

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي الأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme Master LMD

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

THÈME :

Synthèse et activité des composés hétérocycliques azotés

Présenté par :

BENMESSAOUD Imane

BENKHADDA Ikram

BOUCHERIT Widad

Soutien le : 25/06/2023

Présidente	Mme ALLAL Farida	MCA, Université Laghouat
Examinatrice	Mme NIA Samira	MCA, Université Laghouat
Encadrant	Mr KOUADRI Youcef	MCB, Université Laghouat
Co-encadrante	Mme BENCHIKH Imen	MCA, Université Laghouat

Année Universitaire 2022/2023

Remerciements

Avant toutes choses, nous remercions Allah le tout puissant, de nous avoir donné la patience et la force pour achever ce travail.

Nous tenons à remercier tout particulièrement docteur KOUADRI Youcef et BENCHIKH Imen de nous avoir choisies pour réaliser ce thème et guidées tout au long de ce travail, nous les remercions pour leur attention permanente, leur optimisme et leur enthousiasme qui nous ont permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions.

Nous remercier l'étudiant Bouzidi Imane.

Nous remercions sincèrement chacun des membres du jury ALLAL Farida et NIA Samira pour avoir accepté d'évaluer ce travail de thème.

Nous remercions toutes nos familles et nos amis pour leur soutien et leurs encouragements.

Enfin, nos sincères remerciements à tous les enseignant du départements de biologie à l'université de Laghouat.

Dédicace

Nous dédions ce modeste travail

*À nos parents qui ont soutenu et encouragé durant ces années
d'études.*

*À nos frères, nos sœurs et ceux qui ont partagé avec nous tous
les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail, ils
nous ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long
de notre parcours.*

*À toutes les familles BENMESSAOUD, BENKHADDA,
BOUCHERIT.*

Et à tous nos collègues.

*Et à nos promoteurs monsieur KOUADRI Youcef et
madame BENCHIKH Imen.*

ملخص:

المركبات الأزوتية الحلقية الغير متجانسة توجد في عدد كبير من الجزيئات المهمة في الطب والصيدلة لذلك يهدف عملنا الى تحضير مركبات عضوية أزوتية حلقية غير متجانسة مثل البيرازول، البيرازولون والبيروول.

ان مشتقات البيرازول والبيرازولون التي تحصلنا عليها تمتلك فعالية بيولوجية ضد أنواع من البكتيريا حيث وجدنا أن مشتقات البيرازول تمتلك نشاط مضاد لبكتيريا صطاف، بينما مشتقات بيرازولون تمتلك نشاط مضاد لبكتيريا صطاف، واشيريشيا كولي.

التشخيص البنوي للمركبات المحضرة تم باستعمال طرق المطيافية المختلفة (RMN¹H, RMN¹³C, DEPT)

الكلمات المفتاحية:

بيرازول، بيرازولون، بيروول، حلقات أزوتية غير متجانسة، نشاط مضاد للبكتيريا.

Abstract:

Heterocyclic nitrogen compounds are found in a large number of important molecules in medicine and pharmacology. Therefore, our work aims to prepare heterocyclic nitrogen organic compounds such as: pyrazole, pyrazolone and pyrrole.

The pyrazole and pyrazolone derivatives that we synthesized showed significant biological activities against some types of bacteria. Where we found that pyrazole derivatives have effective antibacterial activity against staph bacteria. While pyrazolone derivatives possess antibacterial activity against staph and Escherichia coli.

The prepared compounds were characterized by RMN 1H, RMN 13C and DEPT.

Key words:

Pyrazole, pyrazolone, Heterocyclic nitrogen compounds, antibacterial activity.

Résumé :

Les composés hétérocycliques azotés se retrouvent dans un grand nombre de molécules importantes en médecine et en pharmacologie. Par conséquent, nos travaux visent à préparer des composés organiques azotés hétérocycliques tels que : le pyrazole, la pyrazolone et le pyrrole.

Les dérivés de pyrazole et de pyrazolone que nous avons synthétisés ont montré une activité biologique significative contre certains types de bactéries. les résultats obtenus ont montré que les dérivés du pyrazole ont une activité antibactérienne efficace contre les bactéries staphylocoques. Alors que les dérivés de pyrazolone possèdent une activité antibactérienne contre le staphylocoque (Staph) et Escherichia coli (E. Coli).

La caractérisation structurale des composés synthétisés a été effectuée par les différentes méthodes spectroscopiques (RMN 1H, RMN 13C et DEPT).

Mots clés:

Pyrazole, pyrazolone, Composés hétérocycles azotés, activité antibactérienne.

Sommaire

Liste des schémas

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction Générale.....	1
Chapitre I : Etude Bibliographique :	3
I.1 Introduction	3
I.2 pyrazole	4
➤ I.2.1 Généralité	4
➤ I.2.2 Les pyrazoles comme produit naturel	4
➤ I.2.3 Dérives pyrazolique biologiquement actif	5
➤ I.2.4 Réactivité chimique	6
I.2.4.1 Réaction acido-basique	6
I.2.4.2 Alkylation	7
I.2.4.3 Métallation ‘’Deprotometallation ‘’	7
I.2.4.4 Halogénéation	7
I.2.4.5 Oxydation	7
➤ I.2.5 Synthèse de pyrazole	8
I.2.5.1 Cyclo condensation d’hydrazine avec 1-3dicétone	8
I.2.5.2 Synthèse de pyrazole à partir de cétone acétylénique	8
I.2.5.3 Synthèse de pyrazole à partir des énamino dicétone	9
I.2.5.4 Synthèse de pyrazole à partir de cétones vinyliques	10
I.2.5.5 Synthèse de pyrazole à partir des chacones	10
➤ I.2.6 Activité biologique	11
I.2.6.1 Activité Antibactérienne	11
I.2.6.2 Activité Anti-inflammatoire	12
I.2.6.3 Activité antifongique	12
I.2.6.4 Activité antitumorale	13
I.2.6.5 Activité antioxydante	13
I.2.6.6 Activité antihypertensive	14
I.2.6.7 Inhibiteurs des enzymes	14
I.3 pyrrole	16
➤ I.3.1 Généralité	16
➤ I.3.2 Les pyrroles comme produits naturel	16
➤ I.3.3 Réactivité chimique	18
I.3.3.1 Réduction	18

I.3.3.2 Oxydation	19
I.3.3.3 Substitutions électrophiles (SE) sur le pyrrole.....	19
➤ I.3.4 Synthèse de pyrrole	20
I.3.4.1 Synthèse des pyrroles à partir du furanne	20
I.3.4.2 Synthèse des pyrroles par déshydrogénation catalytique de la pyrrolidine	20
I.3.4.3 Synthèse des pyrroles selon Paal-Knorr	21
I.3.4.4 Synthèse des pyrroles selon Knorr	21
I.3.4.5 Synthèse des pyrroles selon Hantzsch	22
➤ I.3.5 Activité biologique	23
I.3.5.1 Activité Anti-hyperlipidémique	24
I.3.5.2 Activité Anti-muscarinique	24
I.3.5.3 Activité Anti-inflammatoire	24
I.3.5.4 Activité Anti bactérie, anti fongique, anti malaria	25
I.3.5.5 Pour le traitement de la maladie d'Alzheimer	25
I.3.5.6 Activité Antipsychotiques.....	25
I.3.5.7 Activité Anticancer	26
I.4 Les bactéries	27
I.5 Conclusion	29
Chapitre II : Partie Expérimentale :	30
II.1 Introduction	30
II.2 Matériels utilisés	30
II.2.1 Matériels	30
II.2.1 Microorganismes testés	30
II.3 Méthode	30
II.3.1 Synthèse de la molécule de pyrazole	30
➤ Préparation de 3-méthyl-1-phenyl-4H-pyrazol-5-one	30
➤ Préparation de 3-méthyl-1,4-dihydropyrazol-5-one	31
➤ Préparation de 3,5-diméthyl-1H-pyrazole	32
➤ Préparation de 3,5-diméthyl-1-phenylpyrazole	32
➤ Préparation de 2,5-diméthyl-1-propylpyrrole	32
II.3.2 Préparation des solutions	33
II.3.3 Teste de l'activité antibactérienne	36
Chapitre III : Résultat et Discussion :	40
III.1 La première partie	40
III.1.1 L'analyse de dérivées pyrazole, pyrazolone et pyrrole.....	40
III.1.1.1 Caractéristiques physico-chimiques.....	40

III.1.1.2 Caractérisations spectrales	40
III.2 Evaluation de l'activité antibactérienne	49
III.2.1 Activité antibactérienne des composés (Py1, Py2, Py-One 1 et Py-One2)	51
III.2.2 Activité antibactérienne des composés (Py1, Py2)	52
III.2.3 Activité antibactérienne des composés (Py-One1, Py-One2)	52
III.3 Sensibilité des souches selon Duraffourd	53
Conclusion Générale	55
Références.	
Annexe.	

Liste des Schéma.

Titre	Page
Schéma I.1 : Quelques exemples de molécules hétérocycliques azotés	3
Schéma I.2 : Les réactions acido-basiques des 1H-pyrazoles.	6
Schéma I.3 : Réactions des ligands pyrazoles avec le chlorure de nickel.	6
Schéma I.4 : N-alkylation du 1H-pyrazole via l'anion pyrazolyle.	7
Schéma I.5 : Métallation de pyrazole en position C5 par l'alkyllithiums	7
Schéma I.6 : Halogénéation de pyrazole.	7
Schéma I.7 : Oxydation de Pyrazole.	7
Schéma I.8 : Cyclocondensation d'hydrazine avec 1,3-dicétone	8
Schéma I.9 : Mécanisme de la réaction de la formation de pyrazole par 1,3-dicétone	8
Schéma I.10 : Synthèse de pyrazole à partir de cétone acétylénique	9
Schéma I.11 :Mécanisme de la réaction de formation de pyrazole à partir de cétone acétylénique	9
Schéma I.12 : Synthèse de pyrazole à partir de énaminodicétone	9
Schéma I.13 : Mécanisme de réaction de formation de pyrazole à partir énaminodicétone	10
Schéma I.14 : Synthèse de pyrazole à partir de cétone vinyliques	10
Schéma I.15 : Mécanisme de la réaction de formation de pyrazole à partir d cétone vinylique	10
Schéma I.16 : Synthèse de pyrazole à partir des chacones	11
Schéma I.17 : Mécanisme d'obtention des pyrazole à partir des chacones	11
Schéma I.18 : Réaction d'oxydation de pyrrole	19
Schéma I.19 : Réaction de substitution électrophile en position 2	19
Schéma I.20 : Substitutions électrophiles (SE) sur le pyrrole.	19
Schéma I.21 : Production industrielle de pyrrole par furane.	20
Schéma I.22 : Préparation industrielle de pyrrole par déshydrogénation catalytique de la pyrrolidine.	20

Schéma I.23 : Réaction de Paal- Knorr	21
Schéma I.24 : Mécanisme de la réaction de Pall-Knorr.	21
Schéma I.25 : Réaction de Knorr	21
Schéma I.26 : Mécanisme de la réaction de Knorr	22
Schéma I.27 : Réaction de Hantzsch	22
Schéma I.28 : Mécanisme de synthèse du pyrrole selon Hantzsch.	23
Schéma II.1 : Préparation de compose 3-methyl-1-phenyl-4H-pyrazol-5-one.	31
Schéma II.2 : Préparation de 3-methyl-1,4-dihydropyrazol-5-one.	31
Schéma II.3 : Préparation de 3,5-dimethyl-1H-pyrazole	32
Schéma II.4 : Préparation de 3,5-dimethyl-1-phenylpyrazole.	32
Schéma II.5 : Préparation de 2,5-dimethyl-1-propylpyrrole.	33
Schéma III.1 :Mécanisme réactionnel pour la synthèse des Pyrazolone-1et Pyrazolone-2	43
Schéma III.2 : Mécanisme réactionnel pour la synthèse des Pyrazole-1 et Pyrazole-2.	46
Schéma III.3 : Mécanisme réactionnel pour la synthèse de Pyrrole.	48

Liste des figures	
Titre	Page
Figure I.1 : Les deux molécules de pyrazole (A) 3-ethyl-1H-pyrazole , (B) 1-pyrazolyle-alanine	5
Figure I.2 : Exemples des pyrazoles bioactifs	5-6
Figure I.3 : Compose pyrazolique a activité antibactérienne	12
Figure I.4 : Les deux molécules a activités anti-inflammatoire	12
Figure I.5 : Une molécule pyrazolique a une activité antifongique.	13
Figure I.6 : Une molécule pyrazolique a une activité antitumorale	13
Figure I.7 : Dérive de pyrazole a activité antioxydant	13
Figure I.8 : Dérive pyrazolique a activité antioxydant	13
Figure I.9 : Dérive pyrazolique a activité antihypertensive	14
Figure I.10 : Dérive des pyrazoles avec bio actif comme inhibiteur d'enzyme	15
Figure I.11 : Quelques exemples de produits naturels contenant un cycle pyrrole	17
Figure I.12 : Des dérivés fabriqués par la formation de quatre cycles pyrrole d'un système cyclique de porphyrine	18
Figure I.13 : Réaction de réduction de pyrrole	18
Figure I.14 : Voie générale de synthèse du pyrrole	20
Figure I.15 : Structure de Atorvastatine	24
Figure I.16 : Structure de Procyclidine	24
Figure I.17 : Structure de Tolmetin	25
Figure I.18 : Structure de Prodigiosin	25
Figure I.19 : Structure de Aloractam	25
Figure I.20 : Structure de Elopiprazole	26
Figure I.21 : Structure de deux médicaments anticancéreux partageant le cycle pyrrole	26
Figure II.1 : Image MEB de <u>Escherichia coli</u>	27
Figure II.2 : Image me de <u>Staphylococcus aureus</u>	28
Figure II.3 : Image MEB de <u>Pseudomonas aeruginosa</u>	28
Figure II.4 : Les étapes de préparation de 3-methyl-1-phenyl-4H-pyrazol-5-one.	31
Figure II.5 : Les étapes de préparation de 2,5-dimethyl-1-propylpyrrole .	33
Figure II.6 : Structure de dimethylsulfoxyde.	33
Figure II.7 : Structure de 3-methyl-1-phenyl-4H-pyrazol-5-one	34
Figure II.8 : Les deux étapes de préparation (Pyone01)	34

Figure II.9 : Structure de 3-methyl-1,4-dihydropyrazol-5-one.	34
Figure II.10 : Les deux étapes de préparation (Pyone 02).	35
Figure II.11 : Structure de 3,5-dimethyl-1H-pyrazole	35
Figure II.12 : Les deux étapes de préparation de (Py 02).	35
Figure II.13 : Structure de 3,5-dimethyl-1-phenylpyrazole .	36
Figure II.14 : Les deux étapes de préparation de (Py 01).	36
Figure II.15 : Etapes de préparation de Mueller Hinton Agare	37
Figure II.16 : Etapes des préparation de réalisation d'une suspension.	37
Figure II.17 : La mesure de la densité optique (DO).	37
Figure II.18 : Etapes de ensemencement et apphication des disques	38
Figure III.1 : Les déplacements chimiques en RMN 1 H duPyrazolone-1.	41
Figure III.2 : Le spectre de RMN ¹ H du Pyrazolone-1	41
Figure III.3 : Les déplacements chimiques en RMN ¹³ C du Pyrazolone-1.	42
Figure III.4 : Le spectre de RMN ¹³ C du Pyrazolone-1.	42
Figure III.5 : Le spectre de DEPT du Pyrazolone-1	43
Figure III.6 : Les caractéristiques spectrales (RMN ¹ H) du Pyrazole-2.	44
Figure III.7 : Le spectre de RMN ¹ H du Pyrazole-2	44
Figure III.8 : Caractéristiques spectrales (RMN ¹³ C) du Pyrazole-2.	44
Figure III.9 : Le spectre de RMN ¹³ C du Pyrazole-2.	45
Figure III.10 : Le spectre de DEPT du Pyrazole-2.	45
Figure III.11 : Caractéristiques spectrales (RMN ¹ H) du Pyrrole.	46
Figure III.12 : Le spectre de RMN ¹ H du Pyrrole.	47
Figure III.13 : Caractéristiques spectrales (RMN ¹³ C) du Pyrrole.	47
Figure III.14 : Le spectre de RMN ¹³ C du Pyrrole.	48
Figure III.15 : Photographies montrant des zones d'inhibition des différents produits synthétisés sur <i>Escherichia coli</i>	50
Figure III.16 : Photographies montrant des zones d'inhibition des différents produits synthétisés sur <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Figure III.17 : Photographies montrant l'activité des différent produites synthétisée sur <i>Pseudomonas Aeroganosa</i>	51
Figure III.18 : Activité antibactérienne des composés (Py1, Py2, Py-One 1 et Py-One2)	51
Figure III.19 : Activité antibactérienne des composés (Py1, Py2)	52
Figure III.20 : Activité antibactérienne des composés (Py-One1, Py-One2).	53
Figure III.21 : Les pourcentages sensibilités des souches aux différents composés	54

Liste des tableaux

Titre	Page
Tableau 1 : Les propriétés physiques de pyrazole.	4
Tableau 2 : Les propriétés physique de pyrrole.	16
Tableau 3 : Les instruments utilisée.	31
Tableau 4 : Le calcul des masses des 4 solution.	35
Tableau 5 : Données physico-chimiques.	42
Tableau 6 : Les valeur des diamètres d'inhibition (en mm) des quatre produits synthétisés sue les deux souches bactérienne.	51
Tableau 7 : Classement des souches en fonction de leur sensibilité.	55
Tableau 8 : Les pourcentages des sensibilités.	56

Liste des abréviations

Produit :

- **DMSO** : Diméthylsulfoxyde
- **EtOH** : Ethanol
- **HCl** : Acide chlorhydrique
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium
- **THF** : Tetrahydrofurane
- **KMnO₄** : permanganate de potassium
- **B(pin)** : Bis(pinacolato)diboron ((CH₃)₄C₂O₂B)₂
- **AcOH** : acide acétique
- **nBuLi** : n-butyllithium LiCH₂-CH₂-CH₂-CH₃
- **CDCl₃** : chloroforme deutéré
- **CHCl₃** : chloroforme

Unités et Constantes physique :

- °C : Degrés Celsius
- g : Gramme
- cm : Centimètre
- ml : Millilitre
- h : Heure
- MHz : mégahertz
- μm : micro-mètre

Spectroscopie :

- **RMN¹H** : Résonance magnétique nucléaire du protone
- **RMN¹³C** : Résonance magnétique nucléaire du Carbone
- **DEPT** : Distorsionless Enhancement Polarisation Transfert

Autres Abréviations :

- **Rdt** : Rendement
- Δ : Chauffage
- **HMG-CoA** : Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A
- **E. Coli** : Escherichia coli
- **Pseudo** : Staphylococcus aureus
- **Staph** : Pseudomonas aeruginosa
- **MEB** : Microscopie électronique à balayage

Introduction Générale

Introduction Générale

Depuis sa naissance il y a près de deux siècles, la chimie organique n'a cessé d'évoluer. En particulier, le siècle dernier a vu des progrès significatifs à la fois dans les méthodes de synthèse et dans leur application à la synthèse totale. De nombreux outils de synthèse ont été développés et affinés pour donner accès à des molécules de plus en plus complexes.

Parmi ces méthodes, la méthode utilisant des catalyseurs de métaux de transition occupe la meilleure place. Ces nouvelles méthodes ont trouvé de nombreuses applications, notamment dans la formation et/ou la fonctionnalisation de divers hétérocycles.

Les hétérocycles sont des unités répétitives présentes dans des nombreuses familles des produits naturels et des nombreuses molécules biologiquement actives, du fait de l'importance de leur structures. des efforts considérable ont été déployés pour développer des nouvelles méthodes de synthèse sélectives, efficaces et économiques vis-à-vis des atomes à partir desquels elles peuvent être obtenus. (Éric .2012)

Ce sont des composés monocycliques et polycycliques dont au moins un cycle comporte un ou plusieurs hétéroatomes, les hétéroatomes sont le plus souvent l'oxygène, le soufre et l'azote. (Ouahes, 2007)

En fait, de nombreux composés hétérocycliques sont utilisés comme produits pharmaceutiques en raison de leur activités. De très nombreuses publications concernent plus ou moins directement ces structures dont les plus courantes font intervenir l'oxygène ou l'azote. Les hétérocycles azotés forment une famille des produits aux propriétés chimiques et biologiques intéressantes. Ces hétérocycles se retrouvent dans des nombreux produits naturels comme les vitamines, les acides nucléiques, les hormones, les antibiotiques et les alcaloïdes. Ils sont également utilisés dans la production de colorants, d'herbicides, des fongicides, d'insecticides et des nombreux produits pharmaceutiques. (Messadia..2013).

Le présent travail s'inscrit dans ce contexte, il porte sur la synthèse, la caractérisation et l'évaluation de l'activité antibactérienne de quelques composés hétérocycliques azotés

A cet effet, le travail sera réparti en trois chapitres:

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur les différentes méthodes d'obtention des composés hétérocycliques azotés (pyrrole, pyrazole).

Introduction Générale

Le deuxième chapitre, matériel et méthodes, décrit les différentes méthodes et techniques utilisées.

Quant au dernier chapitre, il traite l'ensemble des résultats et leurs discussions.

Chapitre I :

Etude Bibliographique

I.1 Introduction :

Les composés hétérocycliques présentent une classe des composés dans lesquels un atome de carbone ou plus d'un compose cyclique est remplacé par un atome hétérogène comme l'oxygène O, l'azote N, le phosphore P, le soufre S,...etc.

Au cours de ces dernières années les travaux des chercheurs sont concentrés à la synthèse des molécules hétérocycles comme les pyrazoles, pyrroles, imidazoles, tiriazoles, en raison de leur activités biologiques importantes (antitumorale, antibactérienne, antioxydant, anti-inflammatoire ...etc.),

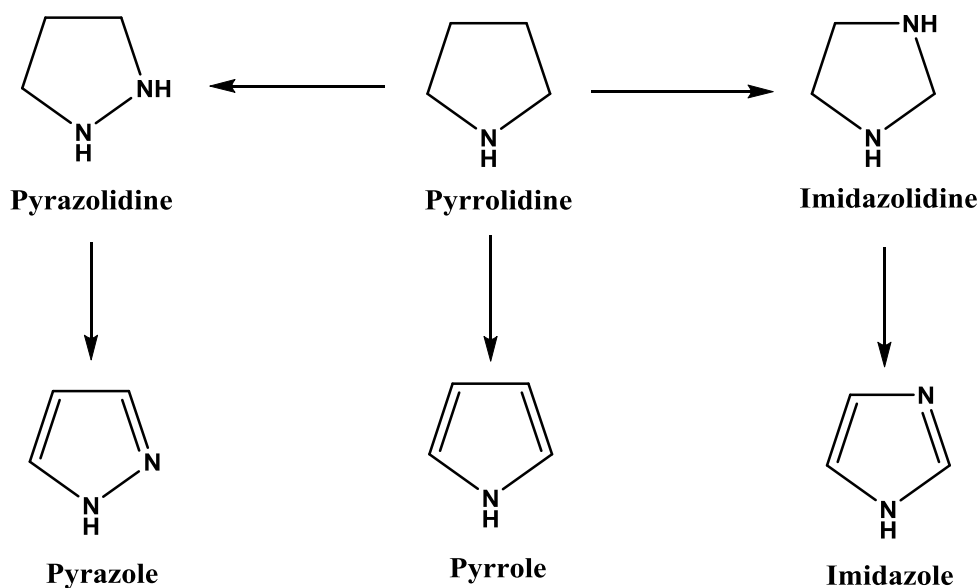


Schéma I.1 : Quelques exemples des molécules hétérocycles azotes.

Parmi ces composés hétérocycliques azotés on trouve les deux molécules de pyrazoles et pyrroles qui sont largement étudiées.

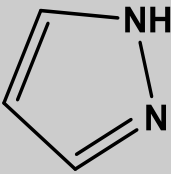
I.2 pyrazole :

I.2.1 Généralité :

Ont une histoire glorieuse, en 1883. Un chimiste allemand wduig Knorr a été le premier à découvrir l'activité antipyrétique de dérive du pyrazole chez l'homme, il a nommé ce compose anti-piryne. cette structure a été obtenue par accident lors d'une tentative de synthèse de dérivé quinoléine à activité antipyrétique (Kumar & Jayaroopa, 2013).

Un classe importante des composés hétérocycliques aromatiques organiques simple, ils sont caractérisés par une structure de la formule moléculaire ($C_3H_4N_2$), Ce sont des base faible constituée de 3 atomes de carbone et de deux atomes d'azotes, et présentant deux doubles liaisons cocycliques formant un motif hétérocyclique à cinq chaînons (Jadhav, 2022).

Tableau 1 : Les propretés physiques du pyrazole (Boudjellal, 2020).

Structure chimique	 pyrazole
Formule chimique	$C_3H_4N_2$
Nom chimique	1,2-diazole
Masse molaire	68,0773 mol/l
Température d'ébullition	186-188°c
Température de fusion	67-70°c

I.2.2 Les pyrazoles comme produit naturel :

Les pyrazoles sont rares dans la nature, le premier dérivé pyrazolique a été isolé par des chercheurs japonais Kosuge et Okeda en 1954, jusqu'à sa découverte, il ont isolé (A) :

(3-éthyl-1H-pyrazole) à partir de *Houttuynia Cordata*, des (piperaceae) famille d'Asie *Tropicale* à montrer une activité antibactérienne.

Ils ont également isolé la (B) : (1-pyrazolyle-alanine) un acide amine isolé à partir des graines de pastèque *Citullus Vulgaris* (Kumar & Jayaroopa, 2013).

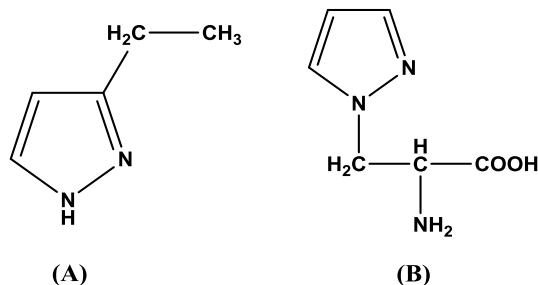
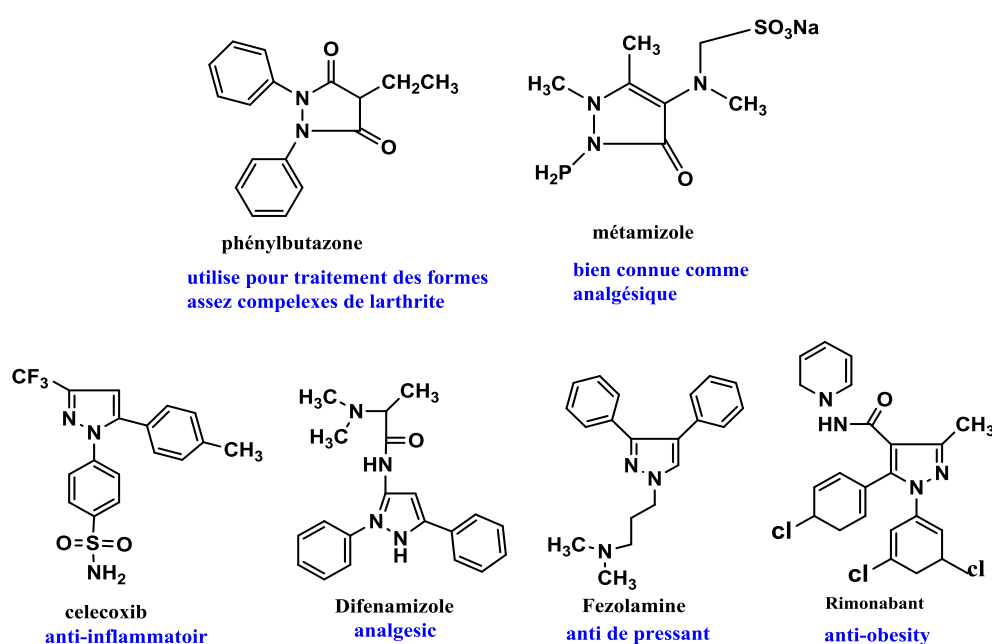


Figure I.1 : les deux molécules de pyrazole (A) 3-ethyl-1H-pyrazole, (B) 1-pyrazolyle-alanine (Kumar & Jayaroopa, 2013).

I.2.3 Dérivés pyrazolique biologiquement actif :

Les pyrazoles se classent comme des alcaloïdes en raison de leur composition et de leur effets pharmacologiques sur l'homme : antimicrobienne, antiviraux, analgésiques, anti-inflammatoires, anti-cancéreux, des études efficaces de cette classe des composés hétérocycliques, ont conduit à la découverte des compose pharmacologiquement actif, y compris les pyrazoles qui jouent un rôle important dans la chimie médicinale (Jadhav, 2022).

La famille des azolés comprend une grande variété des produits chimiques ont été largement étudiés comme par exemple :



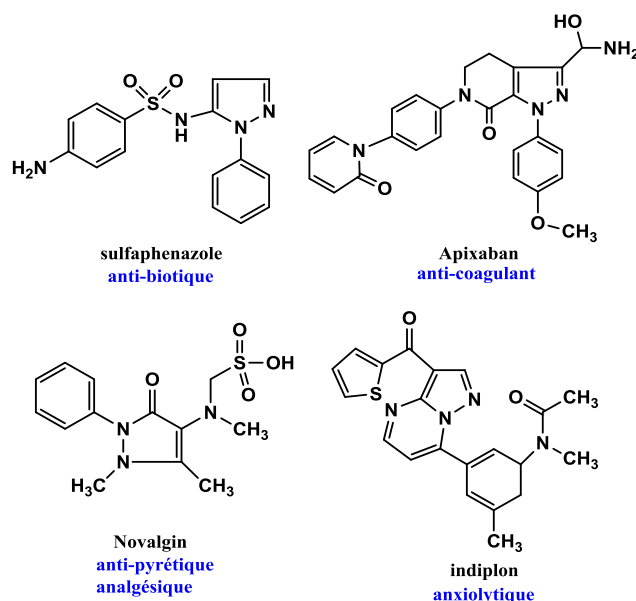


Figure I.2 :Exemples des pyrazoles bioactifs et leur activité (Cherfaoui, 2018; Jadhav, 2022; Küçükgülzel & Şenkardes, 2015).

I.2.4 Réactivité chimique :

I.2.4.1 Réaction acido-basique :

Les 1H-pyrazoles sont des bases faibles

Les 1H-pyrazoles avec leur hydrogène labile sont acides, ils sont déprotonés par une base forte (Zerguini, 2019)

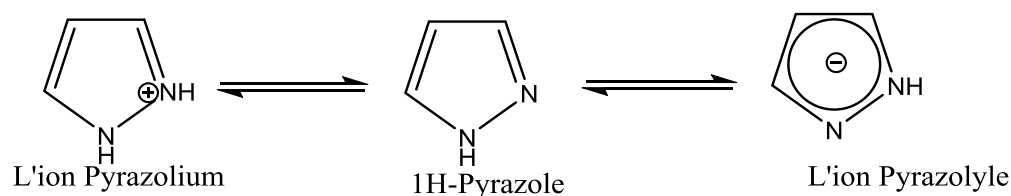


Schéma I.2 :Les réactions acido-basiques des 1H-pyrazoles (Zerguini, 2019).

Les pyrazoles se comportent comme des systèmes amphotères, c'est-à-dire qu'ils sont, à la fois acides et basiques, sont des ligands de choix pour les réactions de complexation, par exemple, avec le chlorure de nickel, ils donnent un complexe (Zerguini, 2019).

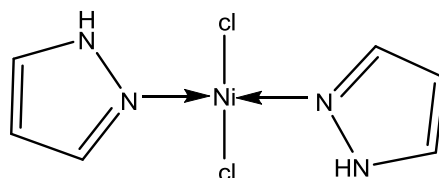


Schéma I.3 :Réaction des ligands pyrazoles avec le chlorure de nickel (Zerguini, 2019).

I.2.4.2 Alkylation :

La N-alkylation pour les 1H-pyrazole est réalisée, préférentiellement, en milieu moyennement basique, à partir de l'ion pyrazolyle et en présence d'iodo-alcanes (ou RI), elle a lieu en position 1 de l'hétérocycle (Zerguini, 2019)

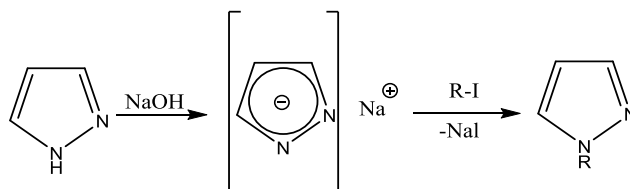


Schéma I.4 : N-alkylation du 1H-pyrazole via l'anion pyrazolyle (Zerguini, 2019).

I.2.4.3 Métallation "Deprotometallation ":

Métallation en position C5 par l'alkyllithiums : Les réactions de lithiation sont très utilisées pour la borylation du noyau pyrazole. Par exemple, la synthèse d'esters pyrazolylboroniques (Delaunay, 2010).

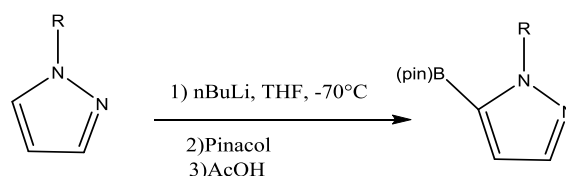


Schéma I.5 : Métallation de pyrazole en position C5 par l'alkyllithiums (Delaunay, 2010)

I.2.4.4 Halogénéation :

La position C5 peut, être halogénée par échange proton-lithium et ajout ensuit d'un électrophile halogéné (Delaunay, 2010)

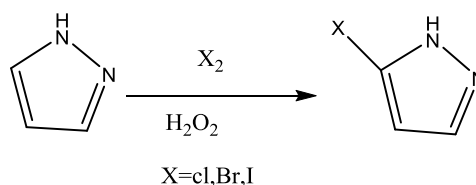


Schéma I.6 : Halogénéation de pyrazole (Delaunay, 2010) .

I.2.4.5 Oxydation :

Le cycle pyrazole est stable à l'action des agents oxydants, mais la chaîne latérale peut s'oxyder en acide carboxylique (Delaunay, 2010).

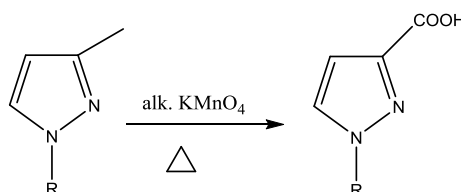


Schéma I.7 : Oxydation de Pyrazole (Delaunay, 2010).

I.2.5 Synthèse de pyrazole :

Les pyrazoles sont des composés d'un grand intérêt dans les industries pharmaceutiques et agrochimiques malgré le fait qu'ils ne se retrouvent pas couramment dans plusieurs molécules aux activités biologiques différentes, cela fait de la synthèse des pyrazoles un objectif important, par conséquent cette section présente certaines méthodes (Gosselin et al., 2006; Lellek et al., 2018).

I.2.5.1 Cyclocondensation d'hydrazine avec 1,3-dicétone :

Cette méthode développée par Knorr à la fin du 19^{ème} siècle, est une méthode classique pour la fabrication de pyrazole, elle consiste en la double condensation de 1,3-dicétones avec des hydrazines pour former l'hydrazine, le cycle se ferme et la réaction se termine par une déshydratation (Boudjellal, 2020; Schneider, 2016).

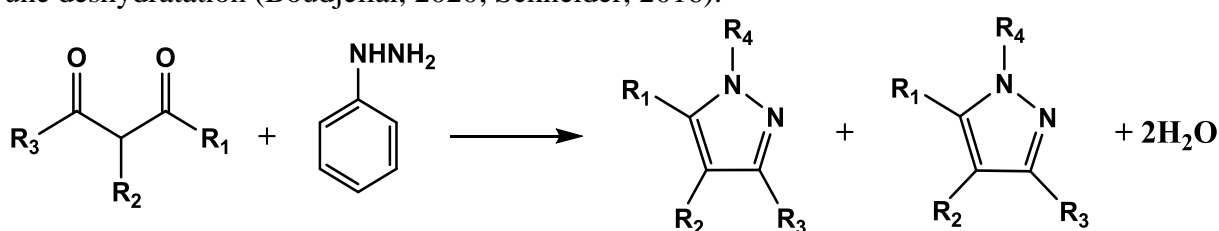


Schéma I.8 : cyclocondensation d'hydrazine avec 1-3dicétone (Boudjellal, 2020).

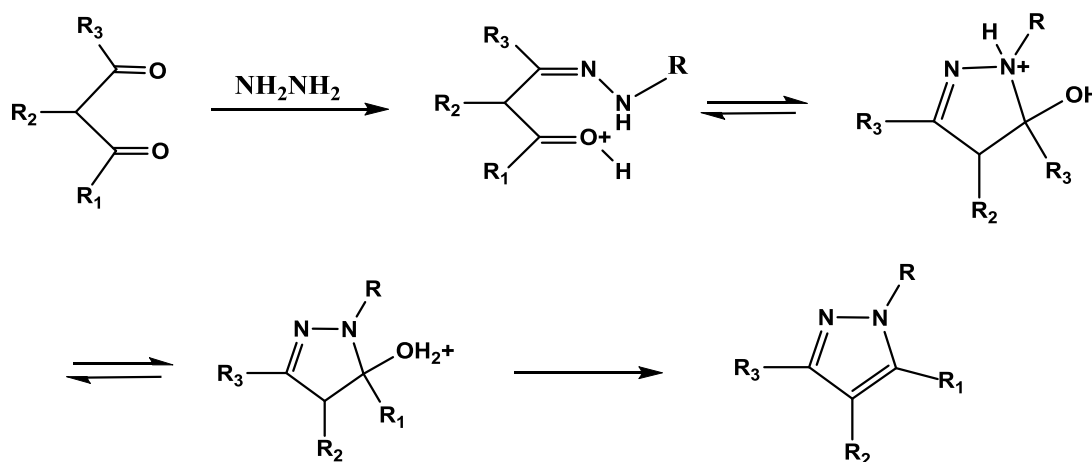


Schéma I.9 : mécanisme de la réaction de la formation de pyrazole par 1-3dicétone (Schneider, 2016).

I.2.5.2 Synthèse de pyrazole à partir de cétone acétylénique :

Est connue depuis plus de 100 ans, c'est la réaction de cyclo-condensation de l'hydrazine sur les cétones acétyléniques pour former des pyrazoles, la réaction aboutit encore à un mélange de régiosomères (Boudjellal, 2020).

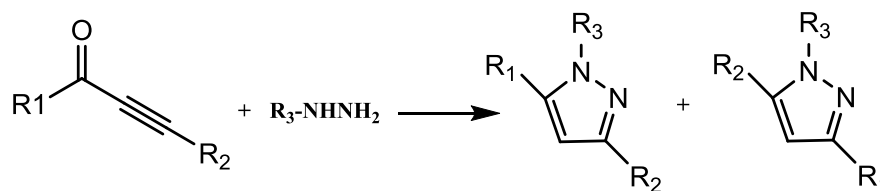


Schéma I.10 : synthèse de pyrazole à partir de cétone acétylénique (Boudjellal, 2020).

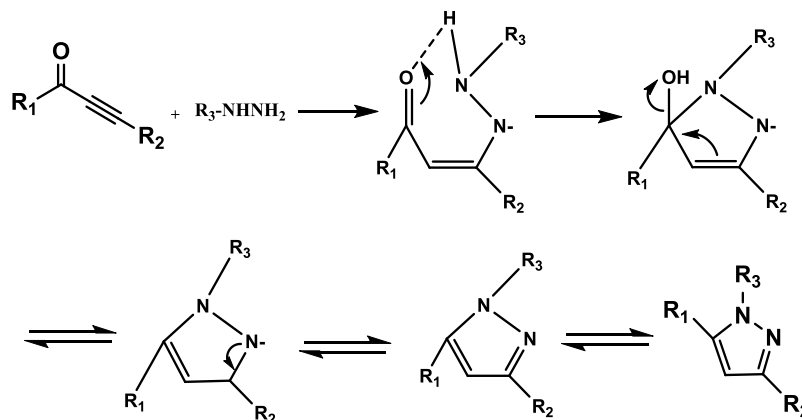


Schéma I.11 : mécanisme de la réaction de formation de pyrazole à partir de cétone acétylénique (Boudjellal, 2020).

I.2.5.3 Synthèse de pyrazole à partir des énaminodicétone :

La Cyclocondensation asymétrique d'énaminodicétone pour divers dérivés de hydrazine, divers pyrazoles, sont obtenus régi-spécifiquement avec de bons rendements (Boudjellal, 2020; Rosa et al., 2008).

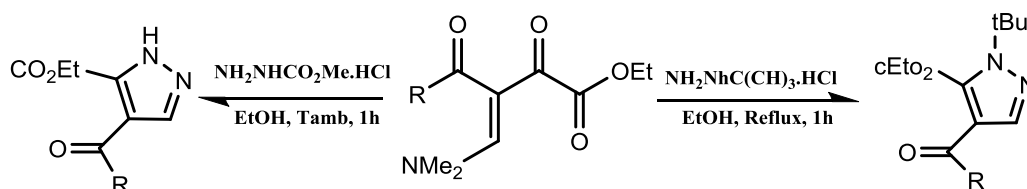


Schéma I.12 : synthèse de pyrazole à partir de l'énaminodicétone (Boudjellal, 2020).

Mécaniquement, il est suggéré que, le dicétone réagisse avec l'hydrazine pour former le précurseur, l'élimination de diméthylamine forme en suite le composé insaturé, lequel subit une réaction de cyclisation intramoléculaire déshydratante pour conduire au pyrazole (Boudjellal, 2020).

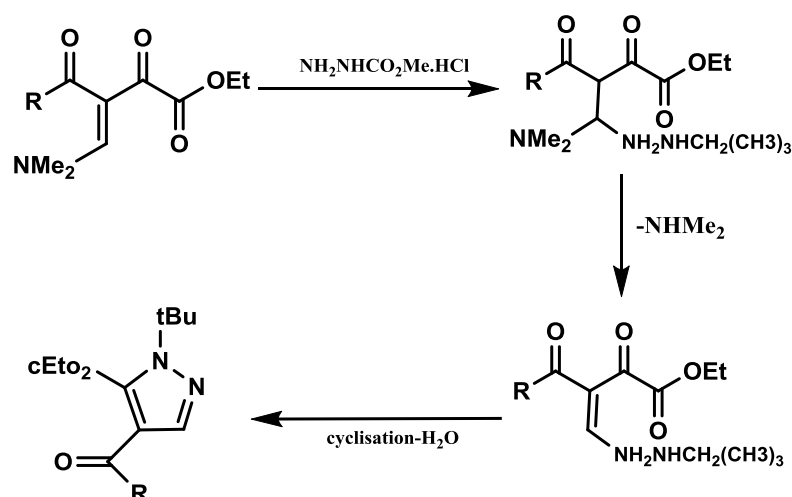


Schéma I.13 : Mécanisme de réaction de formation de pyrazole à partir d'énaminodicétone (Boudjellal, 2020).

I.2.5.4 Synthèse de pyrazole à partir de cétones vinyliques :

La réaction de cyclo-condensation entre une cétone α, β -éthylénique et un dérivé de l'hydrazine aboutit à la synthèse de pyrazoles qui après oxydation fournissent le noyau pyrazole, puis le départ du groupement partant, ce groupement peut être un alcool, une amine, etc. (Aggarwal, de Vicente, & Bonnert, 2003; Boudjellal, 2020).

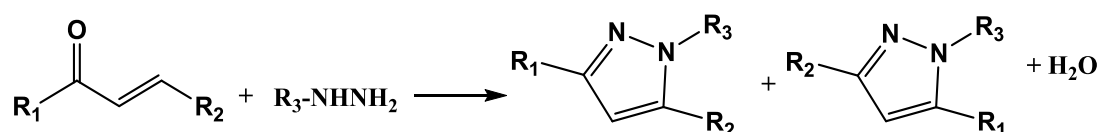


Schéma I.14 : synthèse de pyrazole à partir de cétone vinyliques (Boudjellal, 2020).

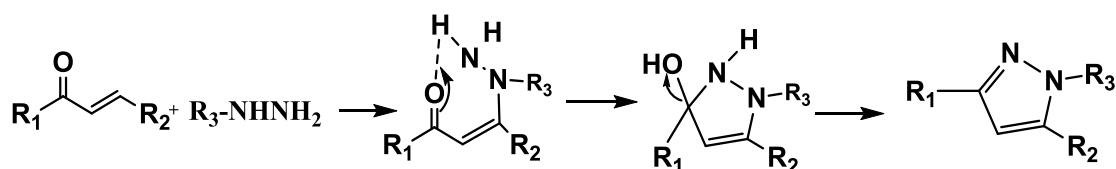


Schéma I.15 : Mécanisme de la réaction de formation de pyrazole à partir d'une cétone vinylique (Aggarwal et al., 2003; Boudjellal, 2020).

I.2.5.5 Synthèse de pyrazole à partir des chalcones :

En 2000, HUANG et KATZENELLENBOGEN ont essayé de diriger la condensation d'hydrazines avec des cétones α, β -éthyléniques substituées par des groupes alkyles afin d'accéder à de nouveaux ligands du récepteur d'estrogène de type 4-alkyl-pyrazoles (Boudjellal, 2020).

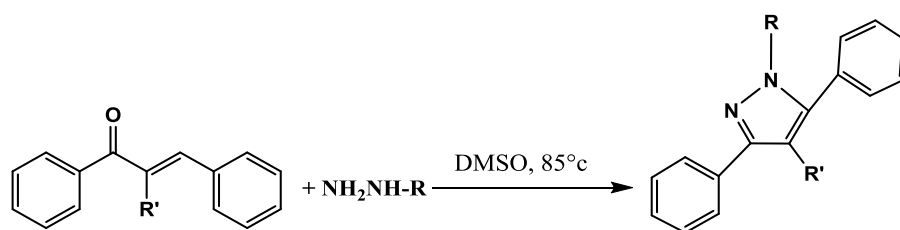


Schéma I.16 : synthèse de pyrazole à partir des chalcones (Boudjellal, 2020).

Mécaniquement, il y a 2 voies, la première voie passerait par l'addition de l'amine sur le carbone en position β de la cétone vinylique suivie de la formation intramoléculaire de l'amine pour donner la pyrazoline puis le pyrazole, la deuxième voie proposée passe d'abord par la formation de l'imine suivie de l'addition de l'amine, un réarrangement pototropique fournirait en suit la pyrazoline (Boudjellal, 2020).

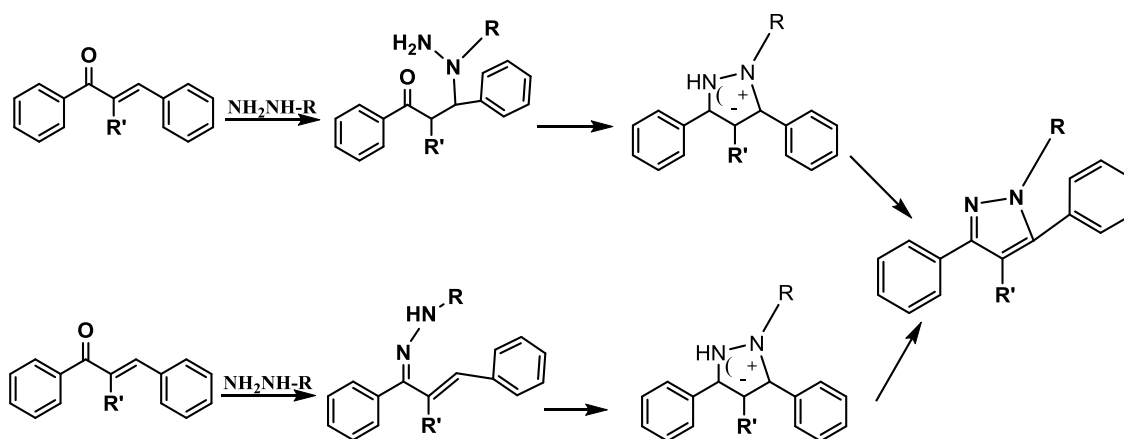
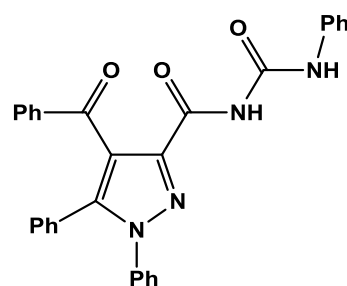


Schéma I.17 : mécanisme d'obtention des pyrazole à partir des chalcones (Boudjellal, 2020).

I.2.6 Activité biologique :

I.2.6.1 Activité Antibactérien :

AKBAS et al, ont synthétisé une séries de dérivés d'acide 1H-pyrazole-3-carboxylique et évalués leur activité antibactérienne contre *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. Les résultats obtenus ont montré que le composé en dessous était le meilleur composé de la série, présentant une activité antibactérienne contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives (Karrouchi et al., 2018).



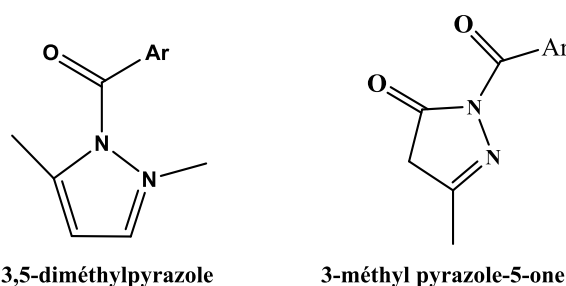
4-benzoyl-1,5-diphenyl-N-(phenylcarbamoyl)-1H-pyrazole-3-carboxamide

FigureI.3: compose pyrazolique à activité antibactérienne (Karrouchi et al., 2018).

I.2.6.2 Anti-inflammatoire :

Presque tous les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens actuellement utilisés en clinique sont de nature très acide avec un inconvénient commun de toxicité gastro-intestinale, indiquant ainsi un besoin évident de développer un agent anti-inflammatoire non stéroïdien non acide, les pyrazoles représentent l'une des classes les plus actives de composés possédant un large spectre d'activités biologiques, de nombreux composés thérapeutiquement utilisés tels que phénylbutazone, oxyphenobutazone, celecoxib, appartenant aux pyrazoles ont montré des effets anti-inflammatoires, antipyrétique, analgésique.

Amir et Kumar ont décrit l'activité anti-inflammatoire des dérivés du 3,5-diméthylpyrazole et le 3-méthyl-pyrazole-5-one, Ce sont de bons analgésiques et anti-inflammatoire. (Amir & Kumar, 2005).



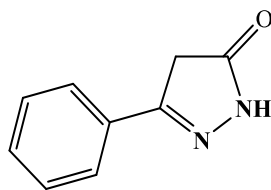
3,5-diméthylpyrazole

3-méthyl pyrazole-5-one

FigureI.4 : les deux molécules a activités anti-inflammatoire (Amir & Kumar, 2005).

I.2.6.3 Activité antifongique :

Ramiz et al, synthétise une série de nouveaux dérivés de pyrazolone et de pyrazole avec une activité anti fongicide attendue à travers les réactions 3-phenyl-1H-pyrazol-4H-5-one (Parajuli, Pokhrel, Tiwari, & Banerjee, 2013).

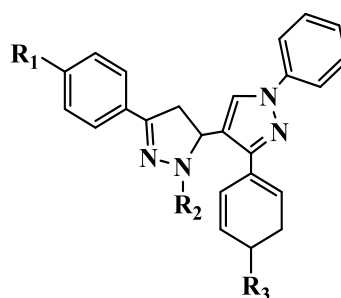


3-phenyl-1-H-pyrazol-5(4H)- one (3)

Figure I.5 : une molécule pyrazolique a une activité antifongique.

I.2.6.4 Activité antitumorale :

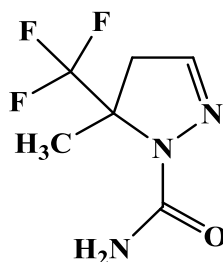
Braulio et al, synthétise une série de 3-aryl-4-(3-aryl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-5-yl)-1-phenyl-1H-pyrazoles et 1-substituée 3-aryl-5-aryl-(hetaryl)-2pyrazolines et criblé leur activité antitumorale (Parajuli et al., 2013).



FigureI.6 :une molécule pyrazolique à une activité antitumorale (Parajuli et al., 2013).

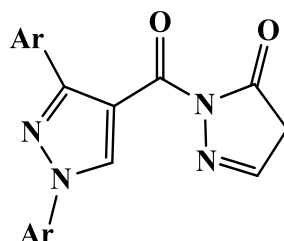
I.2.6.5 Activité antioxydante :

Pasin et al, synthétise une série de dérivés de pyrazole et crible pour leur activité antioxydante, les composés synthétisés ont montré une bonne activité antioxydante (Parajuli et al., 2013).



FigureI.7 :dérivé de pyrazole a activité antioxydant (Parajuli et al., 2013).

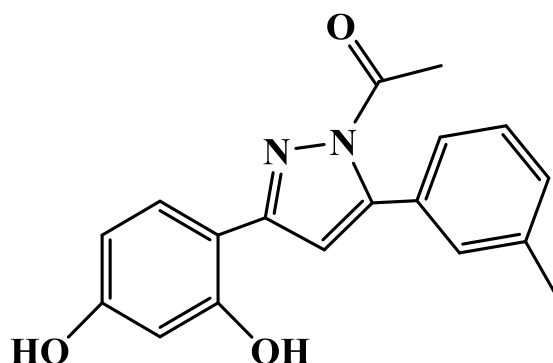
Umesha et al, synthèse la 5-méthyle -2-(5-méthyl-1-3-diphényl-1H-pyrazole-4-carbonyl)-2,4-dihydropyrazol-3-one et évalue leur activité antioxydante (Parajuli et al., 2013).



FigureI.8 : dérive pyrazolique à activité antioxydant (Parajuli et al., 2013).

I.2.6.6 Activité antihypertensive :

Zitouni et al, ont synthétisé la 1-(4-arylthiazol-2-yl)-3,5-diaryl-2-pyrazoline et étudié leur activité, tout les composés examinés ont montré des activités hypotensives appréciables.(Parajuli et al., 2013).



FigureI.9 : dérive pyrazolique à activité antihypertensive (Parajuli et al., 2013).

I.2.6.7 Inhibiteurs des enzymes :

Tariq harit et coll, ont synthétisé trois nouveaux ligands tridentés à base de pyrazole, le 2-(bis((3,5-diméthyl-1H-pyrazol-1-yl)méthyl)amino)éthanol, et N,N-bis((3,5-diméthyl-1H-pyrazole-1-yl)méthyl) cyclohexanamine et le 2-(bis((1,5-diméthyl-1H-pyrazol-3-yl)méthyl)amino) par un produit de base 1-hydroxyméthyl-3,5diméthyl pyrazole.

ont été testés comme inhibiteurs contre une variété d'enzymes hyperactive tel que : l'uréase, l'acétyl cholinestérase, α -chymotrypsine, la bututrylcholinestérase, la β -glucuronidase et la phosphodiéstérase (Harit et al., 2012).

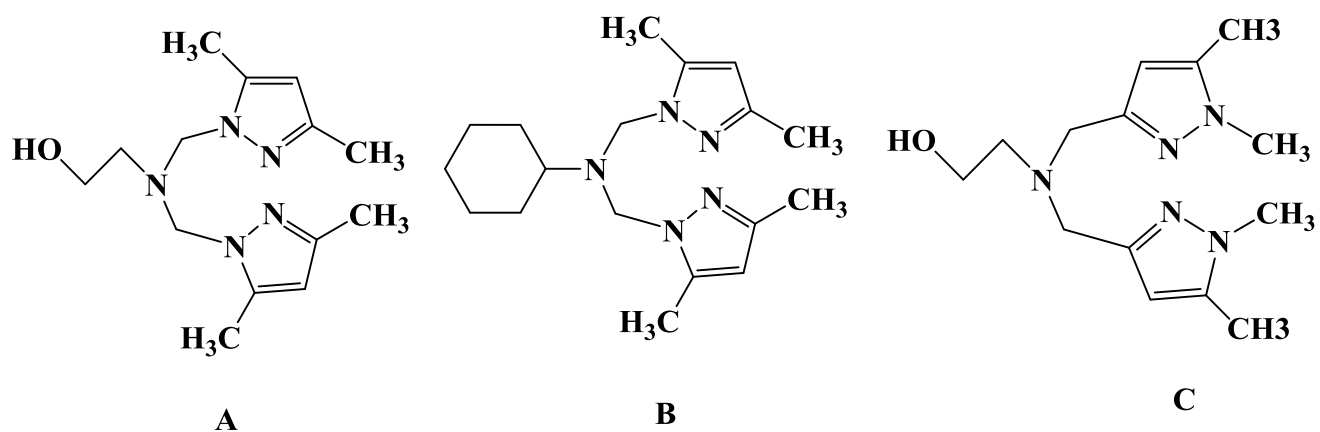


Figure I.10 : Dérivé des pyrazoles avec bio actif comme inhibiteur d'enzyme (Harit et al., 2012).

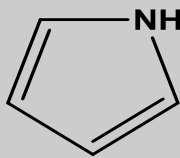
I.3 Les pyrroles :

I.3.1 Généralité :

L'histoire du pyrrole commence en 1834, lorsque le chimiste Runge découvrit le pyrrole dans l'huile de goudron. Il l'a nommé « Pyrrole ». Il est dérivé du grec pyrros (qui signifie rouge) et a été nommé d'après l'observation des émanations de vapeurs d'une coloration rouge intense qui se dégagent au contact des huiles de goudron avec le bois de pin imbibé d'acide chlorhydrique, En 1858, le pyrrole a été isolé sous sa forme pure et sa structure a été établie par Anderson Formule Moléculaire C_4H_5N . (messaoudi, 2017)

Les pyrroles sont des composés organiques hétérocycliques aromatiques. à cinq chaînons contenant quatre atomes de carbone et un atome d'azote et deux double liaisons endo-cyclique de formule brute C_4H_5N .(tzankova & valadimirova, 2017). C'est un liquide incolore à température ambiante, bien qu'il vire rapidement au brunâtre au contact de l'air (Cette coloration provient de son oxydation par action de l'oxygène.) (messaoudi, 2017)

Tableau 2 :Les propriétés physiques de pyrrole(messaoudi, 2017)

Structure chimique	 <p style="text-align: center;">pyrrole</p>
Formule chimique	C_4H_5N
Le nom IUPAC	AZOLE
Masse molaire	69,09 g/mol
Température d'ébullition	129,8°C
L'état	Liquide

Les pyrroles comme produits naturels :

Bien que les pyrroles appartiennent à la classe des hétérocycles penta cycliques. Les produits naturels contenant un seul cycle pyrrole sont relativement rares et mal compris, et

leurs fonctions biologiques sont aussi diverses que leurs structures. Certains pyrroles naturels sont des phéromones, d'autres peuvent être utilisés comme antibiotiques, ou peuvent entraîner une résistance réversible à certains médicaments. (tzankova & valadimirova, 2017)

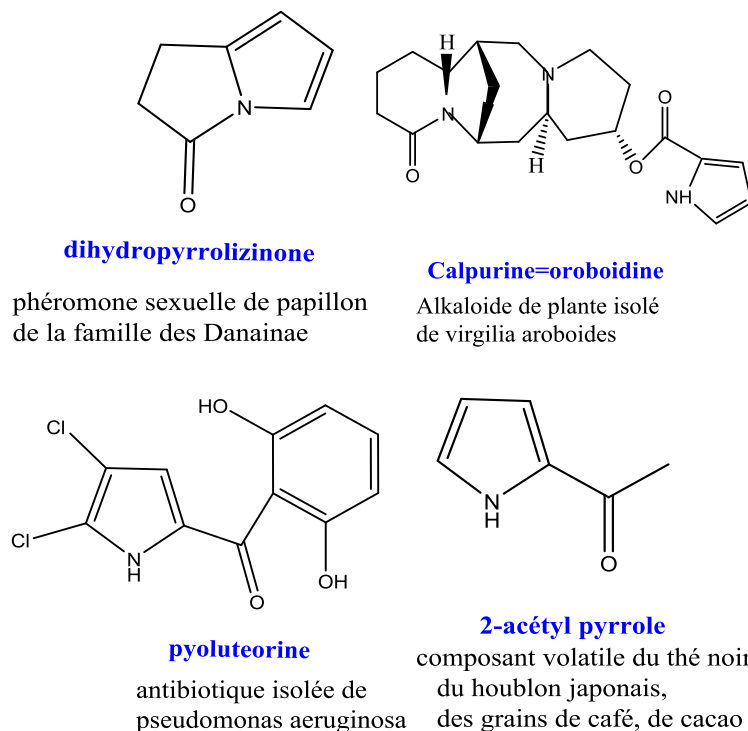


Figure I.11: Quelques exemples de produits naturels contenant un cycle pyrrole et leur activité (messaoudi, 2017).

Les porphyrines sont des composés tétra pyrroliques cycliques et trouvent une grande place dans le monde biologique, les noyaux porphyrine et leurs dérivés sont des structures de base de la chimie du vivant tels que :

L'hème est cofacteur indispensable au transport de l'oxygène contenant un atome de fer, la chlorophylle est collecte le photon de la lumière et le convertir en énergie. La cyanocobalamine (vitamine B12) est essentielle au bon développement du corps. Un ion cobalt Co^{2+} est complexé au centre. (tzankova & valadimirova, 2017)

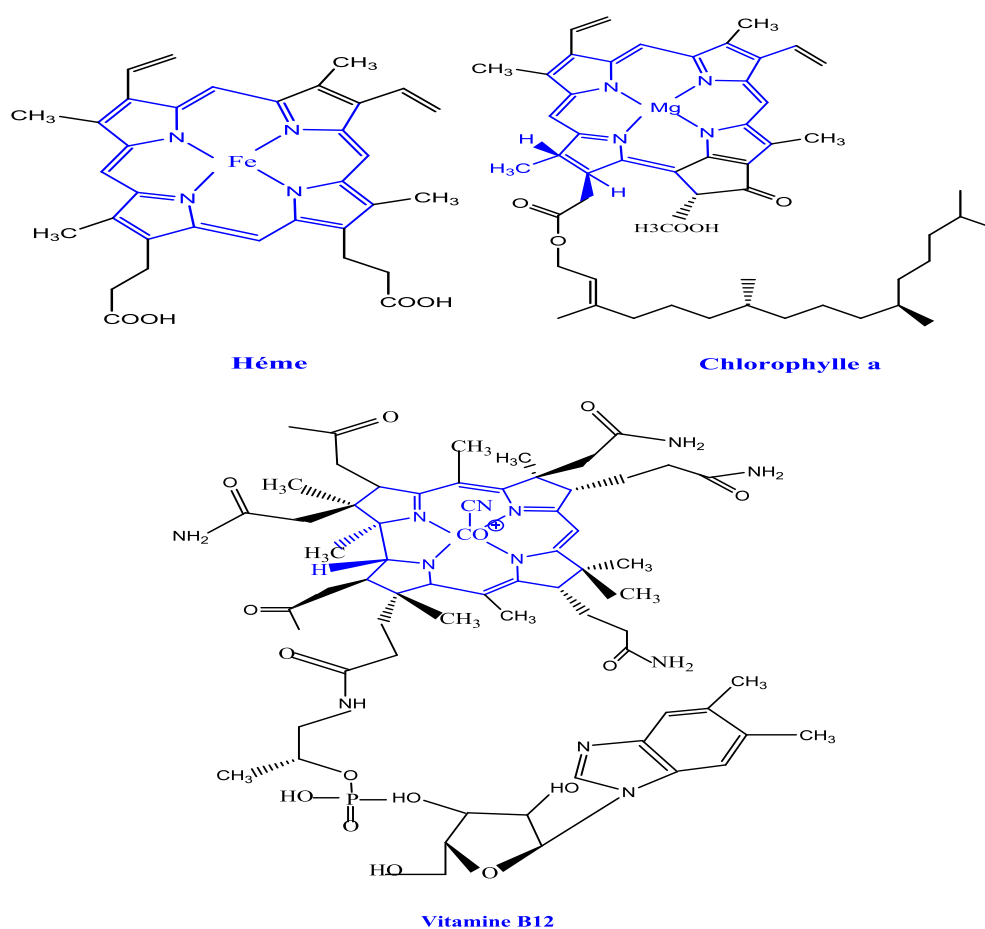


Figure I.12 : des dérivés fabriqués par la formation de quatre cycles pyrrole d'un système cyclique de porphyrine.(tzankova & valadimirova, 2017)

I.3.2 Réactivité chimique :

I.3.2.1 Réduction :

L'utilisation de l'hydrogène (H_2) avec différents catalyseurs permet de réduire les pyrroles en pyrrolidine. Une réduction partielle, avec zinc en présence d'un acide acétique, conduit au 2,5-dihydropyrrole.(joule & mills, 2014)

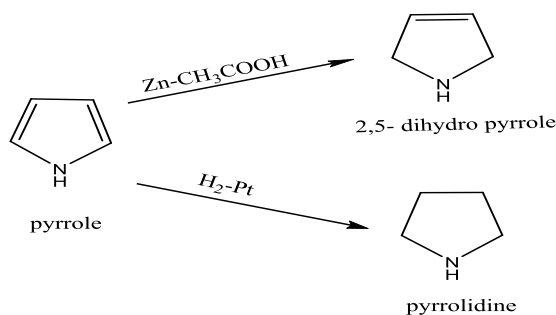


Figure I.13: Réaction de réduction de pyrrole.

I.3.3 Synthèse de pyrrole :

Le pyrrole appartient à une classe importante de composés hétérocycliques en raison de son potentiel dans le domaine pharmaceutique, En conséquence, de nombreuses techniques de synthèse de ces composés ont été développées par divers groupes des chercheurs tels que Hantzsch, Paal et Knorr.

Dans sa monographie, il classe ces différentes méthodes selon la séquence de réactions qui ont lieu lors de la formation du cycle pyrrolique. (Guieu, 2017)

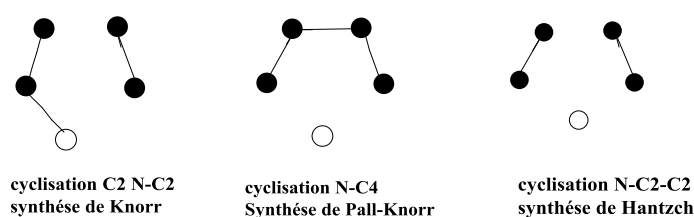


Figure I.14 : voie générale de synthèse du pyrrole.

I.3.3.1 Synthèse des pyrroles à partir du furane :

Industriellement, le pyrrole est obtenu en traitant le furane avec de l'ammoniac en présence d'un catalyseur acide solide tel que SiO_2 ou Al_2O_3 . (tzankova & valadimirova, 2017)

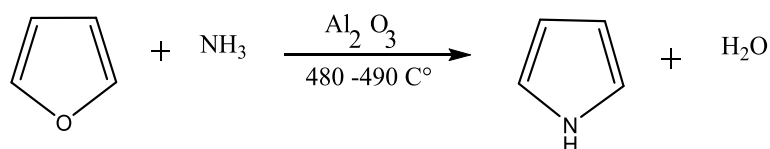


Schéma I.21 : production industrielle de pyrrole par furane.

I.3.3.2 Synthèse des pyrroles par déshydrogénation catalytique de la pyrrolidine :

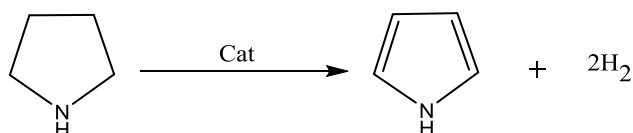


Schéma I.22 :Préparation industrielle de pyrrole par déshydrogénation catalytique de la pyrrolidine.(tzankova & valadimirova, 2017).

I.3.3.3 Synthèse des pyrroles selon Paal-Knorr :

La méthode la plus importante et la plus appliquée pour la synthèse des pyrroles, des Furanes et des thiophènes, et de leurs dérivés est la synthèse bien connue de Paal-Knorr, basée sur la ou une réaction d'un composé 1,4-dicarbonyle avec de l'ammoniac ou une amine primaire pour former du pyrrole substitué. (Guieu, 2017)

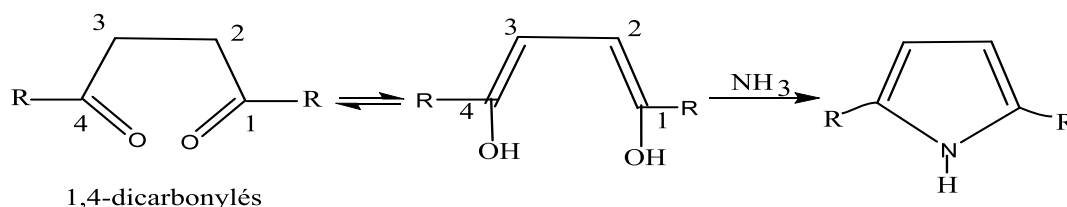


Schéma I.23: Réaction de Paal- Knorr

❖ Mécanisme réactionnel

Le mécanisme de la réaction de Paal-Knorr basé sur l'attaque de l'amine au carbonyle protoné, formant l'hémiaminal. De plus, l'amine attaque l'autre carbonyle et forme dérivé de 2,5-dihydroxytétrahydropyrrole, qui est déshydraté davantage pour former le substitut correspondant pyrrole. (Guieu, 2017)

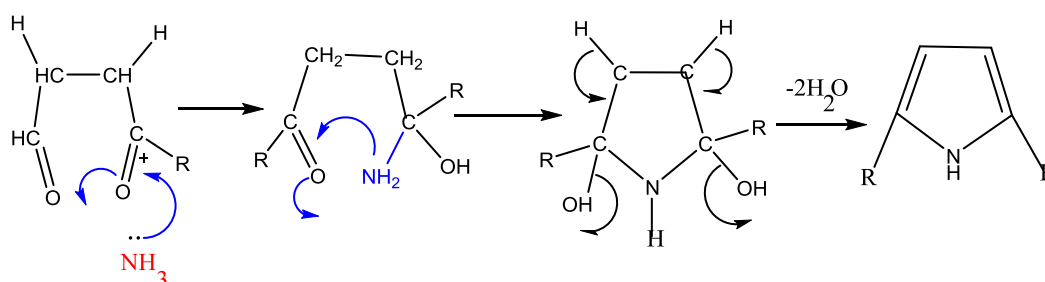


Schéma I.24 : mécanisme de la réaction de Paal-Knorr.

I.3.3.4 Synthèse des pyrroles selon Knorr :

La synthèse des pyrroles selon Knorr consiste en la condensation d'un α -aminocétone avec un composé carbonylé possédant un groupe méthylène active. (Guieu, 2017)

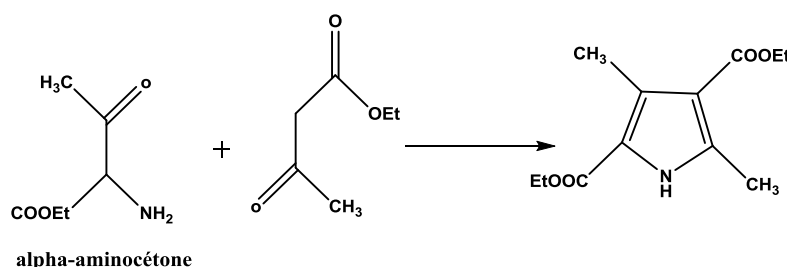


Schéma I.25: Réaction de Knorr (Marrec, 2009)

❖ Mécanisme réactionnel :

La réaction débute par l'attaque du groupe amino sur le carbonyle qui conduit à l'étamine et à la formation de la liaison N-C₂. en suit la cyclisation par la formation de la liaison C₃-C₄ et l'aromatisation avec l'élimination d'eau.(joule & mills, 2014)

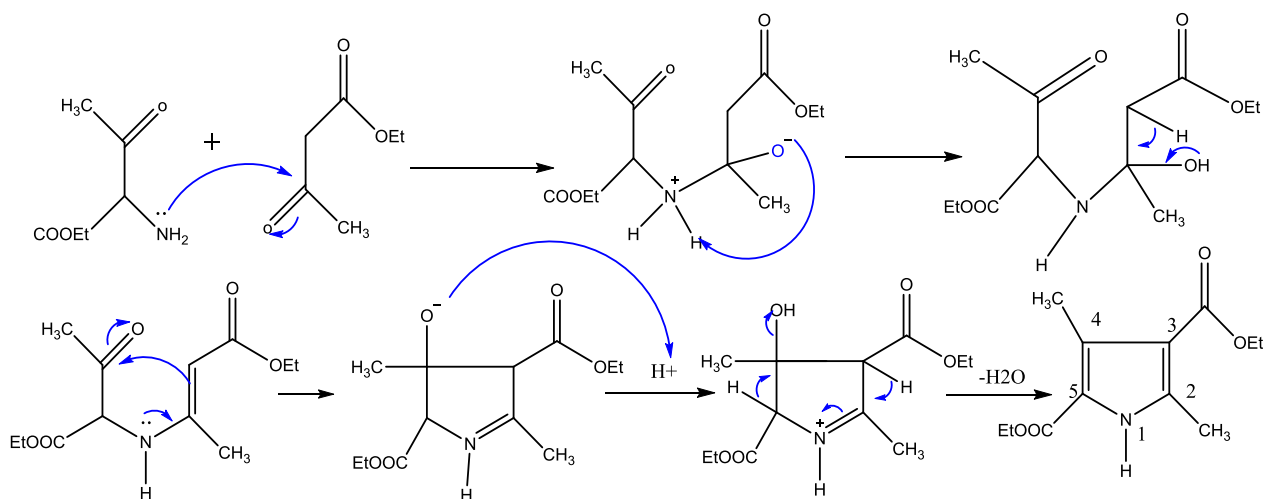


Schéma I.26 :mécanisme de la réaction de Knorr.(joule & mills, 2014).

I.3.3.5 Synthèse des pyrroles selon Hantzsch :

La réaction de Hantzsch est la condensation d'une α-halogénocétone avec un β-cétoester en présence d'une amine ou d'ammoniaque pour former un pyrrole 2,3,5-tri substitué. Le mécanisme est proche de celui de Knorr. (Poulard, 2007)

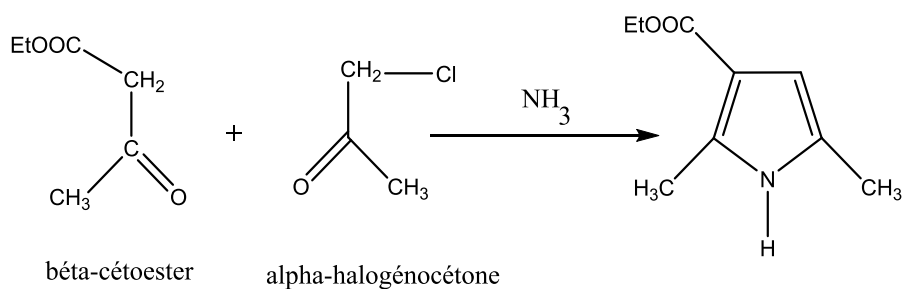


Schéma I.27: Réaction de Hantzsch.

❖ Mécanisme réactionnel :

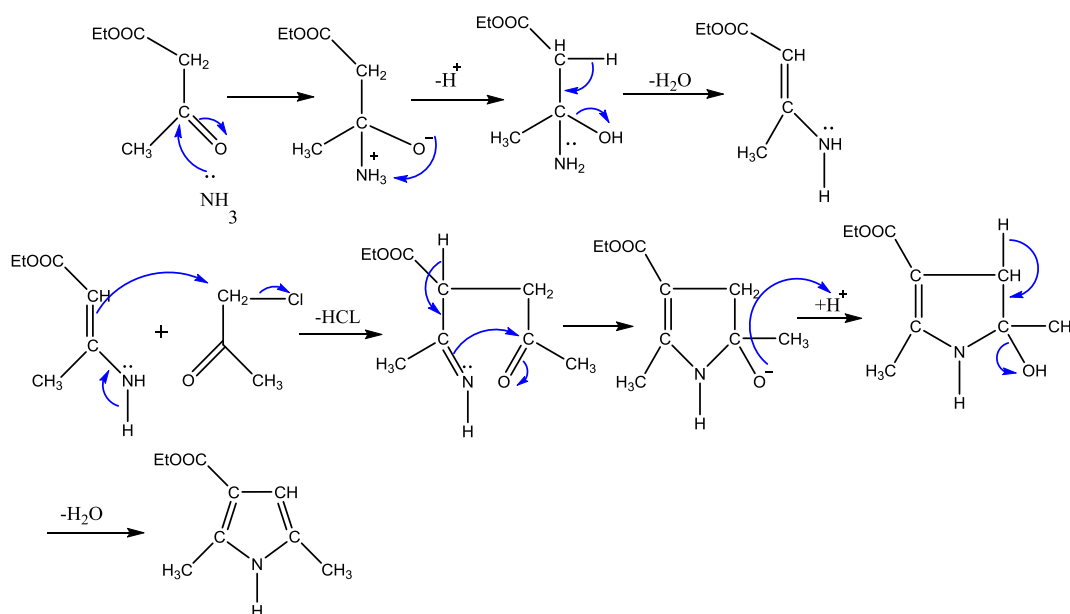
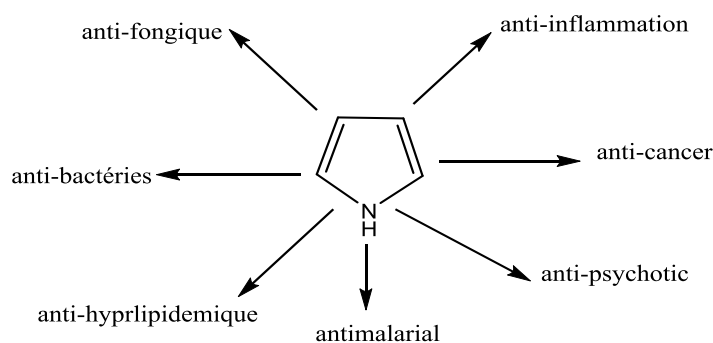


Schéma I.28 : Mécanisme de synthèse du pyrrole selon Hantzsch. (Marrec, 2009)

I.3.4 Activité biologique des pyrroles :

Les pyrroles représentent une classe importante d'unités structurales communes à de nombreux produits naturels. Ils contiennent des composés biologiques et pharmaceutiquement actifs. Généralement, ils sont utilisés comme intermédiaires dans la synthèse de produits pharmaceutiques, de pesticides, de colorants, de produits chimiques photographiques, de parfums et d'autres composés organiques. De plus, ils sont utilisés comme catalyseurs dans les procédés de polymérisation, inhibiteurs de corrosion, conservateurs, solvants pour résines et terpènes, étalons pour l'analyse chromatographique et en synthèse organique dans l'industrie pharmaceutique. (Guieu, 2017)

Ils sont largement utilisés comme agent anticancéreux, antibactériens, antifongiques et anti-inflammatoires. (Marrec, 2009)

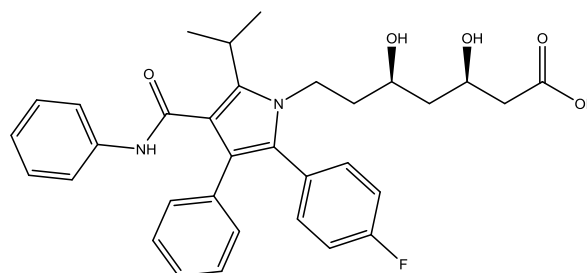


Est une partie importante de Structure de nombreux médicaments et nouveaux

Des principes actifs aux effets pharmacologiques divers tels que :

I.3.4.1 Activité Anti-hyperlipidémique :

Atorvastatine, une classe de composés synthétiques de pyrrole. C'est un pyrrole penta substitué prescrit pour l'hypercholestérolémie. Inhibiteur HMG CoA réductase, une enzyme impliquée dans la synthèse du cholestérol chez les mammifères. C'est actuellement le médicament le plus vendu au monde commercialisé sous le nom de Lipitor. (Marrec, 2009)

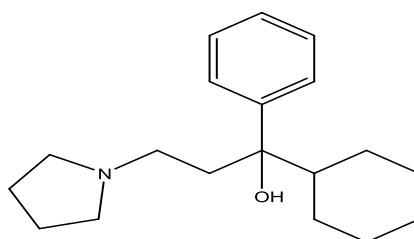


lipitor

Figure I.15 : Structure de Atorvastatine (Marrec, 2009)

I.3.4.2 Activité Anti-muscarinique :

La procyclidine est un anxiolytique qui bloque l'activité des récepteurs muscariniques de l'acétylcholine. Ce médicament est généralement utilisé pour la maladie de Parkinson. (Duffin & Green, 1955)

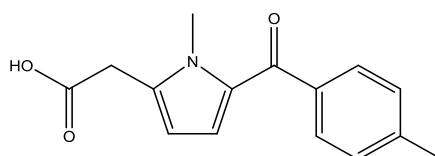


PROCYCLIDINE

Figure I.16 : Structure de Procyclidine. (Duffin & Green, 1955)

I.3.4.3 Activité Anti-inflammatoire :

Tolmetin (tzankova & valadimirova, 2017)

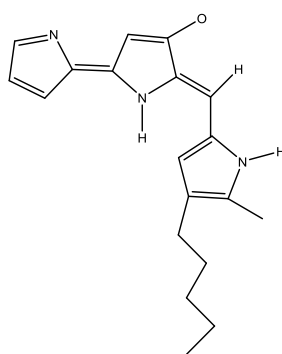


Tolmetin

Figure I.17:Structure de Tolmetin. (tzankova & valadimirova, 2017).

I.3.4.4 Activité Anti bactérie, anti fongique, anti malaria :

Les prodigiosines, une famille de pigments rouges naturels caractérisés par un squelette commun de pyrrolylpyrométhane, ont été inventées par une variété de bactéries. D'abord caractérisée par *Serratia Marcescens*. Ce pigment favorise l'activité antifongique, antibactérienne et antipaludique.(Darshan & Manonmani, 2015).

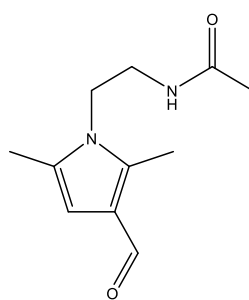


Prodigiosin

Figure I.18 :Structure de Prodigiosin. (Darshan & Manonmani, 2015).

I.3.4.5 Pour le traitement de la maladie d'Alzheimer :

Aloracetam (tzankova & valadimirova, 2017)



Aloracetam

Figure I.19 :Structure de Aloractam. (tzankova & valadimirova, 2017)

I.3.4.6 Activité Antipsychotiques :

Aussi appelés neuroleptiques, l'élopiprazole, un médicament symptomatique qui permet d'améliorer l'état mental (états maniaques ou schizophréniques, délires et hallucinations

dans les psychoses aiguës et chroniques) et de faciliter l'adaptation sociale du patient (tzankova & valadimirova, 2017).

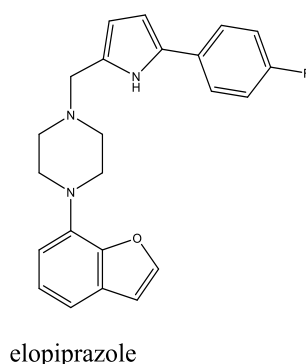


Figure I.20:Structure de Elopiprazole (tzankova & valadimirova, 2017).

I.3.4.7 Activité Anticancer :

Les pyrroles fonctionnalisés sont des chémotypes importants pour la conception d'inhibiteurs de protéine kinase avec un potentiel anti proliférant puissant. Par exemple, Sunitinib Il s'agit d'un inhibiteur multi cible des récepteurs à tyrosine kinase utilisé en première intention dans le traitement du carcinome à cellules rénales avancé, Le Tocéranib est un dérivé du sunitinib ayant des effets anti angiogéniques et antiprolifératifs par inhibition de plusieurs récepteurs tyrosine kinases et est approuvé pour un usage vétérinaire .(Ivan et al., 2022).

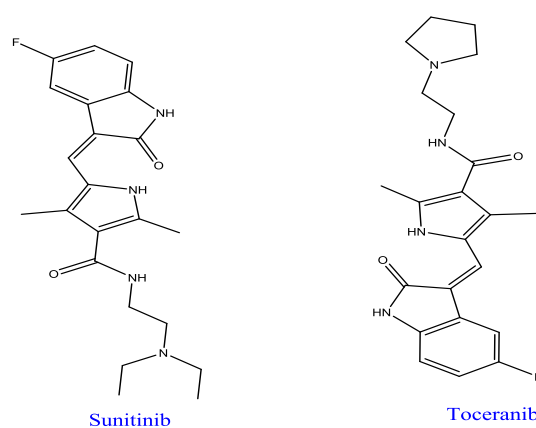


Figure I.42 :structure de deux médicaments anticancéreux partageant le cycle pyrrole.
(Ivan et al., 2022)

I.4 Les bactéries :

Les bactéries sont des micro-organismes vivants, elles ont été découvertes à la fin du 17^{ème} siècle par le naturaliste hollandais Anthoni van Leeuwenhoek, la plupart du temps inoffensifs que certains sont pathogènes et dangereux pour la santé, les bactéries pathogène sont responsables des infections, elles peuvent provoquer une inflammation des parois intestinales, certaines d'entre elle peuvent même traverser ces parois et infecter d'autres organes en provoquant des dommages graves et parfois mortels, elle sont la cause de 90 pour cent des intoxications alimentaires , elles peuvent être divisées en deux groupes (Gram négatif et Gram positif). dans les travaux scientifiques de la littérature de nombreuses bactéries sont étudiées mais deux d'entre-elles focalisent une majorité des études : *Escherichia coli* et *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ces bactéries sont présentées dans ce paragraphe et elles ont été ensuite utilisées dans notre travail, les bactéries utilisées provenaient de l'hôpital. (Messadia, 2013).

A) *Escherichia coli* :

C'est un bacille a gram négatif, cette espèce bactérienne est le plus rencontrées en pathologie humaine, typiquement elle se présent sous la forme de batônnets de 2-4 micro-mètre de longueur, des nombreuses infections peuvent se rencontrer certaines localisation aux voies digestives (cholécystites, appendicites), d'autres aux voies génitales et respiratoires, et des voies urinaires, certaines souches d'*Escherichia coli* présentent un pouvoir pathogène qui se retrouve dans les aliments non stériles tels que le lait cru, les plats non cuisines et dans la viandes, les symptômes couramment associés avec cette bactérie sont la diarrhée et la gastro entérite. (Messadia, 2013).

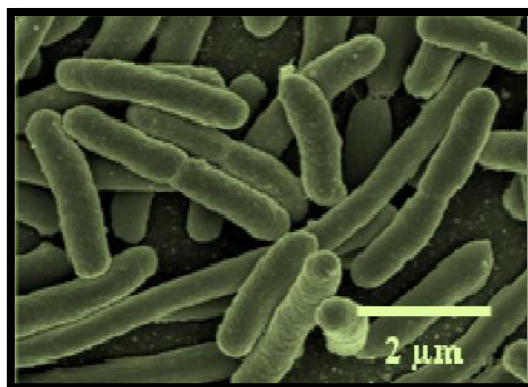


Figure II.1 : image MEB de *Escherichia coli*. (Messadia, 2013).

B) *Staphylococcus aureus* :

C'est une coccus a gram positif , est une bactérie pyogène et toxigène, responsable de nombreuses infection communautaires et nosocomiales qui représente donc un problème

de santé publique important typiquement elle se présente sous forme de coccus sphériques de diamètre 1 micromètre, se trouve généralement dans les fosses nasales et sur la peau de personnes en bonne santé, si elle pénètre dans le corps, elle peut causer des infections cutanées légère, telles que des furoncles ou des anthrax, ou des infection plus graves comme des pneumonies ou des bactériennes. (Messadia, 2013).

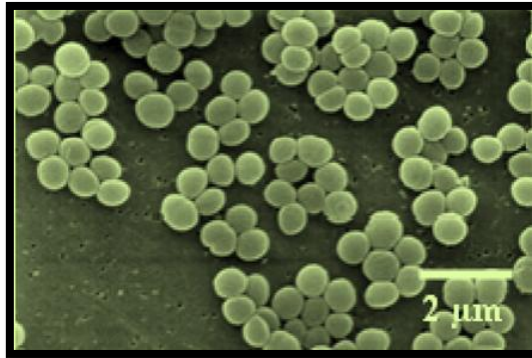


Figure II.2 : image MEB de *staphylococcus aureus*. (Messadia, 2013).

C) *Pseudomonas aeruginosa* :

C'est une bactérie Gram négative (-) en forme de bâtonnet, de 0,5 à 0,8 micromètre de diamètre sur 1 à 3 micromètre de long, couramment isolée du sol et l'eau, elle est connue pour sa polyvalence nutritionnelle et environnementale. En tant qu'agent pathogène humain opportuniste, *P. aeruginosa* est une cause fréquente d'infections nosocomiales et est responsable d'infections persistantes pulmonaires chroniques chez les patients atteints de mucoviscidose.

Elle peut également provoquer de graves infections chez des espèces hôtes non mammifères telles que les insectes, les nématodes et les plantes. (Walker, 2004)

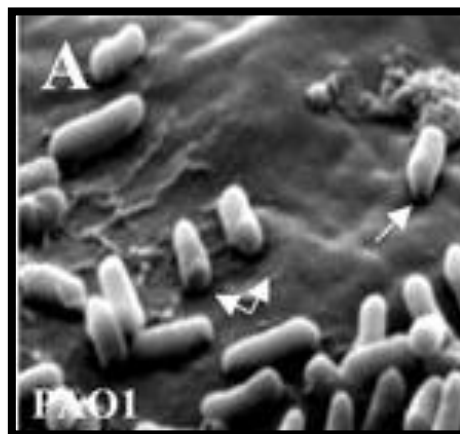


Figure II.3 : image MEB de *Pseudomonas aeruginosa* (Walker, 2004).

I.5 Conclusion :

Dans ce chapitre, on a essayé d'élaborer une mise au point bibliographique sur la synthèse des composés hétérocycliques azotés aromatiques à cinq chaînons (pyrroles et pyrazoles) par différentes méthodes, ces derniers possédant des propriétés physique et chimique diverses et sont très importants surtout dans le domaine d'activité biologique.

Chapitre II :

Partie Expérimentale.

II.1 Introduction :

Les hétérocycles sont des composés chimiques très intéressants dans les recherches scientifiques en raison de leur potentialité d'application dans différents domaines, pour cela leur synthèse est devenue un sujet important.

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire pédagogique du département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Amar Telidji Laghouat. Ce chapitre est consacré à la partie expérimentale qui consiste en la préparation et l'évaluation de l'activité antibactérienne des pyrazoles, pyrazolones et pyrroles envers 3 types de bactéries. Une caractérisation par RMN¹³C et RMN¹H.

II.2 Matériels utilisés :

II.2.1 Matériels abiotique :

Les moyens utilisés pour les essais biologiques sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3 : les matériels utilisés.

consommables		Equipements et appareils
Produits	Matériels	
Hydrazine , phénylhydrazine, éthanol , acide chlorhydrique HCl, chlorure de sodium NaCl, Mueller Hinton Agar (MHA), eau distille, diméthylsulfoxyde (DMSO), hydroxyde de sodium (NaOH).	Tubes à essai, portoir, tube, papier filtre, para film, flacons, pipette pasteur, anse de platine, boîtes de pétri, Ecouvillon, Eprouvettes, Entonnoirs, Pipettes graduées, fioles, Erlenmeyer, Bêchers.	Bec benzène, autoclave, micropipette ,balance électronique ,vortex, bain-marie , étuve, incubateur, four pasteur, pH-mètre, pied à coulisse automatique

II.2.2 Microorganismes testés :

Les bactéries : *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*

II.3 Méthode :

II.3.1 Synthèse de la molécule de pyrazolone :

➤ Préparation de 3-méthyl-1-phényl-4H-pyrazol-5-one:

Le 3-méthyl-1-phényl-4H-pyrazol-5-one est synthétisé par cyclocondensation de phénylhydrazine C₆H₈N₂ avec β-cétoester C₆H₁₀O₃ en présence de l'éthanol.

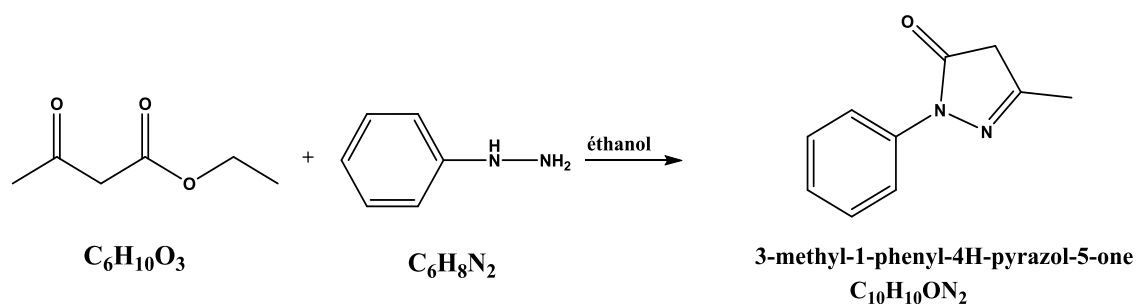


Schéma II.1 : préparation de composé 3-méthyl-1-phényl-4H-pyrazol-5-one. (Réaliser par logiciel chemdraw).

Mode opératoire :

Peser 1,30g de β-cétoester, et 1,08g de phényl hydrazine et dissout dans un erlyenmer de 250ml puis on complète avec 20ml d'éthanol, et on mettre en agitateur magnétique pour homogénéiser et accélère la réaction après 24h d'agitation on filtre le solution et remarque un quantité de résiduel de pyrazole, on laisse jusqu'à sèche on obtient une poudre blanche.



Figure II.4: les étapes de préparation de 3-méthyl-1-phényl-4H-pyrazol-5-one (originale.2023).

➤ **Préparation de 3-méthyl-1,4-dihydropyrazol-5-one:**

3-méthyl-1,4-dihydropyrazol-5-one $C_4H_6ON_2$, est synthétise par cyclocondensation de β-cétoester $C_6H_{10}O_3$ avec l'hydrazine N_2H_4 en présence de l'éthanol.

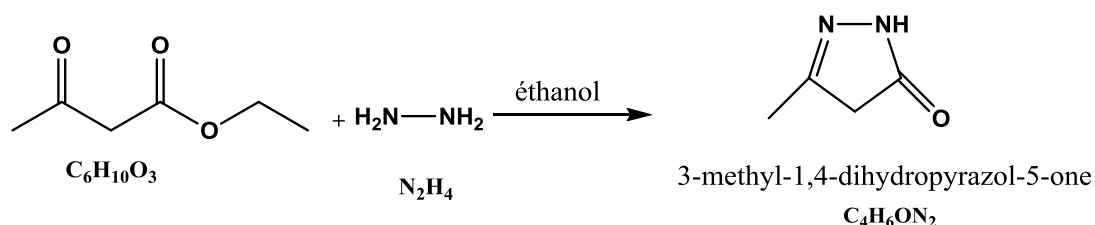


Schéma II.2 : préparation de 3-méthyl-1,4-dihydropyrazol-5-one (Réaliser par logiciel chemdraw).

Mode opératoire :

On pèse 1,30g de β -cétoester, et 0,32g de l'hydrazine, on met dans un erlyenmer puis on ajoute 20ml d'éthanol, dans un agitateur magnétique on laisse pendant 24h puis on filtre le solution, et en laisse le résidu se secher (les mêmes étapes).

➤ Préparation de 3,5-dimethyl-1H-pyrazole:

3,5-dimethyl-1H-pyrazole, est synthétisé par la cyclocondantion de péntan-2,4-dione $C_5H_8O_2$ avec l'hydrazine N_2H_2 en présence de l'éthanol.

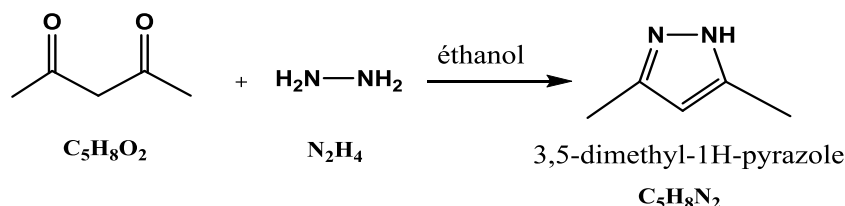


Schéma II.3 :Préparation de 3,5-dimethyl-1H-pyrazole (Réaliser par logiciel chemdraw).

Mode opératoire :

On pèse 1g de péntan-2,4-dione et 0,32g d'hydrazine, on met dans un erlyenmer puis on ajouter 20ml de l'éthanol dans un agitateur on laisse pondant 24h puis on filtre le solution, et en laisse le résidu se secher (les mêmes étapes).

➤ Préparation de 3,5-dimethyl-1-phenylpyrazole $C_{11}H_{12}N_2$:

Il est synthétisé par la cyclocondantion de péntan-2,4-dione $C_5H_8O_2$ avec phényle hydrazine $C_6H_8N_2$ en présence de l'éthanol.

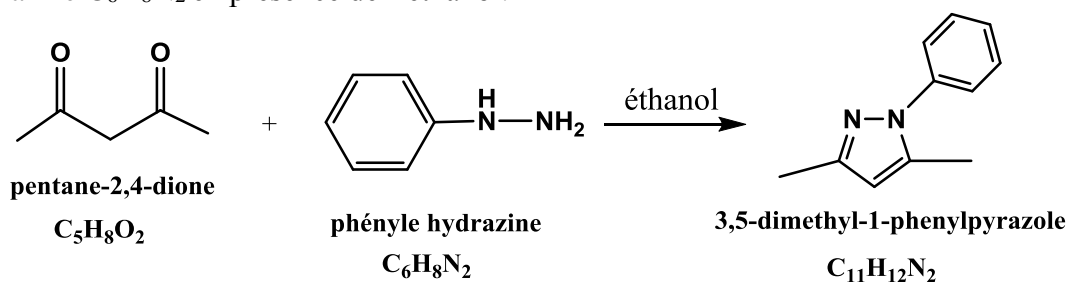


Schéma II.4 :Préparation de 3,5-dimethyl-1-phenylpyrazole (Réaliser par logiciel chemdraw).

Mode opératoire :

On pèse 1,78g de péntan-2,4dione et 0,32g d'hydrazine, on met dans un erlyenmer puis on ajouter 20ml de l'éthanol dans un agitateur on laisse pondant 24h puis on filtre le solution, et en laisse le résidu se secher (les mêmes étapes).

➤ Préparation de 2,5-dimethyl-1-propylpyrrole $C_9H_{15}N$:

Il est synthétisé par la méthode de Paal-Knorr qui met en jeu une 1,4-dicétone et une amine primaire pour former un pyrrole.

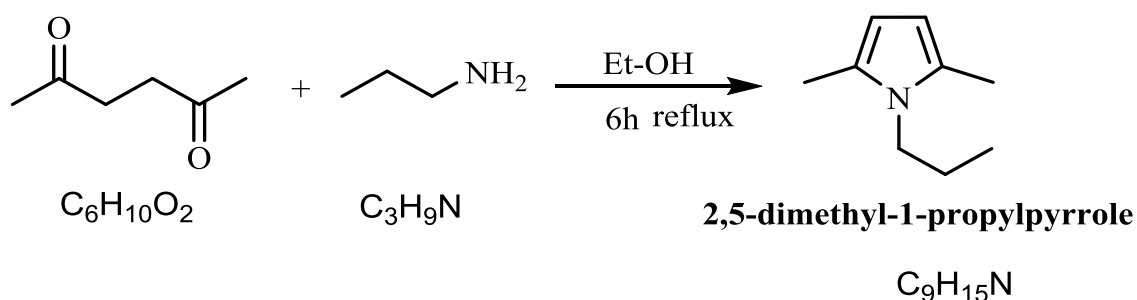


Schéma II.5 : préparation de 2,5-diméthyl-1-propylpyrrole (Réaliser par logiciel chemdraw).

Mode opératoire :

On pèse 1g 1,4-dicétone et 1,08g de propan-1-amine, et d'un bain marie, on ajoute ensuite 20 ml de l'éthanol et on laisse pendant 6h au reflux.

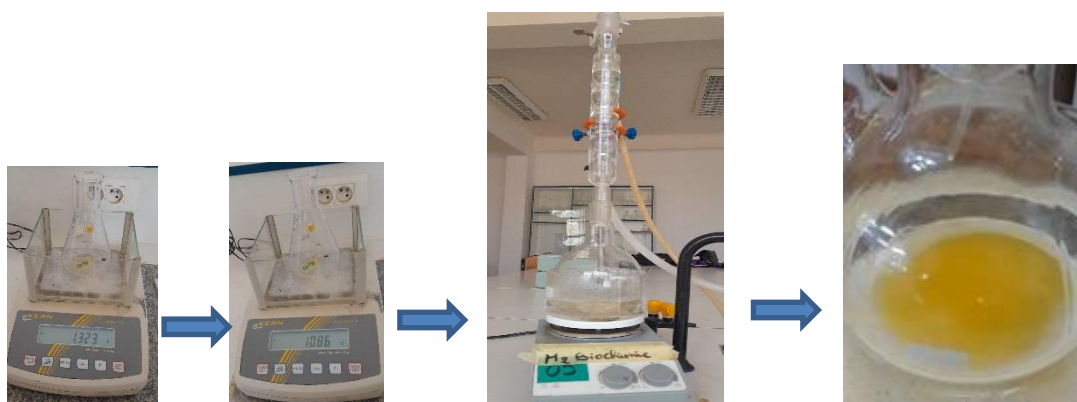


Figure II.5: les étapes de préparation de 2,5-diméthyl-1-propylpyrrole (originale.2023).

II.3.2 Préparation des solutions :

Les hétérocycles azotés à Cinq chaînons présentent une activité antibactérienne, donc on a testé cet effet pour 4 produits synthétisés dans 4 solutions, le but est de préparer des solutions de même concentration (0,04mol/l) à partir de ces 4 produits et en utilisant le DMSO comme solvant (diméthylsulfoxyde) sur les 3 souches des bactéries.

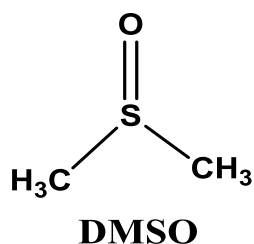


Figure II.6 : structure de diméthylsulfoxyde (Réaliser par logiciel chemdraw).

❖ Calcul des masses des produits $m(\text{g}) = C\left(\frac{\text{mol}}{\text{l}}\right) \times V(\text{l}) \times M\left(\frac{\text{g}}{\text{mol}}\right)$

$V = 5 \times 10^{-3}\text{l}$

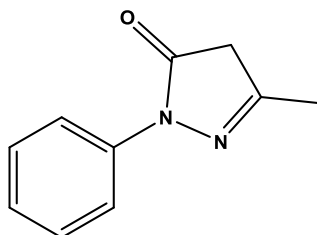
$C = 0,04 \text{ mol/l}$

Tableau 4 : le calcul des masses des 4 solution

(Py-one 01)	(Py-one 02)	(Py 01)	(Py 02)
$m = C.V.M$	$m = C.V.M$	$m = C.V.M$	$m = C.V.M$
m $= 0,04 \times 5 \times 10^{-3} \times 174$ $= 0,034g$	m $= 0,04 \times 5 \times 10^{-3} \times 97$ $= 0,019g$	m $= 0,04 \times 5 \times 10^{-3} \times 172$ $= 0,034g$	m $= 0,04 \times 5 \times 10^{-3} \times 96$ $= 0,019g$

Tube 01 :

On utilise le 3-methyl-1-phenyl-4H-pyrazol-5-one $C_{10}H_{10}ON_2$ de masse molaire $M=174g/mol$.



3-methyl-1-phenyl-4H-pyrazol-5-one
 $C_{10}H_{10}ON_2$

Figure II.7 : Structure de 3-methyl-1-phenyl-4H-pyrazol-5-one (Réaliser par logiciel chemdraw).

Mode opératoire :

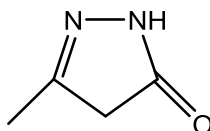
On pèse une masse de 0,034g de 3-methyl-1-phenyl-4H-pyrazol-5-one dissoudre dans un 5ml de DMSO, on met dans un on tube a essaie sec et stérile avec un étiqueté pour nome le tube par (Py-one 01).



Figure II.8 :les deux étapes de préparation (Py-one 01) (originale.2023).

Tube 02 :

On utilise un 2ème composé qui est le 3-methyl-1,4-dihydropyrazol-5-one $C_4H_6ON_2$ de masse molaire $m=98g/mol$



3-methyl-1,4-dihydropyrazol-5-one
 $C_4H_6ON_2$

Figure II.9 : structure de 3-methyl-1,4-dihydropyrazol-5-one (Réaliser par logiciel chemdraw).

Mode opératoire :

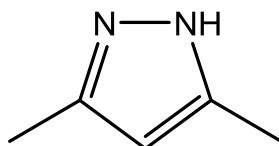
En pesé une masse de 0,019g de 3-methyl-1,4-dihydropyrazol-5-one dissoudre dans un 5ml de DMSO, on met dans un tube a essai sec et stérile avec un étiqueté pour nome le tube par (Py-one 02).



Figure II.10 : les deux étapes de préparation (Py-one 02) (originale.2023).

Tube 03 :

On utilise 3ème composé, il s'agit du 3,5-dimethyl-1H-pyrazole $C_5H_8N_2$ de masse molaire $m=96g/mol$.



3,5-dimethyl-1H-pyrazole



Figure II.11 :structure de 3,5-dimethyl-1H-pyrazole (Réaliser par logiciel chemdraw).

Mode opératoire :

On pèse une masse de 0,0192g de 3,5-dimethyl-1H-pyrazole en dissoudre dans un 5ml de DMSO et nome (Py 02).

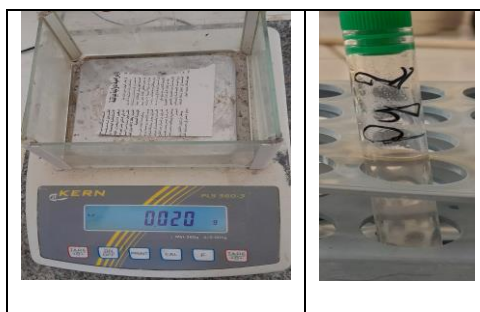
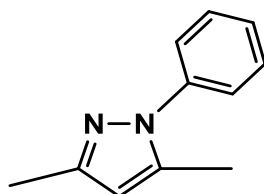


Figure II.12 : les deux étapes de préparation de (Py 02) (originale.2023).

Tube 04 :

On utilise un 4ème composé qui est le 3,5-dimethyl-1-phenylpyrazole $C_{11}H_{12}N_2$ de masse molaire $m=172g/mol$.



3,5-dimethyl-1-phenylpyrazole



Figure II.13 : structure de 3,5-dimethyl-1-phenylpyrazole (Réaliser par logiciel chemdraw).

Mode opératoire :

On pèse une masse de $m=0,034\text{g}$ de 3,5-dimethyl-1-phenylpyrazole en dissoudre dans un 5ml de DMSO, on met dans un tube nome (Py 01).

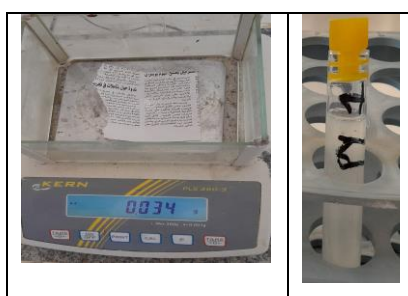


Figure II.14 : les deux étapes de préparation de (Py 01) (originale.2023).

II.3.3 Teste de l'activité antibactérienne :

- **Les antibactériens :**

Les antibactériens sont des substances naturelles ou synthétiques capable d'inhiber la croissance ou même détruire certains micro-organismes. Ils peuvent être bactéricides c'est -à-dire qu'ils peuvent tuer les bactéries, ou ils peuvent avoir un effet bactériostatique, empêcher leur développement, par exemple les antibiotiques médicament antibactérien.

(Messadia)

- ❖ L'activité antibactérienne des solutions de Produits synthétisés a été étudiée sur 3 souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*).

- **mesure de l'activité antibactérienne par la méthode des disques:**

- **Protocole expérimental :**

A) Le milieu de culture:

Suivant les méthodes employées, et selon les souches, nous avons utilisé le milieu de culture suivant:

Chapitre II : Partie Expérimentale

Gélose de Mueller Hinton (M.H) pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différentes solutions préparées, pour le préparer, on pèse 38g de poudre de Mueller Hinton agar (M.H.A), qu'on met dans un erlenmeyer et à laquelle on ajoute 1000ml d'eau distillée et mettre le mélange est soumis à un chauffage sous agitation jusqu'à l'obtention d'une solution limpide transvasée dans des flacons



Figure II.15 : Etapes de préparation de Mueller Hinton Agare (originale.2023).

B) Stérilisation du matériel :

L'eau physiologique, le milieu de culture (M.H.A) , les tubes à essai utilisés pour la préparation de la solution bactérienne ont été stérilisés dans un autoclave, les disques de papier filtre (5-6mm de diamètre) ont été stérilisés par four pasteur pendant 30min.

C) Réalisation d'une suspension :

Les bactéries à tester ont étéensemencées sur des boites de pétri contenant le milieu Muller Hinton. Les souches bactérienne ont été par la suite incubées à 37c° pendant 18 à 24 heures, afin d'obtenir des colonies jeune et bien isolées.

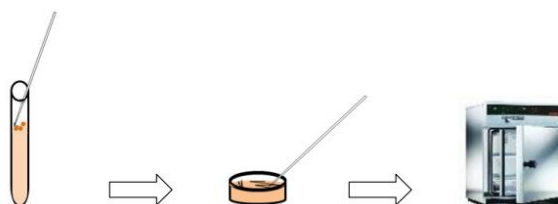


Figure II.16: Etapes de réalisation d'une suspension.

Après incubation ;quelques colonies bactériennes bien isolées et parfaitement identiques ont été prélevées à l'aide d'une anse platine, l'ensemble a été homogénéisé à l'aide d'un vortex dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile la concentration des différentes suspensions qui correspond à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,10 par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm.

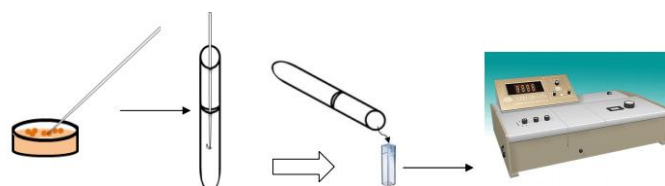


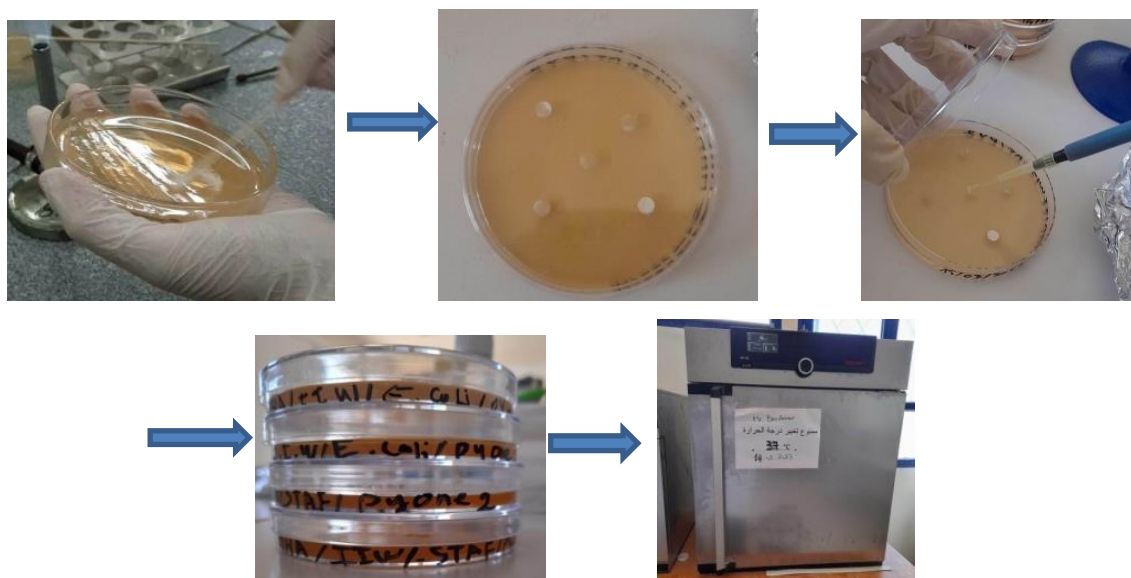
Figure II.17 : La mesure de la densité optique (DO).

D) Ensemencement :

Dans des boîtes de pétri, le milieu de culture gélosé MH en surfusion est coulé aseptiquement fin d'obtenir une épaisseur de 4mm. Après la solidification, un écouvillon stérile imbibé avec la suspension bactérienne fraîchement préparée est étalé à la surface de la de la gélose à trois reprises ,en tournant la boîte à environ 60°après chaque application sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose dans la but d'avoir une distribution égale de l'inoculum.

E) Application des disques:

A l'aide d'une pince stérile, nous avons prélevé des disques de papier filtre stérile de (diamètre: 6mm) et déposé à la surface d'un milieu ensemencé (étalé) par une suspension microbienne 5 disque; un disque au milieu rempli de 5µl de DMSO comme témoin et Les quatre autres disques sont imbibés de 5µl des solutions préparées à l'aide d'une micropipette, L'ensemble est incubé dans une étuve à la température de 37c° pendant 24h.



Figur II.18 : Etapes de ensemencement et application des disques (originale.2023). Après incubation, l'effet des solutions se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. plus le diamètres de cette zone est grand plus la souche est sensible.(Choi et al., 2006)

F) La lecture:

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse. **(Ponce, Fritz, Del Valle, & Roura, 2003)**

L'activité antibactérienne est évaluée généralement comme suit **(Duraffourd,1990)** :

- ❖ *Activité nulle (N)* : diamètre ≤ 8 mm
- ❖ *Activité limitée (L)* : diamètre entre 8-14 mm
- ❖ *Activité moyenne (M)* : diamètre entre 14-20 mm
- ❖ *Activité très sensible (S)* : diamètre ≥ 20 mm

Chapitre III :
Résultats et discussion.

III Chapitre III : Résultat et discussion.

Dans ce chapitre, nous exposons nos résultats obtenus lors des expériences précédentes.

- Dans la première partie, nous exposons l'essentiel de nos résultats concernant la caractérisation, isolation et analyse de dérivés pyrazole, pyrazolone et pyrrole.
- La deuxième, va nous permettre de connaître l'activité antibactérienne.

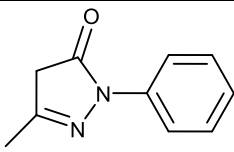
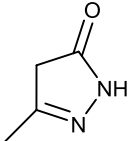
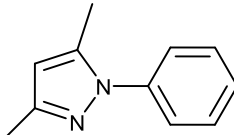
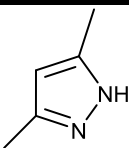
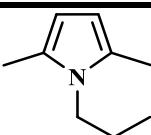
III.1 La première partie :

III.1.1 L'analyse de dérivés pyrazole, pyrazolone et pyrrole:

III.1.1.1 Caractéristiques physico-chimiques:

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau suivant

Tableau 1: Données physico-chimiques.

Structure	Nom de l'IUPAC	Synonyme	Aspect	Couleur	Rendement
 Py-one-1	3-methyl-1-phenyl-4H-pyrazol-5-one	3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one	solide	blanc	81,6%
 Py-one-2	3-methyl-1,4-dihydropyrazol-5-one	3-methyl-2-pyrazolin-5-one	solide	blanc	80%
 Py-1	3,5-dimethyl-1-phenylpyrazole	/	solide	blanc	85%
 Py-2	3,5-dimethyl-1H-pyrazole	3,5-dimethylpyrazole	solide	blanc	80%
 pyrrole	2,5-dimethyl-1-propylpyrrole	/	Huile	jaune	80.30%

III.1.1.2 Caractérisations spectrales:

Les structures des composés dérivés pyrazole, pyrazolone et pyrrole ont été établis à partir des données spectrales RMN ¹H et RMN ¹³C.

Chapitre III : Résultat et discussion

Les spectres de RMN ^1H sont réalisés dans le CDCl_3 à 300MHz. Nous relevons les déplacements chimiques des différents protons de la Py-one-1. (Figure 1 et 2).

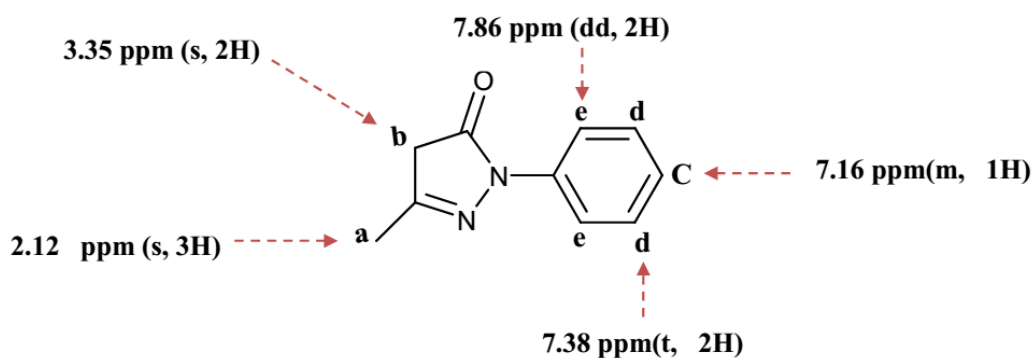


Figure III.1: les déplacements chimiques en RMN ^1H du Py-one-1.

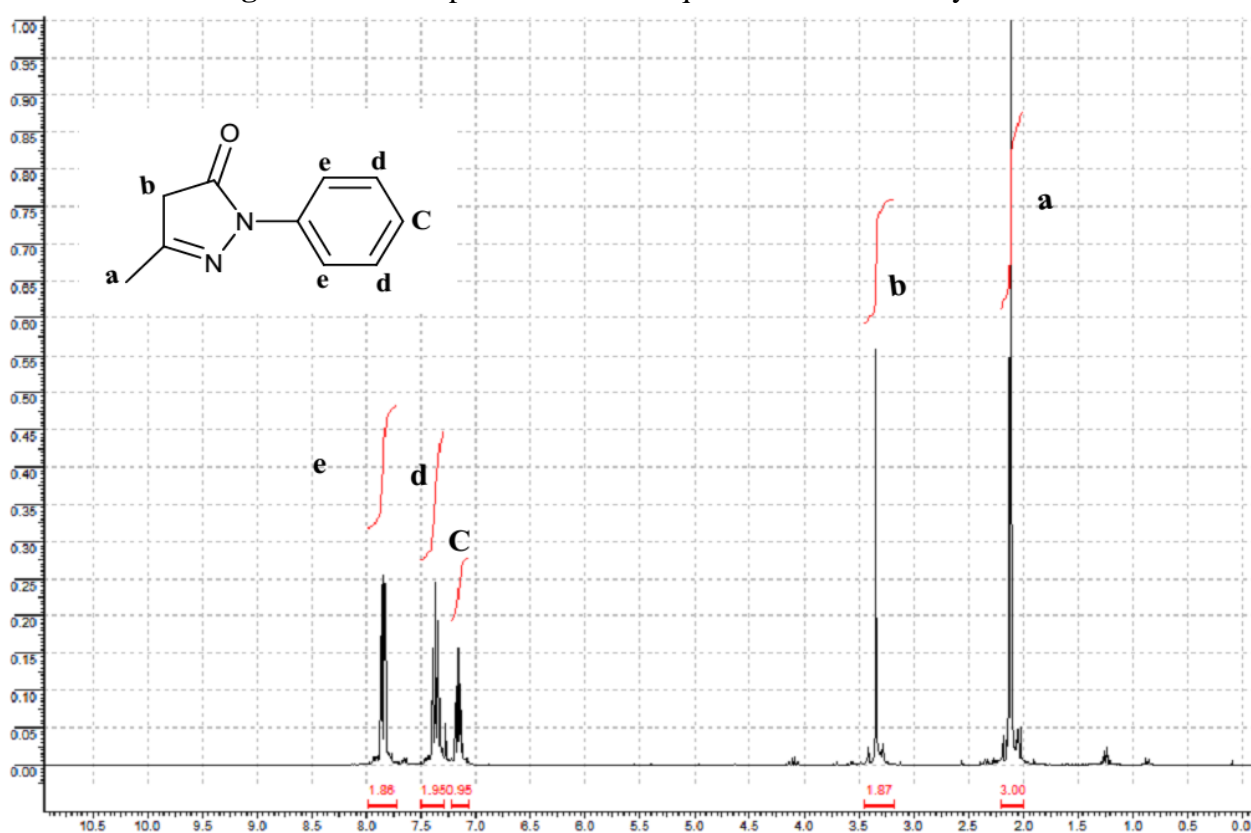


Figure III.2 : le spectre de RMN ^1H du Py-one-1

L'examen de la résonance magnétique nucléaire du carbone 13 à 75 MHz du Py-one-1 est bien en accord avec la structure proposée. (Figure 3 et 4):

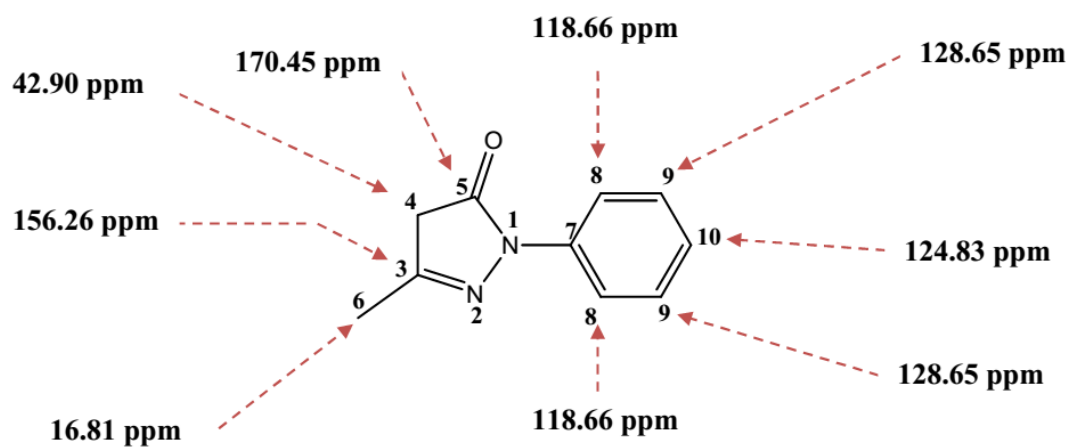


Figure III.3 : les déplacements chimiques en RMN ^{13}C du Py-one-1.

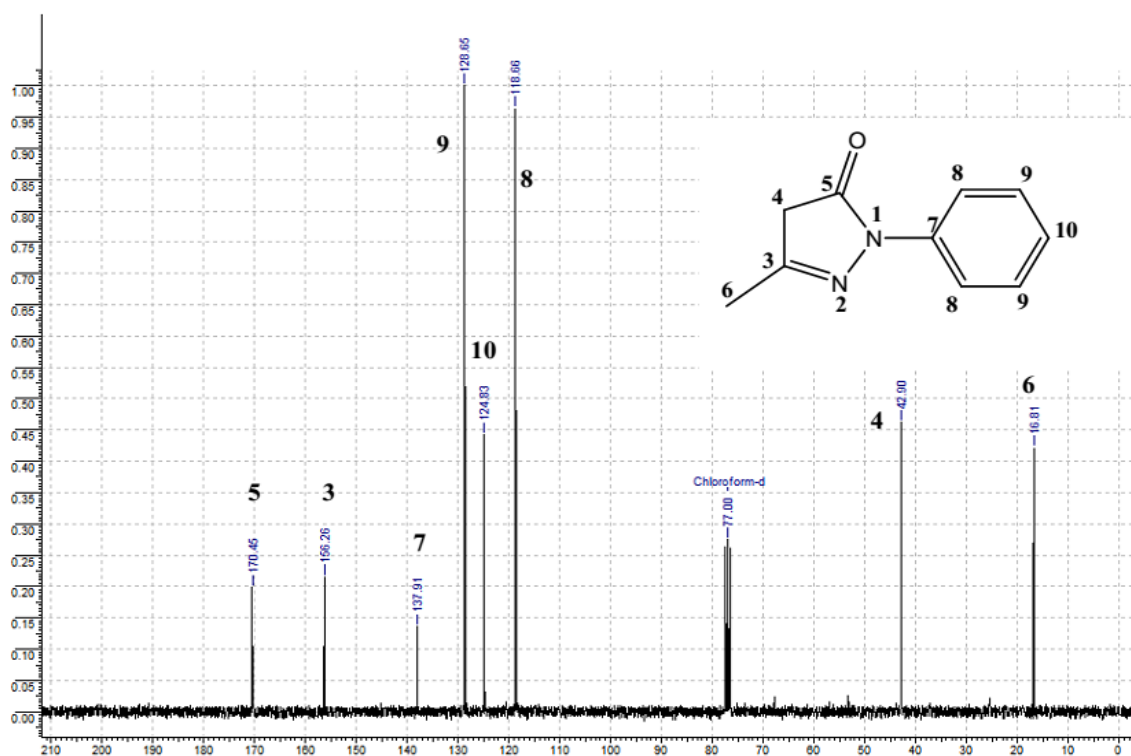


Figure III.4 : le spectre de RMN ^{13}C du Py-one-1.

Le DEPT nous permet de différencier entre CH, CH₃ d'un côté, et CH₂, de l'autre côté : les carbones quaternaires n'apparaissent pas.

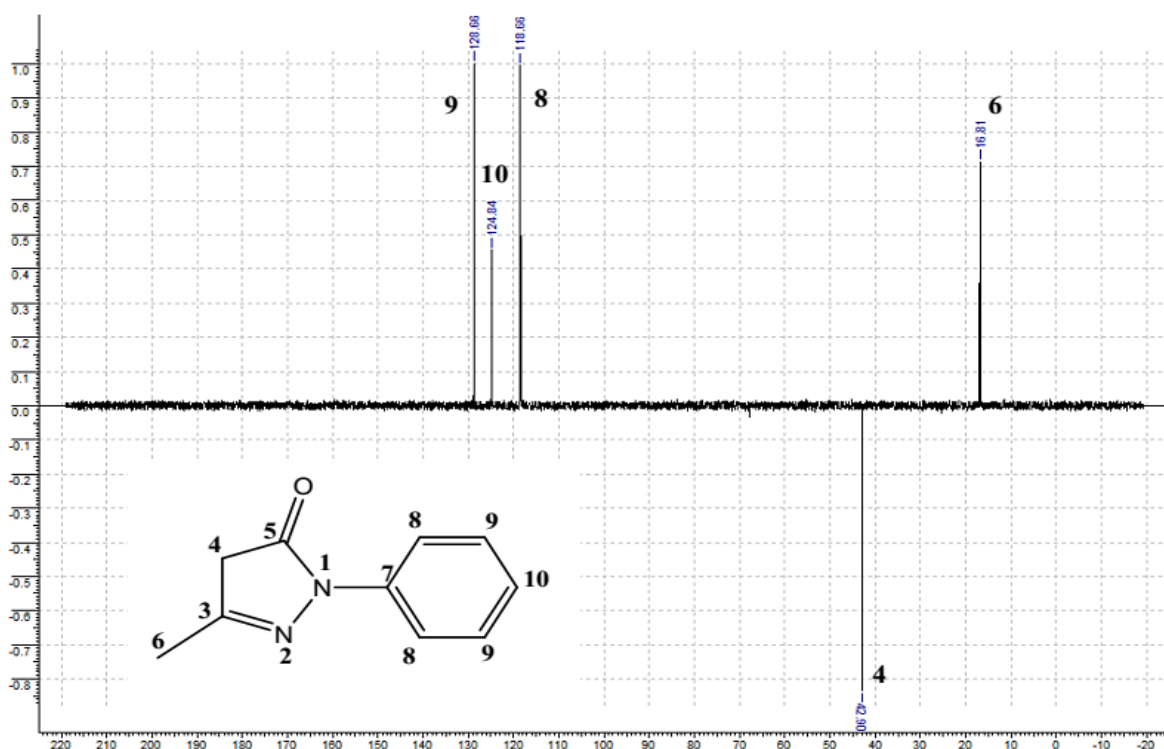


Figure III.5 : le spectre de DEPT du Py-one-1

Mécanisme réactionnel:

L'exploitation des résultats spectroscopiques nous a permis de proposer le mécanisme de formation des Py-one-(1et2). **Schéma III.1**

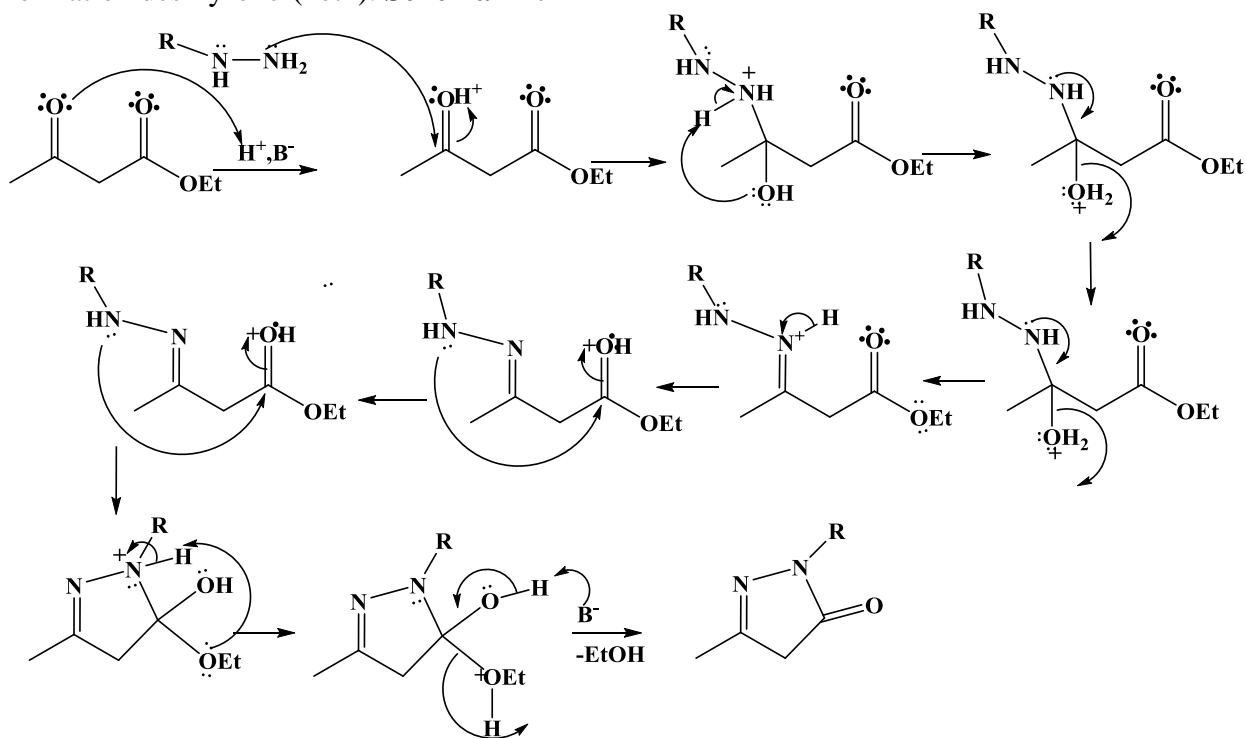


Schéma III.1: Mécanisme réactionnel pour la synthèse des Py-one-1 et Py-one-2

Chapitre III : Résultat et discussion

Le Py-2 représenté ci-dessous est caractérisé par les données RMN ^1H à 300MHz dans le CDCl_3 (Figure 6 et 7):

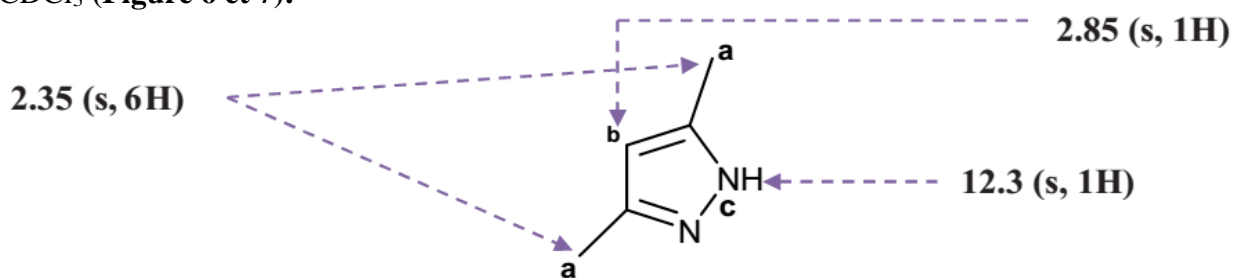


Figure III.6 : les caractéristiques spectrales (RMN ^1H) du Py-2.

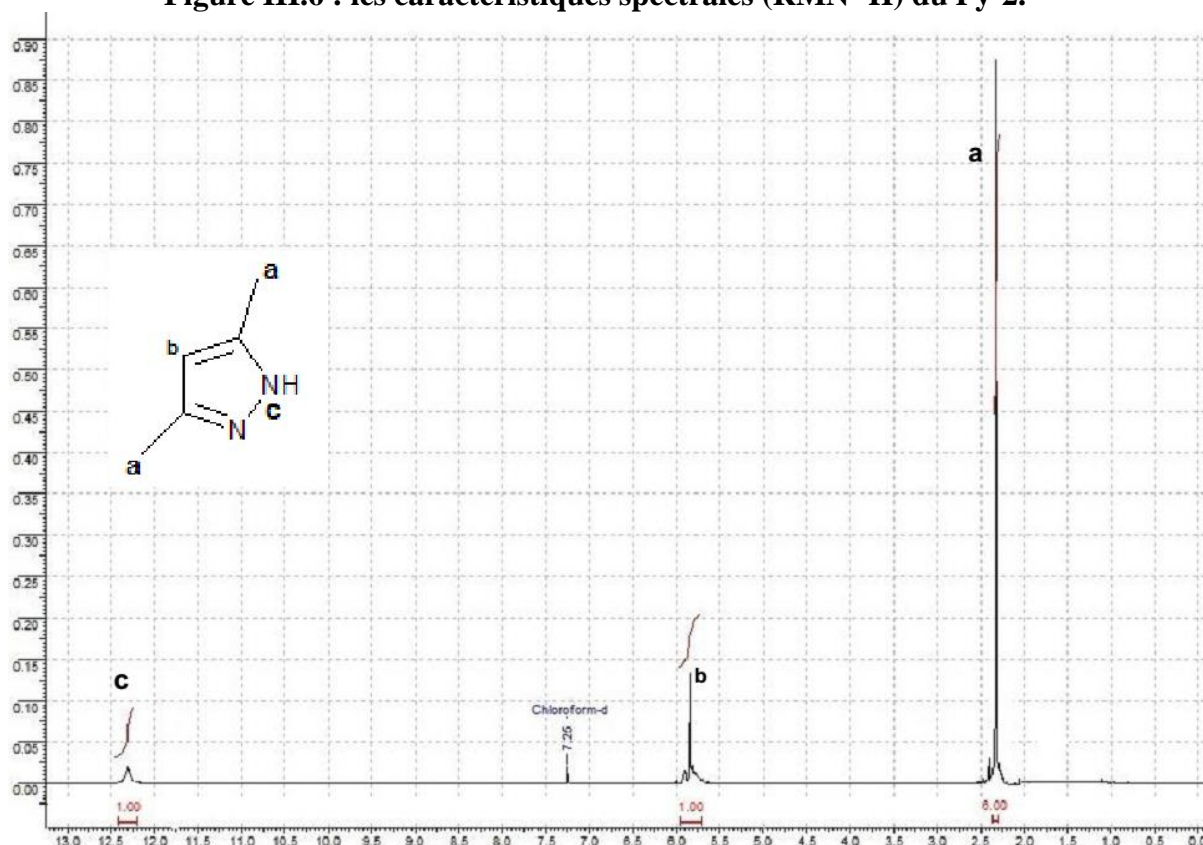


Figure III.7: le spectre de RMN ^1H du Py-2

Le Py-2 a été caractérisé par RMN ^{13}C à 75 MHz dans le CDCl_3 , La structure du produit est confirmée par les données ci-dessous (Figure 8 et 9):

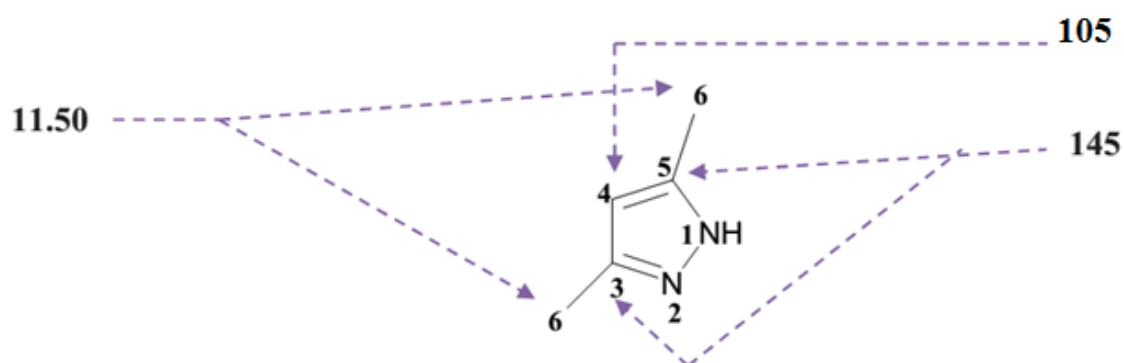


Figure III.8: Caractéristiques spectrales (RMN ^{13}C) du Py-2.

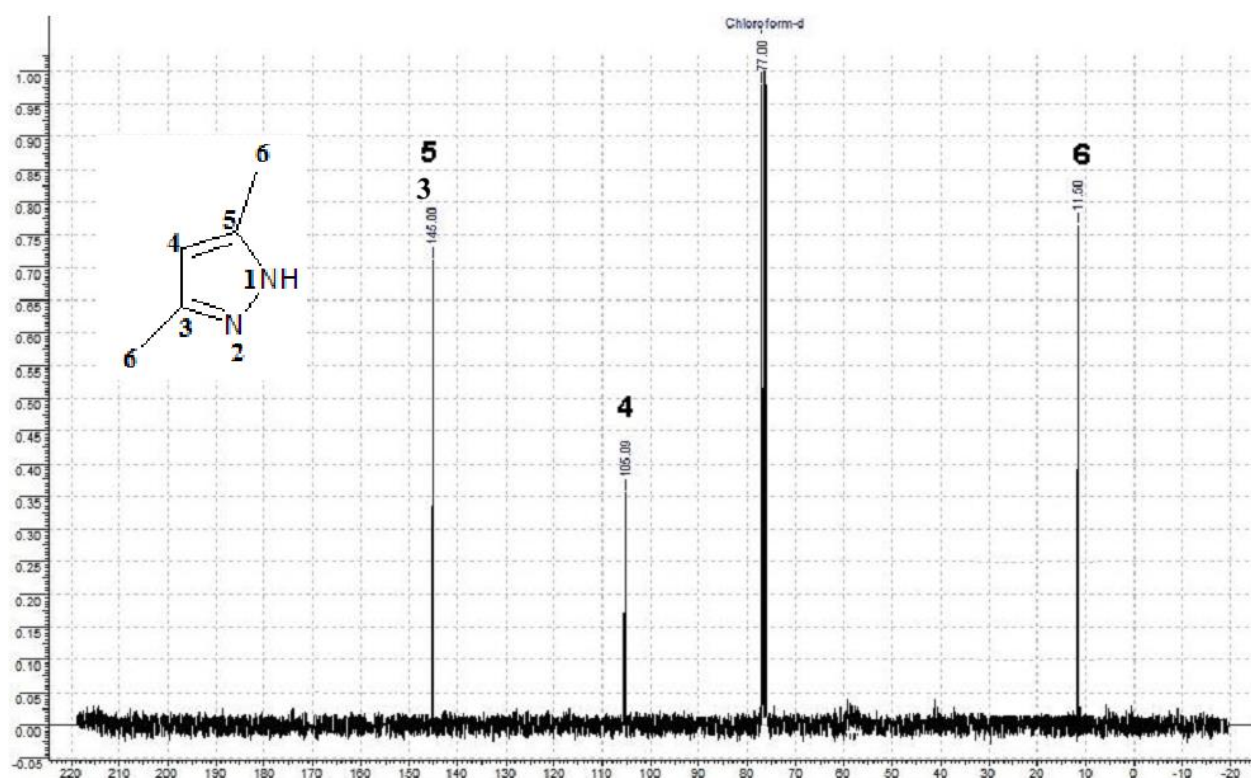


Figure III.9: le spectre de RMN¹³ C du Py-2.

Sur la base des données du spectre DEPT, on remarque particulièrement la disparition des pics (C3-C6)

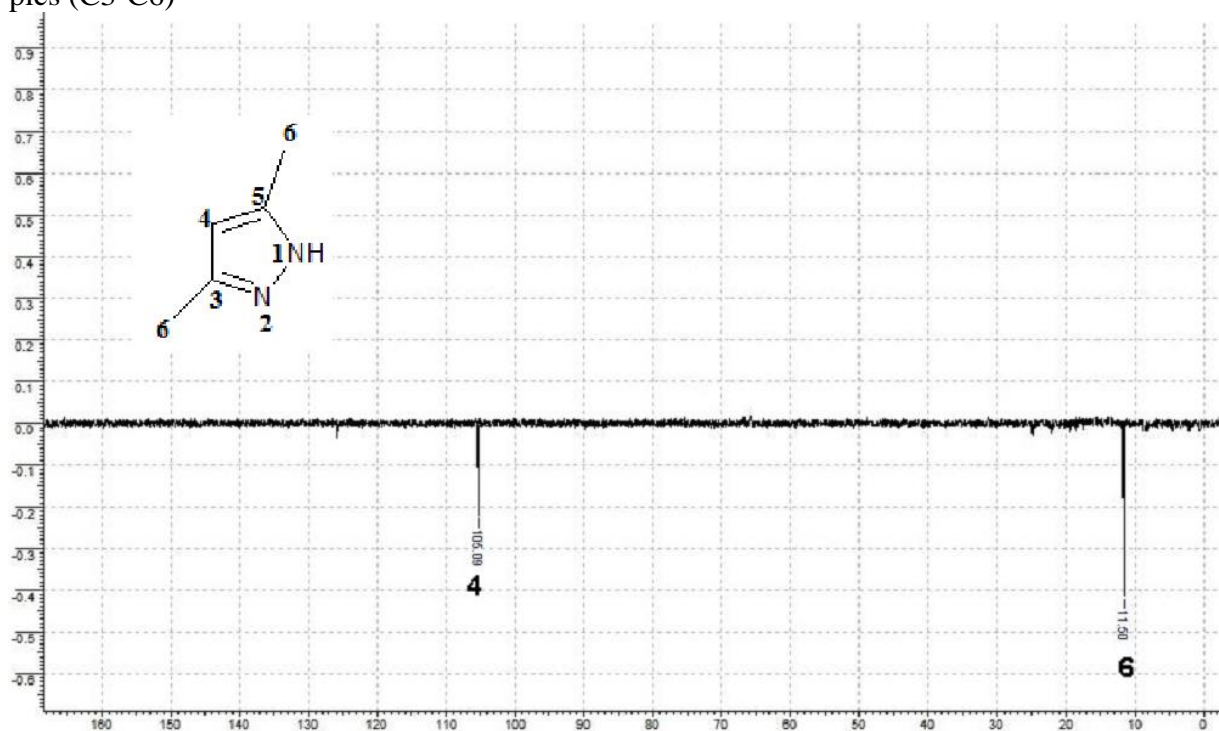


Figure III.10: le spectre de DEPT du Py-2.

Mécanisme réactionnel :

La formation des Py-1 et Py-2 peut s'expliquer selon le mécanisme suivant:

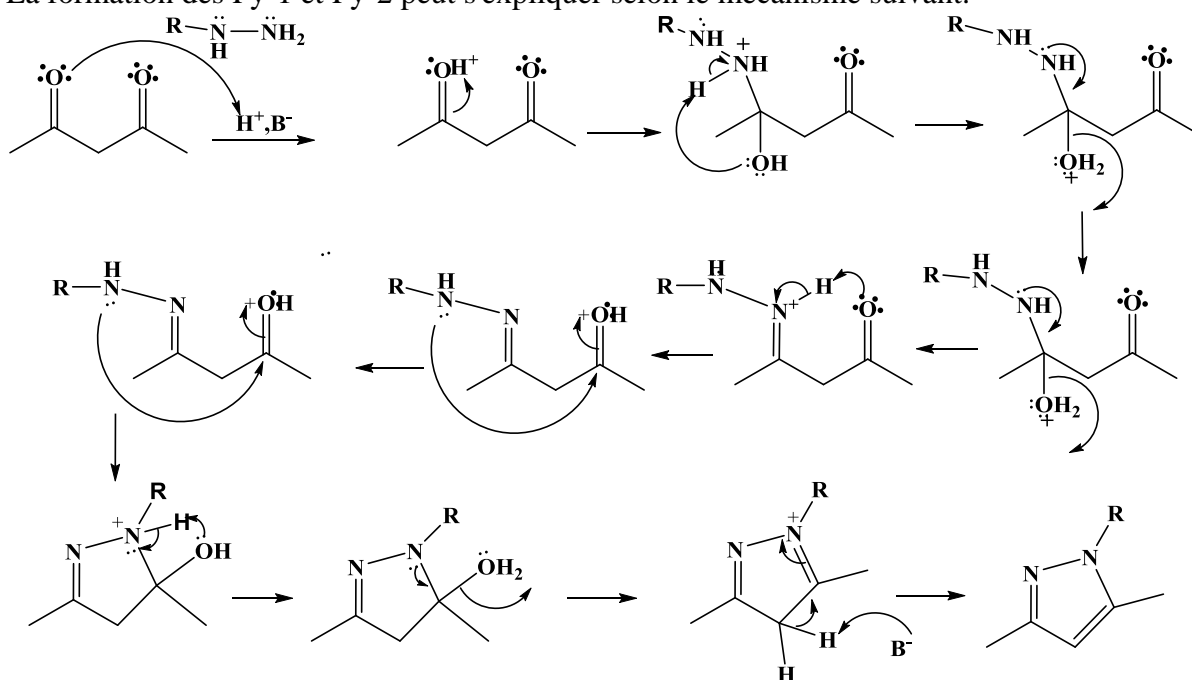


Schéma III.2 : Mécanisme réactionnel pour la synthèse des Py-1 et Py-2.

La structure du Pyrrole a été élucidée grâce aux données RMN¹H et RMN¹³C.

- RMN¹H

Le **2,5-diméthyl-1-propylpyrrole** représenté ci-dessous est caractérisé par les données RMN¹H à 300MHz dans le CDCl₃ (figure 11) :

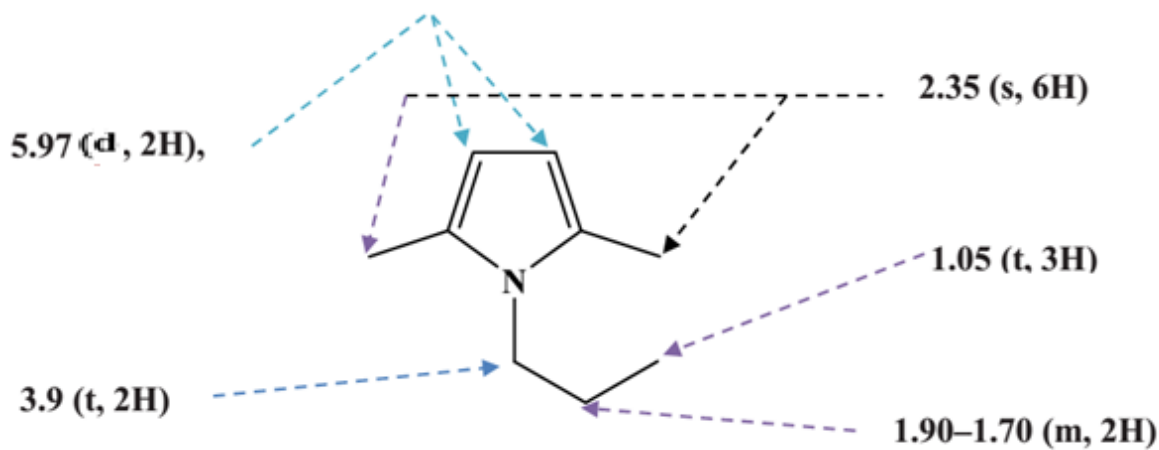


Figure III.11 : Caractéristiques spectrales (RMN¹H) du Pyrrole.

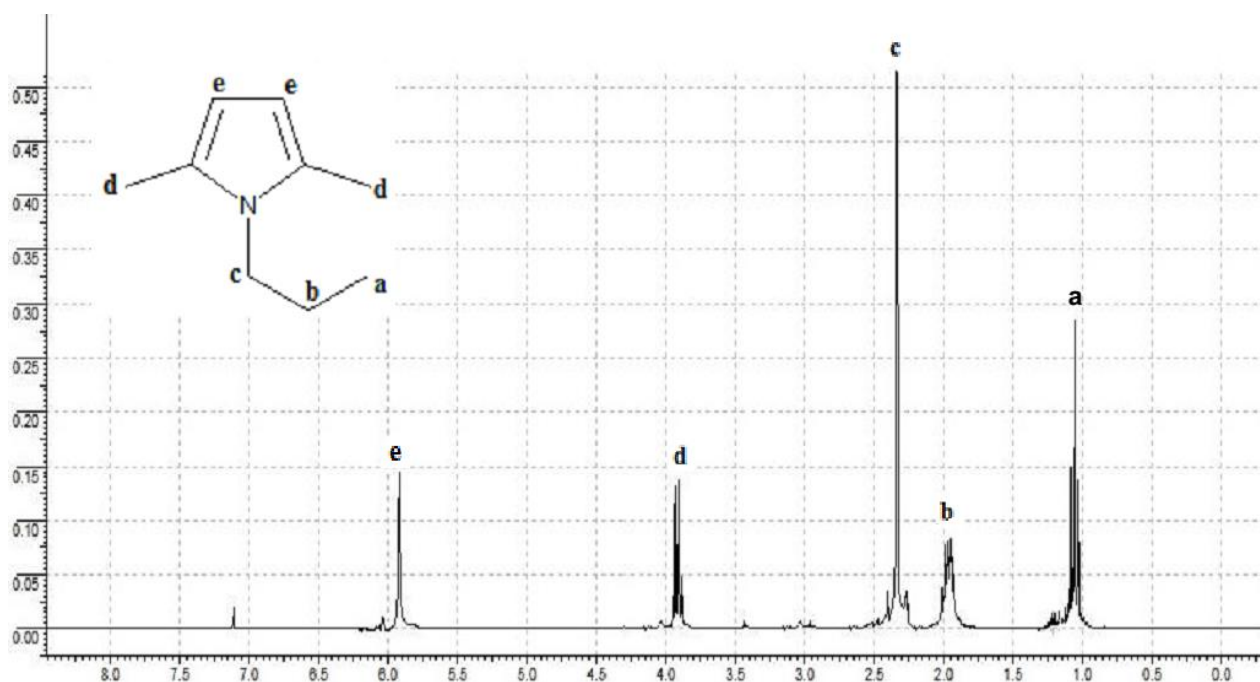


Figure III.12: le spectre de RMN^1H du Pyrrole.

RMN^{13}C :

L'analyse RMN^{13}C a été effectuée dans le CDCl_3 à 75 MHz, la figure suivante présente à titre indicatif les caractéristiques spectrales du Pyrrole (figure 13) :

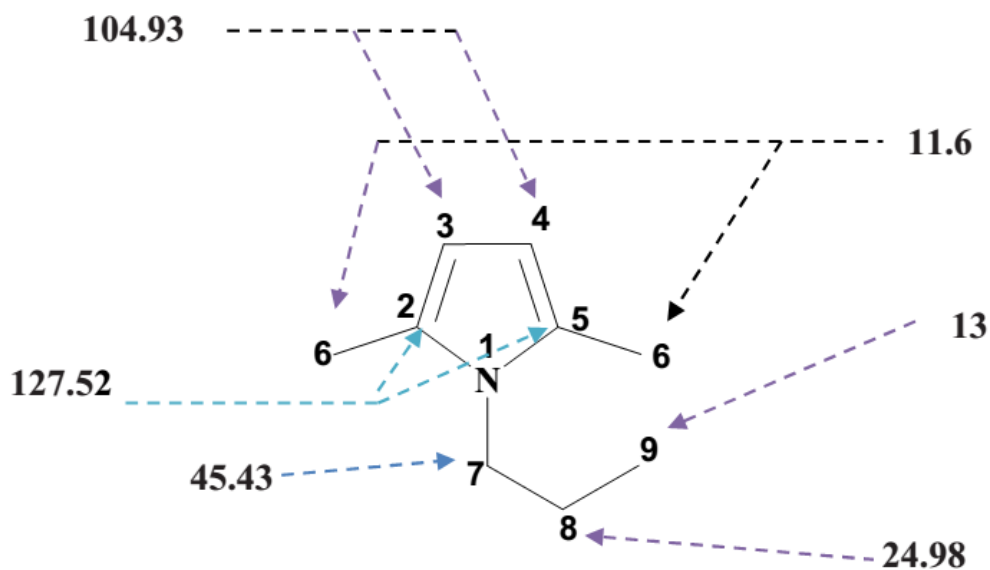


Figure III.13 : Caractéristiques spectrales (RMN^{13}C) du Pyrrole.

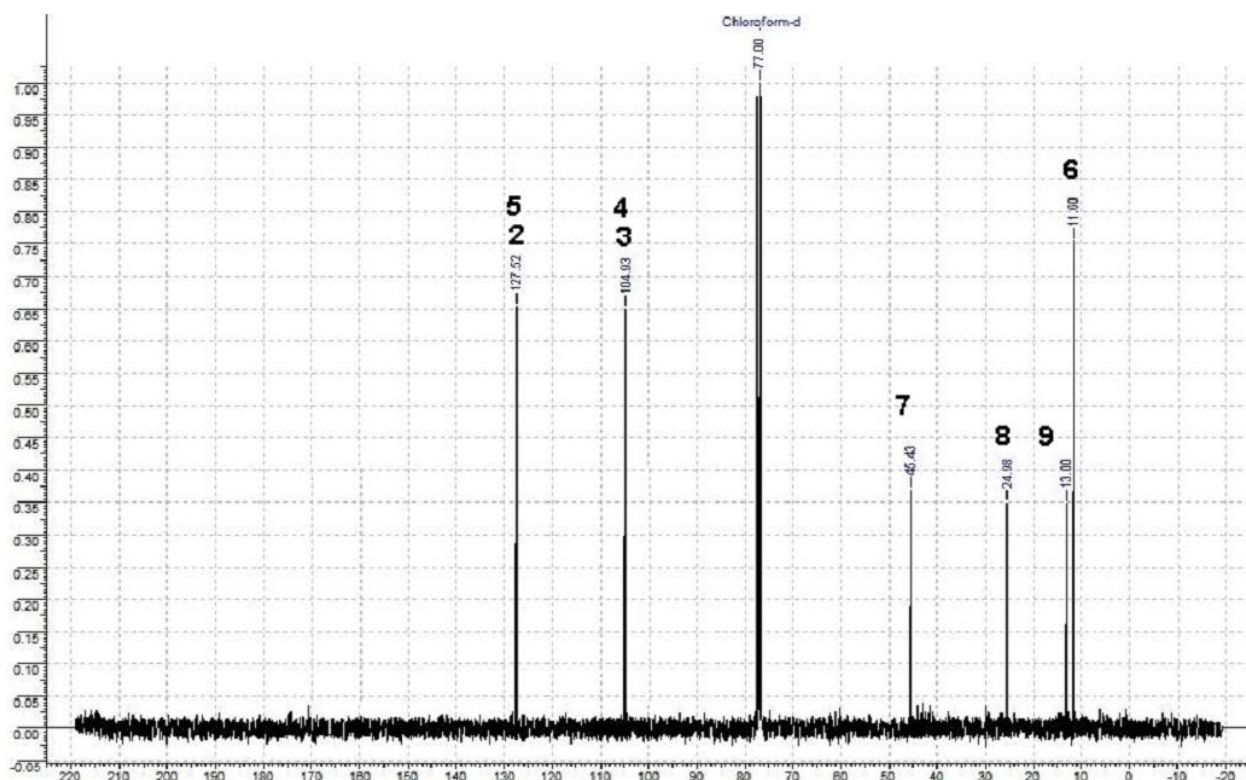


Figure III.14: le spectre de RMN¹³C du Pyrrole.

Mécanisme réactionnel :

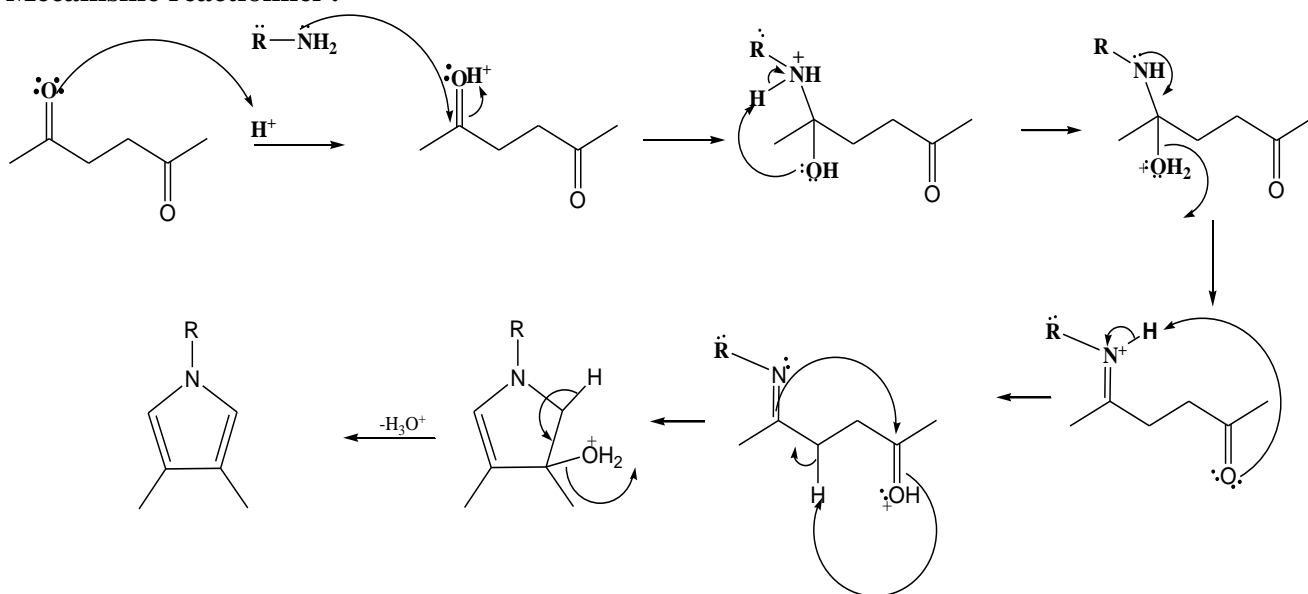


Schéma III.3 : Mécanisme réactionnel pour la synthèse de Pyrrole.

III.2 Evaluation de l'activité antibactérienne:

On utilise la méthode des disques pour confirmer les différences d'activités antibactérienne observées entre les produits synthétisés de concentration de 0,04 mol/l ont été utilisés au cours de ce test sur la croissance d'*Escherichia coli* et *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas Aeroganosa*, après l'incubation de 24h on peut remarquer l'apparition des diamètres entourant les disques pour les souches bactériennes, qu'on a les mesuré en millimètres pour obtenir les résultats suivants :

Si l'activité antimicrobienne du diméthylsulfoxyde (DMSO) est nulle pour l'ensemble des souches testées, il en est autrement pour les composés (**Py1**, **Py2**, **Py-One 1** et **Py-One2**) sont réunis dans le Tableau 6.

Tableau 6 : les valeur des diamètre d'inhibition (en mm) des quatre produits synthétisés sue les deux souches bactérienne.

Activité sur <i>Escherichia coli</i>					
Produits V= 5ml	Le témoin (DMSO)	Pyrazole 01	Pyrazole 02	Pyrazolone 01	Pyrazolone 02
Zone d'inhibition (mm)	(-)	(-)	(-)	Moyenne: 19,43	Moyenne: 13,73
Activité sur <i>Staphylococcus aureus</i>					
Produits V=5ml	Le témoin (DMSO)	Pyrazole 01	Pyrazole 02	Pyrazolone 01	Pyrazolone 02
Zone d'inhibition (mm)	(-)	Moyenne: 29,23	Moyenne: 25,24	Moyenne: 31,29	Moyenne: 26,56
Activité sur <i>Pseudomonas Aeroganosa</i>					
Produits V=5ml	Le témoin (DMSO)	Pyrazole 01	Pyrazole 02	Pyrazolone 01	Pyrazolone 02
Zone d'inhibition (mm)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Le symbole (-) : pas d'inhibition observée au tour du disque

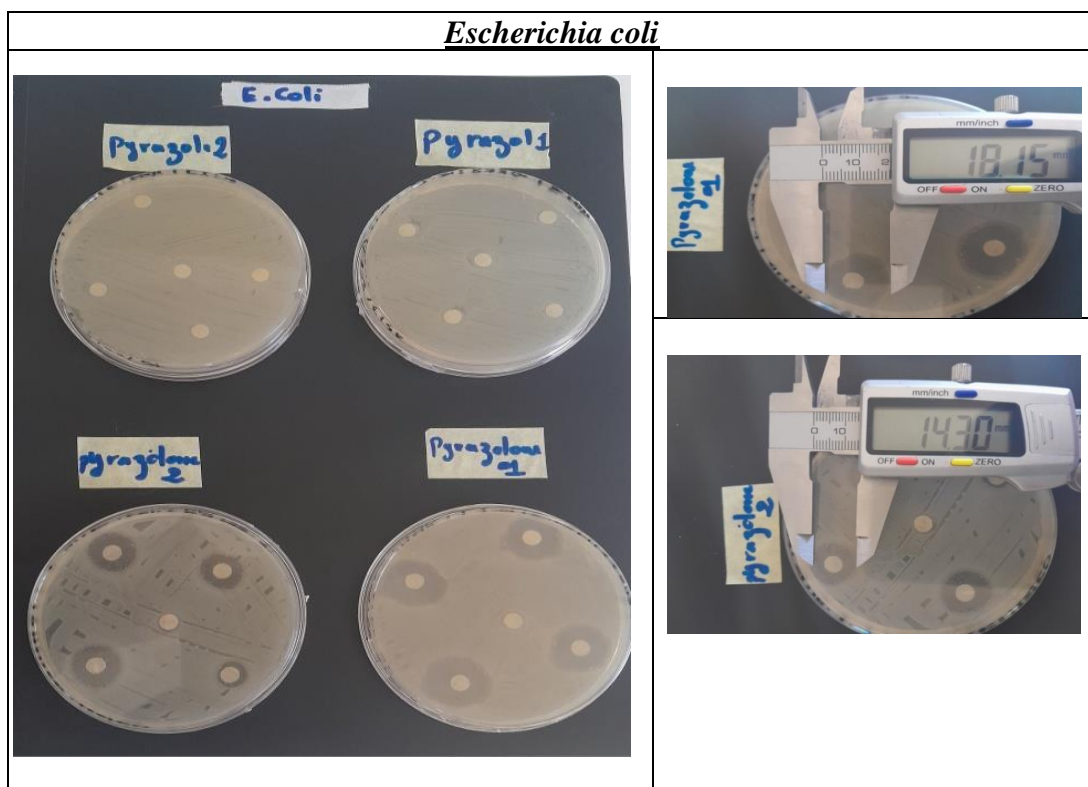


Figure III.15 : photographies montrant des zones d'inhibition des différents produits synthétisés sur *Escherichia coli* (originale.2023).

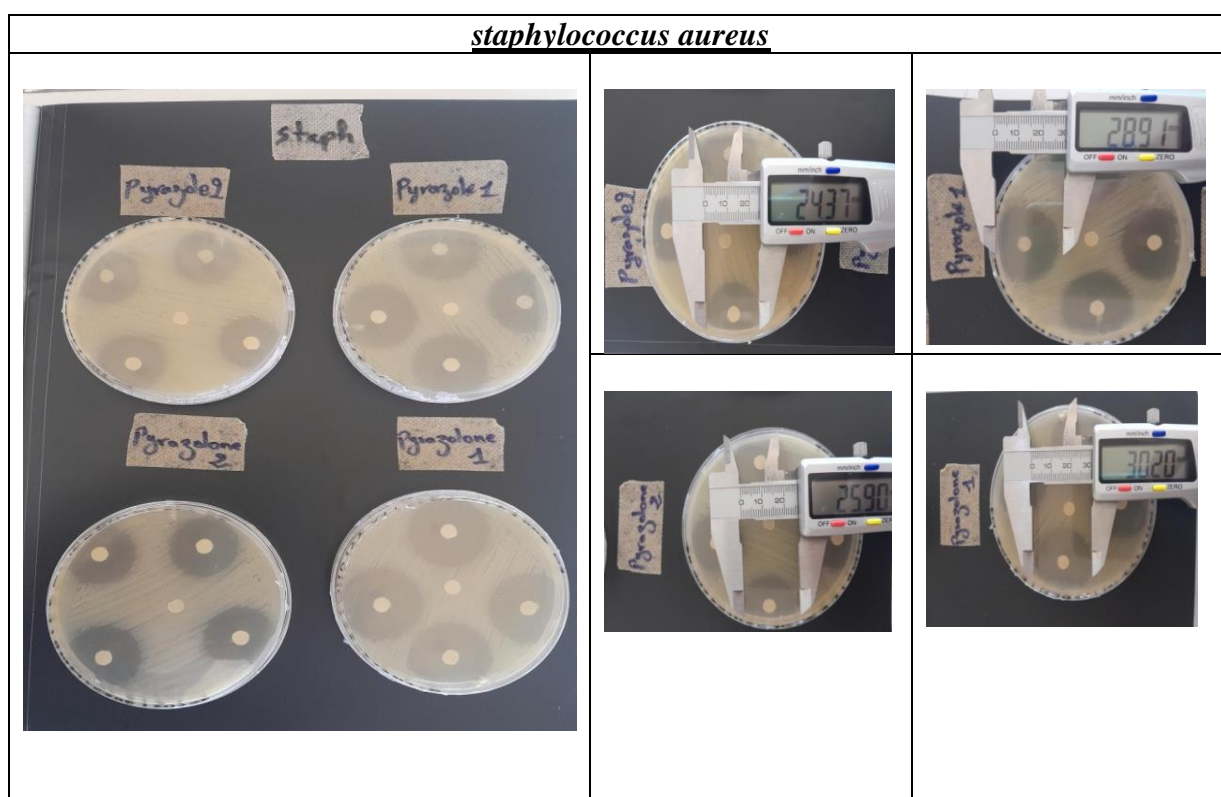


Figure III.16 : photographies montrant des zones d'inhibition des différents produits synthétisés sur *Staphylococcus aureus* (originale.2023).

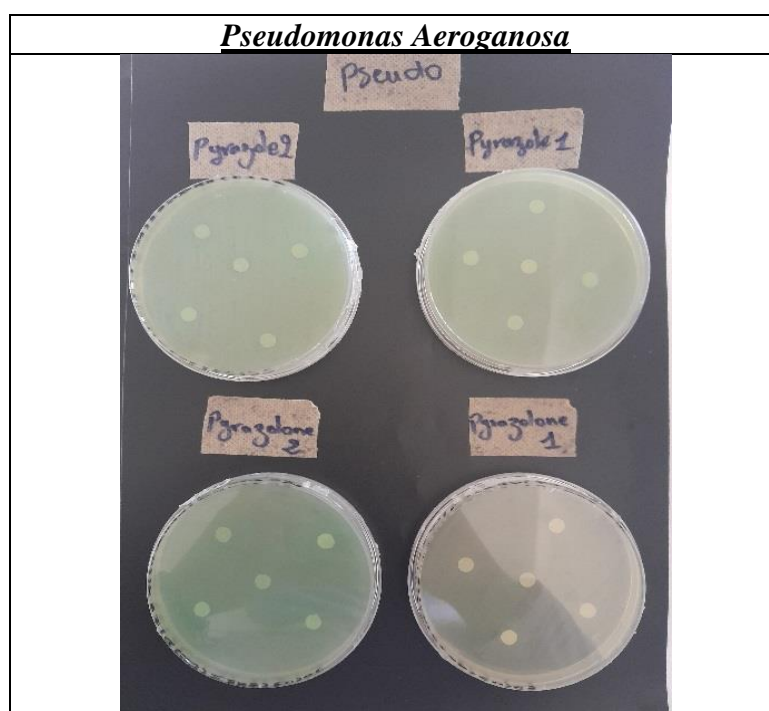


Figure III.17 : photographies montrant l'activité des différents produits synthétisés sur *Pseudomonas Aerogamosa* (originale.2023).

III.2.1 Activité antibactérienne des composés (Py1, Py2, Py-One 1 et Py-One2)

La figure III.18 représente l'activité antibactérienne des composés (Py1, Py2, Py-One 1 et Py-One2) sur les trois souches testées.

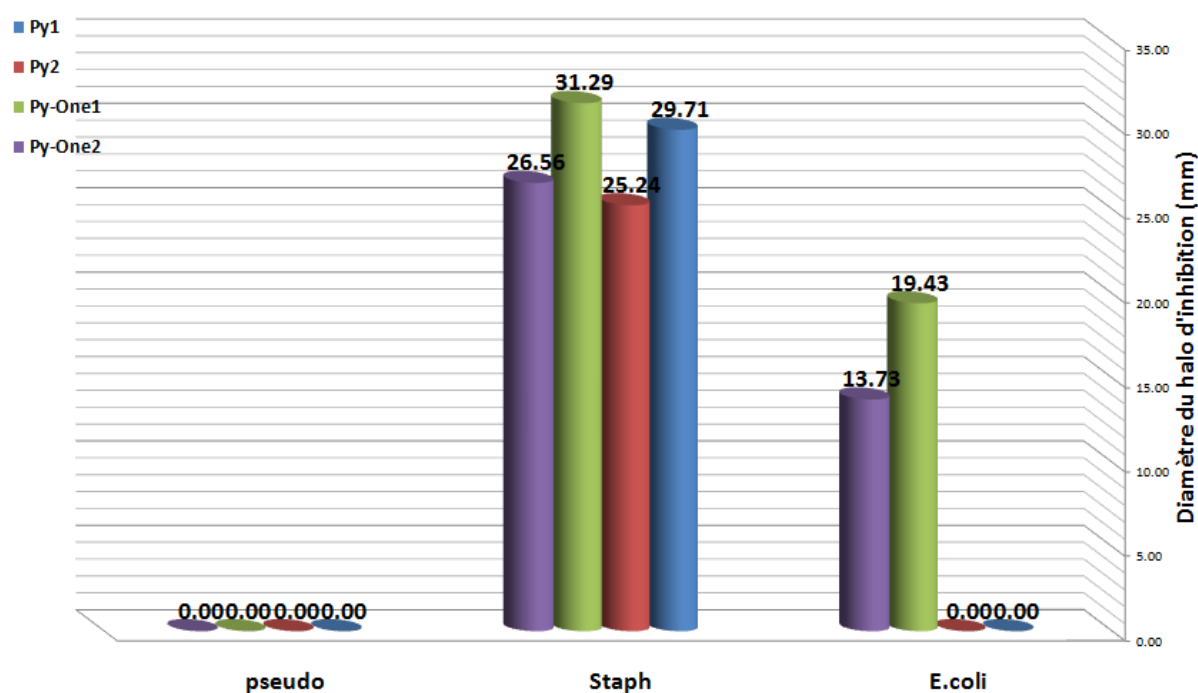


Figure III.18 : Activité antibactérienne des composés (Py1, Py2, Py-One 1 et Py-One2)

Chapitre III : Résultat et discussion

On constate que l'activité varie d'un composé à l'autre d'une part et que, d'autre part, cette activité dépend de la souche testée. En effet, il semble qu'Staph est la plus sensible aux composés testés (le diamètre du halo d'inhibition varie de 25.24 à 31.29mm), E. Coli est sensible envers les composés **Py-One 1** et **Py-One2** (le diamètre de l'auréole est de 19.43 et 13.73 mm respectivement) tandis que Pseudo a développé une résistance vis-à-vis de tous les composés.

III.2.2 Activité antibactérienne des composés (Py1, Py2):

L'activité antibactérienne des composés (Py1, Py2) vis-à-vis de la flore bactérienne est illustrée Sur la figure III.19.

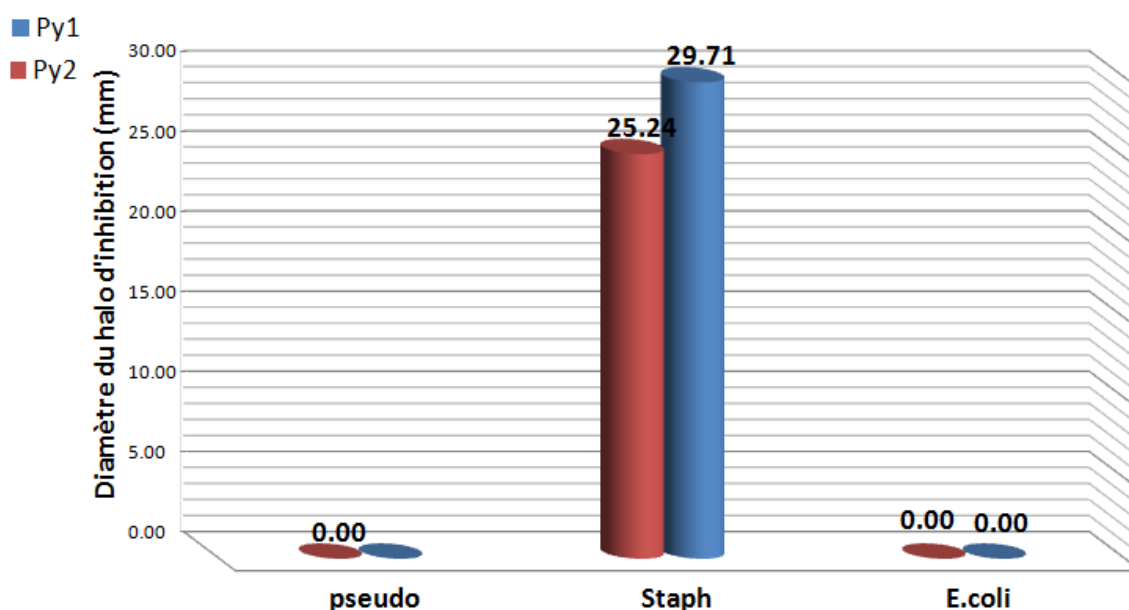


Figure III.19 : Activité antibactérienne des composés (Py1, Py2)

Les composés PY1 et py2 n'ont pas d'effet antibactérien sur E. Coli et Pseudo ceci se traduit par un diamètre nul. Le Staph présente de sensibilité considérable (diamètres de l'auréole est estimé respectivement à 29.71, 25.24 mm).

III.2.3 antibactérienne des composés (Py-One1, Py-One2):

La figure III.20 rapporte l'effet antibactérien des composés (Py-One1, Py-One2) sur les souches bactérienne testées.

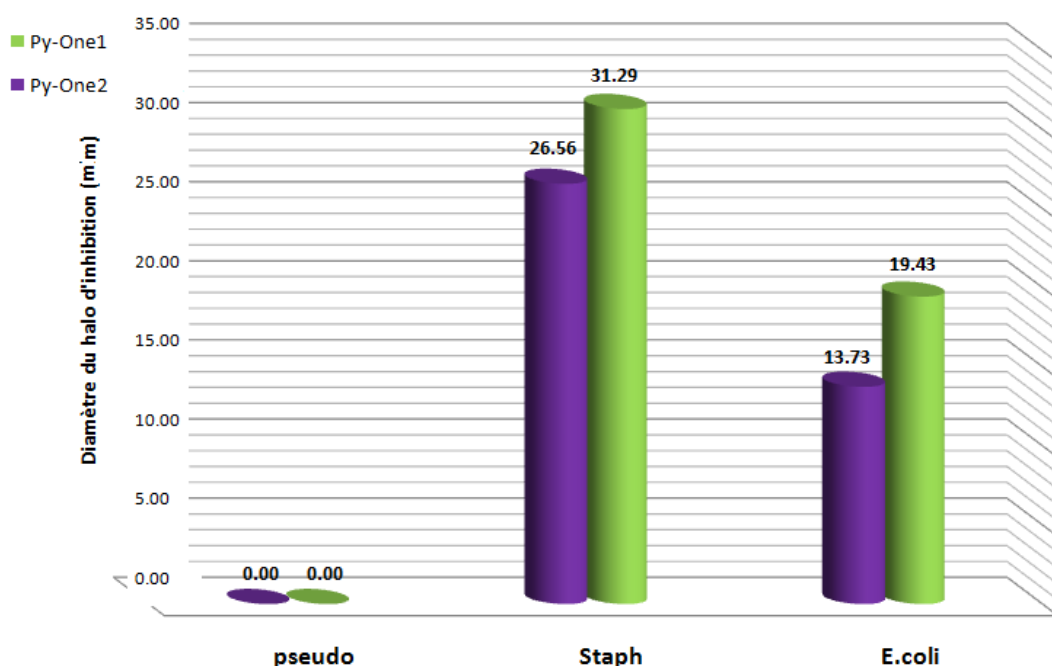


Figure III.20 : Activité antibactérienne des composés (Py-One1, Py-One2).

On constate que seule une souche bactérienne *Pseudo* est résistante à l'action des composés (Py-One1, Py-One2). Pour les autres souches, la sensibilité à l'action des composés (Py-One1, Py-One2) est variable à l'intérieur du groupe bactérien. La sensibilité moyenne s'observe pour *E. Coli* dont le diamètre est respectivement 19.43 mm, 13.73mm et la sensibilité la plus forte s'observe pour *Staph* où le diamètre de l'auréole est respectivement 31.29 mm, 26.56 mm

III.3 Sensibilité des souches selon Duraffourd

Selon Duraffourd (1990), La sensibilité d'un germe est *nulle* quand le diamètre est inférieur ou égal à 8 mm (N). Elle est *limitée* pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm (L) et *moyenne* pour un diamètre entre 14 et 20 mm (M). Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm, le germe est *très sensible* (S) (Duraffourd, 1990). Le tableau suivant classe les souches microbiennes testées par nos produits de synthèse en fonction de leur sensibilité selon les critères énumérés ci-dessus :

Tableau 7 : Classement des souches en fonction de leur sensibilité

souche	Py1	Py2	Py-One1	Py-One2
<i>E. Coli</i>	N	N	M	L
<i>Staph</i>	S	S	S	S
<i>Pseudo</i>	N	N	N	N

Chapitre III : Résultat et discussion

Le tableau 8 rassemble les pourcentages de sensibilité des souches vis-à-vis les composés hétérocycliques synthétisés

Tableau 8 : les pourcentages des sensibilités

	N	L	M	S
Py1	66.66%	00.00	00.00	33.33%
Py2	66.66%	00.00	00.00	33.33%
Py-One1	33.33%	00.00	33.33%	33.33%
Py-One2	33.33%	33.33%	00.00	33.33%

La figure III.21 et le tableau 8 mettent les pourcentages des sensibilités des bactéries.

- Les souches testées avec les composés (Py2' Py1) se sont révélées d'une sensibilité nulle avec un taux de 66,66%, et très sensibles avec un taux de 33,33%.
- Les souches testées avec le composé (Py-One1) ont donné 33,33% pour les sensibilités: nulle, moyenne et très sensible.
- Les souches testées avec le composé.
- (Py-One2) ont montré 33,33% pour les sensibilités: nulle, limitée et très sensible.

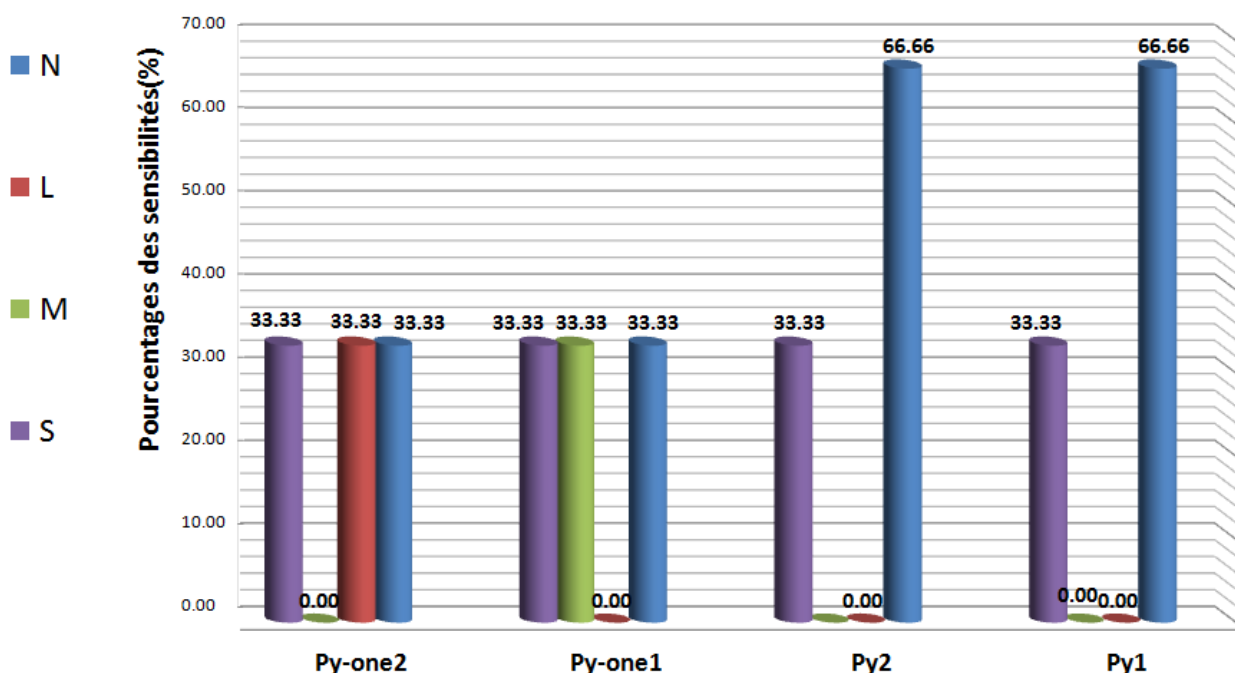


Figure III.21 : les pourcentages sensibilités des souches aux différents composés

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Le travail que nous avons entrepris avait pour objectif la synthèse et l'évaluation de l'activité antibactérienne de quatre composés hétérocycliques envers trois souches bactériennes

Dans la première partie de ce travail, nous avons préparé des composés hétérocycliques azotés (pyrazole, pyrazolone et pyrrole) dans des conditions très simples avec de bons rendements. Cinq produits ont été synthétisés et caractérisés par les différentes méthodes spectroscopiques (RMN¹H, RMN¹³C, DEPT).

Au cours de la deuxième partie, nous avons déduit ce qui suit :

- Les composés synthétisés (pyrazole et pyrazolone) n'ont pas d'activité antibactérienne contre *Pseudo*.
- contre *Staph*, nous avons observé que les molécules (pyrazole et pyrazolone) ont une activité antibactérienne notable.
- contre *E. Coli*, nous avons observé que les molécules (pyrazolone) ont une activité antibactérienne notable. Quant pyrazoles, ces derniers n'ont pas d'activité antibactérienne.

Références
bibliographiques

REFERENCES

- Aggarwal, V. K., de Vicente, J., & Bonnert, R. V. (2003). A novel one-pot method for the preparation of pyrazoles by 1, 3-dipolar cycloadditions of diazo compounds generated in situ. *The Journal of Organic Chemistry*, 68(13), 5381-5383.
- Amir, M., & Kumar, S. (2005). Synthesis and anti-inflammatory, analgesic, ulcerogenic and lipid peroxidation activities of 3, 5-dimethyl pyrazoles, 3-methyl pyrazol-5-ones and 3, 5-disubstituted pyrazolines.
- Boudjellal, F. (2020). *hétérocycles azotes a cinq chainons : synthese , caractérisation et application l'inhibition de la corrosion* (doctorate). Tahar Moulay saida.
- Cherfaoui, B. (2018). *fonctionnalisation de B-dicarbonyles precurseurs : synthese de motifs hétérocycliques oxygenes et azoles. application biologique.* .(doctorate). Houari Boumediene, Bab Ezzouar, Algeria.
- Choi, Y. M., Noh, D. O., Cho, S. Y., Suh, H. J., Kim, K. M., & Kim, J. M. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT-Food Science and Technology*, 39(7), 756-761.
- Darshan, N., & Manonmani, H. K. (2015). Prodigiosin and its potential applications. *Journal of food science and technology*, 52, 5393-5407.
- Duffin, W. M., & Green, A. F. (1955). The pharmacological properties of the optical isomers of benzhexol, procyclidine, tricyclamol, and related compounds. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, 10(3), 383.
- Duraffourd, C., D'Hervicourt, L., Lappraz, J.C. . (1990). *Cahiers de phytothérapie clinique, Examen de laboratoire galénique. Elements thérapeutiques synergiques* (2ème édition Masson ed. Vol. 87). Paris
- Gayon, E. (2012). Stratégies pour l'accès rapide à des hétérocycles azotés à partir d'alcools propargyliques.
- Gosselin, F., O'Shea, P. D., Webster, R. A., Reamer, R. A., Tillyer, R. D., & Grabowski, E. J. J. (2006). Highly regioselective synthesis of 1-aryl-3, 4, 5-substituted pyrazoles. *Synlett*, 2006(19), 3267-3270.
- Guieu, B. (2017). Synthèse de pyrroles polysubstitués par cyclisation à l'or: évaluation de l'activité de 3-arylpyrroles sur les microtubules.
- Harit, T., Malek, F., Bali, B. E., Khan, A., Dalvandi, K., Marasini, B. P., . . . Iqbal Choudhary, M. (2012). Synthesis and enzyme inhibitory activities of some new pyrazole-based heterocyclic compounds. *Medicinal Chemistry Research*, 21, 2772-2778.
- Holt, J. (1984). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. In: Vol I Baltimore, Williams & Wilkms.
- Ivan, B.-C., Barbuceanu, S.-F., Hotnog, C. M., Anghel, A. I., Ancuceanu, R. V., Mihaila, M. A., . . . Olaru, O. T. (2022). New Pyrrole Derivatives as Promising Biological Agents: Design, Synthesis, Characterization, In Silico, and Cytotoxicity Evaluation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 8854.
- Jadhav, D. S. B. (2022). RECENT ADVANCES AND APPLICATIONS IN MODERN SYNTHETIC CHEMISTRY.
- joule, & mills. (2014). *chimie hétérocyclique* (v. lafond, Trans. 2 ed.). paris.

- Karrouchi, K., Radi, S., Ramli, Y., Taoufik, J., Mabkhot, Y. N., Al-Aizari, F. A., & Ansar, M. h. (2018). Synthesis and pharmacological activities of pyrazole derivatives: A review. *Molecules*, 23(1), 134.
- Küçükgül, Ş. G., & Şenkardeş, S. (2015). Recent advances in bioactive pyrazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 786-815.
- Kumar, K. A., & Jayarooma, P. (2013). Pyrazoles: synthetic strategies and their pharmaceutical applications-an overview. *International Journal of PharmTech Research*, 5(4), 1473-1486.
- Lellek, V., Chen, C.-y., Yang, W., Liu, J., Ji, X., & Faessler, R. (2018). An efficient synthesis of substituted pyrazoles from one-pot reaction of ketones, aldehydes, and hydrazine monohydrochloride. *Synlett*, 29(08), 1071-1075
- Marrec, O. (2009). Synthèse de pyrroles fluoroalkylés: nouvelles réactions de trifluorométhoxylation nucléophile: application à la synthèse d'hétérocycles trifluorométhoxylés
- Messadia, f. (2013). *synthese D'heterocycles Azotes Par Cyclisation Reductive A Partir De (3-nitro-4-pyridyl) Hydrazonoglutarate De Dialkyle. Mémoire de Magister. Université Saad Dahleb - Blida,*
- messaoudi, A. e. (2017). *study of the pyrrole heterocyclic unit to access dipyrromethane type molecules.*(magister). zian achour university of djelfa, faculty of sciences and technologie
- Ouahes, C. (2003). *Chimie organique : sciences biomédicales et sciences de la nature.*
- Parajuli, R. R., Pokhrel, P., Tiwari, A. K., & Banerjee, J. (2013). Pharmacological activities of pyrazolone derivatives. *Journal of Applied Pharmaceutical Research*, 1(1), 05-13.
- Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
- Poulard, C. (2007). Synthèse de pyrroles diversement substitués, approche vers la synthèse d'un analogue hybride de la lavendamycine et de la camptothécine.
- Rosa, F. A., Machado, P., Vargas, P. S., Bonacorso, H. G., Zanatta, N., & Martins, M. A. P. (2008). Straightforward and regiospecific synthesis of pyrazole-5-carboxylates from unsymmetrical enamino-diketones. *Synlett*, 2008(11), 1673-1678.
- Schneider, Y. (2016). Utilisation Des Diazirines Comme Source D'azote Électrophile Pour la Synthèse D'hydrazines Et D'hétérocycles.
- tzankova, D., & valadimirova, s. (2017). synthesis of pyrrole and substituted pyrroles. *chemical technology and metallurgy*, 53, 4

Annexe

Annexes :

Appareillage :



Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)



pied à coulisse automatique



Vortex



Bain-marie



spectromètre



autoclave



Reflux



étuve



PH-mètre



plaque chauffant- agitateur

Tableau : Identification et détermination des caractères biochimiques des Bactéries Gram-
(Holt, 1984)

Bactéries Gram-	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>
Caractères culturels Sur gélose nutritive	Colonies ; bombées, moyennes, lisses et transparentes, 2 à 3 mm de diamètre	Colonies moyennes, légèrement bombées opaques, brillantes et pigmentées en vert de 1.5 à 3 µm de long et de 0.5 à 0.8 µm de large
Examen microscopique	- Cocobacilles droits isolés ou en amas - Gram-	- Bacilles droits - Gram-
Respiration	- Aerobie-anaérobie facultatif	- Aérobie strict

Tableau : Identification et détermination des caractères biochimiques des Bactéries Gram (+) (Holt, 1984)

Bactéries Gram (+)	<i>S.aureus</i>
Caractères culturels sur gélose nutritive	Colonies opaques arrondies bombées brillantes et à teinte blanche en jaune doré de 1 à 2 µm de diamètre
Examen microscopique	- Coccis regroupés en diplocoques ou en amas (grappes de raisins) - Gram+
Respiration	- Aéro-anaérobie facultative

Les milieux de culture de l'activité antibactérien

- Composition du milieu Mueller-Hinton Agar

- Extrait de viande de bœuf2.0g
- Peptone de caséine.....17.5g
- Amidon de maïs.....1.5g
- Agar.....17.0g
- pH.....7.3



milieu Mueller-Hinton Agar