



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Echahid Hamma Lakhdar-Eloued
Faculté de la Technologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de :

MASTER ACADEMIQUE

Domaine: Sciences et Technologies

Filière: Industrie pétrochimique

Spécialité: Génie du raffinage

Thème

**Synthèse, caractérisation et application
biologique des ligands base de SCHIFF**

Présenté par :

TEDJANI Houssam Eddine

TEDJANI Hamza

TOUANSA Moatez Bellah

Soutenu le 04/06/2018

Devant le Jury:

Mr : AHMOUDA Kaouthar	Président	Université d'El Oued.
Mr : ROUAHNA Nour Eddine	Examineur	Université d'El Oued.
Mr : BOUDIAF Moussa	Rapporteur	Université d'El Oued.

2017/2018

Dédicaces

A mes chers parents

A mes chers frères

A tous mes amis et proches

A tous mes collègues

HOUSSAM

HAMZA

MOUATAZ BELLAH

Remercîments

Nous rendons grâce à ALLAH d'avoir donné la force, la volonté et la santé pour réaliser ce travail.

Notre gratitude et nos chaleureux remerciements sont adressés à toutes les personnes qui ont participé à la réalisation de ce mémoire, en particulier:

Nos premiers remerciements vont à **Moussa BOUDIAF**, à qui nous adressons notre profonde gratitude d'avoir accepté la charge de nous encadrer. Nous le remercions vivement pour son aide précieux, pour ces conseils éclairés au long de ce travail et pour la qualité de son encadrement si sérieux. Son dynamisme, sa générosité et sa grande patience.

Nous adressons nos sincères remerciements à l'enseignant en Faculté du biologie **Mounira KADRI** et à tous les enseignants du département de génie des procédés de la faculté de la technologie de l'Université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued; à tous les membres de laboratoire de génie des procédés; la responsable de laboratoire de biologie qui nous 'ont écouté, conseillé, aidé, avec patience, rigueur et sympathie.

Sommaire

Introduction générale	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I. Bases de SCHIFF	2
I.1. Définition.....	2
I.2. Classification des ligands bases de SCHIFF	2
I.2.1. Base de SCHIFF monodenté.....	4
I.2.2. Base de SCHIFF bidenté.....	5
I.2.3. Base de SCHIFF tridenté.....	5
I.2.4. Base de SCHIFF tétradenté.....	6
I.2.5. Base de SCHIFF pentadenté.....	7
I.2.6. Base de SCHIFF hexadenté.....	8
I.2.7. Base de SCHIFF heptadenté (N ₄ O ₃ donneurs).....	8
I.3. Caractérisation des bases de SCHIFF.....	8
I.4. L'importance des bases de SCHIFF.....	9
I.5. Utilisation des bases de SCHIFF.....	10
Chapitre II : Méthodes physico-chimique et biologique	
II.1. Objectif.....	12
II.2. Appareillage.....	12
II.3. Réactifs et solvants utilisés dans la synthèse.....	12
II.3.1. Réactifs Utilisés et leurs propriétés.....	12
II.3.2. Solvants utilisés et leurs propriétés.....	13
II.4. Montage expérimental.....	14
II.5. La chromatographie.....	14
II.5.1. La chromatographie sur couche mince (CCM).....	14
II.6. Techniques spectroscopiques.....	15
II.6.1. La spectroscopie UV-visible.....	15

II.6.2. LA spectroscopie infrarouge.....	16
II.7. Souches bactériennes.....	17
II.8. Solvants, réactifs et matériels utilisés dans l'activité antibactérienne des bases de SCHIFF.....	21
Chapitre III : Synthèse ,caractérisation et application biologique des ligands	
III.1. Synthèse des ligands.....	22
III.2.Purification.....	23
III.3. Dénomination des ligands.....	24
III.4. Rendement des produits.....	25
III.5. Caractérisation des produits par les méthodes spectroscopiques.....	25
III.5.1. Spectrophotométrie Ultraviolet-visible.....	25
III.5.2. Spectroscopie infrarouge.....	27
III.6. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	29
III.6.1. Méthode d'étude sur un milieu solide.....	29
III.6.2. Préparation des disques de papier.....	30
III.6.3. Préparation de milieu de culture.....	30
III.6.4. Préparation de la suspension microbienne.....	30
III.6.5. Préparation de l'inoculum.....	30
III.6.6. Concentrations utilisées pour les produits testés.....	30
III.7. Résultats de la détermination des diamètres d'inhibition de chaque souche par la méthode de diffusion.....	31
III.7.1. Les diamètres d'inhibition de Escherichia coli.....	32
III.7. 2. Les diamètres d'inhibition de Salmonella.....	33
III.7. 3. Les diamètres d'inhibition de Pseudomonas.....	34
III.7.4. Les diamètres d'inhibition de Listeria.....	35
Conclusion	36

Liste des figures

Chapitre I

Figure I.1 : Formation de bases de SCHIFF	2
Figure I.2 : Réaction générale de formation d'une base de SCHIFF (R1 ou R2 est un phénol)	2
Figure I.3 : Aldimine primaire.....	3
Figure I.4 : Aldimine secondaire.....	3
Figure I.5 : cétimine primaire.....	3
Figure I.6 : Cétimine secondaire.....	4
Figure I.7 : Exemple d'une base de SCHIFF monodenté.....	4
Figure I.8 : Complexe de Pd à base de SCHIFF monodenté.....	4
Figure I.9 : Exemples de bases de SCHIFF bidentés.....	5
Figure I.10 : Exemple de base de SCHIFF bidenté NO donneurs.....	5
Figure I.11 : Exemple de Base de SCHIFF tridenté (ONO donneurs).....	6
Figure I.12 : Exemple de base de SCHIFF tridenté (NON donneurs).....	6
Figure I.13 : Exemple d'une base de SCHIFF tétradenté (NNOO donneurs).....	6
Figure I.14 : Exemple de base de SCHIFF tétradenté (NNNO donneurs).....	7
Figure I.15 : Exemple de base de SCHIFF pentadenté (N2O3 donneurs).....	7
Figure I.16 : Exemple de base de SCHIFF pentadenté (N3O2 donneurs).....	7
Figure I.17 : Exemple de base de SCHIFF hexadenté.....	8
Figure I.18 : Base de SCHIFF heptadenté (N4O3 donneurs).....	8
Figure I.19 : N,N'-bis(salicylidène) éthylènediamine.....	9
Figure I.20 : 2,9-bis(2-hydroxyphényl)-1,10-phénanthroline.....	10

Chapitre II

Figure II.1 : Image photographique de montage d'une base de SCHIFF synthétisée.....14

Figure II.2 : les types de vibration.....17

Chapitre III

Figure III.1 : Réaction de la synthèse de LIG 1.....22

Figure III.2 : Réaction de la synthèse de LIG 2.....23

Figure III.3: Spectre UV-vis, Produit synthétisés LIG 1.....26

Figure III.4 : Spectre UV-vis, Produit synthétisés LIG 2.....27

Figure III.5 : Spectre IR, LIG 1.....27

Figure III.6 : Spectre IR, LIG 2.....28

Figure III.7 : Illustration de la méthode de diffusion sur boîte de Pétri.....29

Figure III.8 : L'effet des produits synthétisés sur Escherichia coli.....32

Figure III.9 : L'effet des produits synthétisés sur Salmonella.....33

Figure III.10 : L'effet des produits synthétisés sur Pseudomonas.....34

Figure III.11 : L'effet des produits synthétisés sur Listeria.....35

Liste des tableaux

Chapitre II

Tableau II.1 : Les micro-organismes utilisés et leur lieu d'obtention.....	18
Tableau II.2 : Listes des solvants et réactifs utilisés et leurs propriétés.....	21
Tableau II.3 : Listes des Matériels et leurs rôles.....	21

Chapitre III

Tableau III.1 : Les caractéristiques physiques de produits obtenus.....	24
Tableau III.2 : Les nombres de moles et le rendement.....	25
Tableau III.3 : Absorbances et longueurs d'ondes des produits synthétisés.....	26
Tableau III.4 : Attribution des bandes d'absorption des ligands.....	28
Tableau III.5 : représentation des différentes concentrations des dilutions.....	31
Tableau III.6 : la sensibilité de Escherichia coli.....	32
Tableau III.7 : la sensibilité de Salmonella	33
Tableau III.8 : la sensibilité de Pseudomonas	34
Tableau III.9 : la sensibilité de Listeria.....	35

Introduction générale

Introduction générale

Les bases de SCHIFF, nommé d'après HUGO SCHIFF en 1864. Elles sont des ligands largement exploités en chimie médicale et chimie de coordination, et ce revient à la simplicité de leurs préparation, ces ligands présentent des intérêt potentiels très variées pour un grand nombre de domaines interdisciplinaires telqus la médecine (traitement de plusieurs maladies ,la lutte contre la corrosion, la catalyse , le traitement des eauxetc [01].

Les succès de la thérapeutique moderne, sont les conséquences de nombreuses recherches dans le domaine des bases de SCHIFF, ces dernières ont été développées dans les domaines de synthèse, d'analyse et de contrôle des produits pharmaceutiques.

L'application des méthodes d'analyses chimiques était indispensable pour l'isolement, la purification et l'identification des éléments constitutifs des molécules médicamenteuses entre autres les antibiotique [02].

Dans les dernières années, les chercheurs se sont intéressés à la préparation des bases de Schiff par différentes méthodes, et ce pour les différences de réactivités médicale, biologique, et autre qu'elles présente. Elles utilisent des antibiotique, antibactérienne, anticancéreux, anti tumeurs, anti tuberculose et plusieurs maladies incurable.

Le but principal de ce travail est la synthèse de deux ligands bases de SCHIFF à partir des (phenyl hydrazine, 4-Méthoxy phenyl hydrazine) et le 2,6-Pyridinedicarboxaldehyde, puis l'étude de l'effet biologique sur des différentes bactéries.

Notre travail est réparti en trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à une présentation bibliographique sur les bases de SCHIFF.
- La description de la méthode physico-chimique et biologique est présenté dans le deuxième chapitre
- Le dernier chapitre est réservé à la synthèse, caractérisation et application biologique des ligands avec l'interprétation et la discussion des différents résultats obtenus.

Enfin, ce mémoire est clôturé par une conclusion générale.

Chapitre I
Synthèse
bibliographique

I. Bases de SCHIFF

C'est en 1864 que la première synthèse des composés iminiques fut réalisée par SCHIFF [01]. C'est ainsi que ces composés ont pris ensuite son nom (bases de SCHIFF).

I.1. Définition

Une base de SCHIFF est à l'origine le produit de la réaction entre un composé carbonylé et une amine primaire. Par extension, on appelle base de SCHIFF tout produit comportant une double liaison C=N issue de la réaction entre un azote nucléophile et un composé carbonylé. [02]

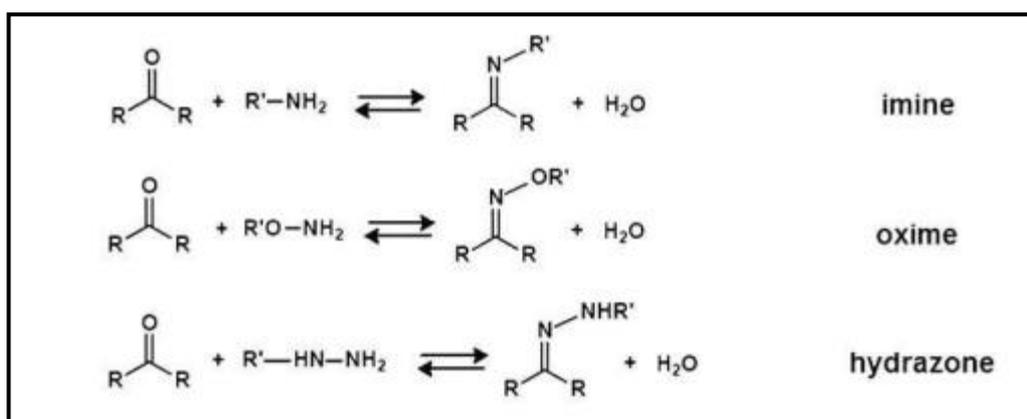


Figure I.1: Formation de bases de SCHIFF.

Une base de SCHIFF est définie comme tout produit comportant une fonction imine dont l'un des constituants sur le carbone ou sur l'azote, est un groupement aromatique. Ce produit résulte de la réaction entre un azote nucléophile provenant d'une amine primaire et un composé carbonylé, suivie de l'élimination d'une molécule d'eau (Figure I.2). [03]

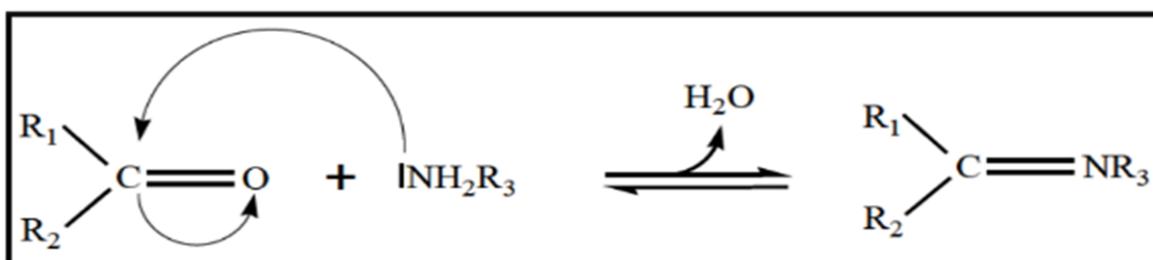


Figure I.2 : Réaction générale de formation d'une base de SCHIFF (R1 ou R2 est un phénol).

I.2. Classification des ligands bases de SCHIFF

Les imines sont des analogues des composés carbonylés (aldéhydes et cétones), on peut les classer suivant le groupement alkyle porté par l'azote comme suit :

*** Aldimine**

Est une imine dans laquelle le carbone lié à l'azote porte un groupe alkyle et un atome d'hydrogène. Lorsque l'atome d'azote est lié à un atome d'hydrogène ou un groupe hydrocarbyle, on l'appelle respectivement « aldimine primaire » ou « aldimine secondaire » comme suit :

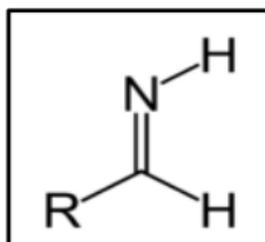


Figure I.3 : Aldimine primaire.

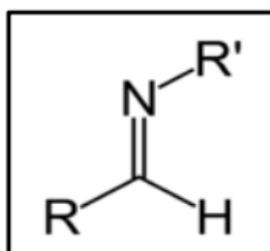


Figure I.4 : Aldimine secondaire.

*** Cétimine**

Une imine dans laquelle le carbone lié à l'azote est attaché à deux groupes alkyles est appelée « cétimine ». De même, en fonction de la nature du substituant de N, on l'appellera « cétimine primaire » ou « cétimine secondaire ».

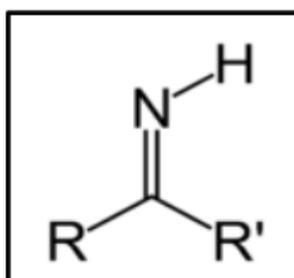


Figure I.5 : cétimine primaire.

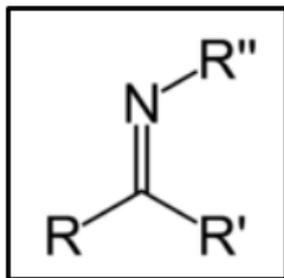


Figure I.6 : Cétimine secondaire.

On peut classer aussi, les bases de SCHIFF suivant leurs sites de coordination, on peut classer les ligands, selon plusieurs structures: mono, bi, tri, tétra, penta, hexa et heptadenté [04].

I.2.1. Base de SCHIFF monodenté

C'est une molécule qui possède un seul site de fixation à l'atome métallique, elle cède au métal central un doublet non liant avec création d'une liaison. Cette base est illustrée par l'exemple qui suit à savoir la réaction de la méthyl-amine avec le benzaldéhyde suivie par une déshydratation:

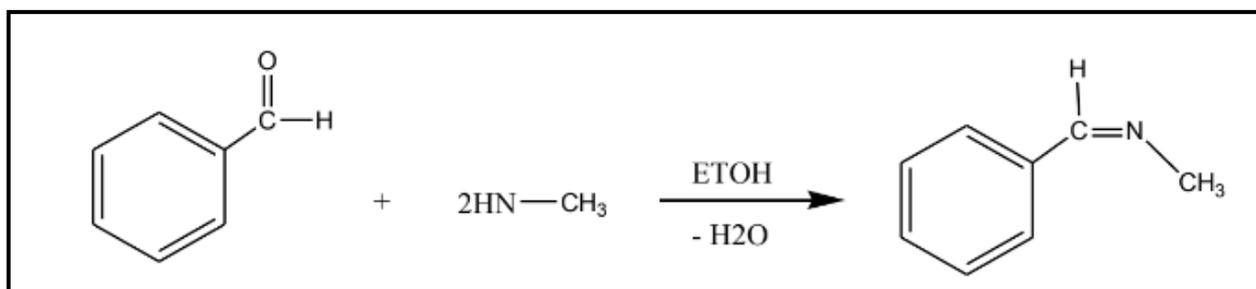


Figure I.7 : Exemple d'une base de SCHIFF monodenté.

Signalons toutefois que dans ce type de ligands, la présence d'un seul atome d'azote (N) comme donneur d'électron ne peut stabiliser le complexe [05], bien que Kuzmina et coll [06] aient pu former, avec les ligands illustrés en (Figure I.8), un complexe de palladium stabilisé par l'interaction : Pd... .H.

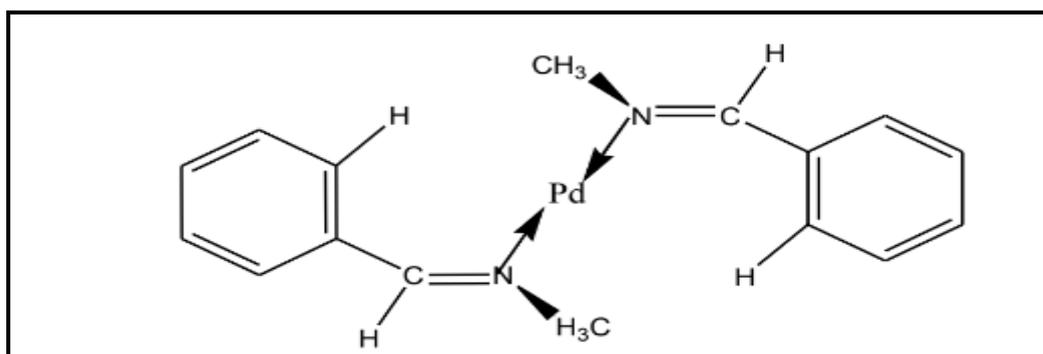


Figure I.8 : Complexe de Pd à base de Schiff monodenté.

I.2.2. Base de SCHIFF bidenté

Ce genre de base de SCHIFF peut exister sous forme de plusieurs types. Les bidentés peuvent être O,O ou bien N,N tels que les composés suivants :

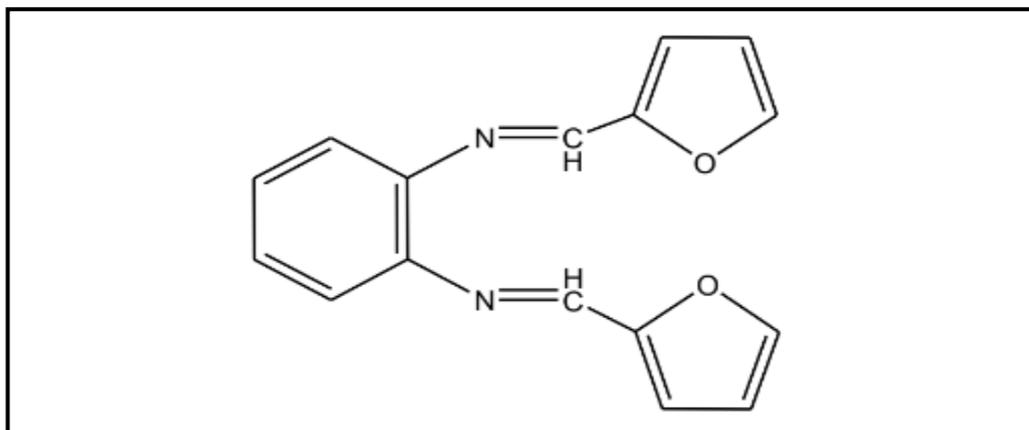


Figure I.9 : Exemples de bases de SCHIFF bidentés [07].

De plus, on peut trouver des ligands bases de SCHIFF contenant des sites N, O donneurs

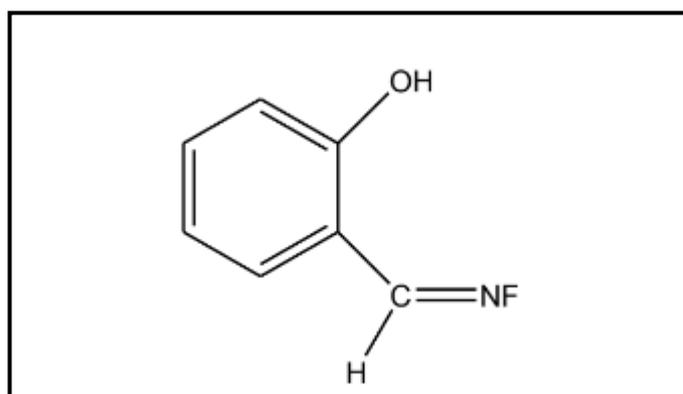


Figure I.10 : Exemple de base de SCHIFF bidenté NO donneurs [08].

I.2.3. Base de SCHIFF tridenté

L'utilisation des ligands tridentés dans la chimie de coordination fournit un moyen facile pour stabiliser les métaux de transition et les éléments donneurs qui profitent de l'effet chélate [09]. Les ligands tridentés qui ont un site (ONO) donneur réagissent avec les métaux de transition pour donner des hétérocycles stables [10].

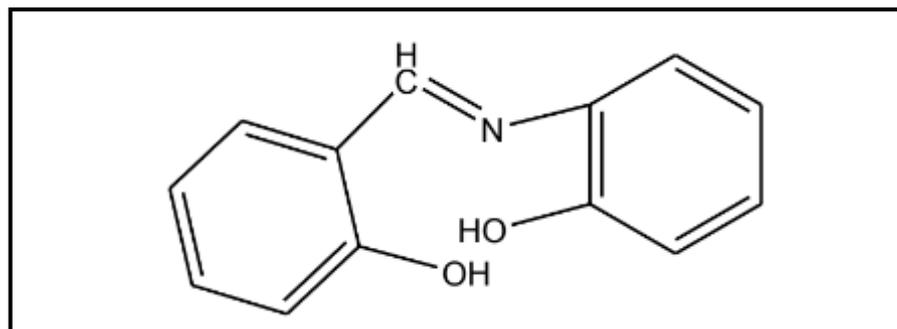


Figure I.11 : Exemple de Base de SCHIFF tridenté (ONO donneurs) [11].

On peut trouver également une base de SCHIFF tridenté (NON) qui peut être présentée par la réaction du salicylaldéhyde avec l'éthylène diamine dans un rapport 1:1.

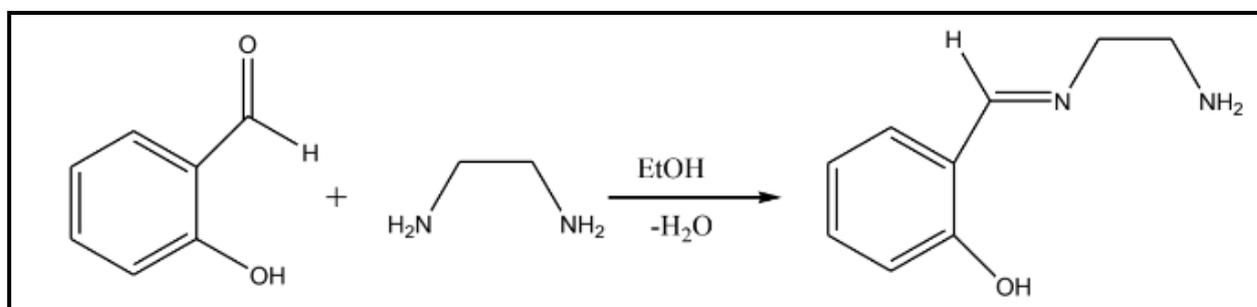


Figure I.12 : Exemple de base de SCHIFF tridenté (NON donneurs) [12].

I.2.4. Base de SCHIFF tétradenté

Les bases de SCHIFF tétradentés sont les plus étudiées en vue de l'obtention des complexes car elles présentent une grande habilité à coordonner les ions métalliques. Les complexes ainsi formés s'avèrent être stabilisés par leur structures relatives. Un grand nombre de ces bases de SCHIFF dérive de l'acétophénone, de salicylaldéhyde ou autres composés apparentés.

I.2.4.1. Type NNOO (N₂O₂) donneurs

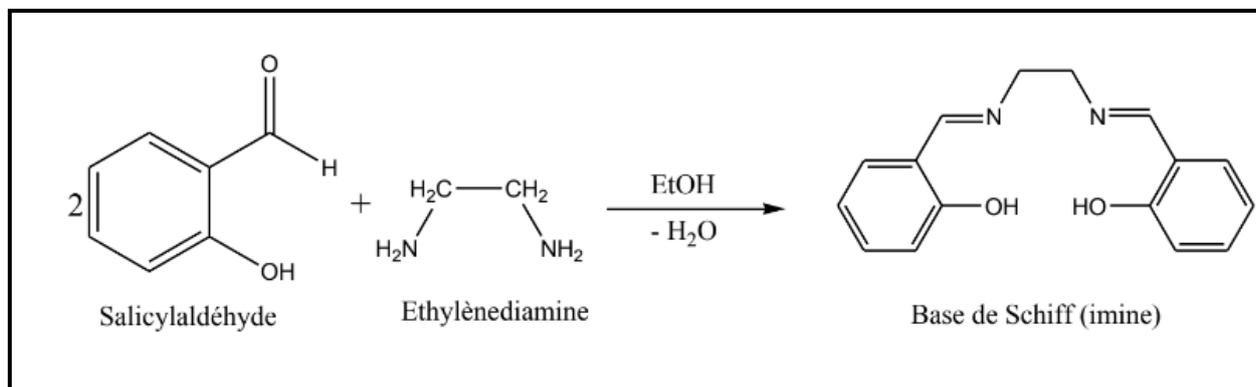


Figure I.13 : Exemple d'une base de SCHIFF tétradenté (NNOO donneurs) [13].

I.2.4.2. Type NNNO (N_3O) donneurs

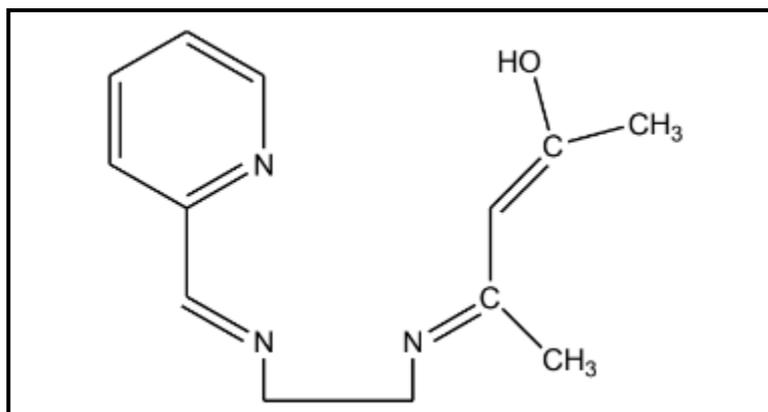


Figure I.14 : Exemple de base de SCHIFF tétradenté (NNNO donneurs) [14].

I.2.5. Base de SCHIFF pentadenté

I.2.5.1. Type NNOOO donneurs (N_2O_3)

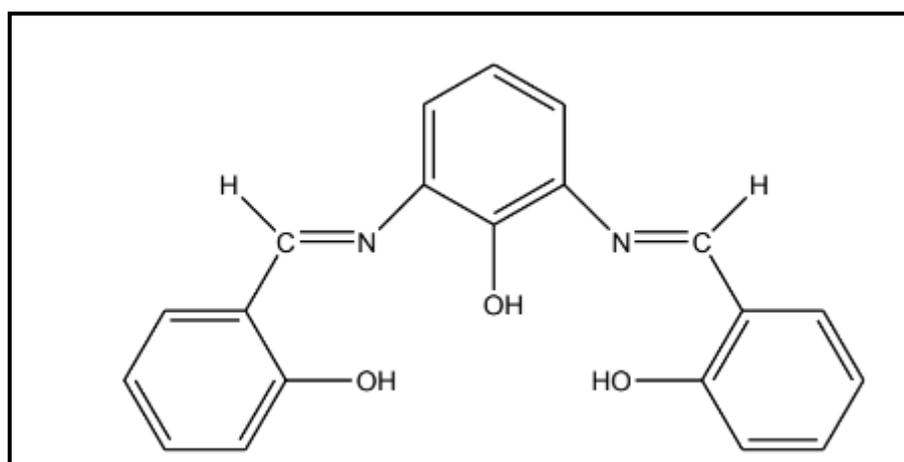


Figure I.15 : Exemple de base de SCHIFF pentadenté (N_2O_3 donneurs) [13].

I.2.5.2. Type N_3O_2 donneurs

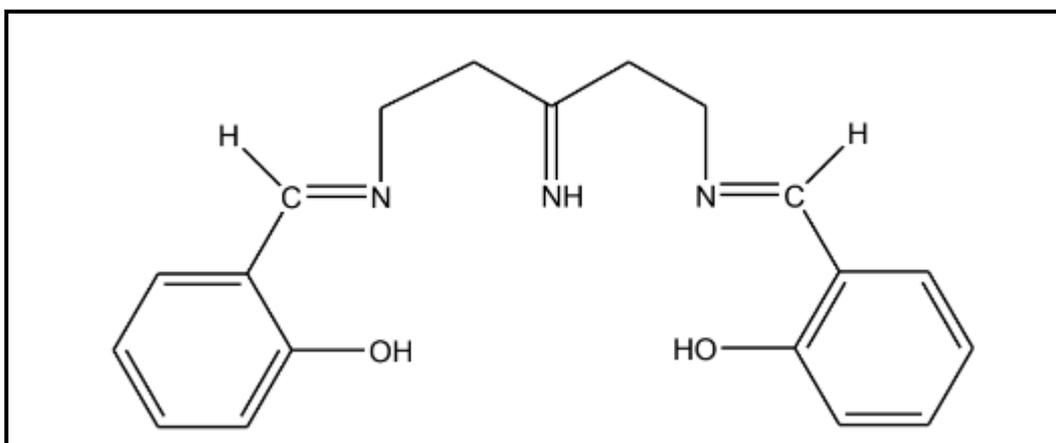


Figure I.16 : Exemple de base de SCHIFF pentadenté (N_3O_2 donneurs) [14].

I.2.6. Base de SCHIFF hexadenté

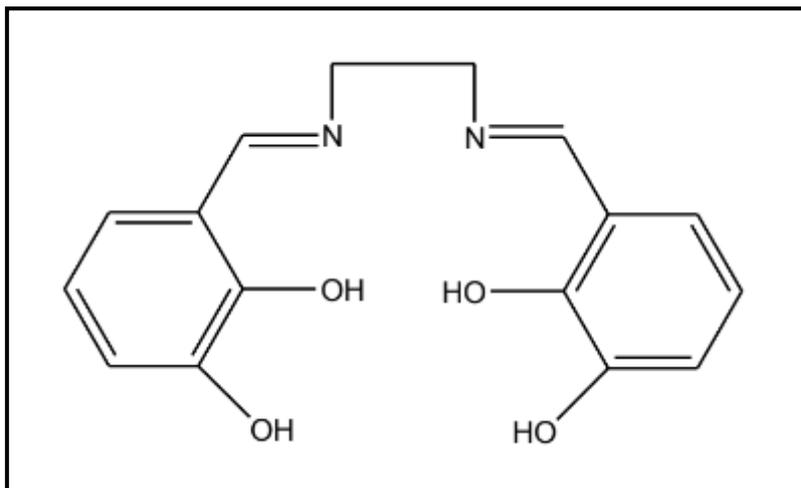
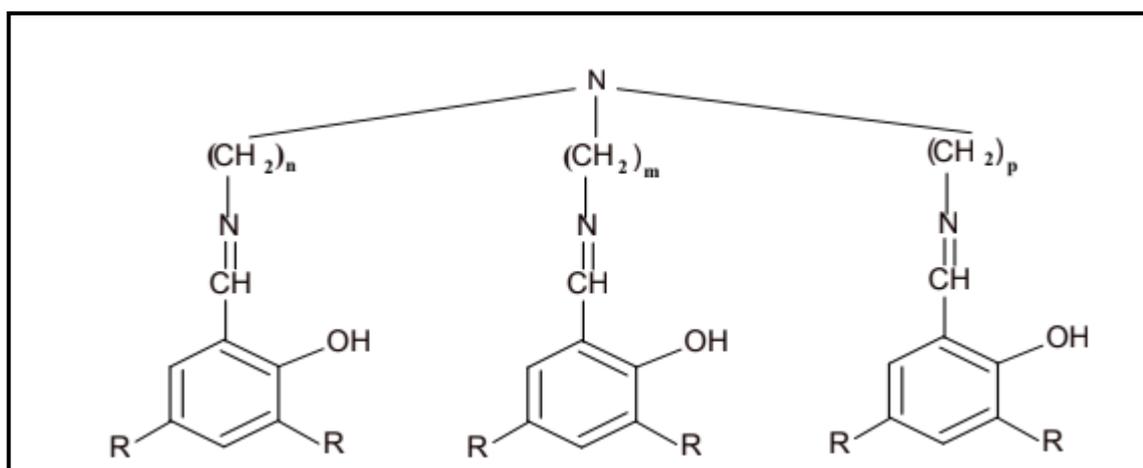


Figure I.17 : Exemple de base de SCHIFF hexadenté [15, 16].

I.2.7. Base de SCHIFF heptadenté (N_4O_3 donneurs)



(a): R=t-Bu, n=m=p=3.

(d): R=H, n=m=p=3

(b): R =t-Bu, n =m=3, p=2.

(e): R=H, n=m=3, p=2.

(c): R=t-Bu, n =m=p=2.

(f): R=H, n=m=p=2.

Figure I.18 : Base de SCHIFF heptadenté (N_4O_3 donneurs) [17].

I.3. Caractérisation des bases de SCHIFF

Les fréquences de vibration du groupe azométhine (C=N) des ligands des bases de SCHIFF sont comprises entre 1603 –1680 cm^{-1} selon la nature des différents substitutions sur les atomes du carbone et d'azote. Cette propriété fait de la spectroscopie infrarouge une technique de choix pour l'identification de ce groupement fonctionnel.

La RMN du proton H_1 est aussi un moyen puissant pour l'élucidation des caractéristiques structurales des bases de SCHIFF synthétisés en solution, particulièrement pour l'étude des tautomerismes ceto-enolique et thione-thiolique.

L'UV-Vis des composés contenant un chromophore non-conjugué sont caractérisés par des spectres de transition de type $n-\pi^*$ dans l'intervalle 235 –272 nm [18].

I.4. L'importance des bases de SCHIFF

Les Bases de SCHIFF en métal de transition jouent un rôle essentiel spécialement dans la médecine, les systèmes biologiques et les industries. Le champ de la médecine a été témoin d'une augmentation du nombre de complexes avec la valeur thérapeutique, par exemple :

a) comme nucléase artificielle

Actuellement, il y a un intérêt considérable au développement des nucléases synthétiques. L'utilité de tels composés s'étend de leur emploi comme outils en biologie moléculaire du développement de nouveaux médicaments potentiels à visée anticancéreuse ou antivirale. A titre d'exemple les dérivés du salène N, N' - bis (salicylidène) éthylènediamine (Figure I.19) complexés à différents métaux, constituent des nucléases artificielles.

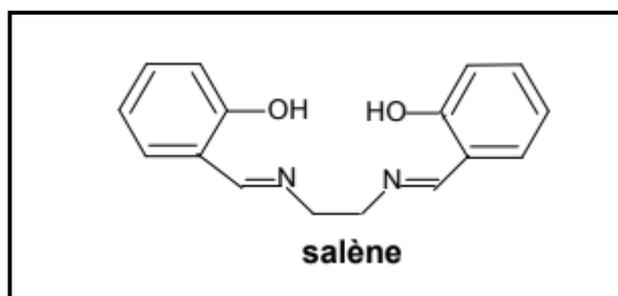


Figure I.19 : N,N'-bis(salicylidène) éthylènediamine.

Ces molécules sont connues pour être de bons chélateurs des métaux. La déprotonation des fonctions du ligand salénique fournit une double charge négative qui, avec des cations doublement chargés permet d'obtenir des complexes neutres. Des aménagements fonctionnels peuvent être réalisés au niveau du noyau aromatique ce caractère visait conférer aux salènes une meilleure affinité pour les acides nucléiques.

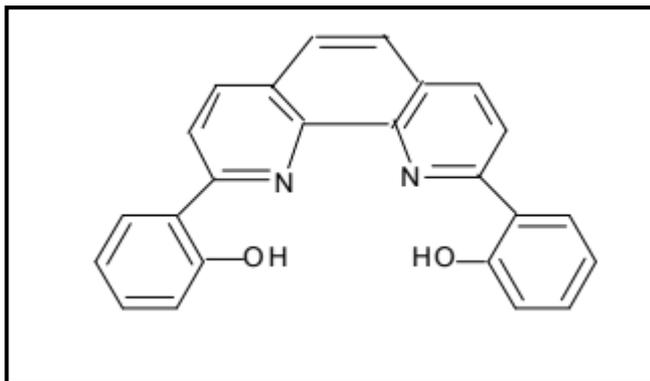


Figure I.20 : 2,9-bis(2-hydroxyphényl)-1,10-phénanthroline.

b) comme catalyseur chimique

Les complexes base de SCHIFF de (vanadyle) sont surtout utilisés en chimie comme catalyseur dans la transformation de divers composés [19], et notamment :

- L'électroréduction de O_2 en H_2O [20, 21].
- L'époxidation des oléfines [22]
- L'oxydation énantiosélective de sulfure en sulfoxyde [23, 24].
- L'addition asymétrique de cyanure de triméthylesilyle sur des aldéhydes [25].

I.5. Utilisation des bases de SCHIFF

L'importance des bases de SCHIFF réside dans leur utilisation comme antibactérienne, antifongique, anti tuberculose, anticancéreuses et anti tumeurs, ainsi que leurs capacités de capturer des ions métalliques. Les bases de SCHIFF jouent un rôle important dans la chimie analytique et industrielle, comme elles ont l'habitude de résister à la corrosion des métaux [26].

I.5.1. En catalyse

Les bases de SCHIFF ou leurs complexes avec des métaux sont employées dans plusieurs types de réactions, on cite par exemple: des réactions d'époxydation, d'hydrolyse et des réactions de décomposition. Des complexes de $Co(II)$ avec la base de SCHIFF sont utilisés dans l'époxydation d'oléfines. Certains complexes de cuivre, attachés à des acides aminés, augmentent le taux d'hydrolyse (de 10 à 50 fois) plus que l'ion de cuivre (II) seul. [27]

I.5.2. En biologie

Ils possèdent plusieurs applications, parmi lesquelles, leur application comme antimicrobien; les bases de SCHIFF d'acide aminé et leurs complexes avec Le Co et Fe montrent une activité

bactériostatique vers *B. Sublitis*, *E. Coli* et *S. Aureus*. Cependant, les complexes de Zn(II), Cd(II), Ni(II) et Cu(II) avec les bases de SCHIFF composés du furfural, semi-carbazide et avec la diamine furfuralidene montrent une activité antibactérienne. D'autres applications biologiques peuvent être citées: antifongique, antiviral, insecticide, anti-inflammatoires, anti-tumeur et cytotoxique. [28]

I.5.3. En polymère

Ils sont utilisés notamment dans la dégradation de résines (gomme) naturelle, comme initiateur d'émulsion polymérique et la copolymérisation des monomères de diényle et vinyle.

I.5.4. En magnétisme

Ils sont utilisés comme aimants moléculaires (de tailles étendues) ou molécules à haut spin (de tailles nanométriques). [29] G. Leniec et al ont déterminé des interactions antiferromagnétiques fortes entre les complexes de Gd(III) et la diminution de moment magnétique avec la diminution de la température. [30]

Chapitre II

**Méthodes physico-
chimique et biologique**

II.1. Objectif

L'objectif principal de ce travail est la synthèse des bases de SCHIFF à partir d'aldéhyde (2,6-Pyridinedicarboxaldehyde) et des amines (phenyl hydrazine et 4-Méthoxy phenyl hydrazine), les caractérisées par une série de techniques d'analyse physico-chimiques (CCM, IR, UV-vis), puis une application biologique.

II.2. Appareillage

- ✓ Balance
- ✓ Un agitateur magnétique.
- ✓ Réfrigérant
- ✓ Barreau magnétique
- ✓ Pince mâchoire
- ✓ Ballon monocol
- ✓ Une plaque chauffante.
- ✓ Les Spectres (UV) sont enregistrés sur un appareil Spectrophotomètre SP-UV500DB.
- ✓ Les spectres (IR) sont enregistrés sur un appareil Spectromètre THERMO FISHER SCIENTIFIC NICOLET IS5.

II.3. Réactifs et solvants utilisés dans la synthèse

II.3.1. Réactifs Utilisés et leurs propriétés

❖ 2,6-Pyridinedicarboxaldehyde 97 % (Aldrich)

Formule brute : $C_7H_5NO_2$

Masse molaire (g/mol) : 135.12

Forme : cristalline

Couleur : blanc

Autre noms : 2,6-diformylpyridine, 2,6-pyridine dialdehyde, 2,6-pyridinedicarbaldehyde

Propriétés :

T°d'ébullition (°C): 152-154

T° de fusion (°C) : 124-125

Solubilité : soluble dans l'éthanol

❖ phenyl hydrazine 97 % (Aldrich)

Formule brute : $C_6H_5NHNH_2$

Masse molaire (g/mol) : 108.14

Forme : liquide

Autre noms : Hydrazinobenzene, Monophénylhydrazine

Solubilité : soluble dans éthanol et autres solvants

Propriétés :

T° d'ébullition (°C) : 238-241

T° de fusion (°C) : 18-21

❖ 4-Méthoxyphenylhydrazine hydrochloride 95 % (Aldrich)

Formule brute : $CH_3OC_6H_4NHNH_2 \cdot HCl$

Masse molaire (g/mol) : 174.63

Forme : poudre

Couleur : beige

Autre noms : 1-(4-Méthoxyphenyl)hydrazine hydrochloride

Solubilité : soluble dans éthanol et autre solvant

Propriétés :

T° de fusion (°C) : 160-162

II.3.2. Solvants utilisés et leurs propriétés**❖ Ethanol (C_2H_6O)**

Masse molaire (g/mol) : 46,06

Point d'ébullition (°C) : 79

❖ Dichlorométhane (DCM) (CH_2Cl_2)

Masse molaire (g/mol) : 84,93

Point d'ébullition (°C) : 40

❖ Diméthyle sulfoxyde (DMSO) (C_2H_6OS)

Masse molaire (g/mol) : 78.133

Point d'ébullition (°C) : 190.85

II.4. Montage expérimental

Le montage expérimental utilisé pour la synthèse est le montage classique de synthèse au reflux, il est constitué des éléments suivant : (Un agitateur magnétique, réfrigérant, pince mâchoire, ballon monocol, barreau magnétique) (figure II.1)

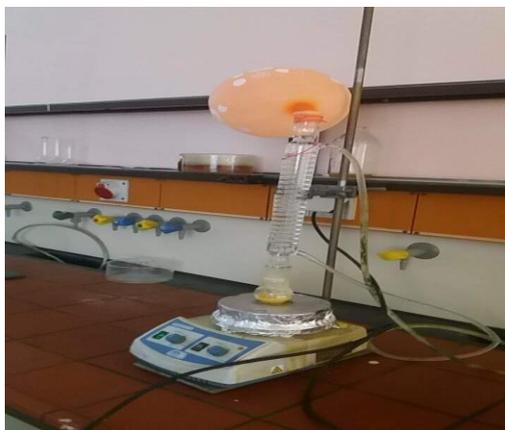


Figure II.1 : Image photographique de montage d'une base de SCHIFF synthétisée.

Partie I : Méthode physico-chimique

II.5. La chromatographie

L'apparition de ce technique remonte à 1903, à la quelle le botaniste russe M.Tswett a réalisé la séparation de pigments végétaux de la chlorophylle [01].

La période d'extension de la chromatographie d'absorption commença en 1930[02].

Les séparations par chromatographie mettent en œuvre de techniques basées sur des propriétés physiques générales des molécules.

II.5.1. La chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie est une méthode physique de séparation de mélanges en leurs constituants; elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile.

La chromatographie sur couche mince, ou sur plaque (CCM), est effectuée surtout en vue d'une analyse d'un mélange qu'est fixé sur un support appelé phase stationnaire (un gel de silice déposé en couche mince sur une plaque d'aluminium). Il est entraîné par un solvant ou un mélange de solvants approprié (phase mobile ou éluant) qui migre par capillarité sur la plaque. Les constituants du mélange se séparent par migration

différentielle : chacun d'eux est d'autant plus entraîné par l'éluant qu'il est plus soluble dans celui-ci et moins adsorbé sur la phase stationnaire [03].

Après migration les taches doivent être révélées ; c'est la détection qui peut se faire soit :

- ✓ Pulvérisation d'un réactif caractéristique
- ✓ Par immersion dans un bain de permanganate de potassium
- ✓ Par pulvérisation de vapeur de di-iode
- ✓ Par observation à la lumière UV si la plaque de silice comporte un indicateur de fluorescence

Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et celle du solvant avec un rapport frontal (R_f) qui est défini par le rapport:

$$R_f = \frac{\text{Hauteur de tache}}{\text{Hauteur du front de solvant}}$$

Chaque tache correspond à un constituant et on l'identifie par comparaison du R_f avec un témoin (une même substance migre à la même hauteur dans des conditions opératoires identiques; même R_f) [04]

II.6. Techniques spectroscopiques

Pour analyser un produit synthétisé, on dispose des techniques physiques diverses telles que la spectroscopie infrarouge et UV-visible . Ces méthodes d'étude physiques des composés organiques mettent en jeu l'interaction d'une onde électromagnétique avec la matière. Selon le domaine d'énergie impliqué, différents transitions peuvent être excitées. Le principe consiste en l'enregistrement de l'énergie absorbée ou de l'énergie émise en fonction de la fréquence de l'onde incidente ou de sa longueur d'onde.

II.6.1. La spectroscopie UV-visible

C'est la plus ancienne des spectroscopies d'absorption utilisées par le chimiste. Le domaine des UV s'étend en principe de $\lambda = 10$ nm à $\lambda = 400$ nm et le domaine de la lumière visible de $\lambda = 400$ nm à $\lambda = 800$ nm. Cependant, on se limite en général à $\lambda > 200$ nm en raison de l'opacité de l'air pour les longueurs d'onde inférieures à 190 nm.

Pour enregistrer le spectre UV-visible d'une substance, on prépare une solution diluée de concentration définie que l'on introduit dans une cuve en verre (ou en quartz pour les longueurs d'ondes inférieures à 350 nm). Le solvant doit être transparent dans la zone de longueurs d'onde choisie. Sa nature doit être relevée, car elle peut avoir une influence sur les caractéristiques du spectre. Dans le spectrophotomètre, l'échantillon est traversé par un faisceau lumineux et un détecteur mesure, pour chaque longueur d'onde, l'intensité avant et après absorption (I_0 et I). Le spectre UV-visible est constitué par le courbe $\log(I/I_0) = f(\lambda)$, λ étant exprimé en nm. Il se présente sous la forme de larges bandes que l'on caractérise par leurs longueurs d'onde au maximum d'absorption (λ_{\max}) et leurs coefficients d'absorbance (ϵ). C'est une spectroscopie quantitative, qui est régie par la loi de Beer-Lambert si la solution est suffisamment diluée:

A: absorbance

ϵ : coefficient d'absorbance ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$)

$\log I/I_0 = A = \epsilon l c$ (ou coefficient d'extinction molaire)

l : longueurs de la cuve en cm

C: concentration de la solution en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

On considère en général que cette loi est vérifiée lorsque l'absorbance est inférieure à 2.

Pour les composés organiques, l'absorption des radiations UV-visible correspond à une transition électronique entre une orbitale de basse énergie et une de plus haute énergie pour des électrons ($\pi - \pi^*$) ou les paires non liantes des hétéro atomes (transitions $n - \sigma^*$ ou $n - \pi^*$). Les bandes d'absorption observées sont en général très larges en raison de la présence de nombreux niveaux vibrationnels et rotationnels tant aux niveaux fondamentaux qu'à l'état excité [05].

II.6.2. LA spectroscopie infrarouge

Cette spectroscopie est utilisée de manière routinière en laboratoire de chimie depuis 1950. C'est une technique d'analyse utilisée pour l'identification des groupements fonctionnels de produit synthétisé. Le domaine de fréquence le plus couramment utilisé s'étend de 4000 à 650 cm^{-1} et correspond à des transitions entre niveaux vibrationnels. Ces vibrations peuvent être des vibrations d'élongation ou de déformation (figure II.2) et seules celles entraînant une variation du moment dipolaire de la molécule sont actives pour cette spectroscopie.

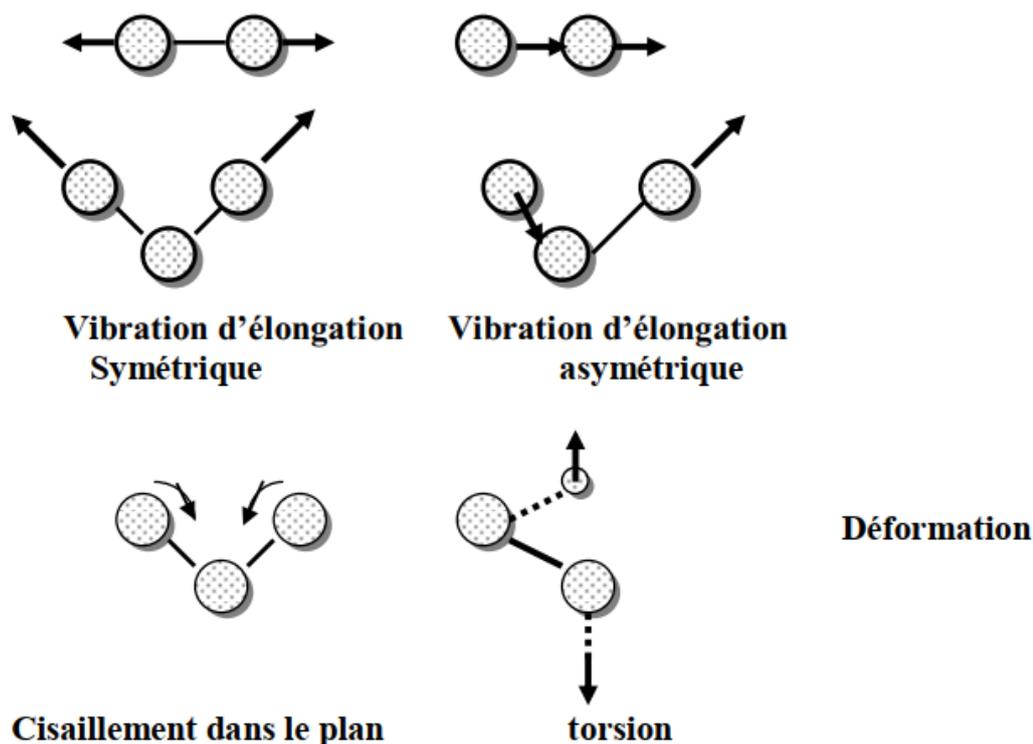


Figure II.2 : les types de vibration.

Dans le spectrophotomètre, un faisceau lumineux traverse l'échantillon et, comme en spectroscopie UV-visible, un détecteur mesure l'intensité avant et après absorption (I_0 et I). Traditionnellement, l'enregistrement d'un spectre IR est effectué en pourcentage de transmission : $T = I/I_0 = f(\nu)$, où ν est le nombre d'onde ($\nu = 1/\lambda$) en cm^{-1} . c'est une spectroscopie quantitative qui peut être utilisée pour doser un composé.

Cependant, dans le cas des spectres enregistrés à l'état solide (dispersion dans une pastille de KBr), on observe une diminution progressive de la transmission pour les fréquences élevées.

Partie II : Méthode biologique

II.7. Souches bactériennes

L'importance massive des bases de SCHIFF dans le domaine biologique nous a orientés vers des testes bactériologique en présence de différentes souches bactériennes pathogènes, pour évaluer leur propriété antibactérienne.

Tableau II.1 : Les micro-organismes utilisés et leur lieu d'obtention.

Souches	Lieu de l'obtention
Escherichia coli	laboratoire de biologie de l'université de Echahid Hamma Lakhdar de Eloued
Salmonella	
Pseudomonas	
Listeria	

• Escherichia coli

Escherichia coli appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles à coloration de Gram négative, non sporulés, anaérobies facultatifs et qui ne possèdent pas d'oxydase. Le genre Escherichia compte 5 espèces : E. coli, E. fergusonii, E. hermanii, E. vulneris et E. blattae.

L'espèce E. coli est considérée comme un hôte normal, c'est-à-dire commensal, de la microflore digestive de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud. E. coli appartenant à des sérotypes particuliers ont été répertoriées, chez l'homme comme chez l'animal, comme étant des souches pathogènes responsables d'affections variables ; d'une simple diarrhée à des infections systémiques sévères voire mortelles [06].

• Salmonella

Les bactéries du genre Salmonella forment une seule espèce, à l'intérieur il y a plusieurs sous espèces, chaque sous espèce est divisée en sérotypes caractérisés par une formule antigénique spécifique. Les sérotypes peuvent être subdivisés à leur tour en biotypes (caractères biochimiques). Les sérotypes de Salmonella, sont identifiés par leurs réactions antigéniques. Certaines Salmonella sont strictement adaptées à l'homme comme: S.typhi, S.paratyphi (A, B et C), S.sendaii, responsables de la fièvre typhoïde et paratyphoïde humaine, et ne manifestent pas de pouvoir pathogène en dehors de l'espèce humaine, ce sont les "salmonelles majeures". Et il y a d'autres sérotypes, qui peuvent engendrer des toxi-infections alimentaires comme S.enteritidis et S.typhimurinum, qui sont connues comme des "salmonelles mineures" [07, 08], qui peuvent déterminer des infections chez de nombreuses espèces animales [09]. Un manque d'hygiène est très souvent à l'origine de la transmission.

• **Pseudomonas**

Ce genre appartient à la famille des Pseudomonadaceae. Les bactéries de cette famille sont des bâtonnets, mobiles par cils polaires, aérobies strictes. Les *Pseudomonas* cultivent facilement sur milieux usuels, en aérobiose, à la température de 30°C, certaines espèces comme *P.aeruginosa* en sont capables à 41°C et même 43°C; ce caractère étant utilisé pour le diagnostic. La production d'un pigment est assez commune dans le genre. Deux sont particulièrement fréquents et utiles pour la reconnaissance des espèces: la pyocyanine, pigment phénazinique, soluble dans l'eau et le chloroforme, spécifique de l'espèce *P.aeruginosa*; la pyoverdine, ou pigment vert fluorescent, soluble uniquement dans l'eau et élaborée en particulier par *P.aeruginosa* et *P.fluorescens*. Ces bactéries sont capables d'utiliser une variété très large de substrats comme source de carbone et d'énergie. Ceux-ci comprennent les glucides, lipides, acides aminés, acides organiques, et aussi un grand nombre de corps aromatiques benzéniques, phénoliques, terpénique, des stéroïdes, etc.

Dans le genre *Pseudomonas* quelques espèces se signalent à l'attention, du fait de leur pouvoir pathogène opportuniste. *P.aeruginosa*, l'espèce type, est un germe ubiquiste communément rencontré dans le sol et plus encore dans les eaux, capable de se multiplier à 41°C contrairement à *P.fluorescens* et *P.putida*. Fréquemment isolé sur la peau et les muqueuses de l'homme ou de l'animal, il est aussi particulièrement résistant aux antibiotiques et même aux antiseptiques. En milieu hospitalier il est à l'origine de surinfections et de suppurations locales ou profondes, isolé essentiellement chez des patients présentant une immunodéficiência locale ou générale (brûlés, cancéreux, etc.), et très fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales (infections pulmonaires, cutanées...). De même qu'il est phytopathogène avec beaucoup d'autres espèces du même genre [07].

• **Listeria**

Listeria est une famille de bactéries qui comprend dix espèces. L'une d'elles, *Listeria monocytogenes*, est responsable de la maladie appelée listériose chez l'homme et l'animal. Bien que rare, la listériose est souvent grave, avec des taux élevés d'hospitalisation et de mortalité. Dans l'UE, environ 1470 cas humains ont été signalés en 2011, avec un taux de mortalité de 12,7 %.

Listeria est présente dans le sol, les plantes et l'eau. Des animaux, notamment les bovins, les ovins et les caprins, peuvent également être porteurs de la bactérie.

La consommation de denrées alimentaires ou d'aliments pour animaux contaminés est la principale voie de transmission à l'homme et aux animaux. Des infections peuvent également survenir par contact avec des personnes ou des animaux infectés.

La cuisson à des températures supérieures à 65 °C tue la bactérie. Cependant, *Listeria* peut contaminer des aliments après la production (la contamination peut par exemple se produire après la cuisson de l'aliment mais avant son emballage). Contrairement à de nombreuses autres bactéries d'origine alimentaire, *Listeria* tolère des environnements salés et peut se multiplier même à des températures froides (entre +2 °C et 4 °C).

La robustesse de cette bactérie, associée aux taux élevés de mortalité chez l'homme, implique qu'une manipulation sûre des aliments revêt une importance capitale pour assurer la santé publique.

Chez les personnes infectées, les symptômes sont variables: ils peuvent aller de symptômes grippaux légers, tels que nausées, vomissements et diarrhées, à des infections plus graves, comme la méningite et d'autres complications pouvant engager le pronostic vital. Les personnes qui sont plus sensibles aux infections par *Listeria* sont les personnes âgées, les femmes enceintes, les nouveau-nés et les personnes dont le système immunitaire est affaibli. Chez les animaux d'élevage comme les ovins et les caprins, la listériose peut provoquer une encéphalite, un avortement ou une mastite. Toutefois, les animaux peuvent également être porteurs de la bactérie sans être malades.

Listeria monocytogenes peut être présente dans de nombreuses denrées alimentaires, par exemple du poisson fumé, des viandes, des fromages (en particulier les fromages à pâte molle) et des légumes crus.

Pour prévenir la listériose, il est important d'appliquer de bonnes pratiques de fabrication, de bonnes pratiques d'hygiène et un contrôle efficace de la température tout au long de la chaîne de production, de distribution et d'entreposage, y compris à la maison. Il est conseillé aux consommateurs de maintenir leurs réfrigérateurs à une température de basse, pour limiter la croissance potentielle de bactéries telles que *Listeria*, au cas où elles seraient présentes dans des denrées alimentaires prêtes à consommer.

Des organisations internationales, comme l'Organisation mondiale de la santé, conseillent de réfrigérer les denrées alimentaires à des températures inférieures à 5° C [10].

II.8. Solvants, réactifs et matériels utilisés dans l'activité antibactérienne des bases de SCHIFF

Tableau II.2 : Listes des solvants et réactifs utilisés et leurs propriétés.

Solvants et réactifs	Propriétés
DMSO	solvant stérile permettant la croissance des bactéries
Sérum salé (NaCl)	L'eau physiologique

Tableau II.3 : Listes des Matériels et leurs rôles.

Matériels	Rôles
Milieu de culture (Muller Hinton)	Pour cultiver les bactéries
Des boîtes de pétri	Pour remplir le milieu de culture et cultiver les bactéries
Des pinces	Pour la fixation des disques
Des tubes à vis	Pour la préparation des dilutions
Des disques neutres	Utilisée pour absorber les produits et testés
Une étuve réglable	Utilisée pour l'incubation des souches bactériennes
Un réfrigérateur	Utilisée pour la conservation des produits et réactifs
Un pied de coulisse	Pour la mesure de la zone d'inhibition
Autoclave	Utilisée pour la stérilisation du matériel

Chapitre III

**Synthèse, caractérisation
et application biologique
des ligands**

III.1. Synthèse des ligands

III.1.1. Synthèse de LIG 1([2-(Phenyl-hydrazono)-ethylidene]-[1-(phenyl-hydrazonomethyl)-propenyl]-amine).

Sur une balance électronique, on pèse 135,12 mg de 2,6-Pyridinedicarboxaldehyde (1mmol), puis on dissous cette quantité dans l'éthanol absolue, on agite jusqu'à la solubilité totale du produit, on verse la solution dans un ballon monocol. On ajoute à cette solution (2 mmol) (216.28 mg) de phenyl hydrazine déssoute dans un minimum d'éthanol absolue, on place le montage sous reflux et agitation.

L'étape déterminante est de suivre l'évolution de la réaction par CCM chaque 1 heure, pour cela on pique sur une plaque CCM les deux réactifs comme témoin avec le mélange réactionnel.

Après 4 heures on remarque un précipité (beige pour le LIG1);une filtration avec un verre fritté a été procédé en vue de séparer le solide, se dernier à été lavé plusieurs fois par puis on refait une analyse par CCM , après développement d'une plaque CCM nous avons observé une seul tache qui signifie la purté de notre ligand .

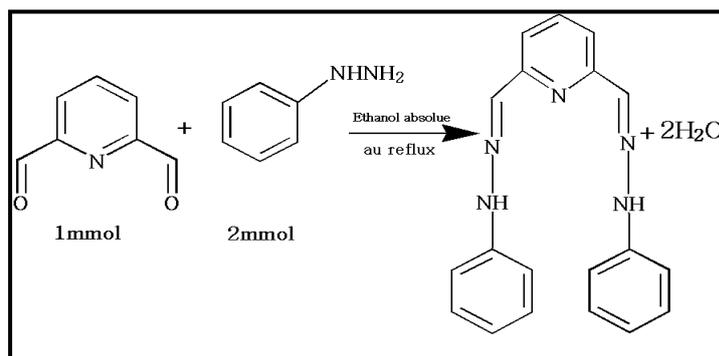


Figure III.1 : Réaction de la synthèse de LIG 1.

III.1.2. Synthèse de LIG 2 (N-[6-[(4-Methoxy-penta-2,4-dienyl)-hydrazonomethyl]-pyridin-2-ylmethylene]-N'-(4-methoxy-phenyl)-hydrazine)

Sur une balance électronique, on pèse 135.12 mg de 2,6-Pyridinedicarboxaldehyde (1mmol), puis on dissous cette quantité dans l'éthanol, on agite jusqu'à la solubilité totale du produit, on versé la solution dans un ballon monocol. On pèse 349.26 mg de 4-Méthoxyphenylhydrazine hydrochloride (2mmol) puis on verse dans une quantité d'éthanol absolue suffisante pour leur solubilité, on verse dans le même ballon monocol, on place le montage sous reflux et agitation.

L'étape déterminante est de suivre l'évolution de la réaction par CCM chaque 1 heure, pour cela on pique sur une plaque CCM les deux réactifs comme témoin avec le mélange réactionnel.

Après 4 heures on remarque un précipité (Rouge brique pour LIG2);une filtration avec un verre frité a été procédé en vue de séparer le solide, se dernier à été lavé plusieurs fois par puis on refait une analyse par CCM , après développement d'une plaque CCM nous avons observé une seul tache qui signifie la purté de notre ligand .

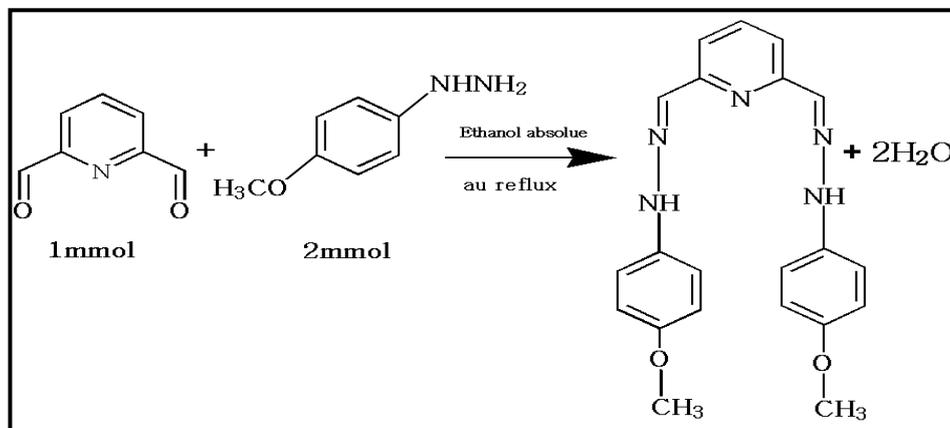


Figure III.2 : Réaction de la synthèse de LIG 2.

III.2.Purification

III.2.1.Analyse par CCM

Il est important a noté que les réaction de synthèse des bases de SCHIFF ont été suivi par CCM, pour cela on a préparé des petites plaques CCM (7×3cm) sur lesquelles on a déposés des taches des produits obtenus et celle de produit de départ (2,6-Pyridinedicarboxaldehyde, phenyl hydrazine et 4-Méthoxy phenyl hydrazine).Ces plaques sont plongés dans une enceinte contient un système d'élution le dichlorométhane/éthanol nommé éluant avec un pourcentage de (95%,5%) (V/V) respectivement.

On peut remarquer qu'une série de taches est apparaitre dans chaque plaque on peut facilement conclure que la reaction est la reaction est incomplète.

Après précipitation des solides le filtra a subit a une analyse CCM, les memes taches apparaitre se qui signifie la présence des ligands dans le filtra. Il suffit donc de les séparer ont faisons appel a une chromatographie sur colonne. Les produits subissent une purification par une colonne sous le même éluant, la séparation des sous produits et suivie par une analyse CCM on vue de verifier la purté ainsi que le produit désiré (base de SCHIFF) par son R_f .

Les ligands sont caractérisés par les propriétés cités dans le tableau suivant:

Tableau III.1 : Les caractéristiques physiques de produits obtenus.

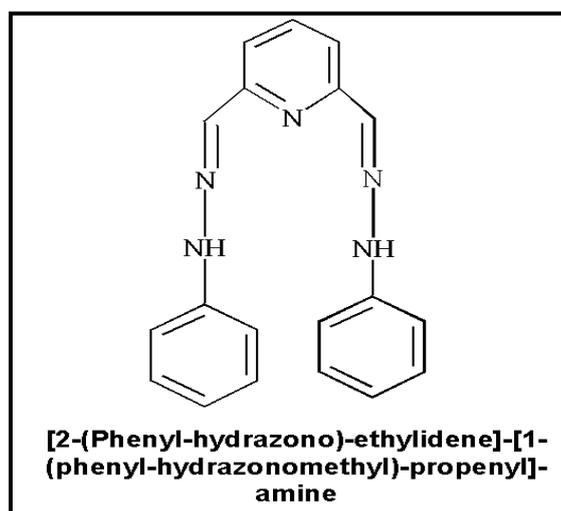
Les ligands	LIG 1	LIG 2
La formule	C ₁₉ H ₁₉ N ₅	C ₂₁ H ₂₅ N ₅ O ₂
La masse molaire	317 g/mol	379 g/mol
La forme	Poudre	Poudre
La couleur	Beige	Rouge briques
R _f	0.88	0.9

Après la purification des ligands une analyse par CCM est effectuée dans le même éluants. Une seule tache apparaitre pour les deux ligands synthétisés, cette dernière est différente des taches des produits de départ ces ligands possèdent des R_f (tableau III.1) clairement différent à ceux des produits de départ ce qui nous confirme la synthèse des ligands ainsi que leurs purtés.

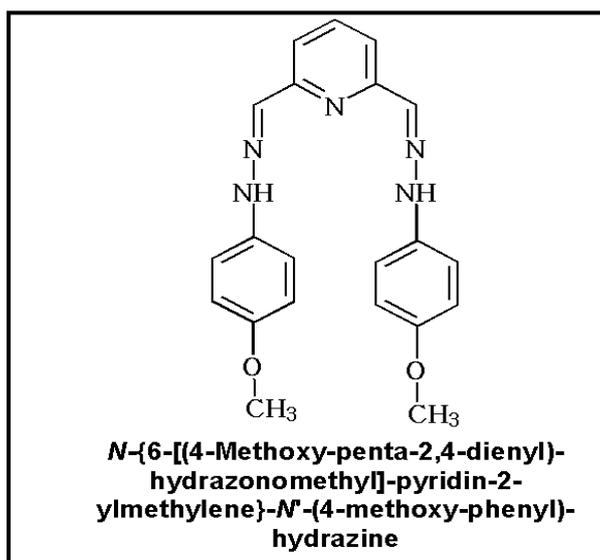
III.3. Dénomination des ligands

Le logiciel Chem draw permet de déduire la dénomination des ligands (selon IUPAC).

❖ LIG 1



❖ LIG 2



III.4. Rendement des produits

Les bases de SCHIFF désirés sont obtenues par rendements convenables:

$$R = \frac{\text{nombre de moles de ligand obtenue}}{\text{nombre de moles de ligand théorique}} \times 100$$

Tableau III.2 : Les nombres de moles et le rendement.

Produit	LIG 1 obtenue	LIG 1 théorique	LIG 2 obtenue	LIG 2 théorique
Le nombre de moles	0.00023	0.001	0.00087	0.001
Rendement(%)	23		87	

III.5. Caractérisation des produits par les méthodes spectroscopiques

III.5.1. Spectrophotométrie Ultraviolet-visible

Les spectres UV-Vis sont le plus souvent utilisés en analyse quantitative par application de la loi de Beer Lambert, ce qui permet de calculer le coefficient d'absorption molaire ϵ . Les spectres UV-Vis des produits synthétisés, enregistrés dans le domaine 200-800 nm en milieu éthanol absolu, sont représentés ci-dessous (figures III.3 et III.4). Les spectres des deux ligand (LIG 1 et LIG 2 respectivement) présente trois absorbance ($\lambda_1=355$ nm, $\lambda_2=280$ nm, $\lambda_3=287$ nm) ($\lambda_1=279$ nm , $\lambda_2=302$ nm, $\lambda_3=377$ nm) dans le domaine visible due au système conjugué présent

dans la structure des ligands. Il est important a signaler qu'un déplacement hypsochrome de la longueur d'onde du deuxième ligand nommé LIG 2 par rapport au premier avec une augmentation de l'intensité de l'absorbance, cela est due a la coloration foncé du LIG 2 par rapport au LIG 1 qui conduit a une absorbance meilleur de la lumiere ainsi que la substitution du proton de LIG 1 par un methoxy qui est un bon donneur d'électron. (figures III.3, III.4), les résultats sont mentionnés sur le tableau (III.3):

Tableau III.3 : Absorbances et longueurs d'ondes des produits synthétisés.

Produits	Abs	λ (nm)	C(mol/l)	$\epsilon(\text{mol}^{-1}.\text{l.cm}^{-1})$
LIG 1	1.79	355	0.04	44.75
	1.42	280		35.5
	1.26	287		31.5
LIG 2	1.83	279	0.04	45.75
	1.55	302		38.75
	0.54	377		13.5

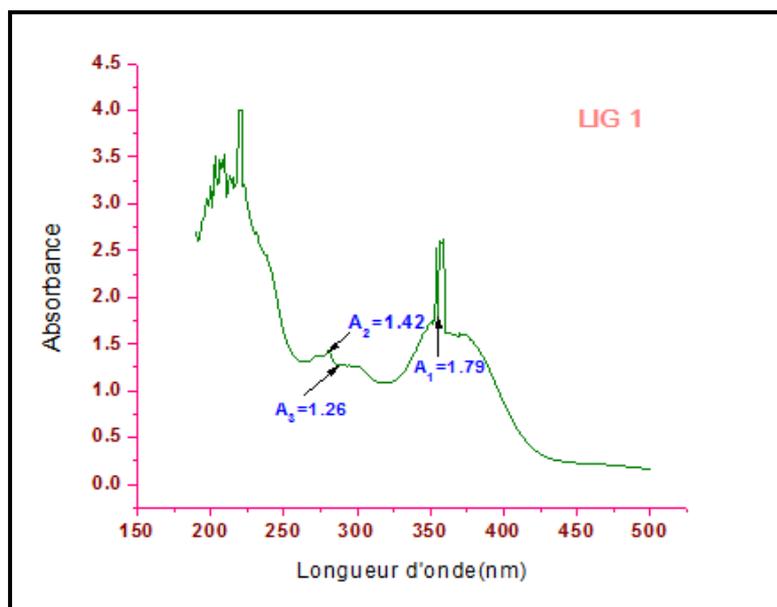


Figure III.3: Spectre UV-vis, Produit synthétisés LIG 1

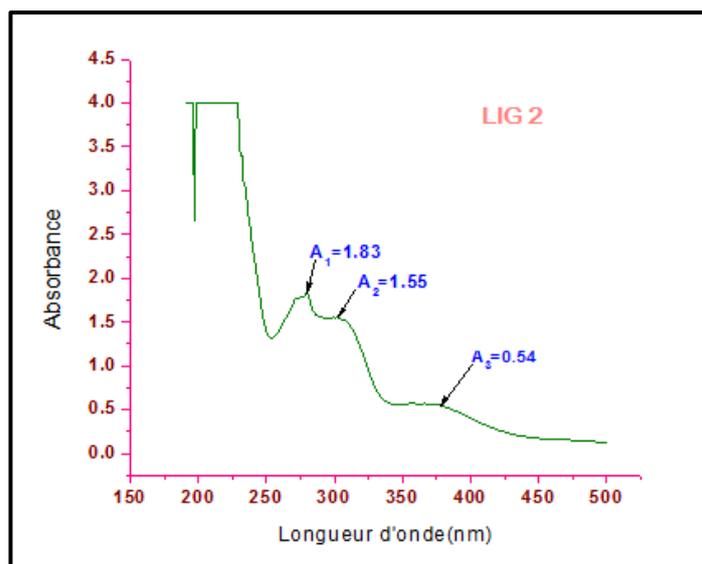


Figure III.4 : Spectre UV-vis, Produit synthétisés LIG 2

III.5.2. Spectroscopie infrarouge

L'analyse des spectres IR s'est basé sur l'apparition d'une bande au voisinage de 1480 cm^{-1} correspondant au fonction iminique avec la disparition de deux bandes. La première une large bande au voisinage de 3000 cm^{-1} correspondant au fonction amine (R-NH_2) avec la disparition de la bande cétonique (C=O) au voisinage de 1700 cm^{-1} (figures III.5 et III.6).

On peut facilement remarqué une série de bandes moyenes 2900 cm^{-1} et 3350 cm^{-1} correspondants aux fonction C-H aromatique (figure III.5).

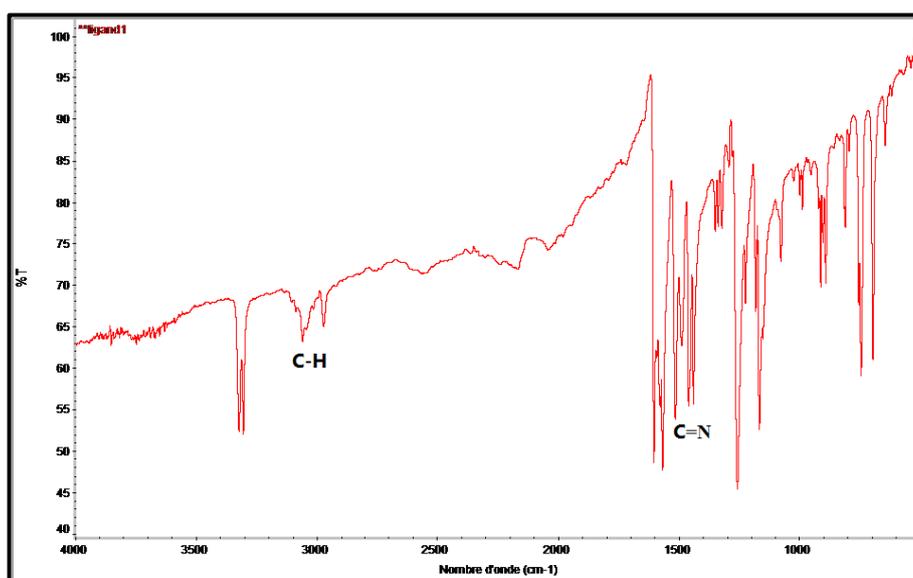


Figure III.5 : Spectre IR, LIG 1.

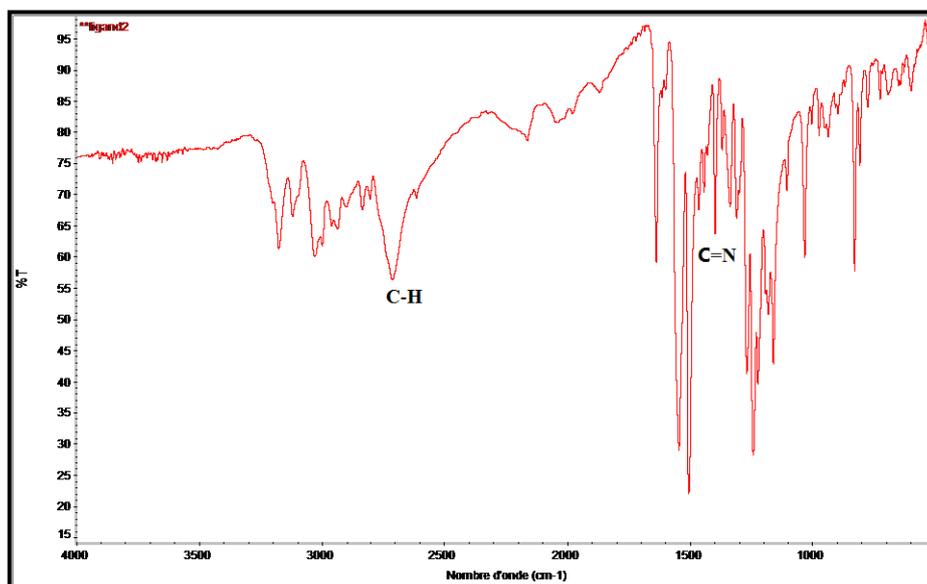


Figure III.6 : Spectre IR, LIG 2.

En effet, nous avons remarqué l'apparition d'une nouvelle bande intense au 2600 cm^{-1} du LIG 2 (figure III.6) correspondant au C–H aromatique du méthoxy cette bande est déblandé avec les autres CH aromatique a cause de la substitution du proton H par la fonction éther qui a le caractère donneur d'électrons.

Le tableau ci-dessous regroupe les déférentes bandes d'absorption des ligands synthétisés.

Tableau III.4 : Attribution des bandes d'absorption des ligands.

Ligands	Fonction	Bandes d'absorption(cm^{-1})
LIG 1	C=N	1480
	C–H	2900 et 3350
LIG 2	C=N	1480
	C–H	2600

III.6. Evaluation de l'activité antibactérienne

III.6.1. Méthode d'étude sur un milieu solide

Cette technique est utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale . Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé d'agar réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée du produit à tester [01].

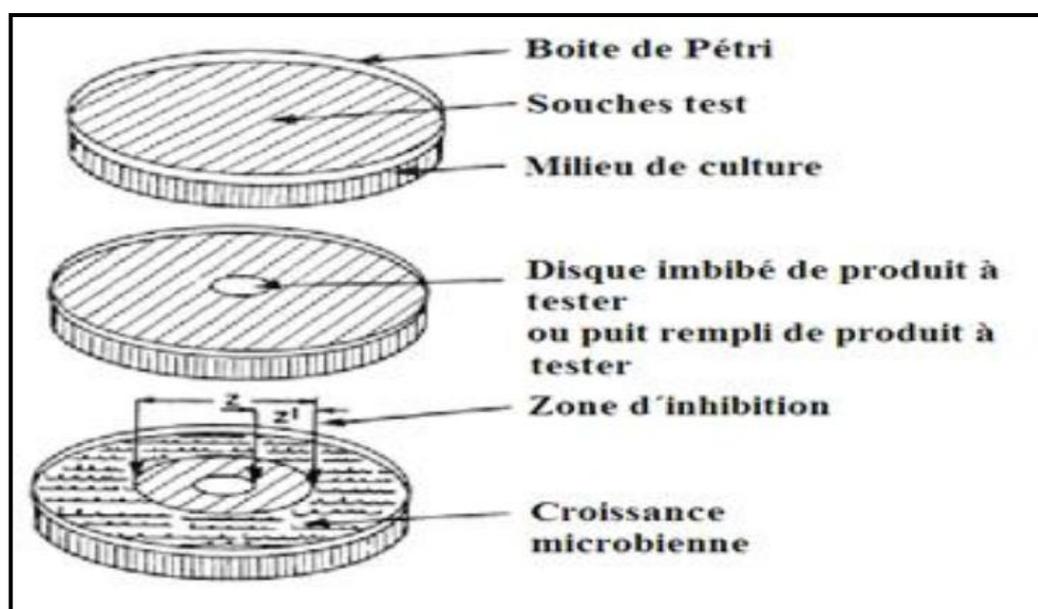


Figure III.7 : Illustration de la méthode de diffusion sur boîte de Pétri [02].

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégné des différents produits à tester. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Chaque produit diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance.

On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition.

Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition en mm ; Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante.

Une variation de cette technique a été rapportée par Tharib et coll, elle consiste en l'aménagement de cavités dans la gélose coulée et solidifiée en boîte. On remplit cette cavité d'un volume donné des produits à tester qui va diffuser dans la gélose, et on procède, après incubation, à la mesure du diamètre d'inhibition.

Cette technique permet une bonne estimation du pouvoir antibactérien, surtout pour les produits ayant une bonne diffusion dans le milieu solide [03].

III.6.2. Préparation des disques de papier

Pour préparer des disques de 6mm de diamètre, on utilise le papier filtre de wattman [04], puis on les met dans un tube à essai pour les stériliser à une température de 120°C pendant 15 minute.

III.6.3. Préparation de milieu de culture

Après la dissolution des milieux dans un autoclave, on le verse dans les boites de pétri ; on laisse le milieu jusqu'il sera solide.

III.6.4. Préparation de la suspension microbienne

On frotte à chaque fois à l'aide de pipette pasteur les quatre souches bactériennes et on les dépose dans des tubes à essai contenant un bouillon nutritif (10ml), en agitant bien. On disperse la suspension dans les boites de pétri, Passé 3 fois sur la même zone afin de s'assurer qu'elles sont entièrement couvert puis réaspirer l'excès minutieusement .

III.6.5. Préparation de l'inoculum

La méthode utilisée pour la préparation est la méthode de VINCENT (JACOBETAL, 1979) [05], on prépare 6 tubes a essai pour chaque composé contient les dilutions qu'on a déjà préparées, les disques de papier filtre de 6mm de diamètre sont immergé dans les tubes et sont imprégnés d'une faible quantité de produit, puis à l'aide d'une pince, on les dépose à la surface des boites pétris préalablementensemencées par la suspension microbienne.

Après l'incubation dans l'étuve pendant 24 heures à 37 °C ; on fait la lecture des résultats par la mesure de diamètre d'inhibition en mm.

III.6.6. Concentrations utilisées pour les produits testés

Les produits testés sont solubles dans DMSO ce solvant était choisi d'après des études précédemment faites (aucun effet sur les bactéries).

On préparé la solution mère de concentration 25mg/ml, au but de diluer pour préparer les autres concentrations 18mg dans 0.72ml DMSO (25mg/ml) (25000µg/ml).

A partir de cette solution mère on fait les différentes dilutions.

Tableau III.5 : représentation des différentes concentrations des dilutions.

Solution mère	Les dilutions	
(25 mg/ml)	C₁	15 mg/ml
	C₂	5 mg/ml
	C₃	1 mg/ml
	C₄	0.1 mg/ml
	C₅	0.01 mg/ml

III.7. Résultats de la détermination des diamètres d'inhibition de chaque souche par la méthode de diffusion

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de nos produits été faite sur quatre bactéries en fonction de la concentration des deux ligands.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en milieu solide des ligands synthétisés. Nous avons préparé 6 concentrations des deux ligands en vue d'évalué l'influence de la concentration sur l'activité antibactérienne.

Chaque concentration des deux ligand subit a une incubation de 24 h à 37°C, le temp nécessaire pour observer le diamètre d'inhibition (figures III.8, III.9, III.10, III.11).

Il est a signaler l'absence total des diamètres d'inhibition entourant les disques pour tous les souches cela est probablement due a l'inactivité biologique des deux ligands a cause de l'absence de la complexation de ces ligands par des métaux de transition d'ou en vise a les tester dans le prochain future, Les résultats obtenus sont regroupés dans les tableaux III.6, III.7, III.8 et III.9. Les concentrations de chaque produit dans le DMSO 15, 5, 1, 0.1 et 0.01mg/ml à partir de solution mère sa concentration 25 mg/ml.

III.7.1. Les diamètres d'inhibition de Escherichia coli

Tableau III.6 : la sensibilité de Escherichia coli

	concentration mg/ml	25	15	5	1	0.1	0.01
composés							
Diamètre d'inhibition (mm)	LIG 1	0	0	0	0	0	0
	LIG 2	0	0	0	0	0	0

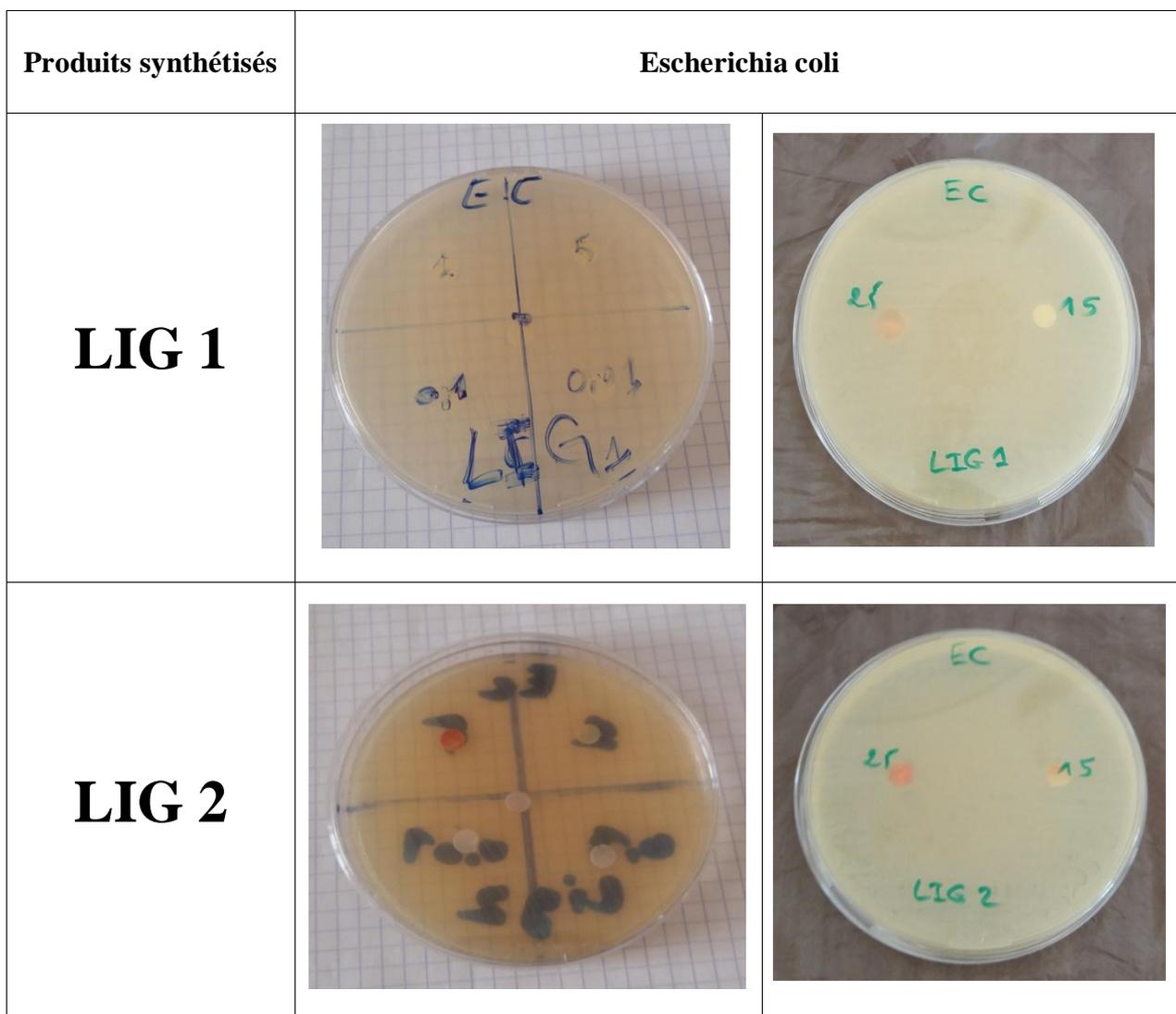


Figure III.8 :L'effet des produits synthétisés sur Escherichia coli.

III.7. 2. Les diamètres d'inhibition de Salmonella

Tableau III.7 : la sensibilité de Salmonella

	concentration mg/ml	25	15	5	1	0.1	0.01
	composés						
Diamètre d'inhibition (mm)	LIG 1	0	0	0	0	0	0
	LIG 2	0	0	0	0	0	0

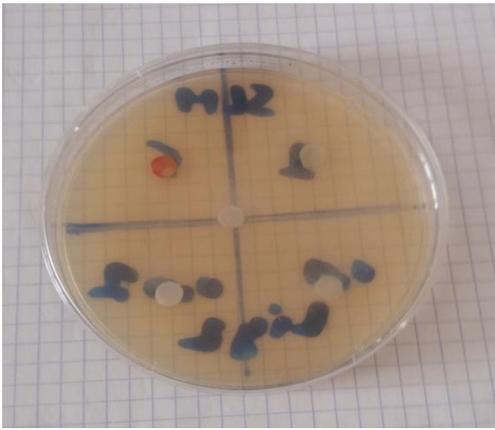
Produits synthétisés	Salmonella	
LIG 1		
LIG 2		

Figure III.9 :L'effet des produits synthétisés sur Salmonella.

III.7. 3. Les diamètres d'inhibition de Pseudomonas

Tableau III.8 : la sensibilité de Pseudomonas

		concentration mg/ml					
		25	15	5	1	0.1	0.01
composés							
Diamètre d'inhibition (mm)	LIG 1	0	0	0	0	0	0
	LIG 2	0	0	0	0	0	0

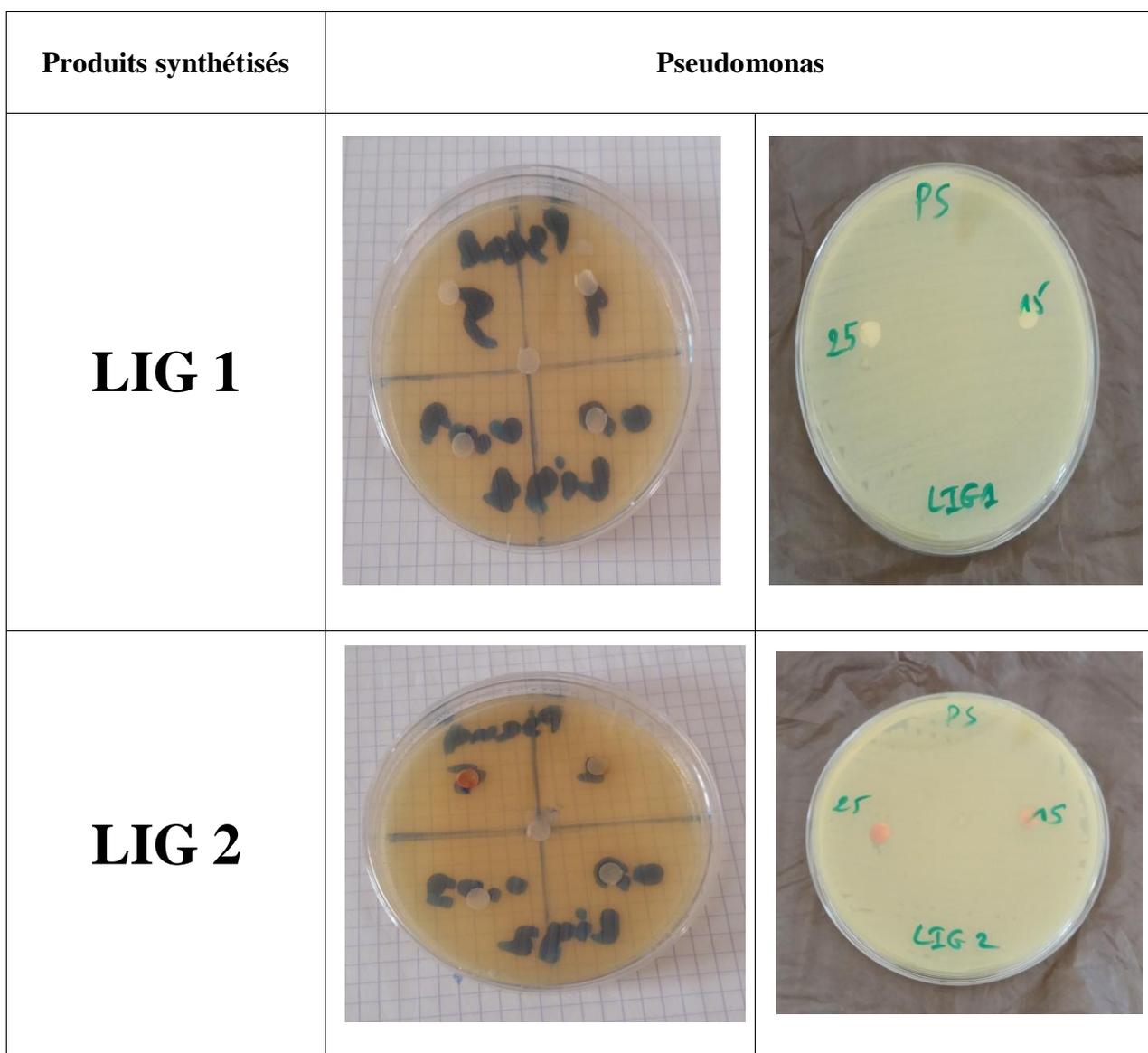
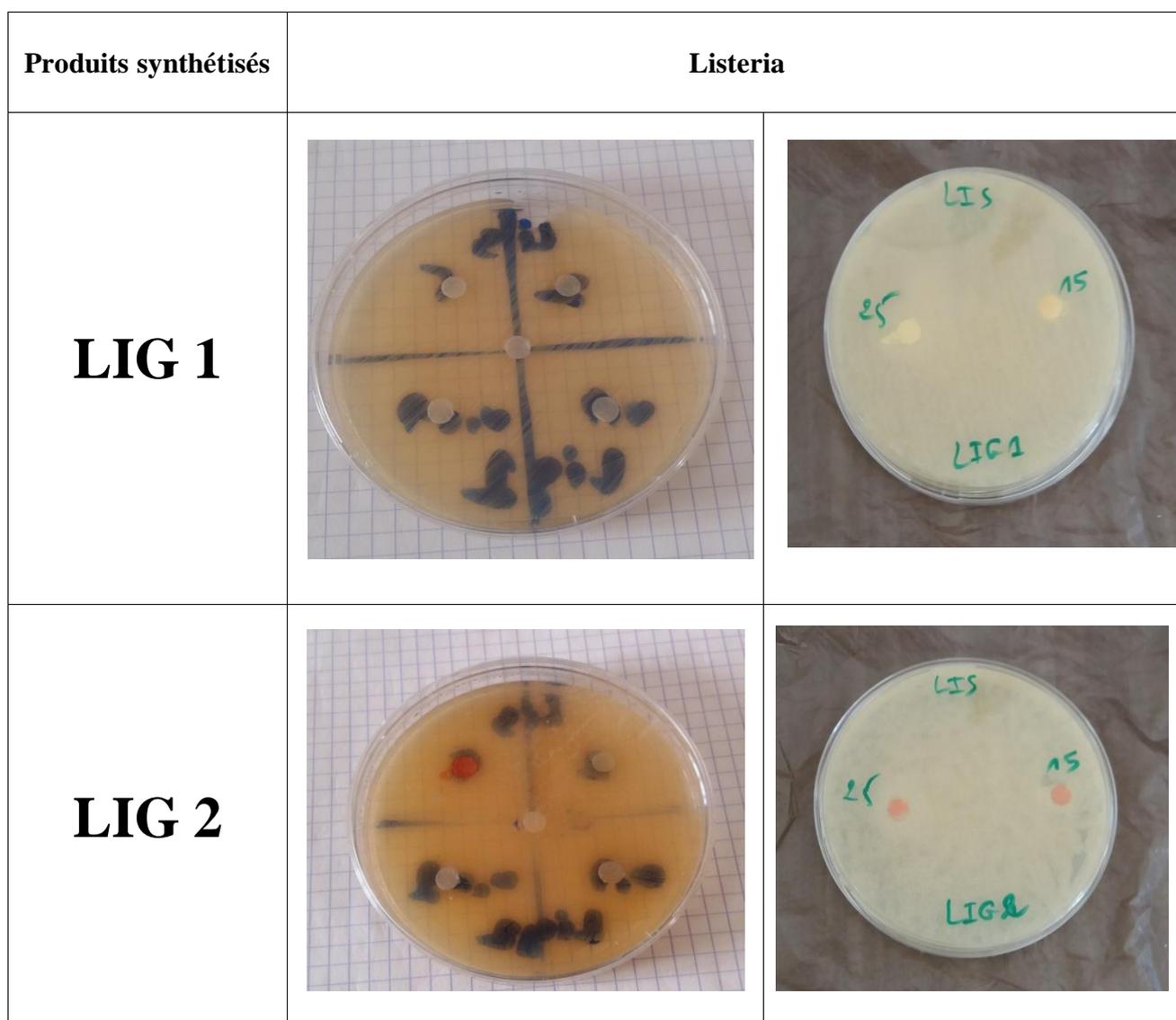


Figure III.10 :L'effet des produits synthétisés sur Pseudomonas.

III.7.4. Les diamètres d'inhibition de *Listeria*Tableau III.9 : la sensibilité de *Listeria*

	concentration mg/ml	25	15	5	1	0.1	0.01
	composés						
Diamètre d'inhibition (mm)	LIG 1	0	0	0	0	0	0
	LIG 2	0	0	0	0	0	0

Figure III.11 :L'effet des produits synthétisés sur *Listeria*.

Conclusion générale

Conclusion générale

Au cours de ce travail nous avons synthétisé deux ligands base de SCHIFF et les caractérisé par les différentes techniques physicochimique a savoir (CCM, UV-vis, IR-FTIR). Ainsi nous avons focalisé nos efforts sur une étude qualitative se manifeste sur l'activité biologique de nos ligands avec quatre types de bactéries (Escherichia coli, Salmonella, Pseudomonas et Listeria) parallèlement avec une étude quantitative (l'influence de la concentration des ligand sur l'activité biologique) .

La réalisation du présent travail nous a permis la maitrise de différentes techniques d'analyses à savoir ; l'infrarouge et l'ultra violet visible CCMetc.

Les résultats obtenus montrent que le rendement des réactions de synthèse du LIG 1 et LIG 2 est relativement moyen. Cependant, les tests d'activités antibactériennes montrent que ces produits n'ont aucun effet sur les différentes bactéries en raison de l'absence de la complexation de ces ligands par des métaux de transition d'ou les perspectifs du prochain travail sera de complexe ces ligands avec une serie de métaux de transition donneurs ou attracteurs d'électron et de tester leurs activités biologiques.

Références bibliographique

Références bibliographique

Introduction

- [01] I. E. DICKSON, R. ROBSON, R. IBID, 13, 1301 (1974).
- [02] Université de Fribourg , «Campus virtuel suisse (SVC) Programme fédéral d'impulsion», Chimie générale, campus virtuel suisse (CVS), Copyright, 2005.

Chapitre I

- [01] H.S.SCHIFF; Ann.Chim., (Paris), 131, 118 (1964).
- [02] Laurent MUGHERLI : Microarrays fonctionnels de gouttes de la synthèse chimique combinatoire au criblage de molécules bioactives. Université Joseph Fourier.
- [03] F. Z. Chiboub Fellah, thèse de doctorat ; Université de Tlemcen ; Algérie, 2008.
- [04] IUPAC, Compendium of Chemical Terminology (1997).
- [05] R.J. Burt, Leigh et C. J. Pickett; J. Chem. Soc. Chem. Comm., 940 (1996).
- [06] B.F. Watkins, J.R. Behling, E. Kariv et L.L. Miller; J. An. Chem. Soc., 97, 3549 (1975).
- [07] T. Katsuki, in : I. Ojima (Ed.), Catalytic Asymmetric Synthesis, 2nd ed , Wiley/VCH, New York, 2000, pp. 287-325, chapter 6B.
- [08] E. M. McGarrigle, D. G. Gilheany, Chem. Rev. , 2005, 104 in press.
- [09] W. Zhang, J. L. Loebach, S. R. Wilson, E. N. Jacobsen, J. Am. Chem. Soc. , 1990 112, 2801.
- [10] R. Iric, K. Noda, Y. Ito, N. Matsumoto, T. Katsuki, Tetrahedron . Lett. , 1990, 31, 7345.
- [11] D. Katsuki, T. J. Mol. Cat. A: Chem. 1996, 113, 87.
- [12] Jean-Pierre Costes, Fatima Zohra Chiboub Fellah, Françoise Dahan, Carine Duhayon. Polyhedron 52 (2013) 1065–1072.
- [13] Jean-Pascal Sutter, Sébastien Dhers, Raghunathan Rajamani, S. Ramasesha, Jean- Pierre Costes, Carine Duhayon, and Laure Vendier, Inorg. Chem. 2009, 48, 5820–5828.
- [14] M. Amirnasr, K.J. Schenk, Schenk, S. Meghdani, et M. Morshedi; Polyhedron (2005).
- [15] L. Salmon et al ; Chem. Com., 762 (2003).
- [16] T. Le Borgne et al ; Chem, Eur, J., 8, 773 (2002).
- [17] S. Salehzadeh, S.M. Nouri, H. Keypour, et M. Bagherzadeh ; Polyhedron, 24, 1478 (2005).
- [18] Y. Ma, Y. Fan, D.Y. Wang, «Synthèse de nouvelles bases de SCHIFF Complexes et leurs applications », International Journal of Applied Research et Studies ISSN 2278 – 9480, Abstr, 143 série 3996, 2005.
- [19] T. HIRAO; Redox reaction via vanadium induced electron transfer, J. Inorg. Biochem. 80, 27-330 (2000).
- [20] Y. N. Belokon, B. Green, N. S. Ikonnikov, M. North et T. Pansons; Optimizing catalysts for

the asymmetric addition of trimethyl cyanid to aldehyde and ketones, *Tetrahedron*, 57, 71-779 (2001).

[21] Z. LIU et F. C. ANSON; SCHIFF base complexes of vanadium (III, IV, V) as catalysts for the electroreduction of O₂ to H₂O in acetonitrile, *Inorg. Chem.*, 40, 1329-1333 (2001).

[22] K. Nakajima, M. Nojima, Toriumi et K. Fujita; Crystal structures of [VO (sal-L- ala (OCH₃) (CH₃OH)) (sal-L- ala = N-salicydene-L-Laminate) and [(VO(sal-L ala)]₂O)·2.2CH₂CL₂, and the catalytic activity of these and related complexes on asymmetric oxidation of methyl phenyl sulphide with t-butyl hydroperoxide, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 62, 67-769 (1989).

[23] C.J. Chans, J.A. Labinger et H.B. Gray; Aerobic epoxydation of olefins catalyzed by electronegative vanadyl salen complexes, *Inorg. Chem.*, 36, 5827-5930 (1997).

[24] J. Halpern, et K.N. Raymond; "At the interface of inorganic chemistry and biology," *Proc Natl Acad. Sci., U S A*, 100(7), 3526 (2003).

[25] H.B. Gray., "Biological inorganic chemistry at the beginning of the 21st century." *Proc Natl Acad. Sci., U S A*, 100(7), 3563-3568 (2003).

[26] S. Dutta et A. Chakravorty , «hydrosolubles manganese (iii) et manganese (iv) complexes de tridenté onno ligands polyèdre » , *polyhedron*, 13 série 1811, 1994.

[27] A. Nishinaga, T. Yamada, H. Fujisawa, K. Ishizaki, *J. Mol. Catal.*, « synthèse et caractérisation de deux bases de SCHIFF » , 48, 249-64, 1988.

[28] F. Z. Chiboub Fellah, thèse de doctorat, « Synthèse et détermination structurale de complexes », Université de Tlemcen, Algérie, 2008.

[29] C. Y. Wong et R. McDonald. «boronates dimères issus de la réaction de bases de SCHIFF et des acides boroniques», *Chimie inorganique*. 35, 325, 1996.

[30] Y. Li, Y. Liu, W. Buo, J. Guo, et Y. Wang. « Synthèse et caractérisation de nouvelles molécules à effet thérapeutique contenant des ligands (base de SCHIFF) », *mise en commun* 155, 2000.

Chapitre II

[01] G. Burgot, Jean-Louis Burgot. Introduction instrumentales d'analyse chimique et application, Ed. médicales internationales 2002.

[02] K. Randerath, chromatographie sur couche mince, Ed. G. Villars 1971.

[03] D. Helm, H. Labischinski, G. Schallehn, D. Nauman, « *Journal de Microbiologie Générale*, », p. 69 series 137, 1991.

[04] D. Neumann, C.P Shultz, D. Helm. « Que peut-spectroscopie infrarouge nous dire sur la structure et la composition des cellules bactériennes intactes? », In: *Infrared spectroscopy of*

Bio-molécules, H.HMantsch and D. Chapman eds, Wiley-Liss, Inc., New-York, p. 279
séries310, 1996.

[05] Ultraviolet and visible spectroscopy chemical application, C. Rao, butterworth, 3^{ème} Ed,
london 1975.

[06] S. Mitchell, R. « Waring dans Encyclopedia de la chimie industrille », 5th edition VCH,
Weinheim, A2, 1985.

[07] Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M (1995) Microbiologie générale, la bactérie et le monde
bactérien. Doin Editeurs, Paris.

[08] Garnier Delamare (1992) Dictionnaire des termes de médecine. Editions Maloine, Paris.

[09] Berche P, Gaillard J-L, Simonet M (1989) Bactériologie: bactéries des infections humaines.
Médecine-Sciences Flammarion.

[10] <http://www.efsa.europa.eu>.

Chapitre III

[01] R. A, Sheldon. « (Ed) en Chimie fine par catalyse hétérogène »,Weinheim,
Wiley-VCH,2001.

[02] Babayemi JO, Dauda KT, Nwude DO, Kayode A. « Évaluation de la composition et la
chimie des cendres et de la potasse de diverses plantes Matériaux-A Review»,Journal of Applied
Sciences,5(1) pp.1, 2010.

[03] Badji B, Riba A, Mathieu F, Lebrihi A et Sabaou N. « Activité antifongique d'une souche
d'Actinomadura d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et
toxinogènes »,Journal de Mycologie Médicale, p. 211 séries 219, 2005.

[04] Benbachir M, benredjeb S, C. S Boye, Dosso M, Belabbes H, Kamoun A, Kane O,
Elmdaghri N. «Deux ans de surveillance de la résistance aux antibiotiques dans la pneumonie à
streptocoque dans quatre villes africaines», Antimicrobial Agents and Chemotherapy, p. 627
séries629, 2001.

[05] Benia F. « Étude de la faune entomologique associée au chêne vert dans la forêt de Tafat et
bio-écologie des espèces les plus représentatives», Thèse de doctorat,Département de biologie.
Faculté des Sciences.UniversitéFerhat Abbas Sétif, 2010.

Annexe



Appareil Spectrophotomètre SP-UV500DB



Appareil Spectromètre THERMO FISHER SCIENTIFIC NICOLET IS5



Autoclave

الملخص

تم في هذه الدراسة تحضير قاعدتين من قواعد شيف انطلاقا من مفاعلة 2,6 بيريدين ديكربوكسالديهد و فينيل هيدرازين و 4-ميتوكسي فينيل هيدرازين. القواعد المحصلة عليها خضعت لدراسة خصائصها الفيزيائية-الكيميائية بغية معرفة بنيتها الجزئية. كما تم خلال هذا العمل اختبار الفعالية البيولوجية لهذين المركبين على أربع أنواع مختلفة من البكتيريا: الإشريكية قولونية و السلمونيلا و الزائفة (بسودوموناس) و اللستيريا.

الكلمات المفتاحية: 2,6 بيريدين ديكربوكسالديهد، قواعد شيف، بكتيريا، مضاد البكتيريا

RESUME

Dans cette étude, la préparation deux bases de SCHIFF à partir de la réaction de 2,6-Pyridinedicarboxaldehyde, phenyl hydrazine et 4-Méthoxy phenyl hydrazine . Les bases obtenues ont été caractérisées par les différentes méthodes physicochimiques on vu de connaitre leurs structures moléculaire. C'est aussi durant ce travail qu'on a testé de vérifier l'efficacité biologique de ces composés sur quatre différents types de bactéries: la bactérie Escherichia coli, Salmonella, Pseudomonas et Listeria.

MOT-CLES : 2,6-Pyridinedicarboxaldehyde, Bases de SCHIFF, Bactérie, Antibactérien.

ABSTRACT

In this study, preparation two SCHIFF bases from reaction of 2,6-Pyridinedicarboxaldehyde, phenyl hydrazine and 4-Méthoxy phenyl hydrazine. The bases obtained were characterized by different physicochemical methods to know their molecular structure. It was also during this work to test the biological efficacy of this compound on four different types of bacteria: the bacterium Escherichia coli, Salmonella, Pseudomonas and Listeria.

KEY WORDS : 2,6-Pyridinedicarboxaldehyde, SCHIFF bases, bacterium, Antibacterial.