKACEM N. Synthèse et caractérisation de complexes mixtes de Cobalt (III) avec l'éthylènediamine, une série d'acides aminés et des bases azotées. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou: Tizi Ouzou.**2012**.
- [62].COHEN M.L. Nature. 406,6797,762. **2000**.
- [63].SPRINGER B., ORENDI U., MUCH P., HOEGER G., RUPPITSCH W., KRZIWANEK K., METZGERCEK S.,MITTERMAYER H. Wien Klin Wochenschr. 121,(3-4), 86.**2009**.
- [64].BACHMANN B.J. Linkage map of Escherichia coli K-12, 8ed, Microbiol Rev, 54,2,130.**1990**.

Références Bibliographiques

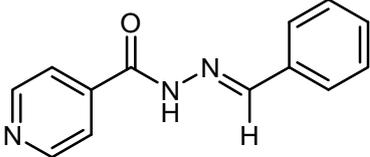
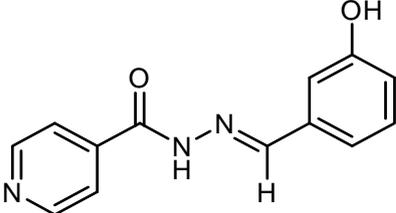
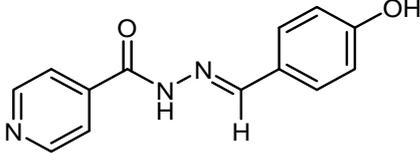
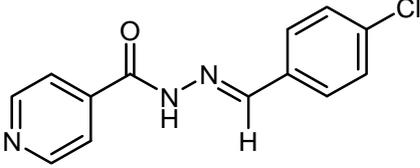
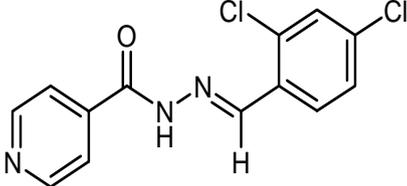
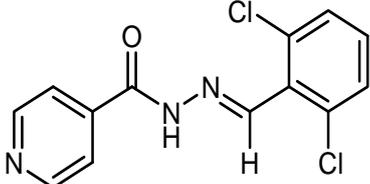
- [65].ZEYONS Ophélie. Études des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement .doc.Physicochimie :université de Paris VI - Pierre et Marie Curie.**2008.**
- [66].LECLERC H. Presse therm climat. 139, 9. **2002.**
- [67].ARSENAULT C. Malaises et maladies le candida albicans.**2001.**
- [68].DENIS.F ; PLOY.M.C ; MARTIN.C ; CATTOIR.V. Bactériologie Médicale Technique usuelles.3^{ème} éd. Elsevier Masson.
- [69].AFISSA Halima Saadia. Etude de l'antibiorésistance des souches de Staphylocoques isolées à partir des dispositifs médicaux à l'hôpital de Mohamed Boudiaf Ouargla. Microbiologie Appliquée. Université kasdi Merbah-Ouargla.**2014.**
- [70].BEY Faiza. Etude de l'interaction antagoniste entre Lactibacillus sp et quelques souches d'entérobactéries. Mag. Microbiologie Alimentaire. Université d'Oran Es-Senia.2009.
- [71].GAILLOT O. a review.J. Appl.Microbiol, 99, 223.**2008.**
- [72].HADDAD Dyhia ; HADJI Djazira. Contribution à l'Etude de L'Huile Essentielle De *Myrtus communis* L. Doc. Pharmacie. Université Mouloud Mammeri Tizi ousou.**2016.**
- [73].Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (Médecine humaine et vétérinaire). 7^{ème} éd. Algérie.**2014.**
- [74].CHAALA Wafaa. Occurrence et profil d'antibiorésistance des Staphylococcus aureus isolée de produits alimentaires.Mag.Microbiologie fondamentale et Appliquée. Université d'Es-senia Oran.**2013.**

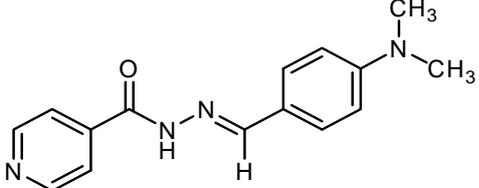
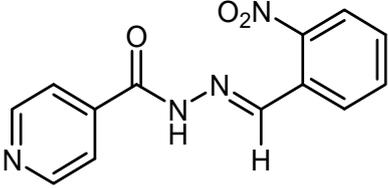
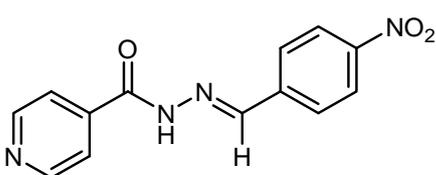
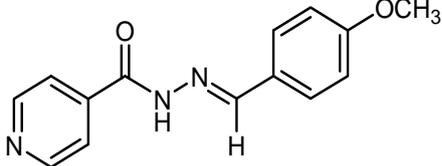
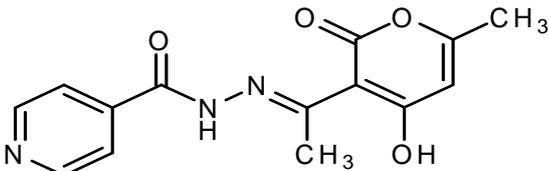


ANNEXES

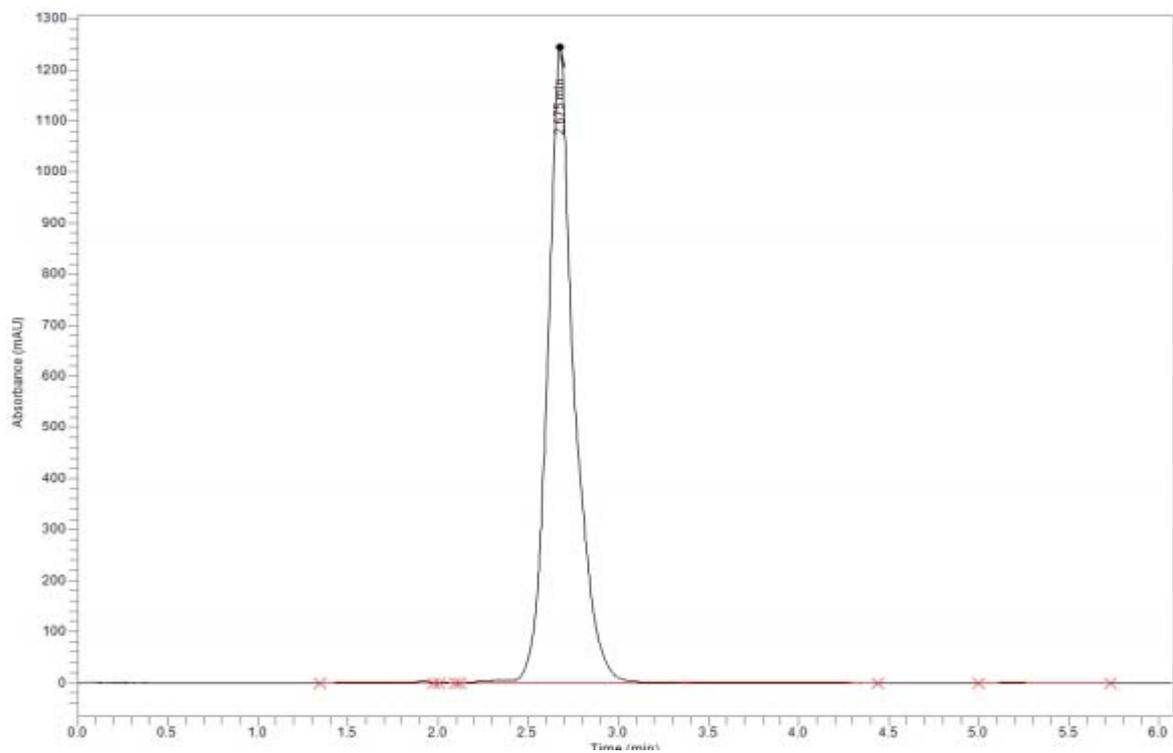
ANNEXE I

Récapitulatif des molécules synthétisées

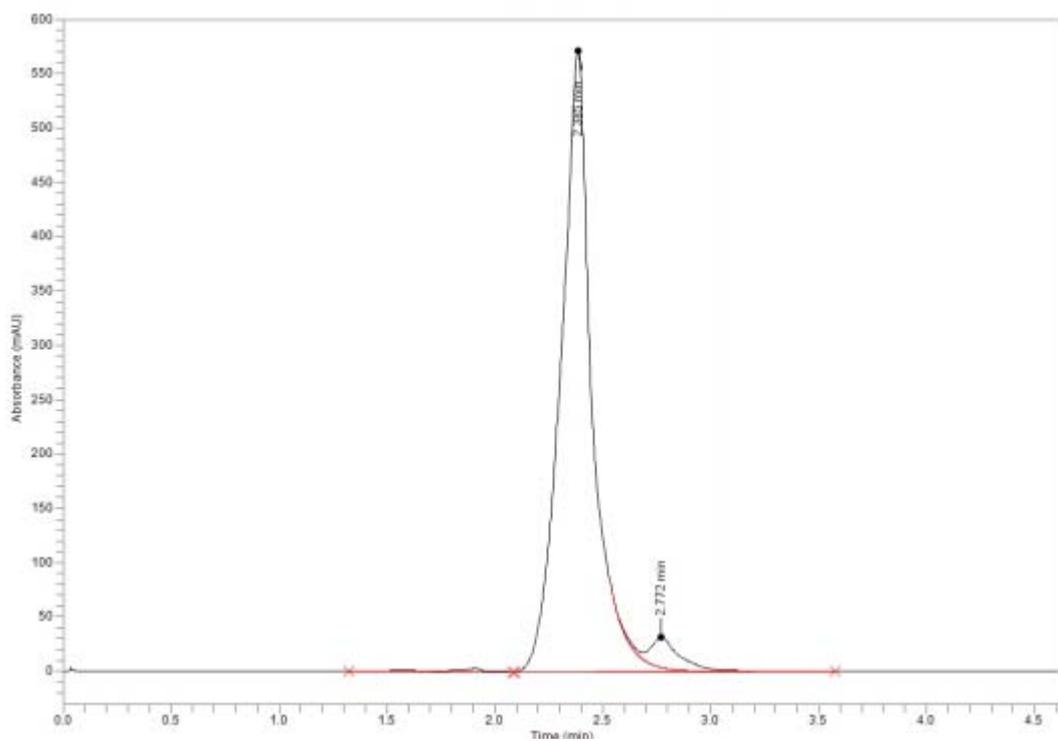
Notation	Formule	Non chimique	Masse molaire (g/mol)
3a		N-benzylidene isonicotinohydrazide	225
3b		N-(3- hydroxybenzylidene) isonicotinohydrazide	241
3c		N-(4- hydroxybenzylidene) isonicotinohydrazide	241
3d		N-(4- chlorobenzylidene) isonicotinohydrazide	259,5
3e		N-(2,4- dichlorobenzylidene) isonicotinohydrazide	294
3f		N-(2,6- dichlorobenzylidene) isonicotinohydrazide	294

3g		N-(4-(dimethylamino)benzylidene)isonicotinohydrazide	268
3h		N-(2-nitrobenzylidene)isonicotinohydrazide	270
3i		N-(4-nitrobenzylidene)isonicotinohydrazide	270
3j		N-(methoxybenzylidene)isonicotinohydrazide	255
5		N-(1-(4-hydroxy-6-methyl-2-oxo-2H-pyran-3-yl)ethylidene)isonicotinohydrazide	287

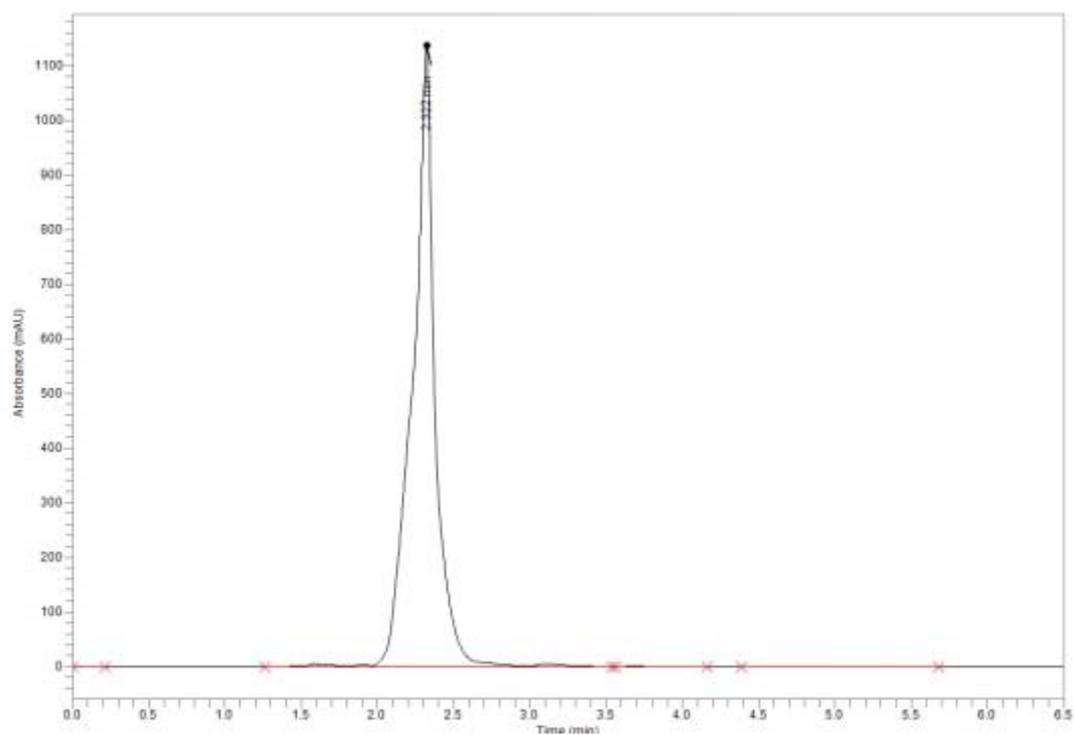
ANNEXE II



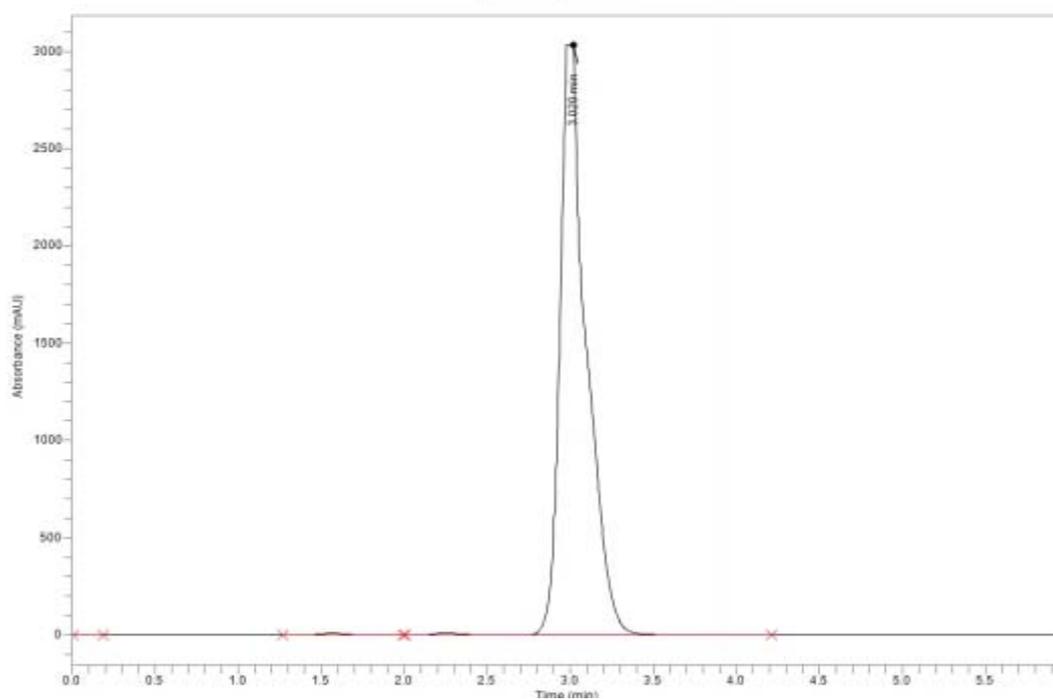
Specre HPLC du composé 3a



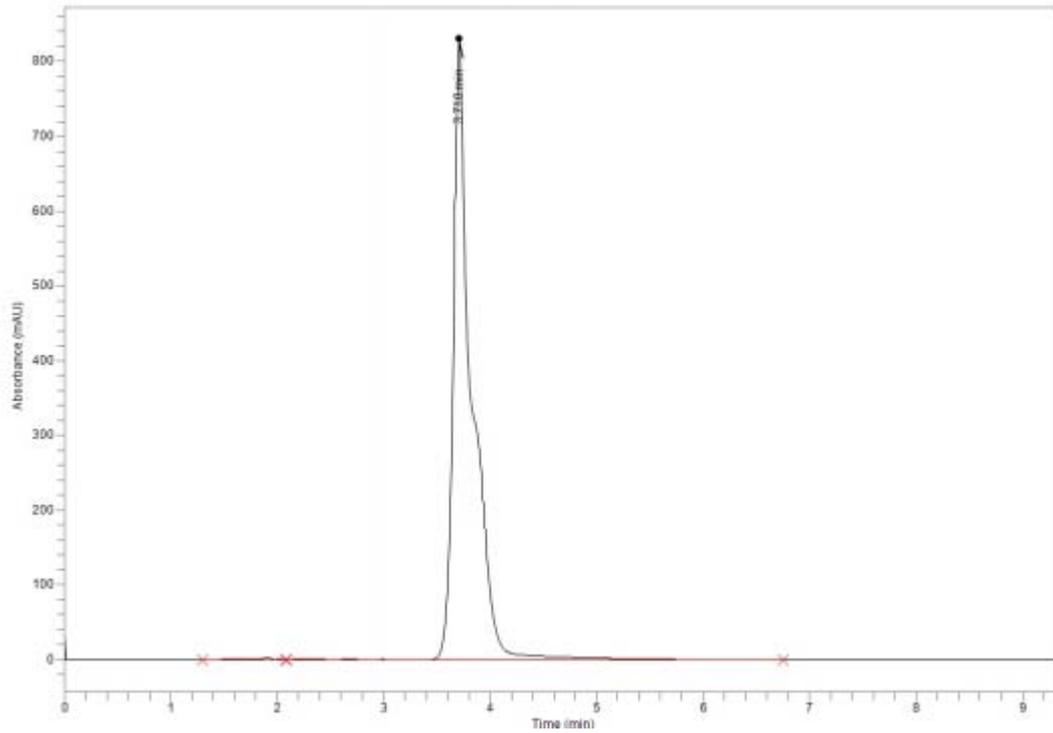
Specre HPLC du composé 3b



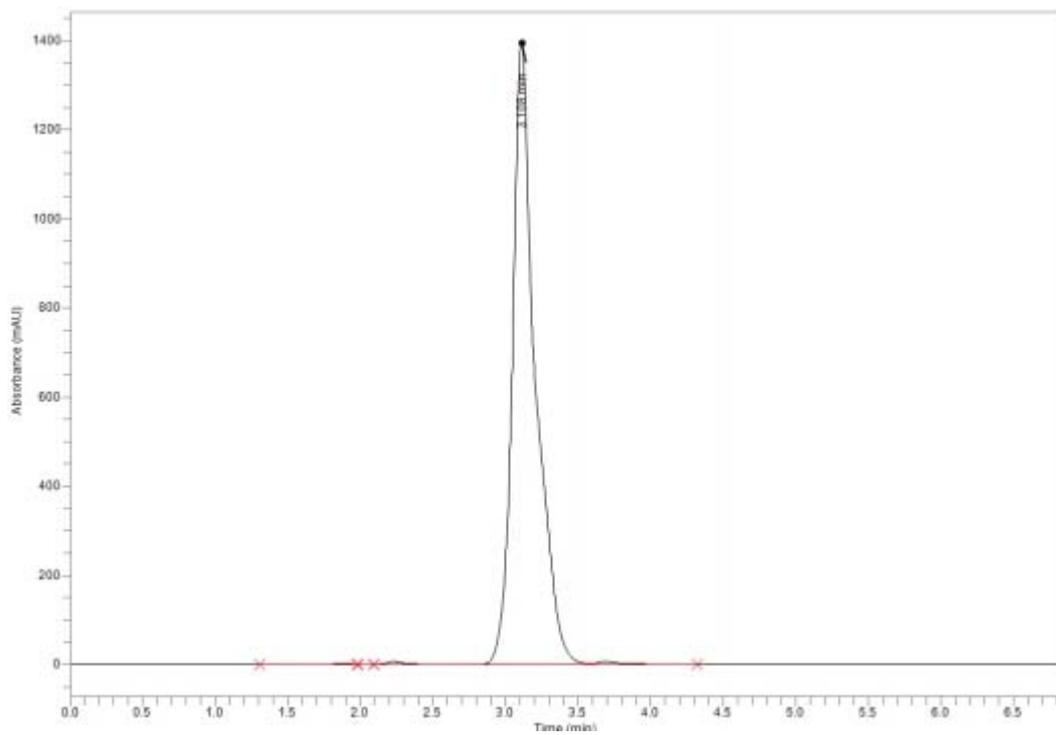
Spectre HPLC du composé 3c



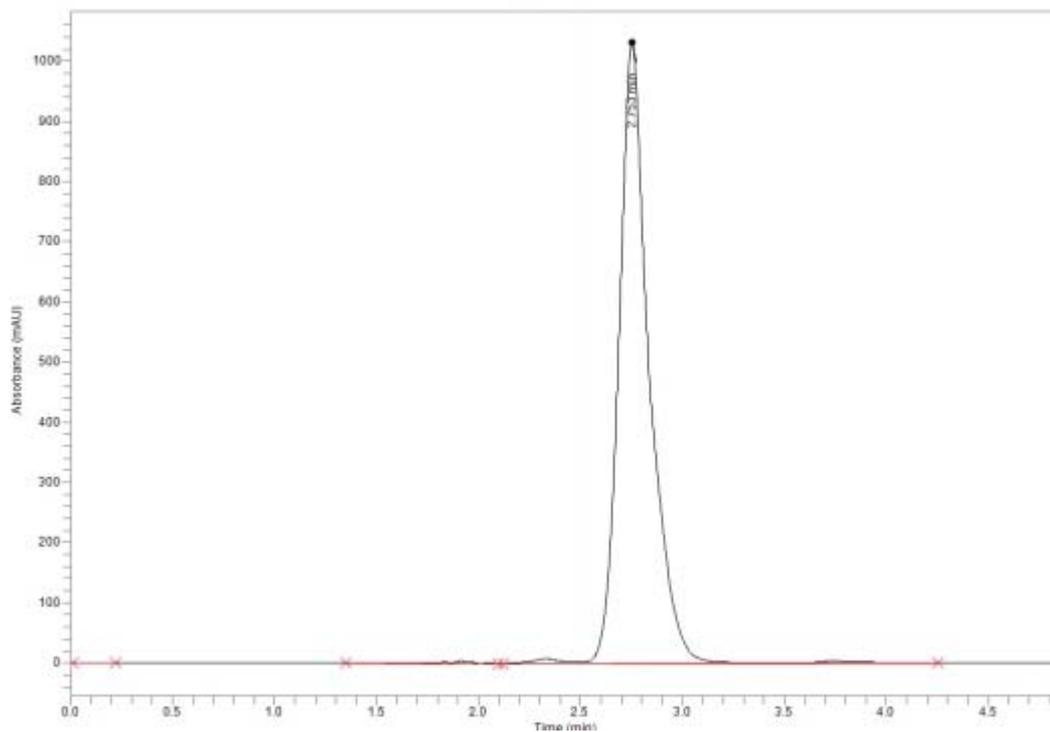
Spectre HPLC du composé 3d



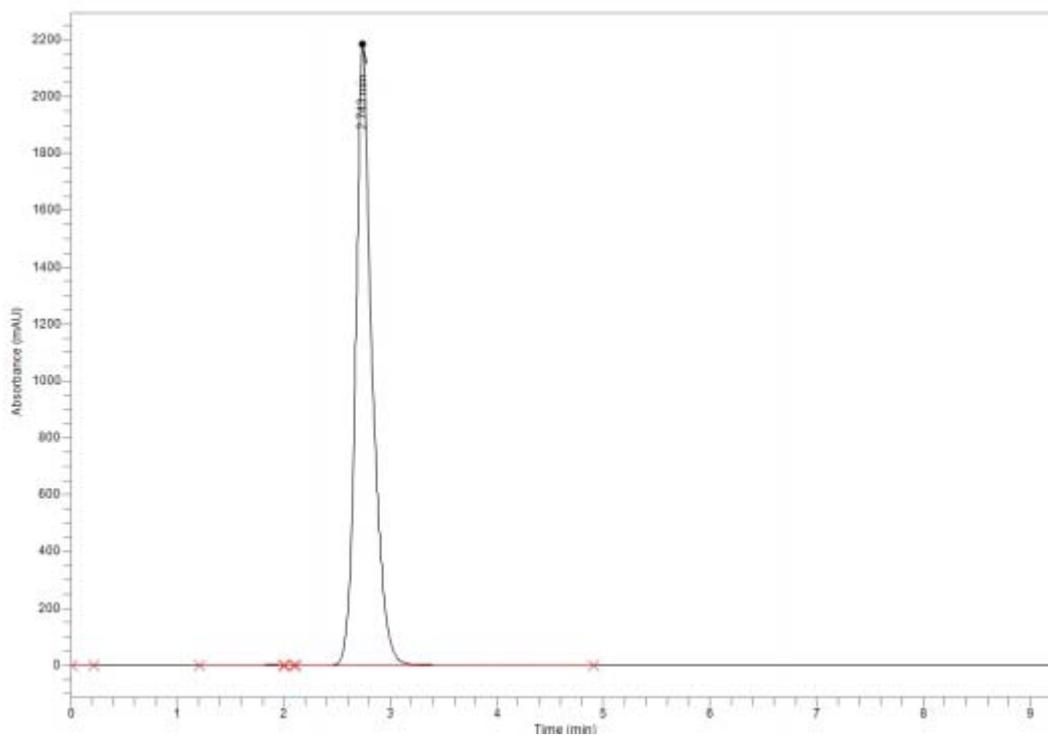
Spectre HPLC du composé 3e



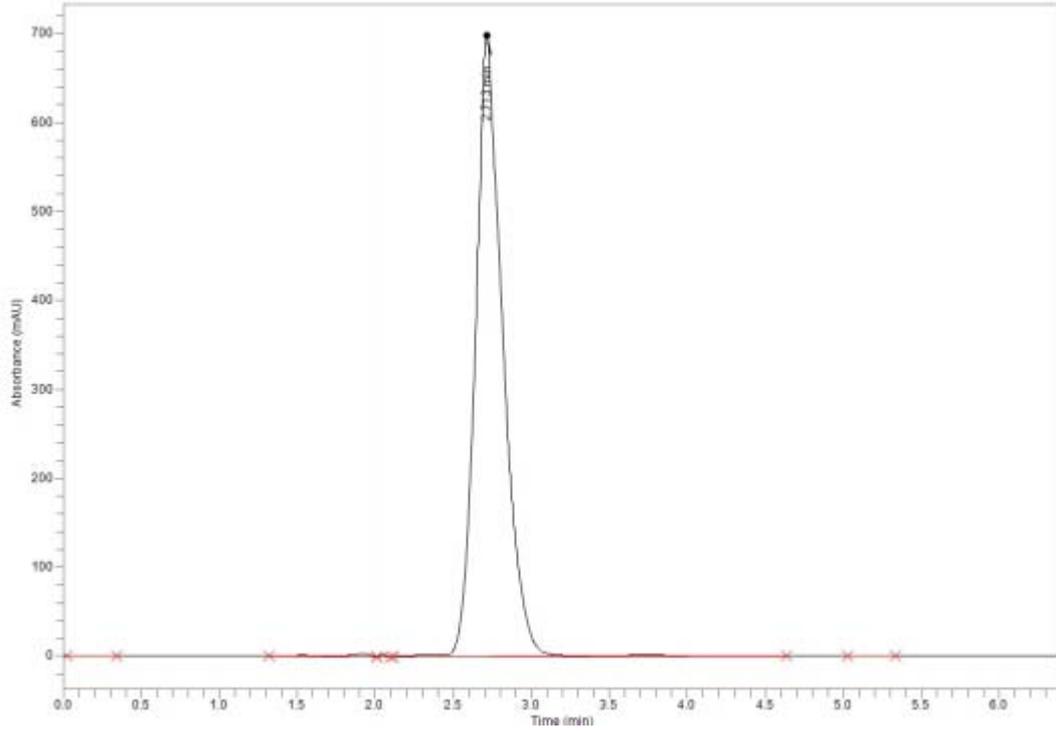
Spectre HPLC du composé 3f



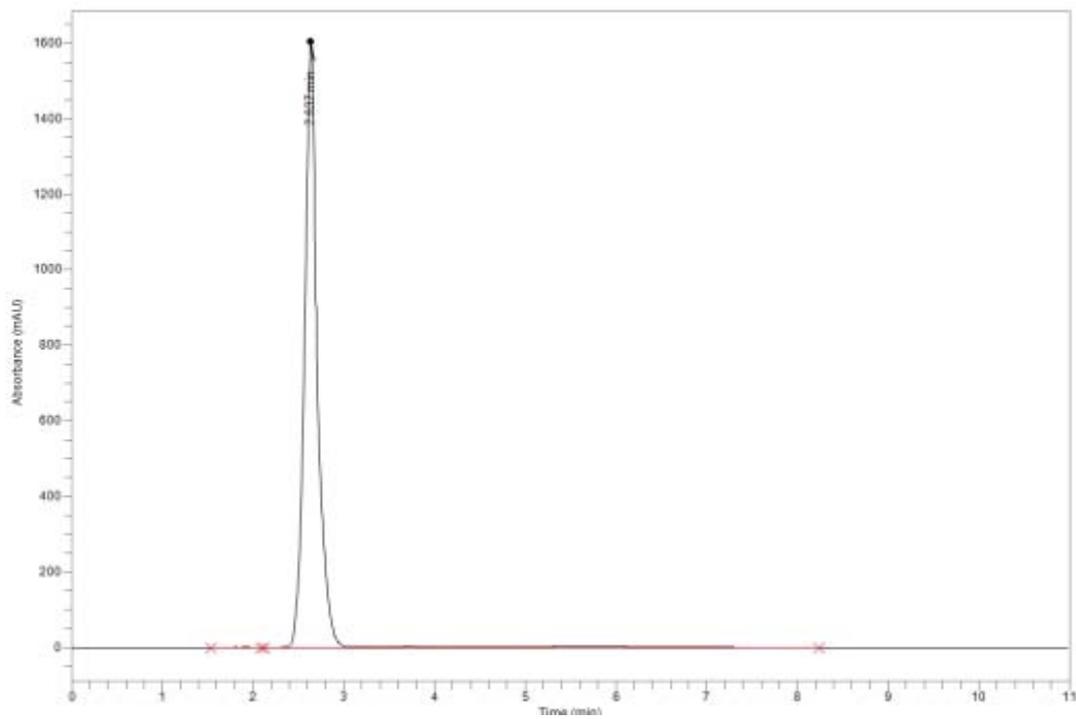
Spctre HPLC du composé 3g



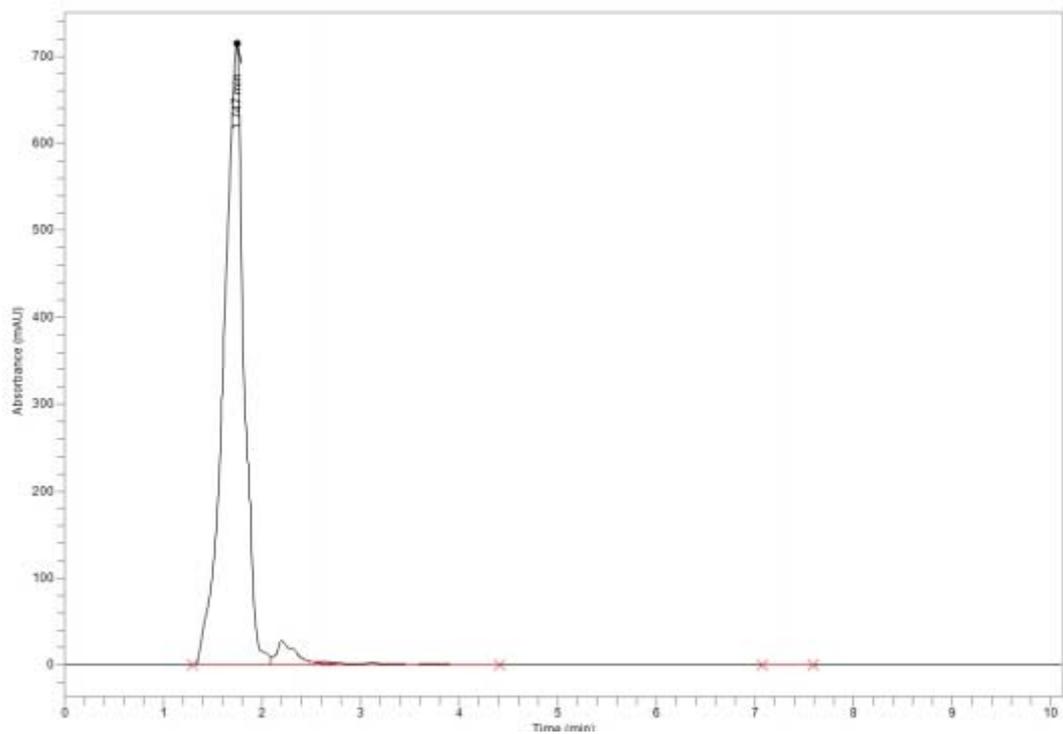
Spctre HPLC du composé 3h



Spectre HPLC du composé 3i

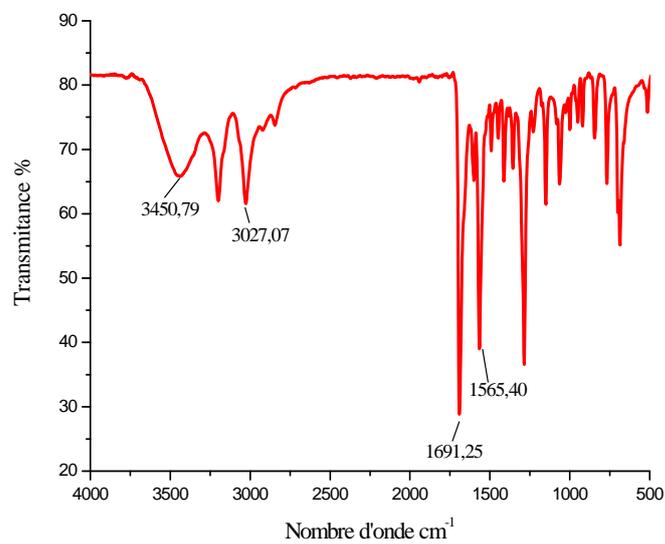


Spectre HPLC du composé 3j

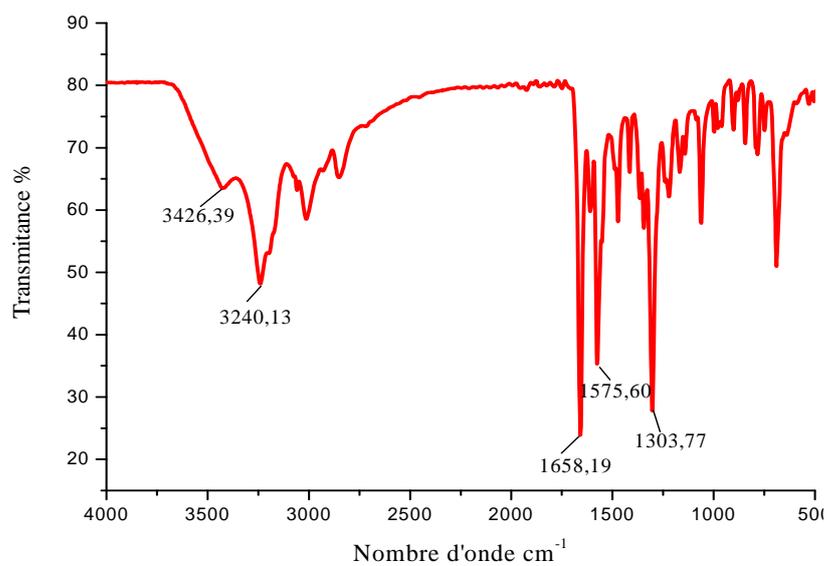


Spectre HPLC du composé 5

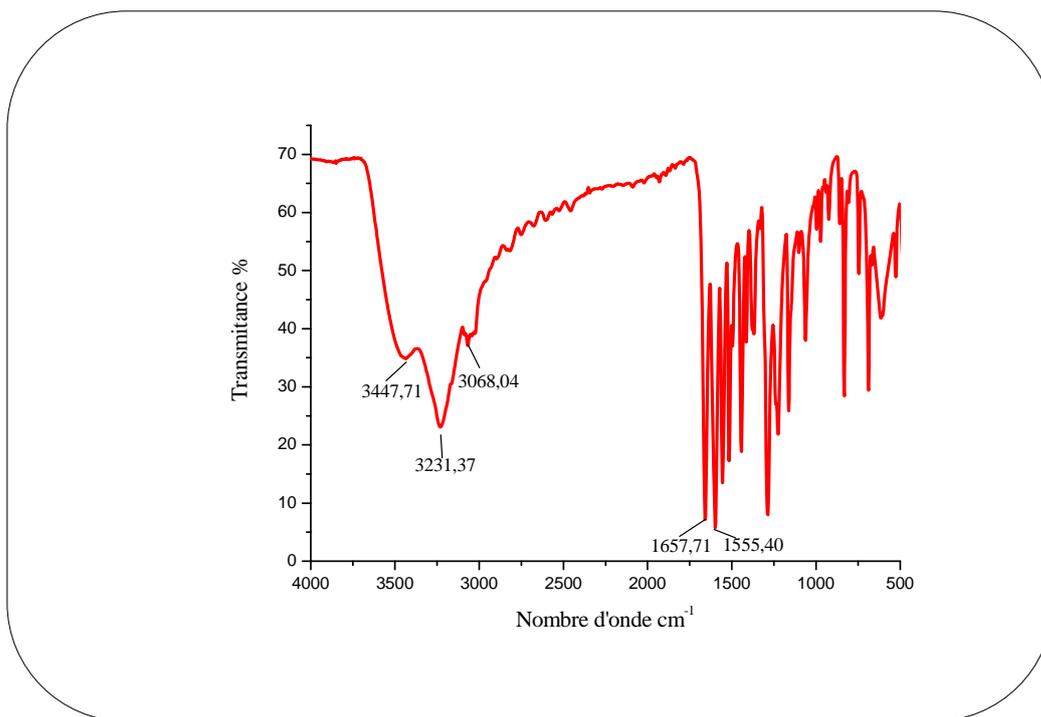
ANNEXE III



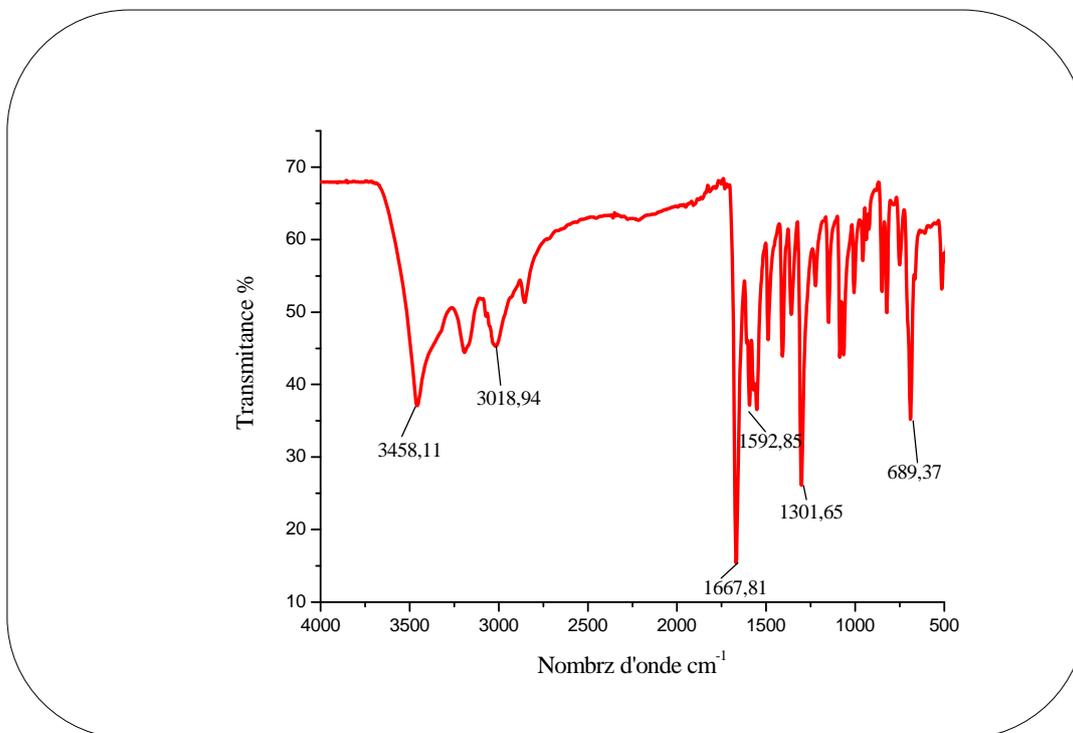
Spectre IR du composé 3a



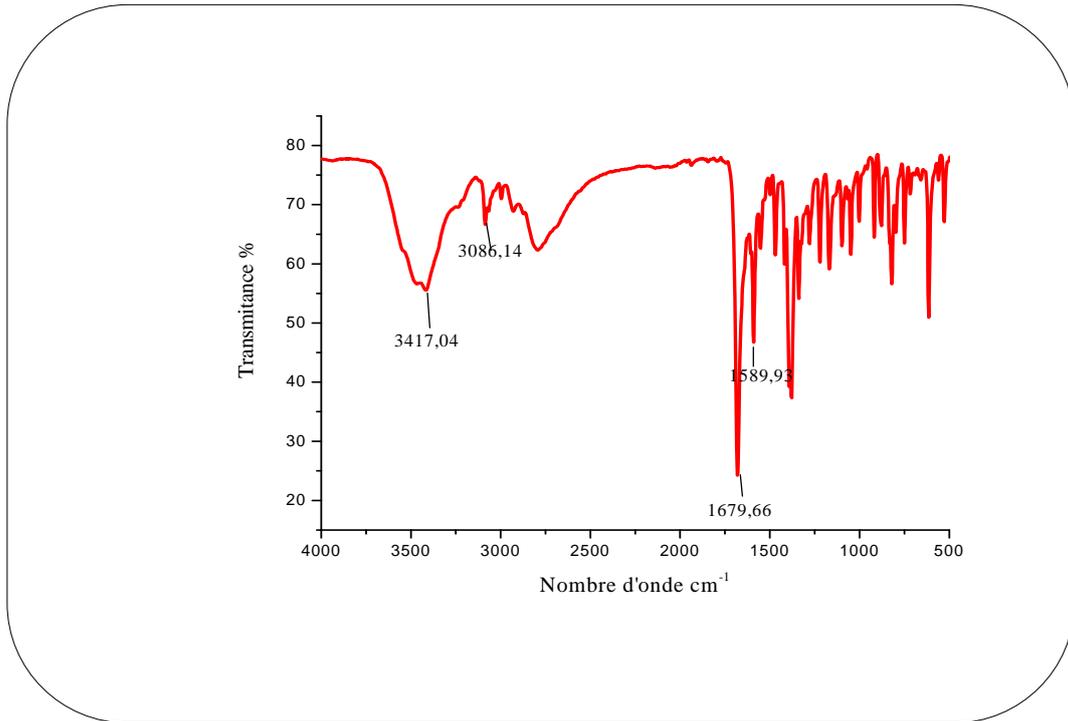
Spectre IR du composé 3b



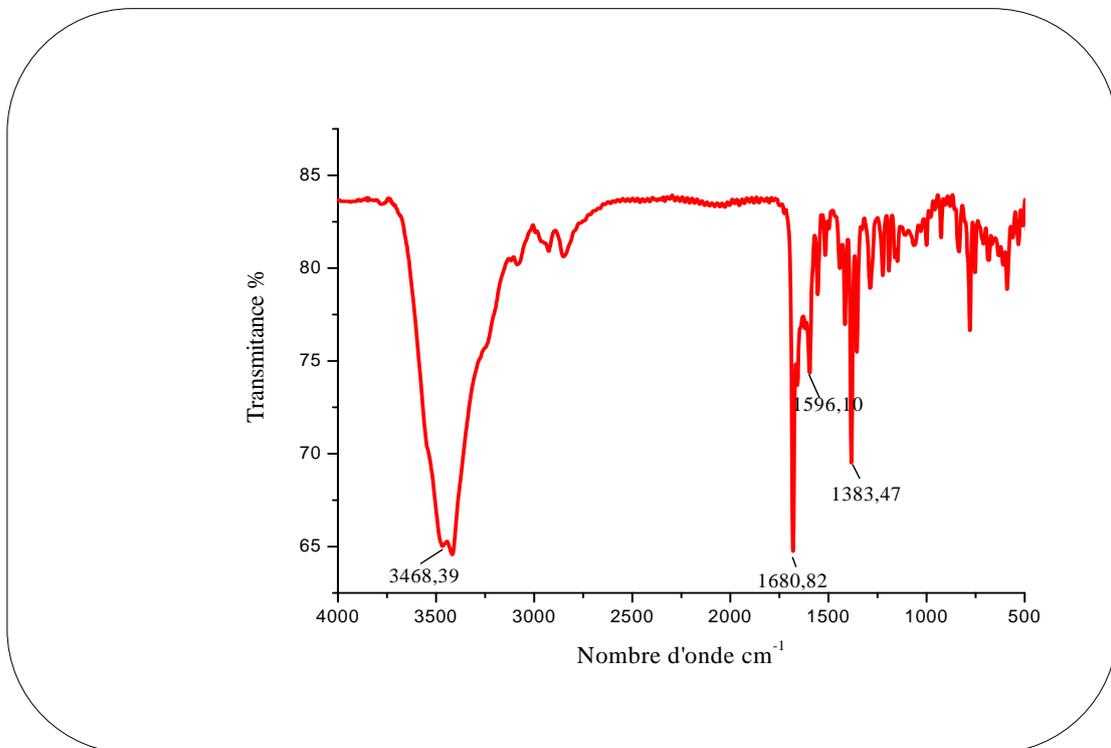
Spectre IR du composé 3c



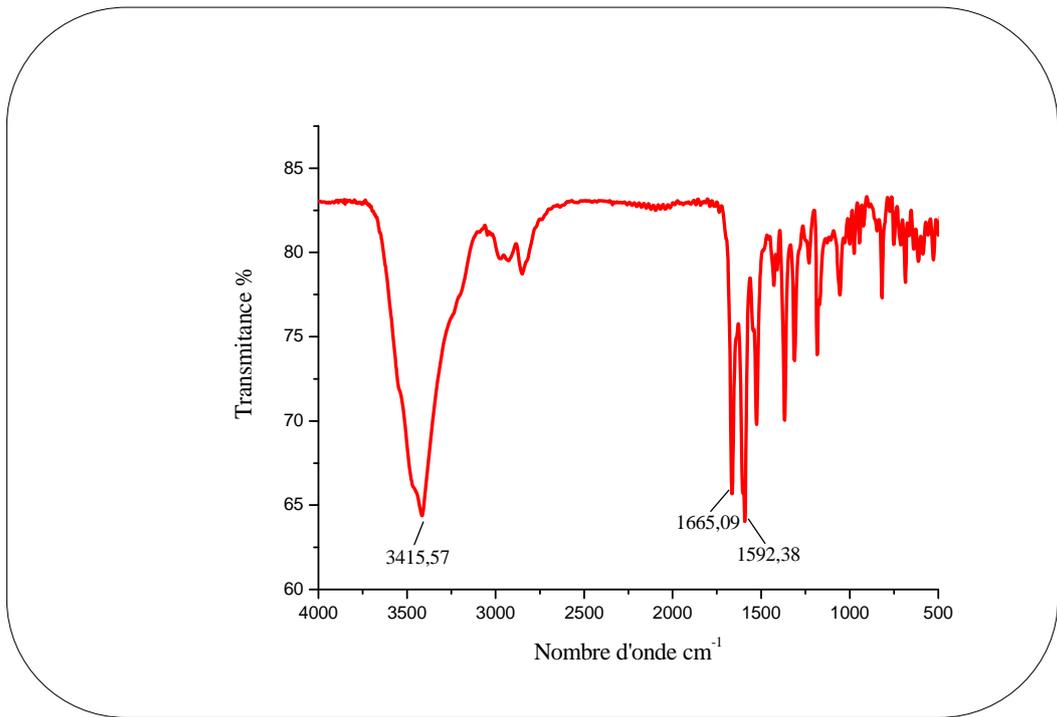
Spectre IR du composé 3d



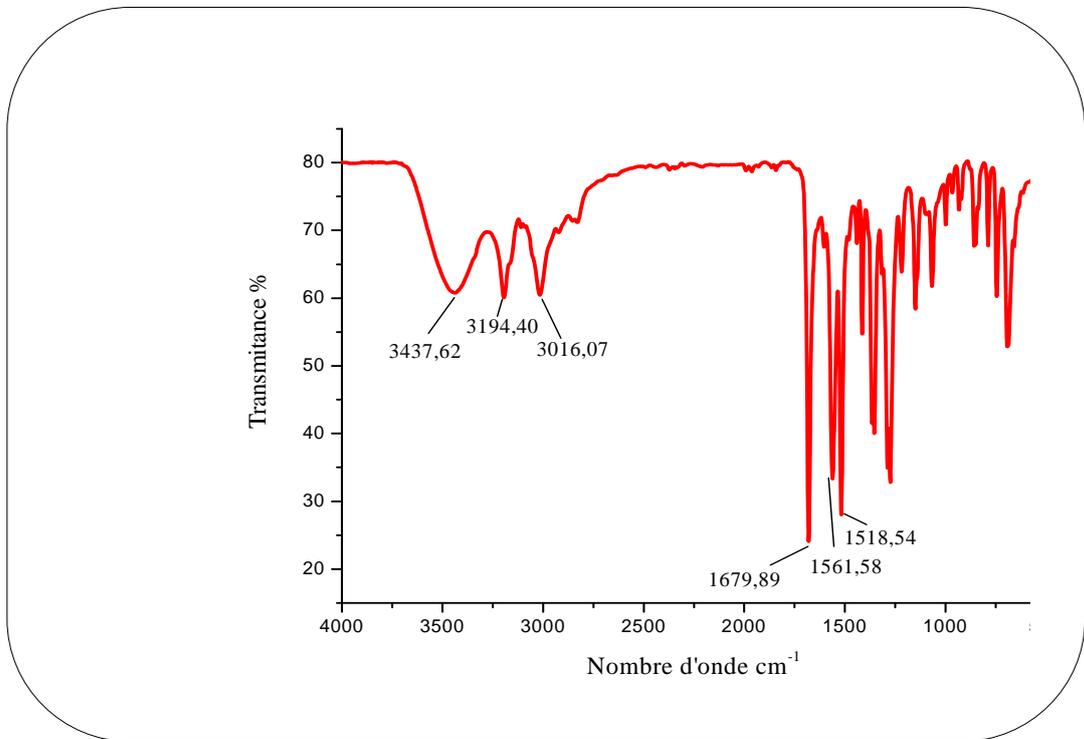
Spectre IR du composé 3e



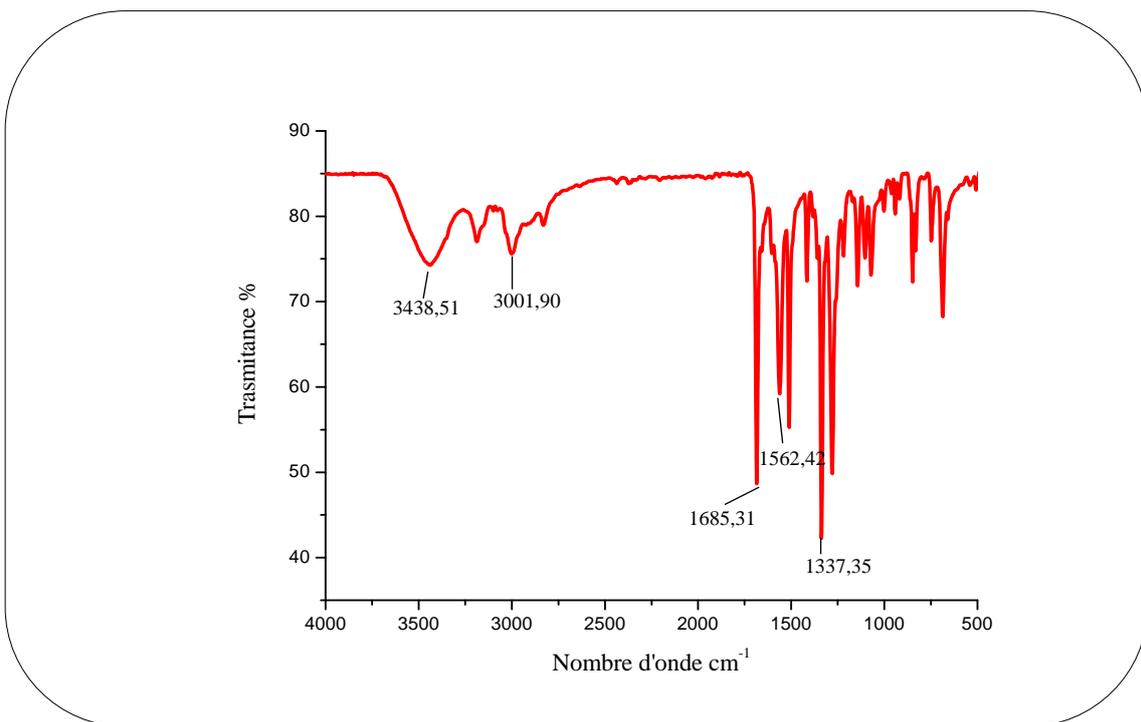
Spectre IR du composé 3f



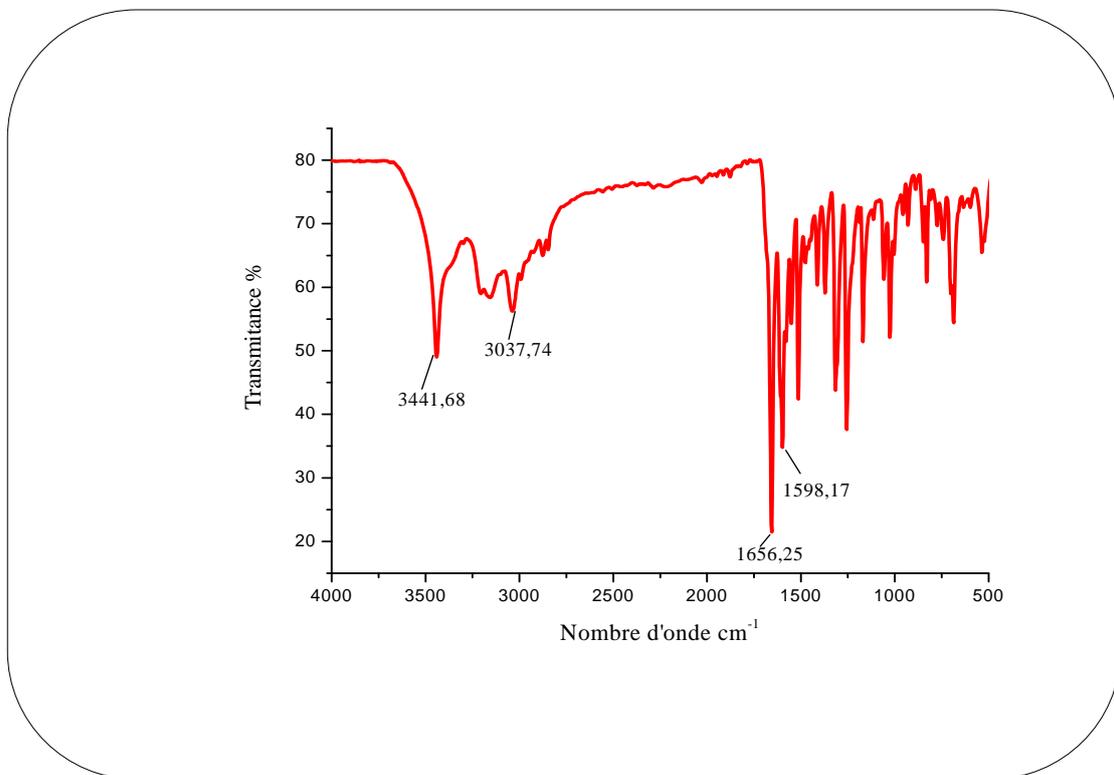
Spectre IR du composé 3g



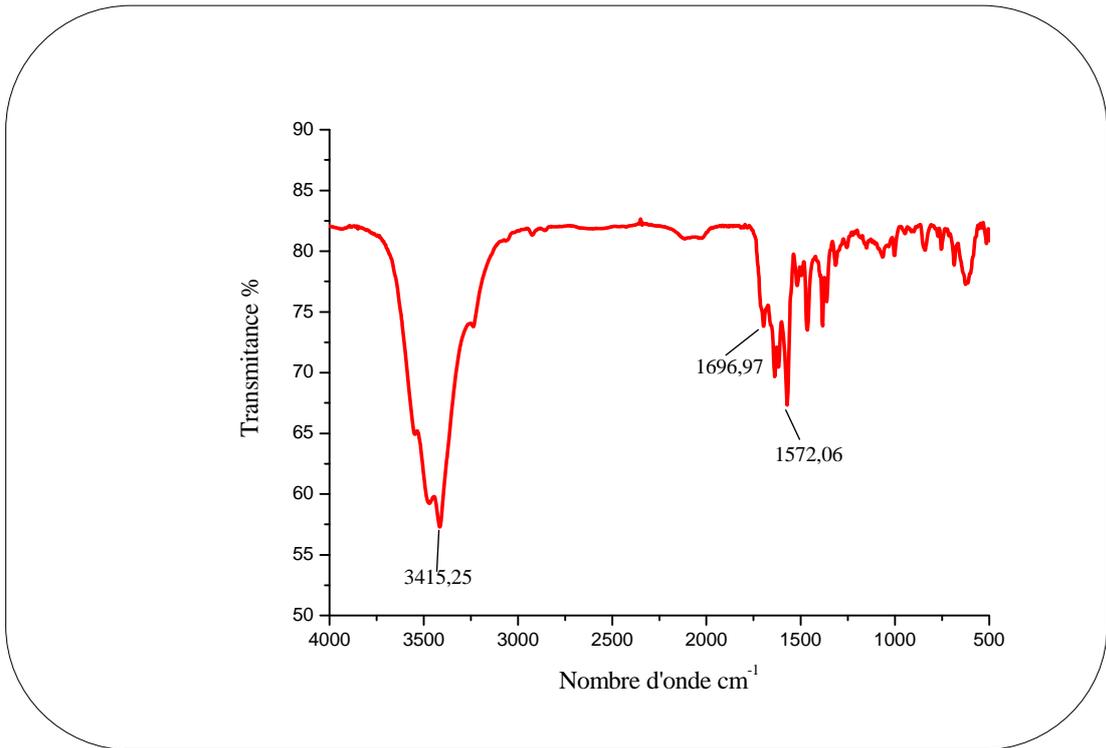
Spectre IR du composé 3h



Spectre IR du composé 3i

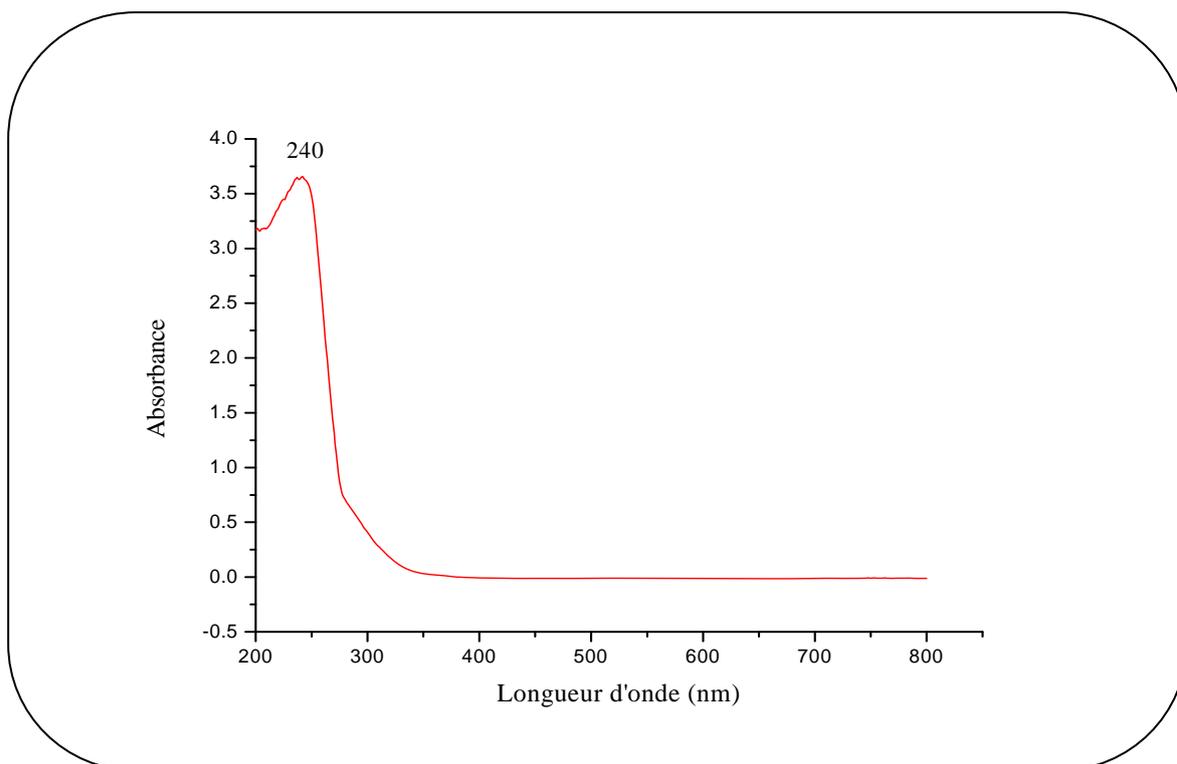


Spectre IR du composé 3j

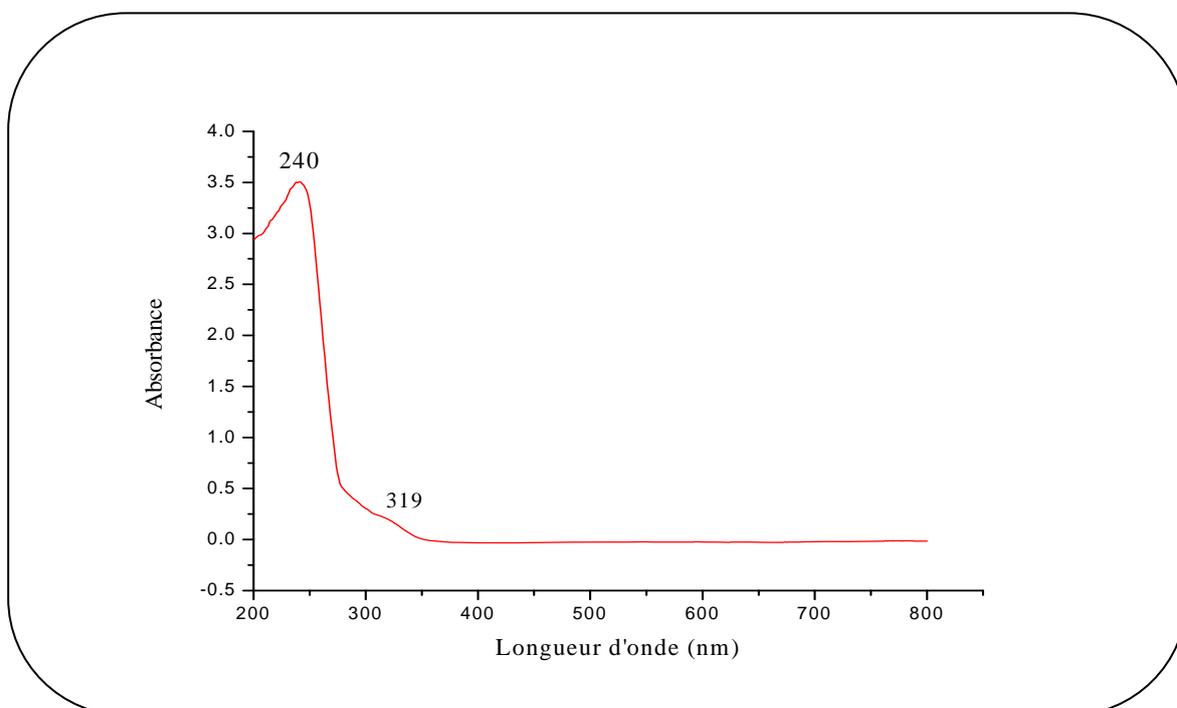


Spectre IR du composé 5

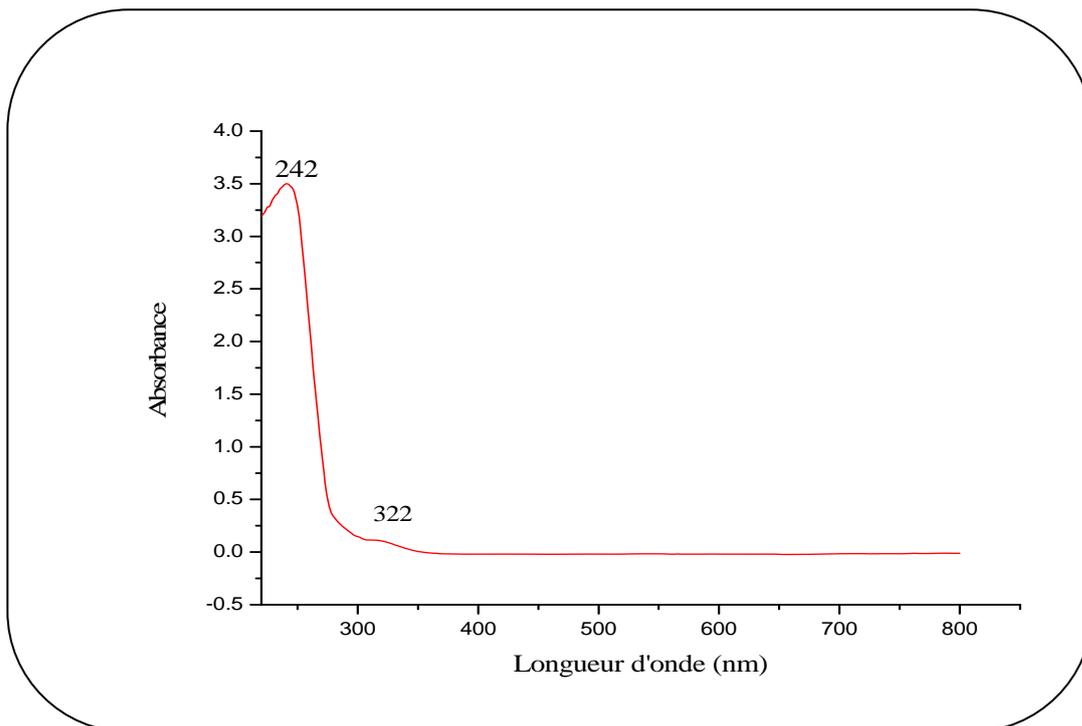
ANNEXE IV



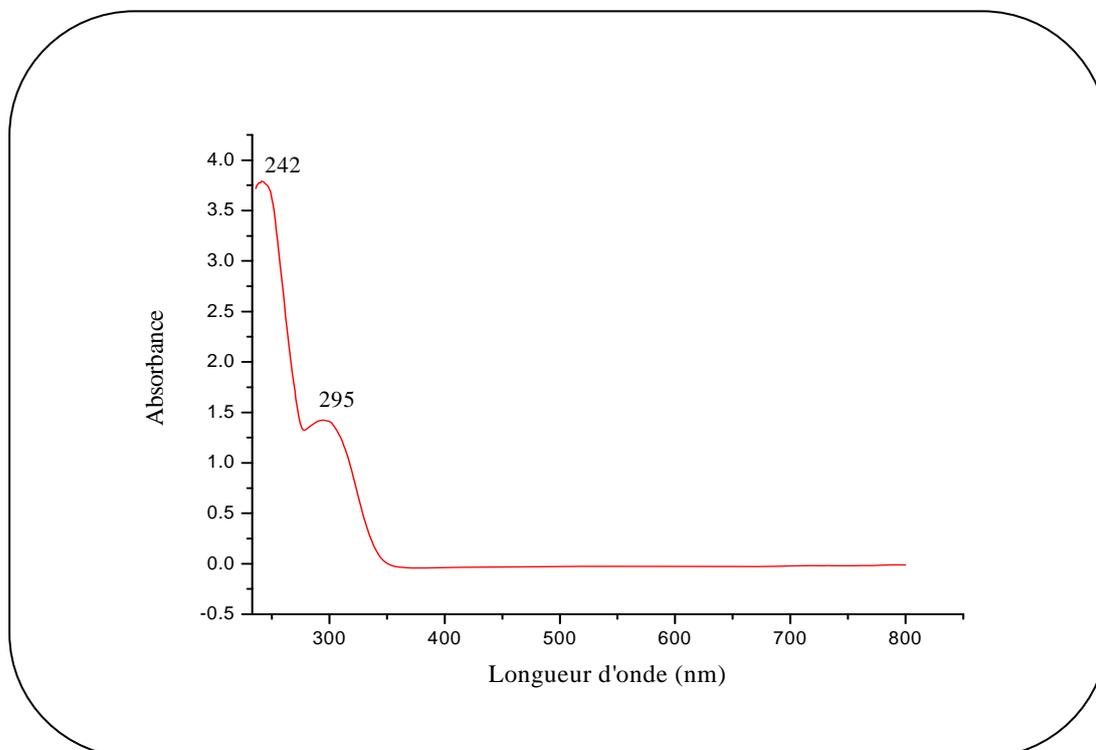
Spectre UV-Visible du composé 3a



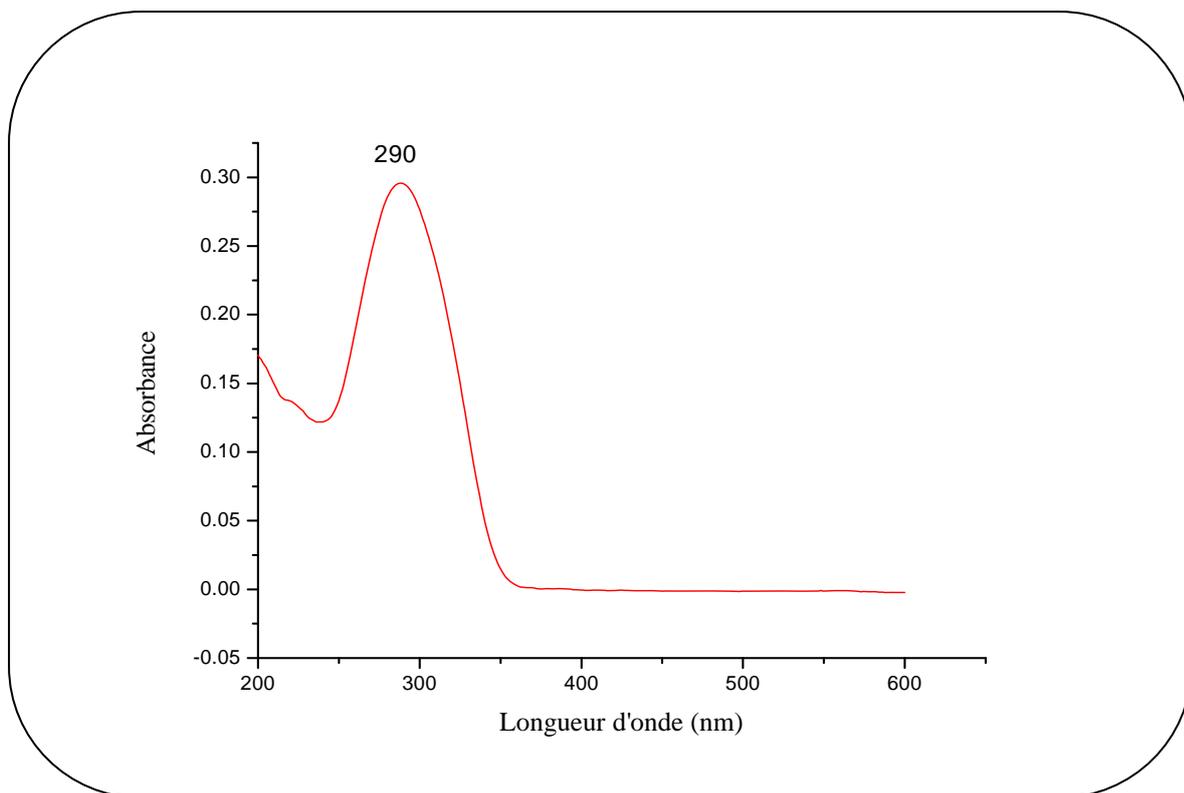
Spectre UV-Visible du composé 3b



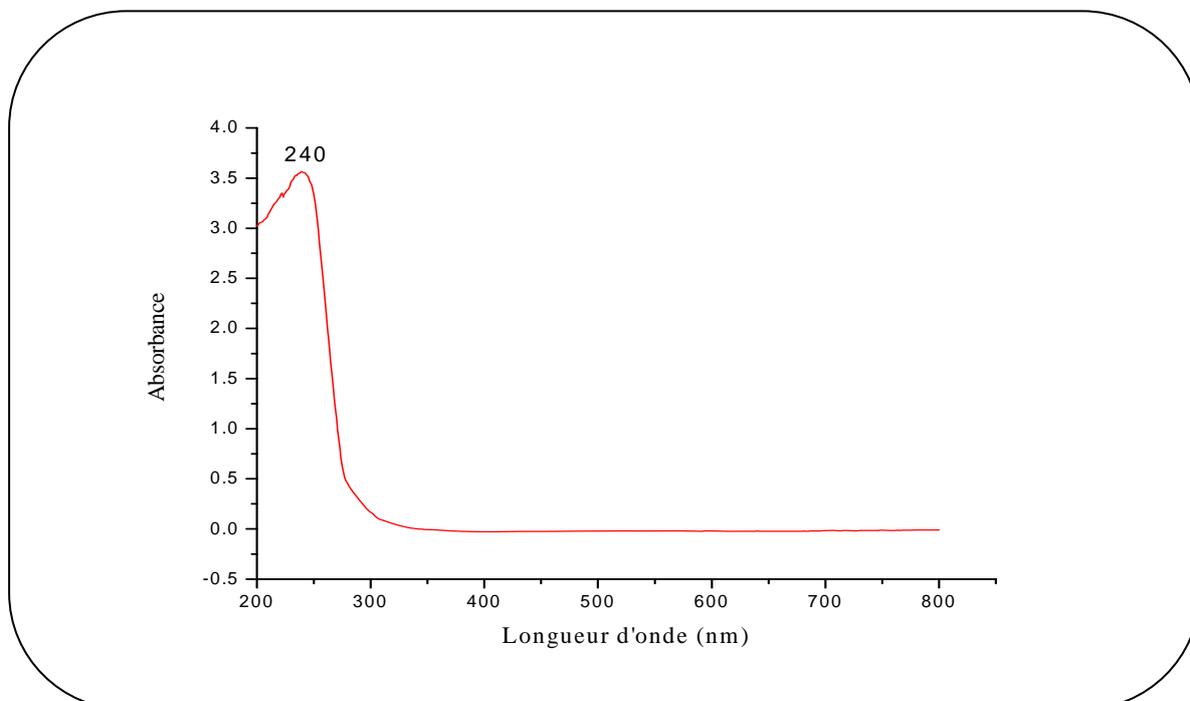
Spectre UV-Visible du composé 3c



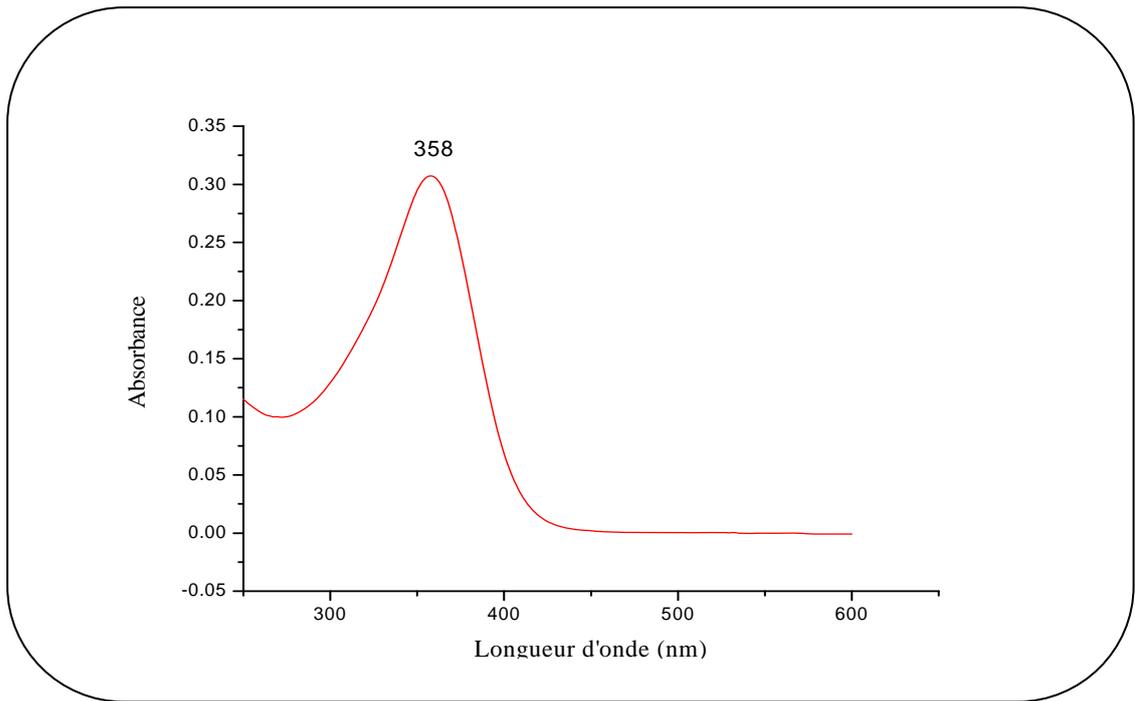
Spectre UV-Visible du composé 3d



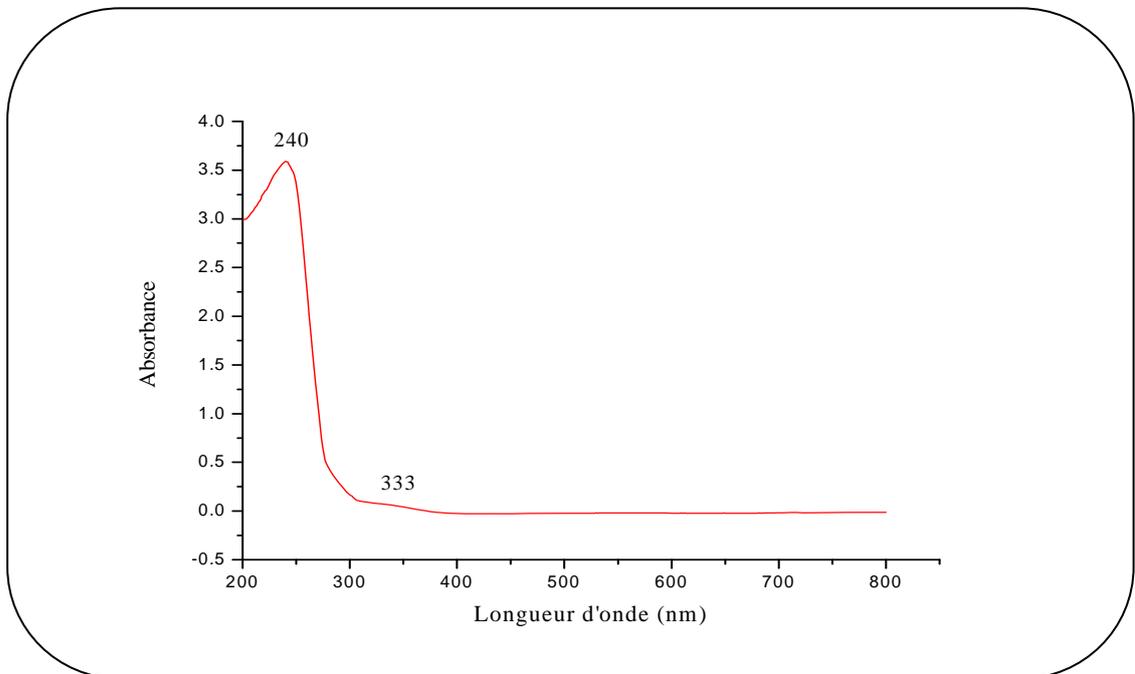
Spectre UV-Visible du composé 3e



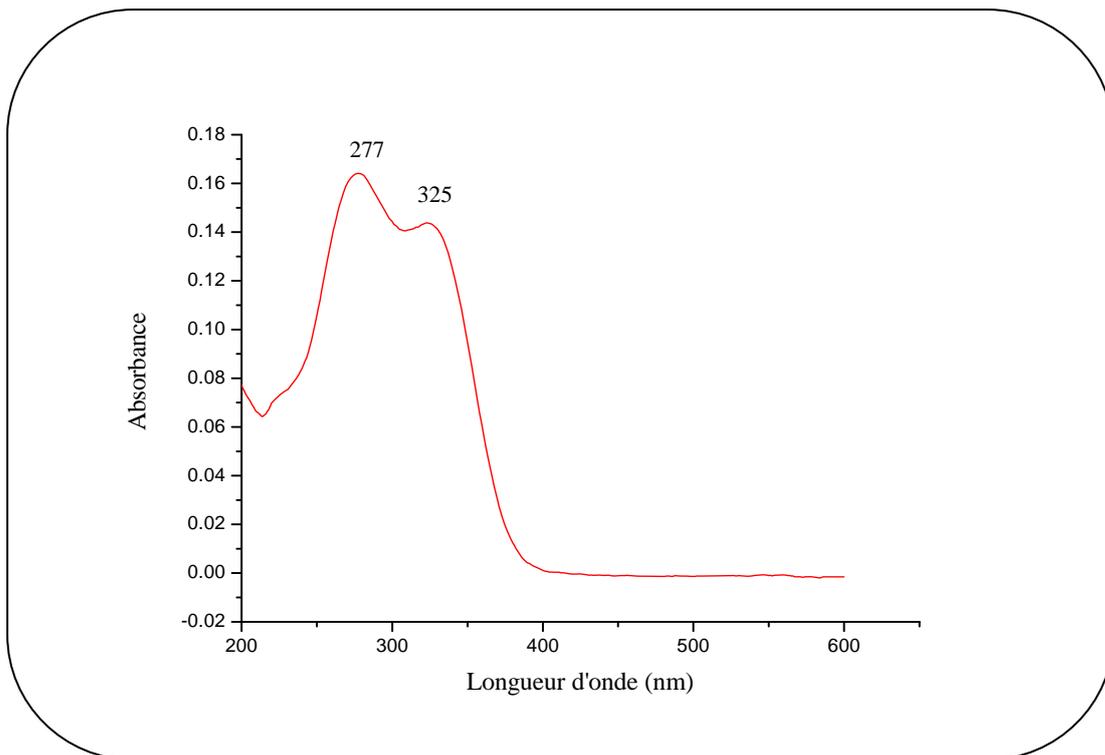
Spectre UV-Visible du composé 3f



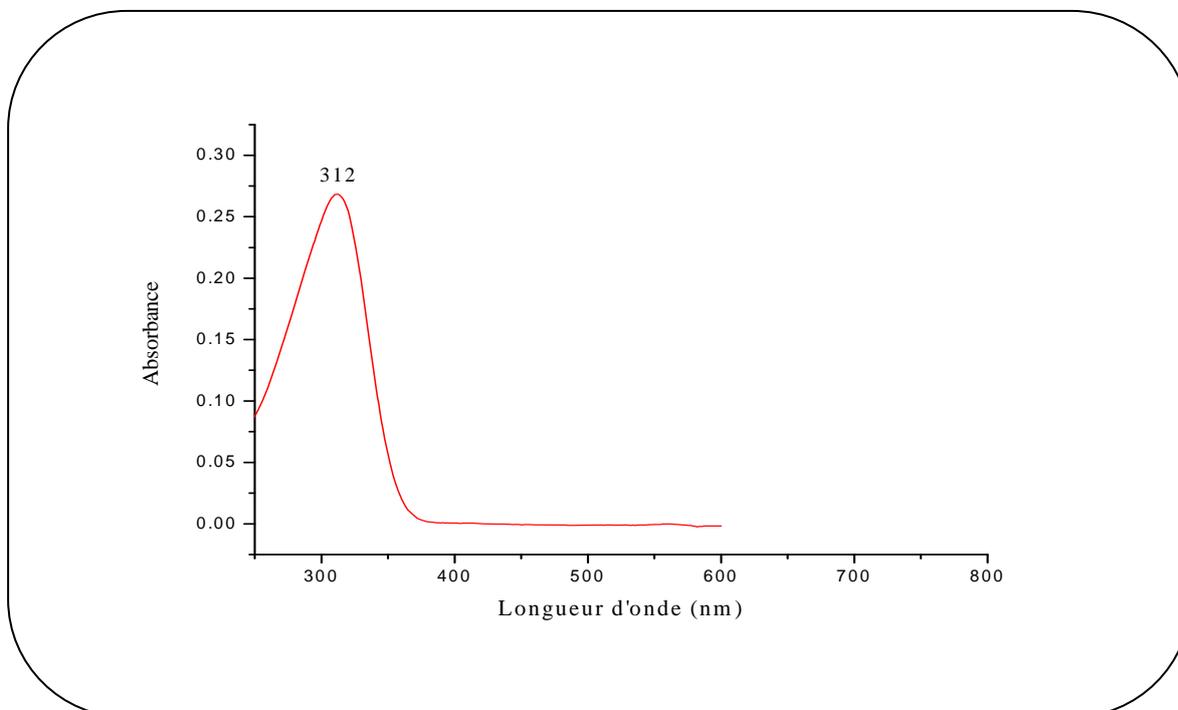
Spctre UV-Visible du composé 3g



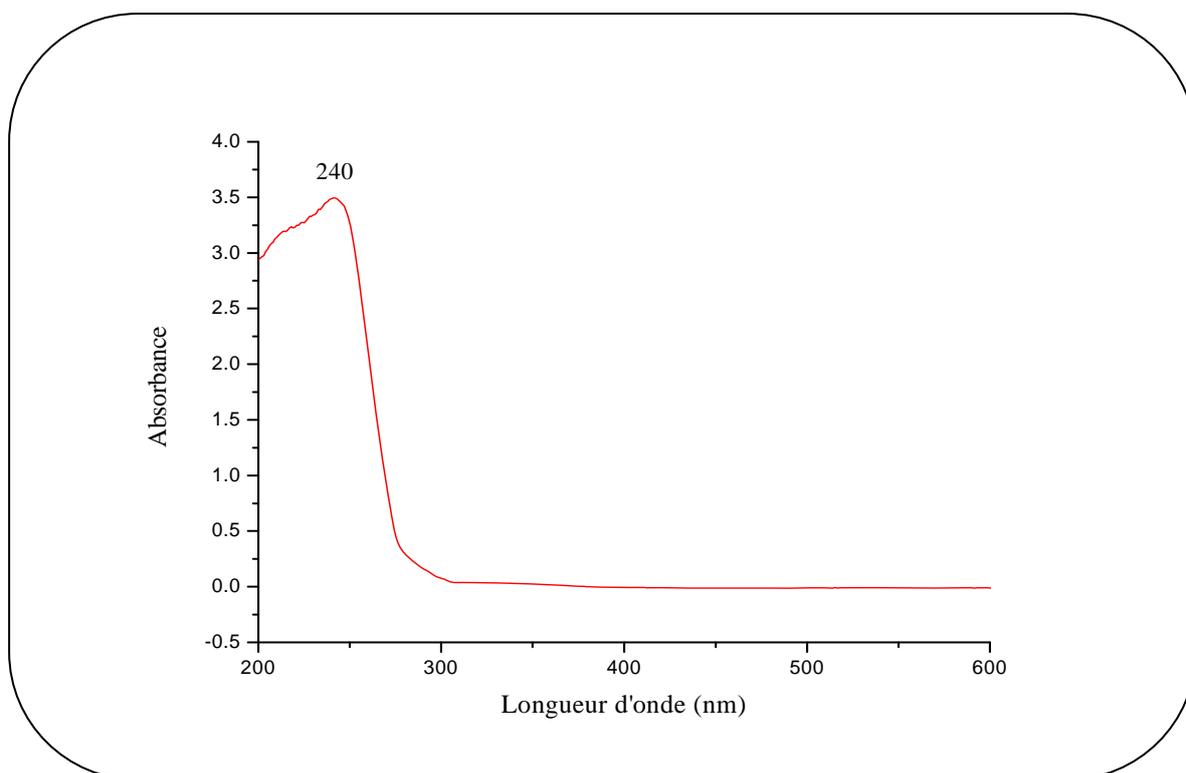
Spctre UV-Visible du composé 3h



Spectre UV-Visible du composé 3i



Spectre UV-Visible du composé 3j

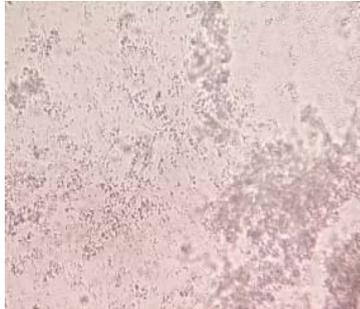


Spectre UV-Visible du composé 5

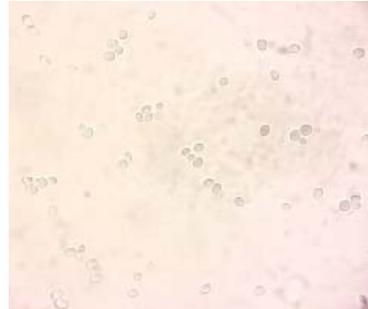
ANNEXE V



E. coli



S. aureus

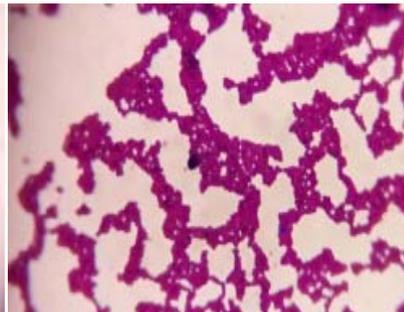


Candida sp

Résultats des tests à l'état frais



E.coli

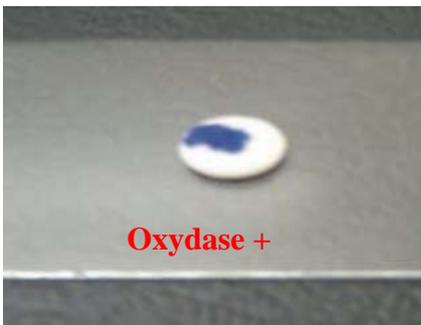


S.aureus



P. aeruginosa

Résultats de coloration de gram des souches



Oxydase +



Oxydase -

Résultats des testes oxydases



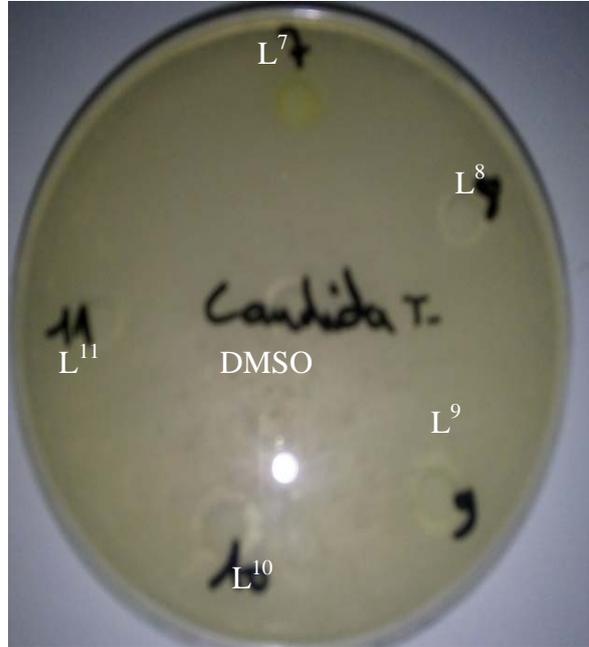
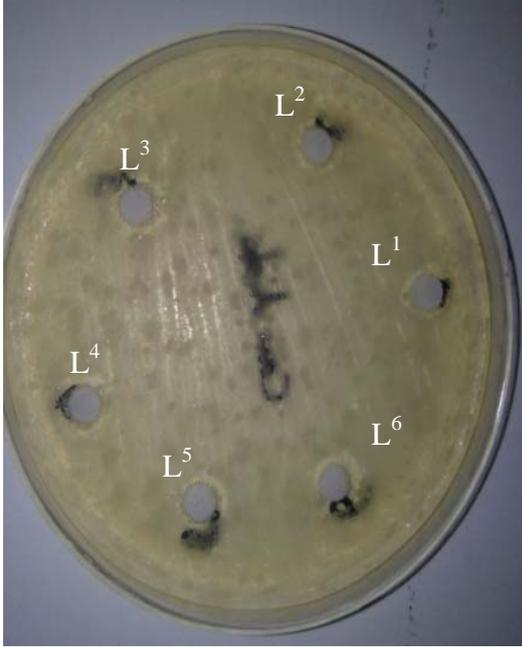
Résultats du test catalase



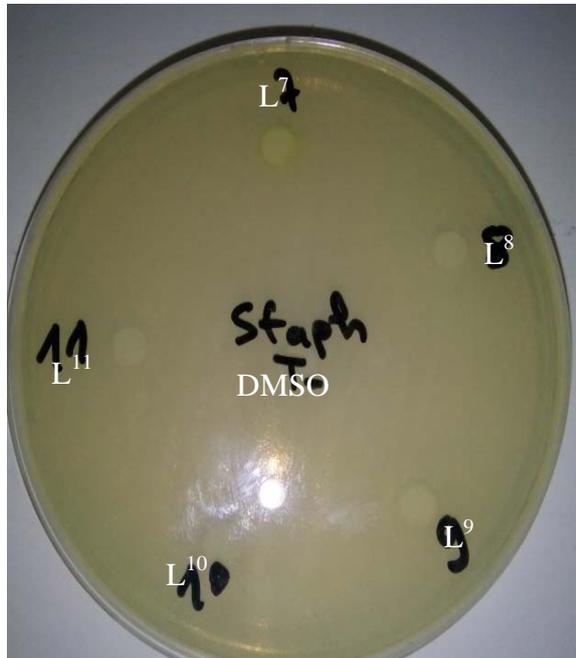
Résultats du test coagulase



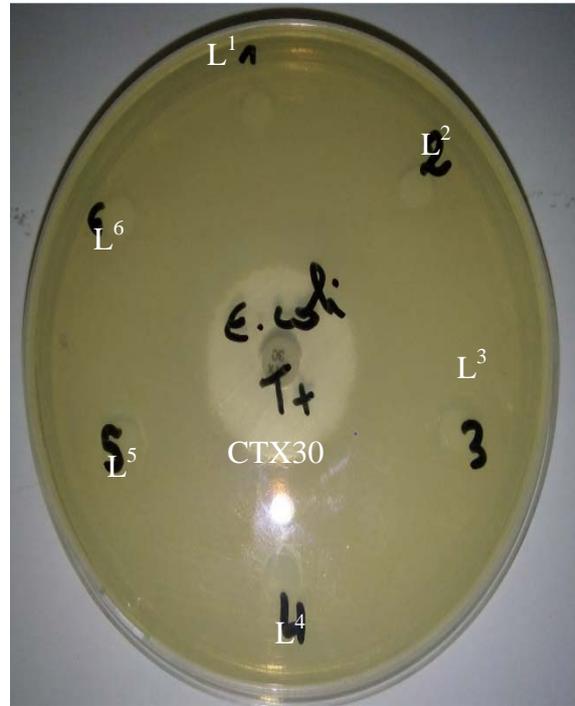
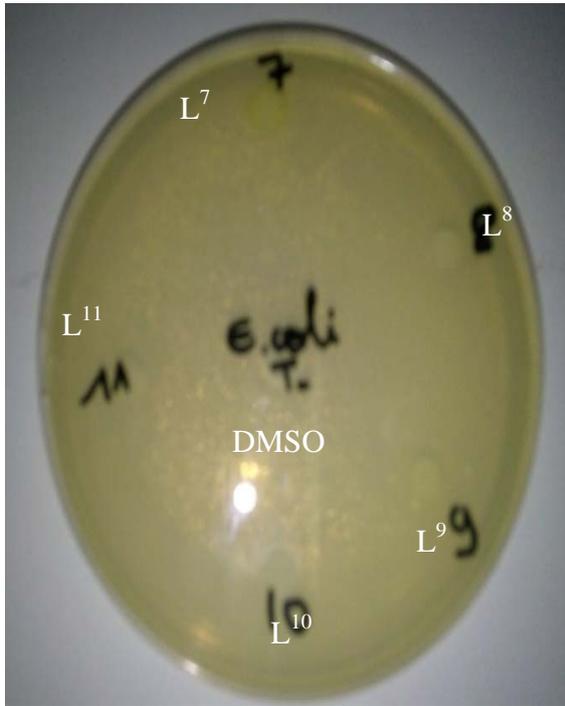
Résultats de la galerie biochimique de la souche E.coli ATCC 25922 et P. aeruginosa ATCC27853



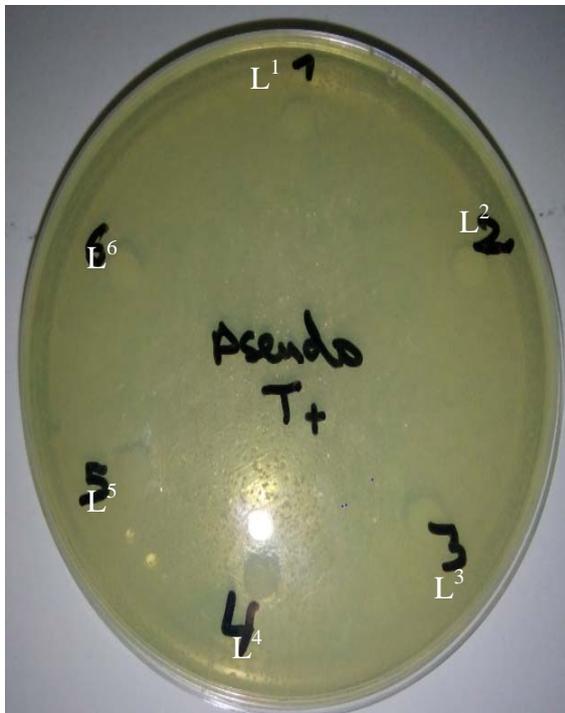
Candida sp



Staphylococcus aureus (ATCC 25923)

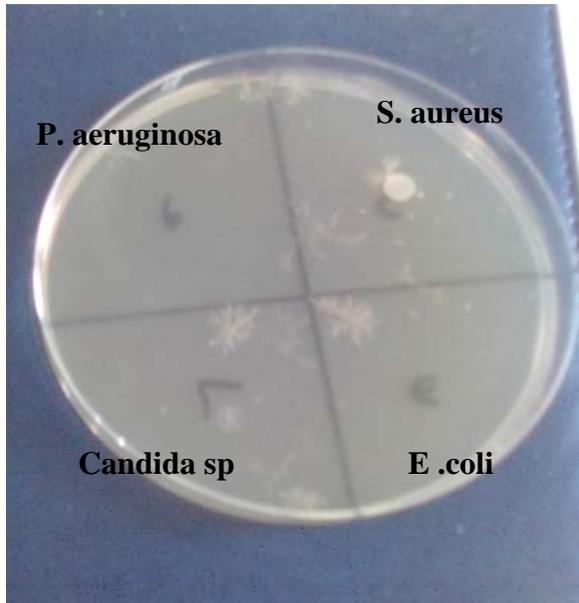


Escherichia coli (ATCC 25922)

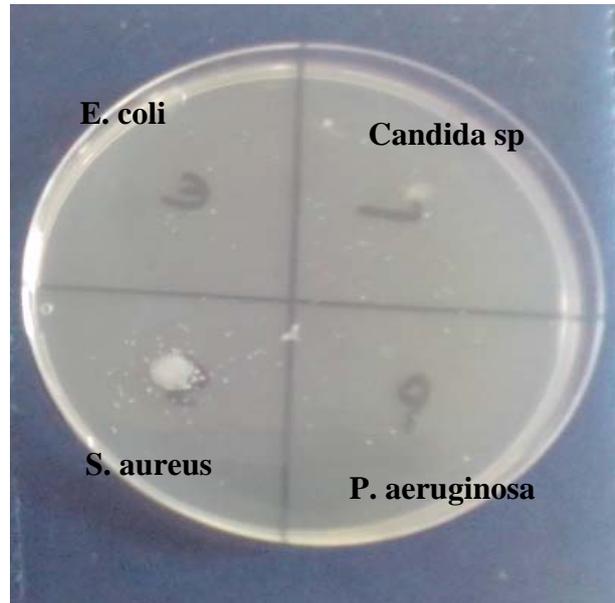


Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853)

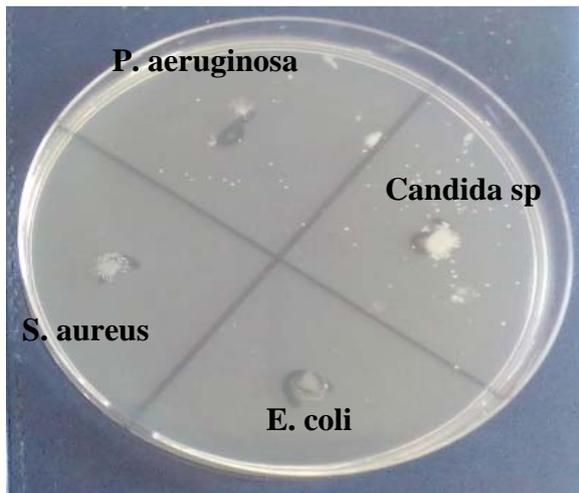
Résultats des tests de sensibilité des souches bactériennes aux composés testés.



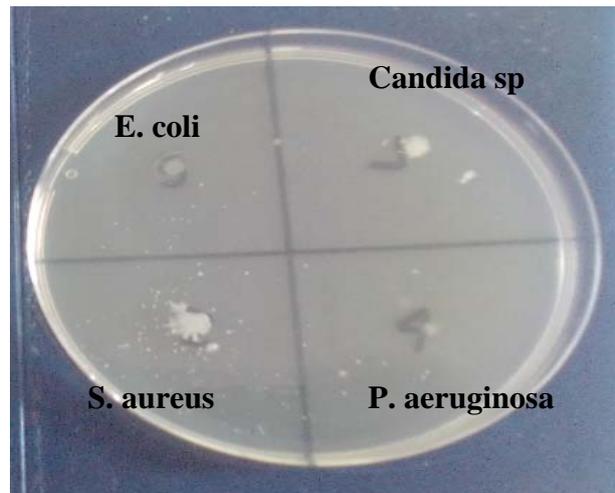
C₁



C₂



C₃



C₄

Résultats de la CMI du composé L¹⁰ de différentes concentrations