

N° d'ordre :

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

Conception et synthèse des pyrazolines à effet thérapeutique

Présenté par : M^{elle} **Bouchiba yasmina** *et* M^{elle} **Tahloult Nihad**

Soutenu publiquement, le 02 / 07 / 2019, *devant le Jury composé de :*

Mr	KADRI	Abdelaziz	Professeur	PRESIDENT
M ^{me}	OUKACHA	Djamila	Maître de conférence A	ENCADREUR
M ^{me}	BENAZZOUZ	Amina	Maître de conférence B	EXAMINATRICE
M ^{me}	IGIL AHRIZ	Karima	Maître de conférences B	EXAMINATRICE

REMERCIEMENTS

On tient à remercier, Dieu le tout puissant pour nous avoir donné de la force et de la patience afin de mûrir ce travail à sa fin.

Ce travail a été réalisé conjointement au laboratoire de Chimie organique du département de chimie, faculté des sciences de l'université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou.

*Nous tenons à exprimer nos profondes gratitudee à Madame **Djamila OUKACHA-HIKEM**, Maître de conférences A à l'université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou pour son encadrement, ses encouragements, ses conseils, sa compréhension, sa disponibilité et tous les efforts qu'elle a déployé afin de mener à terme ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos plus chers et vifs remerciements à Madame **Amina Benazzouz-Touami** Maître de conférence B à l'université Mouloud Mammeri de Tizi- pour sa précieuse aide qu'elle a su nous apporter durant ce travail.*

*Nous remercions aussi chaleureusement Madame **Karima Ighilahriz-Boubchir**, Maître de conférence B à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour nous avoir accueillis au sein du laboratoire de microbiologie et pour tous ces conseils avisés durant toute la durée du stage.*

*Nous adressons nos remerciements les plus chaleureux à Monsieur **Kadri Abdelaziz** pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance. Soyez assurée Monsieur, de toute notre estime et notre profond respect.*

Nous n'oublions pas de remercier tous les membres du laboratoire de chimie organique pour leurs aides qu'ils ont bien voulu nous accorder au cours des jours de stage.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont collaboré de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

*C'est avec profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce
modeste travail*

Ames chers parents

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour ex-
primer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez
cessé de me donner depuis ma naissance.*

*Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour
puisse dieu, le tous puissant, vous préserver et vous accorder la
santé et une longue vie.*

*A mes très chers frères Maḥdī et Hakīm et mes très chères
sœurs nesrine, fazia Lydiā, Samīra et lya*

*Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour
et l'affection que je porte pour vous. Mes anges gardiens et mes
fidèles compagnons dans les moments les plus délicats de cette vie
mystérieuse. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de
bonheur, de santé et de réussite.*

A mes chères tantes

Ames chers ancies

Ames chers cousins

A Mon très cher binôme Yasmīna, ainsi qu'à toute sa famille .

A Mes amis surtout Sakīna et kamīliā .

Nihad

Dédicace

Ames chers parents

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour puisse dieu, le tous puissant, vous préserver et vous accorder la santé et une longue vie.

A mes très chers frères Yacine, Ferhat, mohammed et à ma très chère sœur Djidjigua.

Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Mes anges gardiens et mes fidèles compagnons dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mes nièces Alicia, Ilma, Vanissa et Melina que j'aime si fort.

A mon précieux neveu Menned.

A toute ma famille

A Mon très cher binôme Nihad, ainsi qu'à toute sa famille .

A tous Mes amis surtout Sakina

Yasmina

INTRODUCTION GENERALE	1
-----------------------------	---

CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.CHALCONES.....	2
1.1.1.activité anti cancéreuse	2
1.1.2.activité inflammatoire	3
1.1.3.activité anti oxydante	3
1.1.4. activité anti bactérienne	4
1.2.Exemple de médicaments contenant l'unité chalcones.....	4
1.3. Préparation des chalcones	5
1.3.1. Synthèse organique de la chalcone par condensation de Claisen-Schmidt.....	5
2-PYRAZOLINE	5
2.1-Effets pharmacologique des pyrazolines	5
2.1.1-Effet antiagrégant plaquettaire	5
2.1.2-Effets digestifs	6
2.1.3.Effets rénaux	6
2.2. Exemple de médicaments contenant l'unité pyrazolines	6
2.3. SYNTHÈSE DES PYRAZOLINES	

CHAPITRE 2 : PARTIE EXPERIMENTALE

1 .MATERIELS ET METHODES	7
1.1.Matériels	7
1.2. Appareillage.....	7
2..MANIPULATIONS.....	7
2.1.Synthèse des chalcones 2a-g	7
2.2. Synthèse des pyrazolines avec isoniazide	8
2.3.Synthèse des pyrazolines avec 2-hydroxybenzohydrazide.....	8
3.EVALUATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE	8
3.1.Activité antioxydante	8
3.1.1.Mode opératoire	8
3.2.Activité antibactérienne	9
3.2.1.Origine et choix des souches bactériennes utilisés	9
3.2.2.Réalisation de l'antibiogramme	9

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

1.INTRODUCTION	10
2. SYNTHÈSE DES CHALCONES	10
2.1. Etude par chromatographie sur couche mince des chalcones 2a-g	12
2.2. Etude par spectroscopie infrarouge des chalcones 2a-g	13
2.3.Mécanisme de formation des chalcones 2a-g	14
3.SYNTHÈSE DES PYRAZOLINES A PARTIR DES CHALCONES 2a-g	16
3.1. Etude par chromatographie sur couche mince	17
3.2. Etude par spectroscopie UV/visible 3a,d et 4a,c,d,f	18
3.3. Etude par spectroscopie infrarouge des pyrazolines	19
3.4. Mécanisme de formation des pyrazolines	21
4.EVALUATION BIOLOGIQUE DES PRODUITS SYNTHÉTISÉS	23
4. 1.Activité antioxydante	23
4.1.1. Principe	23
4.1.2. Résultats de l'activité antioxydante	24
4.1.3. Détermination de la CE50 ou IC50.....	27
4.2.Activité antibactérienne	28
.....	
5.CONCLUSION	29
.....	
CONCLUSION GÉNÉRALE	30
REFERENCE	31
ANNEXE.....	34

Tableau 2.1 : Appareillage du laboratoire utilisé	7
Tableau 3.1 : Rendements, point de fusion et aspect des chalcones 2a-g	11
Tableau 3.2 : Rapports frontaux des composés 2a-g	12
Tableau 3.3 : Résultats de spectroscopie IR des composés 4a-g	13
Tableau 3.4 : Caractéristiques physico-chimique des pyrazolines 3a-g et 4a-f	16
Tableau 3.5 : Rapports frontaux des composés 3a-g et 4a-f	17
Tableau 3.6 : Résultats de la spectrophotométrie UV-Visible des composés 3a,d et 4a-f	18
Tableau 3.7 : Résultats de spectroscopie IR des composés 3a-g et 4a-f	18
Tableau 3.8 : Méthodes les plus utilisés pour mesurer l'activité antioxydante	22
Tableau 3.9 : Pourcentage d'inhibition du radical de DPPH• des composés synthétisés	24
Tableau 3.10 : Valeurs des IC50% des composés 3a-e , 4a-f	27
Tableau 3.11 : Diamètre des zones d'inhibition en mm des composés 3a-f et 4a-f	28

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1.1: Synthèse des chalcone par réaction des Claisen-Schmidt.....	5
Schéma1.2 : Formation de pyrazoline.....	7
Schéma 3.1 : Réaction de synthèse des chalcones 2a-g	8
Schéma 3.2 : Mécanisme de formation des chalcones 2a-g	14
Schéma 3.3 : Synthèse des pyrazolines 3a-g et 4a-g	15
Schéma 3.4 : Mécanisme de formation des pyrazolines 3a-g et 4a-f	20
Schéma 3.5 : Mécanisme générale de réduction de DPPH.....	21

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Noyau de base des chalcones	2
Figure 1.2 : Structure des chalcones anticancéreuses	3
Figure1.3 : Structure des chalcones anti inflammatoires.....	3
Figure 1.4 : Structure de la phlorétine	4
Figure 1.5 : Structure de l'héspéridine.....	4
Figure 1.6 : Noyau de pyrazoline.....	5
Figure 1.7 : Structures de quelque médicament de noyau pyrazolique.....	6
Figure 3.1 : Densité Optique en fonction de la concentration des composés 3a, d, e et 4a-d	22
Figure 3.2 : Densité optique en fonction de la concentration du l' AA	22
Figure 3.3 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH [•] du composé 3a	23
Figure 3.4 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH [•] du composé 3d	23
Figure 3.5 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH [•] du composé 3e	23
Figure 3.6 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH [•] du composé 4a	23
Figure 3.7 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH [•] du composé 4b	24
Figure 3.8 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH [•] du composé 4d	24
Figure 3.9 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH [•] du l' AA	24
Figure 3.10 : Valeurs d'IC50 des composées testées comparativement à celui de L'acide ascorbique.....	25
Figure 3.11 : Diamètre des zones d'inhibition des composés 3a-g et 4a-f	26
Figure3.12 : Diamètre des zones d'inhibition des composés 4a-f et 3a-g	25
Figure3.13 : Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé 3a	33
Figure3.14 : Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé 3d	33

LISTE DES FIGURES

Figure 3.15: Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé 4b	33
Figure 3.16: Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé 4a	33
Figure 3.17: Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé 4c	34
Figure 3.18: Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé 4d	34
Figure 3.19: Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé 3e	34
Figure 3.20: Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé 4e	35
Figure 3.21: Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé 4f	35
Figure 3.22 : Spectre UV-Visible du composé 3a dans le DMSO	35
Figure 3.23 : Spectre UV-Visible du composé 3d dans le DMSO	35
Figure 3.24 : Spectre UV-Visible du composé 4a dans le DMSO	36
Figure 3.25 : Spectre UV-Visible du composé 4c dans le DMSO	36
Figure 3.26 : Spectre UV-Visible du composé 4d dans le DMSO	36
Figure 3.27 : Spectre UV-Visible du composé 4f dans le DMSO	36
Figure 3.28 : Spectre IR du composé 2c	37
Figure 3.29 : Spectre IR du composé 2a	37
Figure 3.30 : Spectre IR du composé 4a	38
Figure 3.31 : Spectre IR du composé 4c	38

LISTE DES ABREVIATIONS

AA	Acide Ascorbique
Abs	Absorption
Cp	Composé
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
<i>E.Coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
Fig	Figure
IC50	Concentration Inhibitrice médiane
I.R	Infra Rouge
Max	Maximum
Rdt	Rendement
Rf	Rapport frontal
UV-Visible	Ultra-violet/visible



**INTRODUCTION
GENERALE**

Depuis le début de la recherche pharmaceutique, les produits d'origine naturelle ont été pour les chimistes une source d'inspiration pour la création de nouvelles molécules via la synthèse chimique. Le succès qu'a connu l'industrie pharmaceutique dans les années 40 est l'un des points de référence dans l'histoire de la chimie de synthèse organique [1].

Un très grand nombre de substances naturelles et synthétiques ont de structures hétérocycliques.

Les hétérocycles à cinq chaînons en particulier les composés azotés sont des composés importants en chimie organique. Ils sont rencontrés dans une grande variété de produits bioactifs naturels ou d'origine synthétique, et ce sont également des intermédiaires très intéressants en synthèse organique. Comme les pyrazolines qui ont présenté d'intéressantes propriétés fongicides, herbicides et insecticides[2]. Des activités anti-inflammatoires[3], Antivirales, antioxydante et antibactériennes ont été également évaluées. En raison de leurs large spectres d'activités biologique nous nous sommes intéressés à la synthèse d'une nouvelle série de pyrazoline à partir des chalcones utilisé comme intermédiaires réactionnel [4].

Ce travail se situe à l'interface entre la Chimie et la Biologie. Il concerne plus précisément la synthèse des pyrazolines à partir des chalcones et l'évaluation de leurs activités antioxydante et antibactérienne. Il s'articule autour de trois chapitres :

Le premier chapitre, est porté sur l'étude bibliographique sur les chalcones et pyrazolines.

Le deuxième chapitre est consacré à la synthèse et la caractérisation d'une série de chalcones et de pyrazoline ainsi que leurs activités antioxydante et antibactérienne.

Le troisième chapitre consiste à décrire les protocoles expérimentaux des composés préparés ainsi que les différents matériels et techniques spectroscopiques utilisés.

Nous terminerons par une conclusion générale et quelques perspectives.



**CHAPITRE 1: ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUES**

1. CHALCONES

Les chalcones occupent actuellement une place importante dans le domaine de la chimie organique en tant qu'intermédiaire de synthèse d'hétérocycles tels que les pyrazolines et les thiazolyl-pyrazolines et les pyrimidines et en thérapeutique en tant que produit biologiquement actif, elles sont la base de nombreux principes actifs utilisés dans les médicaments. L'origine de ces composés peut être naturelle, extraits de plantes, hémisynthétique ou totalement synthétique [5].

Les Chalcones sont des énones aromatiques qui appartiennent à la famille des flavonoïdes, avec un cycle ouvert [6], leur structure de base comporte deux cycles benzéniques (**a** et **b**) et une entité α, β -insaturée (**Figure 1.1**).

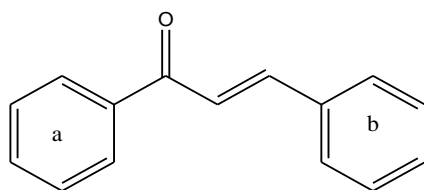


Figure 1.1 : Noyau de base des chalcones

Le cycle (**a**) doit contenir un groupement déficitaire en électrons comme les groupements alkyles (éthyle, méthyle,...) afin d'avoir une meilleure activité biologique.

Le cycle (**b**) doit contenir des groupements riches en électrons attracteurs comme les halogènes, le groupement nitro et le groupement cyano pour donner des activités intéressantes. La position ortho de cycle (**b**) améliore également l'activité, mais par rapport à la position para est faible [7].

Les chalcones peuvent être existées sous deux formes de stéréo-isomères **Z** et **E** en fonction de la disposition des substituants autour de la double liaison centrale, dont les stéréo-isomères **E** sont les plus abondants [6].

1.1. EFFETS PHARMACOLOGIQUE DES CHALCONES

Ces dix dernières années, de nombreux travaux ont montré les effets bénéfiques sur la santé des flavonoïdes et plus particulièrement des chalcones.

La présence de la double liaison et du groupe carbonyle dans les chalcones leur confère plusieurs activités biologiques. Parmi ces activités on peut citer les activités antifongique, anti-inflammatoire, antibactérienne[8], antioxydante[9], anti-tumoral[10], antipaludique[11], anti tuberculose, anti-infectieux et activité anti- microbienne [12].

1.1.1. Activité anticancéreuse des chalcones

A travers une étude sur les anticancéreux, les chalcones boroniques présentent une activité anti tumorale du sein chez la femme. Les dérivés de ces derniers sont utilisés aussi comme des détecteurs biologiques de diabète [13].

L'activité la plus importante a été montrée par le composé ayant deux groupements $-OCH_3$ en position méta [14] (**Figure1.2**).

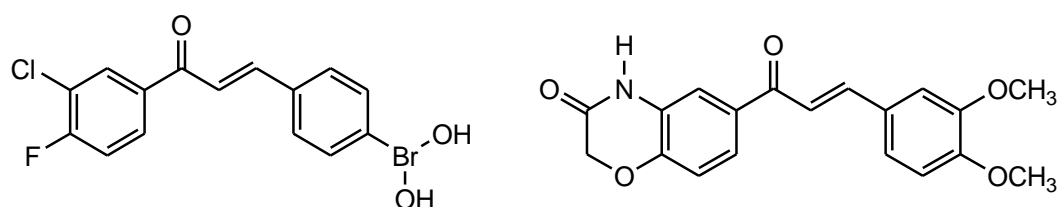


Figure 1.2 : Structure de chalcones anticancéreuses

1.1.2. Activité anti-inflammatoire des chalcones

Les chalcones ont été étudiées pour leur activité anti-inflammatoire et aussi pour leur activité inhibitrice de plusieurs facteurs impliqués dans le désordre de l'inflammation.

Parmi les chalcones possédant une activité anti-inflammatoire on peut citer : La 2,5dihydroxychalcone [15].

Dans un but de développer d'autres agents anti-inflammatoires plus puissants, une série de dérivés de chalcones-curcumine a été synthétisée par Liu et col et étudiées pour leur activité anti-inflammatoire sur la souris [16].

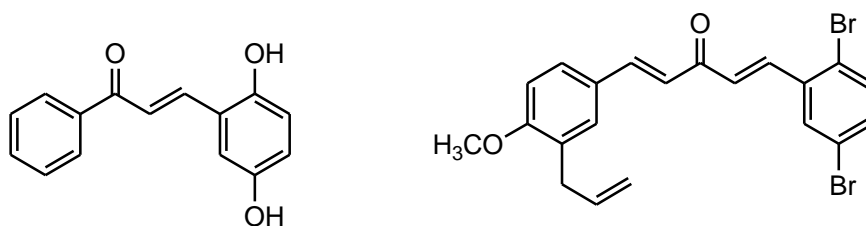


Figure 1.3: Structure de chalcones anti inflammatoires

1.1.3 Activité antioxydante des chalcones

Il a été montré que l'activité antioxydante est due a la présence de groupements OH ou NH. Plus on augmente le nombre de groupements OH, plus l'activité antioxydante augmente [6].

La phlorétine (**Figure 1.4**) présente une forte activité antioxydante . présente une forte activité antioxydante, elle permet l'inhibition de la peroxydation lipidique [16].

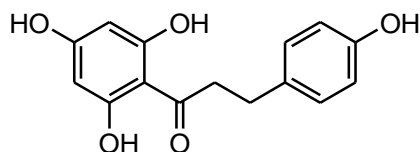


Figure 1.4 : Structure de la phlorétine

1.1.4 . Activité antibactérienne des chalcones

L'activité antibactérienne des chalcones est reliée à la présence à la fois de la double liaison et de la fonction carbonyle[17]. Des tests in vivo ont montré que la 3- nitro-4 hydroxy-2-méthoxychalcone possède une action antibactérienne élevée.

Les chalcones substituées par des halogènes (chlore, brome, iode et fluor) sur les cycles aromatiques ont également des activités antibactériennes intéressantes .

Plusieurs chalcones (2-hydroxychalcone, 2,4-dihydroxychalcone et 2-hydroxy-2-carboxy chalcone) possèdent une activité antifongique importante [18].

1.2. EXEMPLE DE MEDICAMENT CONTENANT L'UNITE CHALCONE

Les chalcones sont également reconnues comme des agents médicinaux précieux pour les maladies cardio-vasculaires et le dysfonctionnement endocrine [19,20].

L'hésperidine (méthylcarboxy chalcone) exerce une action thérapeutique dans le traitement des maladies chroniques de l'œil et des reins, en incluant des maladies rhumatoïdes et l'arthrose. Des tests sur des rats ont montré que l'hésperidine-méthylchalcone, incorporée dans l'alimentation (0,2%), a un effet inhibiteur des caries dentaires [6,21].

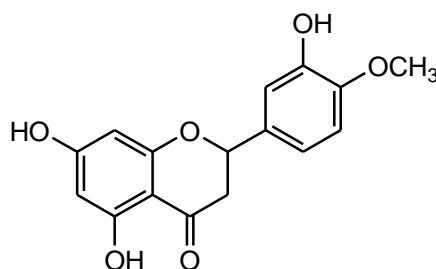


Figure 1.5 : Structure de l'hésperidine

1.3. PREPARATION DES CHALCONES

1.3.1. Synthèse organique de la chalcone par condensation de Claisen-Schmidt

C'est la méthode la plus utilisée pour la préparation des chalcones. Elle fait intervenir une acétophénone avec un aldéhyde aromatique (dérivé de benzaldéhyde). Cette aldolisation-élimination peut se faire dans des conditions acide ou basique, bien que le milieu basique soit le plus décrit dans la littérature [22].

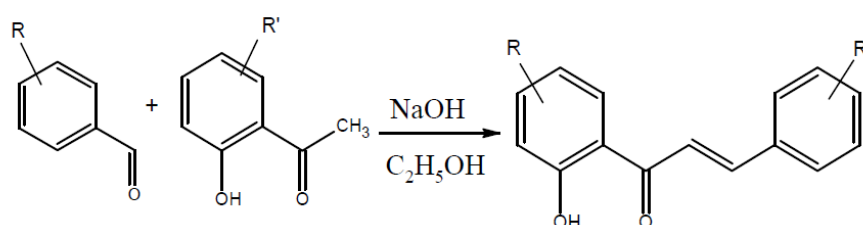


Schéma 1.1: Synthèse des chalcones par réaction de Claisen-Schmidt

2. LES PYRAZOLINES

Il existe plusieurs systèmes hétérocycliques, comportant deux ou plusieurs hétéroatomes dans le même cycle. Les hétérocycles existent dans beaucoup de produits naturels, dans certains médicaments et divers colorants synthétiques d'où viennent leurs importances. Parmi les hétérocycles les plus importants, on cite les pyrazolines, qui font partie surtout des médicaments, les plus puissants notamment pour le traitement de la tuberculose, du diabète, des tumeurs etc. [23,24].

Les pyrazolines sont des composés hétérocycliques à 5 chaînons, non aromatiques, qui contiennent deux atomes d'azote. Elles sont d'un grand intérêt dans les domaines de la chimie médicinale et de l'agrochimie, en raison du large spectre d'activités biologiques de molécules à squelette pyrazoline [25].

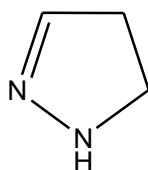


Figure 1.6 : Noyau de pyrazoline

2.1. EFFETS PHARMACOLOGIQUE DES DERIVES PYRAZOLINIQUES

La majorité des dérivés pyrazoliniques ont une activité importante surtout dans le domaine biologique et pharmaceutique [26]. Les pyrazolines peuvent être utilisées comme anti-tumoraux [27], antibactériens[28] , antifongiques , anti tumorale, antiparasitaires, antituberculeux, comme agents anti-inflammatoires, antidiabétiques, anesthésiques, analgésiques et insecticide De plus, les pyrazolines interviennent dans une phase cruciale dans le développement de la théorie de la chimie hétérocyclique et dans la synthèse organique [29].

2.1.1. Effet antiagrégant plaquettaire des pyrazolines

Les dérivés du pyrazoline empêchent l'agrégation plaquettaire, par inhibition de la production de tromboxane A₂ plaquettaire. La durée de l'effet est à rapprocher de la durée de vie de ces médicaments dans l'organisme [26].

2.1.2. Effet antalgique

Les dérivés du pyrazole sont des bons antalgiques calmant les douleurs d'intensité Modérée, surtout si celles-ci sont d'origine inflammatoire, leur action sur les algies Profondes est modeste [23].

2.1.3. Effets rénaux

Chez les sujets ayant une fonction rénale normale, les dérivés du pyrazoline sont bien tolérés. En revanche, chez ceux qui ont une fonction rénale précaire ou déjà altérée, les dérivés du pyrazoline peuvent entraîner une insuffisance rénale oligurique, d'apparition rapide et généralement réversible [23].

2.1.4. Effets foetaux –maternels

Ils doivent être évités de préférence au cours du dernier trimestre de la grossesse (gestation). En effet, une administration prolongée peut entraîner un allongement dans la période de grossesse et peut induire chez les foetus des troubles pulmonaires en rapport avec la fermeture in utero du canal artériel. Une diminution du poids moyen des nouveau-nés a été signalée. En fin, la prise épisodique de ces médicaments même à faibles doses, peut entraîner des troubles de l'hémostase [23].

2.2. EXEMPLE DE MEDICAMENTS CONTENANT L'UNITE PYRAZOLINE

Les pyrazolines affichent un large spectre d'activités pharmacologiques potentielles et ils sont présents dans un certain nombre de molécules pharmacologiquement actives ; telles que phénazone ; dipyrone (analgésique, antipyrétique et antirhumatismale) ;methampyrone (analgésique et antipyrétique) [25].

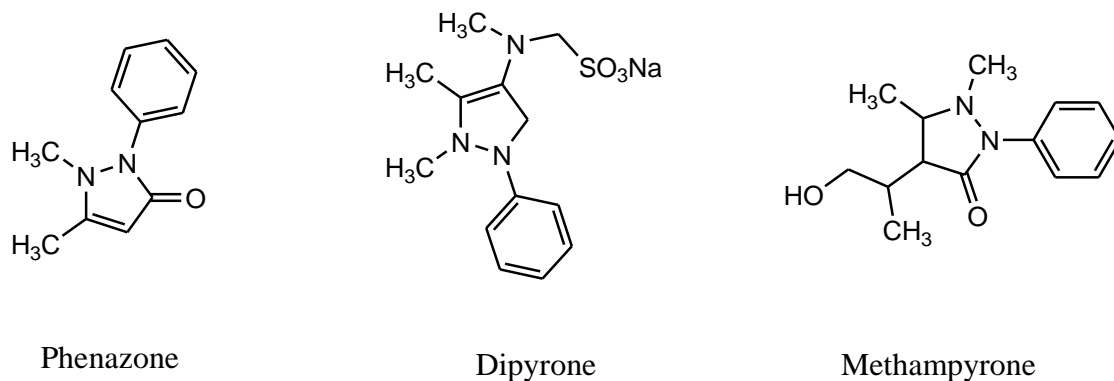


Figure 1.7: Structures de quelque médicament de noyau pyrazolique.

2.3. SYNTHÈSE DES PYRAZOLINES

Les pyrazolines ont une variété de procédés de synthèse, mais une des méthodes les plus populaires est celle de Fischer et Knoevenagel à partir des cétones α,β -insaturées et de phénylhydrazine dans l'acide acétique. Cependant, selon la réactivité des molécules de départ et des besoins du chimiste, les pyrazolines peuvent être préparées dans différents solvants en catalyse acides ou basiques (Schéma 1.2) [32].

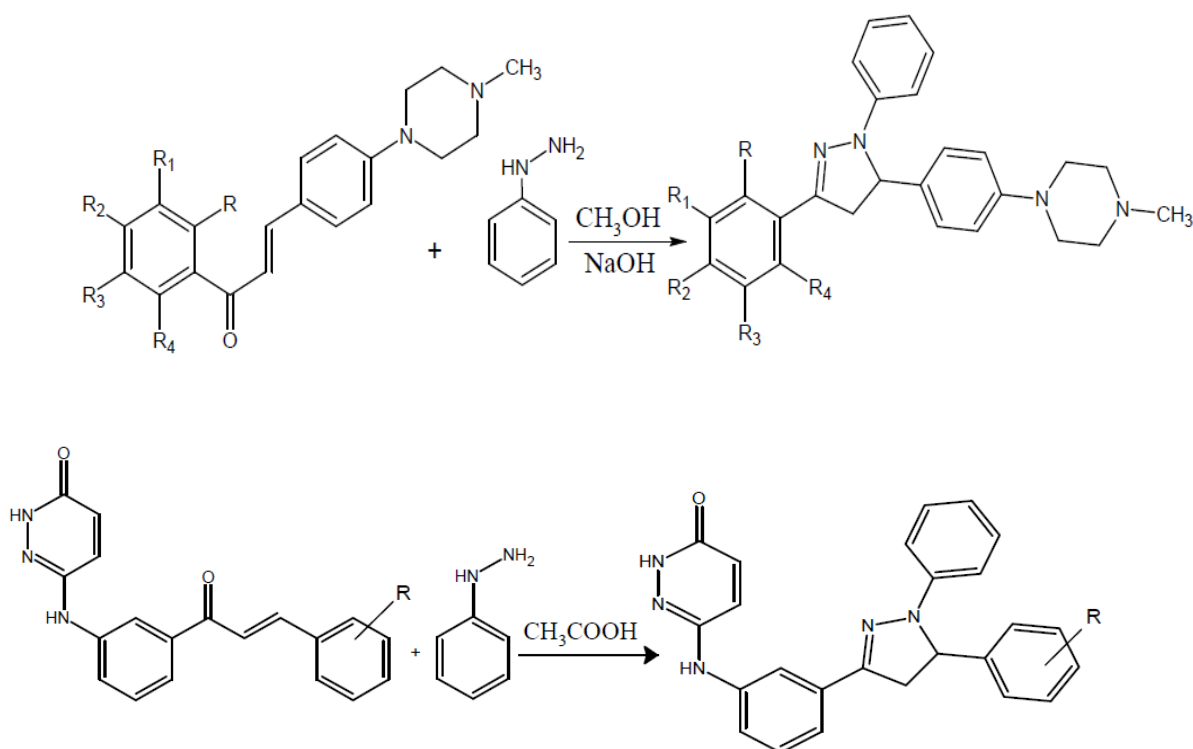


Schéma 1.2 : Formation de pyrazolines



CHAPITRE 2 : PARTIE EXPERIMENTALE

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Matériels

Les solvants utilisés pour l'analyse en CCM sont le chloroforme et le méthanol qui sont apportés de Sigma Aldrich de degrés de pureté 99%-99,4% respectivement.

Le solvant utilisé dans la spectroscopie UV-visible est DMSO qui est apporté par Merck Eurolab de degré de pureté 99%-99.6%.

Le solvant utilisé dans les réactions est : l'éthanol qui est apporté de Sigma Aldrich de degré de pureté de 95%. Les aldéhydes utilisés sont commerciaux.

1.2. Appareillage

Tableau 2.1 : Appareillage du laboratoire utilisé

Désignation	Spécification	Usage
Point de fusion	meeting point apparatus, SMP30	Pureté
Spectrophotomètre UV-Visible	Thermo-Scientific EVOLUTION 220	Analyse quantitative
Spectrophotomètre IR	FT-IR BRUKER TENSOR 27 IR Spectrometer	Analyse qualitative
CCM	60 F254 (épaisseur : 0,2 mm) de MERCK.	Pureté

2. MANIPULATION

2.1. Synthèse des (E)-1-(3-((E)-arylideneamino)aryl)-3-phenylprop-2-en-1-one 2a-g

Dans un réacteur muni d'un agitateur magnétique on introduit 0,005 mole de 3-aminoacétophénone, 10 % NaOH et 10ml d'éthanol. Après 1 h on rajoute 0,01 mole d'un aldéhyde aromatique. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation magnétique dans un bain de glace pendant 10 h. Le solide formé est récupéré par filtration.

La pureté de produit a été contrôlée par chromatographie sur couche mince.

2.2. Synthèse des pyrazolines (3-(3-(arylideneamino)phenyl)-5-aryl-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(4-hydroxyphenyl)methanone 3 et (3-(3-(arylideneamino)phenyl)-5-phenyl-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(pyridin-4-yl)methanone 4

Dans un ballon de 150 ml, on introduit 1 mmole de l'acétate de sodium, 1 mmole de chalcone **2a-g** et 1,5 mmole de 2-hydroxybenzohydrazide ou d'isoniazide et 5 ml d'éthanol. Le mélange réactionnel est maintenu au reflux et sous agitation magnétique pendant 7h. Le solide formé est récupéré par filtration.

La pureté de produit a été contrôlée par chromatographie sur couche mince.

3. EVALUATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE

3.1. Activité antioxydante

- **Mode opératoire**

La solution mère est de concentration 10^{-1} M; une gamme de dilutions a été préparée à partir de cette dernière ayant des concentrations de l'ordre 5×10^{-2} M; $2,5 \times 10^{-2}$ M; $1,25 \times 10^{-2}$ M; $6,25 \times 10^{-3}$ M. La solution de DPPH a été préparée en solubilisant 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.

Le standard a été préparé à partir de 2 ml de la solution éthanoïque du DPPH et 40 μ l de DMSO.

Un volume de 40 μ l de chaque échantillon de chacune des concentrations est ajouté à 2 ml d'une solution des radicaux DPPH. Le mélange est secoué énergiquement et laissé pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière.

L'absorbance de DPPH est déterminée par spectrophotométrie UV-Visible à 517 nm. Les résultats obtenus pour chaque produit testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique qui est pris comme référence.

3.2. Activité antibactérienne

3.2.1. Origine et choix des souches bactériennes utilisées

Deux souches bactériennes de collection sont choisies pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des produits synthétisés. Elles sont généralement impliquées dans différentes pathologies infectieuses: il s'agit d'*Escherichia.coli* ATCC 25922 et de *Staphylococcus-aureus* ATCC 25923.

❖ *Escherichia coli*

Autrement appelé colibacille ou *E. coli* : c'est une bactérie intestinale gram négatif des Mammifères, très commune chez l'être humain. En effet, elle compose environ 80 % de notre

flore intestinale aérobie. *E.coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire [30,31].

❖ ***Staphylococcus aureus (S.aureus)***

Ce sont des cocci Gram positif avec un diamètre de 0,5 à 1,5 μm , de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires, petites chaînes, elles sont habituellement non capsulée, ou possédant des capsules limitées [30].

3.2.2. Réalisation de l'antibiogramme

- **Préparation de l'inoculum**

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 18 h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'un écouvillon quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester.

Ensuite bien décharger l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 % puis homogénéiser la suspension bactérienne.

- **Ensemencement et dépôt des disques**

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur milieu Muller-Hinton, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées en tournant la boîte à chaque fois de 60°, en faisant pivoter l'écouvillon sur lui-même et en le passant sur la périphérie de la gélose pour finir l'ensemencement. Tout en travaillant dans une zone d'asepsie au tour du bec bunsen. DO est de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.

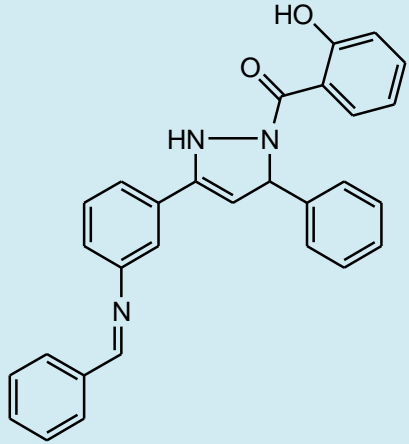
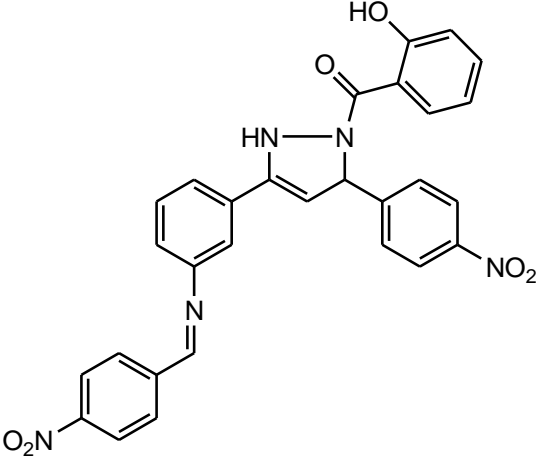
Les disques imprégnés de 10 μl de l'échantillon à tester sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.

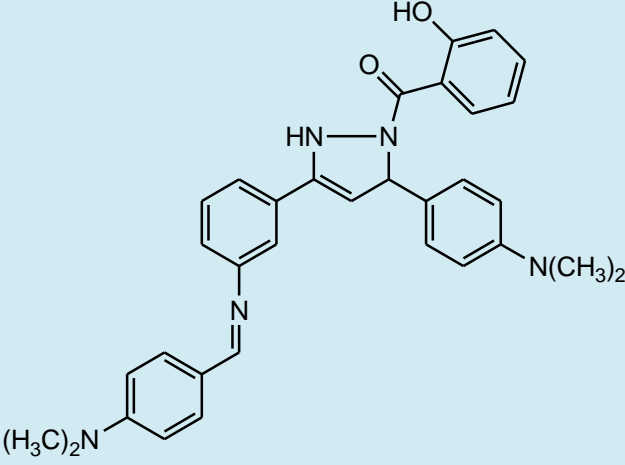
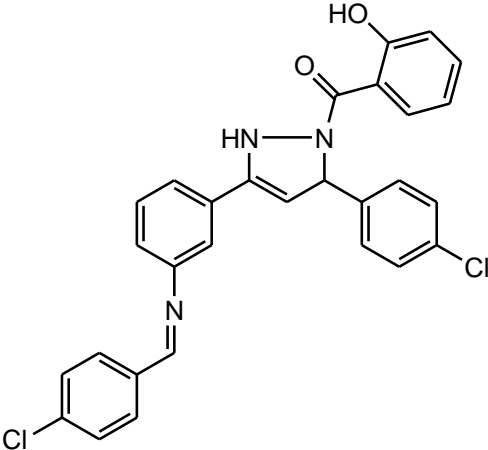
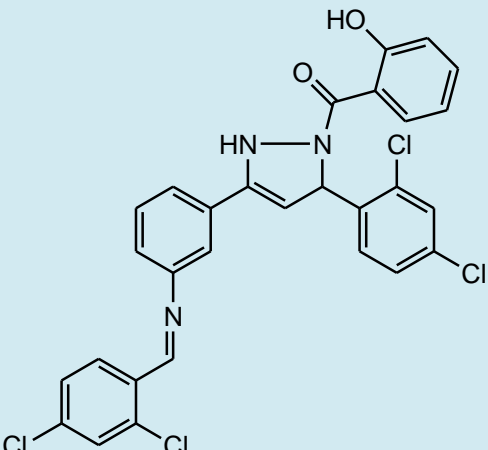
Les échantillons à tester ont été dissous dans le DMSO à une concentration de 10⁻¹M.

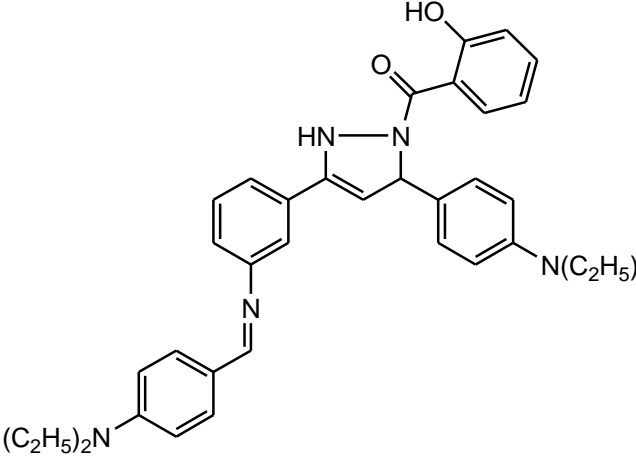
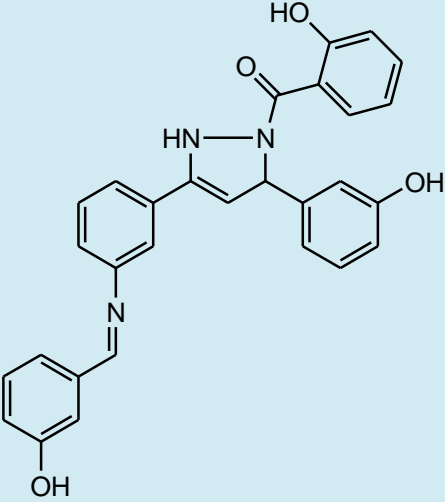
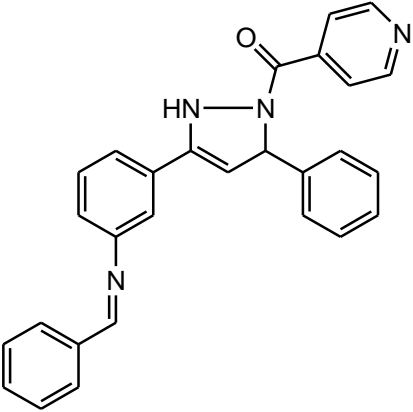
- **Incubation**

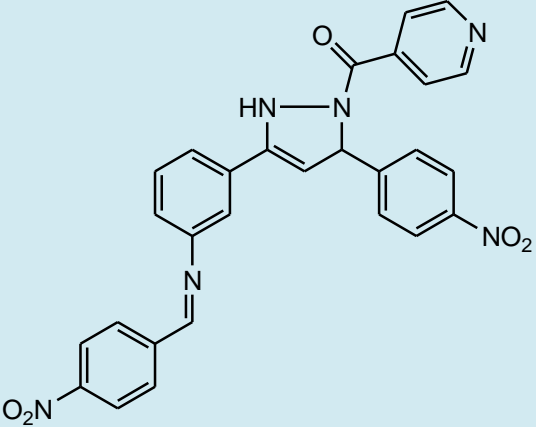
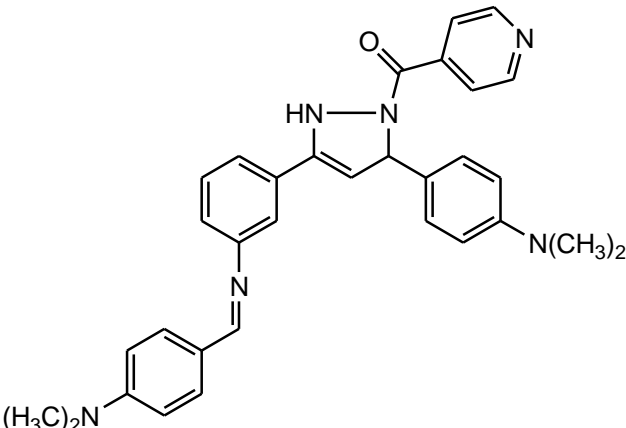
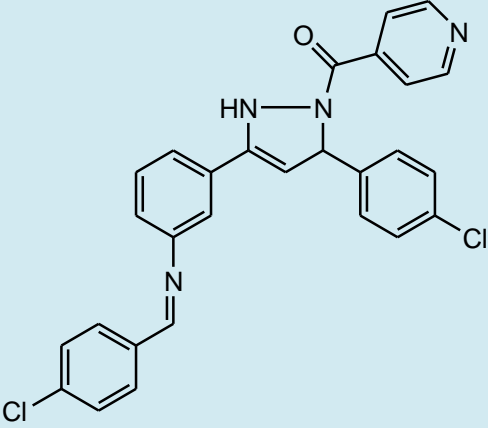
Les boîtes de pétri sont ensuite fermées et mise à l'étuve à 37°C pendant 24h.

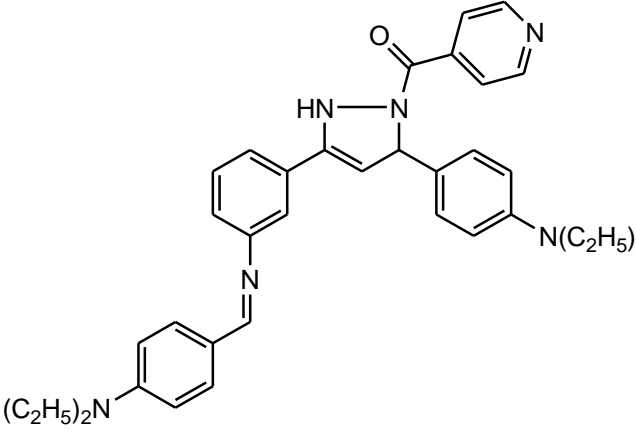
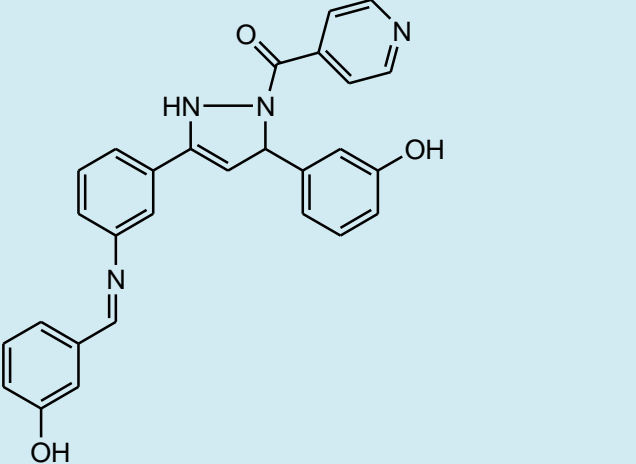
Tableau 2.2 : Récapitulatif des molécules synthétisés **3a-g** et **4a-g**.

Notation	Structure	Nom chimique
3a		(3-(3-(benzylideneamino)phenyl)-5-phenyl-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(2-hydroxyphenyl)methanone
3b		(3-(3-(4-nitrobenzylideneamino)phenyl)-5-(4-nitrophenyl)-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(2-hydroxyphenyl)methanone

3c		(3-(3-(4-(dimethylamino)benzylideneamino)phenyl)-5-(4-(dimethylamino)phenyl)-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(2-hydroxyphenyl)methanone
3d		(3-(3-(4-(4-chlorobenzylideneamino)phenyl)-5-(4-chlorophenyl)-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(2-hydroxyphenyl)methanone
3e		(3-(3-(2,4-dichlorobenzylideneamino)phenyl)-5-(2,4-dichlorophenyl)-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(2-hydroxyphenyl)methanone
3f		(3-(3-(4-

		(diethylamino)benzylideneamino)phenyl)-5-(4-(diethylamino)phenyl)-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(2-hydroxyphenyl)methanone
3g		(3-(3-(3-hydroxybenzylideneamino)phenyl)-5-(3-hydroxyphenyl)-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(2-hydroxyphenyl) methanone
4a		(3-(3-(benzylideneamino)phenyl)-5-phenyl-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(pyridin-4-yl)methanone

4b		(3-(3-(4-nitrobenzylideneamino)phenyl)-5-(4-nitrophenyl)-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(pyridin-4-yl)methanone
4c		(3-(3-(4-(dimethylamino)benzylideneamino)phenyl)-5-(4-(dimethylamino)phenyl)-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(pyridin-4-yl)methanone
4d		(3-(3-(4-chlorobenzylideneamino)phenyl)-5-(4-chlorophenyl)-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(pyridin-4-yl)methanone

4f		(3-(3-(4-(diethylamino)benzylideneamino)phenyl)-5-(4-(diethylamino)phenyl)-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(pyridin-4-yl)methanone
4g		(3-(3-(3-hydroxybenzylideneamino)phenyl)-5-(3-hydroxyphenyl)-2H-pyrazol-1(5H)-yl)(pyridin-4-yl)methanone



CHAPITRE 3 :
RESULTATS ET
DISCUSSION

1. INTRODUCTION

La chimie hétérocyclique a connu un développement considérable grâce à l'intérêt que présentent les composés hétérocycliques. Ces derniers, ils jouent un rôle très important dans le processus de découverte des médicaments. D'après les dernières statistiques sur les médicaments, mis sur le marché, 68% d'entre eux sont des hétérocycles. Parmi eux, les hétérocycles à cinq chaînons et particulièrement les azoles, qui occupent une place unique dans le domaine des médicaments [32].

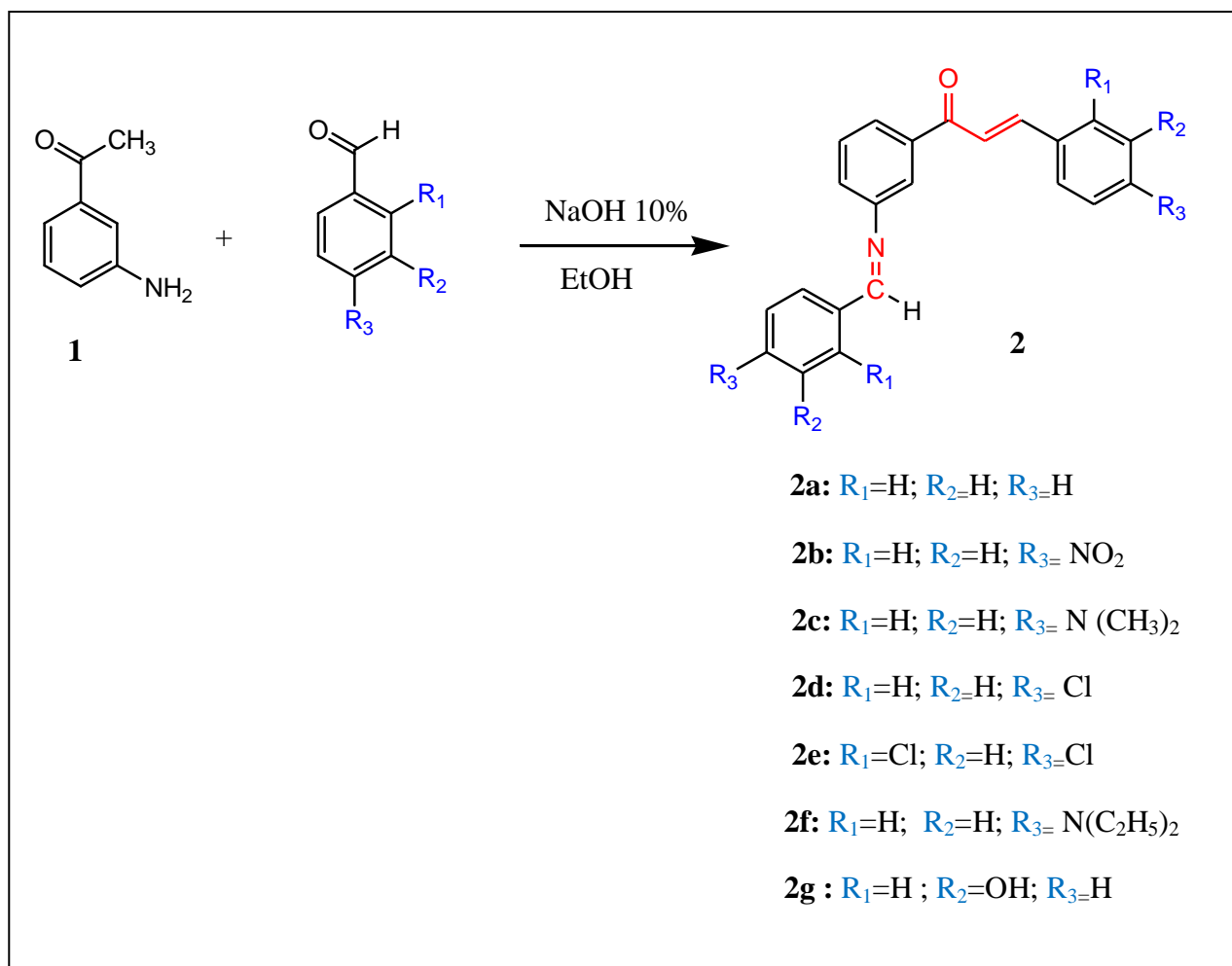
La synthèse des chalcones a attiré une attention considérable des chimistes en raison de leurs propriétés pharmacologique ainsi que pour la synthèse des pyrazolines.

Les pyrazolines sont une classe très importante des hétérocycles. Leur synthèse représente un point très intéressant dans le domaine pharmaceutique et agrochimique. Elles sont des agents biologiques intéressants, pour lesquelles l'activité antioxydante a été démontrée et comparée à celle des médicaments comme l'acide ascorbique [33].

2. SYNTHÈSE DES CHALCONES **2a-g**

Les chalcones constituent une classe d'intermédiaires très utiles dans la synthèse d'hétérocycles tels que les pyrazolines et les thiazolyl-pyrazolines.

Pour notre étude, la synthèse d'une série de chalcones **2a-g** a été le point de départ de la synthèse d'une série de pyrazoline en utilisant de nouveaux dérivés de benzaldéhydes. Le produit est obtenu par une simple réaction de condensation entre la 3-aminoacétophénone et un aldéhyde aromatique différemment substitués dans un milieu basique. Ces chalcones sont obtenues avec des rendements différents selon la réactivité des réactifs mis en jeu.

Schéma 3.1 : Réaction de synthèse des chalcones **2a-g**.

Dans les conditions opératoires choisies, nous avons préparé une série de sept chalcones **2a-g** dont les données physico-chimique (températures de fusion et rendements) sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau 3.1 : Rendements, point de fusion et aspect des chalcones **2a-g**.

Chalcone	Rdt (%)	Pf (°C)	Aspect
2a	71	73	Poudre jaune-vert
2b	97	97	Poudre jaune
2c	91	50	Poudre jaune
2d	85	93	Poudre blanche
2^e	96	61	Poudre blanche
2f	32	49	Poudre verte
2g	56	119	Poudre blanche

D'après ces résultats le meilleur rendement (97,45%) est obtenu avec la 4-nitrobenzaldehyde. Ceci s'explique par l'effet mésomère attracteur du substituant 4-nitro (-NO₂) qui augmente le caractère électrophile du carbonyle ce qui active d'avantage la réaction. Le rendement le plus faible (32,43%) a été enregistré avec la 4-*N,N*-diéthylbenzaldehyde qui est due à l'effet mésomère donneur de -N(C₂H₅)₂.

2.1. Etude par chromatographie sur couche mince des chalcones 2a-g

La pureté de chaque produit obtenu a été vérifiée par CCM en utilisant comme éluant le chloroforme et le méthanol. On a constaté la présence d'une seule tache dont les rapports frontaux (R_f) sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau 3.2 : Rapports frontaux des composés 2a-g.

Composé	Eluant chloroforme/méthanol (ml/ gouttes)	Rapport frontal
2a	5/5	0,69
2b	5/5	0,80
2c	5/5	0,80
2d	5/5	0,71
2e	5/5	0,70
2f	5/5	0,75
2g	5/5	0,71

Les rapports frontaux obtenus des composés 2a-g sont tous différents de ceux des produits de départ, nous pouvons alors déduire que la réaction a eu lieu.

La CCM n'est pas suffisante pour identifier un produit c'est pour cela on fait appel à d'autres techniques d'analyse.

2.2. Etude par spectroscopie infrarouge des composés 2a-g

Les spectres infrarouge des composés 2a,c ont été réalisé afin de confirmer la structure des composés obtenue lors des différentes réactions cette étude a confirmé la conservation du cycle benzénique par la présence des bandes d'élongation intense dans le domaine d'absorption qui la caractérise 1500-1600 cm⁻¹. Ces spectres montrent des bandes d'élongation à 1700 cm⁻¹ et 3000 à 3100 cm⁻¹ qui caractérise respectivement le C=O cétone α,β-insaturé et la liaison C=C (alcène), 1550cm⁻¹ qui caractérise la C=N.

Les spectres infrarouges sont représentés en annexes dans les figures 3.28 et figures 3.29.

Les principales bandes obtenues sont données dans le tableau 3.3 [34].

Tableau 3.3: Résultats de spectroscopie IR des composés **2a, c**

Composé	Nombre d'onde cm^{-1} [34]
2a	1700(C=O), 1580(C=C) aromatique, 980(C-H) alcène, 800(C-H) aromatique,
2c	1650(C=O), 1500(C=C) aromatique, , 980(C-H) alcène 750(C-H) aromatique, 3000(C=C) alcène, 1200(C-N)

2.3. Mécanisme de formation des chalcones **2a-g**

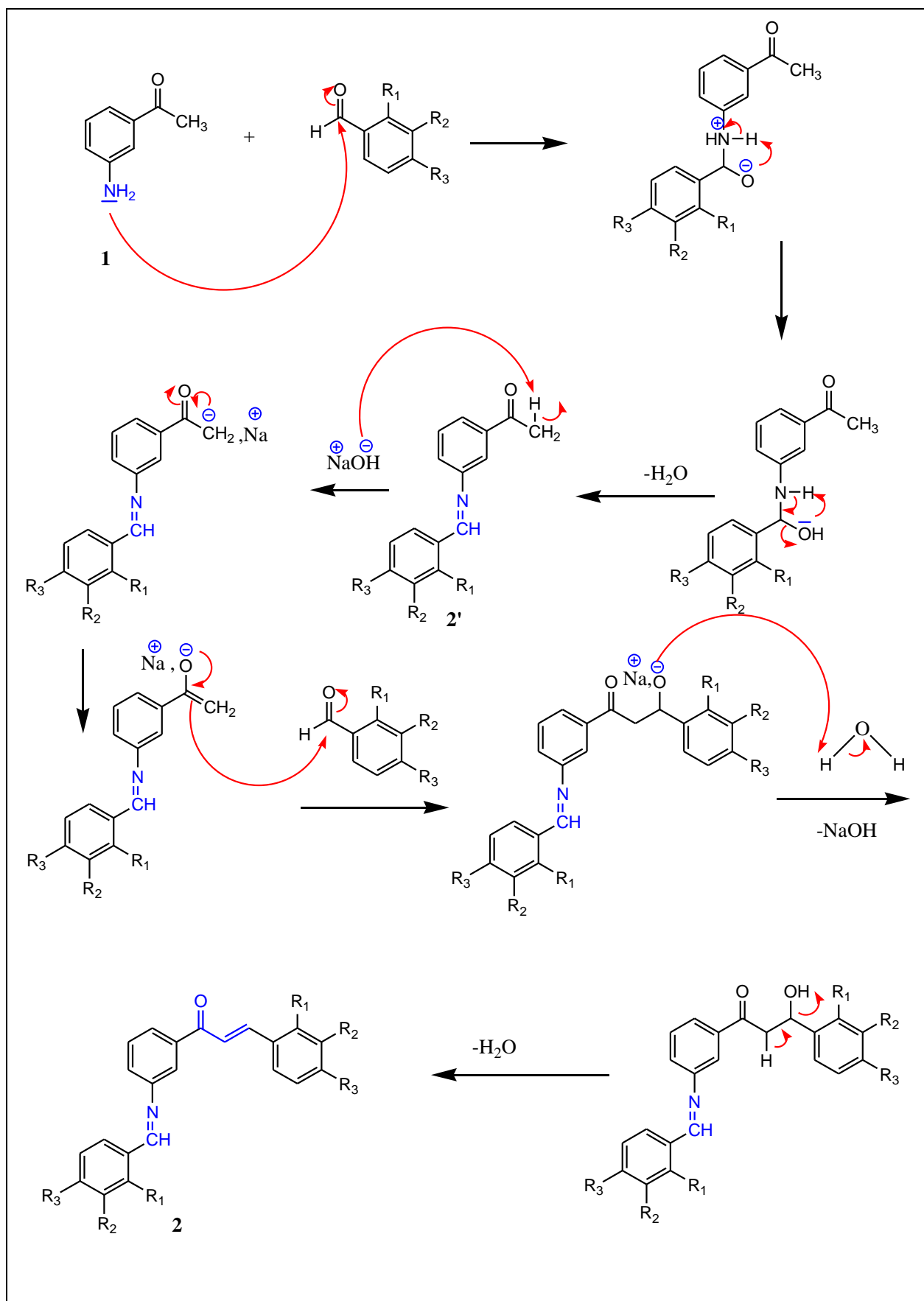
Cette réaction est favorisée dans un milieu basique. Le mécanisme de formation des chalcones **2a-g** se traduit comme suit:

- **Première étape**

Le doublet non liant de l'azote attaque le carbonyle du l'aldéhyde aromatique pour former l'imine **2'** après une déshydratation.

- **Deuxième étape**

Le proton du groupement méthyle de la 3-aminoacétophénone est très mobile car il est en position α d'un groupement attracteur par effet mésomère, ce qui permet à la base (NaOH) de l'arracher facilement, formant ainsi un carbanion. Ce dernier à son tour attaque le carbonyle du l'aldéhyde, ce qui permet d'isoler le composé **2** après une déshydratation.

Schéma 3.2 : Mécanisme de formation des chalcones **2a-g**

3. SYNTHÈSE DES PYRAZOLINES A PARTIR DES CHALCONES 2a-g

Babu et col. ont synthétisé une série de pyrazolines dont l'activité antioxydante a été démontrée et comparée à celle de l'acide ascorbique.

Dans notre étude, nous avons préparé une série de pyrazolines avec le 2-hydroxybenzohydrizide **3a-g** et une autre série avec l'isoniazide **4a-f**. Ces composés ont été préparés par une réaction de condensation avec les chalcones synthétisées **2a-g**. Le schéma réactionnel est représenté ci-dessous :

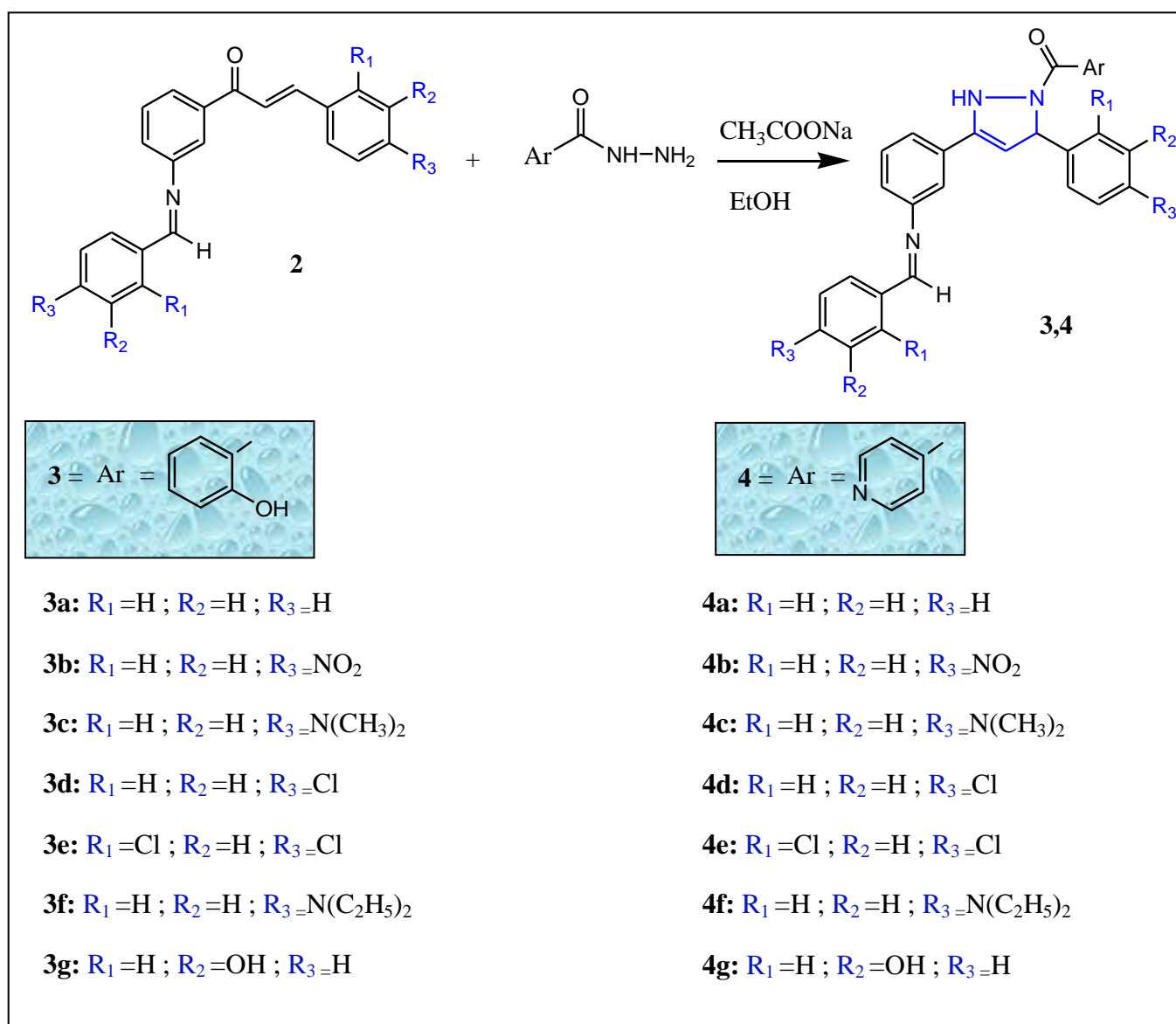


Schéma 3.3 : Synthèse des pyrazolines **3a-g** et **4a-g**.

Les caractéristiques physico-chimiques des produits obtenus **3a-g** et **4a-f** sont représentés dans le tableau 3.4 ci-dessous :

Tableau 3.4 : Rendements, point de fusion et aspect des pyrazolines **3a-g** et **4a-f**.

Composé	Rdt (%)	Pf (C°)	Aspect
3a	54	65	Poudre Maron
3b	60	280	Poudre Orange
3c	80	260	Poudre Jaune clair
3d	80	266	Poudre blanche
3e	89	316	Poudre Jaune
3f	45	200	Poudre Jaune verdâtre
3g	52	204	Poudre blanche
4a	19	65	Poudre jaune verdâtre
4b	57	145	Poudre Jaune
4c	80	198	Poudre Jaune
4d	72	110	Poudre beige
4e	72	220	Poudre blanche
4f	52	239	Poudre blanche

D'après ces résultats le meilleur rendement (89%) est obtenu en faisant reagir la chalone **3c** et le 2-hydroxybenzohydrazide dont l'éthanol comme solvant .Alors que le rendement le plus faible (19 %) a été enregistré avec la chalcone **4c** et l'isoniazide .

On peut conclure que l'obtention d'un bon rendement est relié à la présence des groupement attracteurs tel que les halogènes sur le cycle aromatique de la chalcone.

3.1. Etude par chromatographie sur couche mince des pyrazolines

La pureté de chaque produit obtenu est vérifié par la CCM en utilisant comme éluant un mélange de chloroforme et de méthanol. Les rapports frontaux sont reportés dans le tableau suivant :

Tableau 3.5 :Rapports frontaux des composés **3a-g** et **4a-f**.

Composé	Eluant : chloroforme/méthanol (ml/goutte)	Rapport frontal (Rf)
3a	5/5	0,80
3b	5/5	0,79
3c	5/5	0,86
3d	5/5	0,80
3e	5/5	0,82
3f	5/5	0,79
3g	5/5	0,66
4a	5/5	0,79
4b	5/5	0,78
4c	5/5	0,79
4d	5/5	0,80
4e	5/5	0,78
4f	5/5	0,81

La CCM n'est pas suffisante pour identifier un produit mais elle apporte des renseignements susceptibles d'orienter vers une hypothèse de pureté. Donc on pourra suggérer que la réaction à évaluer vers la formation du produit **3a-g** et **4a-f**.

3.2. Etude par spectroscopie UV-visible des composés **3a,d** et **4a,c,d,f**

Les spectres d'absorption UV-visible des composés **3a,d** et **4a,c,d,f** sont obtenus juste après la dissolution de ces derniers dans le DMSO. Le balayage a été effectué sur un intervalle de 400 à 800 nm.

Les spectres obtenus nous permettent de voir trois bandes d'absorption pour les composés **3a**, **3d**, **4d** et **4f** et deux bandes d'absorption pour les composés **4a** et **4c**, les figures 3.22 jusqu'à 3.27 sont données en annexe.

Le tableau suivant élucide pour chaque produit obtenu sa longueur d'ondes d'absorption ainsi que sa transition électronique [34].

Tableau 3.6 : Résultats de la spectrophotométrie UV-Visible des composés **3a,d et 4a-f**

Composé	$\lambda_{\text{abs}}(\text{nm})$	Transition [34]
3a	307	$n-\pi^*$
	260	$n-\pi^*$
	214	$\pi-\pi^*$
3d	310	$n-\pi^*$
	214	$\pi-\pi^*$
4a	304	$n-\pi^*$
	256	$n-\pi^*$
4c	365	$n-\pi^*$
	266	$n-\pi^*$
	218	$\pi-\pi^*$
4d	237	$n-\pi^*$
	305	$n-\pi^*$
	214	$\pi-\pi^*$
4f	301	$n-\pi^*$
	214	$\pi-\pi^*$

3.3. Etude par spectroscopie Infrarouge

Cette analyse a confirmé la présence du cycle pyrazoline par l'apparition des bandes d'absorption $760-780\text{ cm}^{-1}$ qui correspond à N-N et la bande de $1580-1600$ correspond à C=N . Le tableau suivant regroupe les résultats enregistrés pour les deux composés **4a** et **4c**.

Tableau 3.7 : Résultats de spectroscopie IR des composés **4a,c**

Composés	Nombre d'onde cm^{-1}
4a	760 (N-N), 1550(C=N), 1600(C=O) amide , (C=C) alcène aromatique, 850 (C-H) aromatique
4c	752 (N-N), 1500(C=N), 1600(C=O) amide, (C=C) alcène aromatique, 860 (C-H) aromatique, 800 (C-H) alcane, 1200 (C-N) amine,

3.4-Mécanisme de formation des composés 3a-g et 4a-f

- **Première étape**

La réaction est initiée par l'arrachement de proton acide du groupement NH du composé Ar-NH-NH₂ par l'acétate de sodium (CH₃COONa) conduisant à la formation d'un anion.

- **deuxième étape**

Ce dernier s'additionne sur la chalcones **2** selon une addition de Michael pour donner l'intermédiaire **5**, qui à son tour subit une condensation intramoléculaire par l'attaque de l'azote du groupement -NH₂ sur la fonction carbonyle pour conduire à la formation de la pyrazoline après une déshydratation. Le mécanisme de synthèse de ces pyrazolines est donné dans le schéma ci-dessous :

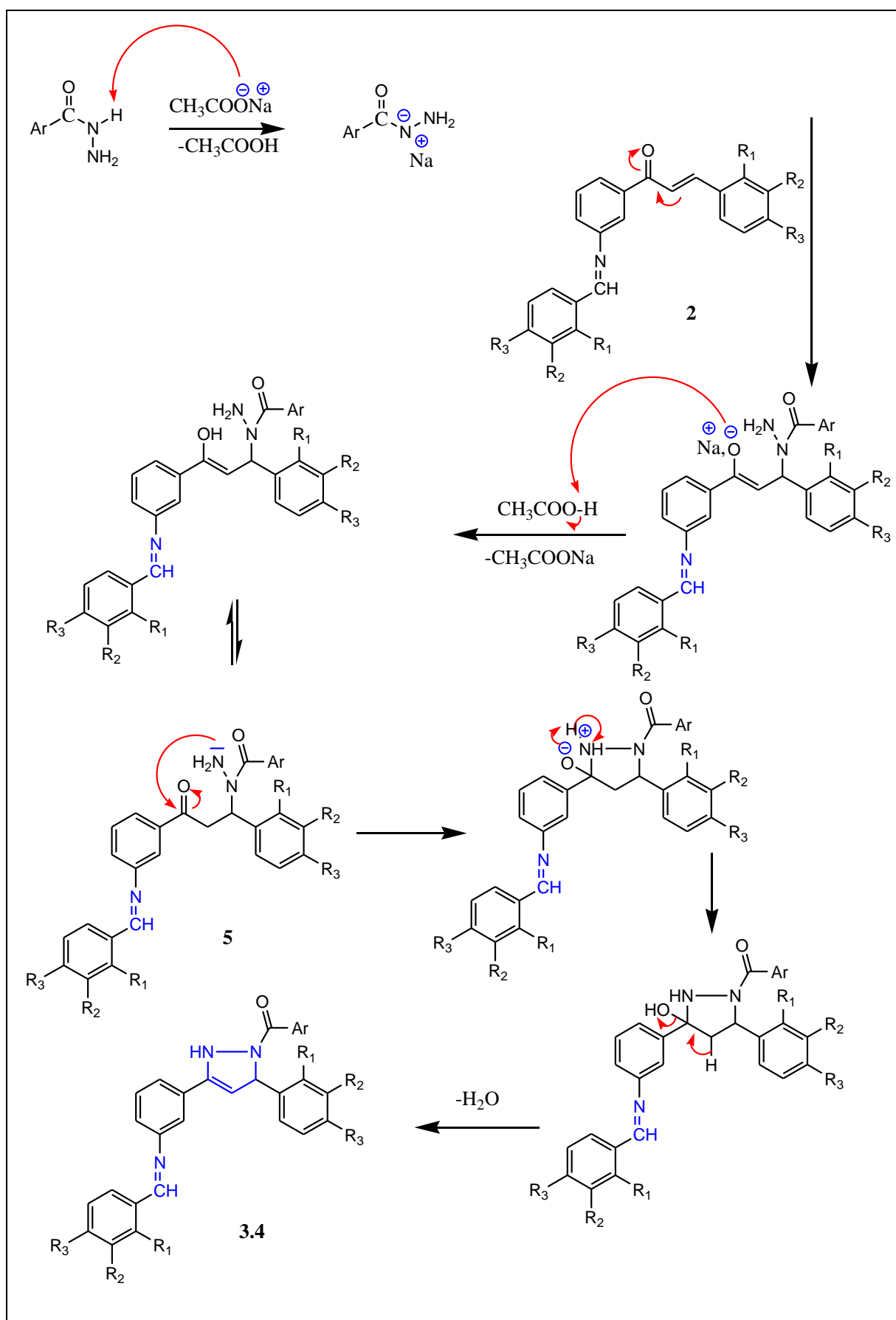


Schéma 3.4 : Mécanisme de formation des pyrazolines 3a-g et 4a-f

4. Evaluation biologique des produits synthétisés

4.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante définit la capacité d'un organisme de se protéger contre les radicaux libres [25].

De nos jours, il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires ainsi que la dégénérescence du système immunitaire [18].

❖ Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne [30].

❖ Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques d'ERO. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule [30].

❖ La vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble, sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène. Après ingestion, elle passe rapidement dans le sang puis diffuse de façon variable dans tous les tissus. Un apport quotidien minimal d'origine alimentaire est donc nécessaire, celui-ci provient essentiellement des fruits et légumes frais. La vitamine C est nécessaire pour de nombreuses fonctions physiologiques de la biologie humaine. C'est un piègeur très efficace des anions superoxydes [30].

4.1.1.Principe

Il existe une multitude de tests pour la mesure de l'activité antioxydante d'un composé. Les plus utilisés sont représentés dans le tableau III.1 L'activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres [30].

Tableau 3.8 : Méthodes les plus utilisées pour mesurer l'activité antioxydante.

Méthode	Réaction
Méthode FRAP (Ferric Reducing Power)	Réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) évalue le pouvoir réducteur des composés, la lecture se fait à 700 nm.
Méthode DPPH	Réduction du radical libre stable de 2,2 diphénylpicrylhydrazyle (DPPH), la lecture se fait à 515-518 nm selon le solvant utilisé.
Méthode ABTS	Le sel ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2-azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) perd un électron pour former un radical cation ($ABTS^{\cdot+}$) de couleur sombre en solution. En présence de l'agent antioxydant, le radical ainsi formé est réduit pour donner $ABTS^+$, ce qui entraîne la décoloration de la solution. La lecture se fait à 734 nm.
Méthode PPM (PhosphoMolybdate)	L'hydrogène et l'électron sont transférés vers le complexe oxydant (PPM)

Dans notre étude l'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de DPPH, qui consiste à utiliser un radical stable, (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl ($C_{18}H_{12}N_5O_6$), dans le méthanol.

La méthode de DPPH est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire $DPPH^{\cdot}$ en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH). Qui aboutit à la formation d'une forme non radicalaire, le DPPH-H. Le schéma 2.5 résume la réaction mise en jeu.

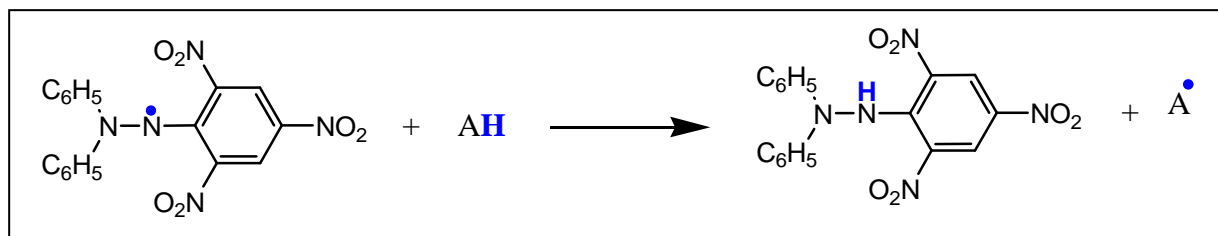


Schéma 3.5 : Mécanisme générale de réduction de DPPH.

La réduction du radical DPPH[•], initialement violet foncé sous sa forme libre, devient jaune pâle après transfert d'électron par des composés antioxydants. Cette coloration dépend de la nature, la concentration, et la puissance de la substance anti-radicalaire.

Cette réduction qui se traduit par une diminution de l'absorbance de la solution de DPPH en présence d'un antioxydant et suivie par spectrophotométrie.

- Le pourcentage de capture radical (%CR) est calculé à partir de la relation ci-dessous :

$$(\%) \text{ CR} = [(A_0 - A_1) / A_0] * 100 \quad (1)$$

A₀: Absorbance à 517 nm du standard (contient tous les éléments mais sans aucun échantillon).

A₁ : Absorbance à 517 nm de l'échantillon après une heure de temps.

4.1.2. Résultats de l'activité antioxydante

Les résultats obtenus par ce test sont indiqués dans les figure 3.1 et figure 3.2 qui représentent la densité optique des produits testés et celle de l'acide ascorbique (utilisé comme référence), en fonction de la concentration.

Ces figures montrent que la Densité Optique du DPPH diminue avec l'augmentation de la concentration du produit testé et que cette observation est beaucoup plus importante pour le composé **3a**, **4a** et **4b**. Ceci est justifié par la présence de groupements hydroxyles ou NH dont le radical H est facilement arracher par le DPPH[•].

La bande d'absorption du DPPH[•] disparaît complètement pour la majorité des composés, pour les concentrations inférieures à $2,5 \times 10^{-2}$ M.

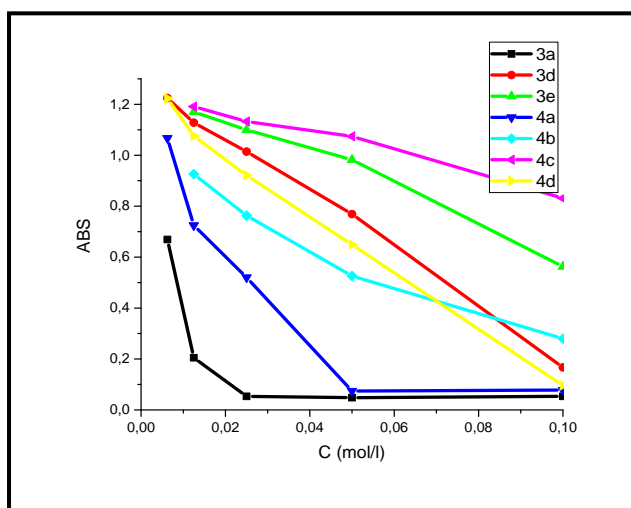


Figure 3.1 : Densité Optique en fonction de la concentration des composés **3a, d, e** et **4a-d**.

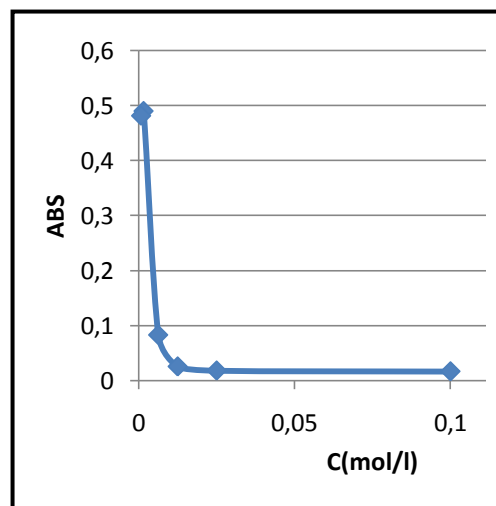


Figure 3.2 : Densité optique de la concentration de l'acide ascorbique.

Les pourcentages de capture du radical DPPH (%CR) ou les pourcentages d'inhibition sont calculés par la relation (1). Le tableau et les figures ci-dessous représentent les pourcentages de capture radicalaire (CR%) en fonction de la concentration (C) pour différents produits testés et de l'acide ascorbique.

Tableau 3.9: Pourcentage d'inhibition du radical de DPPH• des composés synthétisé .

Composés C(mol/L)	0.1 mol/L	0.05 mol/L	0.025mol/L	0.0125mol/L
3a	94,7	95,3	94,8	79,9
3d	83,6	24,7	0,78	-
3e	44,9	3,9	-	-
4a	92,3	92,7	49,1	29,1
4b	72,6	48,5	25,4	9,3
4c	18,6	-	-	-
4d	90,6	36,4	9,8	-
AA	98,33	98,19	97,46	89,70

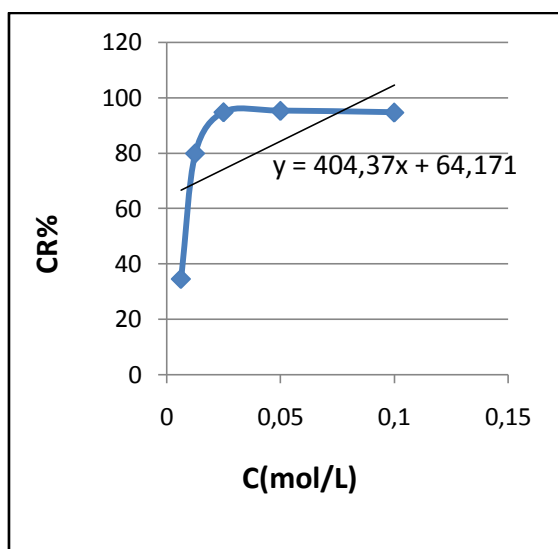


Figure 3.3 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH \cdot du composé **3a**.

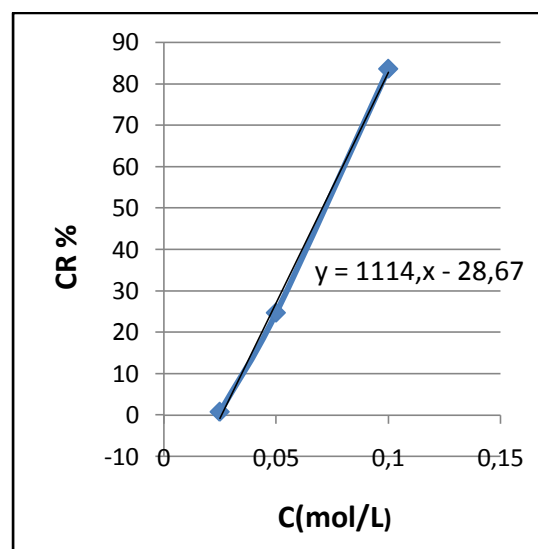


Figure 3.4 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH \cdot du composé **3d**.

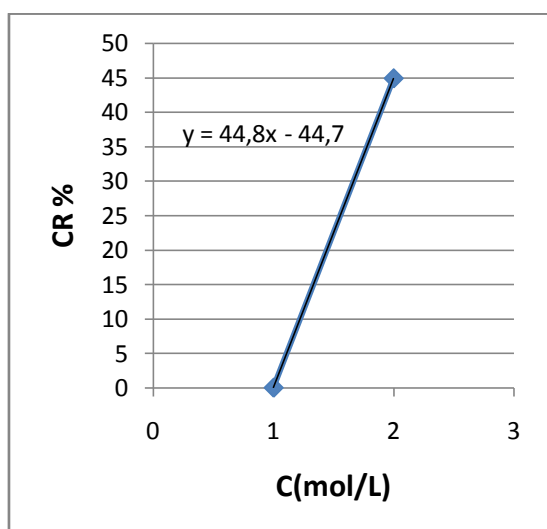


Figure 3.5 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH \cdot du composé **3e**.

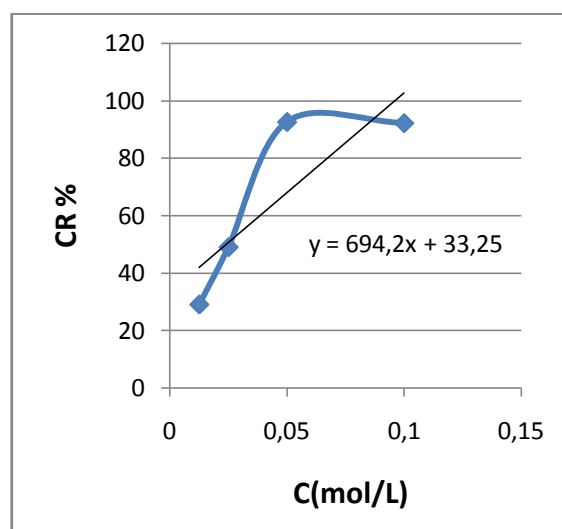


Figure 3.6 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH \cdot du composé **4a**.

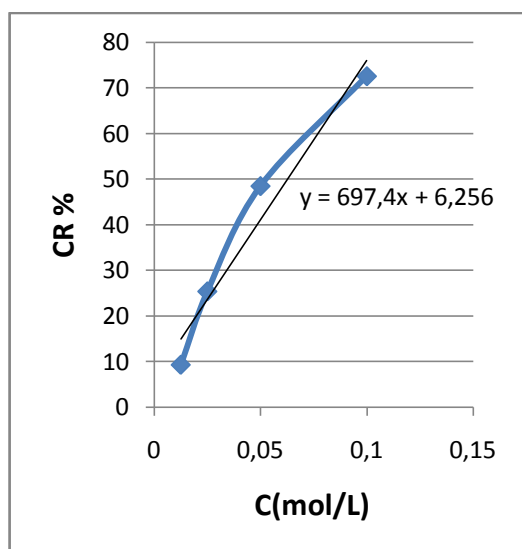


Figure 3.7: Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH \cdot du composé **4b**.

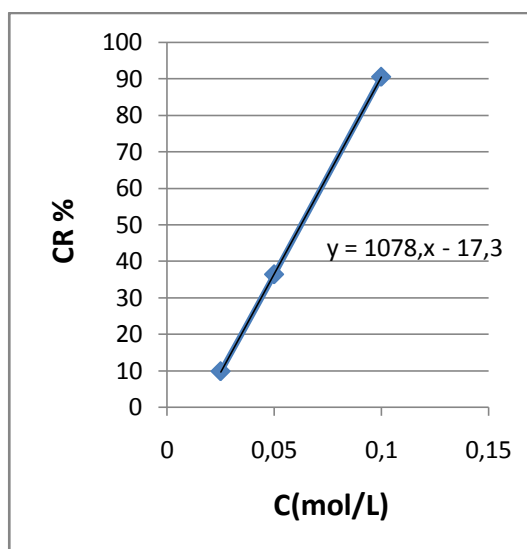


Figure 3.8 : Pourcentage d'inhibition Du radical libre de DPPH \cdot du composé **4d**.

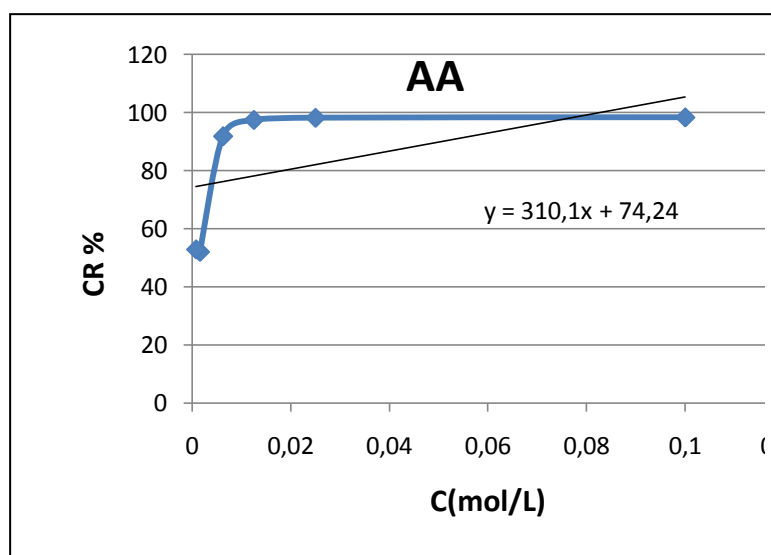


Figure 3.9: Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH \cdot de l'**AA**.

D'après les résultats obtenus, les composés **3a**, **4a**, **3d**, **4d** montrent une bonne activité antioxydante. En effet, leur pourcentage d'inhibition est de presque 100%.

❖ Détermination de la CE50 ou IC50

La concentration efficace (CE50) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %.

Plus la valeur de CE50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est importante. La concentration inhibitrice minimale (IC50) est estimée par extrapolation à % CR= 50% en traçant la courbe % CR en fonction de la concentration ou bien en utilisant la formule de la droite % CR en fonction de la [C], $y = a [C] + b$, où a est la pente de cette droite. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 3.8.

Tableau 3.10: Les valeurs des IC50% des composés **3a-e ,4a-f**.

Composé	IC50 % (mol/L)
3a	$3,504 \times 10^{-2}$
3d	$7,059 \times 10^{-2}$
3^e	2,110
4a	$2,412 \times 10^{-2}$
4b	$6,272 \times 10^{-2}$
4c	3,697
4d	6.243×10^{-2}
AA	$7,8 \times 10^{-2}$

Après avoir tracé la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (vitamine C), nous avons calculé l'IC50 pour chaque composé afin de pouvoir comparer leur effet antioxydant. Les résultats obtenus sont représenté dans la figure 3.10.

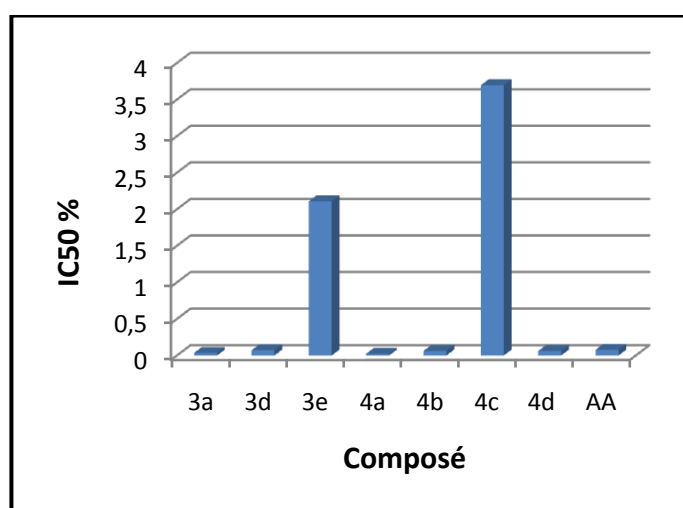


Figure 3.10 : Valeurs d'IC50 des composées testées comparativement à celui de l'acide ascorbique.

Les résultats obtenus pour l'activité antioxydante sont encourageants et que les composés synthétisés peuvent avoir un avenir attrayant dans ce domaine. En effet les composés 3a,3d,4a,4b,4d possèdent une excellente activité antioxydante qui est supérieure à celle de l'acide ascorbique.

4.2. Activité antibactérienne

La lecture des antibiogrammes se fait en mesurant les diamètres des halos d'inhibition autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse. La sensibilité aux différents produits est classée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit :

- Non sensible (-) pour le diamètre moins de 8mm [19].
- Sensible (+) pour un diamètre entre 9 à 14 mm [19].

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 3.7, la figures 3.11 et figure 3.12.

Tableau 3.11: Diamètre des zones d'inhibition en mm des composés 3a-f et 4a-f

CP S.bacteriennes	Diamètre des zones d'inhibition en mm												
	3a	3b	3c	3d	3e	3f	3g	4a	4b	4c	4d	4e	4f
<i>E.coli</i>	7	6	6	6	6	6	6	6	6	6	7	6	6
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S.aureus</i>	6	6	6	6	6	6	6	8	6	6	9	6	6
	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-

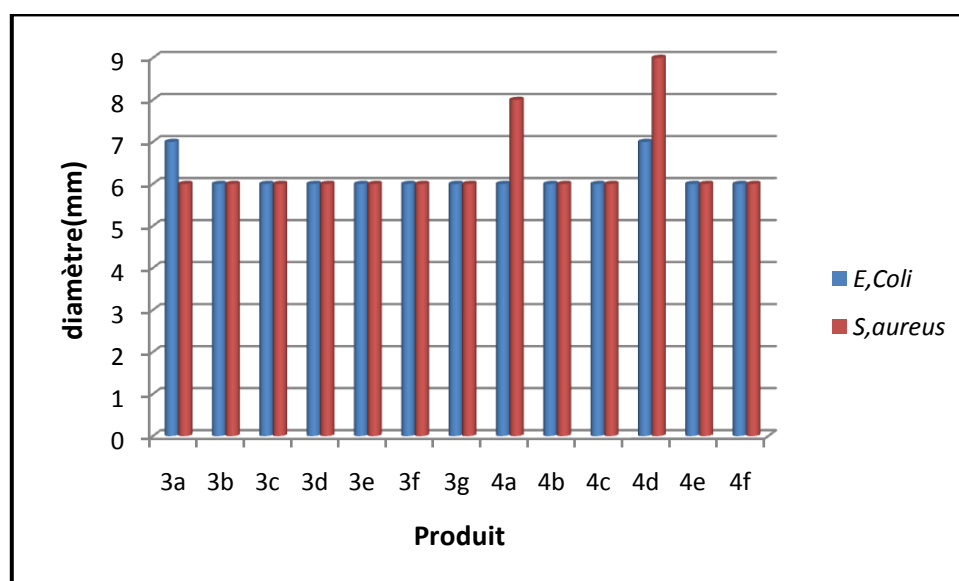


Figure 3.11 : Diamètre des zones d'inhibition des composés 3a-g et 4a-f.

D'après les résultats de l'étude (*in-vitro*) obtenus, les deux souches bactériennes *Escherichia coli* (Gram négatif) et *Staphylococcus aureus* (Gram positif) se sont avérées résistantes aux différents produits synthétisés.

Cependant, la souche *Staphylococcus aureus* est légèrement sensible vis-à-vis de produit **4d** avec d'une zones d'inhibition de 9 mm de diamètre.

Les autres produits n'ont montré aucune sensibilité vis-à-vis de la souche bactérienne cela est peut être due au fait que la diffusion dans la gélose est nettement lente, ou à cause de l'effet de solubilité, ou à la résistance de ces souches bactériennes.

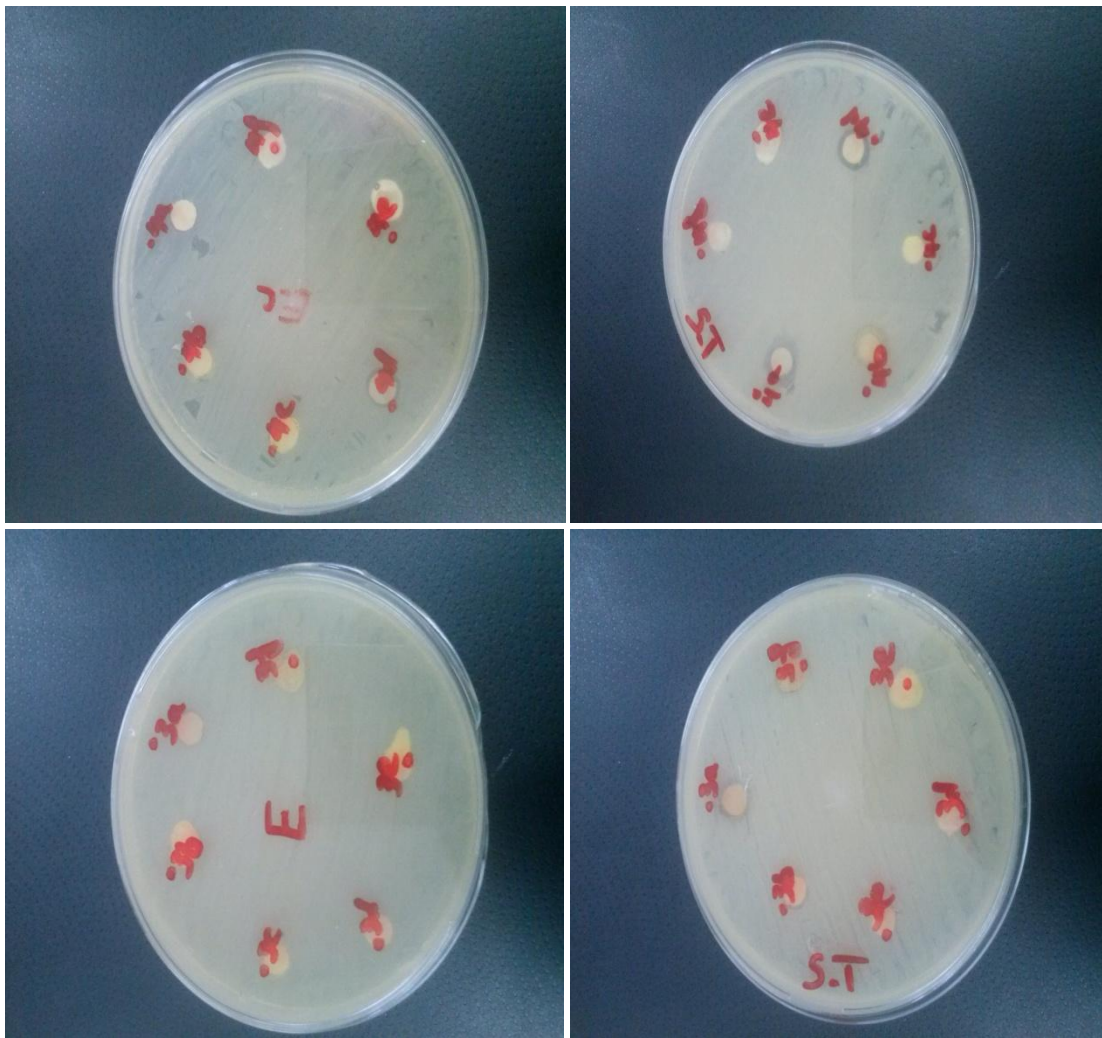


Figure 3.12 : Diamètre des zones d'inhibition des composés **4a-f** et **3a-g**.

5.CONCLUSION

Le but que nous nous étions fixé était de synthétiser en premier lieu une série de chalcones **2a-g** obtenu par une simple réaction de condensation aldolique.

On remarque que les substituants liés aux noyaux benzéniques influents sur le rendement de la réaction.

Des nouvelles dérivées de pyrazolines **3a-f** et **4a-f** sont obtenues avec des bons rendements par la méthode chauffage à reflux entre un dérivé de chalcones préparée en milieu basique.

Les produits obtenus ont été bien identifiés en utilisant les différentes techniques d'analyse (CCM/IR). Ces composé ont été utilisés comme matière première pour préparer une nouvelle série de pyrazolines. L'évaluation de leurs activités ; antioxydante et antibactérienne a été approuvée respectivement par la méthode de DPPH et par la méthode de diffusion du disque.



**CONCLUSION
GENERALE**

Comme annoncé dans l'intitulé de ce travail, les objectifs que nous nous sommes assignés sont la synthèse et conception des pyrazolines à effets thérapeutiques.

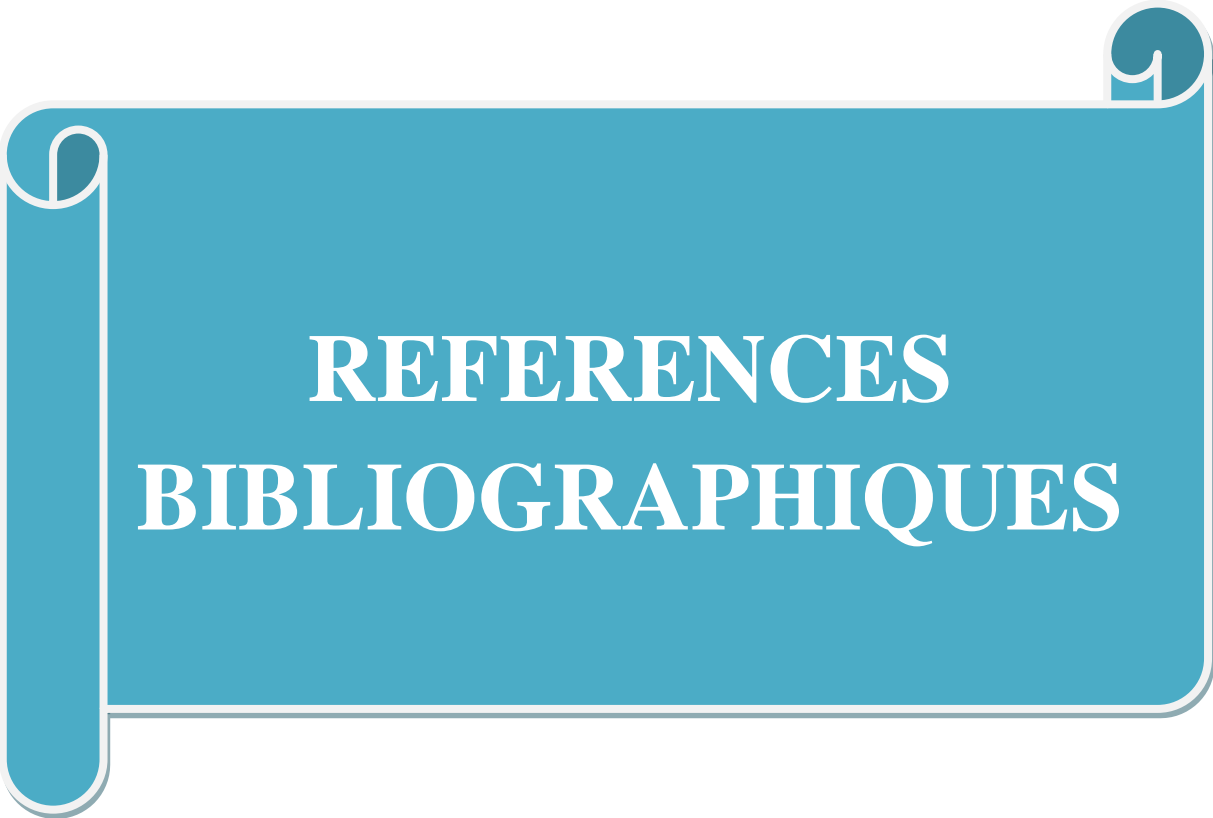
Pour cela : après avoir réalisé une mise au point bibliographique, nous avons effectué la synthèse des pyrazolines à partir des chalcones synthétisées précédemment avec isoniazide et le 2-hydroxybenzohydrazide en présence de l'acétate de sodium. Cette réaction a permis d'accéder aux dérivés pyrazolines **3a-g** et **4a-g**, avec des rendements différents. L'étude de différentes données spectroscopiques nous a permis de confirmer la structure de ces dérivés.

L'activité antioxydante de ces composés a été évaluée par la méthode de DPPH•, bien que le test au DPPH• est considéré comme une méthode simple, rapide et facile, les composés synthétisés ont montré une activité antioxydante importante en comparant avec celle de l'acide ascorbique.

L'activité antibactérienne a été évaluée in vitro. Elle a été déterminée sur deux souches bactériennes par la méthode de diffusion de disques.

Afin d'approfondir les aspects entrevus dans ce travail, un certains nombres de perspectives peuvent être envisagés :

- Mener une étude plus approfondie avec d'autres techniques d'analyse spectroscopiques notamment la résonance magnétique nucléaire (RMN) de ^1H et ^{13}C , la spectroscopie de masse et l'analyse élémentaire.
- Utiliser d'autres souches bactériennes pour l'activité anti bactérienne.
- Etude de nouvelles activités biologiques des produits synthétisés plus précisément l'activité anti-inflammatoire et anti-cancéreuse.



**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- [1].CHASSING.S.,«Contribution à la chimie des flavonoïdes :Accès à des analogues de pigments du vins rouge»,Thèse de doctorat ,université Louis pasteur,**2014**.
- [2].HOGALE.M.,DHORE.N.,SHELAR.P.,POWAR.P.,«Synthesis and biological activity of some urethane derivatives of chalcones», Orient .J. Chemistry,**2010**.
- [3].VAMAKAWA.T.,KAGECHIKA.H.,KAWACHIE.,HASHIMOTO.Y.,SHUDO.K.,«Retinob enzoic acids,Retinoidal activities of compounds having a trimethylsilyl or trimethylgermyl group (s) in human promyelocytic leukemia cells»,Med Chemistry,**2014** .
- [4].AHLUWALIA.K.,NAYAL.N.,NAILA.S.,TAHIM.K.,«Synthesis and antimicrobial activity of substituted 3,4-dihydro-2H-1-benzopyrans»,Indian J.Chemistry, **2011**.
- [5].Kheddar.F., « Synthèse, caractérisation et étude de la réactivité des cétones α , β -insaturée (chalcones) vis-à-vis le thiosemicarbazide : Application à la synthèse des pyrazoles », mémoire de master, université Dr Moulay Tahar-Saida, Département chimie, **2017**
- [6].Aouatef-Benmerrkhi.T.,« Synthèse de Chalcones adamantylées, de dérivés Thiazoly|pyrazolines et évaluation de leurs activités antimicrobienne et anticancéreuse »,Thèse de doctorat,université des Frères Mentouri-Constantine,**2017**
- [7]. Custodio.G.M.,SAMTOS.F.,«molecular of structur of hybrid imino chalcone in the solide state :X-ray diffraction,spectroscopie study and third -order non linear optical properties »»,journal of molecular structure,**2018**.
- [8].BHATT.A.K.,BHAMARIA.R.P.,PATEL.M.R.,BELLARE.,R.A.,DELIWALA.C.V.,«Synthe sis of chalcones,pyrazoline,amino pyrimidines», Indian J.Chem.**2011**.
- [9].MUKHERJEE.S., KUMAR A.K.,PRASAD H.G.,RAJ.M.E.,BRAKHE.C.E.,OLSEN S.C., JAIN.V.P.,«Sythetic and biological activity evaluation studies on novel 1-3diarylpropenones»,Bioorganic & Medicinal Chemistry, **2017**.
- [10].MARIANA.B.,VITRO.C.,« Antiproliferative and pro-apoptotic activities of 2 and 4-aminochalcones against tumor canine cells »,European Journal of Medicinal Chemistry,**2017**.
- [11].TOMAR.V.,KAMALUDDIN.S.,«synthesis of new chalcone derivative contains acridimyl moiety with potential antimalaria,activity»,**2018**.
- [12].HIBA.I.,VISAKH.,P.,ATUL.S.,BABY.C.,« Synthesis,anti-inflammatory and antioxidant activity of ring-A-monosubstituted chalcone derivative » , medicinal chemistry research,**2017**.

- [13].MARIANA.B.,VITRO.C.,« Antiproliferative and pro-apoptotic activities of 2 and 4-aminochalcones against tumor cell lines »,European Journal of Medicinal Chemistry,**2017**.
- [14].IBNAOUF.K.,ALZUBIR.A.,« Influence of groups on the photophysical properties of dimethylamino chalcone as laser dyes »,Optical Materials,**2018**.
- [15].SHIPRA.V.,ALOK KUMAR.S.,PANDEY.O.P.,«A Review on Chalcones Synthesis and their Biological Activity », PharmaTutor,**2018**.
- [16].Aouatef-Benmerrkhi.T.,« Synthèse de Chalcones adamantylées, de dérivés Thiazolypyrazolines et évaluation de leurs activités antimicrobienne et anticancéreuse »,Thèse de doctorat,université des Frères Mentouri-Constantine,**2017**
- [17].Hiba.I.,Visakh.P.,«Synthesis, anti-inflammatory and antioxidant activity of ring-A-monosubstituted chalcone derivatives», medicinal chemistry research,**2014**.
- [18].HERY.S.,NOVI KRISTANTI.A.,HAYATI,S.,AMALINA.I.,«Antimicrobial activities and in silico Analysis of Methoxy Amino Chalcone Derivatives »,Procedia chemistry,**2016**.
- [19].RADHAKRISHNAN.S.,SHIMON.R.,COSTA,C.,«Design,synthesis and biological evaluation of hydroxy substituted amino chalcone compounds for anti tyrosinase activity in B16 cells »,Bioorganic chemistry.,**2015**.
- [20].ELZUPIR.A.,IBNAOUF.K.H.,«Molecular structure ,frontier molecular orbital and spectrale analysis of dimethyl amino chalcone efficient lasing dyes»,molecular structure,**2019**.
- [21].IBNAOUF.K.H.,ELZUPIR.A.O.,«Influence of functional groups on the photophysical properties of dimethylamino chalcone as laser dyes», Optical materials,**2018**.
- [22]. Mezani.C., «Synthèse des composés 4,6-diaryl-3,4-dihydropyrimidin-2(1H)ones», mémoire de master, université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou,**2018**.
- [23]. SID.A., «Synthèse, Structure de quelques dérivés Pyrazoliniques et Etude de leur Activité Biologique », thèse de doctorat, université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi, **2012**.
- [24].PATEL.R.J.,«Synthesis of 1-(4-((E)-arylacryloyl)-3,4-dibromo-1H-pyrrole-2,5-dione) and screening for anti tuberculosis activity »,medecinal chemistry recherche,**2012**.
- [25].Belkacemi.L.,Kana.N.,«Conception et synthèse d'hétérocycle biologiquement actifs»,mémoire de master,université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou,**2016**.

- [26].BENUPANI.S.,« synthesis, caracterisation and biological evaluation of pyrazoline derivatives», Université de Jadavpur Inde, **2011**.
- [27].THIRRY.J.,«synthèse et fonctionnalisation d'hétérocycle d'intérêt biologique par methodologie TDAE », université Aix-Marseille II France, **2010**.,
- [28].GUESSAR.D. «Synthèse de quelque pyrazole », mémoire de master, université Ziane Achour de Djelfa, **2015**.
- [29].SAHER.L.,« Synthèse d'hétérocycles oxygénés et azotés d'intérêts thérapeutiques par réactions multicomposants. Valorisation des fluorophores par UV-visible et fluorescence», thèse de doctorat, université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, **2015**.
- [30].BENAZZOUZ-TOUAMI.A.,«Synthèse de nouvelles séries hétérocycliques d'intérêts thérapeutiques, valorisation en UV-visible et fluorescence», Thèse de doctorat , Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- [31].PERCIVAL.SL., «Microbiology of water bornediseases», ed. Amsterdam, Boston : Elsevier Academic Press, **2004**.
- [32].TABBI AOUATEF-BENMERRKHI.I , « Synthèse de Chalcones adamantylées, de dérivés Thiazoly|pyrazolines et évaluation de leurs activités antimicrobienne et anticancéreuse », université des Frères Mentouri-Constantine, Thèse de doctorat ,**2017**.
- [33].Kedjadja.A., «synthèse et caracterisation de nouveaux dérivés de chalcones, bichalcone pyrzone et bipyrazoline quinoleique à objectif thérapeutique » ,Thèse de doctorat en chimie organique,université 08 mai 45-guclma **2013**.
- [33].AJAY K.,JAYAROPA.P.,«pyrazoles : Synthetic Strategies and Their Pharmaceutical Application-An Overview», International Journal of Pharm tech Research CODEN(USA) ,**2013**.
- [34].SMAN.H.,«Méthode d'analyse spectroscopique en chimie organique »,ed.5740,**2017**.



ANNEXES

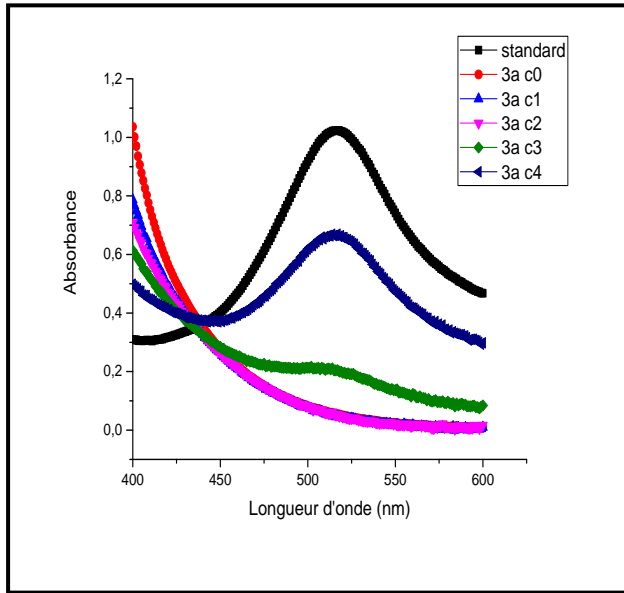


Figure 3.13 : Densité optique en fonction longueur d'onde du composé **3a**

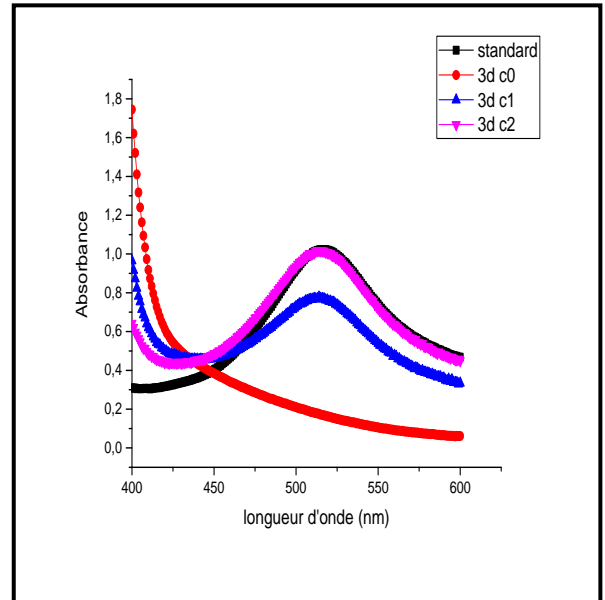


Figure 3.14 : Densité optique en fonction longueur d'onde du composé **3d**.

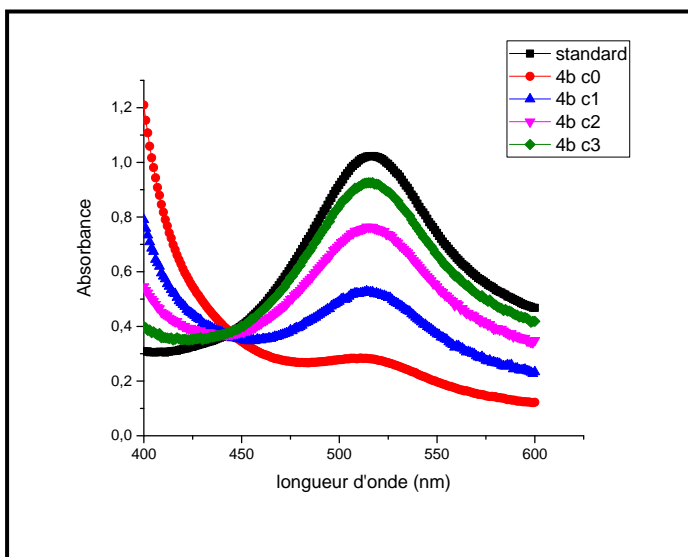


Figure 3.15 : Densité optique en fonction longueur d'onde du composé **4b**

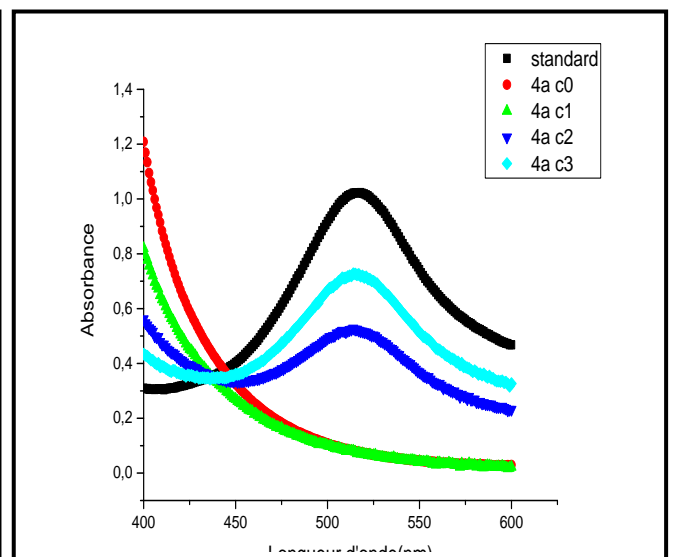


Figure 3.16 : Densité optique en fonction longueur d'onde du composé **4a**

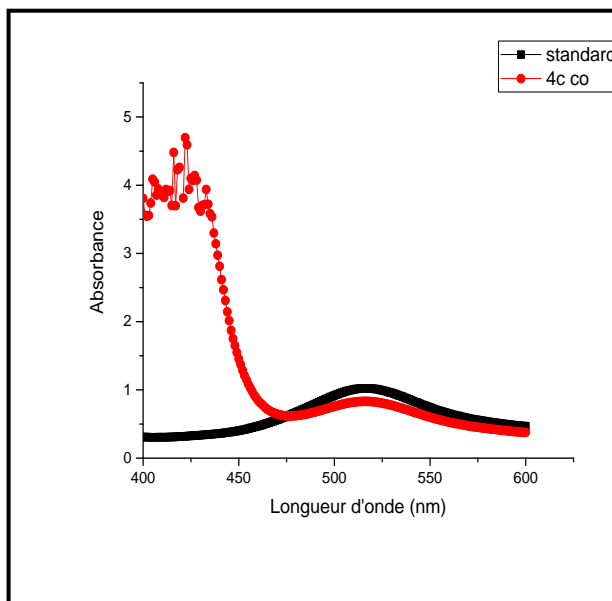


Figure 3.17: Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé **4c**

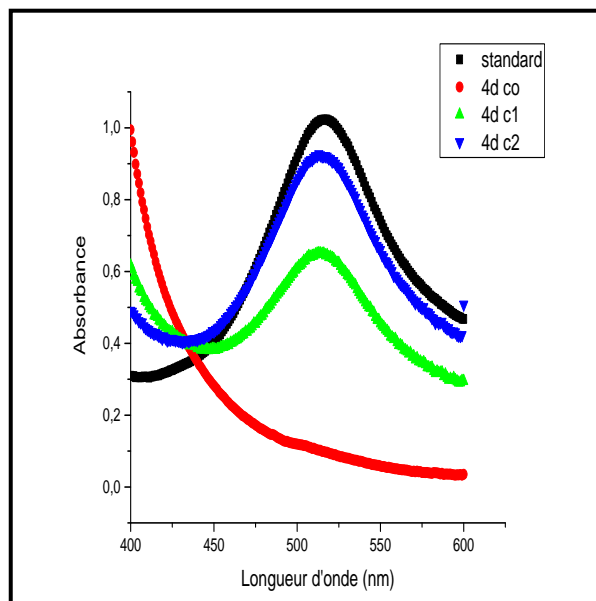


Figure 3.18: Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé **4d**

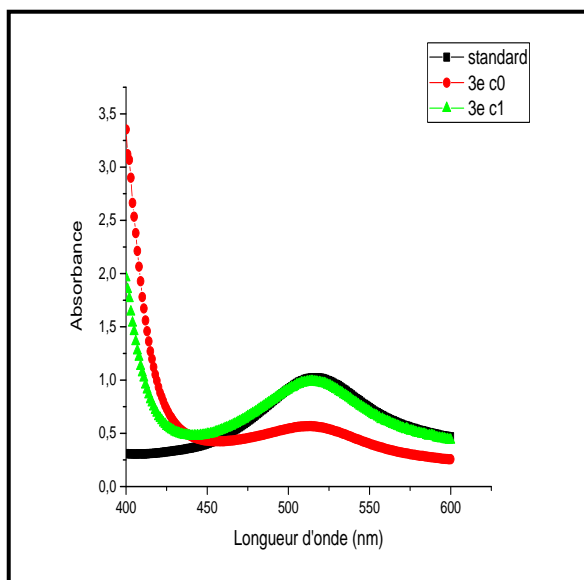


Figure 3.19 : Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé **3e**.

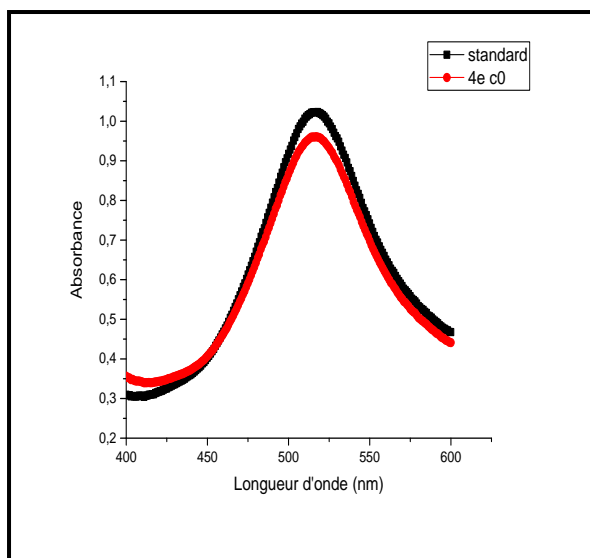


Figure 3.20 : Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé **4e**.

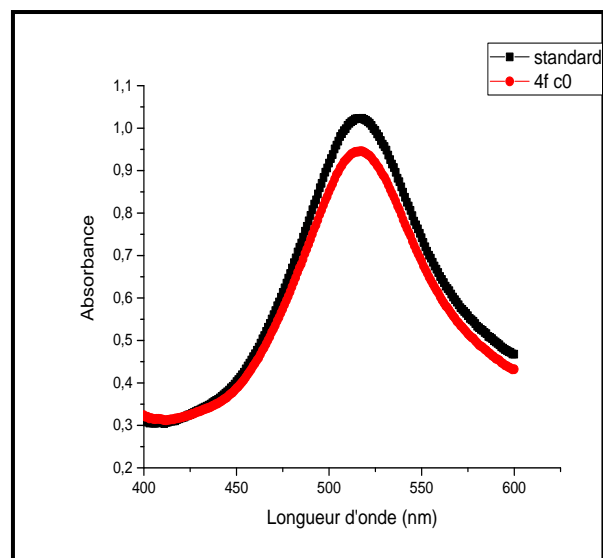


Figure 3.21 : Densité optique en fonction de la longueur d'onde du composé **4f**.

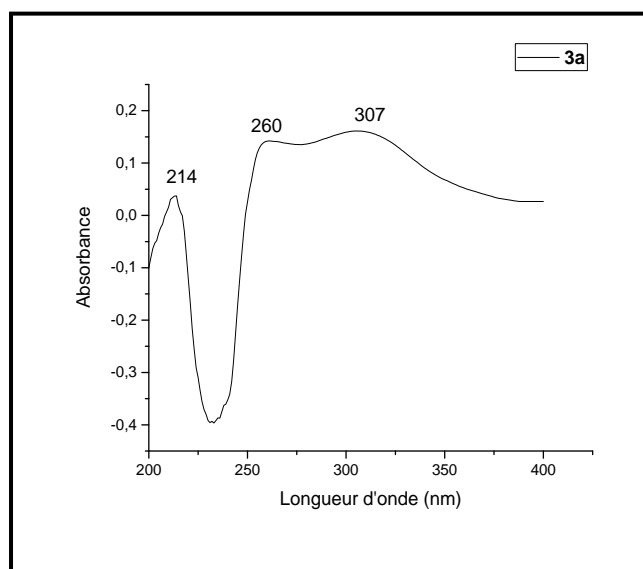


Figure 3.22 : Spectre UV-Visible du composé **3a** dans le DMSO.

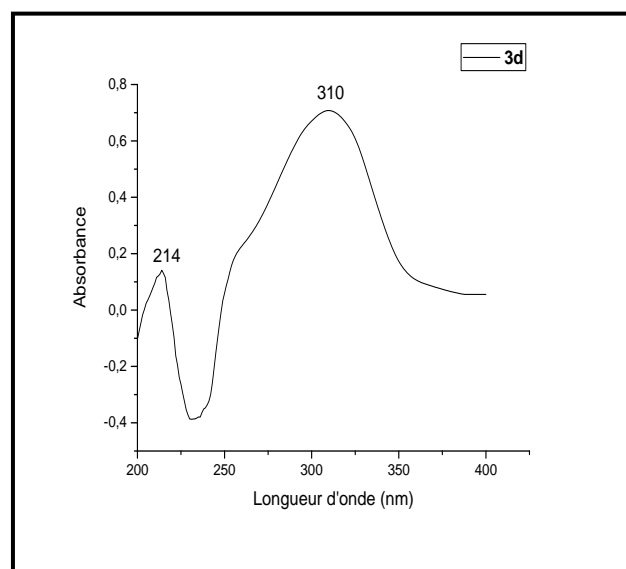


Figure 3.23: Spectre UV-Visible du composé **3d** dans le DMSO.

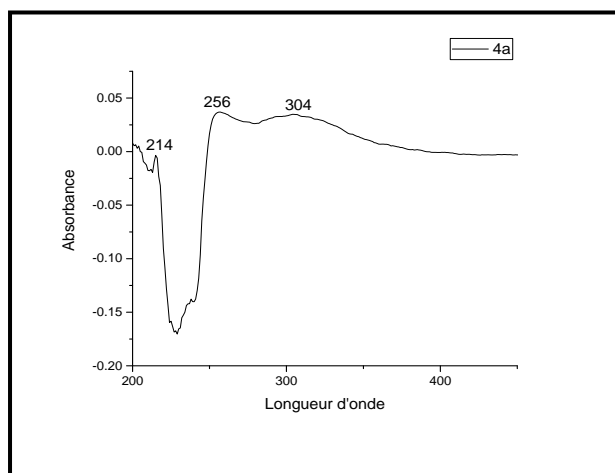


Figure 3.24 : Spectre UV-Visible du composé **4a**

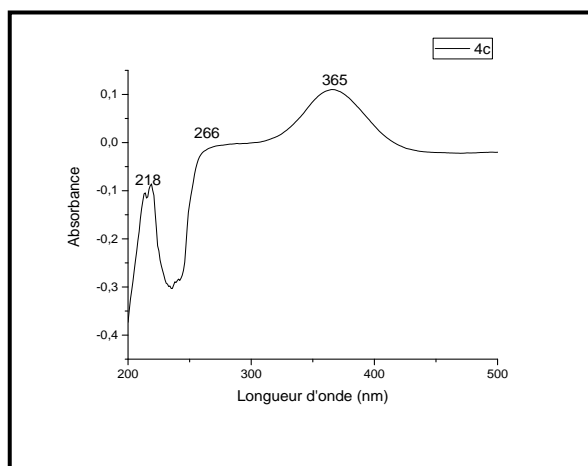


Figure 3.25 : Spectre UV-Visible du composé **4c**

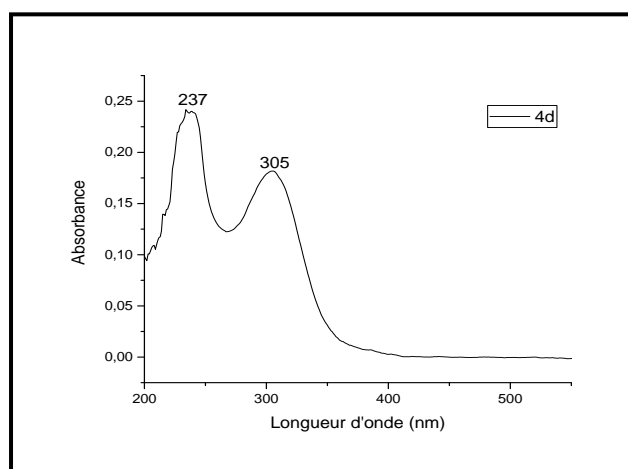


Figure 3.26 : Spectre UV-Visible du composé **4d**

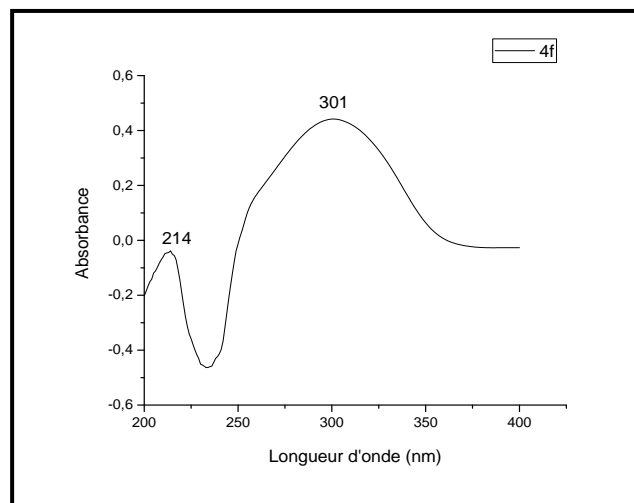


Figure 3.27 : Spectre UV-Visible du composé **4f**

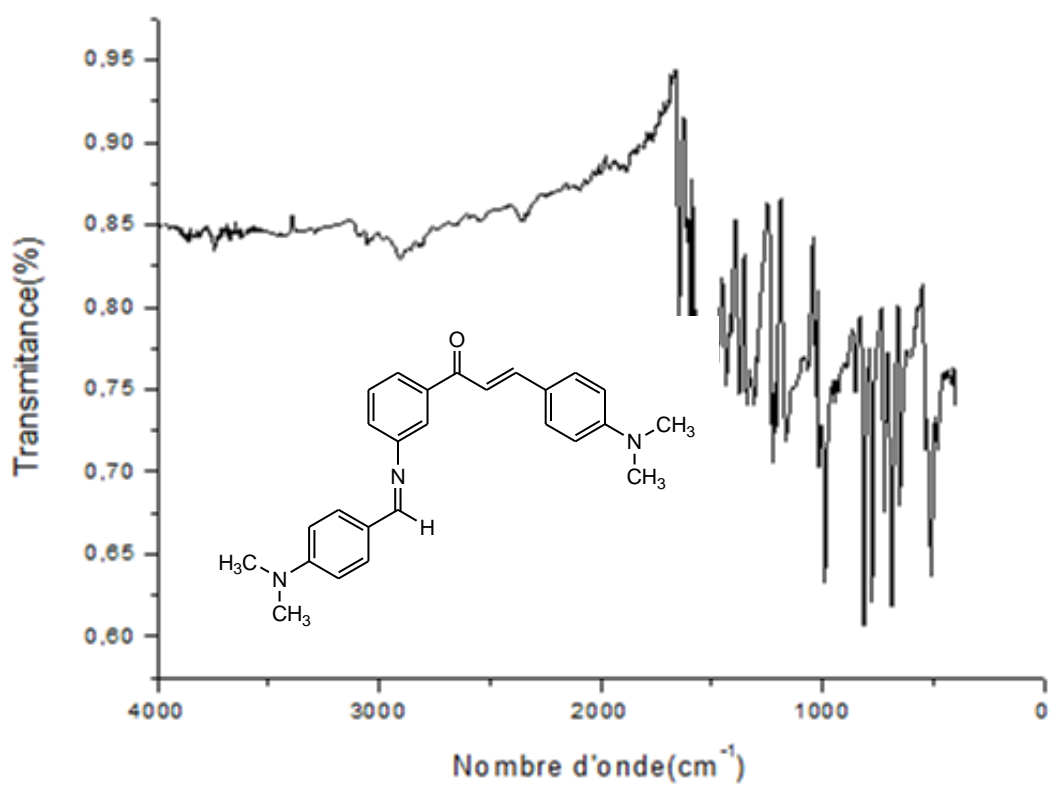


Figure 3.28: Spectre IR du composé 2C

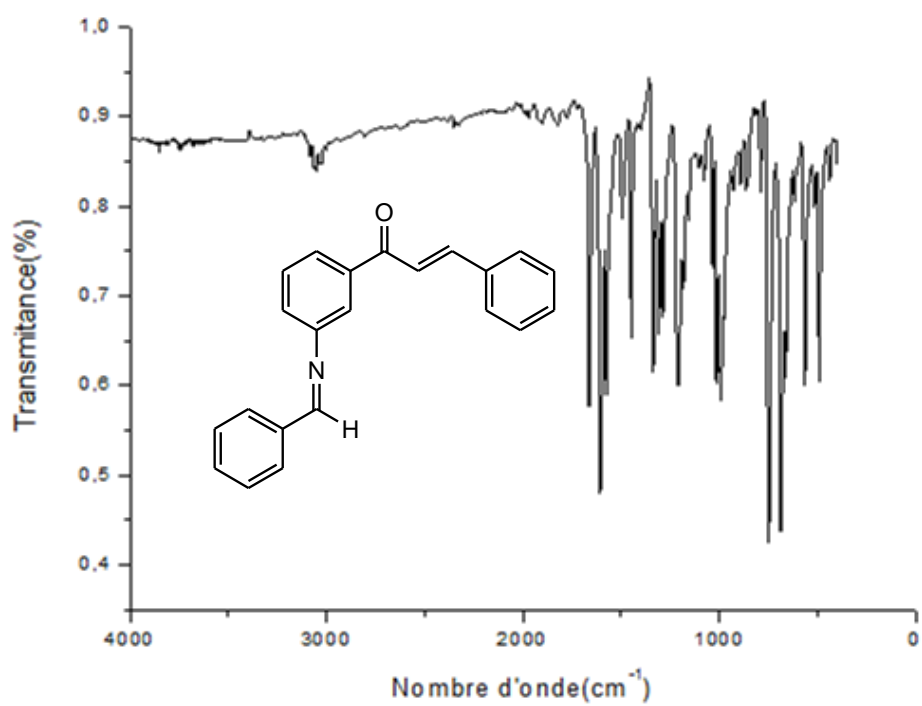


Figure 3.29 : Spectre IR du composé 2a

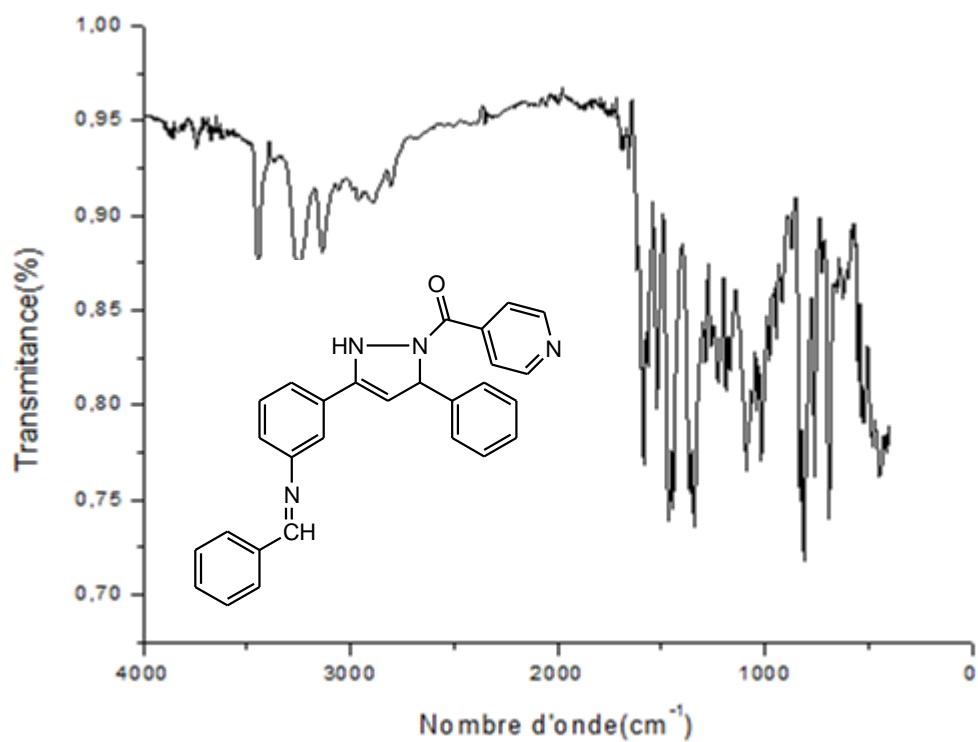


Figure 3.30: Spectre IR du composé 4a

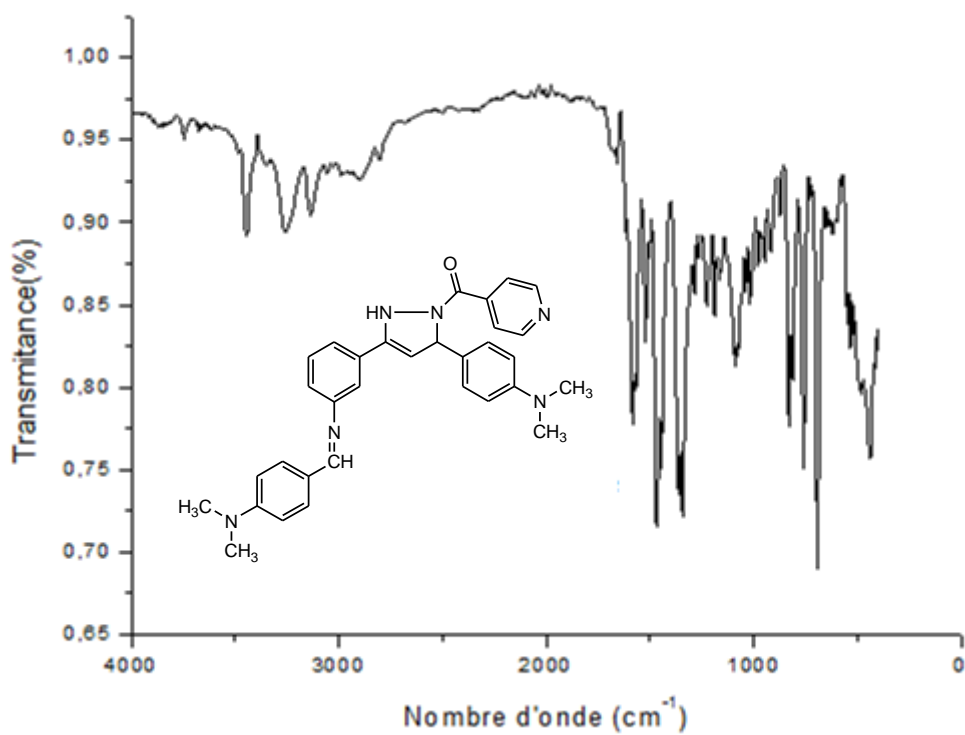


Figure 3.31: Spectre IR du composé 4c

La chimie des hétérocycles représente l'un des développements major de la chimie organique et médicinale. Ces composés qui ont vivement attiré l'intérêt de la recherche scientifique en raison de leurs potentialités d'application dans différents domaines, occupent aujourd'hui une place prépondérante principalement en industrie pharmaceutique due à la mise en évidence biologique ainsi que leur impact dans le domaine thérapeutique ; pour cela leur synthèse est devenue un sujet très important.

L'objet de ce travail est la synthèse organique des composés hétérocycliques comportant des noyaux pyrazolique avec des méthodes conventionnelle (chauffage au reflux).

L'ensemble des produits préparés ont été caractérisés par la chromatographie sur couche mince, les points de fusion et les techniques spectroscopiques UV/visible et IR. Enfin l'évaluation biologique de ces produit par des testes antioxydant et antibactérienne

Mots clés : chalcone, pyrazoline, hétérocycle.

Abstract

Heterocycle chemistry is one of the major developments in organic and medicinal chemistry. These compounds, which have strongly attracted the interest of scientific research because of their potential for application in various fields, occupy today a predominant place mainly in the pharmaceutical industry due to the biological demonstration as well as their impact in the field. therapeutic; for that, their synthesis has become a very important subject. The object of this work is the organic synthesis of heterocyclic compounds containing pyrazole rings with conventional methods (reflux heating).

All the prepared products were characterized by thin layer chromatography, melting points and spectroscopic UV / visible and IR techniques. Finally the biological evaluation of these products by antioxidant and antibacterial tests

Key words: chalcone, pyrazoline, heterocycle.