REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA



Faculté de **T**echnologie

Mémoire de fin d'études de Master

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie Chimique

Evaluation de l'activité biologique de nouveaux systèmes hétérocycliques

---

Présenté par

Rezrazi Imene

Haouari Amel

Proposé et Dirigé par

Mr LETTREUCH Hichem

Promotion 2019

DEDICACE

Nous dédicaçons ce modeste travail spécialement à nos familles : ***REZRAZI*** *et* ***HAOUARI.***

Ma famille ***REZRAZI*** *surtout :*

A ma précieuse ***Mère*** *et mon chère* ***Père ;***
Ils m'ont a aidés pour réussir et m'ont soutenue tout le temps , je les souhaite la belle vie et le gain du paradis inchaa ***ALLAH*** *.*

J'adresse mon profond amour à ma petite sœur « ***TAKIA*** *»*
et mes frères « ***MOHAMED*** *» et «* ***MOHCINE*** *» , je les souhaite le bonheur et le succès éternel .*

A mon fiancé , pour son soutien et son encouragement .

A toute ma famille , à ceux qui me connaissent et surtout qui m'aiment .

A toutes les personnes qui nous ont aidé de pré ou de loi.

A tout mes camarades ; surtout ma belle binôme ***AMEL*** *qui a partagé avec moi les bons et les mauvais moments .*

IMENE

DEDICACE

*A ma famille **HAOUARI** ;*

*Surtout ma sœur **« SOUMIA »** qui nous a aidé dans notre travail, je la souhaite le bonheur et la réussite dans sa vie .*

*A mes chères parents , qu'ils ont été toujours là pour moi , et qui m'ont donné un modèle magnifique de bonheur et de persévérance , qu' **ALLAH** me les garde .*

*A ma sœur « **NADIA** » et ses enfants **« ANES »** , « **MARIA** » et « **MOHAMED** » je les souhaite le bonheur et le succès éternel .*

*A mon chère frère « **MOHAMED** » .*

A toute ma famille , à ceux qui me connaissent et surtout qui m'aiment .

A toutes les personnes qui nous ont aidé de pré ou de loin .

*A tous mes camarades ; surtout ma belle binôme « **IMENE** » qui a partagé avec moi les bons et les mauvaises moments .*

AMEL

REMERCIMENT

*Tout d'abord nous tiendrons à remercier **ALLAH** le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour achever ce travail .*

La première personne que nous tenons à remercier est Mr. ***LETTREUCH Hichem***
notre promoteur qui nous a extrêmement aidé et encouragé tout au long de ce
travail, nous lui adressons nos remerciements les plus sincères.

Nous remercions les membres de jury Dr FERGANI .Z Mr: BELAISSA Y qui nous ont fait l'honneur de juger ce travail.

Nous tenons à remercier tous les gens qui nous ont aider, surtout les responsables de laboratoire du hall technologique de la faculté des technologie de l'université Dr. YAHIA fares à Médéa et M.fares.

Nous remercions les éléments de groupe SAIDAL de Médea et spécialement Mr Laidi Karim, Melle Ghazel Sara de laboratoire microbiologie.

Nous remercions les éléments de l'université de Saad dahlab de Blida et spécialement les responsables de laboratoire 232.

Nous remercions tous les enseignants de l'université Yahia fares qui nous ont guidés tout au long de notre vie universitaire.

Nous remercions aussi tous nos collègues et amies qui nous ont soutenu et encouragé pour terminer ce travail.

Nous remercions enfin toutes les personnes qui nous ont aidé de près ou de loin, pour la réalisation de ce travail.

الملخص

يمكن ان يتواجد مركب 2-نيتروفنيل هيدرازون بيروفات المتيل على هيئة متماكبين (E) و (Z).

نفس الشي بالنسبة لثنائي الهيدرازون الميثيلي الناتج عن استرة حمض البيروفيك والدي يمكن ان يتواجد على هيئة متماكبين (E / E) و (Z/ Z)

ارجاع المماكب(Z)-2 - نيترو فينيل هيدرازونو بيروفات الميتيل. ومشتق الميثيل لنفس المركب باستعمال ديتيونيت الصوديوم اعطى حسب التحاليل باستعمال الرنين المغناطيسي النووي و الاشعة الطيفية تحت الحمراء . مركب حلقي هو عبارة عن مشتق السينولين .

ارجاع المماكب (Z)-5 كلوروا -2-نيتروفنيل هيدرازون بيروفات المتيل . ومشتق الميثيل لنفس المركب باستعمال ديتيونيت الصوديوم اعطى حسب التحاليل باستعمال الرنين المغناطيسي النووي و الاشعة الطيفية تحت الحمراء الامينات المقابلة

ارجاع ثنائي هيدرازون (Z / Z)- 2.4-دينتروا فنيل -1.5-ديهيدرازون بيروفات متيل الى امين مقابل .

تميزت جميع المركبات المركبة بواسطة طيف الاشعة تحت الحمراء و البروتون الرنين المغناطيسي النووي والتحليل الطيفي الشامل لبعض المنتجات.
تعرضت جميع المركبات المركبة لاختبارات بيولوجية (مضاد للبكتيريا و مضاد للفطريات) والتي اظهرت نشاطا ملحوظا.

الكلمات المفتاحية: هيدرازون ، غير متجانسة ، تدوير مخفض ، نشاط بيولوجي.

Résumé :

Le 2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle peut exister sous deux configurations diastérioisoméres (E) et (Z).
De même Le bis hydrazone d'ester méthylique de l'acide pyruvique peut exister aussi sous deux configurations (E/E) et (Z/Z).
La réduction de l'isomère(Z)-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle, ainsi que (Z)-5-méthyl-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle, par le dithionite de sodium a donné un produit dont lacaractérisation par RMN (résonance magnétique nucléaire) et IR (infrarouge) correspond à une cyclisation menant à un nouveau dérivé de cinnoline.
La réduction de l'isomère(Z)-5-chloro-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle ainsi que le (Z)-2,4-dinitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle par le dithionite de sodium a donné un produit dont lacaractérisation par RMN (résonance magnétique nucléaire) et IR (infrarouge) correspond à uneréduction menant au amines correspondantes.

La réduction de bishydrazone(Z/Z)-2,4-dinitrophényl-1,5-dihydrazono pyruvate de méthyle à mener aussi à l'amine correspondant

Tous les composés synthétisés ont été caractérisés par le spectre IR, RMN du proton ^{1}H , ducarbone ^{13}C et de spectroscopie de masse pour quelques produits.

Tous les composés synthétisés ont été soumis à des tests biologiques (antibactérien et anti fongique) qui ont montré une activité remarquables.

Mots clés : hydrazone, hétérocycle, cyclisation réductive, activité biologiques.

Abstract:

Methyl 2-nitrophenylhydrazonopyruvate can exist under two diastereoisomeric (E) and (Z)configurations. Similarly, the bis hydrazone of pyruvic acid methyl ester can also be used in two configurations (E / E) and (Z / Z). The reduction of the methyl (Z) -2-nitrophenylhydrazonopyruvate isomer, as well as methyl (Z) -5-methyl-2-nitrophenylhydrazonopyruvate, by sodium dithionite gave a product whose characterization by NMR (nuclear magnetic resonance) and IR (infrared) corresponds to a cyclization leading to a new cinnoline derivative. The reduction of methyl (Z) -5-chloro-2-nitrophenylhydrazonopyruvate isomer and methyl (Z) -2,4-dinitrophenylhydrazonopyruvate by sodium dithionite gave a product of which NMR characterization (nuclear magnetic resonance) and IR (infrared) corresponds to a reduction leading to the corresponding amines. The reduction of methyl bishydrazone (Z / Z) -2,4-dinitrophenyl-1,5-dihydrazono pyruvate to also lead to the corresponding amine All synthesized compounds were characterized by the IR spectrum, 1H proton NMR, 13C carbon, and mass spectroscopy for some products. All synthesized compounds were subjected to biological tests (antibacterial and anti fungal) which showed remarequable activity.

Key words: hydrazone, heterocyclic, reductive cyclization, biological activity.

Sommaire

Dédicace.
Remerciement.
Résumés
Sommaire.
Abréviations.
Liste des tableaux.
Liste des figures.
Liste des Schéma.
Introduction général ……1

Chapitre I : partie bibliographie.
I.1. Introduction….....2
I.2. Synthèse d'hétérocycles azotés par cyclisation réductive des composés nitré.....2
I.2.1. Synthèse d'hétérocycle à 5 membres …….....3
I.2.2. Synthèse d'hétérocycles à 6 membres…. ……5
I.2.3. Synthèse d'hétérocycles à 5 et 6 membres……6
I.2.3. Synthèse d'hétérocycles à 7 chainons…..……..7
I.3. Activité antibactérienne et antifongique……..7
I.3.1. Les bactéries….....7
1.3.1.1.*Escherichiacoli*……..……..8
1.3.1.2. *Staphylococcus aureus*……..…..8
1.3.2. Les antibactériens…….....9
1.3.3. Les champignons…….....……..9
1.3.3.1. *Candidas Albicanes.*…….……..….....9
1.3.4. Les antifongiques……10
I.4. Définition……...…10
I.5. Les cause de l'inflammation…….....……11
I.6. Les phases de l'inflammation…….....…11
I.7. Les anti-inflammatoires…….....……..…11
I. 7.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (A.I.N.S.)……..…..11
I.7.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (A.I.S.)…….....11

Chapitre II : partie expérimentale.
Appareillage
Produits utilises
II.1. Synthèse des composés de départ……...…..……14
II.1.1. Préparation de 5-chloro-2-nitrophénylhydrazine.. ……14
II.1.2. Préparation de 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazine…..……...…15
II.1.3. Préparation de 2,4-dinitrophénylhydrazine ……..……...…16
II.1.4.Préparation de 1,3-dihydrazino-4,6-dinitrobenzène……...……..17
II.2. Synthèse des hydrazones ……...……18
II.2.1. Préparation (E)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle.....18
II.2.2. Préparation de (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle (Z_1) 19

II.2.3. Préparation des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle 20
II.2.4. Préparation de (Z/Z) -4,6-dinitrophénylèn-1,3-dihydrazono pyruvate de méthyle.....22
II.3. Réductions ……23
II.3.1. Procédure générale de réductions des hydrazones : (R_1, R_2, R_3, R_4) ……23
II.3.2. Procédure générale de réductions de bishydrazone (R/R)…….....26
II.4. Partie biologique ……..27
II.4.1. Evaluation de l'activité biologique ……..…27
II.4.1.1. Activité antimicrobienne des hétérocycles synthétisés……27
II.4.1.2. Préparation des solutions……..…....…27
II.4.1.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des produits (Z_2) ; (Z_3) ; (Z_4) ;(Z/Z) ; (R_1) ;(R_2) ;(R_3) et (R_4) ……..……..……...29
II.5. Evaluation de l'activité antifongique des produits (Z_{2-4}) ; (Z/Z) ; (R_{1-4})……..…..……30

Chapitre III : Mécanisme et discussions.

III.1. Synthés des composés de départs……...……40
III.1.1. Synthèse de 5-chloro-2-nitrophénylhydrazine……..……..40
III.1.2. Synthèse de 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazine……...41
III.1.3. Synthèse de 2,4-dinitrophénylhydrazine……..…42
III.1.4. Synthèse de 1,3-dihydrazino-4,6-dinitrobenzène……44
III. 2. Synthèse de (E)-et (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle ……....45
III.3. Réduction de (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle et ses dérivés……..……..65
III.4. L'activité biologique……..…80
III.4.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....80
III.4.2 Technique en milieu solide (méthode de la diffusion en disque)……...…80
III.4.3 Technique en milieu liquide (méthode de dilution)……80
III.4.4 Méthode utilisées……...…….81
III.4.5. Interprétation des résultats……81

Conclusions générale
Références bibliographie.

Liste des abréviations

A.I.N.S : Anti-inflammatoires non stéroïdiens.

A.I.S : Anti – inflammatoire stéroïdiens.

ATCC : Américain Type Culture Collectif.

CAB : A cetrimide agar.

$CDCl_3$: Chloroforme deutérié.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

DI : diamètre de diffusion sur disque (mm).

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

HSQC-RMN : Corrélation quantique-unique hétéonucléaire.

IR : Infrarouge.

MEB : Microscopie électronique à balayage.

P_f : Point de fusion.

R : Radical.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

SFM : Société Française Microbiologie..

Δ : Chauffage.

Liste des tableaux

Chapitre II : partie expérimentale.

Tableau II. 1 : Structures et concentrations et désignation des produits testés……..29

Tableau II. 2 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes testées pour le produit (Z.2)…….……32

Tableau II. 3 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre les levures et les fongiques testées pour le produit (Z.2)…….32

Tableau II. 4 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes testées pour le produit (Z.3)…….….33

Tableau II. 5 :L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre les levures et les fongiques testées pour le produit (Z.3)……...……...……...….33

Tableau II. 6 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes testées pour le produit (Z.4)……..……34

Tableau II. 7 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre les levures et les Fongique pour le produit (Z.4)…….34

Tableau II. 8 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes pour le produit (Z/Z)…….……35

Tableau II. 9 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre les levures et les Fongique pour le produit (Z/Z)……...35

Tableau II. 10 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes pour le produit (R.1)…….……36

Tableau II. 11 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre les levures et les Fongique pour le produit (R.1)…….……36

Tableau II. 12 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes pour le produit (R.2)…….…….37

Tableau II. 13 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre les levures et les Fongique pour le produit (R.2)…….……...….37

Tableau II. 14 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes pour le produit (R.3)…….……38

Tableau II. 15 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre les levures et les Fongique pour le produit (R.3)…….……...38

Tableau II. 16 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes pour le produit (R.4)……..…….39

Tableau II. 17 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre les levures et les Fongique pour le produit (R.4)……..……39

Liste de figure

Chapitre I : partie bibliographie.

Figure. I. 1 : Image MEB *d'Escherichia coli* [54] 07

Figure. I. 2 : Image MEB *d'staphylococcus aureus* [54].....08

Figure. I. 3 : Image MEB de *Candidas albican* [60]……...09

Chapitre III : Mécanismes et discussions.

Figure. III. 1 : Spectre IR de 5-Chloro-2-nitrophénylhydrazine……..…….41

Figure. III. 2 : Spectre IR de 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazine……..…….42

Figure. III. 3 : Spectre IR de 2,4-dinitrophénylhydrazine……...…43

Figure. III .4 : Spectre IR de 1,3-dihydrazino-4,6-dinitrobenzéne…….…45

Figure. III. 5 : Spectre ^{1}H-RMN de (E)-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle.....47

Figure. III. 6 : Spectre ^{1}H-RMN de (Z)-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle……..47

Figure. III. 7 : Spectre ^{13}C-RMN de (E)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle…….48

Figure. III. 8 : Spectre ^{13}C-RMN de (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle..…48

Figure. III. 9 : Spectre IR de (E)-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle……...49

Figure. III. 10: Spectre IR de (Z)-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle (Z1) …….49

Figure. III. 11: Spectre de masse de (E)-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle…….50

Figure. III. 12 : Spectre de masse de (Z)-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle……50

Figure.III. 13 : Spectre ^{1}H-RMN de composé (Z2)……..…52

Figure. III. 14 : Spectre ^{13}C-RMN de composé (Z2)……...52

Figure III. 15 : Spectre HMBC de composé (Z2)……..…….53

Figure III. 16 : Spectre HSQC de composé (Z2)……..53

Figure III. 17 : Spectre IR de composé (Z2)……54

Figure. III. 18: Spectre ^{1}H-RMN de composé (Z3)…….....55

Figure. III. 19 : Spectre ^{13}C-RMN de composé (Z3)..…….…...55

Figure. III.20 : Spectre HMBC de composé (Z3)……..…….56

Figure. III.21 : Spectre HSQC de composé (Z3)..……..…56

Figure. III.22 : Spectre IR de composé (Z3)…….…...……..57

Figure.III.23: Spectre ^{1}H-RMN de composé (Z4)……..…58

Figure. III.24 : Spectre ^{13}C-RMN de composé (Z4)……...…58

Figure III.25 : Spectre HSQC de composé (Z4)…….59

Figure III.26 : Spectre HMBC de composé (Z4)…….....59

Figure III.27 : Spectre IR de composé (Z4)……60
Figure. III.28: Spectre ^{1}H-RMN de composé (Z/Z)……....62
Figure. III.29 : Spectre ^{13}C-RMN de composé (Z/Z)..……....62
Figure. III.30 : Spectre HSQC de composé (Z/Z)..……..…63
Figure. III.31 : Spectre HMBC de composé (Z/Z)…….....63
Figure. III.32 : Spectre IR de composé (Z/Z)……..64
Figure. III.33: Spectre ^{1}H-RMN de composé (R1)…….67
Figure. III.34 : Spectre ^{13}C-RMN de composé (R1)..……67
Figure. III.35 : Spectre de masse de composé (R1)……68
Figure. III.36 : Spectre IR de composé (R1)…….....68
Figure. III.37: Spectre ^{1}H-RMN de composé (R2)……70
Figure. III.38 : Spectre ^{13}C-RMN de composé (R2)..……....70
Figure. III.39 : Spectre HSQC de composé (R2)…….....71
Figure. III.40 : Spectre HMBC de composé (R2)..……..71
Figure. III.41 : Spectre IR de composé (R2)……...72
Figure. III.42: Spectre ^{1}H-RMN de composé (R3)…….....73
Figure. III.43 : Spectre ^{13}C-RMN de composé (R3)..……....74
Figure. III.44 : Spectre HMBC de composé (R3)…….....74
Figure. III.45 : Spectre HSQC de composé (R3)..……..…75
Figure. III.46 : Spectre IR de composé (R3)……...75
Figure. III.47: Spectre ^{1}H-RMN de composé (R4)…….……....76
Figure. III.48 : Spectre ^{13}C-RMN de composé (R4)..……....77
Figure. III.49 : Spectre HMBC de composé (R4)……...77
Figure. III.50 : Spectre HSQC de composé (R4)..……..78
Figure. III.51 : Spectre IR de composé (R4)……...78
Figure. III.52 : Spectre IR de composé (R/R) …….....79

Liste de Schéma

Chapitre II : Partie expérimentale.

Schéma. II.1 : Structure de 5-chloro-2-nitrophénylhydrazine ……..……14

Schéma. II.2 : Structure de 5-methyl-2-nitrophénylhydrazine ……...15

Schéma. II.3 : Structure de 2,4-dinitrophénylhydrazine …….....16

Schéma. II.4 : Structure de1,3-dihydrazino-4,6-dinitrobenzène ……..……...17

Schéma. II.5 : Structure de (E)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle ……..18

Schéma. II.6 : Structure de (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle ……..19

Schéma. II.7 : Structure des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle ……..……..20

Schéma. II.8 : Structure de (Z/Z)-4,6-dinitrophénylén-1,3-dihydrazono pyruvate de méthyle..……..……..22

Schéma.II.9 : Structure de 3-methylcinnolin-4-ol……..……....23

Schéma.II.10 : Structure de (Z)-5-chloro-2-aminophénylhydrazono pyruvate de méthyle ……24

Schéma.II.11 : Structure de 3,7-dimethyl-1,4-dihydrocinnolin-4-ol……...25

Schéma II.12 : Structure de methyl (*Z*)-2,4-diamino phenylhydrazono …….25

Schéma II.13 : Structure de 2,4-diaminophényl-1,5-dihydrazinopyruvate de méthyle……...26

Chapitre : III. Partie méthode et discussion.

Schéma. III. 1 : Synthèse de 5-chloro-2-nitrophénylhydrazine ……..…...40

Schéma. III. 2 : Mécanisme réactionnel de synthèse de 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazine…41

Schéma. III. 3 : Mécanisme réactionnel de synthèse de 2,4-dinitrophénylhydrazine…….43

Schéma. III. 4 : Mécanisme réactionnel de synthèse de 1,3-dihydrazino-4,6-dinitrobenzéne ……44

Schéma. III. 5 : Synthèse de (E)- et (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle ……46

Schéma. III. 6 : Synthèse des dérivés de 2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle……51

Schéma. III. 7 : :Synthèse de (Z/Z)-2,4-dinitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle……61

Schéma III.8: Mécanisme réactionnel de la cyclisation réductive éventuelle menant au dérivé …….....65

Schéma. III. 9 : Mécanisme réactionnel de la cyclisation réductive éventuelle menant au dérivé ……65

Schéma. III. 10 : Mécanisme réactionnel de la cyclisation réductive de composé (Z 1)…..66

Schéma. III. 11 : La réduction de (Z)-5-chloro-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de Méthyle……69

Schéma. III. 12 : Mécanisme réactionnel de réduction de (Z)-5-méthyl-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle ……72

Schéma III.13 : La réduction du dérivés nitrés (Z 4)…….76

INTRODUCTION

Les hétérocycles sont des composés chimiques très intéressants dans la recherche scientifique en raison de leurs potentialités d'application dans différents domaines, pour cela leur synthèse est devenue un sujet très important.

Ce sont une classe de composés chimiques monocycliques ou polycycliques dans lesquels un atome de carbone ou plus dans le cycle est remplacé par un hétéroatome comme l'oxygène , l'azote , le phosphore , le soufre … etc. mais les plus courants contiennent de l'azote ou de l'oxygène .

Les hétérocycles se trouvent dans la nature sous forme de base puriques et pyrimidiques ARN , ADN , vitamines et enzymes et de nombreuses hormones . Ils sont fabriqués dans l'industrie et ont trouvé une large utilisation comme herbicides , fongicides , insecticides,colorants et comme produit pharmaceutique.
La réduction des composés ortho nitré peut mener directement à la formation d'hétérocycles azotés si les produits de réduction réagissent par addition , condensation ou substitution intramoléculaire avec les autres groupements fonctionnels par formation d'une liaison C-N .
Les réactions de ce type sont désignées comme des cyclisations réductives.

La cyclisation réductive des composés aromatiques nitrés a été prédominamment utilisée pour la synthèse des indoles , des carbazoles et de plusieurs hétérocycles aromatiques azotés .

A cet effet les objectifs de ce travail sont les suivants :

- Synthèse et caractérisation des diastérioisoméres(E) et (Z)-2-nitrophényl hydrazono pyruvate de méthyle
- Synthèse et caractérisation des dérivés de (Z)-2-nitrophényl hydrazono pyruvate de méthyle
- Synthèse et caractérisation de (Z/Z)-1,3-dihydrazono-4,6-dinitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle.
- Réduction des hydrazones et de bishydrazone synthétisé par le dithionite de sodium.
- Etude de l'activité biologique des composés obtenus.

Notre travail est subdivisé en trois parties :

- Une partie bibliographique qui comporte quelques exemples de travaux réalisé dans le domaine de la synthèse d'hétérocycles par cyclisation réductive et la présentation de leurs activités biologiques.
- Une deuxième sera consacré aux modes opératoires détaillé,caractéristiques et au résultats de l'activité biologique.
- Une troisième partie, contient les mécanismes réactionnels détaillés ; les discussions des spectres et résultats obtenues ainsi que la description de méthode utilisé lors de l'étude biologique.

I.1.Introduction

Dans la réduction des composés aromatiques nitrés dominent surtout les méthodes classiques de réduction. Cela s'étend de sulfate de sodium [1-4] , dithionite de sodium [5-8] , jusqu'à l'hydrogénation catalytique sous l'emploi de PtO_2 [9,10] ou Pd/C [11,12] . L'hydrogénation catalytique est la plus préférée et elle est actuellement la plus utilisée vu qu'elle donne de hauts rendements. Des méthodes d'hydrogénation catalytique par transfert d'hydrogène sont aussi employées [13,14] . Ainsi par exemple les donneurs d'hydrogène catalytisés par le palladium comme le cyclohexène [15] ,l'hydrazine [16,17] , tétrahydroborate de sodium [18,19], sont en usage. La réduction des composés nitrés par ces méthodes conduit aux amines primaires.

Nous rapportons dans ce qui suit des exemples choisis de l'utilisation large de cette méthode de synthèse d'hétérocycles azotés.

I.2. Synthèse d'hétérocycles azotés par cyclisation réductive des composés nitrés

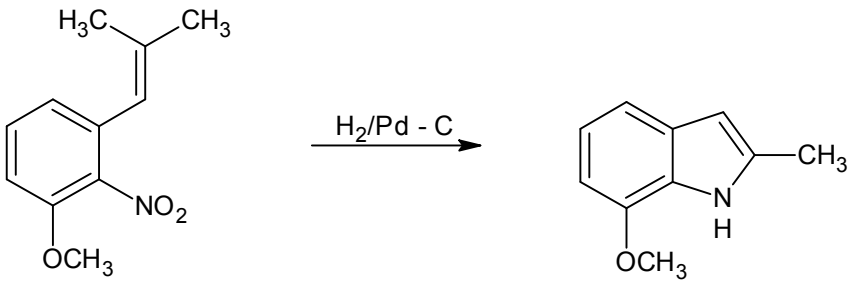
La cyclisation réductive est la plus utilisée pour la synthèse d'hétérocycles azotés de 5, 6 et 7 membres. Il est à noter que la formation d'hétérocycles de 5 et 6 membres se produit souvent spontanément à cause de leur situation stérique pus favorable.

En revanche la formation d'un hétérocycle de 7 membres est pus exigeante et se déroule en règle générale dans les étapes séparées de la réduction.

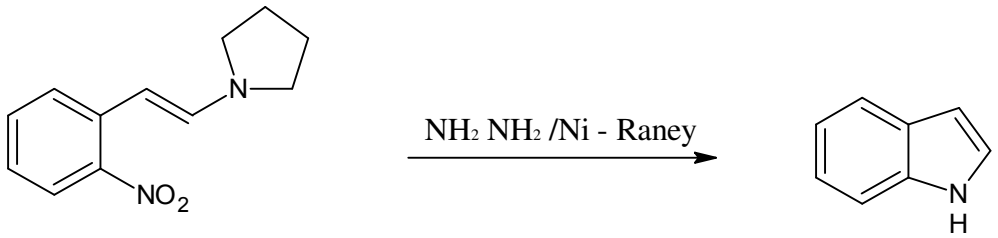
Nous rapportons dans ce qui suit quelques exemples d'hétérocycles azotés obtenus par cyclisation réductive.

I.2.1. Synthèse d'hétérocycles à 5 membres

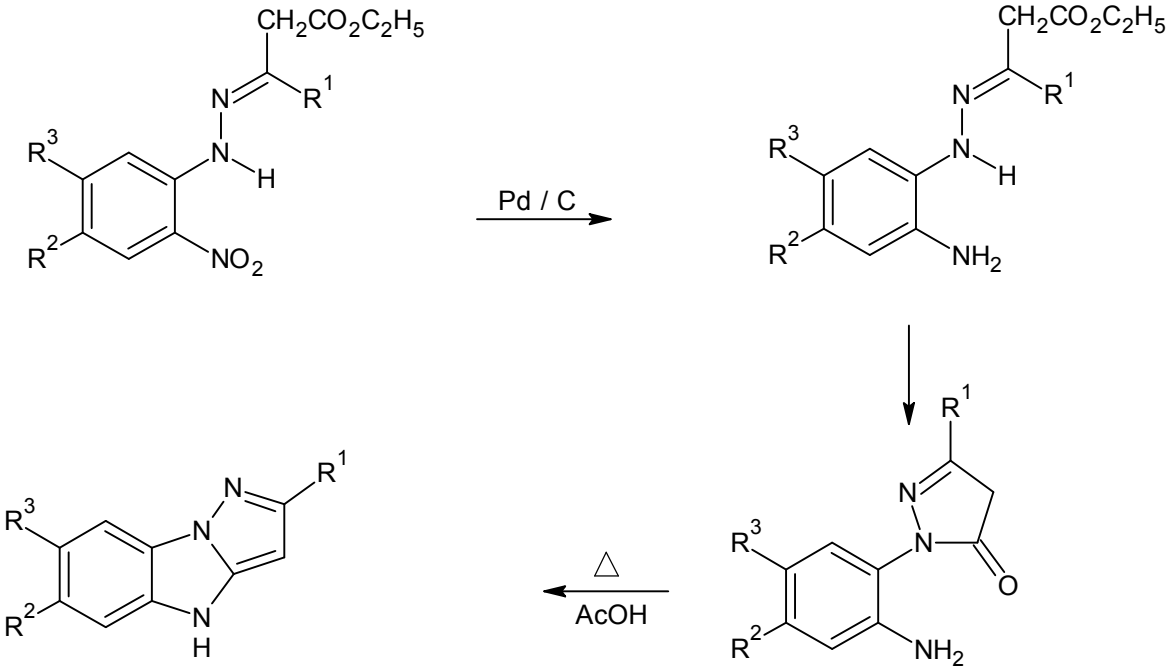
Le 7-methoxy-2-méthyl-1H-indole est obtenu à partir de 1-methoxy-2-nitro-3-[(1E)-2-nitroprop-1-en-1-yl] benzène par l'hydrogénation catalytique [20].



La réduction de 1-[(E)-2-(2-nitrophenyl)ethenyl)]pyrolidine par l'hydrazine en présence de Nickel de Raey avec élimination de la pyrolidine donne l'indole [21].



Les 4H-pyrazolo[1,5-a]benzimidazoles sont obtenus par cyclisation réductive à partir de 2-nitrophénylhydrazones des esters des acide 2-oxocarboxyliques [22].

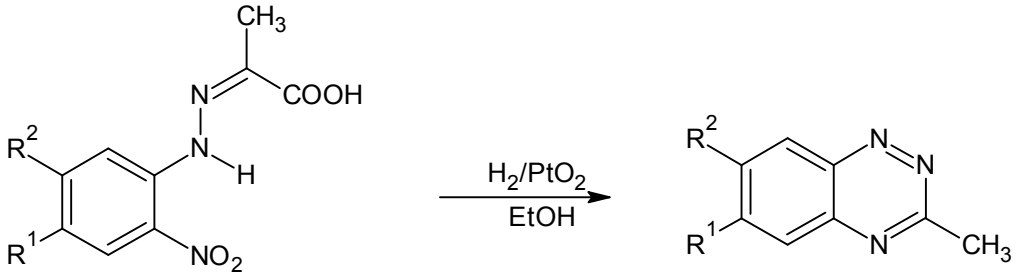


Intérêt biologique

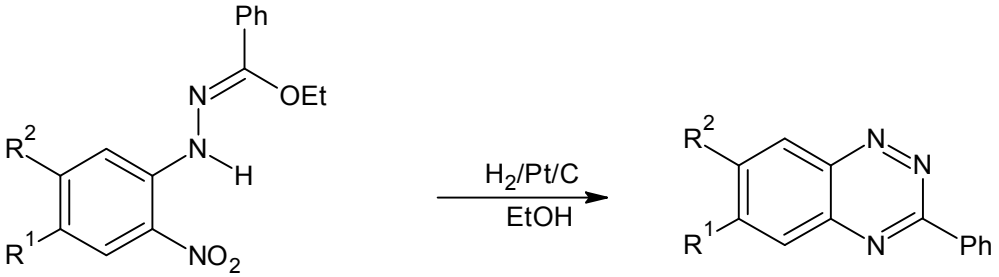
Ces vingt dernières années, la littérature a rapporté un grand nombre de travaux concernantl'activité biologique des dérivés imidazopyridine et imidazopyridazine. Il s'est avéré que ces dérivés possèdent des activités dans des domaines variés : anti-inflammatoires [23], agents utilisés dans letraitement de certaines pathologies du système nerveux central [24], antibactériens [25], et antiviraux[26], antagonistes des récepteurs CRF1 (facteur de libération du corticotropine actif dans le traitementdes troubles psychiques, des maladies neurologiques [27], cardio-pulmonaires et certaines douleurssomatiques [28].

I.2.2. Synthèse d'hétérocycles à 6 membres

Les dérivés 3-méthyl- et 3-phényl-1,2,4-benzotriazines sont obtenus par cyclisation réductive à partir des hydrazones d'acide pyruvique.

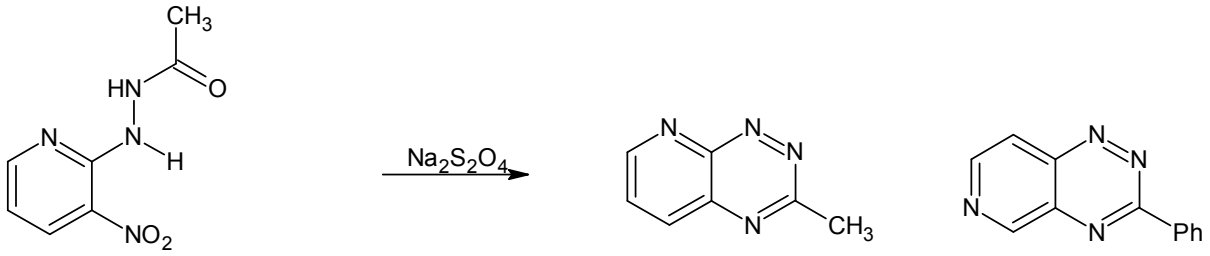


R^1=H ,Cl, Br, NH_2 ; R^2= H, Cl, Br.

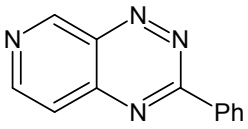


R^1=H, Br ; R^2=H, Cl.

De même les pyrido [3,2-e]-I [29] ,pyrido[3,4-e]-II [30] et pyrido [4,3-e]-as-triazines III[31] sont obtenus par cyclisation réductive par le dithionite de sodium.

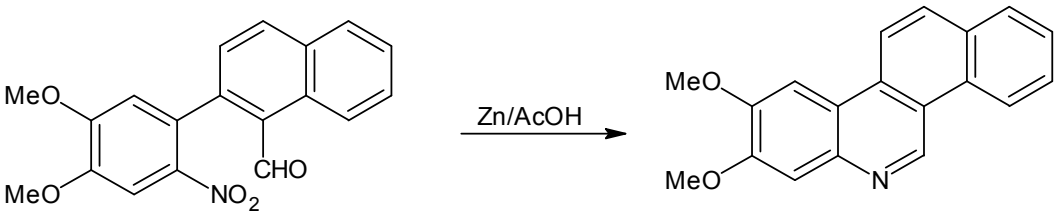


I II

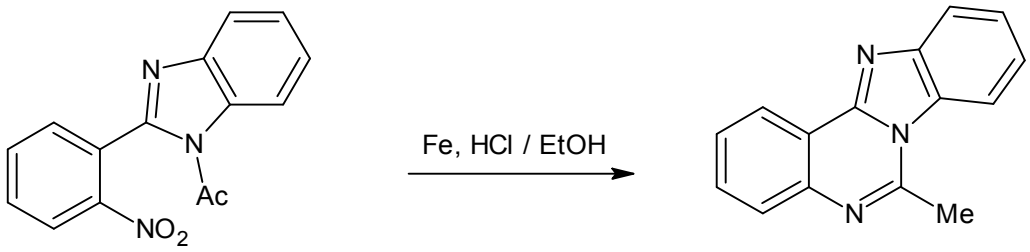


III

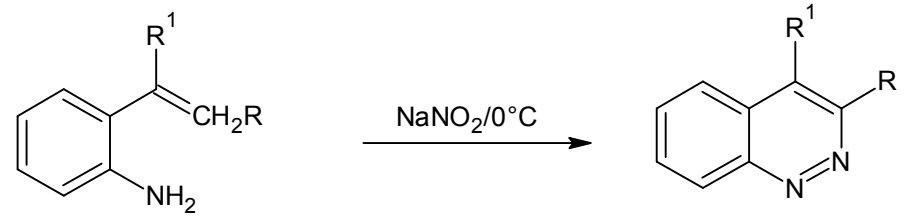
La réduction de 2-(4,5-diméthoxy-2-nitrophényl) naphtalène-1-carbaldéhyde par la poudre de zinc dans l'acide acétique donne le 10,11-diméthoxy benzo[d]phénanthridine avec un rendement de 90% [32].



La réduction de 1-acétyl-2-(2-nitrophényl)benzimidazole avec la poudre de fer et l'acide chlorhydrique dans l'éthanol donne un dérivé benzim-idazol[1,2-c]quinazoline [33].



Une série de dérivés de 4-aryl-3-pyridyl- and -quinolyl-cinnoline douée d'activité antimicrobienne ont été synthétisés à partir des dérivés de 2-éthynylaniline par diazotaion[34].



R= 2-C_5H_4N; 2-C_9H_6N R^1= Aryl

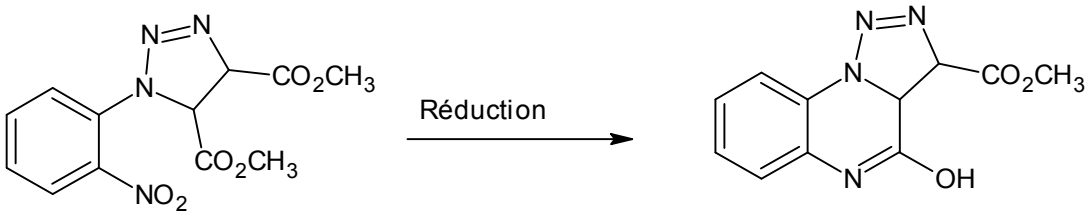
A l'égard de notre travail ,cette exemple occupe un intérêt particulier.

Intérêt biologique :

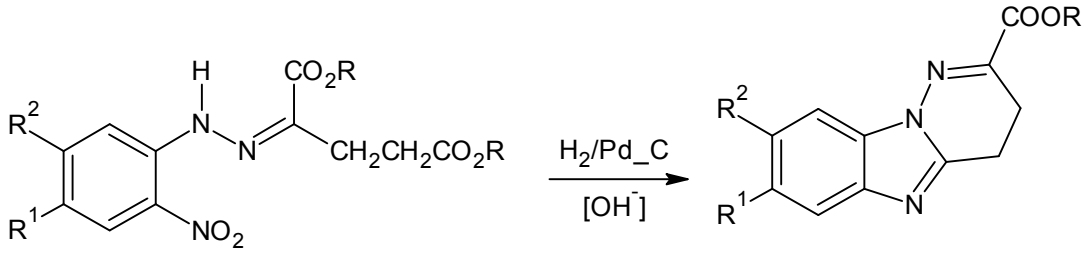
Les quinoléines sont de plus en plus fréquemment rencontrées dans les structures de composés d'intérêt pharmaceutique ayant une activité biologique. Parmi les applications les plus récentes, les dérivés quinoléines sont utilisés comme anticancéreux [35], antibactériens, antifongiques [36,37], anti malariques [36], anti hypertensives [39], anti-inflammatoires [40], antivirales [41].Les quinoxalines ont des activités biologiques telles que l'activité antivirale [42] et antibactérienne et antifongique [43].

I.2.3. Synthèse d'hétérocycles à 5 et 6 membres

1,2,3-trizolo[1,5-a]quinoxaline est accessible par cyclisation réductive à partir de 1-(2-nitrophényl)-(1H)-1,2,3-triazole [44].



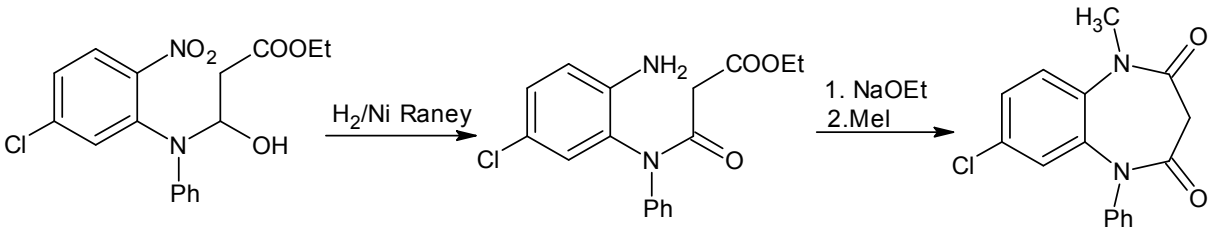
L'hydrogénation catalytique de (E)-2-niytophényl-hydrazono glurate de dialkyle avec un traitement ultérieur du mélange réactionnel avec le NaOH [45] mène à une cyclisation réductive, le produit obtenu est le dérivé pyridazino[1,6-a]benzimidazole.



R^1=R^2=H, Cl ; R=Me, Et

I.2.3. Synthèse d'hétérocycles à 7 membres

La réduction catalytique de 3-[(5-chloro-2-nitrophenyl)(phenyl)amino]- 3-oxopropanoate d'éthyle [46] donne on deux étapes le 7-chloro-1-méthyl-5-phényl-1H-1,5-benzodiazepine-2,4(3H,5H)-dione.



Intérêt biologique :

Les hétérocycles azotés à sept membres présentent diverses activités biologiques dans le domaine pharmacologique.

Les dérivés benzodiazépines, sont largement utilisés comme agents anti tumorales [47],

anticancéreux [48], anticonvulsants [49,50], hypnotiques [49]. Les applications thérapeutiques des dérivés benzodiazépines (Diazépam, Triazolam, Midazolam) sont très connues comme anxiolytiques [51] et sédatives [52].

I.3. Activités antibactérienne et antifongique :

I.3.1. les bactéries :

Ce sont des micro-organismes, utiles pour la vie sur terre, inoffensifs dans leur grande majorité bien que certains soient pathogènes et dangereux pour la santé. Les bactéries pathogènes sont responsables des infections. Elles peuvent provoquer une inflammation des parois intestinales. Certaines d'entre elles peuvent même traverser ces parois et infecter d'autres organes en provoquant des dommages graves et parfois mortels. Elles sont la cause de 90 % des intoxications alimentaires. Elles peuvent être divisées en deux groupes (Gram négatif et Gram positif) [53].

Bactéries étudiées :

Dans la littérature de nombreuses bactéries sont étudiéesmais deux d'entre-elles focalisent une majorité des études : Escherichia coli et Staphylococusaureus. Ces deux bactéries sont présentées dans ce paragraphe et elles ont été ensuite utiliséesdans notre travail.

I.3.1.1. Escherichia coli :

E. coli est un bacille à Gram négatif. C'est l'une des espèces bactérienne les plussouvent rencontrées en pathologie humaine. C'est une bactérie de « référence » pour larecherche. Typiquement elle se présente sous la forme de bâtonnets de 2-4 µm de longueur(Figure I.1).

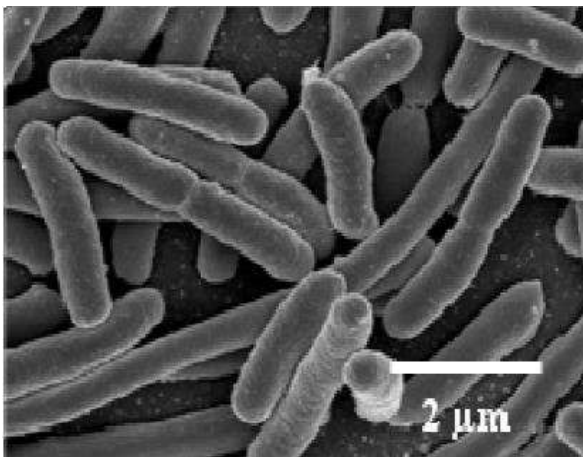


Figure 1.1 : Image MEB de *Escherichia coli* [54].

Certaines souches d'E. Coli présentent un pouvoir pathogène comme E. coli qui seretrouve dans les aliments non stériles tels que le lait cru, les plats non cuisinés et dans laviande (steak haché). Les symptômes couramment associés avec cette bactérie sont la diarrhéeet la gastro entérite [55].

Dans notre cas l'E. coli servira de référence pour la famille des bactéries à Gramnégatif.

I.3.1.2. Staphylococcus aureus :

S. aureus est une bactérie à Gram positif. Elle est pyogène et toxinogène, responsable de nombreuses infections communautaires et nosocomiales qui représente donc un problème de santé publique important. Elle provoque de nombreuses infections suppuratives dues à la multiplication de la bactérie et des infections toxiniques liées à la diffusion de toxines spécifiques [56]. Typiquement elle se présente sous forme de coques sphériques de diamètre 1 μm (Figure I.2).

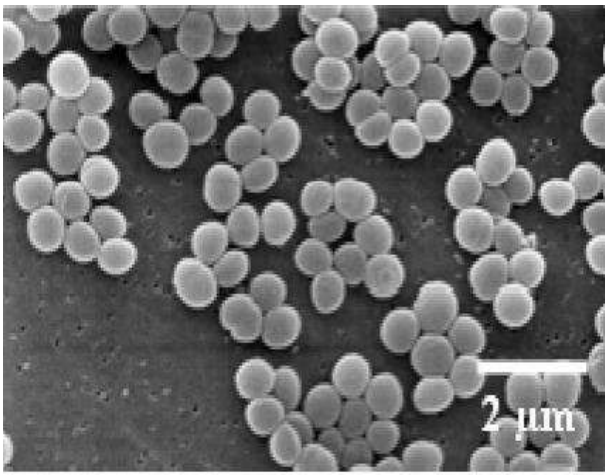


Figure I.2 : Image MEB de Staphylococcus aureus [54].

S. aureus se trouve généralement dans les fosses nasales et sur la peau de personnes enbonne santé. Si elle pénètre dans le corps, elle peut causer des infections cutanées légères,telles que des furoncles ou des anthrax, ou des infections plus graves, comme des pneumoniesou des bactériémies [53].

S. aureus sera utilisé dans nos travaux comme bactérie de référence pour les Grampositif.

I.3.2. Les antibactériens :

Les antibactériens sont des substances naturelles ou de synthèse capable d'inhiber lacroissance ou même de détruire certains micro-organismes. Ils peuvent être bactéricides, c'est-à- dire tuer les bactéries, ou bactériostatiques, empêchant leur développement. Les antibiotiques, par exemple, sont des médicaments antibactériens [57].

I.3.3. Les champignons :

Les champignons sont des organismes uni ou pluricellulaires dépourvus dechlorophyle. Ils peuvent être soit bénéfiques pour la transformation des matières premièresdans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique ou encore dans la production d'enzymes… ;soit nuisibles par altération des matières premières et produits alimentaires, par la formationde métabolites toxiques, les mycotoxines ou par la présence d'agents pathogènes entraînant mycoses et allergies [58].

Champignons étudiés :

I.3.3.1. Candidas albicans :

Candidas albicans est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue de genrecandida. C'est un organisme vivant à l'état naturel sur la peau, dans la bouche et les voies génitales de l'être humain. Quelque fois la candidasalbicans est à l'origine de manifestations au niveau des muqueuses (couche de cellules recouvrant les organes creux en contact avecl'air) et de la peau, plus rarement entraine des septicémies (présence dans le sang) ou deslésions viscérales. Elle provoque des infections fongiques (candidas ou candidose)essentiellement au niveau des muqueuses digestive et gynécologique [59].

Candidas albicans sera utilisé comme champignon de référence pour l'étude del'activité antifongique.

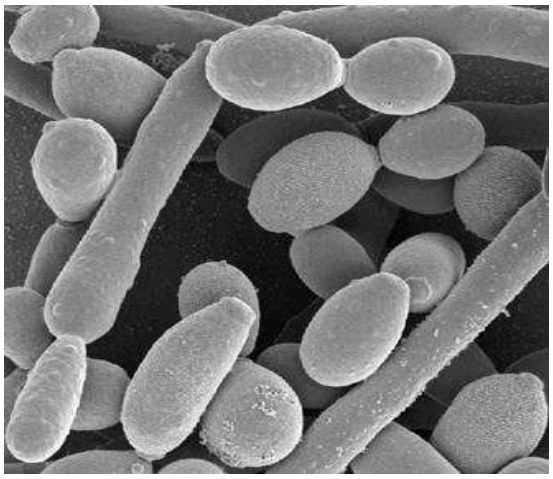


Figure 1.3 : Image MEB de Candidas albicans [60].

I.3.4. Les antifongiques :

Les antifongiques sont des molécules bioactives utilisées contre les champignons. Ces organismes forment un groupe phylogénétique homogène constitué de champignons macroscopiques et de champignons microscopiques (mycètes) à savoir les levures et les moisissures qui peuvent être saprophytes ou parasites. Dans ce dernier cas, ils peuvent attaquer soit l'être humain et on parle de mycose, soit les plantes causant ainsi des maladies cryptogamiques.

Selon l'activité qu'il exerce, un antifongique peut avoir un effet fongistatique (arrête la croissance des champignons) ou fongicide (détruit complètement la cellulefongique).Comparé aux infections bactériennes, le traitement des mycoses est souvent
beaucoup plus difficile.

L'inflammation :

I.4.Définition :

La réaction inflammatoire est un ensemble de phénomènes par lesquels les leucocytes et les médiateurs se concentrent dans un territoire agressé de l'organisme, quelle que soit la nature de l'agresseur : physique, chimique, infectieux, immunologique. C'est une réaction du tissu conjonctif et des vaisseaux [61]. Selon [62] l'inflammation est une réaction de défense des êtres vivants à une lésion ou une stimulation cellulaire excessive ou anormale.

I.5.Les causes de l'inflammation :

D'après [63], elles déterminent des lésions cellulaires ou tissulaires qui vont déclencher l'inflammation :

- Causes physiques (traumatisme, chaleur, froid, rayonnement, courant électrique).
- Causes trophiques par défaut de vascularisation.
- Causes chimiques (acides, bases).
- Causes biologiques (germes, bactéries, virus, parasites, champignons).

I.6.Les phases de l'inflammation :

Selon [64], le déroulement du processus inflammatoire est toujours le même. Il évolueen 3 stades successifs :

- Phase vasculaire
- Phase cellulaire
- Phase de réparation tissulaire

L'inflammation peut aussi causer une perte fonctionnelle dans la région touchée, selonl'étendue de la lésion et l'endroit où elle se trouve. Elle circonscrit les microbes, les toxines et

les substances étrangères aux environs de la lésion et prépare le site pour la réparationtissulaire. C'est ainsi qu'elle contribue à rétablir l'homéostasie des tissus.

I.7.Les anti-inflammatoires :

Les anti-inflammatoires, inhibe la réponse inflammatoire quel que soit l'agent pathogène responsable, par réduction de la vasodilatation et de l'oedème en diminuant le chimiotactisme et la migration leucocytaire vers le foyer inflammatoire [65].

Il existe deux grandes catégories des médicaments anti-inflammatoires :

I.7.1.Anti-inflammatoires non stéroïdiens (A.I.N.S.) :

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (A.I.N.S.) forment un groupe de médicaments destinés à traiter la réaction inflammatoire et les maladies qui en résultent :

- Manifestation rhumatismales (arthrites, polyarthrites).
- Fractures, stomatites.
- Inflammation génito-urinaires.

I.7.2.Anti-inflammatoires stéroïdiens (A.I.S.) :

Ce sont des médicaments destinés à lutter contre l'inflammation qui constitue laréponse de l'organisme à un agent pathogène, en vue de son élimination, suivie de larégénération des tissus lésés.

APPAREILLAGES

- Les pointes de fusion $\mathbf{P_f}$ sont déterminées à l'aide d'un appareil à plaque chauffante **FICHER-JONES** (à lamelles).
- Les spectres infrarouges(**IR**) sont enregistrés sur un spectromètre à transformer de Fourier , de marque **PARAGON 1000pc.**
- Les spectres de résonance magnétique nucléaire (**RMN**) sont enregistrés sur un spectromètre de marque **BRUKER AVANCE 300 et 400 MHz**
- Evaporateur rotatif de marque **SLUART**
- Agitateur vortex de marque Heidolph.D **8420 Kelheim.**

PRODUITS UTILISES

Réactifs	**Formule Chimique**	**Pureté**	**firme**
1-chloro-3,4-dinitrobenzène	$C_6H_2ClN_2O_4$	99,9%	Aldrich
1,3-dicloro-4,6-dinitrobenzène	$C_6H_2Cl_2N_2O_4$	99,9%	Aldrich
3,4-dinitrotoluène	$C_7H_6N_2O_4$	99%	MERCK
1-chloro-2,4-dinitrobenzène	$C_6H_3N_2O_4Cl$	99%	MERCK
Acide chlorhydrique	HCl	36-38%	Riedel-de Haën
Diméthylsulfoxye	C_2H_6OS	99%	Aldrich
Dithionite de sodium	$Na_2S_2O_4$	86%	Riedel-de Haën
Ethanol	C_2H_5OH	99,8%	Aldrich
Hydrazine monohydrate	$N_2H_4.H_2O$	99,9%	Fluka
Méthanol	CH_3OH	99%	Aldrich
Pyruvate de méthyle	$C_4H_6O_3$	Pur	ALFA AESAR

II. 1. Synthèse des composés de départ :

II.1.1. Préparation de 5-chloro-2-nitrophénylhydrazine :

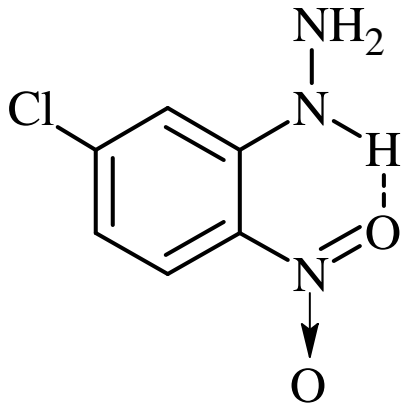


Schéma II.1 : Structure de 5-chloro-2-nitrophénylhydrazine

Dans un ballon bicol de 250 mL muni d'un réfrigérant à reflux et d'une ampoule à égoutter on dissout 5 g (0,02 mole) de 1-chloro-3,4-dinitrobenzène dans 40 mL d'éthanol et tout en agitant à froid on égoutte 2,5 g (0,05 mole) d'hydrazine monohydrate dissous dans 10 ml d'éthanol. Le mélange réactionnel est agité jusqu'à précipitation d'un produit rouge. Ensuite on porte le mélange sous reflux pendant 10 min et on laisse refroidir à l'air libre. Le produit formé est filtré et recristallisé dans l'éthanol.

$C_6H_6N_3O_2Cl$(187,58 g/mol) ; cristaux rouges.

P_f= 159-161°C (C_2H_5OH).

Rendement = 65%.

IR = 3369,03 et 3335,2 cm^{-1} (NH_2 , NH); 1509 ,98 cm^{-1} (NO_2) ;747,28 cm^{-1} (C-Cl).

II.1.2. Préparation de 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazine :

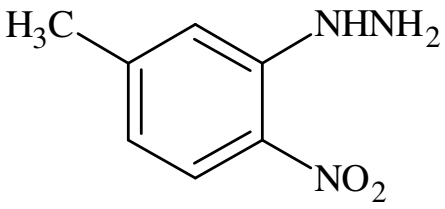


Schéma II.2 : structure de 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazine

Dans un ballon bicol on dissout 2,5 g (0.014 mol) de 3,4-dinitrotoluène dans 50 ml d'éthanol et on égoutte 2,5 ml d'hydrazine monohydrate dissout dans 20 ml d'éthanol.
Ensuite on porte le mélange réactionnel jusqu'à l'ébullition à reflux. Après refroidissement à température ambiante un précipité se forme. Ce dernier est filtré sous vide et recristallisé dans l'éthanol.

$C_7H_9N_3O_2$:cristaux rouge brique
M : 167g/mol
P_f :120°C
Rd : 54%
IR : 3332 et 3297 cm^{-1} (NH et NH_2); 1563 cm^{-1} (NO_2)

II.1.3. Préparation de 2,4-dinitrophénylhydrazine :

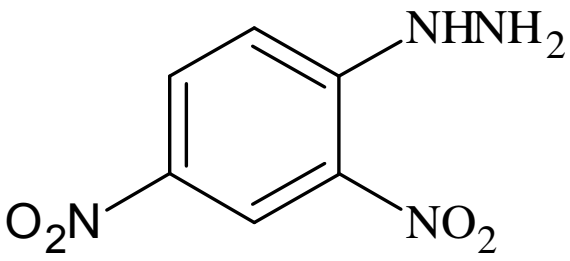


Schéma II.3 : Structure de 2,4-dinitrophénylhydrazine

Dans un ballon bicol muni d'un réfrigérant ,on dissout 5g de 1-chloro-2,4-dinitrobenzène dans 50 ml de méthanol et on égoutte, sous agitation ; 5 ml d'hydrazine monohydrate dissout dans 20 ml d'éthanol .Le précipité formé est porté sous reflux pendant une heure pour achever complètement la réaction .Après refroidissement à température ambiante , on filtre sous vide le précipité formé et on le recristallise dans l'éthanol.

$C_6H_6N_4O_4$ (198 g/mol), cristaux rouge brique

P_f : 200°C

Rendement = 96%

IR : 3102,75 et 3323,03cm^{-1} (NH et NH_2) ; et 1513,11cm^{-1}(NO_2).

II.1.4. Préparation de 1,3-dihydrazino-4,6-dinitrobenzène :

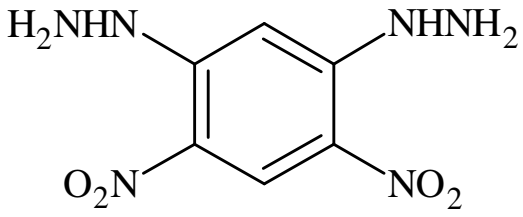


Schéma II.4 : Structure de 1,3-dihydrazino-4,6-dinitrobenzène

Dans un ballon Bicol muni d'un réfrigérant et d'une ampoule à brome on dissout 2 *g* de 1,3-dicloro-2,4-dinitrobenzène dans 40 ml d'éthanol et on égoutte sous agitation 2 ml d'hydrazine monohydrate dissout dans 20 ml de même solvant. Le précipité formé est porté à reflux pendant une heure pour achever complètement la réaction. Après refroidissement à température ambiante, on filtre sous vide le précipité formé et on le recristallise dans l'alcool correspondant.

$C_6H_8N_6O_4$: cristaux rouge brique

M= 228g/mol

P_f =255 °C

R_t = 98,2%

IR:3200 et 3400cm^{-1} (NH et NH_2); 1500cm^{-1}(NO_2).

II.2. Synthèse des hydrazones :

II.2.1. Préparation (E)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle :

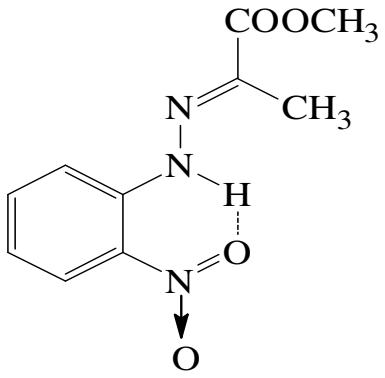


Schéma II.5 : Structure de (E)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle

Dans un erlenmeyer on dissous 1g (0,006mole) de 2-nitrophénylhydrazine dans 40ml méthanol et sous agitation on égoutte 0,7g (0,006mole) de pyruvate de méthyle et on laisse la réaction sous agitation jusqu'à l'apparition d'un précipité marron; ce dernier est filtré puis recristallisé dans le méthanol.

$C_{10}H_{11}O_4N_3$ (237g/mol) : poudre marron

P_f= 114-115°C

Rendement= 50%

IR: 3233,09 cm^{-1} (NH); 1609,87cm^{-1} (NO_2); 1697,26 cm^{-1} (CO)

^{1}H-RMN: 10,91ppm (s, H, NH); 3,88ppm (s, 3H, OCH_3); 2,22ppm (s, 3H, CH_3); 8,14ppm (d, H_3); 6,96ppm (t, H_4); 7,58ppm (t, H_5) et 7,96ppm (d, H_6).

^{13}C-RMN :12,1ppm (CH_3); 53,13ppm (OCH_3); 139,4; 133,27; 126,28; 120,87; 136,80; 117,22 et 140,26ppm (C_{arom}); 133,27ppm (N=C) et 165,48ppm (COO).

II.2.2. Préparation de (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle (Z_1):

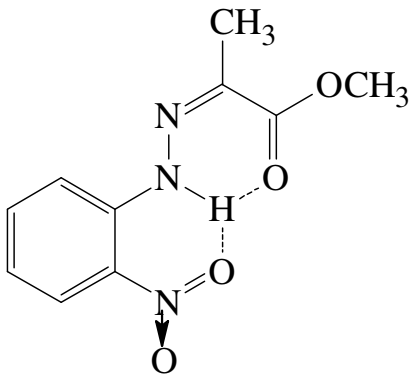


Schéma II.6 : Structure de (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle

Dans un erlenmeyer on dissous 0,5g (0,002mole) de (E)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle dans 40ml d'éther diéthylique et on ajoute 2ml d'acide chlorhydrique concentré.

On laisse la réaction sous agitation jusqu'à l'apparition d'un précipité orange, ce dernier est filtré puis recristallisé dans le méthanol.

$C_{10}H_{11}O_4N_3$ (237g/mol) : poudre orange.

P_f= 164-165°C

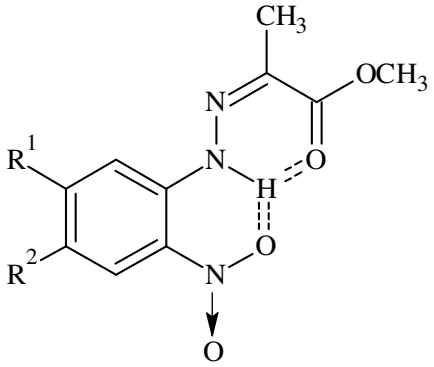
Rendement= 40%

IR: 3234,57 cm^{-1} (NH); 1610,39 cm^{-1} (NO_2); 1698,52 cm^{-1} (RCOOR)

^{1}H-RMN: 13,87ppm (s, H, NH); 3,91ppm (s, 3H, OCH_3); 2,25ppm (s, 3H, CH_3); 8,16ppm (d, H-3); 6,93ppm (t, H-4); (t, H-5) 7,55ppm et (d, H-6) 7,98ppm.

^{13}C-RMN : 20,66ppm (CH_3); 52,79ppm (OCH_3); 132,75; 126,35; 120,31; 136,18; 116,38 et 141,8ppm (C_{arom}); 120,31ppm (N=C) et 163,38ppm (COO).

II.2.3.Préparation des dérivés de (Z)- 2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle :



	R^1 =	R^2 =
Z_2	Cl	H
Z_3	CH_3	H
Z_4	H	NO_2

Schema II.7 : Structure des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle

Dans un erlenmeyer on dissout 0,55 g(0,003mole) des dérivés de 2-nitrophenylhydrazine dans 50 ml de méthanol et on ajoute sous agitation goutte à goutte 0,36 g(0,003mole) de pyruvate de méthyle , on ajoute après 1 ml d'acide chlorhydrique concentré et on laisse sous agitation pendant 2 heures .Le précipité formée est filtré et recristallisé dans le méthanol.

- **R^1=Cl ,R^2=H : (Z_2)**

  $C_{10}H_{10}O_4N_3Cl$ (270,49 g/mol) : cristaux jaunes .

  Pf = 182-184 °C.

  Rd =61%

  IR (KBr) = 1706 cm^{-1} (CO); 3318 cm^{-1} (NH); 1487 cm^{-1} (NO_2);752 cm^{-1}(C-Cl)

  ^{1}H-RMN :2,28 ppm (s,3H, CH_3) ; 3,91ppm (s,3H, OCH_3); 6,94ppm(d,H-4); 8,00ppm (s,H-6); 8,16ppm (d,H-3); 10,94ppm(s,NH).

  ^{13}C-RMN : 11,81ppm (CH_3) ; 52,78ppm (OCH_3) ;116,35 ; 121,15 ; 127,46 ; 131,22 ; 140,24 ; 141,22 ppm (C_{arom}) ; 143,24 ppm(N=C) et 164,82ppm (CO_2).

- **$R^1=CH_3$, $R^2=H$: (Z_3)**

  $C_{11}H_{13}O_4N_3$ (251 g/mol) : cristaux oranges .

  Pf = 173 °C.

  Rd=81%

  IR =1690 cm^{-1} (CO) ; 3493cm^{-1} (NH) ; 1511 cm^{-1} (NO_2) ; 2956 cm^{-1} (C-CH_3)

  ^{1}H-RMN :2,26 ppm (s, 3H, CH_3) ; 3,90 ppm (s,3H,OCH_3) ; 2,42ppm ($CH_{3\ arom}$) ; 8,08ppm (d,H-3) ;6,79ppm(d,H-4) ; 7,79ppm (s,H-6) ; 10,99ppm(NH).

  ^{13}C-RMN :11,69ppm (CH_3) ; 22,09 ppm (CH_{3arom}) ; 52,67 ppm (OCH_3) ; 116,22 ; 121,93 ; 125,88 ; 131,07 ; 138,81 ; 140,36 ppm (C_{arom}) ; 148,32 (N=C) ; 165,06 ppm (CO_2).

- **$R^1=H$, $R^2=NO_2$: (Z_4)**

  $C_{10}H_{11}O_4N_4$ (251g/mol) : cristaux jaunes.

  Pf = 185-187 °C.

  Rd = 94%

  IR = 1706 cm^{-1} (CO) ; 3318cm^{-1} (NH) ; 1487 cm^{-1} (NO_2) ; 752 cm^{-1} (C-Cl).

  ^{1}H-RMN :3,83ppm (s, 3H, OCH_3); 2,25ppm (s,3H,CH_3); 8,88ppm (d,H-3); 7,95ppm (d,H-4); 8,52ppm (s,H-6); 13,98ppm (NH).

  ^{13}C-RMN :12,58ppm (CH_3); 53,16ppm (OCH_3); 117,03; 123,12; 130,73; 132,04; 138,28; 139,33ppm (C_{arom}); 144,20 ppm (N=C); 164,63ppm (CO_2).

II.2.4. Préparation de (Z/Z)- 4,6-dinitrophénylén-1,3-dihydrazono pyruvate de méthyle :

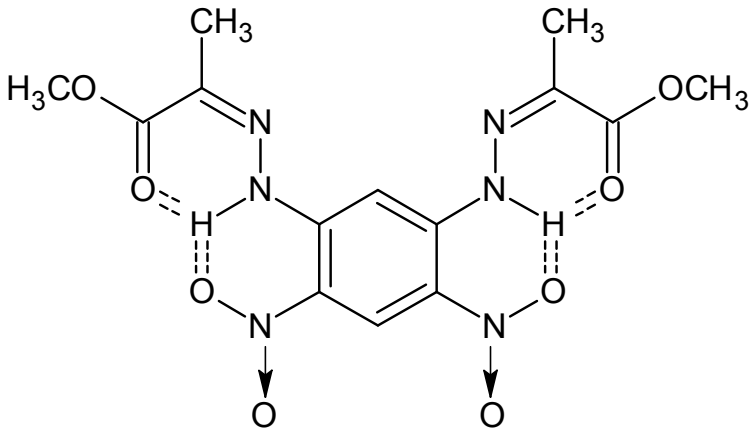


Schéma II.8 : Structure de (Z/Z)-4,6-dinitrophénylén-1,3-dihydrazono pyruvate de méthyle

Dans un erlenmeyer on dissout 0,55 g(0,003mole) de 1,5-dichloro-2,4-dinitrobenzéne dans 50 ml de méthanol et on ajoute sous agitation goutte à goutte 0,76 g(0,006mole) de pyruvate de méthyle , on ajoute après 1 ml d'acide chlorhydrique concentré et on laisse sous agitation pendant 2 heures .Le précipité formée est filtré et recristallisé dans le méthanol.

$C_{14}H_{16}O_8N_6$ (396g/mol) : Poudre jaune pâle.

P_f = 225°C

R_d = 67%

IR (KBr) = 1696 cm^{-1} (CO); 3352 cm^{-1} (NH); 1506 cm^{-1} (NO_2).

^{1}H-RMN :2,30ppm (s,3H,CH_3) ; 3,95ppm (s,3H,OCH_3) ; 8,16ppm (d,H-3); 9,21ppm(d, H-4); 11,12ppm (s,H-6) 14,09ppm (s,NH)

^{13}C-RMN:11,95ppm (CH_3) ; 52,87ppm (OCH_3) ; 126,24 ;127,77ppm (C_{arom}) ; 164,57ppm (CO_2)

II.3. Réductions :

II.3.1.Procédure générale de réductions des hydrazones: (R_1 , R_2 , R_3 , R_4) :

Dans un ballon Bicol à fond plat et muni d'un réfrigérant à reflux on dissout 0,55 g des hydrazones synthétisés dans 50 ml de méthanol. On porte le mélange à l'ébullition et sous agitation on égoutte une solution de 7 g de dithionite de sodium dans 20 ml d'eau distillée. A la fin de l'ajout on chauffe le mélange réactionnel sous reflux et sous agitation pendant quatre heures. Après refroidissement à la température ambiante, on filtre la solution pour éliminer le sel ainsi formé puis on ajoute 2 à 3 volumes d'eau distillée à la solution et on chauffe jusqu'à ébullition. On laisse le mélange se reposer pour une nuit ensuite on filtre le précipité formée et on le recristallise dans le méthanol.

- **R^1 =H , R^2=H : (R_1)**

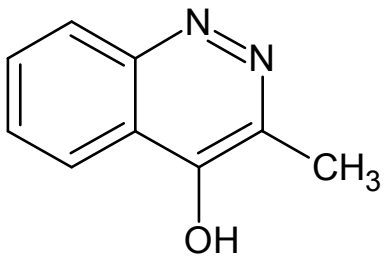


Schéma II.9 : Structure de 3-methylcinnolin-4-ol

$C_9H_8O_1N_2$(160 g/mol) : poudre blanche

P_f= 252 °C.

Rd =18%

IR : (KBr) = à 1665,23 cm^{-1}(CO) ; 1564,47 cm^{-1}(NH).

^{1}H-RMN (DMSOd-$_6$) : 3,39 ppm un singulet (3H, CH_3) ; 7,24 ppm un multiplet (2H, H_{arom}) ; 7,41un triplet (1H, H_{arom}) et 7,68 un doublet (1H, H_{arom}) et 12,2 ppm un singulet large (1H, NH).

^{13}C-RMN (DMSOd-$_6$): 20,50 ppm (CH_3) ; 115,21 ; 122,99 ; 127,24 ; 129,26 ; 131,65 ; 131,91 ; 154,92 et 159,17 ppm.

SM : m/z (% intensité relative): 160 [M]

- **R^1=Cl , R^2=H : (R_2)**

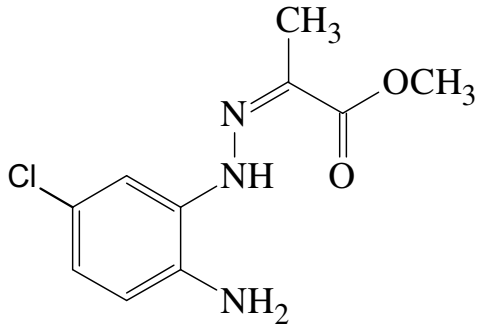


Schéma II.10 : structure de (Z)-5-chloro-2-aminophénylhydrazono pyruvate de méthyle

$C_{10}H_{12}O_2N_3Cl$ (240,5 g/mol) : produit jaune .

Pf = 137 °C.

Rd =26%

IR (KBr) = 3401,54 ppm (NH_3); 3285,70 ppm (NH); 1761,36 ppm (CO); 1497,60ppm (NO_2); 755,75ppm (C-Cl)

^{1}H-RM :2,08ppm (s, CH_3) ; 2,50 ppm (s,OCH_3) ; 6,68ppm (d, H-4); 6,72ppm (s,H-6); 7,18ppm(s,H-3); 5,44ppm (d, NH_2); 8,94ppm (NH)

^{13}C-RMN : 11,86ppm (CH_3) ; 52,32ppm (OCH_3) ; 115,66 ; 117,73 ; 120,65 ; 122,03 ; 131,37 ; 132,47ppm (C_{arom}) ; 165,64 ppm (NH)

- **R^1=CH_3 , R^2=H : (R_3)**

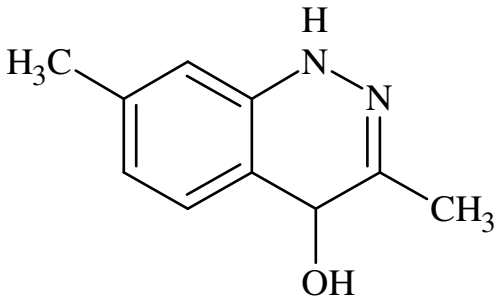


Schéma II.11 : Structure de 3,7-diméthyl-1,4-dihydrocinnolin-4-ol

$C_{10}H_{13}O_1N_2$ (177g/mol) : poudre blanche .

Pf = 215-217 °C.

Rd=5%

IR = 3043,93ppm (NH); 1660,64ppm (C=O)

^{1}H-RMN : 2,46ppm(s,$CH_{3\ arom}$); 2,65ppm (s,CH_3); 7,26ppm (d,H-4); 7,59ppm (s,H-6); 7,67ppm (d,H-3); 12,14ppm (NH)

^{13}C-RMN :20,81ppm ($CH_{3\ arom}$); 21,68 ppm (CH_3); 115,4; 125,69; 128,2; 130,9; 134,03; 140,50ppm (C_{arom}); 158,62ppm (C=O)

- **R^1=H, R^2=NO_2 : (R_4)**

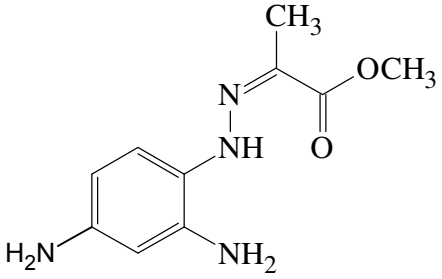


Schéma II.12 : Structure de (Z)-2,4-diamino phénylhydrazono

$C_{10}H_{14}O_2N_4$ (222g/mol) : produit jaune pâle.

Pf = 178 °C.

Rd =12%

IR =3392,25; 3306,64 ppm (NH_2); 3146,81ppm (NH); 1696,67ppm (C=O)

^{1}H-RMN :2,32 ppm (d,3H,CH_3); 3,94ppm (d,3H,OCH_3); 8,14ppm (s,H-4); 8,35ppm (s,H-6); 9,15ppm (s,H-3); 14,20 ppm(s,NH)

^{13}C- RMN :20,37ppm (CH_3) ; 52,91 (OCH_3) ; 116,38 ; 123,30 ; 129,63 ; 136,93ppm (C_{arom}) ; 144,22 ppm (N=C) ; 162,55 ppm(CO_2)

II.3.2.Procédure générale de réduction de bishydrazone: (R/R)

Dans un ballon Bicol à fond plat et muni d'un réfrigérant à reflux on dissout 0,55 g de bishydrazone synthétisé dans 50 ml de méthanol. On porte le mélange à l'ébullition et sous agitation on égoutte une solution de 14 g de dithionite de sodium dans 20 ml d'eau distillée. A la fin de l'ajout on chauffe le mélange réactionnel sous reflux et sous agitation pendant quatre heures. Après refroidissement à la température ambiante, on filtre la solution pour éliminer le sel ainsi formé puis on ajoute 2 à 3 volumes d'eau distillée à la solution et on chauffe jusqu'à ébullition. On laisse le mélange se reposer pour une nuit ensuite on filtre le précipité formée et on le recristallise dans le méthanol.

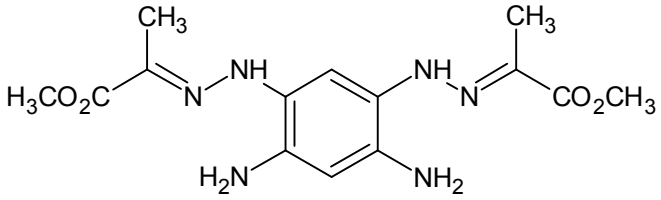


Schéma II.13 : Structure de 2,4-diaminophényl-1,5-dihydrazinopyruvate de méthyle

$C_{14}H_{20}O_4N_6$ (336 g/mole) : poudre jaune orange

Pf = 245 °C.

Rd =4%

IR (KBr) = 3495,15; 3401,39 ppm (NH_2); 1690,93ppm (C=O)

II.4.Partie biologique :

II.4.1.Evaluation de l'activité biologique:

II.4.1.1.Activité antimicrobienne des hétérocycles synthétisés :

Les tests microbiens ont été réalisés au niveau de laboratoire microbiologique de l'unité Antibiotical de « Saidal » à Médéa. L'activité antimicrobienne des produits synthétisés a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé [66,67].

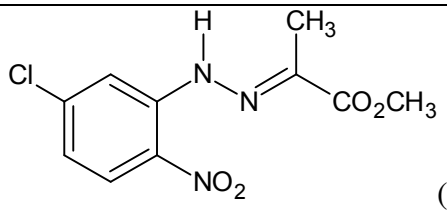
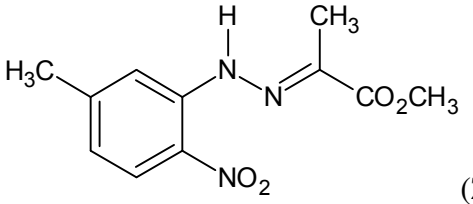
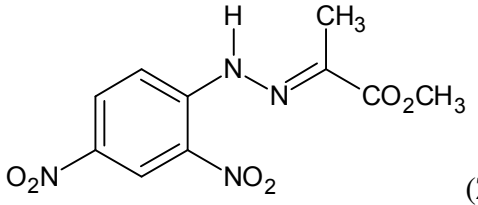
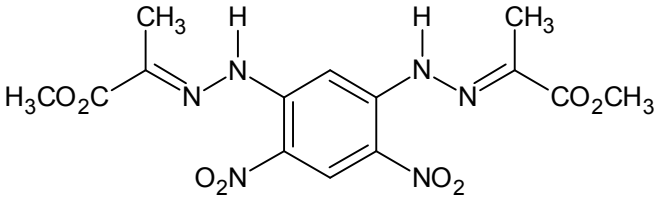
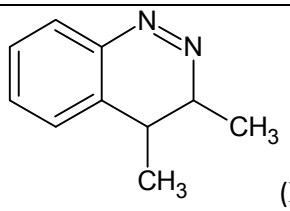
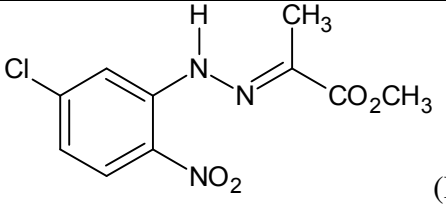
Cette technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou encore méthode des disques, est une méthode en milieu gélosé réalisée dans des boîtes à pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée de produit à tester.

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés 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 à tester diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration.

Les bactéries se 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 échappé de colonies appelée « zone d'inhibition ».

II. 4.1.2. Préparation des solutions :

On prépare une solution de 0,1g/ml de DMSO qu'on va la considère comme une solution mère et ensuite on met cette solution de 100mg/ml dans un tube à essai stérilisé et l'agité bien pour l'homogénéisé. Ensuite on prépare des solutions dilués de concentration connue à partir de la solution mère. On met les solutions dans des tubes à essaistérilisés. On refait la même choses pour les autre composés.
Les composés testés sont présentés dans le tableau suivant:

N°	structures	Nomenclature
1	 (Z_2)	(Z)-5-chloro-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle
2	 (Z_3)	(Z)-5-méthyl-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle
3	 (Z_4)	(Z)-2,4-dinitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle
4	 (Z/Z)	(Z/Z)-2,4-dinitro-1,5-dihydrazono pyruvate de diméthyle
5	 (R_1)	3-méthyl cinnoline-4-ol
6	 (R_2)	(Z)-5-chloro-2-amino phénylhydrazonopyruvate de méthyle

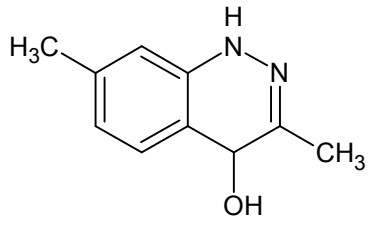
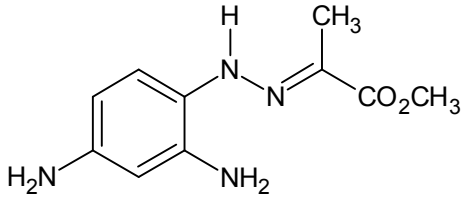
7	 (R_3)	3,7-diméthyl-1,4-dihydro cinnolin-4-ol
8	 (R_4)	(Z)-2,4-diamino phénylhydrazono pyruvate de méthyle

Tableau II. 1 : Structures, concentrations et nomenclature des produits testés.

II.4.1.4. Evaluation de l'activité antibactérienne des produits (Z_2) ; (Z_3) ; (Z_4) ;(Z/Z) ; (R_1) ;(R_2) ;(R_3) et (R_4) :

- Microorganismes :

Au cours de ce travail ont a utilisé six souches bactériennes :
Gram(-) : *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas aérogénosa* (ATCC 9027) et *Salmonella typhimurium* (14028).
Gram(+) : *Staphylococcus aureus* (ATTC 6538), *Staphylococcus Epidermidi (*ATCC 12228*) et Bacillus subtilis* (ATCC 6633).

- Milieux de cultures **:**

Les souches bactériennes utilisées sont cultivées dans un milieu Soja agar (SA) sauf la souche *Pseudomonas aérogénosa* sur un milieu (CAB) cetrimid agar.

- Préparation des milieux de cultures**:**

On dissout 40 g dans 1 litre d'eau distillée et on chauffe le mélange sous agitation fréquente jusqu'à ébullition environ 1 min pour que la suspension dissoudre complètement, on répartis et stérilise à l'autoclave à 121°C pendant 15-20 min à 1 atm de pression.

- préparation des suspension :

A partir d'un isolement sur gélose, on touche à l'aide d'une anse stérilisé le sommet de 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques d'une culture de 18 heures, et l'on décharge dans une ampoule de 10 ml d'eau physiologique à 0,9% et on la homogénéiser la suspension bactérienne.

- coulage des boites de pétri:

On a pris soin avant de mettre les milieux à fondre de desserrer légèrement les fermetures à vis ou enfoncer une aiguille stérile dans le bouchon pour éviter l'éclatement des flacons.
Tous d'abord on porte les milieux au bain marie bouillant, soit à l'autoclave en vapeur fluente, dès que le milieux est totalement liquéfiés on le met refroidir le milieu à 45-50°C et on l'ajoute l'inoculation bactérienne (la solution qui contient la suspension) et on homogénéise le milieu avec un mouvement de rotation et on coule le milieu dans les boites de pétri et laisser de solidifier pendant 15 min environ.

- La distribution des disques :

Avec un distributeur de disques en respectant les précautions d'asepsie habituelles on place les disques stériles de 9 mm de diamètre en papier filtre imbibent dans les produits synthétisés à tester, de telle sorte que leurs centres soient distants d'au moins 24 mm du bord de la boite de pétri, on appuie doucement sur chaque disque avec une pince stérile pour assurer un contacte uniforme avec la surface de la gélose.
On place les boites de pétri avec le coté gélose tourné vers le haut dans un incubateur à 35°C pendant 16 à 18 h.
La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des solutions.

II.5. Evaluation de l'activité antifongique des produits (Z_{2-4}) ;(Z/Z) ; (R_{1-4}) :

- Micro-organismes

Deux souches sont utilisées pour l'activité anti- fongiques :
Champignon non filamenteux *Candidas albicanes (*ATTCC 10231*)* (Levure).
Champignon filamenteux *saccharomyces cervisie* (ATTCC 9763) (moisissure).

- Milieu de culture :

*Saccharomyces cervisie*et *Candidas albicans*: Les deux champignons sont cultivés sur un milieu gélose sabouraud.

- Préparation des milieux de cultures **:**

On dissout 40 g dans 1 litre d'eau distillée et on chauffe le mélange sous agitation fréquente jusqu'à ébullition environ 1 min pour que la suspension dissoudre complètement, on répartis et stérilise à l'autoclave à 121°C pendant 15-20 min à 1 atm de pression.

- préparation des suspension :

A partir d'un isolement sur gélose, on touche à l'aide d'une anse stérilisé le sommet de 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques d'une culture de 18 heures, et l'on décharge dans une ampoule de 10 ml d'eau physiologique à 0,9% et on la homogénéiser la suspension bactérienne.

- coulage des boites de pétri:

On a pris soin avant de mettre les mettre les milieux à fondre de desserrer légèrement les fermetures à vis ou enfoncer une aiguille stérile dans le bouchon pour éviter l'éclatement des flacons.

Tous d'abord on porte les milieux au bain marie bouillant, soit à l'autoclave en vapeur fluente, dès que les milieux est totalement liquéfiés on les refroidit le milieu à 45-50°C et on l'ajoute l'inoculation bactérienne (la solution qui contient la suspension) et on homogénéise le milieu avec un mouvement de rotation et on coule le milieu dans les boites de pétri et laisser de solidifier pendant 15 min environ.

- La distribution des disques :

Avec un distributeur de disques en respectant les précautions d'asepsie habituelles on place les disques stériles de 9 mm de diamètre en papier filtre imbibent dans les produits synthétisés à tester, de telle sorte que leurs centres soient distants d'au moins 24 mm du bord de la boite de pétri, on appuie doucement sur chaque disque avec une pince stérile pour assurer un contacte uniforme avec la surface de la gélose.

On place les boites de pétri avec le coté gélose tourné vers le haut dans un incubateur à 35°C pendant 16 à 18 h.

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des solutions.

Les observations effectuées sur l'effet de nos produits ($Z_{2\text{-}4}$) ;(Z/Z) ; ($R_{1\text{-}4}$) sur la croissance des souches bactériennes testées, sont regroupé dans le tableausuivant (on a pris comme référence médicament (Amoxicilline®) :

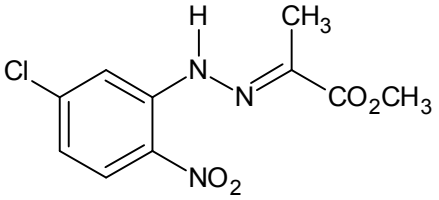
Composé / Micro organisme									DI (mm)	CMI (mg/ml)
Gram (+)	DI (mm)									
	60 mg/ml	50 mg/ml	40 mg/ml	30 mg/ml	25 mg/ml	20 mg/ml	15 mg/ml	10 mg/ml		
Staphylococcus Aureus	20	20	21	21	22	22	19	22	22	10
Staphylococcus Epidermidis	16	15	19	20	18	18	20	13	13	10
Bacillus subtilis	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Gram (-)	DI (mm)									
	60 mg/ml	50 mg/ml	40 mg/ml	30 mg/ml	25 mg/ml	20 mg/ml	15 mg/ml	10 mg/ml		
Escherichia coli	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Pseudomonas aérogène	13	10	/	/	/	/	/	/	10	50
Salmonella tuphimirium	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Tableau II.2 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes testées pour le produit (Z_2).

Levures et fongiques	DI (mm)								DI (mm)	CMI (mg/ml)
	60 mg/ml	50 mg/ml	40 mg/ml	30 mg/ml	25 mg/ml	20 mg/ml	15 mg/ml	10 mg/ml		
Saccaromyces Cervicie	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Candidas Albicans	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Tableau II.3 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles pour les levures et les fongiques testées pour le produit (Z_2).

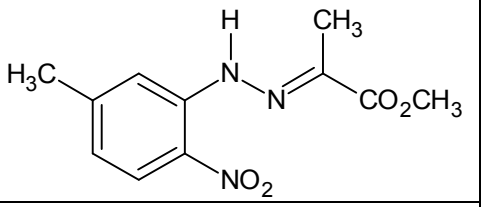
Composé / Micro organisme				DI (mm)	CMI (mg/ml)
Gram (+)	DI (mm)				
	13mg/ml	10mg/ml	5mg/ml		
Staphylococcus Aureus	21	22	23	23	10
Staphylococcus Epidermidis	11	12	14	14	10
Bacillus subtilis	/	/	/	/	/
Gram (-)	DI (mm)				
	13mg/ml	10mg/ml	5mg/ml		
Escherichia coli	/	/	/	/	/
Pseudomonas aérogène	/	/	/	/	/
Salmonella tuphimirium	11	/	/	11	13

Tableau II.4 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes testées pour le produit (Z_3).

Levures et fongiques	DI (mm)			DI (mm)	CMI (mg/ml)
	13mg/ml	10mg/ml	5mg/ml		
Saccaromyces Cervicie	/	/	/	/	/
Candidas Albicans	/	/	/	/	/

Tableau II.5 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles pour les levures et les fongiques testées pour le produit (Z_3).

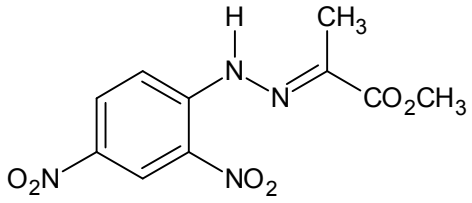
Composé / Micro organisme									DI (mm)	CMI (mg/ml)
Gram (+)	DI (mm)									
	60 mg/ml	50 mg/ml	40 mg/ml	30 mg/ml	25 mg/ml	20 mg/ml	15 mg/ml	10 mg/ml		
Staphylococcus Aureus	18	20	16	16	17	20	23	25	25	10
Staphylococcus Epidermidis	21	22	19	22	20	24	24	24	24	10
Bacillus subtilis	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Gram (-)	DI (mm)									
	60 mg/ml	50 mg/ml	40 mg/ml	30 mg/ml	25 mg/ml	20 mg/ml	15 mg/ml	10 mg/ml		
Escherichia coli	/	/	/	/	/	/	14	13	13	10
Pseudomonas aérogène	14	13	/	/	/	/	14	15	15	10
Salmonella tuphimirium	/	/	/	/		/	12	11	11	10

Tableau II.6 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes testées pour le produit (Z_4).

Levures et fongiques	DI (mm)								DI (mm)	CMI (mg/ml)
	60 mg/ml	50 mg/ml	40 mg/ml	30 mg/ml	25 mg/ml	20 mg/ml	15 mg/ml	10 mg/ml		
Saccaromyces Cervicie	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Candidas Albicans	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Tableau II.7 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles pour les levures et les fongiques testées pour le produit (Z_4).

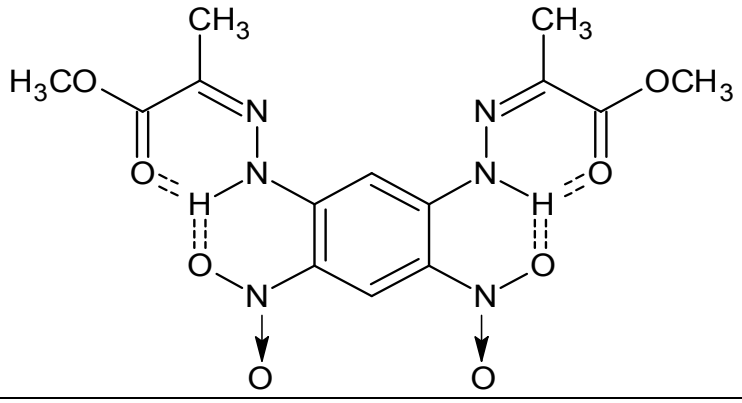
Composé / Micro organisme									DI (mm)	CMI (mg/ml)
Gram (+)	DI (mm)									
	60 mg/ml	50 mg/ml	40 mg/ml	30 mg/ml	25 mg/ml	20 mg/ml	15 mg/ml	10 mg/ml		
Staphylococcus Aureus	15	17	18	19	20	20	19	19	19	10
Staphylococcus Epidermidis	19	19	20	20	17	15	16	20	20	10
Bacillus subtilis	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Gram (-)	DI (mm)									
	60 mg/ml	50 mg/ml	40 mg/ml	30 mg/ml	25 mg/ml	20 mg/ml	15 mg/ml	10 mg/ml		
Escherichia coli	/	/	/	/	/	/	10	14	14	10
Pseudomonas aérogène	/	/	/	/	/	/	12	14	14	10
Salmonella tuphimirium	/	/	/	/	/	/	11	11	11	10

Tableau II.8: L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes testées pour le produit (Z/Z).

Levures et fongiques	DI (mm)								DI (mm)	CMI (mg/ml)
	60 mg/ml	50 mg/ml	40 mg/ml	30 mg/ml	25 mg/ml	20 mg/ml	15 mg/ml	10 mg/ml		
Saccaromyces Cervicie	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
Candidas Albicans	10	11	/	/	/	10	10	/	10	10

Tableau II.9 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles pour les levures et les fongiques testées pour le produit (Z/Z).

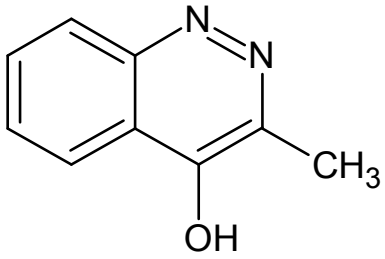
Composé / Micro organisme						DI (mm)	CMI (mg/ml)
Gram (+)	DI (mm)						
	25mg/ml	20mg/ml	15mg/ml	10mg/ml	Témoin		
Staphylococcus Aureus	27	27	27	25	40	25	10
Staphylococcus Epidermidis	35	30	32	32	26	32	10
Bacillus subtilis	12	11	11	11	29	11	10
Gram (-)	DI (mm)						
	25mg/ml	20mg/ml	15mg/ml	10mg/ml	Témoin		
Escherichia coli	/	/	/	/	36	/	/
Pseudomonas aérogène	/	/	/	/	28	/	/
Salmonella tuphimirium	/	/	/	/	39	/	/

Tableau II.10 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes testées pour le produit (R_1).

Levures et fongiques	DI (mm)					DI (mm)	CMI (mg/ml)
	25mg/ml	20mg/ml	15mg/ml	10mg/ml	Témoin		
Saccaromyces Cervicie	/	/	/	/	/	/	/
Candidas Albicans	11	10	/	/	/	10	20

Tableau II.11: L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre les levures et les Fongique Pour le produit (R_1).

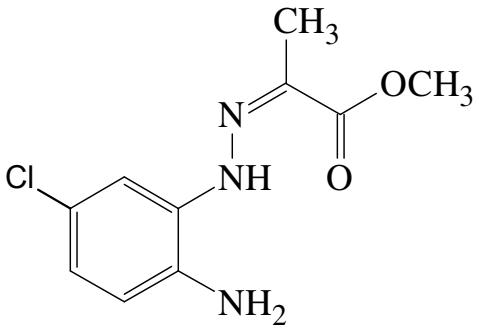
Composé / Micro organisme							DI (mm)	CMI (mg/ml)
Gram (+)	DI (mm)							
	50mg/ml	40mg/ml	30mg/ml	20mg/ml	10mg/ml	Témoin		
Staphylococcus Aureus	/	11	16	19	24	/	24	10
Staphylococcus Epidermidis	/	12	17	14	23	22	23	10
Bacillus subtilis	12	12	12	12	12	31	12	10
Gram (-)	DI (mm)							
	50mg/ml	40mg/ml	30mg/ml	20mg/ml	10mg/ml	Témoin		
Escherichia coli	/	/	/	/	/	40	/	/
Pseudomonas aérogène	/	/	/	/	/	29	/	/
Salmonella tuphimirium	/	/	/	/	/	42	/	/

Tableau II.12 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes testées pour le produit ($R._2$).

Levures et fongiques	DI (mm)						DI (mm)	CMI (mg/ml)
	50mg/ml	40mg/ml	30mg/ml	20mg/ml	10mg/ml	Témoin		
Saccaromyces Cervicie	12	14	11	13	14	/	14	10
Candidas Albicans	11	11	11	12	11	12	11	10

Tableau II.13 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre les levures et les Fongique Pour le produit ($R._2$).

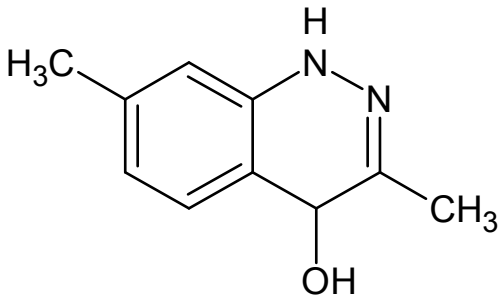
Composé / Micro organisme					DI (mm)	CMI (mg/ml)
Gram (+)	DI (mm)					
	20mg/ml	15mg/ml	10mg/ml	Témoin		
Staphylococcus Aureus	20	16	10	42	10	10
Staphylococcus Epidermidis	21	20	14	24	14	10
Bacillus subtilis	/	/	/	31	/	/
Gram (-)	DI (mm)					
	20mg/ml	15mg/ml	10mg/ml	Témoin		
Escherichia coli	/	/	/	39	/	/
Pseudomonas aérogène	/	/	/	24	/	/
Salmonella tuphimirium	/	/	/	42	/	/

Tableau II.14 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes testées pour le produit ($R_{.3}$).

Levures et fongiques	DI (mm)				DI (mm)	CMI (mg/ml)
	20mg/ml	15mg/ml	10mg/ml	Témoigne		
Saccaromyces Cervicie	11	11	10	11	10	10
Candidas Albicans	/	/	10	/	10	10

Tableau II.15: L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre les levures et les Fongique Pour le produit ($R_{.3}$).

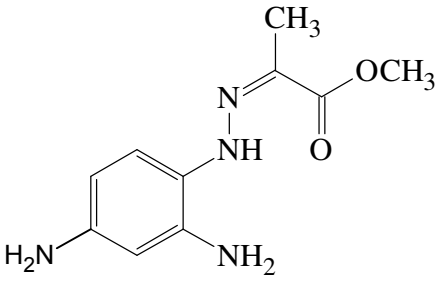
Composé / Micro organisme					DI (mm)	CMI (mg/ml)
Gram (+)	DI (mm)					
	20mg/ml	15mg/ml	10mg/ml	Témoin		
Staphylococcus Aureus	/	/	/	42	/	/
Staphylococcus Epidermidis	11	15	12	24	12	10
Bacillus subtilis	13	12	/	31	12	15
Gram (-)	DI (mm)					
	20mg/ml	15mg/ml	10mg/ml	Témoin		
Escherichia coli	/	/	/	39	/	/
Pseudomonas aérogène	/	/	/	24	/	/
Salmonella tuphimirium	/	/	/	42	/	/

Tableau II.16 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre souche bactériennes testées pour le produit ($R._4$).

Levures et fongiques	DI (mm)				DI (mg/ml)	CMI (mg/ml)
	20mg/ml	15mg/ml	10mg/ml	Témoin		
Saccaromyces Cervicie	/	10	10	11	10	10
Candidas Albicans	/	/	/	/	/	/

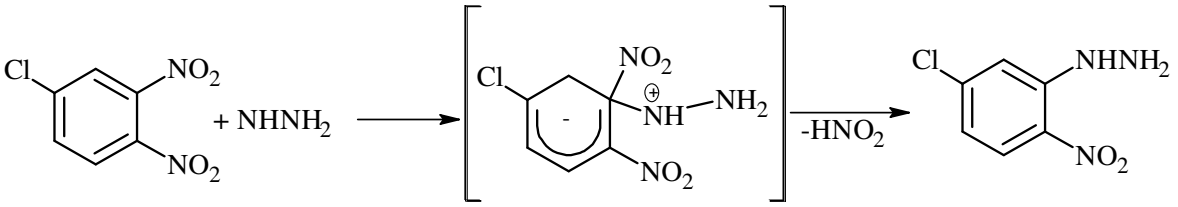
Tableau II.17 : L'activité antimicrobienne des hétérocycles contre les levures et les Fongique Pour le produit ($R._4$).

III.1.Synthèse des composés de départs :

Pour accéder aux hydrazones correspondant, nous avons été amenés tout d'abord à synthétiser les composés de départ qui sont : le 5-chloro- ; le 5-méthyl- ; la 2,4-dinitrophénylhydrazine et le 1, 3-dihydrazino-4,6-dinitrobenzène.

III.1.1 Synthèse de 5-chloro-2-nitrophénylhydrazine

La 5-chloro-2-nitrophénylhydrazine est obtenue facilement à partir de 1-chloro-3,4-dinitrobenzène. Les groupements nitro étant des attracteurs d'électrons appauvrissent le noyau benzénique en densité électronique. Ceci rend une substitution nucléophile facile du groupement nitro en position 3 par l'hydrazine (schéma III.1).



<u>Schéma III.1</u> : Synthèse de 5-chloro-2-nitrophénylhydrazine

D'après le mode opératoire**,** le 1-chloro-3,4-dinitrobenzène est mélangé à froid en quantité équimolaire avec l'hydrazine monohydrate dans l'éthanol. Le mélange réactionnel est porté sous reflux pendant quelques instants. La 5-chloro-2-nitrophénylhydrazine est obtenue avec un haut rendement.

Le spectre IR montre les bandes d'absorption caractéristiques des groupements (NH_2) et (NH) à 3369,03 et 3335,28 cm^{-1}. La bande d'absorption caractéristique du groupement (NO_2) apparaît à 1509,98 cm^{-1}.La bande d'absorption caractéristique du groupement (C-Cl) apparaît à 747,28 cm^{-1}(Figure III.1).

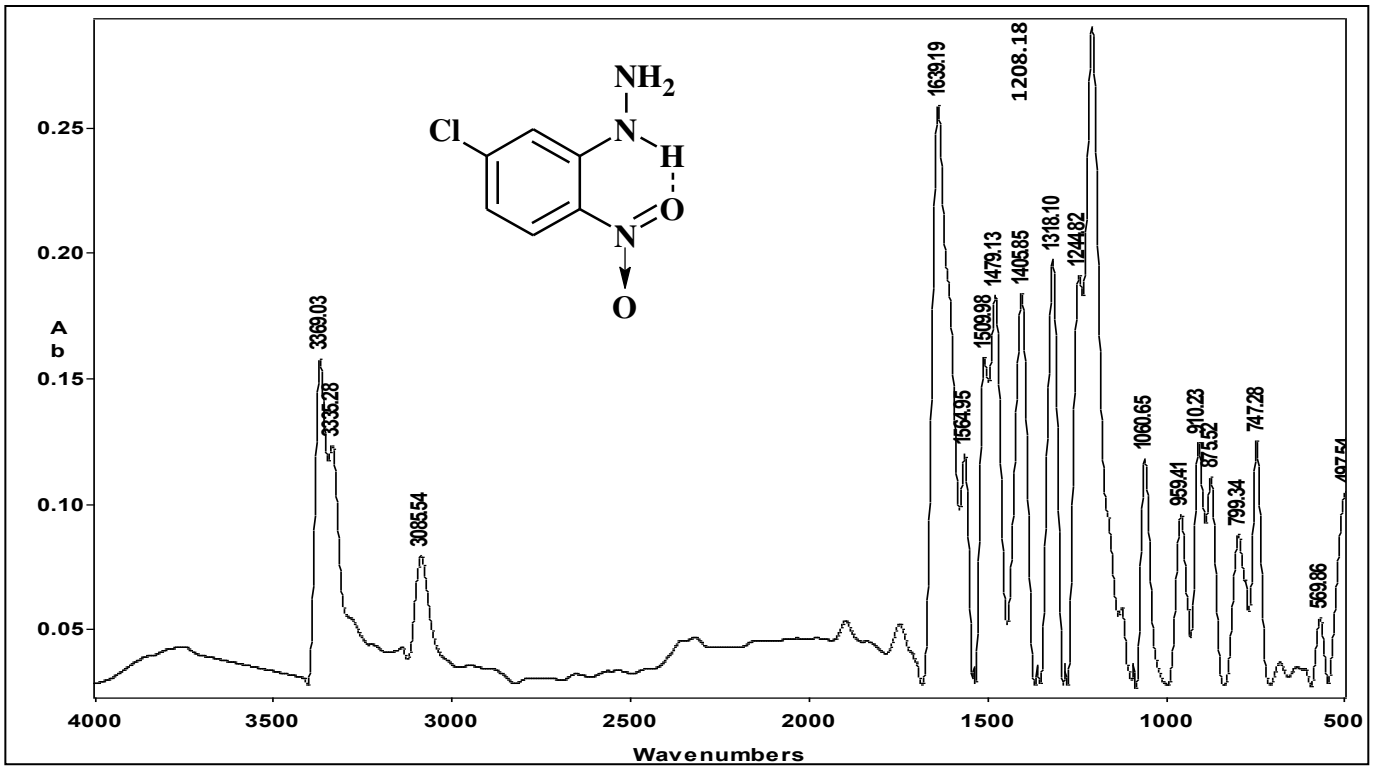


Figure III.1: Spectre IR de 5-Chloro-2-nitrophénylhydrazine.

III.1.2.Synthèse de 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazine

La 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazine est obtenue facilement à partir de 3,4-dinitrotoluéne. Les groupements nitro étant des attracteurs d'électrons appauvrissent le noyau benzénique en densité électronique. Ceci rend une substitution nucléophile facile du groupement nitro en position 3 par l'hydrazine en un mécanisme en deux étapes : addition / élimination (**Schéma III.2**).

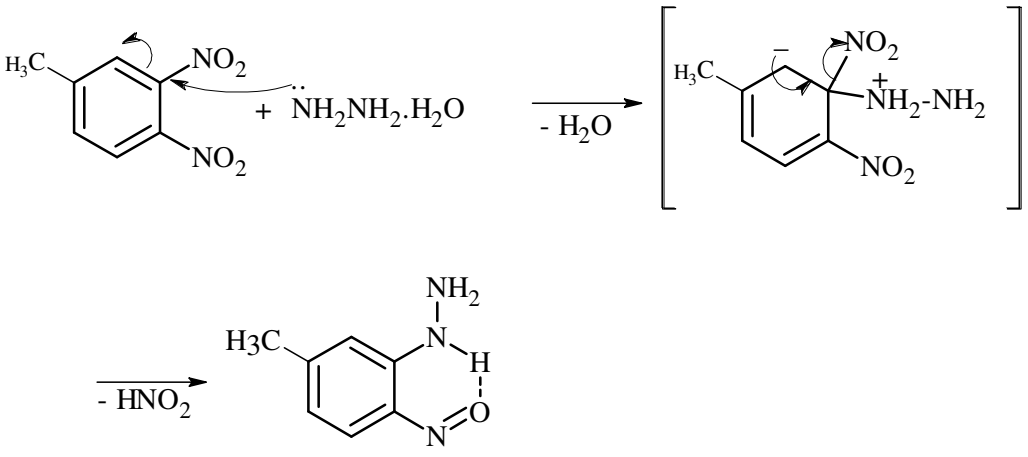


Schéma III.2:Mécanisme réactionnel de synthèse de 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazine

Le 3,4-dinitrotoluéne est mélangé à froid dans l'éthanol en quantité équimolaire avec l'hydrazine monohydrate. Le précipité formé est porté sous reflux pendant quelques minutes pour achever la réaction. Le 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazine est obtenue avec un bon rendement.

Le spectre IR montre les bandes d'absorption caractéristiques des groupements (NH) et (NH_2) 3332 et 3297 cm^{-1}. La bande d'absorption caractéristique du groupement (NO_2) apparaît à 1563 cm^{-1}.**(Figure III.2).**

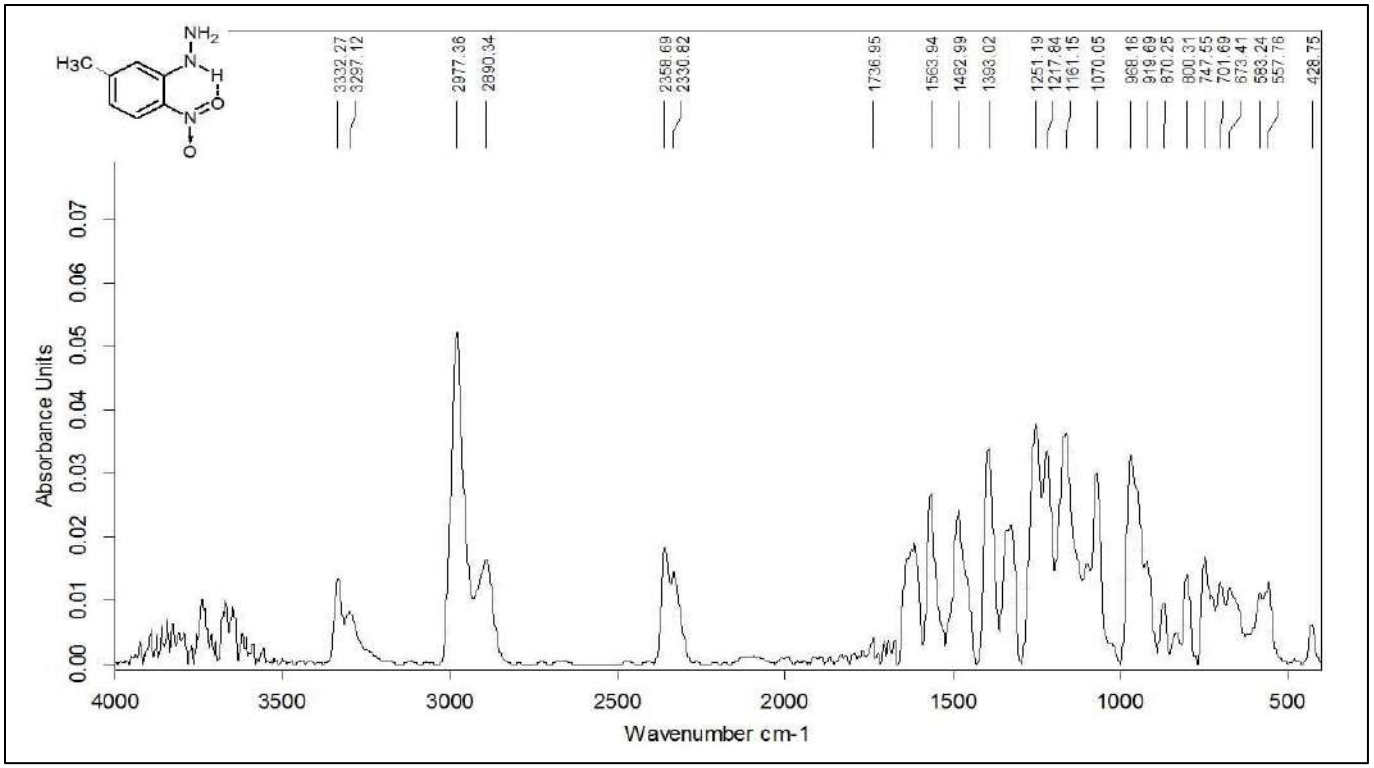


Figure III.2: spectre IR de 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazine

III.1.3.Synthèse de 2,4-dinitrophénylhydrazine :

Le 2,4-dinitrophénylhydrazine est obtenue à partir de 1-chloro-2,4-dinitrobènzène par substitution par l'hydrazine de l'atome de chlore rendu très réactif par l'effet fort attracteur des deux groupements nitro situés en position ortho et méta. Cette réaction se déroule à froid en un mécanisme en deux étapes : addition / élimination **(Schéma III.3)** .

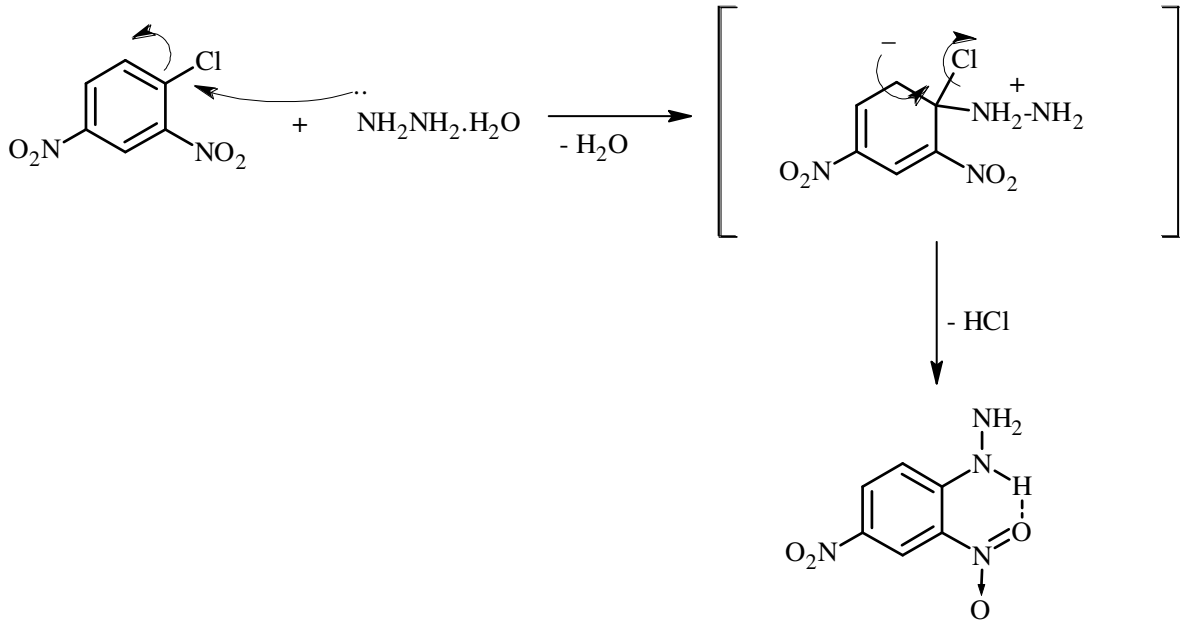


Schéma III.3: Mécanisme réactionnel de synthèse de 2,4-dinitrophénylhydrazine

Le spectre IR montre des bandes d'absorption caractéristiques des groupements (NH_2) et (NH) à 3294 et 3320 cm^{-1}. La bande d'absorption caractéristique des groupements (NO_2) apparait à 1489 et 1570 cm^{-1}**(Figure III.3).**

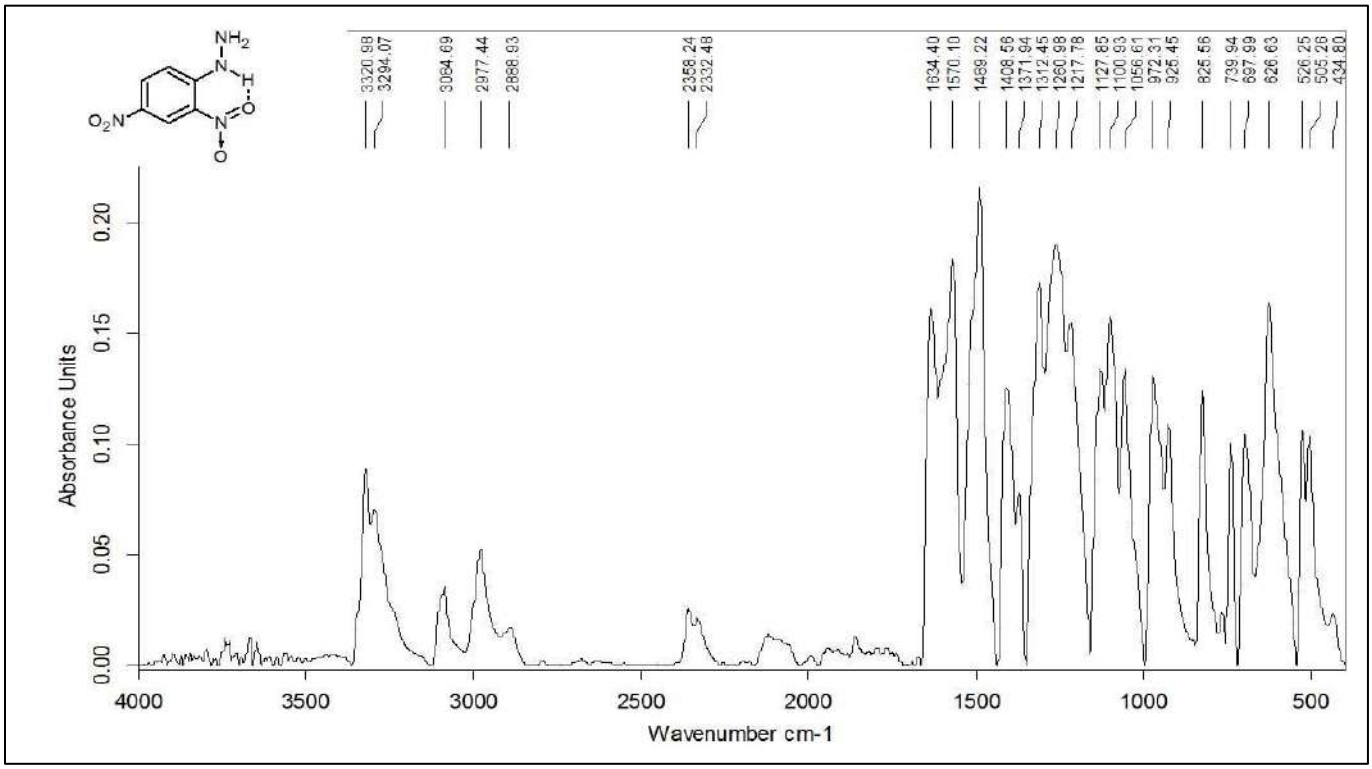


Figure III.3 : spectre IR de 2,4-dinitrophénylhydrazine

III.1.4.Synthèse de 1, 3-dihydrazino-4,6-dinitrobenzène :

Le 1,3-dihydrazino-4,6-dinitrobenzène est obtenu facilement à partir de 1,3-dichloro-4,6-dinitrobenzène. Les groupements nitro étant des attracteurs d'électrons appauvrissent le noyau benzénique en densité électronique. Ceci rend une substitution nucléophile facile des atomes de chlore par l'hydrazine en un mécanisme en deux étapes (addition /élimination) **(Schéma III.4).**

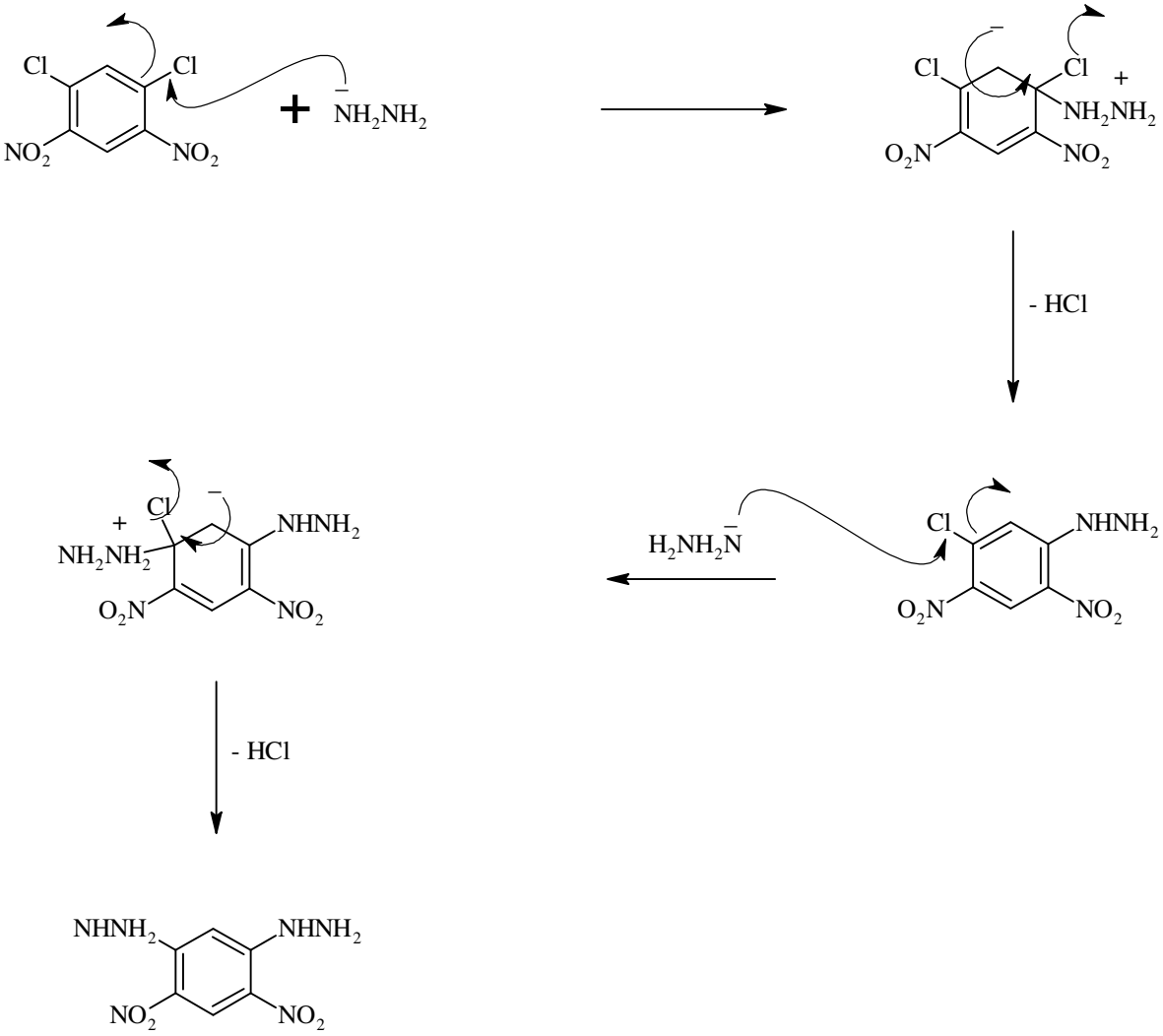


Schéma III.4 : Mécanisme réactionnel de synthèse de 1,3-dihydrazino-4,6-dinitrobenzéne

Le spectre IR montre les vibrations caractéristiques des groupements NH et NH_2 entre 3200 et 3400 cm^{-1}, Les bandes d'absorption du groupement (NO_2) apparaissent au alentour de 1500 cm^{-1} **(Figure III.4).**

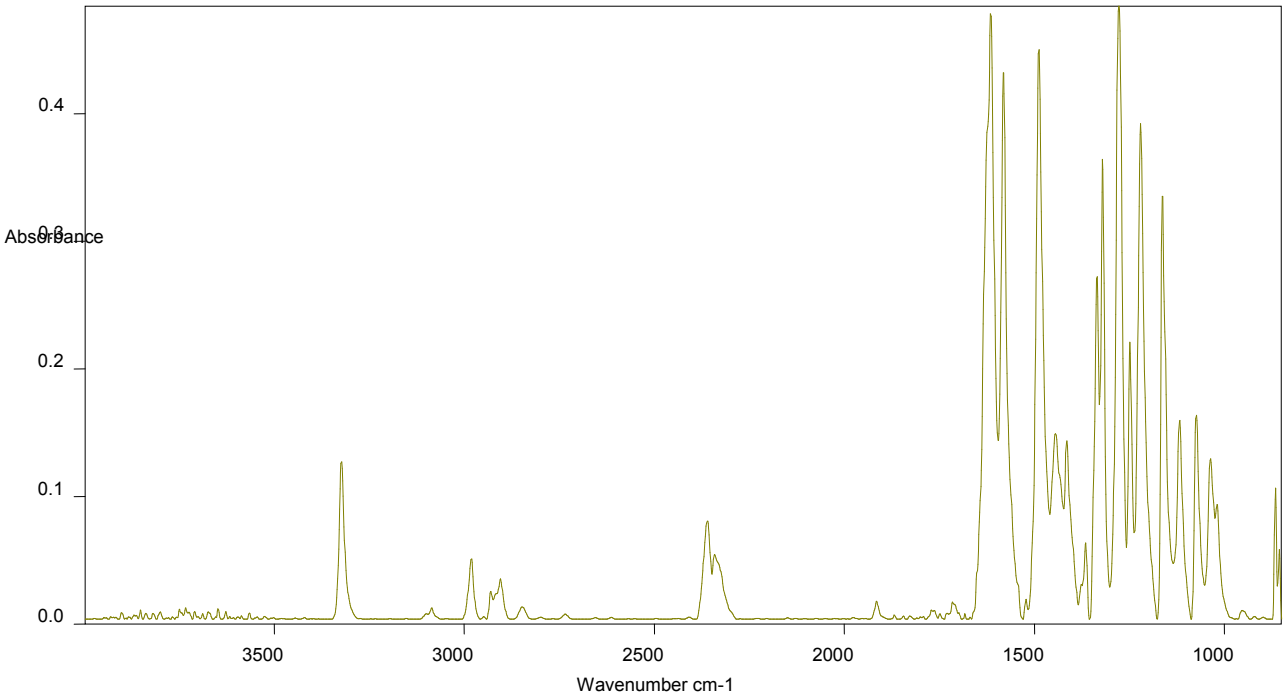


Figure III.4 : spectre IR de 1,3-dihydrazino-4,6-dinitrobenzéne

III.2. Synthèse de (E)- et (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle :

La synthèse de 2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle se déroule d'après la réaction bien connue de condensation du groupement carbonyle en un mécanisme en deux étapes (addition/élimination) (Schéma III.5)

Dans un premier temps il se forme un produit d'addition mais celui-ci est instable qui évolue vers l'hydrazone indiqué. Cette réaction se déroule dans le méthanol à température ambiante. Par suite de la formation de la double liaison azométhine C=N, le 2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle peut exister sous deux diastéréoisomères de configurations (E) et (Z).

A température ambiante il se forme exclusivement l'isomère (E). En traitant celui-ci dans le méthanol ou mieux encore dans l'éther diéthylique avec l'acide chlorhydrique concentré il se transforme facilement et complètement en isomère (Z) qui ne peut pas se retransformer en isomère (E). Tous les essais (Catalyse basique, chauffage dans différents solvants) afin de le transformer en isomère (E) ne donnèrent aucun résultat.

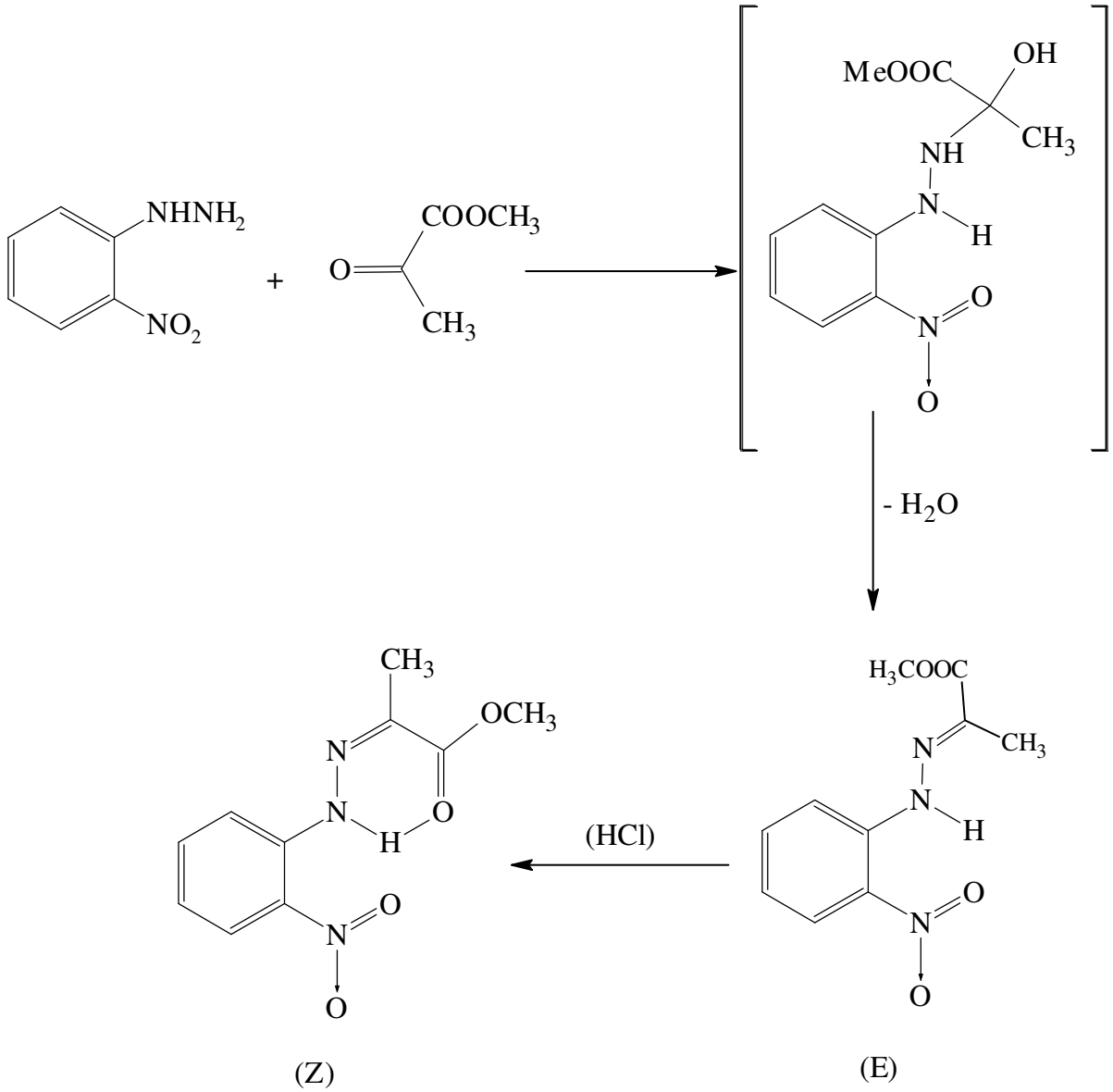


Schéma III.5:Synthèse de (E)- et (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle

Ces deux hydrazones (E) et (Z) se différencient nettement par leurs points de fusion et par la position caractéristique de leurs signaux du proton NH dans le spectre ^{1}H-RMN. Celui-ci apparait à 10,91 ppm pour l'isomère (E). Par contre le signale du proton NH pour l'isomère (Z) apparait à 13,87 ppm. Ceci est du à la formation de la deuxième liaison hydrogène entre l'atome d'oxygène du groupement carbonyle et l'atome du groupe NH, (Figures II.5 et II.6).

Les spectres ^{1}H-RMN, pris dans $CDCl_3$, montrent les signaux pour les groupements méthoxy à 3,88 et 3,91 ppm (un singulet). Les protons des groupements méthyles forment un singulet à 2,22 et 2,25 ppm. Tous les protons aromatiques sont résolus et se trouvent pour {**H-3:**8,14-8,16 ppm (un doublet) ; **H-4:** 6,93-6,96 ppm (un triplet) ; **H-5:** 7,55-7,58 ppm (un triplet) et **H-6:** 7,96-7,98 (un doublet)}.

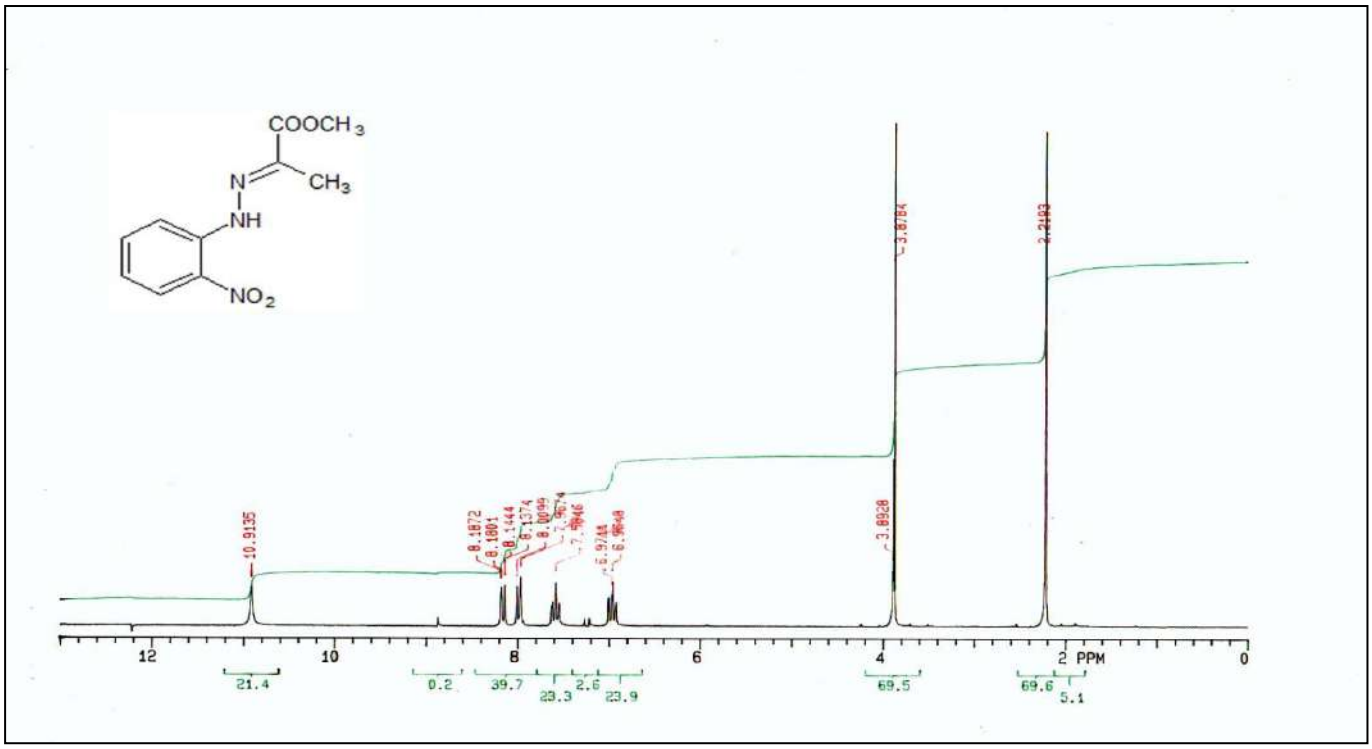


Figure III.5: Spectre ^{1}H-RMN de (E)-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle

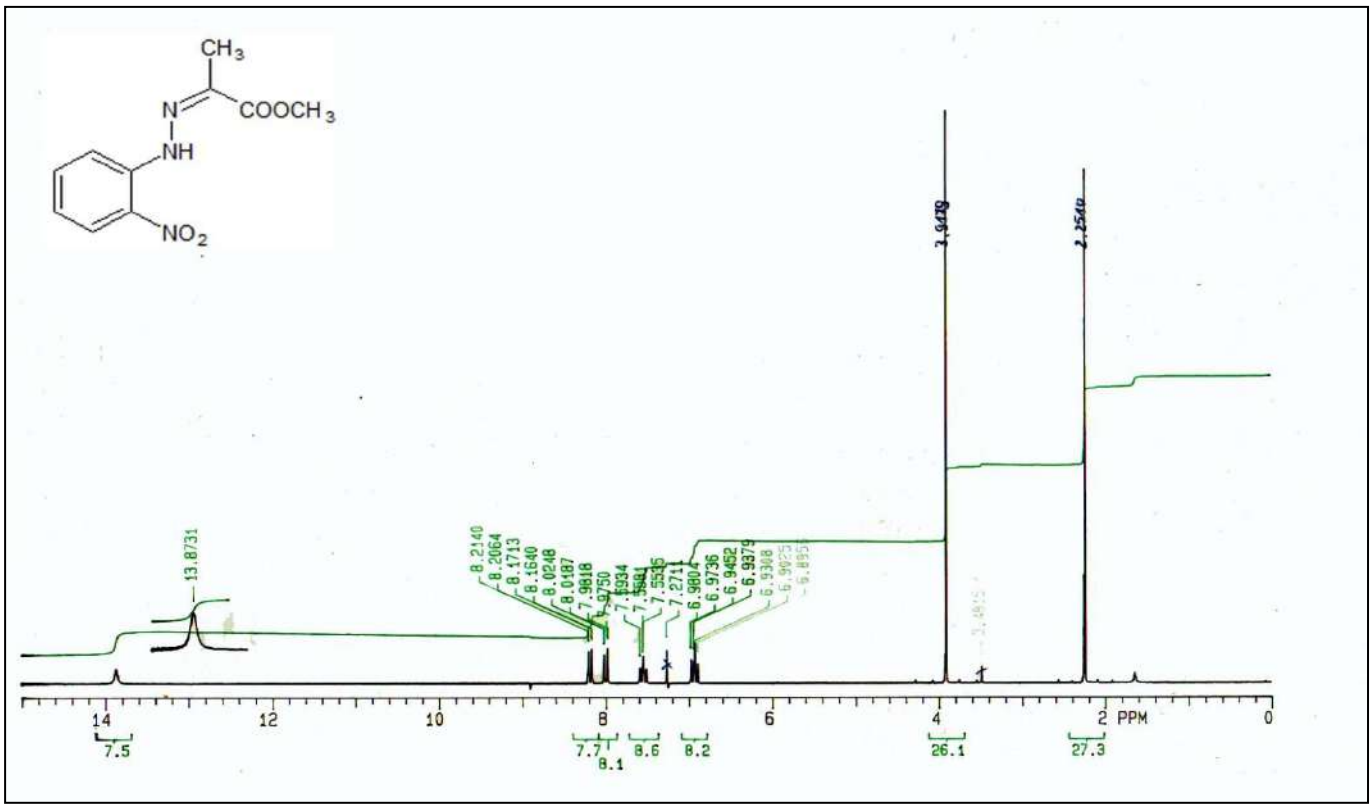


Figure III.6: Spectre ^{1}H-RMN de (Z)-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle

Les deux spectres ^{13}C-RMN pris dans $CDCl_3$ montrent 10 pics. Ceux-ci sont situés, entre 12,10 et 20, 66 ppm (CH_3) ; 53,13 et 52,79 ppm (OCH_3) ; entre 116,38 et 139,39 ppm (C_{arom}) ; entre 165,48 et 163,38 ppm (CO_2) (Figures III.7 et III.8).

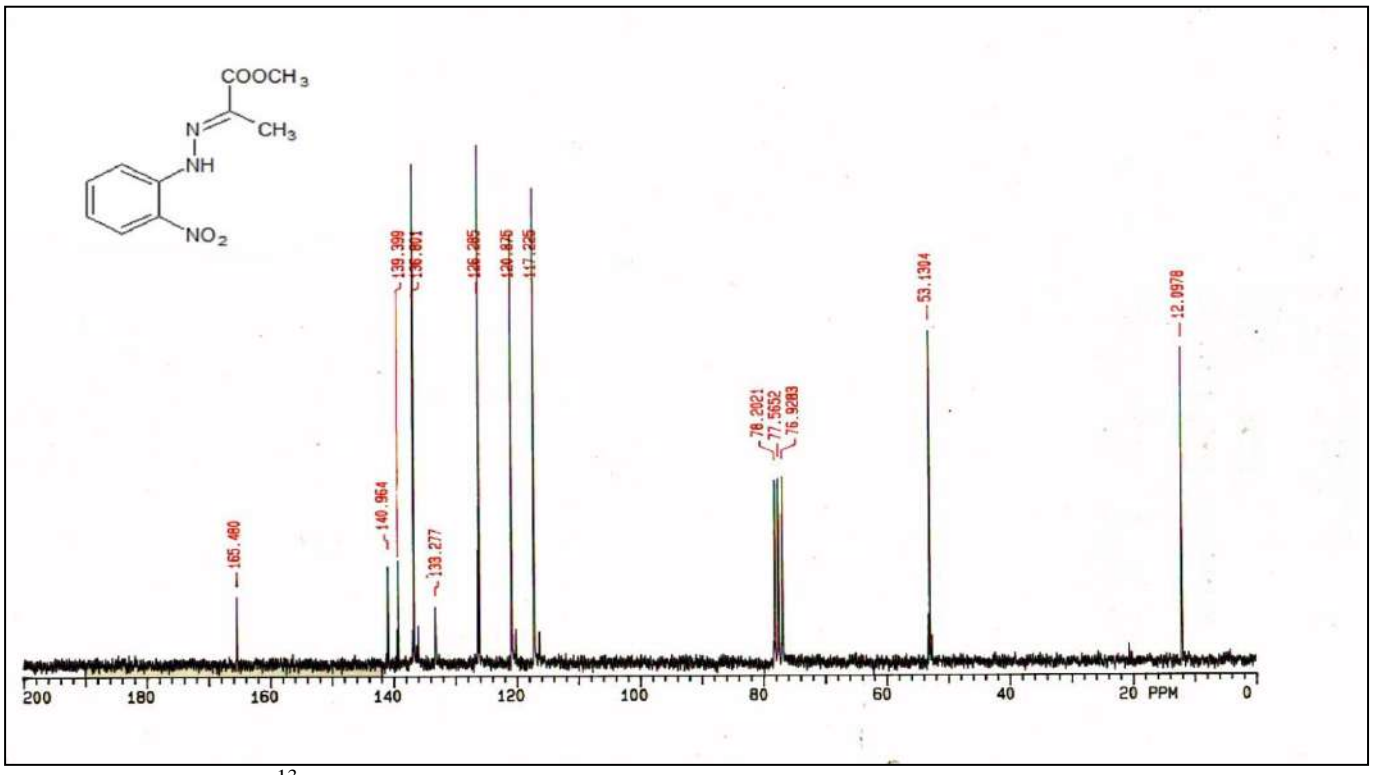


Figure III.7:Spectre ^{13}C-RMN de (E)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle

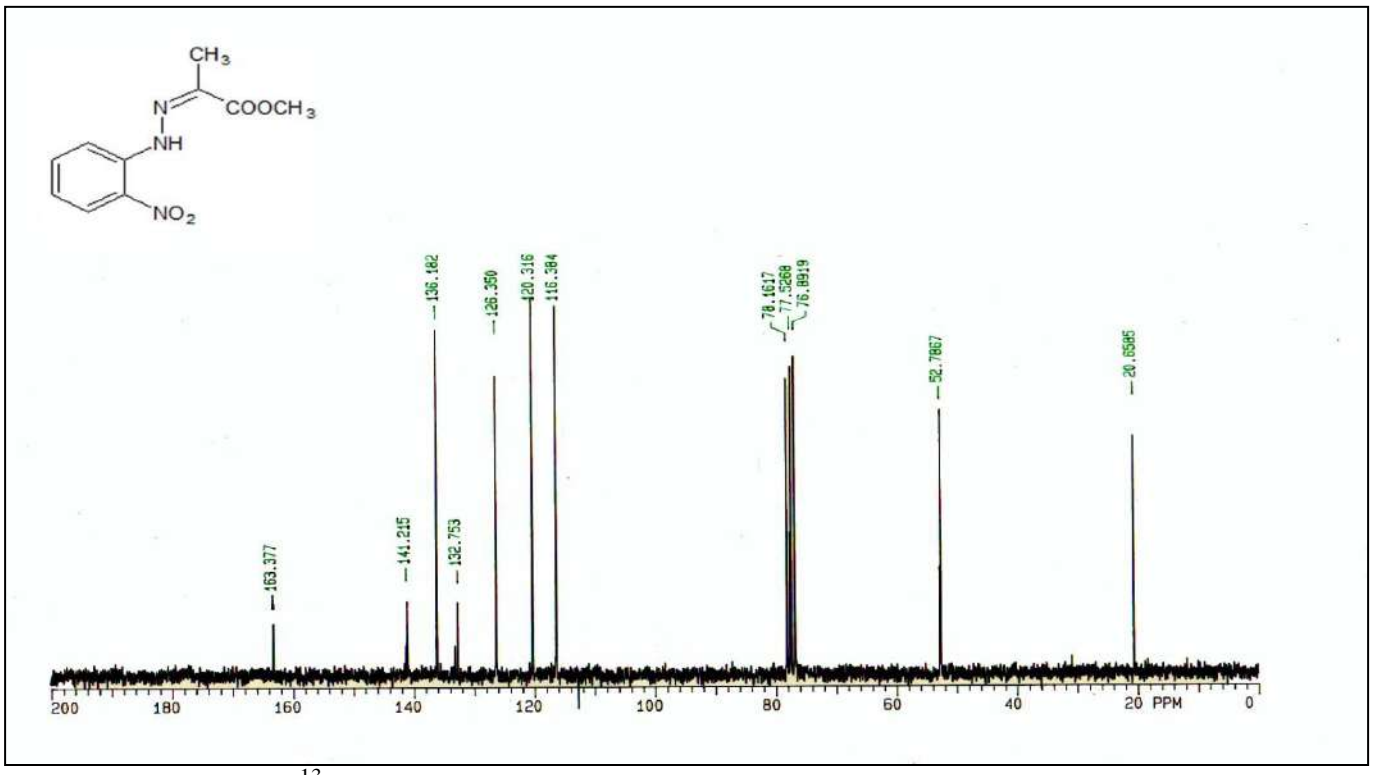


Figure III.8: Spectre^{13}C-RMN de (Z)-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle

Le spectre IR des deux isomères montrent des bandes d'absorptions caractéristiques de groupements carbonyle entre 1698 et 1697 cm^{-1}, celui de N-H apparait à 3233,09 et 3234,57 cm^{-1} respectivement (Figures III.9 et III.10).

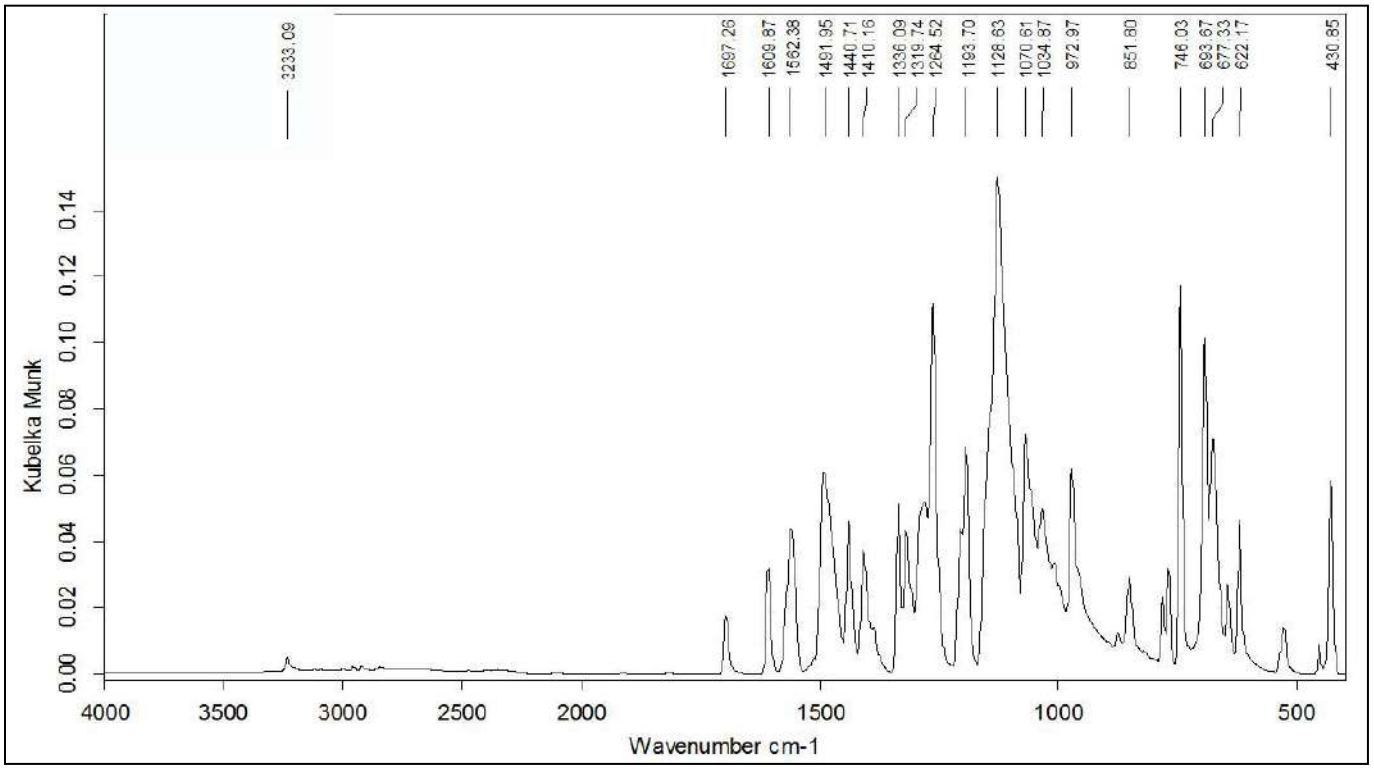


Figure III.9: Spectre IR de (E)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle

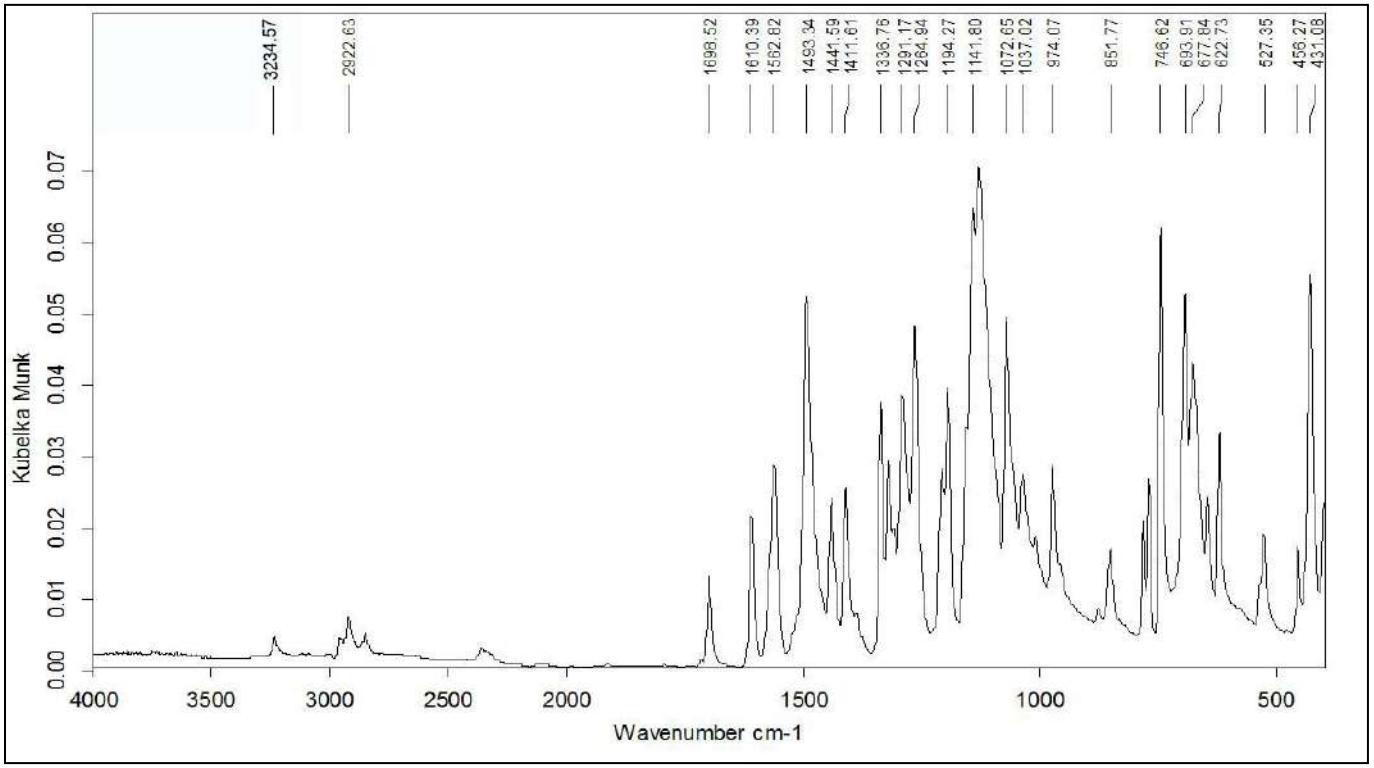


Figure III.10:Spectre IR de (Z)-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle(Z1)

Ainsi que les spectres de masses qui confirment lesmasses molaires des composés obtenues avec un pic moléculaires de 237 pour chaque isomère (Figures III.11 et III.12).

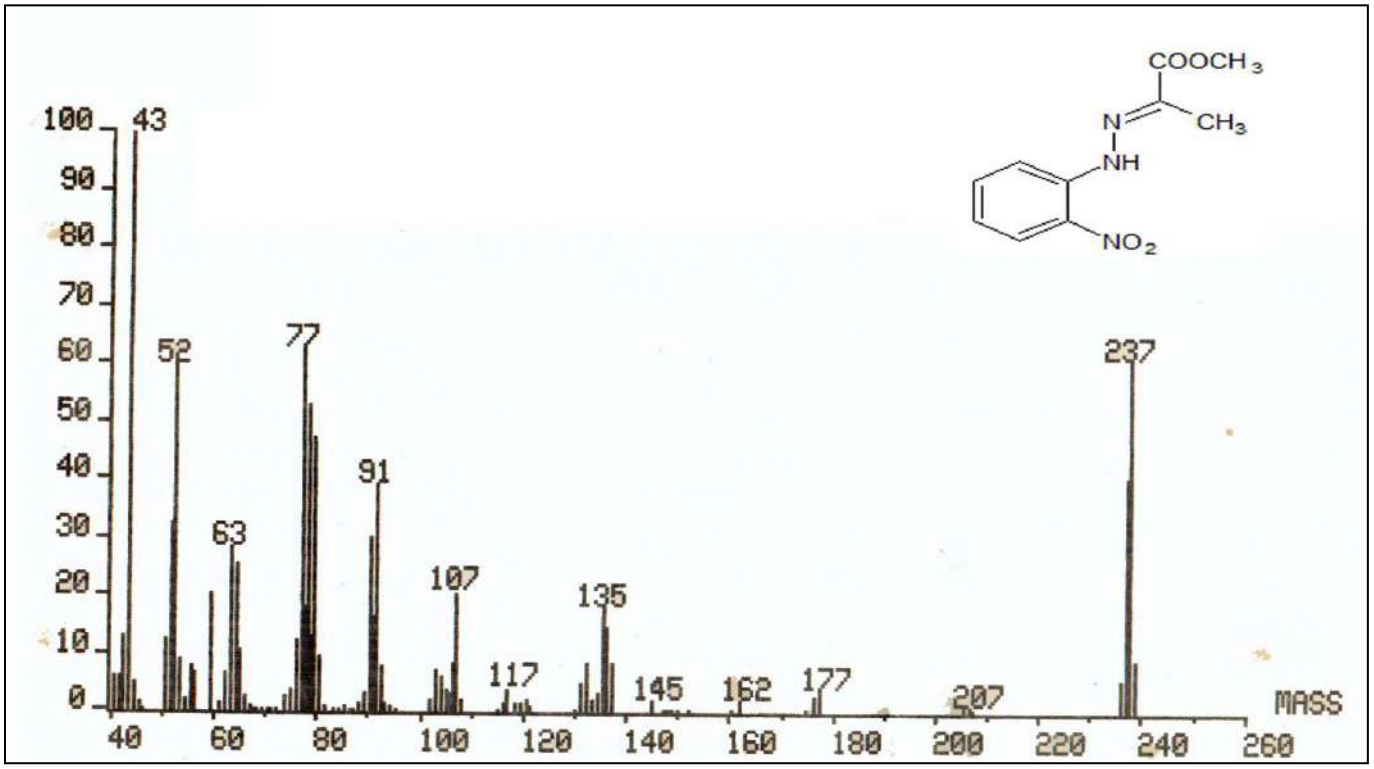


Figure III.11:Spectre de masse de (E)-2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle

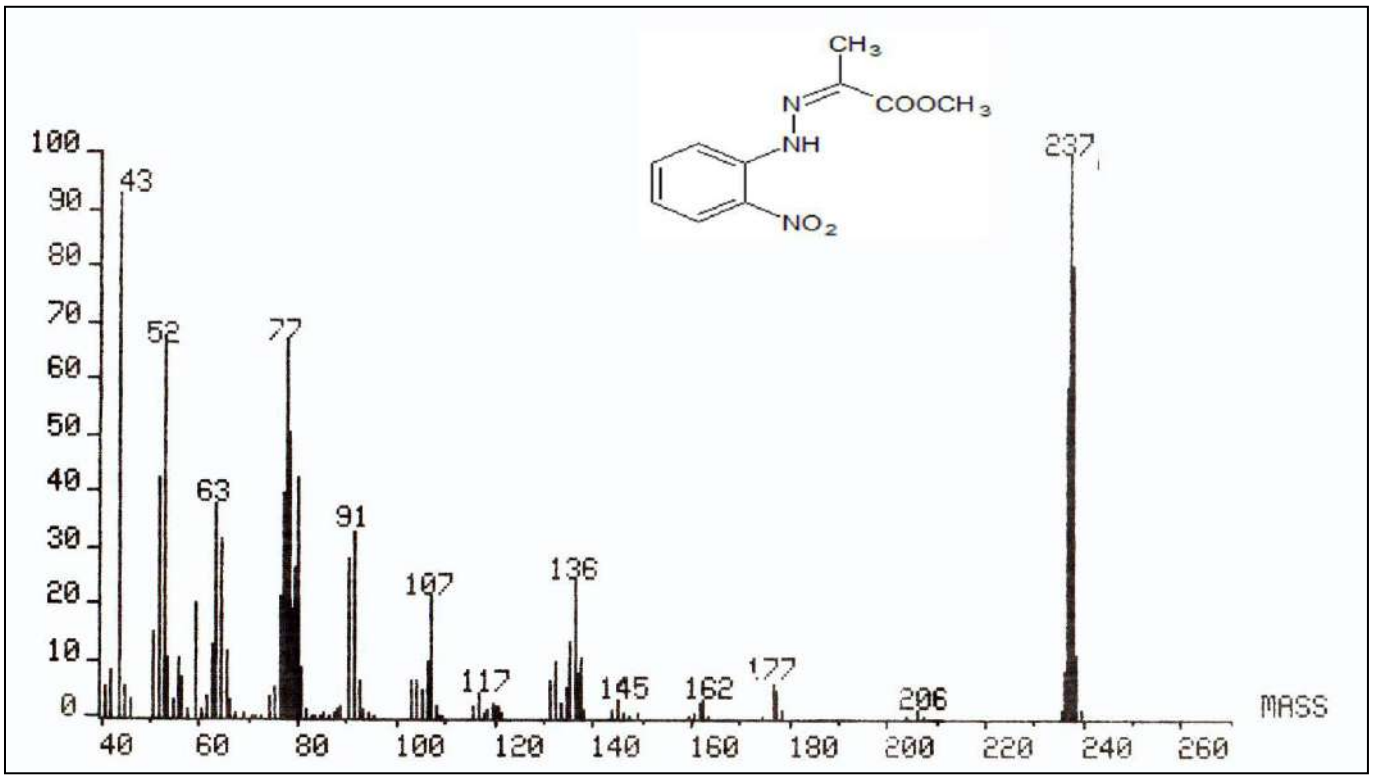
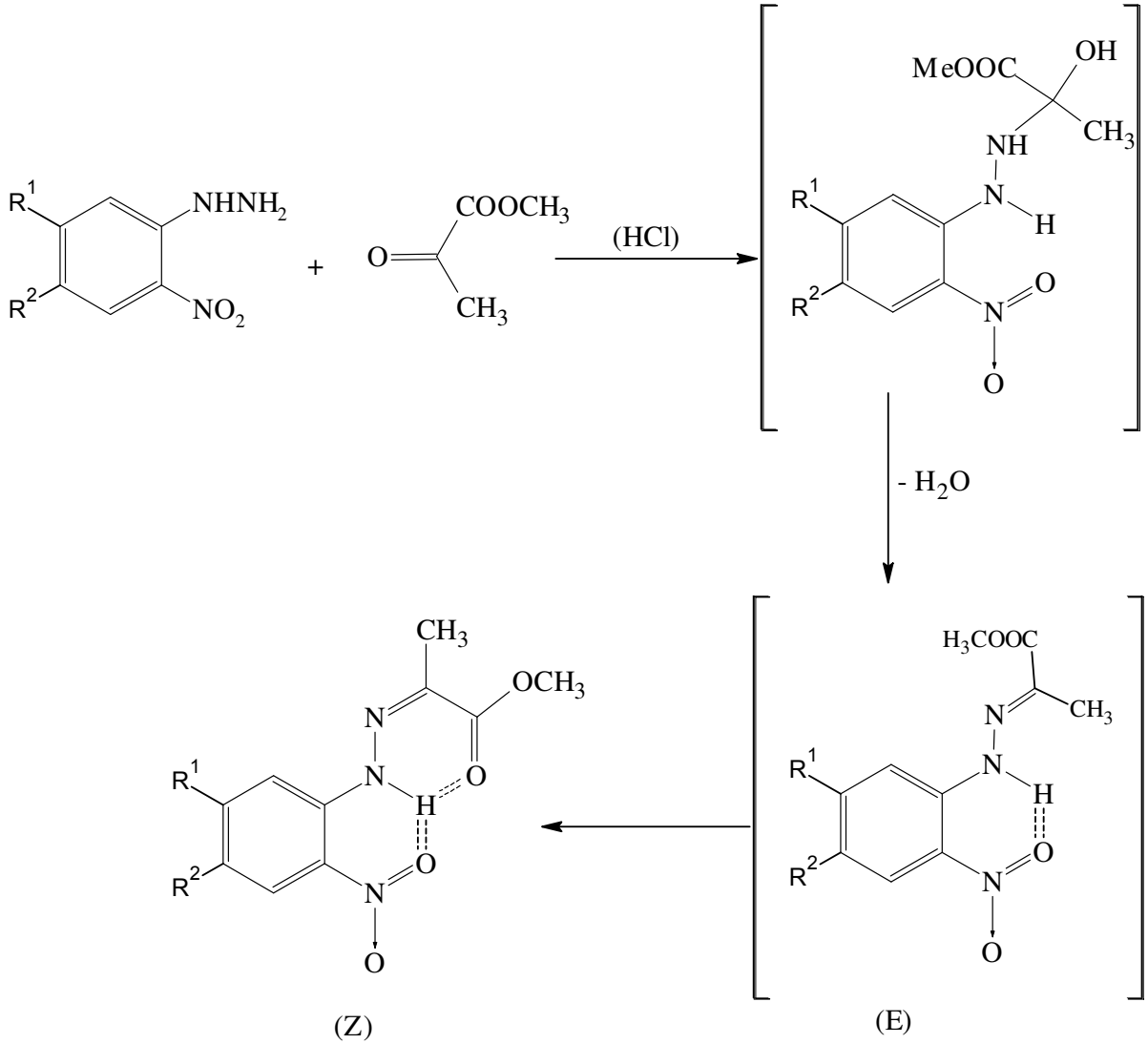


Figure III.12: Spectre de masse de (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle

Concernant les dérivés de 2-nitrophénylhydrazonopyruvate de méthyle ;nous avons été menait à synthétisé l'isomére (Z)directement en traitant le mélange réactionnel par une quantité d'acide chlorhydrique concentrés ,selon le mécanisme réactionnel suivant :



(Z2): $R^1 = Cl$, $R^2 = H$;(Z3):$R^1 = CH_3$, $R^2 = H$;(Z4):$R^1 = H$, $R^2 = NO_2$

Schéma III.6: Synthèse des dérivés de 2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle

Le spectre^{1}H-RMN, pris dans $CDCl_3$du composé(Z2), montre les signaux pour le groupement méthoxy à 3,91 ppm (un singulet). Les protons des groupements méthyles forment un singulet à 2,28 ppm. Tous les protons aromatiques sont résolus et se trouvent pour {**H-3:**8,16 ppm (un doublet) ; **H-4:** 6,94 ppm (un doublet) et **H-6:** 8,00 ppm (unsingulet)}, le groupement NH forme un singulet à 10,94.**(Figure III.13)**

Le spectre^{13}C-RMN pris dans $CDCl_3$ montre 10 pics . Ceux-ci sont situés, à11,81 ppm (CH_3) ; 52,78 ppm (OCH_3) ; entre 116,35 et 141,22 ppm (C_{arom}) ; à 143,24 ppm (N=C) ; et le pic de CO_2 est résolu à164,82ppm(CO_2).**(Figure III.14)**

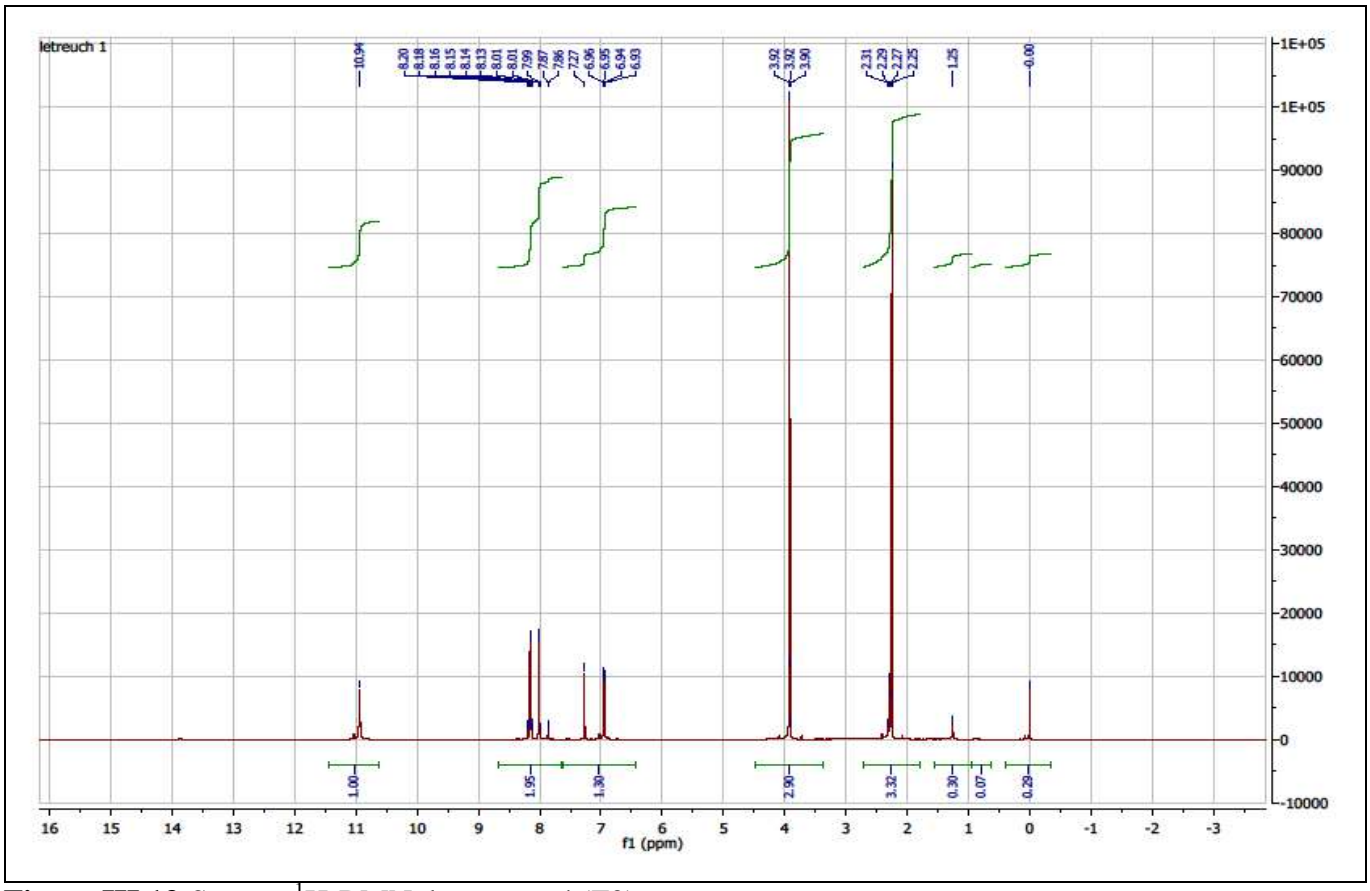


Figure III.13: Spectre ^{1}H-RMN de composé (Z2)

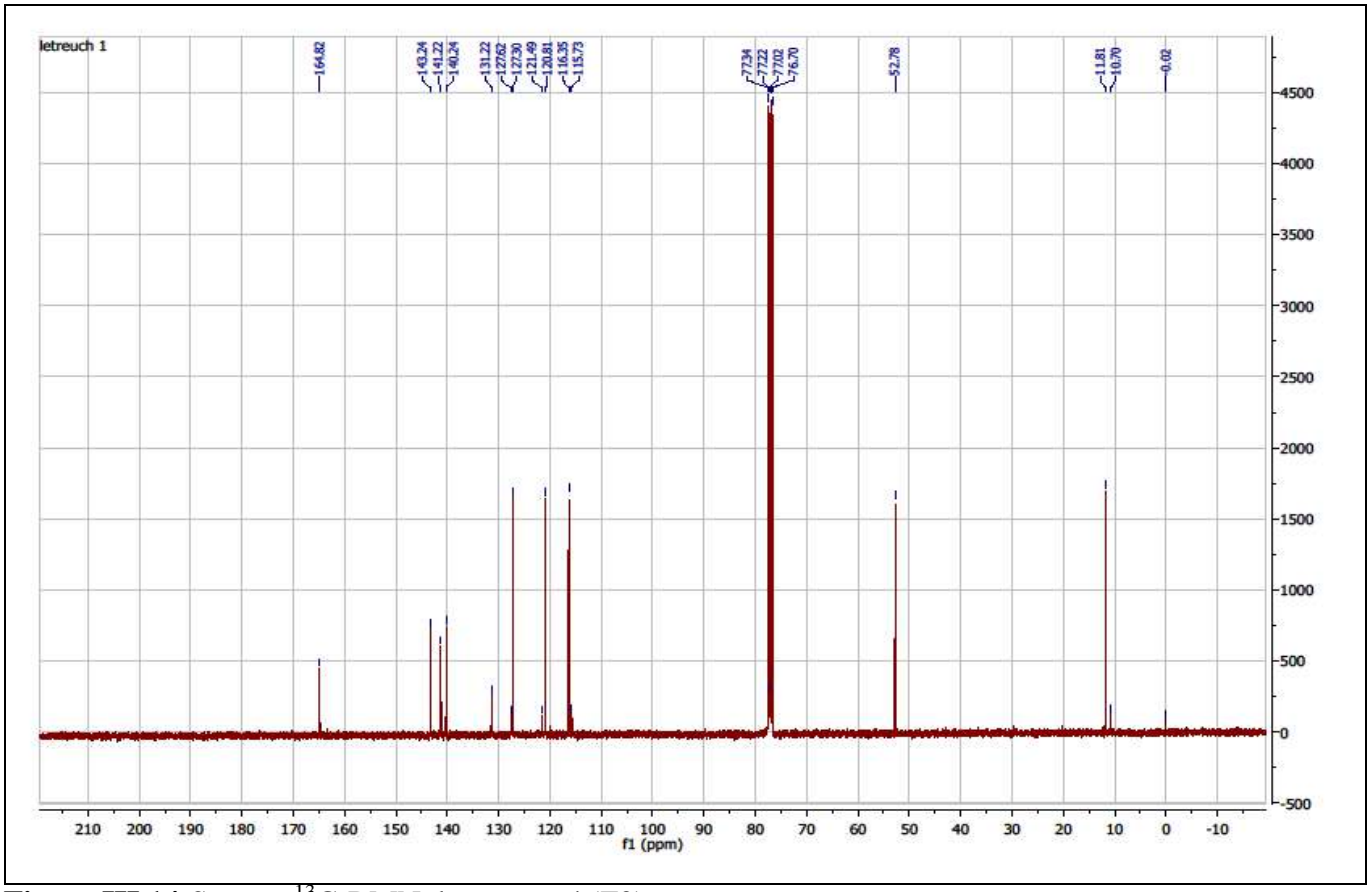


Figure III.14: Spectre ^{13}C-RMN de composé (Z2)

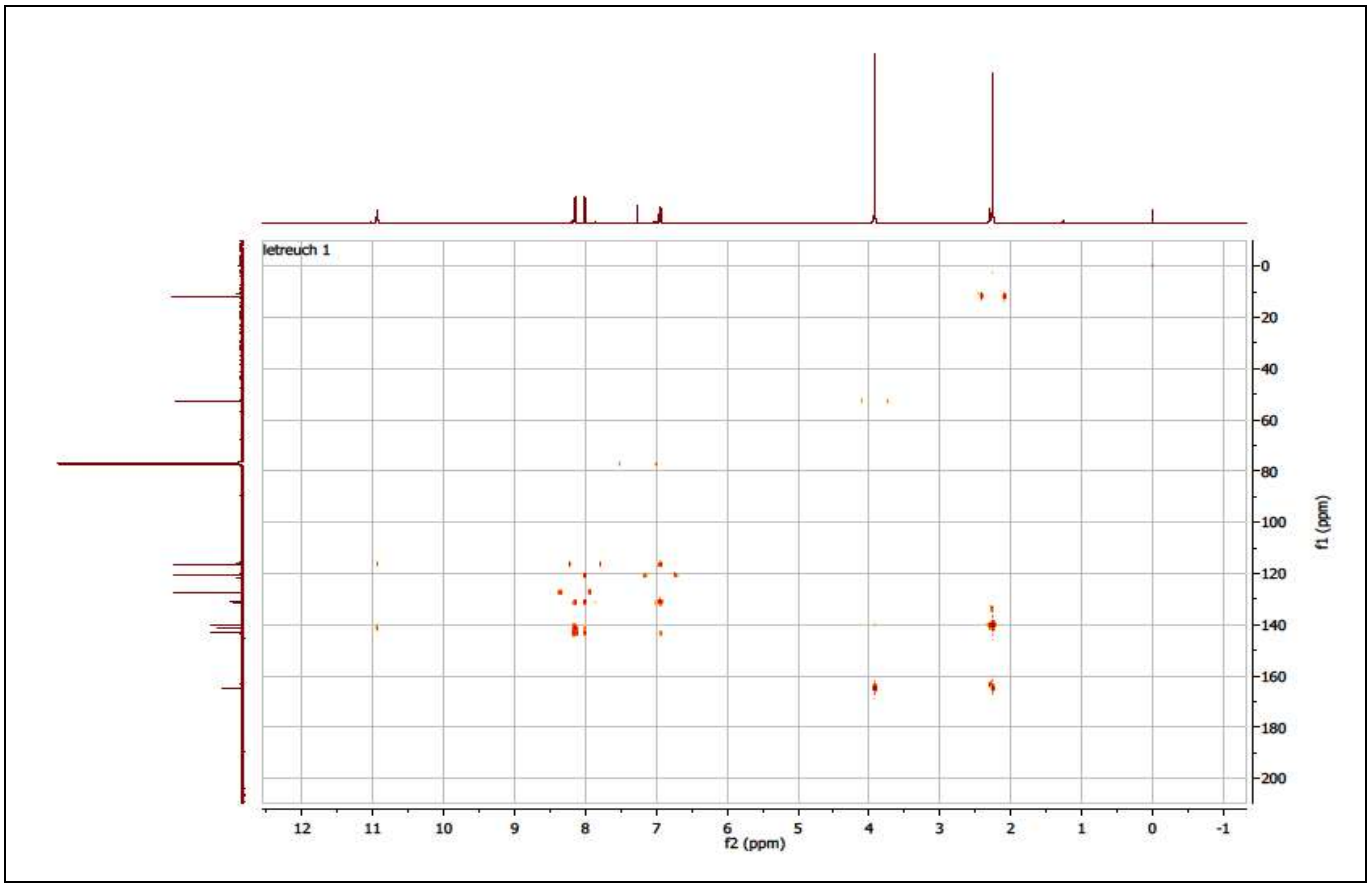


Figure III.15: Spectre HMBC de composé (Z2)

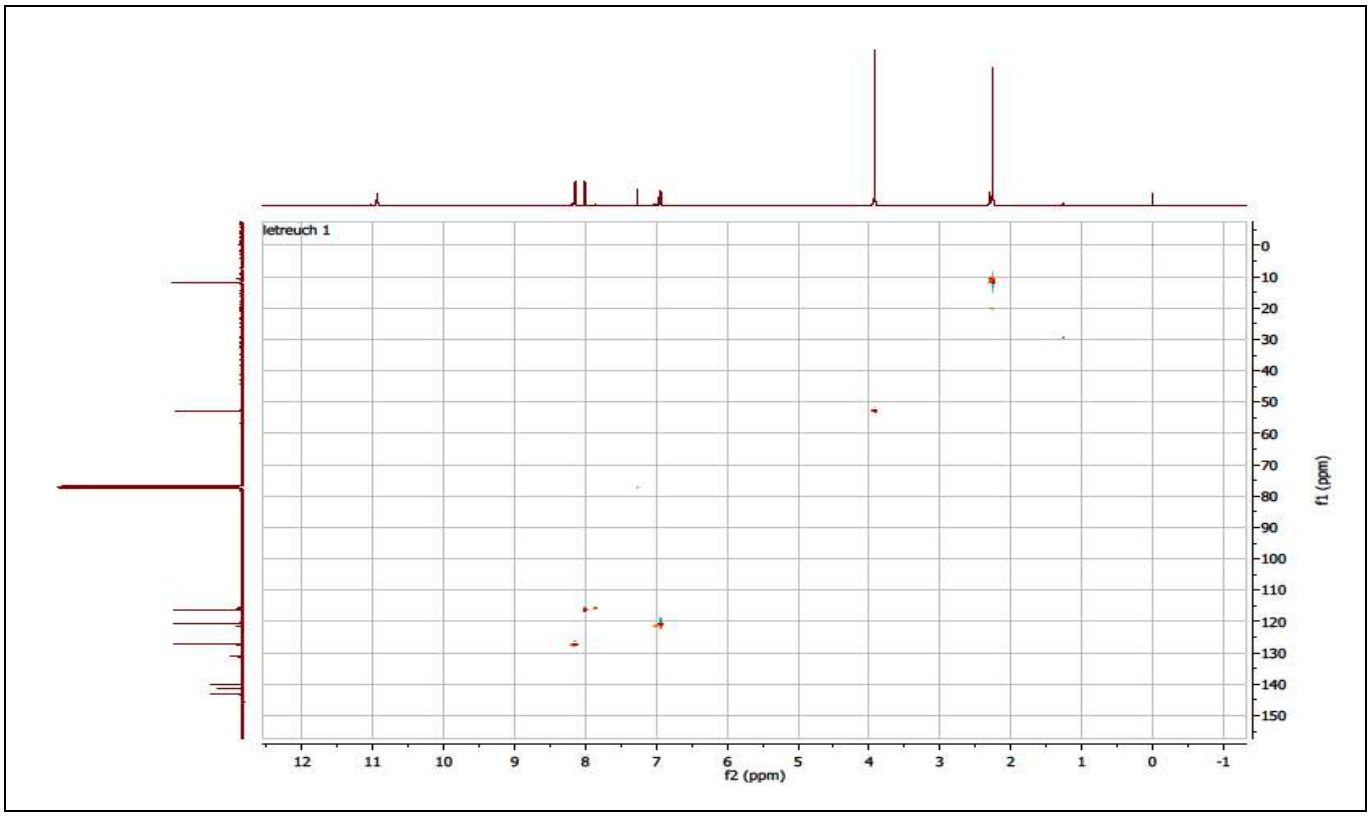


Figure III.16: Spectre HSQC de composé (Z2)

Le spectre IR confirme aussi la structure du composé synthétisé avec des pics caractéristiques du groupement carbonyle (CO) à 1706 cm^{-1} ,celui du groupement NH à 3318cm^{-1}ainsi que les pic caractéristique des groupement NO_2et C-Cl à 1487 et 752 cm^{-1} respectivement.

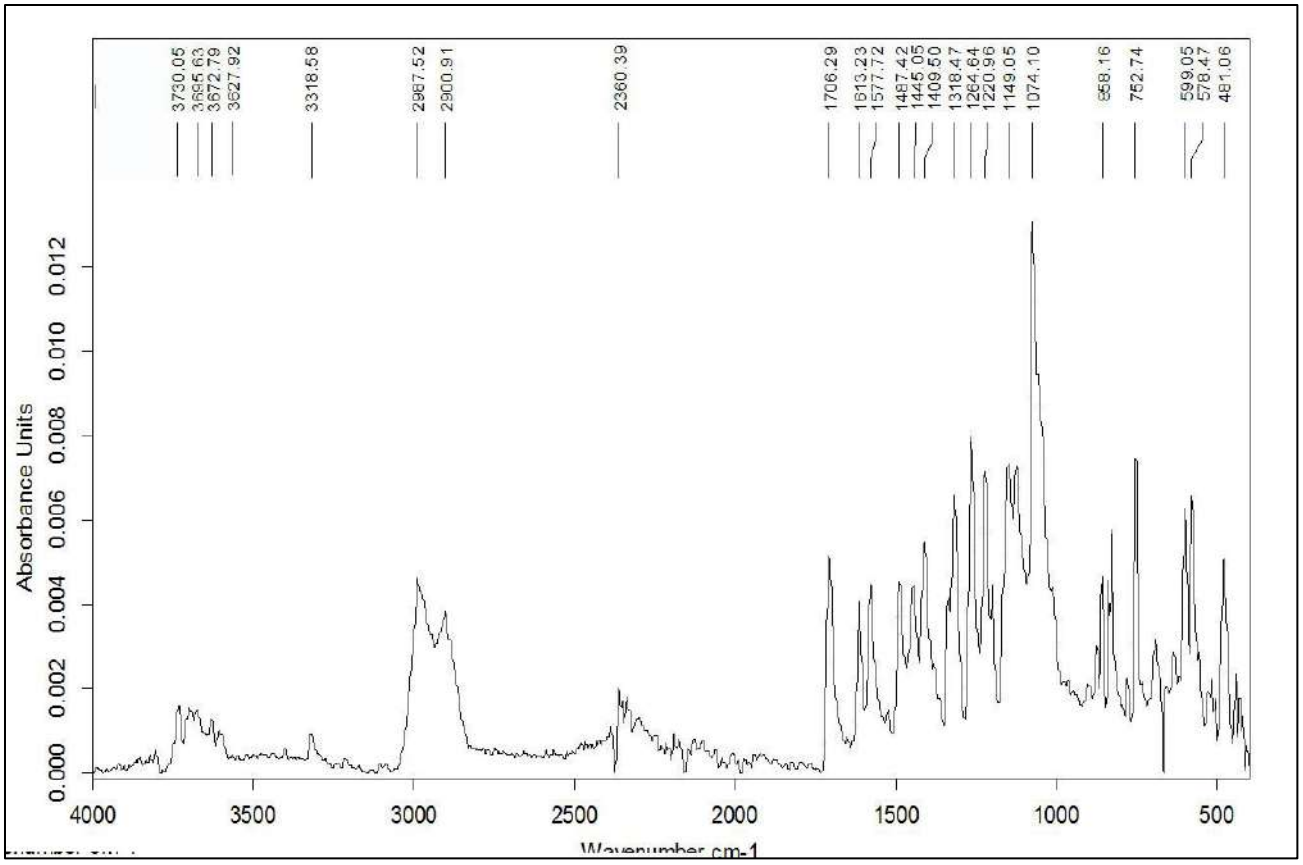


Figure III.17:Spectre IR de composé (Z2)

Le spectre^{1}H-RMN, pris dans $CDCl_3$du composé (Z 3), montre les signaux pour le groupement méthoxy à 3,90 ppm (un singulet). Les protons des groupements méthyles forment un singulet à 2,26ppm,les protons du groupements méthyles aromatiques apparaissent à 2,42 ppm. Tous les protons aromatiques sont résolus et se trouvent pour {**H-3:**8,08 ppm (un doublet) ; **H-4:** 6,79 ppm (un doublet) et **H-6:** 7,79 (unsingulet)}, et le groupement NH qui forme un singulet à 10,99. (figureIII.18)

Le spectre^{13}C-RMN pris dans $CDCl_3$ montre 11pics . Ceux-ci sont situés, à11,69 ppm (CH_3) ;à 22,09 ppm ($CH_{3\ arom}$) ;52,67 ppm (OCH_3) ; entre 116,22 et 140,36 ppm (C_{arom}) ; à 148,32 ppm (N=C) ; et le pic de CO_2 est résolu à165,06ppm(CO_2)(figure III.19).

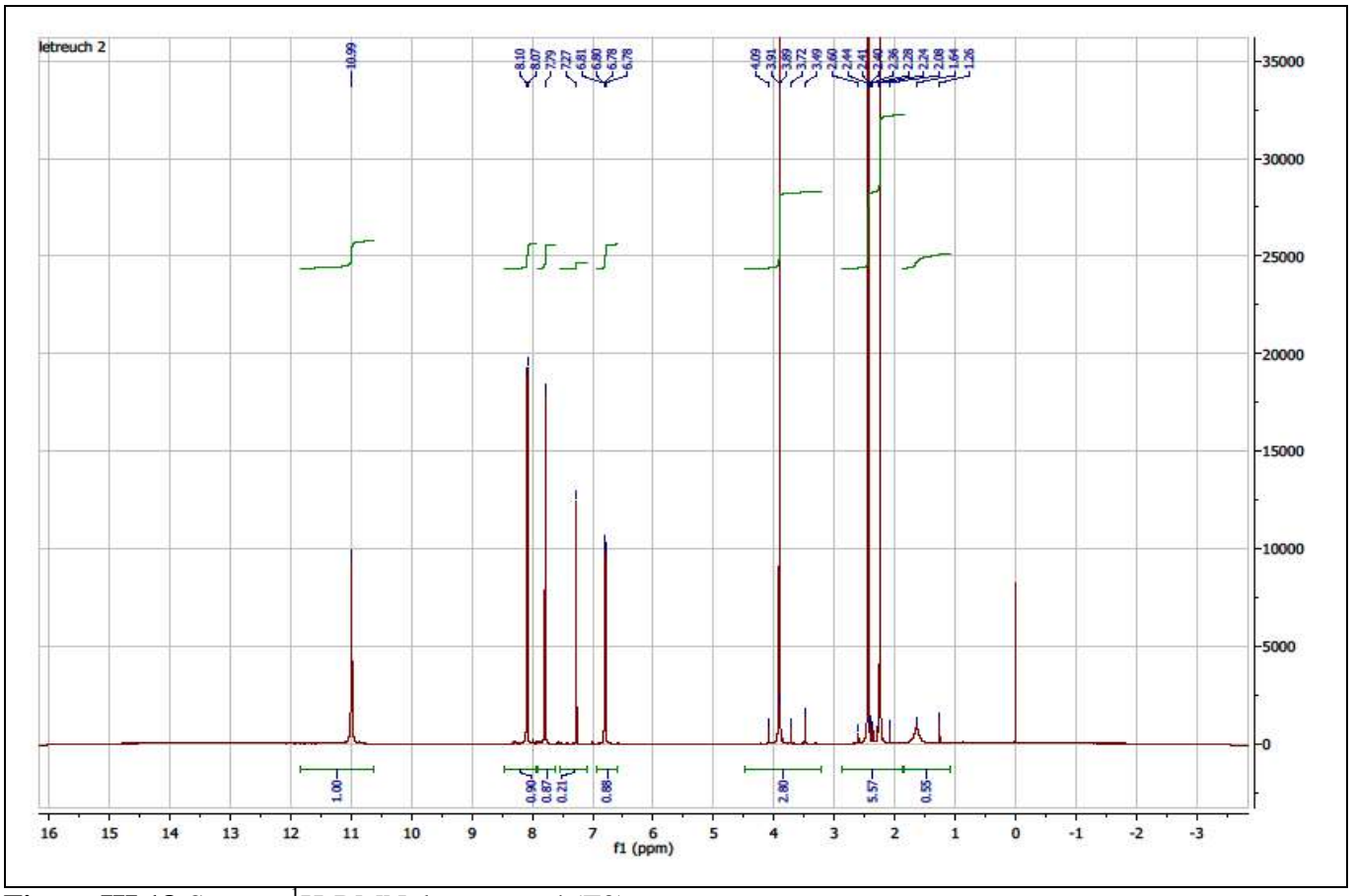


Figure III.18: Spectre ^{1}H-RMN de composé (Z3)

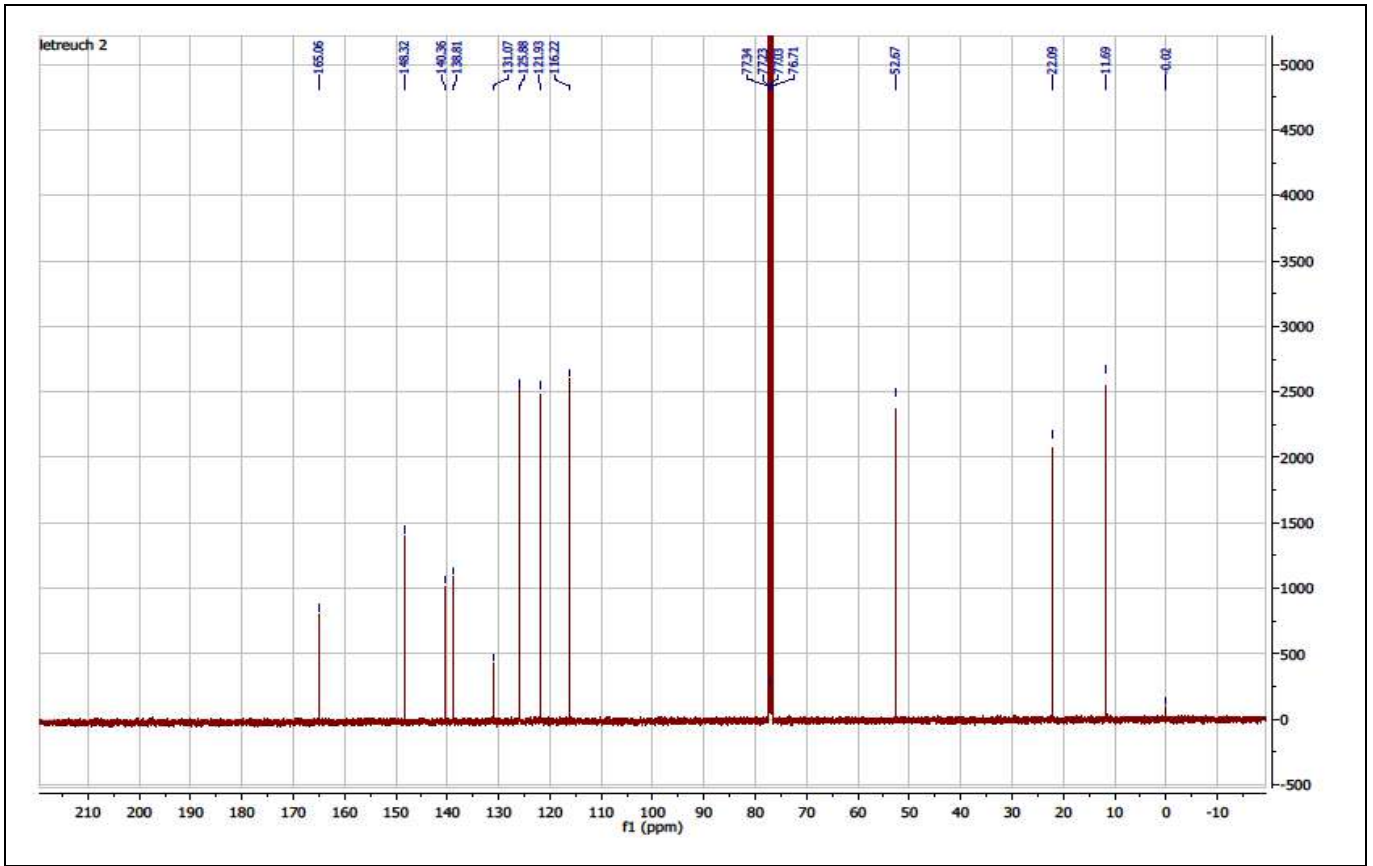


Figure III.19*:*Spectre ^{13}C-RMN de composé (Z3)

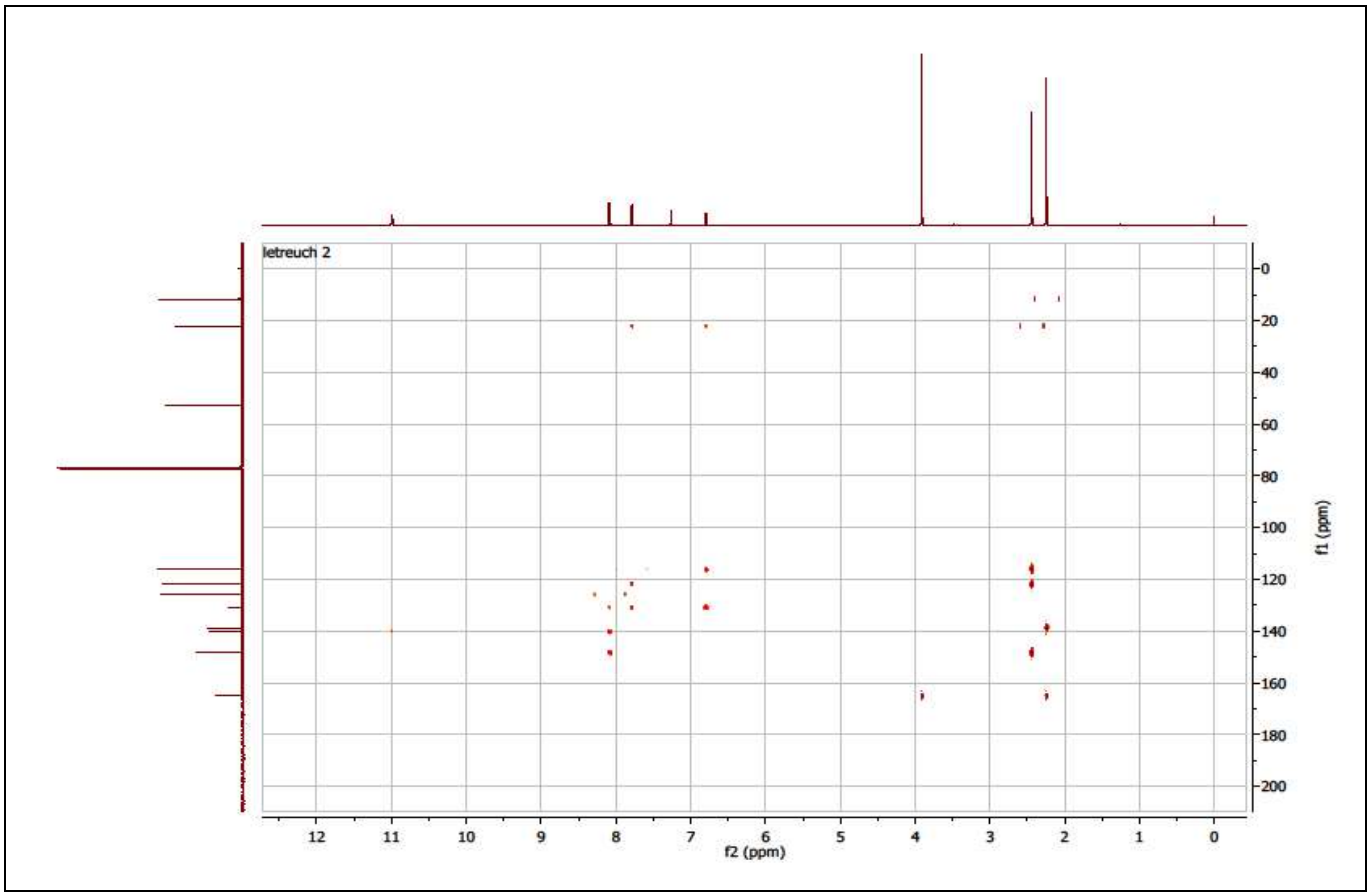


Figure III.20: Spectre HMBC de composé (Z3*)*

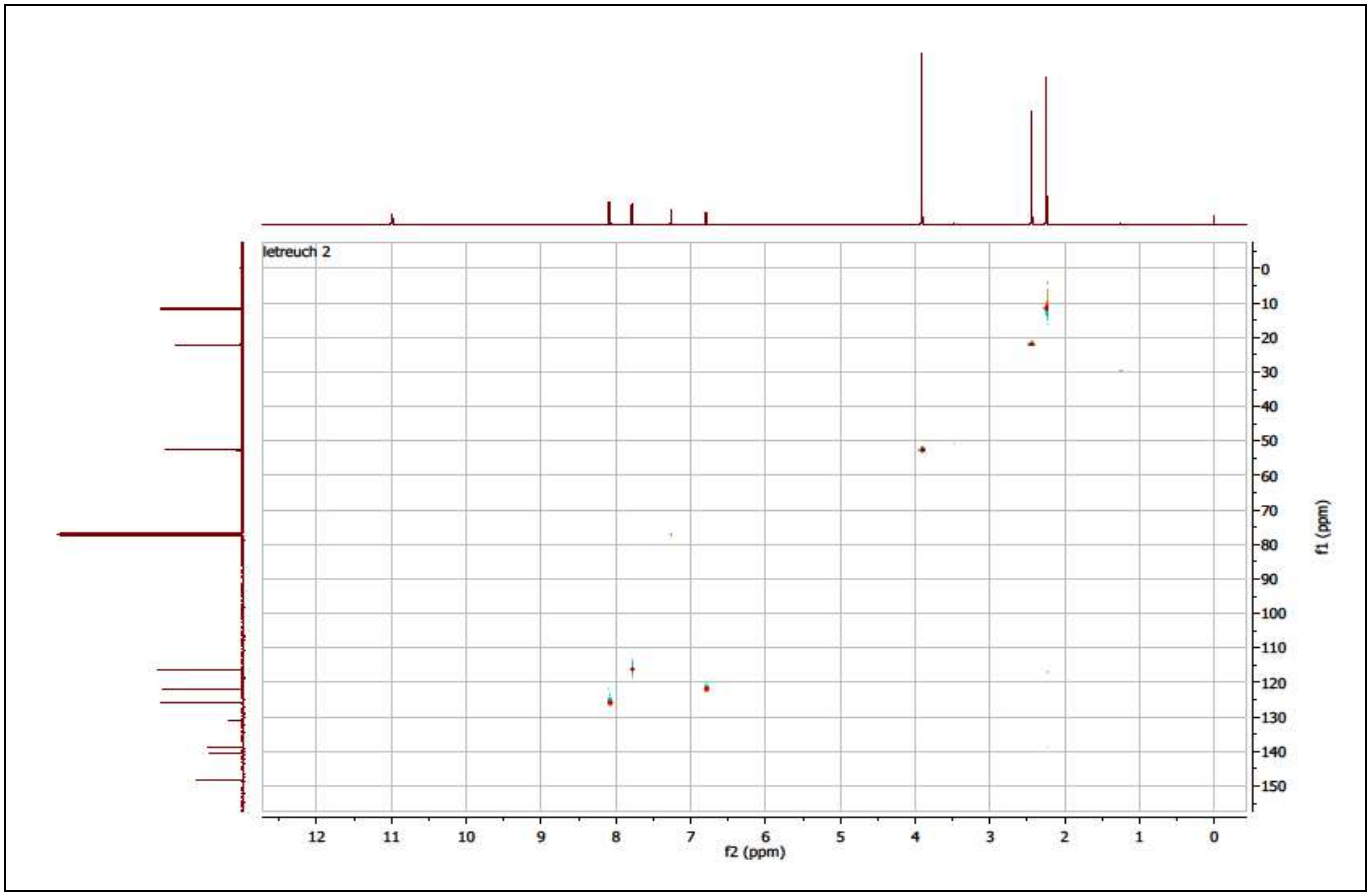


Figure III.21: Spectre HSQC de composé (Z3)

Le spectre IR confirme aussi la structure du composé synthétisé avec des pics caractéristiques du groupement carbonyle (CO) à 1690 cm^{-1} ,celui du groupement NH à 3493cm^{-1} ainsi que les pic caractéristique des groupement NO_2et C-CH_3 à 1511 et 2956 cm^{-1} respectivement .

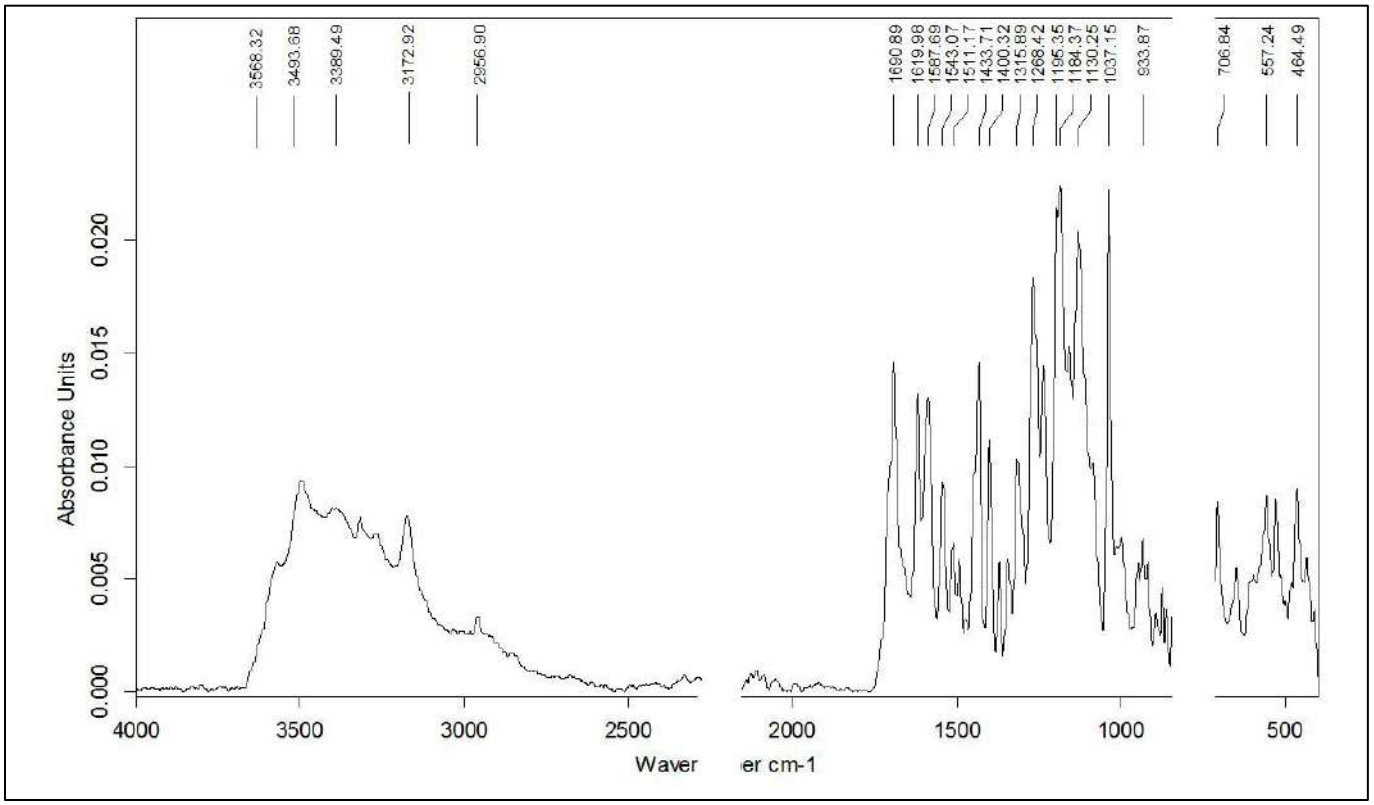


Figure III.22: Spectre IR de composé (Z3)

Le spectre^{1}H-RMN, pris dans $CDCl_3$du composé(Z 4), montre les signaux pour le groupement méthoxy à 3,85 ppm (un singulet). Les protons des groupements méthyles forment un singulet à 2,25 ppm. Tous les protons aromatiques sont résolus et se trouvent pour {**H-3:**8,88 ppm (un doublet) ; **H-4:** 7,95 ppm (un doublet) et **H-6:** 8,52 (unsingulet)}, et le groupement NH qui forme un singulet à 13,98. (figure III.23)

Le spectre ^{13}C-RMN pris dans $CDCl_3$ montre 10pics . Ceux-ci sont situés, à12,58ppm (CH_3) ; 53,16 ppm (OCH_3) ; entre 118,53 et 142,76 ppm (C_{arom}) ; à 144,39 ppm (N=C) ; et le pic de CO_2 est résolu à164,57ppm(CO_2)(figure III.24).

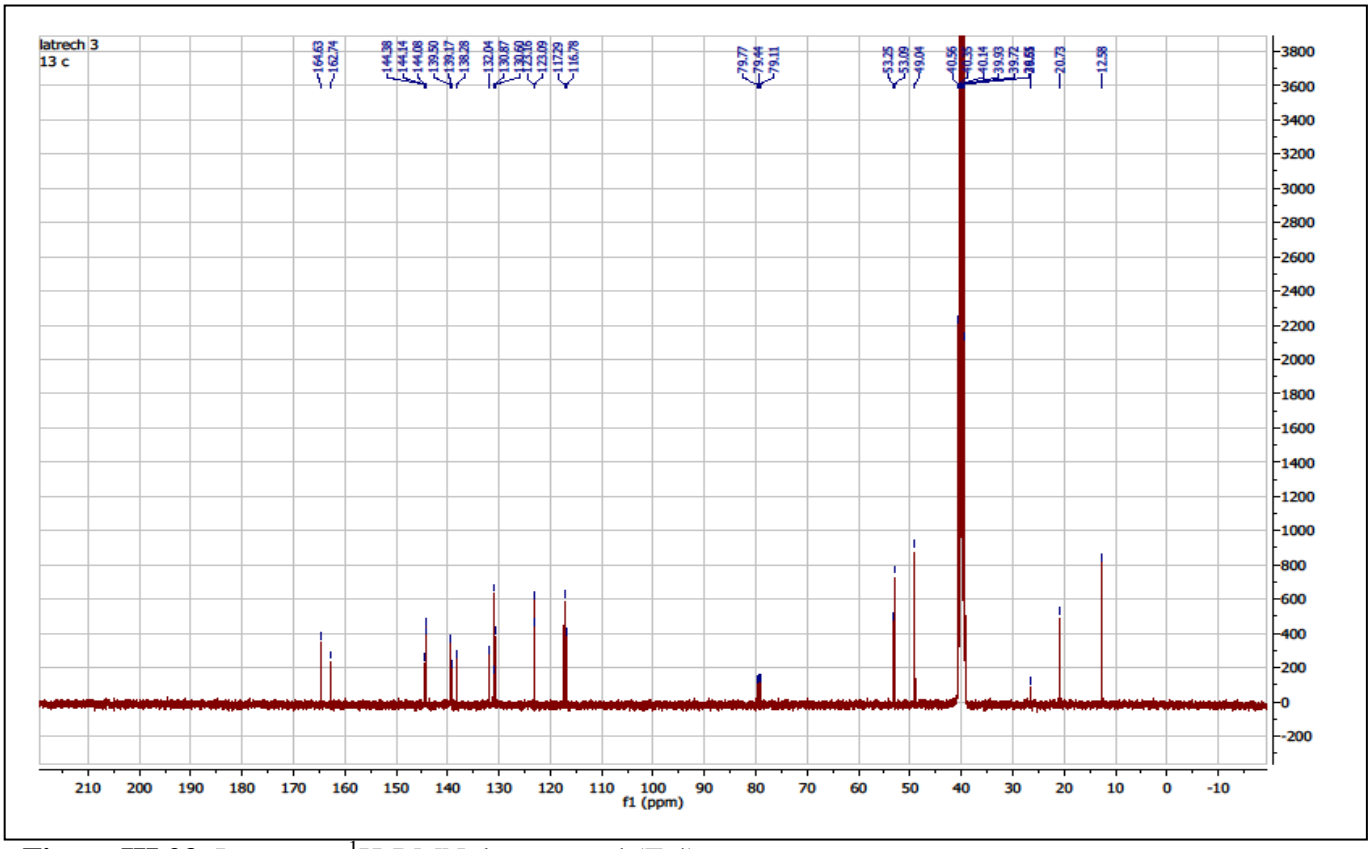


Figure III.23 :Le spectre[1]H-RMN de composé (Z 4)

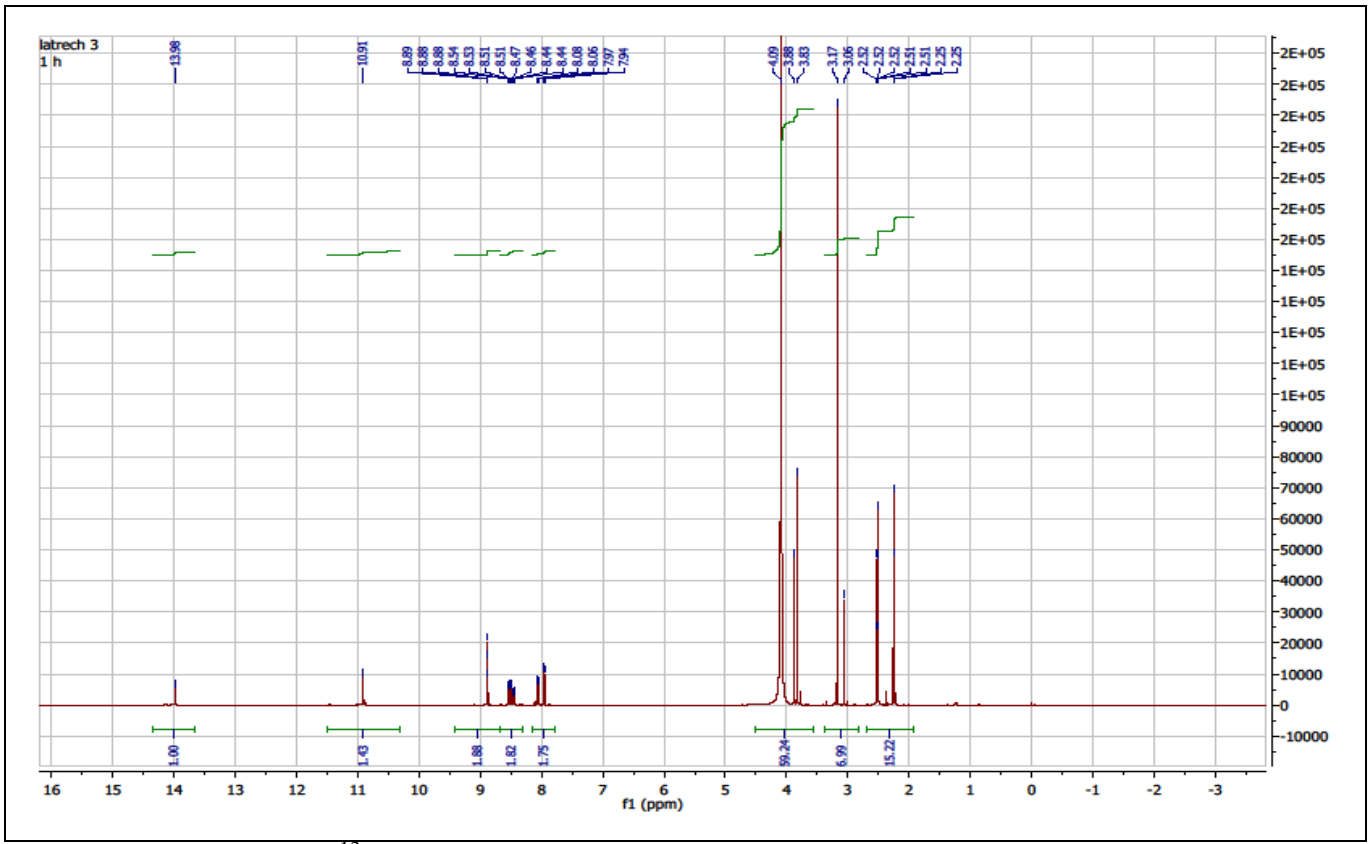


Figure III.24 : Le spectre [13]C-RMN de composé (Z 4)

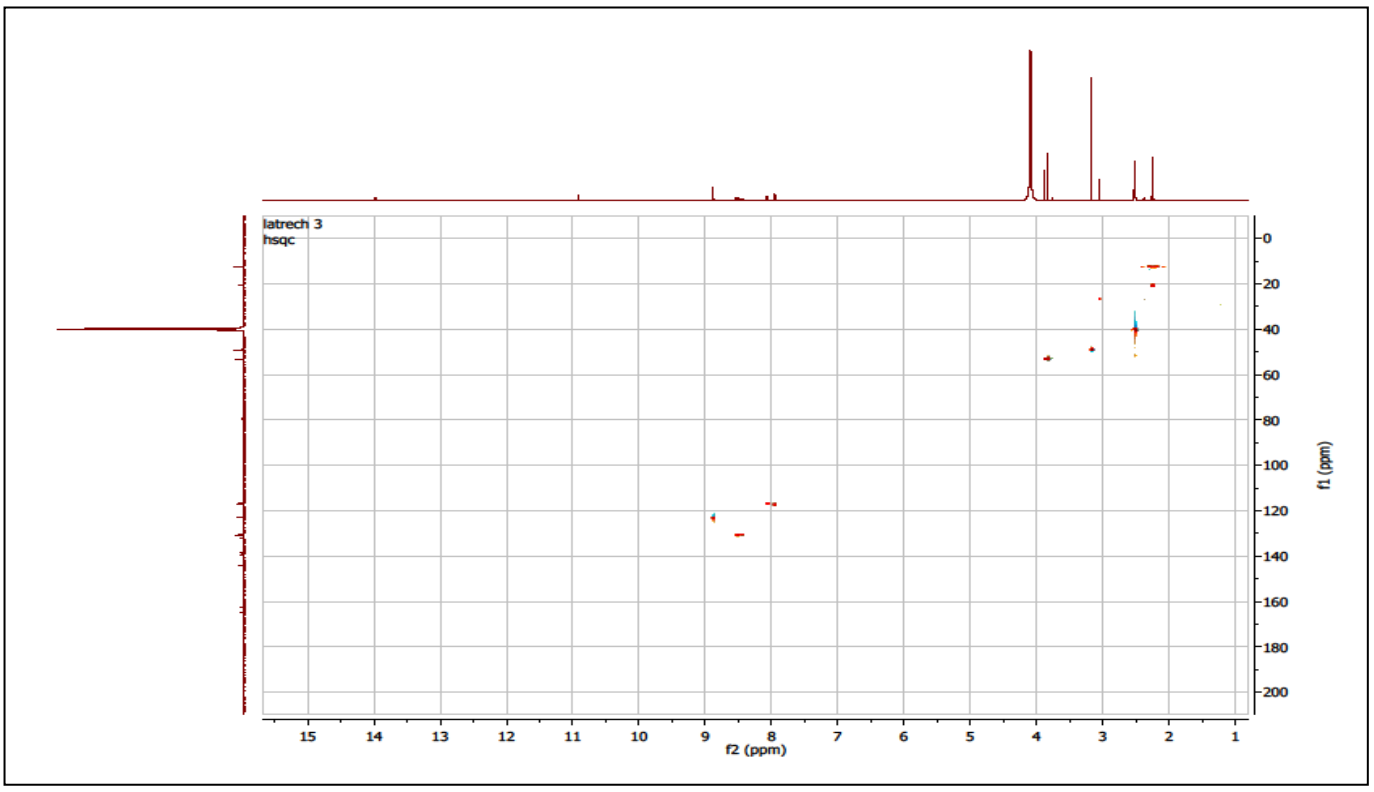


Figure III.25 : Spectre HSQC de composé (Z 4)

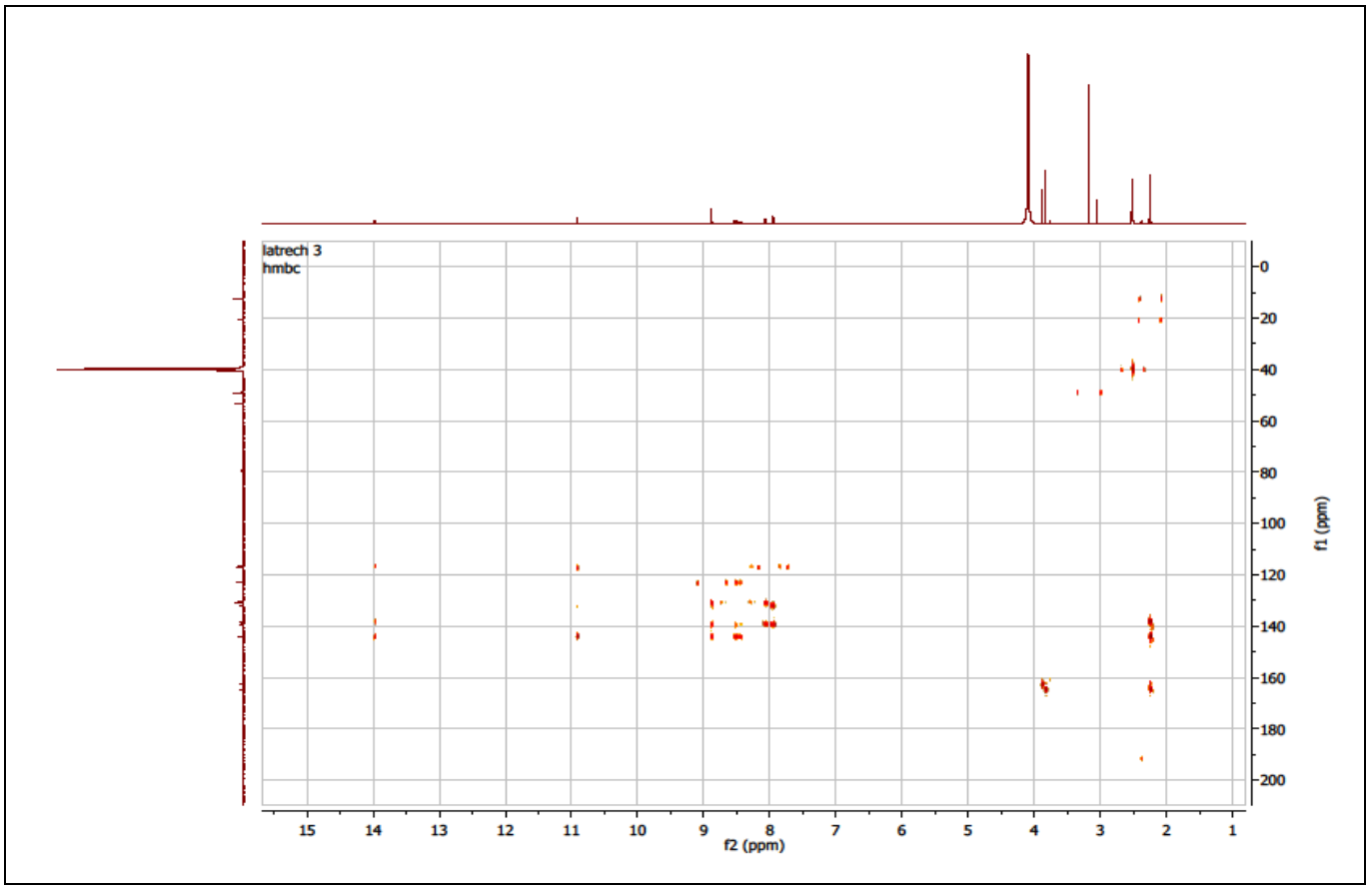


Figure III.26 : Spectre HMBC de composé (Z 4)

Le spectre IR confirme aussi la structure du composé synthétisé avec des pics caractéristiques du groupement carbonyle (CO) à 1698 cm^{-1} ,celui du groupement NH à 3323 cm^{-1} ainsi que les pic caractéristique des groupement NO_2 et C-Cl à 1494 et 770 cm^{-1} respectivement **(FigureIII.27)** .

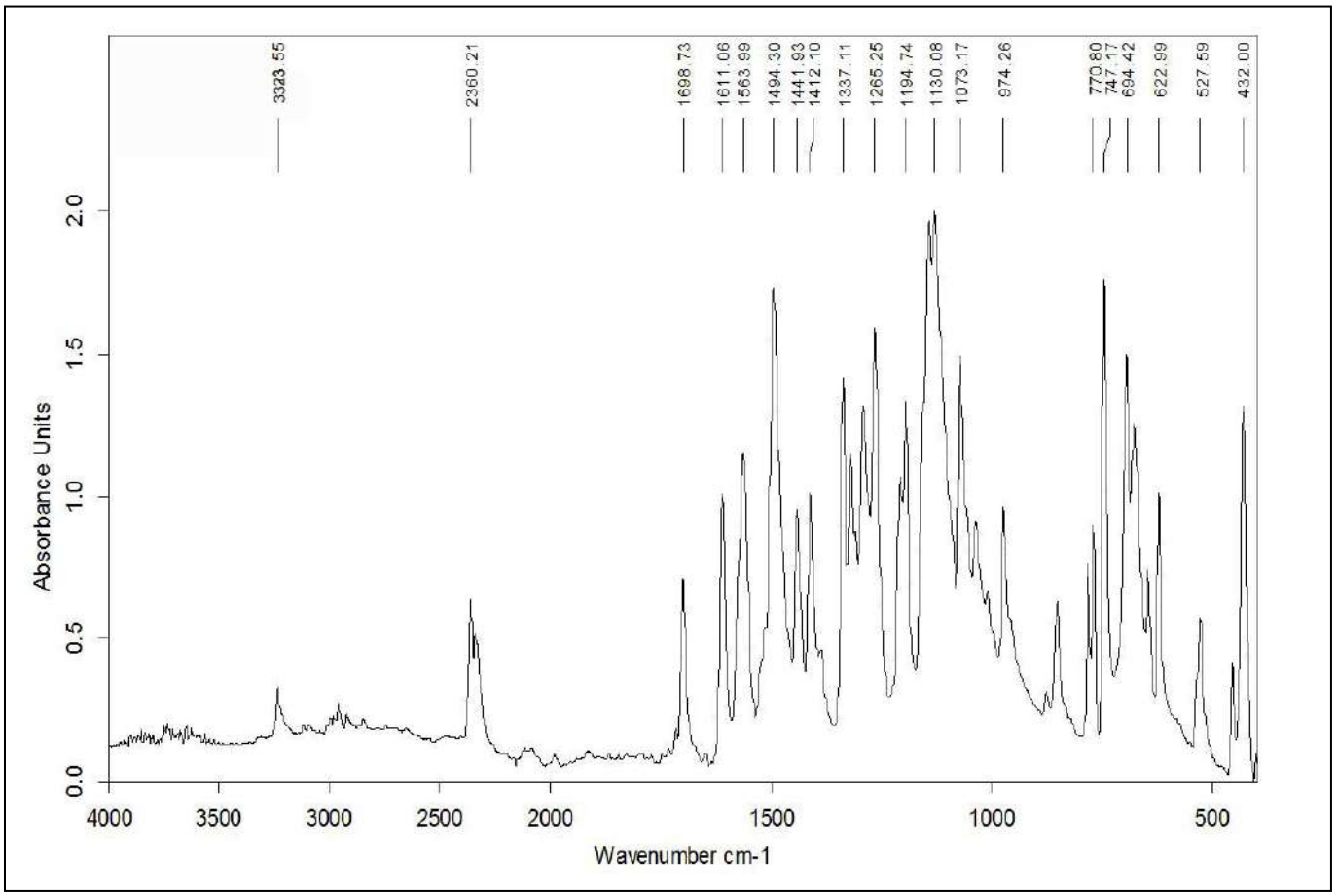


Figure III.27 : Spectre IR de composé (Z 4)

En ce qui concerne la synthèse de bis hydrazone,de la même façon que l'hydrazonecorrespondant ,il se forme en premier temps un produit d'addition mais celui-ci est instable qui évolue vers le bishydrazone indiqué. Cette réaction se déroule dans le méthanol à température ambiante. Par suite de la formation de la double liaison azométhine C=N, le 2-4-dinitrophénylhydrazonpyruvate de méthyle peut exister sous deux diastéréoisomères de configurations (E/E) et (Z/Z).

A température ambiante il se forme exclusivement l'isomère (E/E). En traitant celui-ci dans le méthanol ou mieux encore dans l'éther diéthylique avec l'acide chlorhydrique concentré il se transforme facilement et complètement en isomère (Z/Z) qui ne peut pas se retransformer en isomère (E/E). Tous les essais (Catalyse basique, chauffage dans différents solvants) afin de le transformer en isomère (E/E) ne donnèrent aucun résultat.

nous avons été menait à synthétisé l'isomére (Z/Z) directement en traitant le mélange réactionnel dans une quantité d'acide chlorhydriqueconcentrés, selon le mécanisme réactionnel suivant :

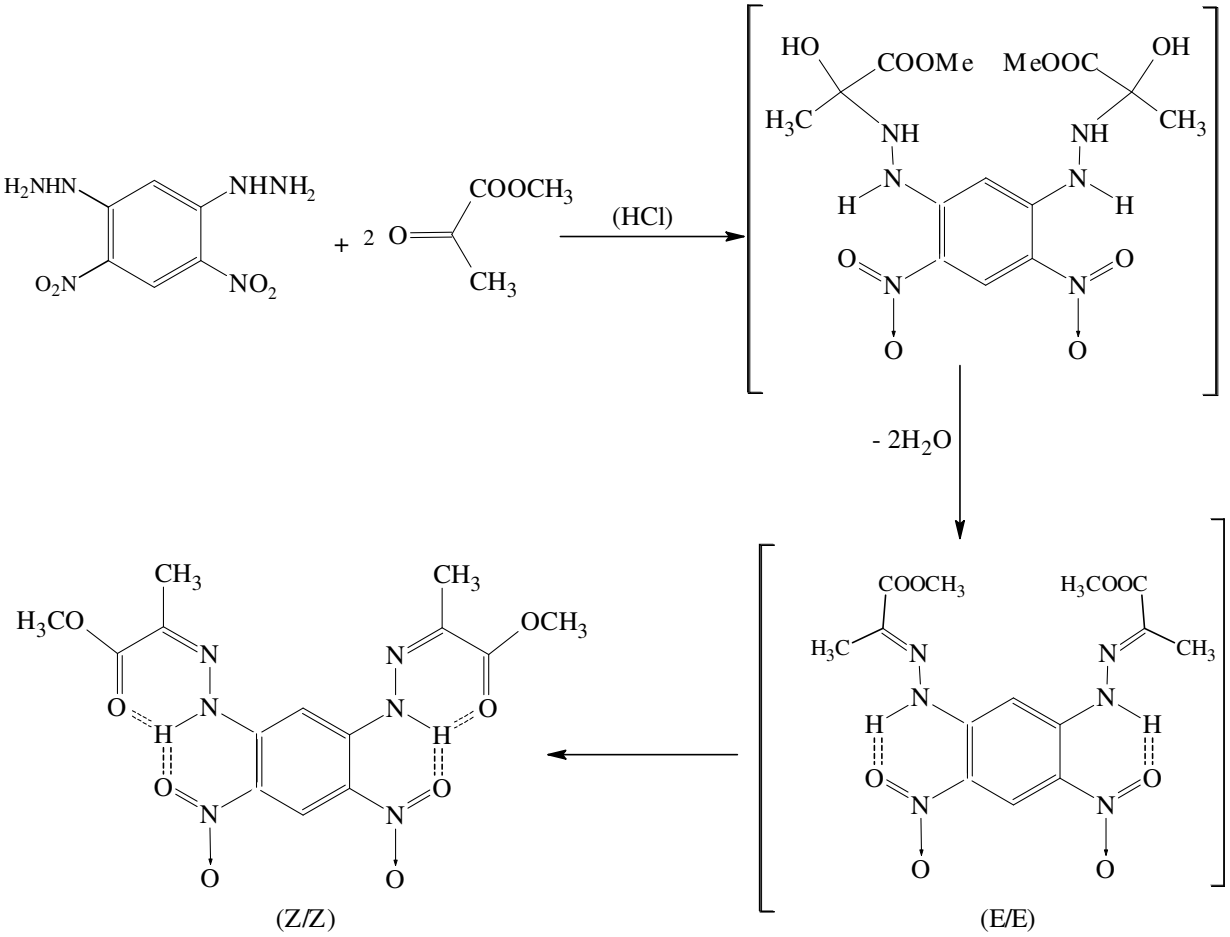


Schéma III.7: Synthèse de (Z/Z)-2,4-dinitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle

Le spectre^{1}H-RMN, pris dans $CDCl_3$du bishydrazone synthétisé montre les signaux pour le groupement méthoxy à 3,95 ppm (un singulet). Les protons des groupements méthyles forment un singulet à 2,30 ppm. Tous les protons aromatiques sont résolus et se trouvent pour {**H-3:**9,21 ppm (un doublet) ; **H-4:** 8,17 ppm (un doublet) et **H-6:** 8,99 (unsingulet)}**(figureIII.28)**

Le spectre ^{13}C-RMN pris dans $CDCl_3$ montre 10 pics . Ceux-ci sont situés, à12,58ppm (CH_3) ; 52,80 ppm (OCH_3) ; entre 118,53 et 142,76 ppm (C_{arom}) ; à 144,39 ppm (N=C) ; et le pic de CO_2 est résolu à164,57ppm(CO_2) , **(figure III.29).**

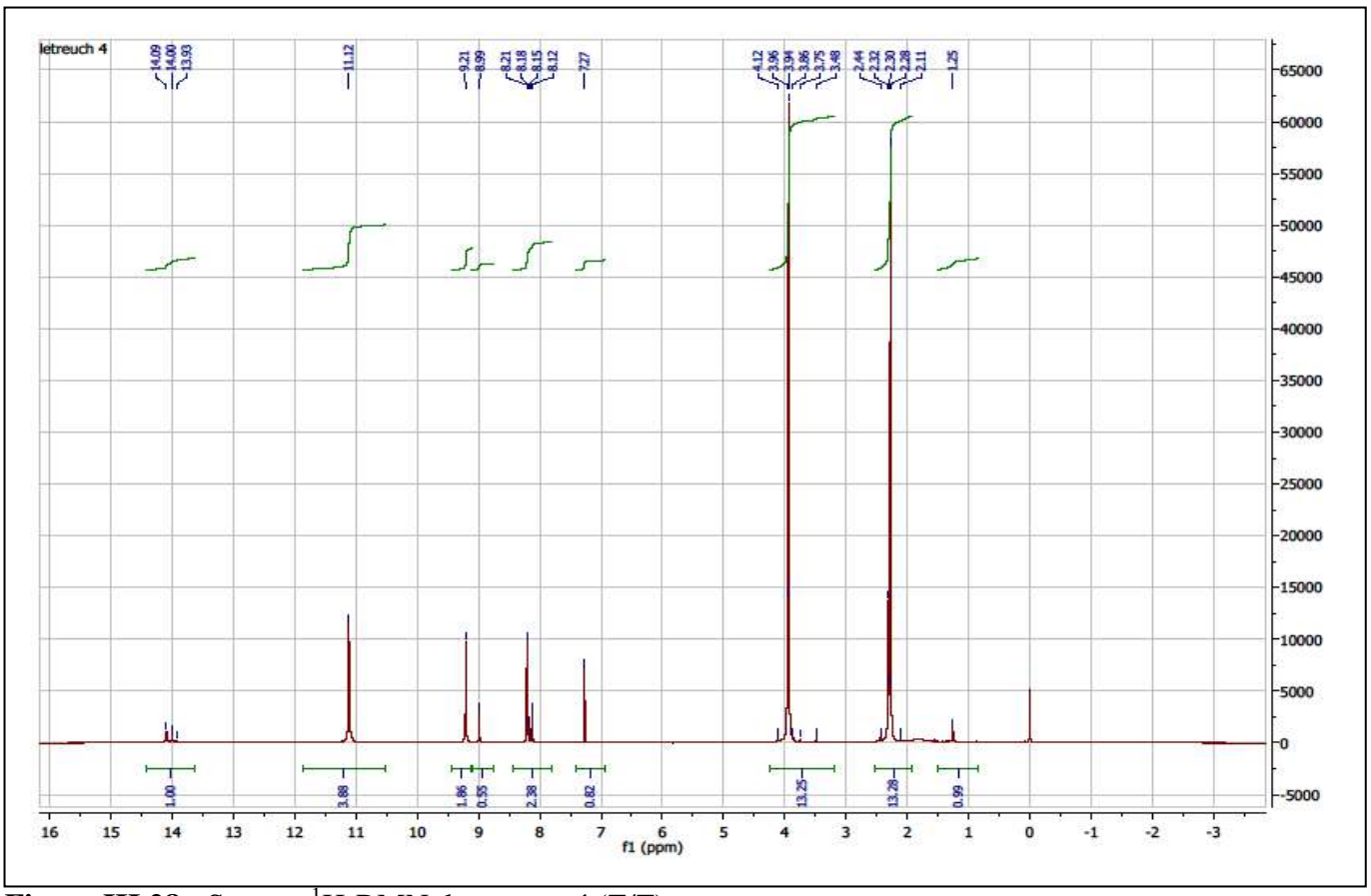


Figure III.28 : Spectre ^{1}H-RMN de composé (Z/Z)

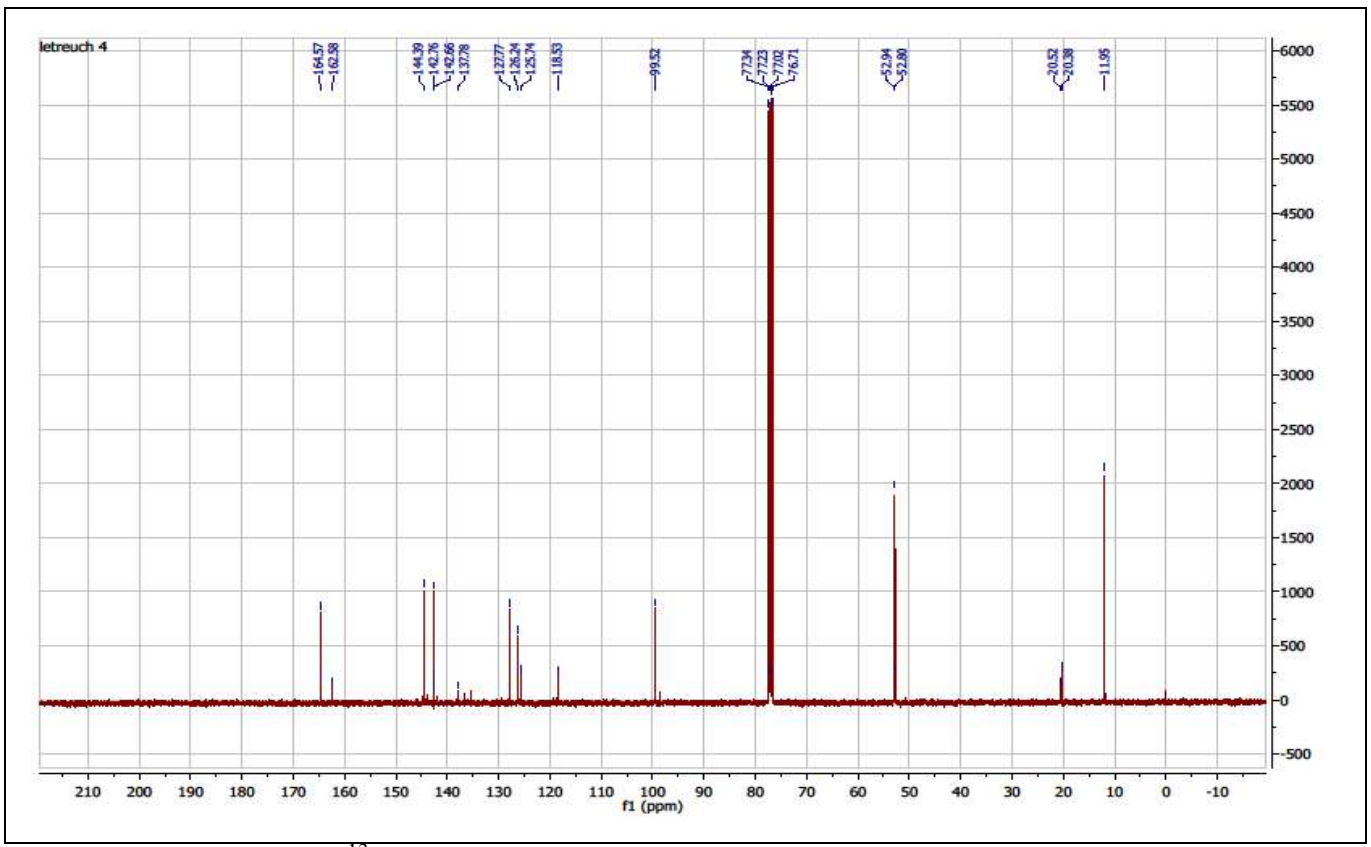


Figure III.29 : Le spectre ^{13}C-RMN de composé (Z/Z)

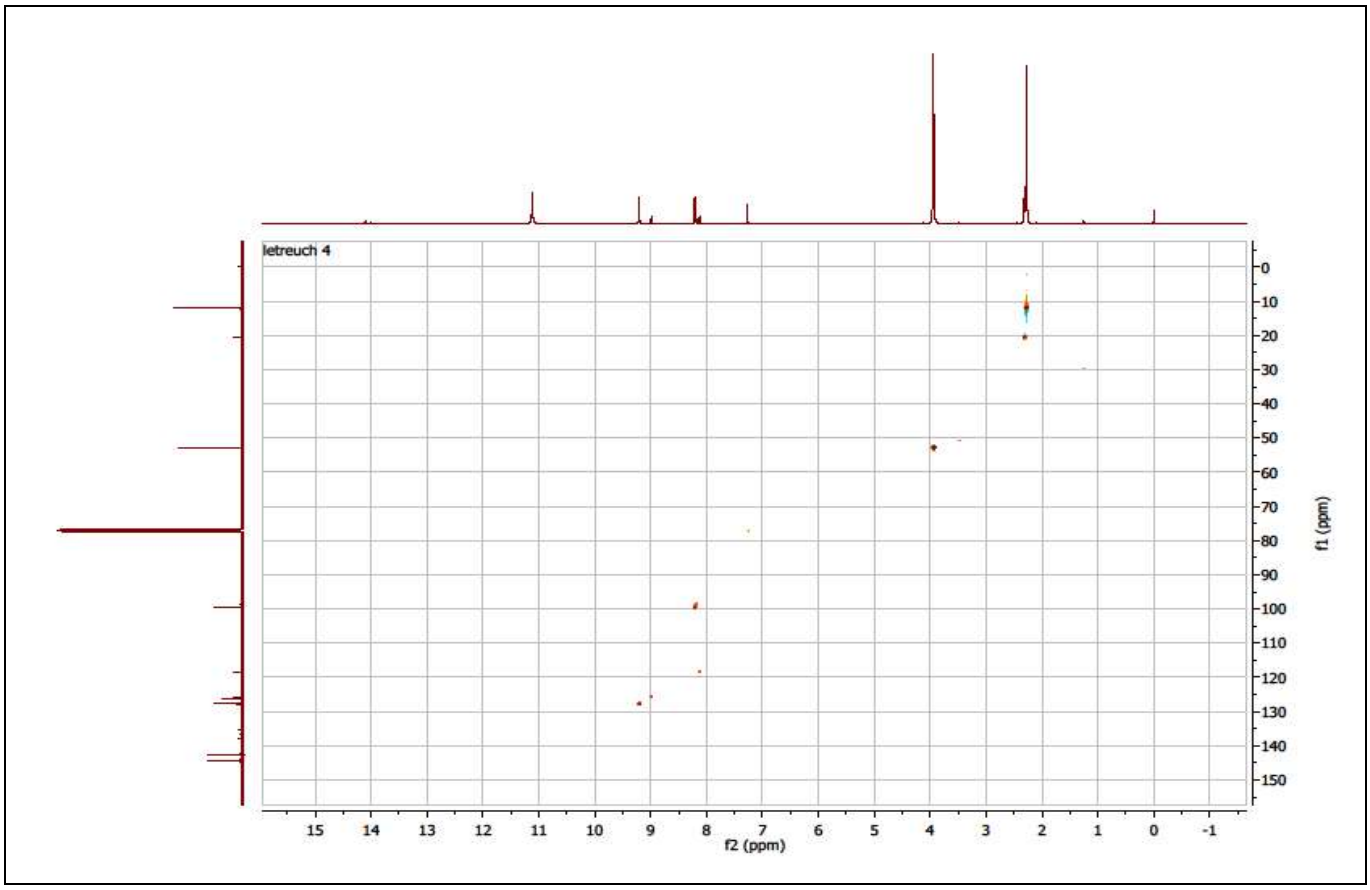


Figure III.30 : Spectre HSQC de composé (Z/Z)

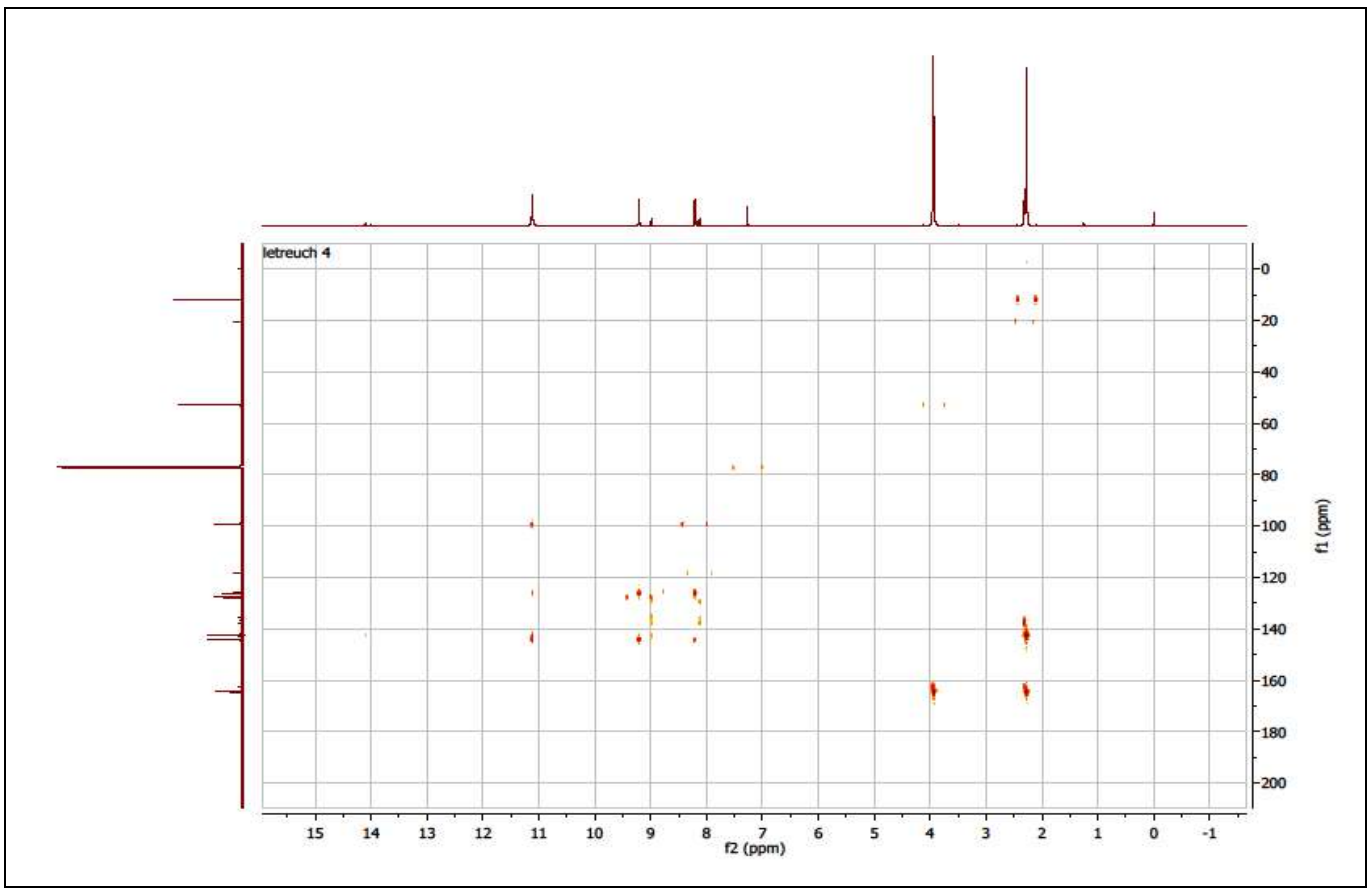


Figure III.31 : Spectre HMBC de composé (Z/Z)

Le spectre IR confirme aussi la structure du composé synthétisé avec des pics caractéristiques du groupement carbonyle (CO) à 1696 cm^{-1} ,celui du groupement NH à 3352cm^{-1} ainsi que le pic caractéristique du groupement NO_2à 1506 cm^{-1}**(Figure III.32)**.

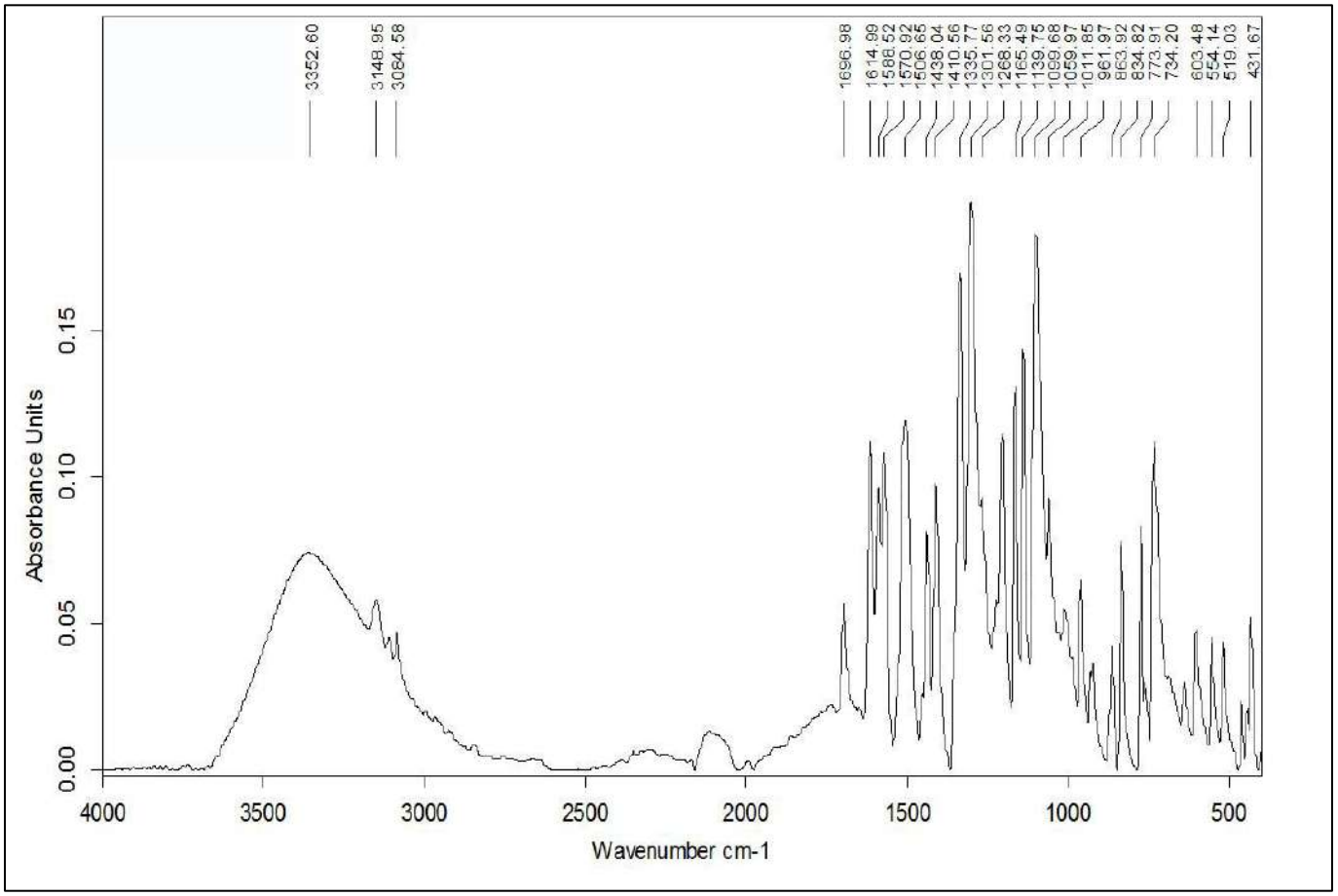
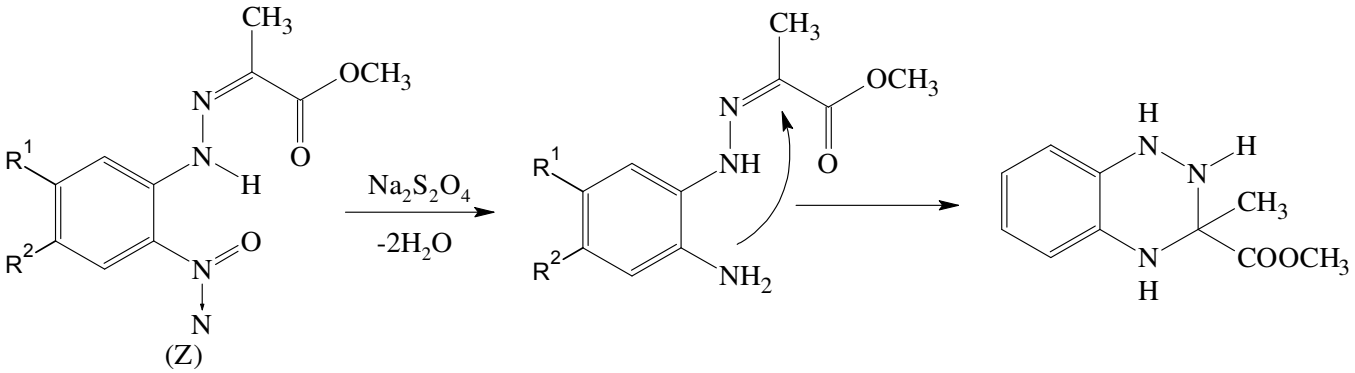


Figure III.32: Spectre IR de composé (Z/Z)

III. 3.Réductions de (Z)-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle et ses dérivés:

Deux possibilités de cyclisation réductive peuvent êtreenvisageable :

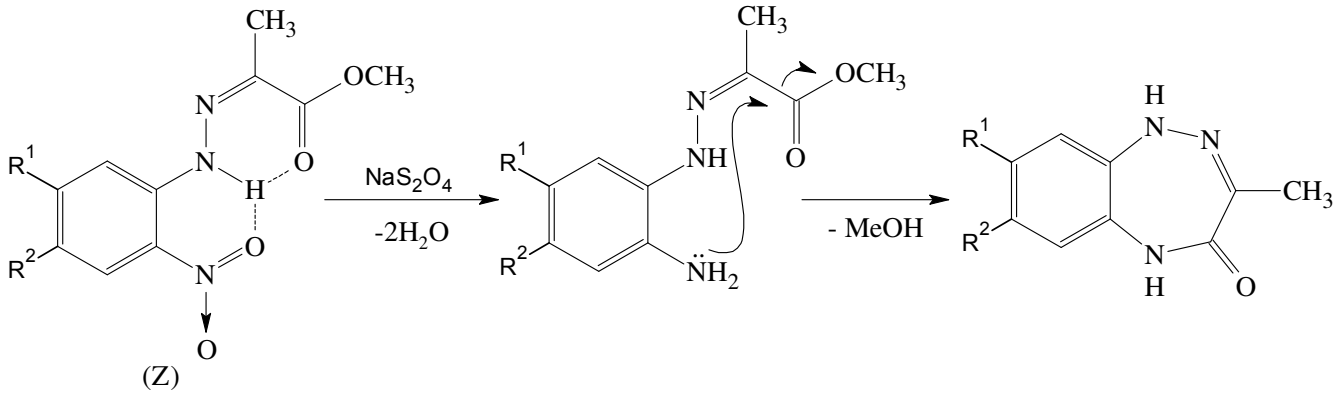
Après réduction du groupement nitro au groupement amino, une addition nucléophile sur l'atome de carbone de la liaison azométhine N=C devrait mener au dérivé 1,2,4-benzotriazine **(Schéma III.8).**



$R^1= R^2=H$; $R^1=Cl$, $R^2= H$; $R^1=CH_3$, $R^2= H$; $R^1=H$, $R^2=NO_2$

Schéma III.8:Mécanisme réactionnel de la cyclisation réductive éventuelle menant au dérivé benzotrizine

De même la réduction du groupement nitro au groupement amino, une attaque nucléophile de ce dernier sur le groupement carbonyle se trouvant en position favorable pourrait mener, avec élimination de méthanol, à un dérivé 1,2,5-benzotriazépine. (**Schéma III.9).**

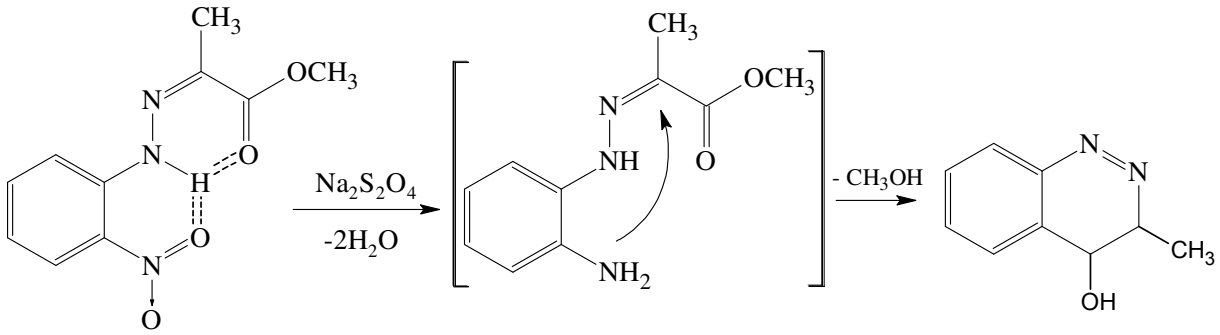


$R^1= R^2=H$; $R^1=Cl$, $R^2= H$; $R^1=CH_3$, $R^2= H$; $R^1=H$, $R^2=NO_2$

Schéma III.9: Mécanisme réactionnel de la cyclisation réductive éventuelle menant au dérivé benzotriazépine.

Les différents hydrazones (Z1-Z4) ainsi que le bis hydrazone ont subit des réactions de réduction par ledithionite de sodium en excés dans le but d'avoir des cyclisation menant soit au dérivés benzotriazines ,soit au dérivés benzotriazépines,on a obtenu des différents composés qu'on va les discuter dans ce qui suit :

La caractérisation du produit de réduction de (Z)-2-nitrophéylhydrazonopyruvate de méthyle (Z1)à montrer qu'on a obtenu un nouveau dérivé cinnoline selon le mécanisme suivant**(Schéma III.10)** :



(Z1)

Schéma III.10:Mécanisme réactionnel de la cyclisation réductive de composé (Z1)

Dans le spectre ^{1}H-RMN pris dans le DMSO-d_6 (**figure III.33)**, le signal du groupement méthyle apparait à 3,39 ppm un singulet (3H, CH_3). Les protons aromatiques sont résolus et apparaissent à 7,24 ppm un multiplet (2H, H_{arom}), 7,41un triplet (1H, H_{arom}) et 7,68 un doublet (1H, H_{arom}).

Le spectre ^{13}C-RMN pris dans le DMSO-d_6**(figure III.34)** montre 9 signaux en tout : 20,50 ppm (CH_3) ; 115,21 ; 122,99 ; 127,24 ; 129,26 ; 131,65 ; 131,91 ; 154,92 et 159,17 ppm(Harom.).

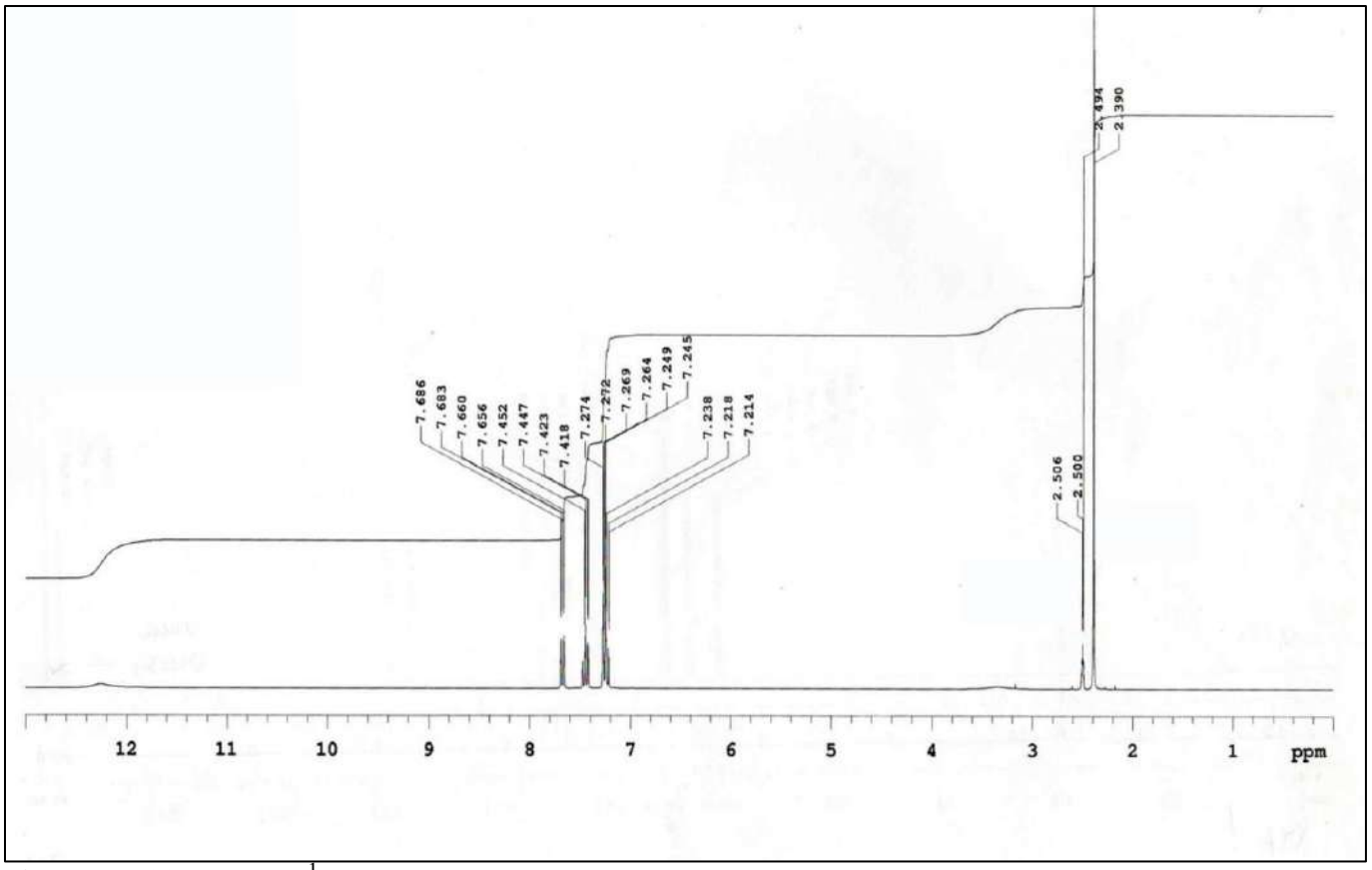


Figure III.33 : Spectre[1]H-RMN de composé (R1)

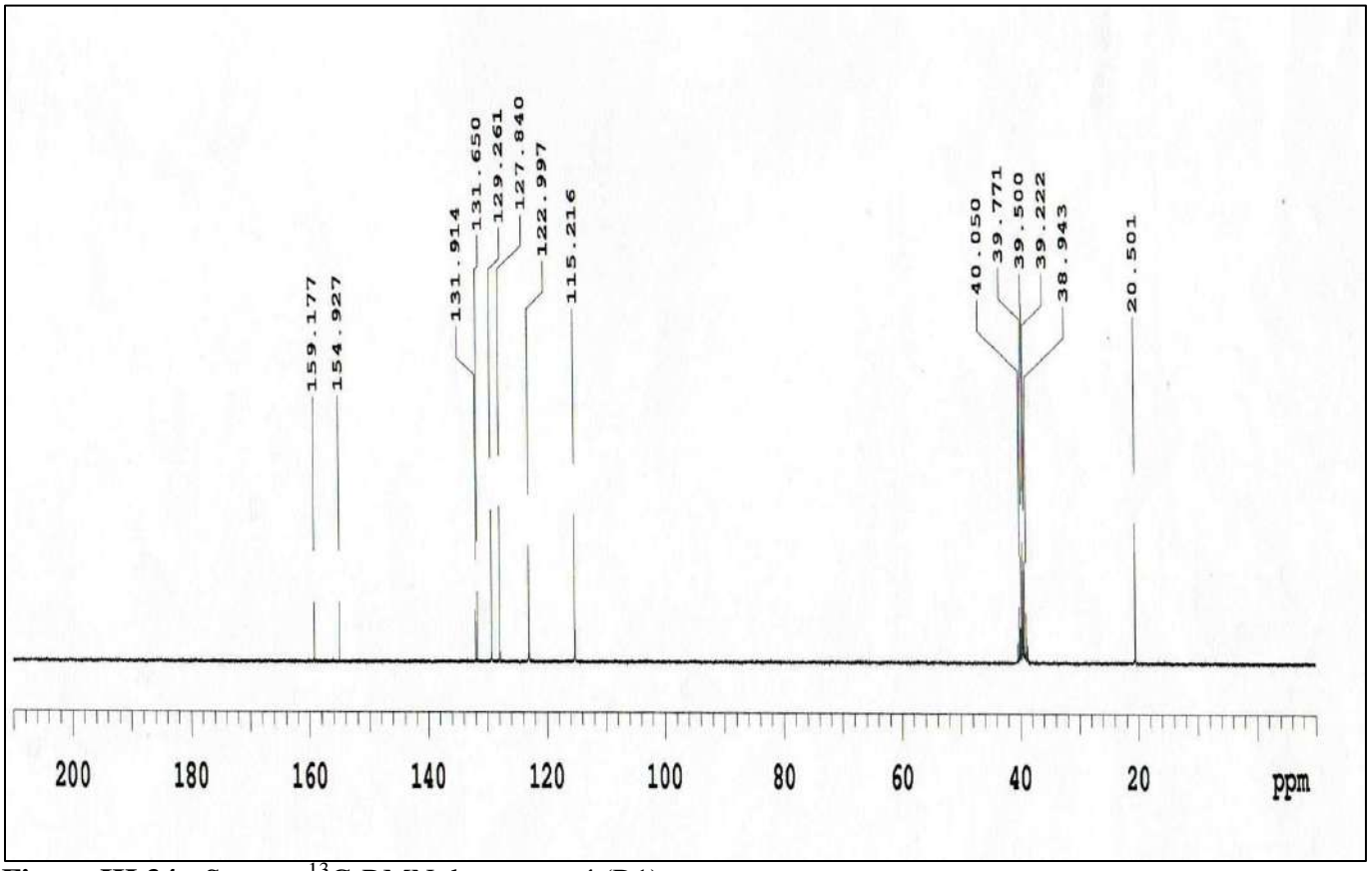


Figure III.34 : Spectre [13]C-RMN de composé (R1)

Le spectre de masse confirme la masse molaire du composé avec un pic moléculaire m/z= 160

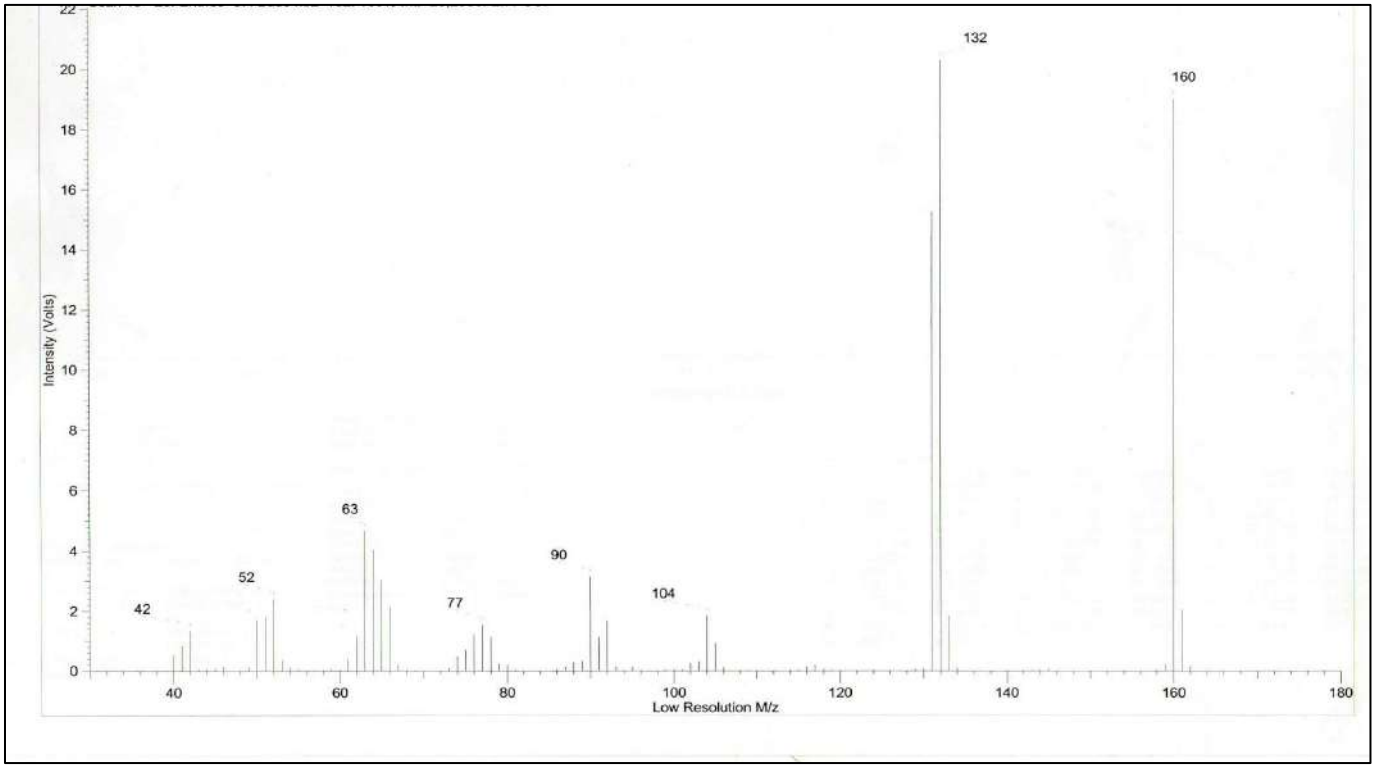


Figure III.35 : Spectre de masse de composé (R 1)

Le spectre IR (**Figure III.36***)* montre les absorptions caractéristiques du groupement carbonyle à 1669 cm^{-1} et les absorptions du groupement OH à 3446 cm^{-1}.

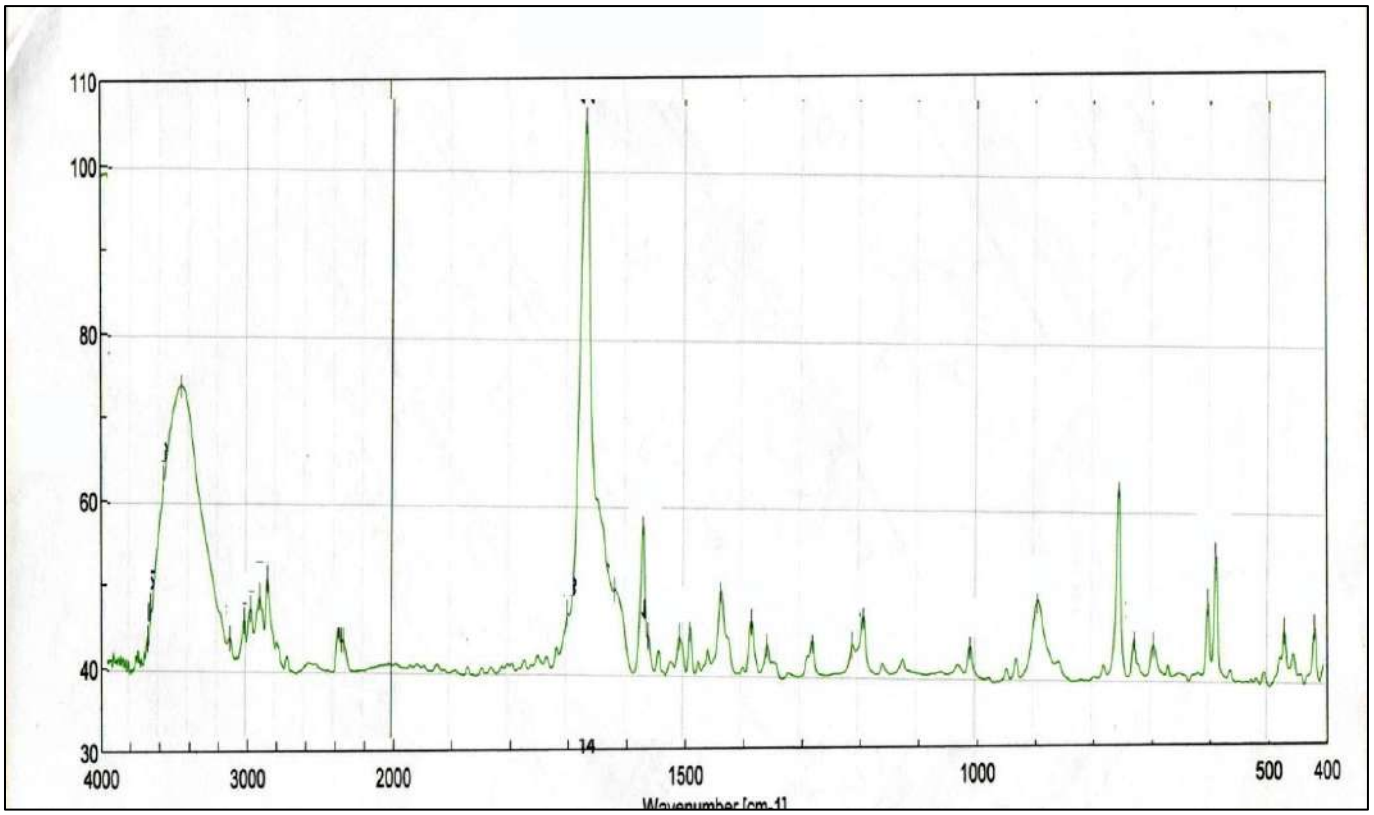
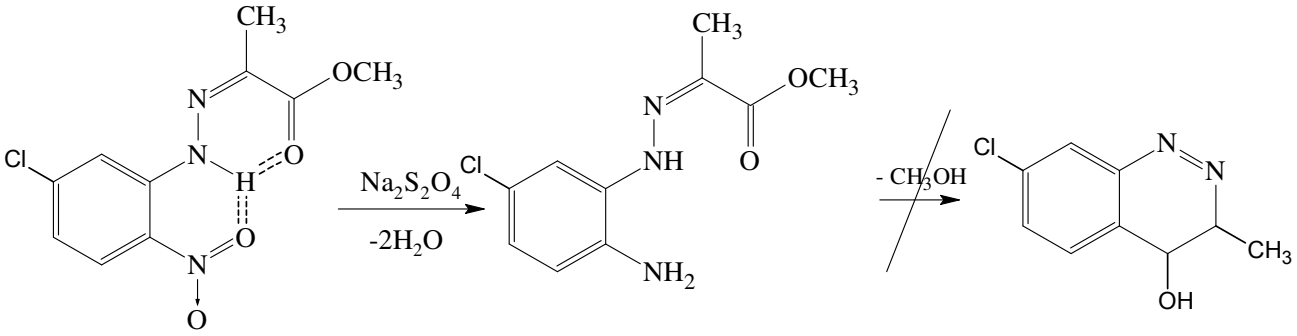


Figure III.36 : Spectre IR de composé (R 1)

La réduction de (Z)-5-chloro-2-nitrophéylhydrazonopyruvate de méthyle (Z2) àmontré, d'après les différentes méthodes spectroscopique de caractérisation, qu'on a obtenu l'amine correspondant, une cyclisation au dérivé de cinnoline n'a pas eu lieu ; d'après le mécanisme réactionnel suivant :



(Z2)

Schéma III.10: La réduction de (Z)-5-chloro-2-nitrophéylhydrazono npyruvate de méthyle

Dans le spectre ^{1}H-RMN pris dans le DMSO-d_6, (**figure III.37**), le signal du groupement méthyle apparait à 3,39 ppm, un singulet (s,3H, CH_3). Les protons aromatiques sont résolus et apparaissent à 7,24 ppm un multiplet (2H, H_{arom}), 7,41un triplet (1H, H_{arom}) et 7,68 un doublet (d,1H, H_{arom}), un singulet à 12,2 ppm (s,NH).

Le spectre ^{13}C-RMN pris dans le DMSO-d_6(**figure III.38)** montre 20,50 ppm (CH_3) ; 115,21 ; 122,99 ; 127,24 ; 129,26 ; 131,65 ; 131,91 ; 154,92 et 159,17 ppm (C_{arom}).

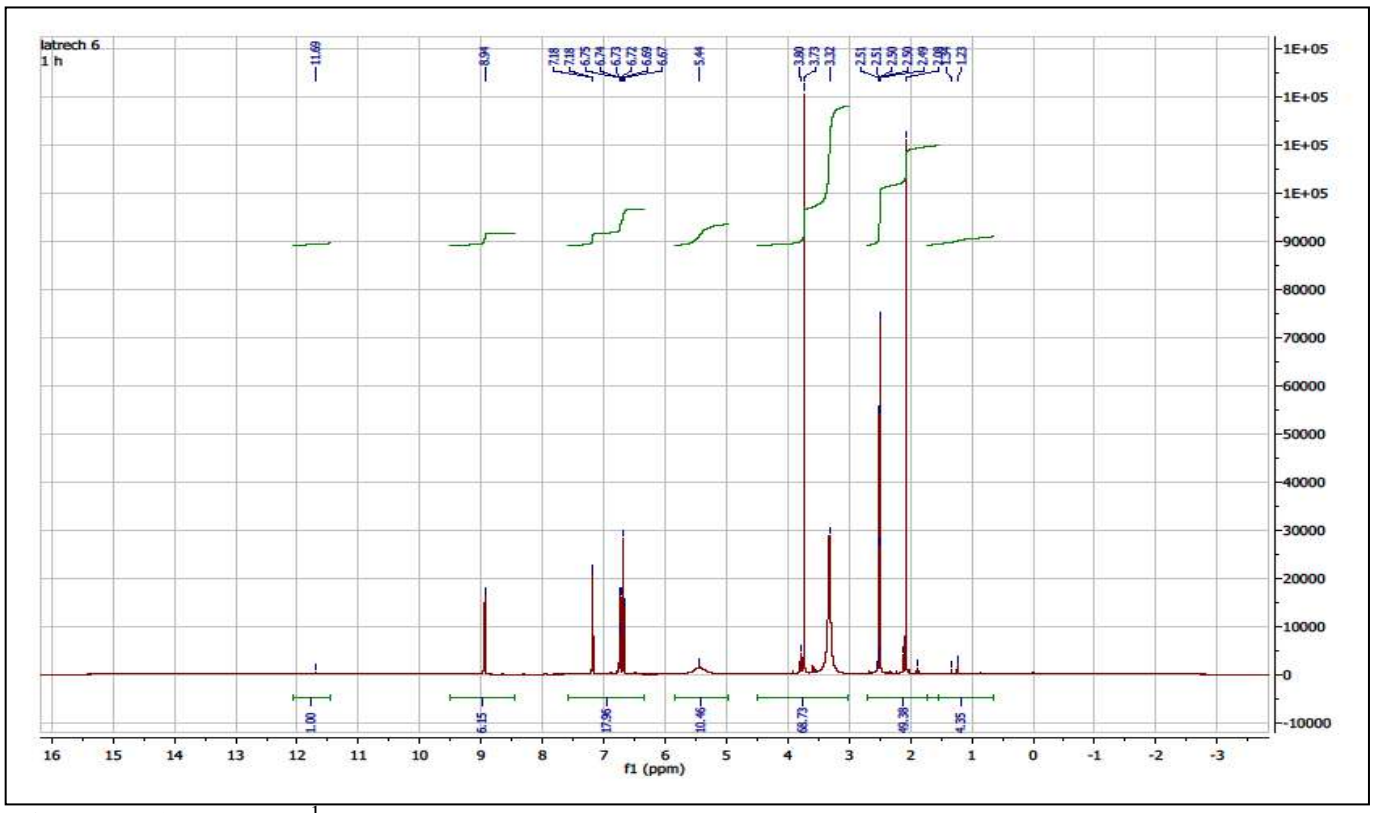


Figure III.37 : Spectre ^{1}H-RMN de composé (R 2)

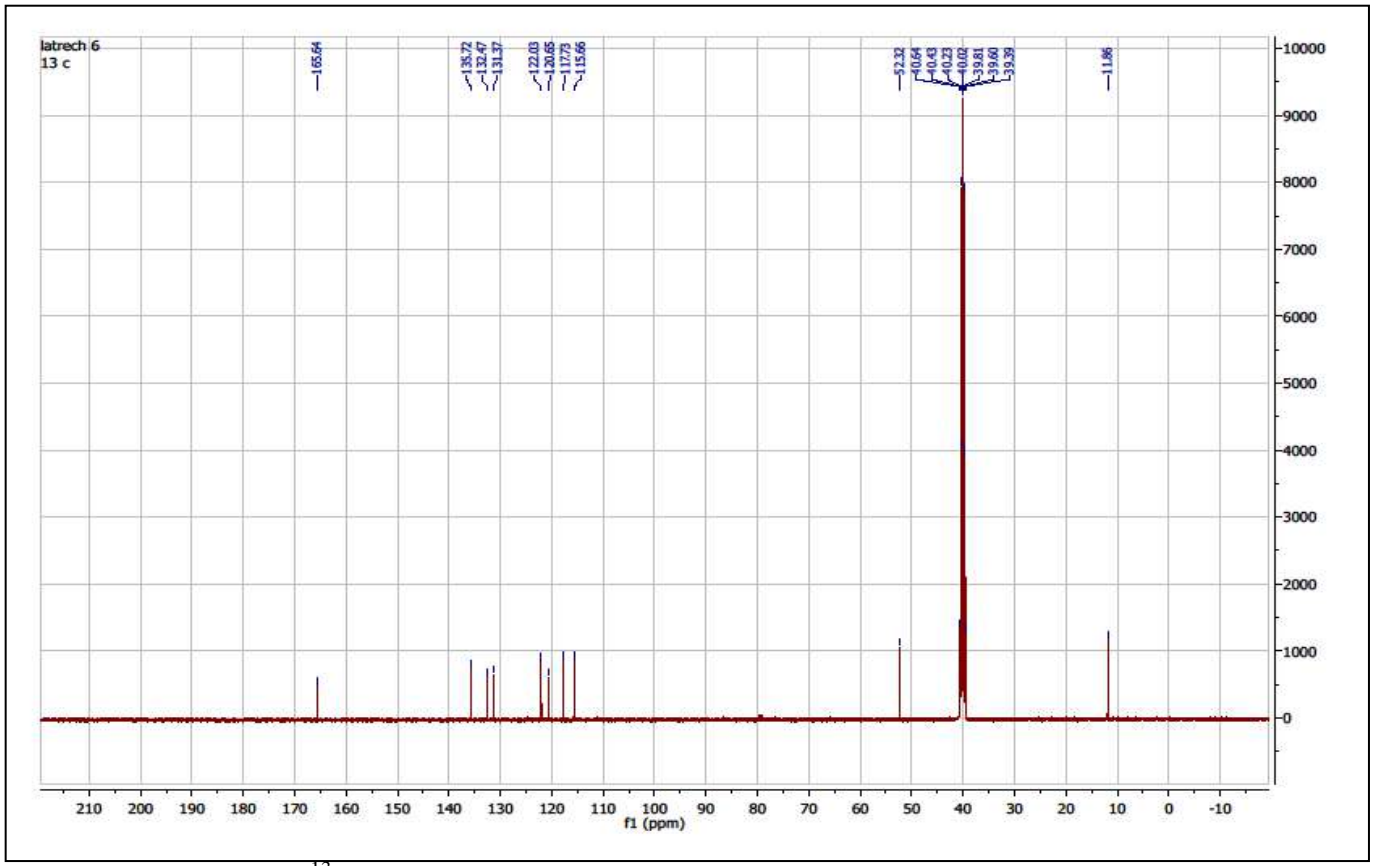


Figure III.38 : Spectre ^{13}C-RMN de composé (R 2)

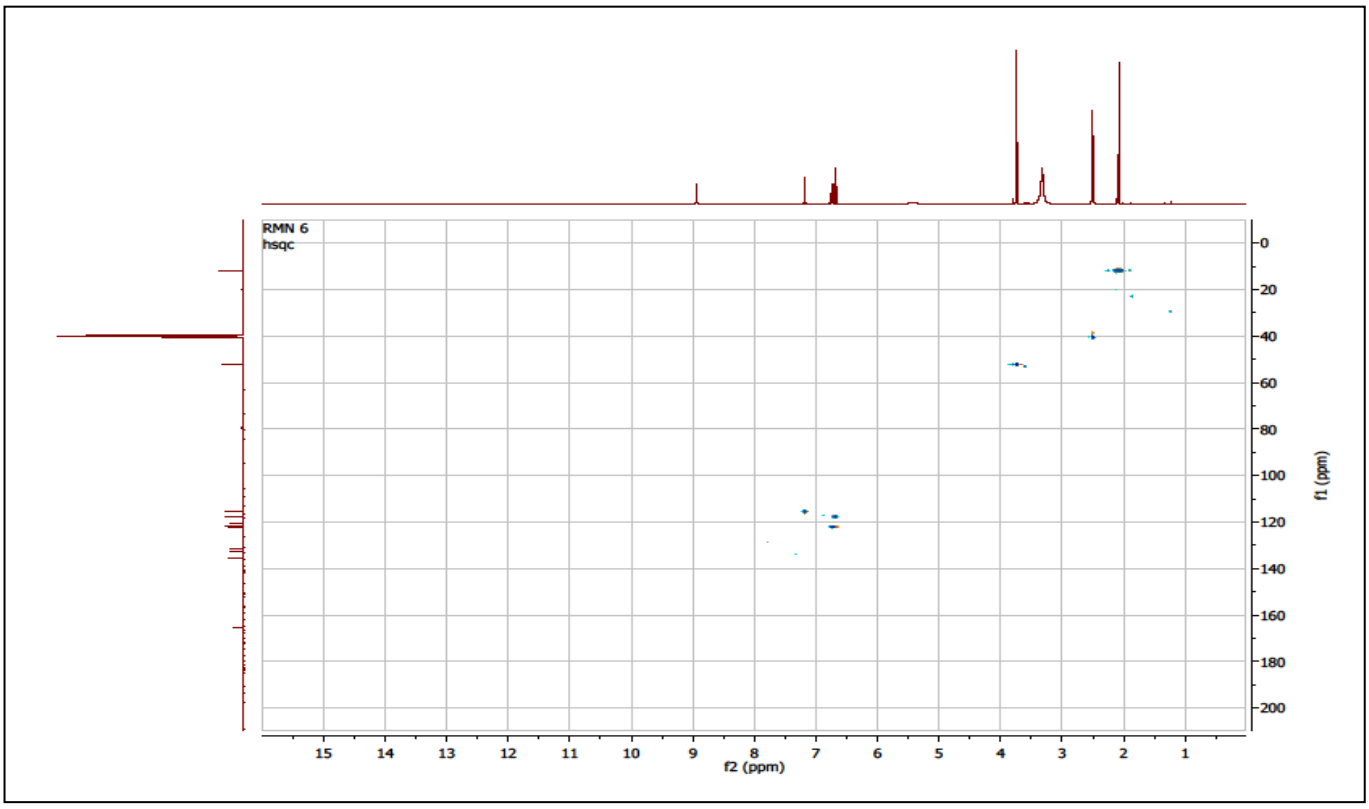


Figure III.39 : Spectre HSQC de composé (R2)

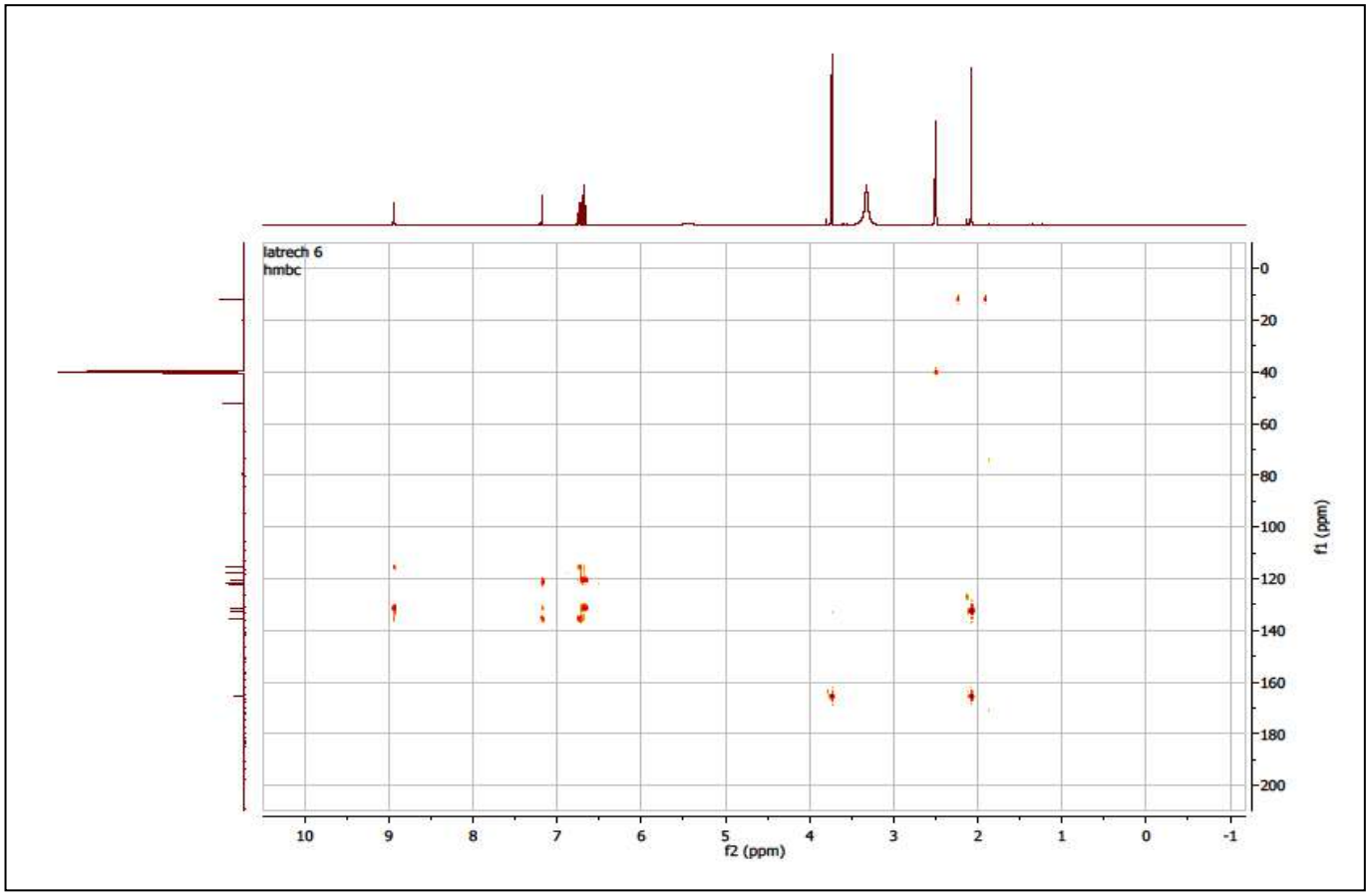


Figure III.40 : Spectre HMBC de composé (R2)

Le spectre IR (**Figure III.41***)* montre les absorptions caractéristiques du groupement carbonyle à 1761,36 cm^{-1} et les absorptions du groupement NO_2 à 1497,60 cm^{-1}, NH à 3285,70 cm^{-1} et NH_2 à 3401,54 cm^{-1} .

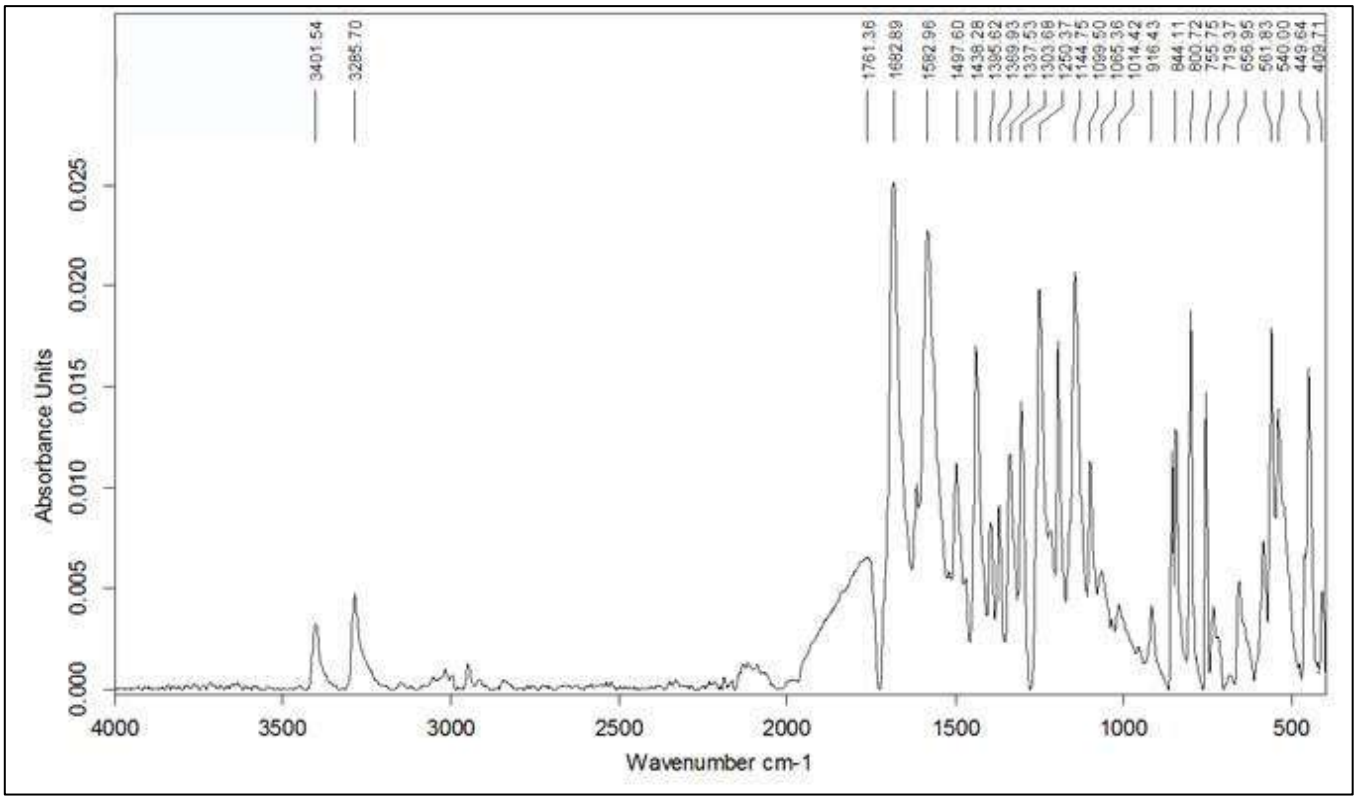
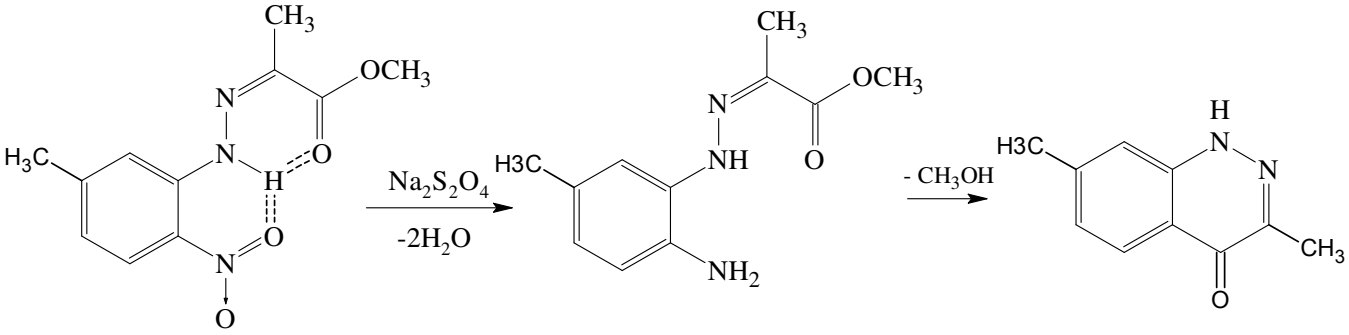


Figure III.41 : Spectre IR de composé (R 2)

En ce qui concerne lecomposé(Z3),la caractérisation a montré qu'on a obtenu aussi un dérivé de cinnoline selon le mécanisme réactionnel suivant :



(Z3)

Schéma III.11 :Mécanisme réactionnel de réduction de (Z)-5-méthyl-2-nitrophénylhydrazono pyruvate de méthyle

Le spectre ^{1}H-RMN pris dans le DMSO-$d_6$montre le groupement méthyle à 2,65ppm (s,CH_3) un ; Les protons des groupements méthyles aromatique forment un singulet à 2,30 ppm. Tous les protons aromatiques sont résolus et se trouvent pour {**H-3:**7,67 ppm (un doublet) ; **H-4:** 7,26 ppm (un doublet) et **H-6:** 7,59 (un singulet)}; 12,14ppm (NH) **(Figure III.42).**

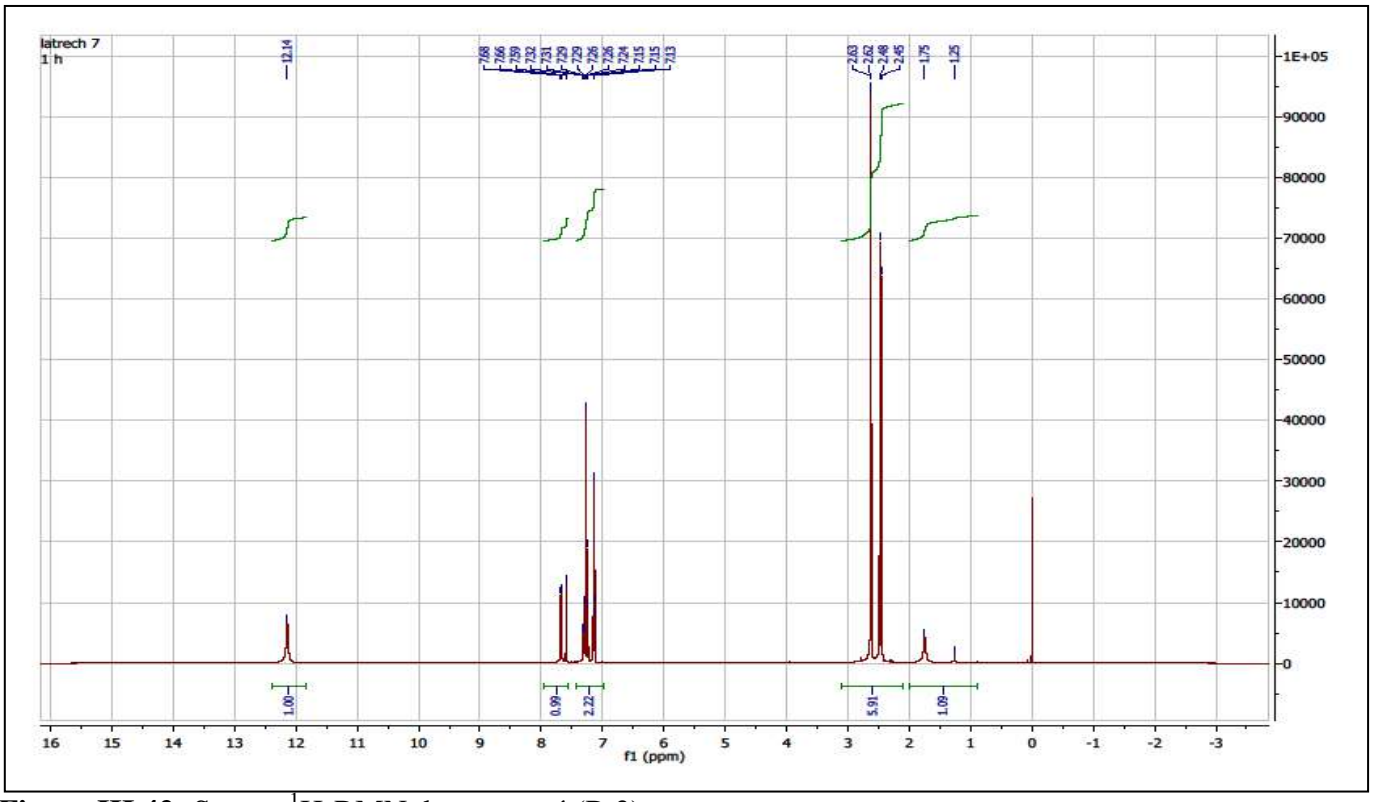


Figure III.42 : Spectre^{1}H-RMN de composé (R 3)

Le spectre^{13}C-RMN montre :20,81ppm ($CH_{3\ arom}$); 21,68 ppm (CH_3); 115,4; 125,69; 128,2; 130,9; 134,03; 140,50ppm (C_{arom}); 158,62ppm (C=O), **(Figure III.43).**

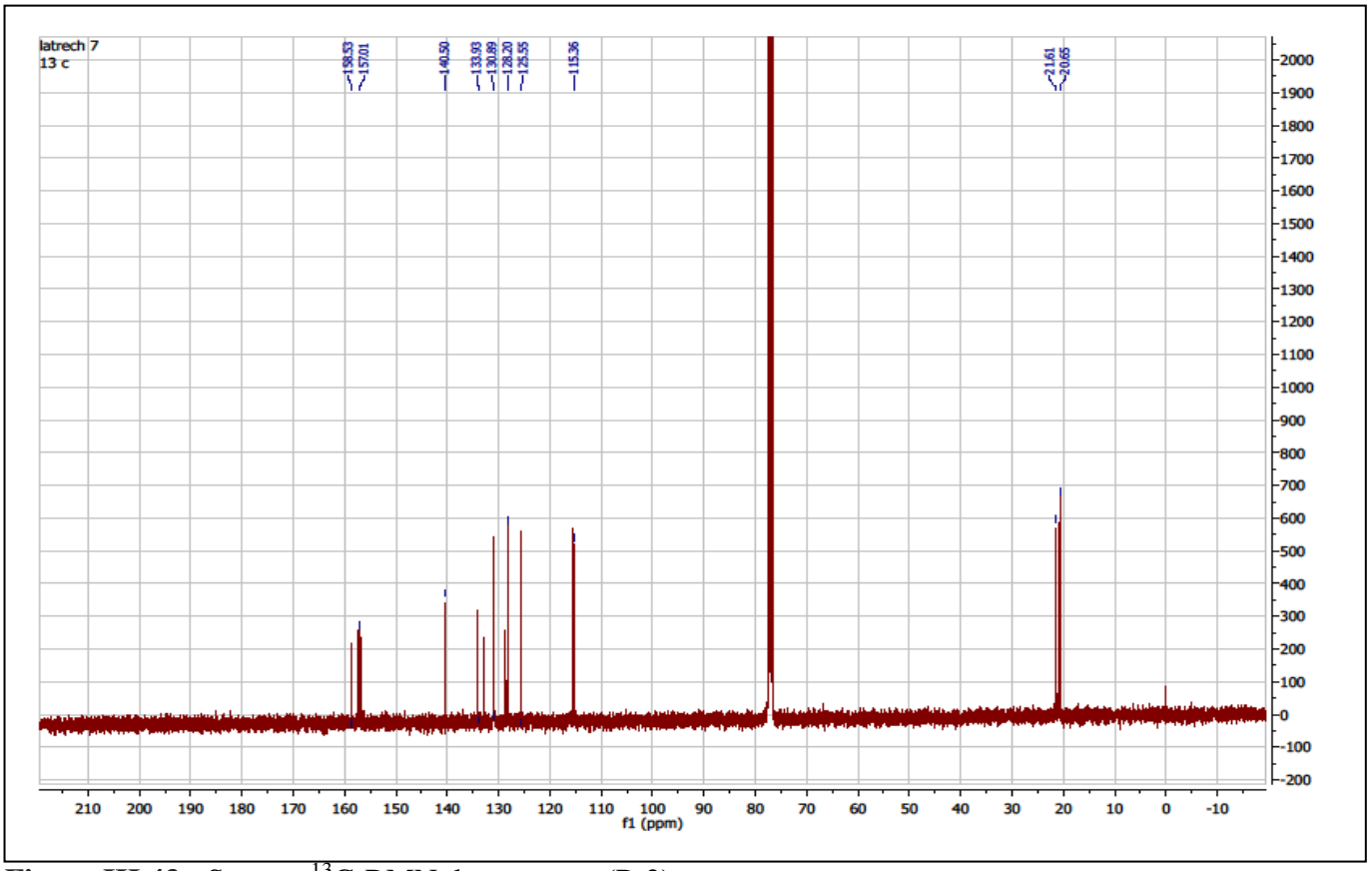


Figure III.43 : Spectre ^{13}C-RMN de compose (R 3)

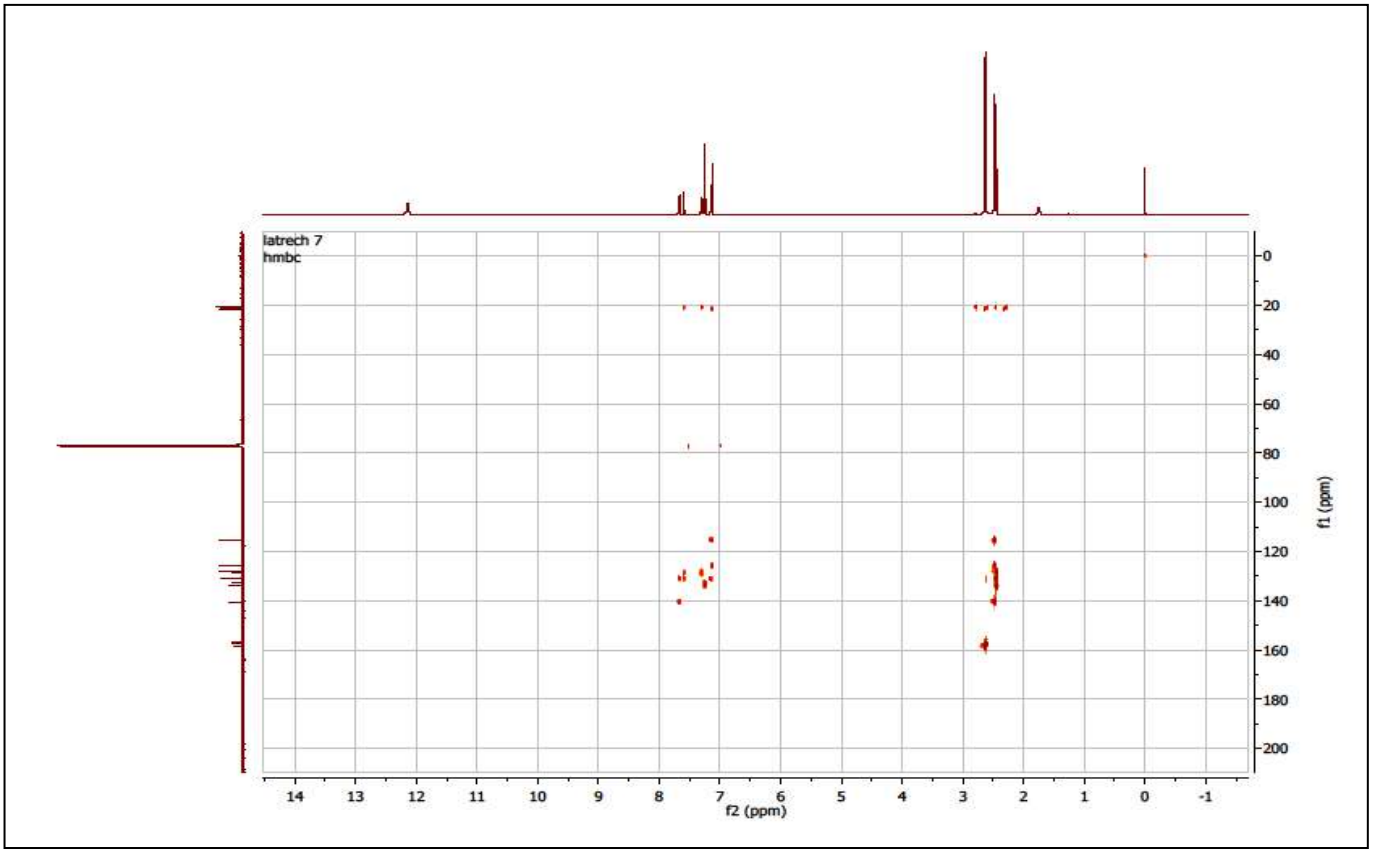


Figure III.44 : Spectre HMBC de composé (R 3)

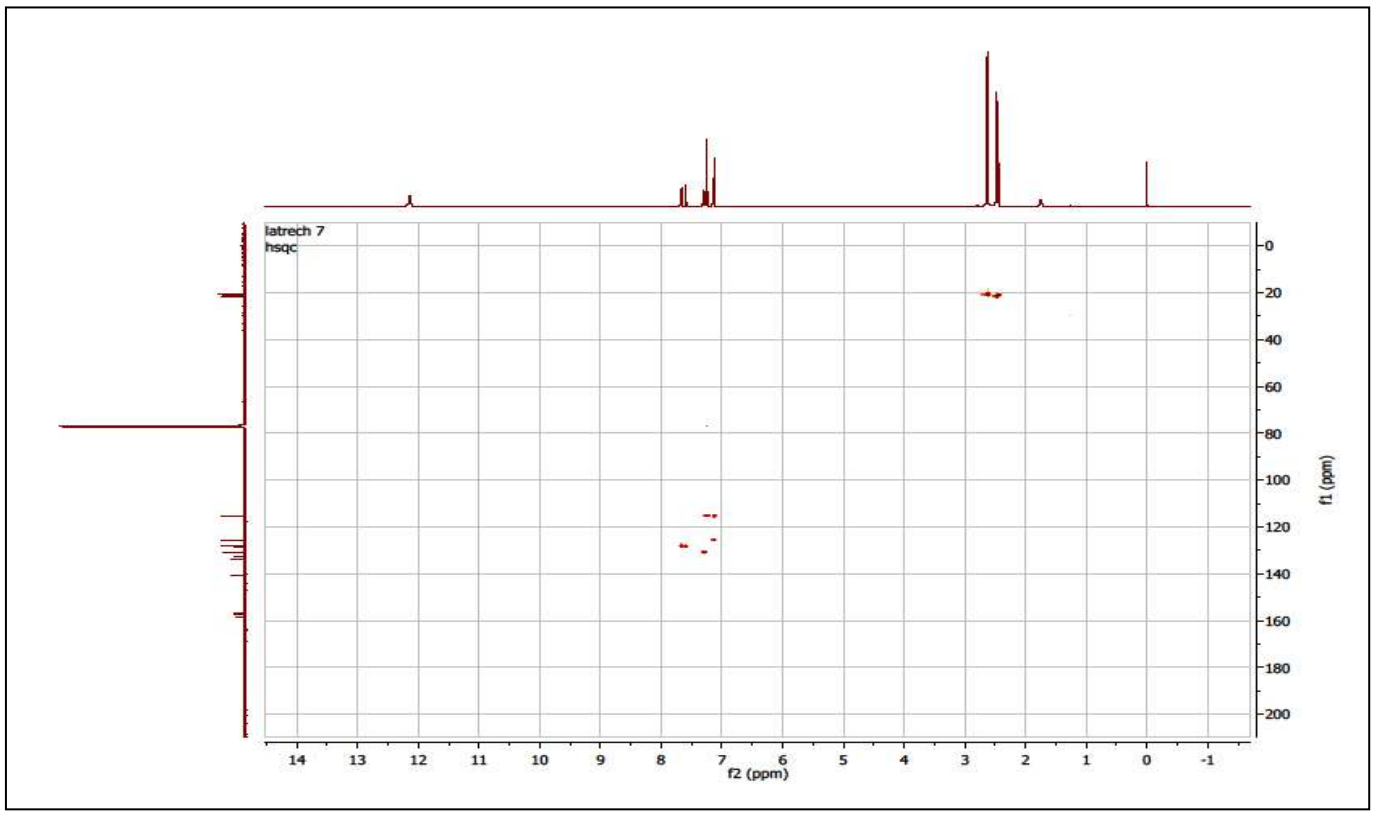


Figure III.45 : Spectre HSQC de composé (R 3)

Le spectre IR montre le pic du groupement (C=O) à 1660,64 cm^{-1} ; le (NH) à 3043,93 cm^{-1} (**figure III.46**).

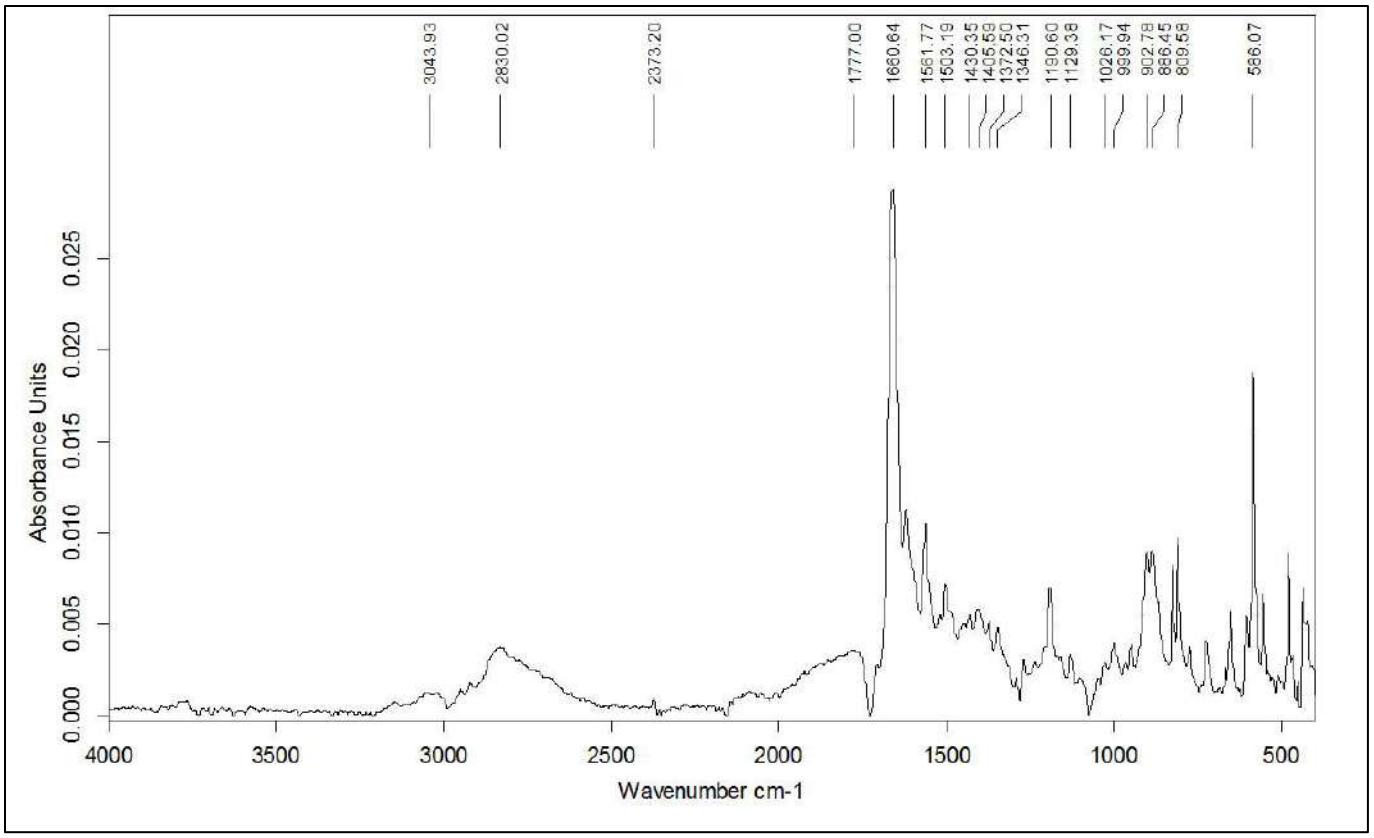
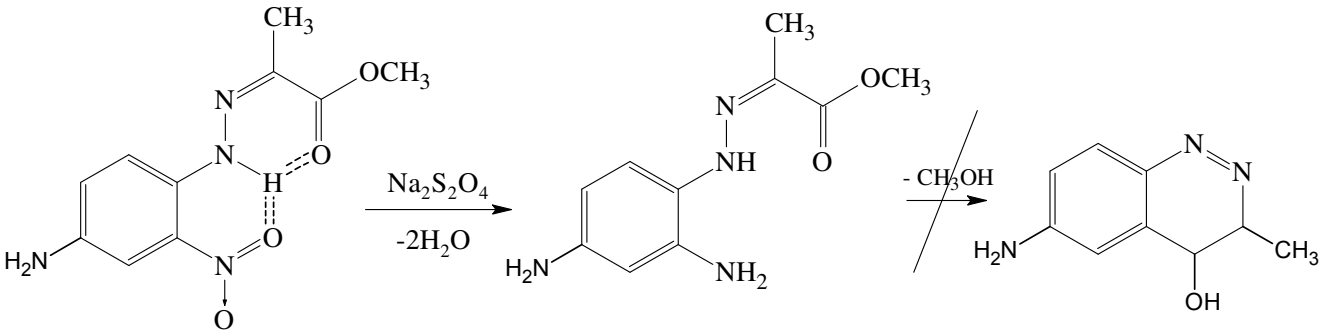


Figure III.46 : Spectre IR de composé (R 3)

La réduction du dérivé nitré (Z4)àmontréqu'on a obtenu l'amine correspondant, une cyclisation au dérivé de cinnoline n'a pas eu lieu ; d'après le mécanisme réactionnel suivant suivant :



(Z4)

Schéma III.11 : La réduction du dérivé nitré (Z 4)

Le spectre ^{1}H-RMN dans le $CDCl_3$montre le groupement méthyle un singulet à 2,32ppm (s,3H,CH_3); Les protons des groupements méthoxy forment un singulet à 2,30 ppm (s,3H,OCH_3) , Tous les protons aromatiques sont résolus et se trouvent pour {**H-3:**9,15 ppm (un singulet) ; **H-4:** 8,14 ppm (un doublet) et **H-6:** 8,35 (un singulet)}; 14,20ppm (NH) **(Figure III.47).**

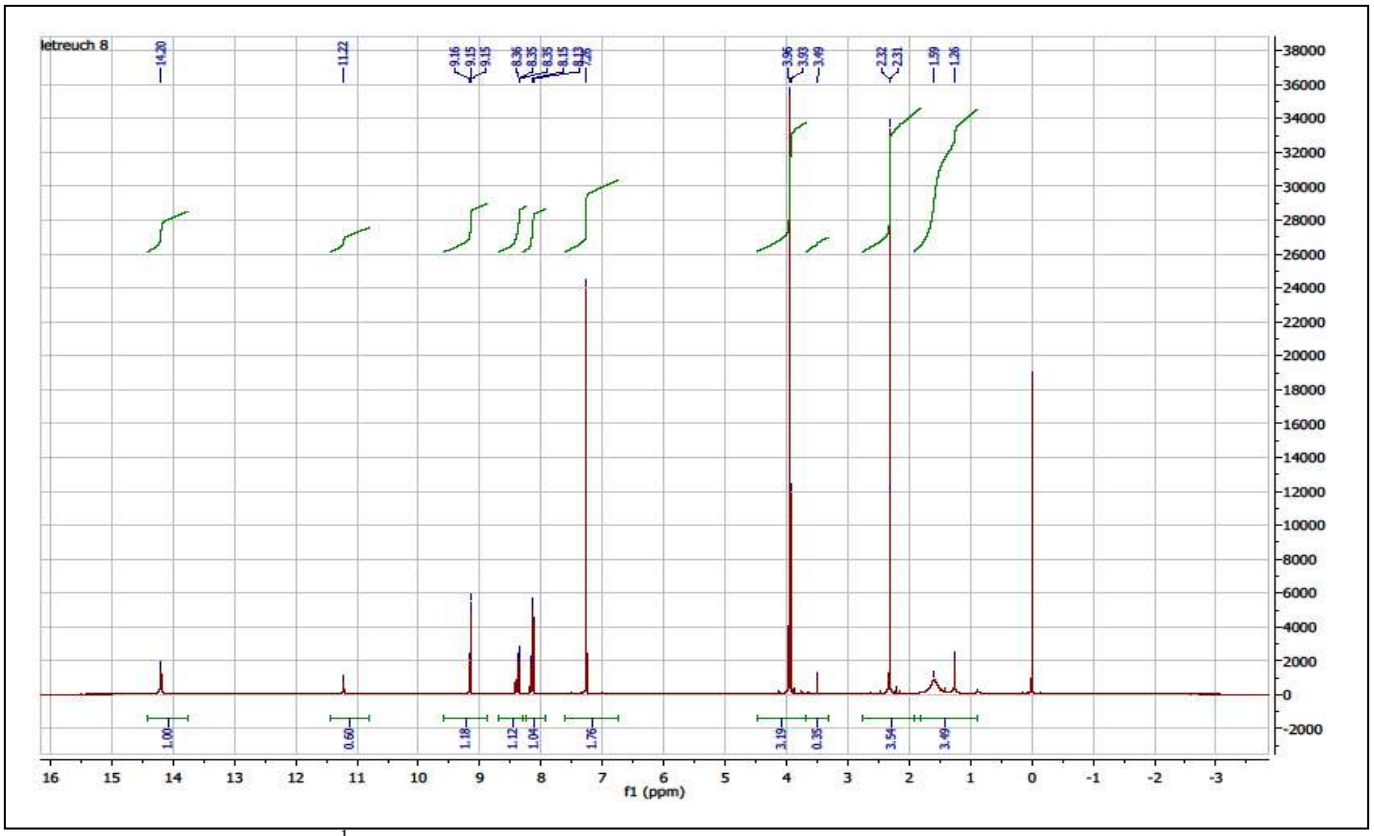


Figure III.47: Le spectre ^{1}H-RMN de comosé(R 4)

Le spectre ^{13}C-RMN dans le $CDCl_3$ montre : 20,37 ppm à (CH_3); 52,91 ppm (OCH_3); entre 116,38 et 136,93 ppm (C_{arom}) et 144,22 ppm à (N=C) , 162,55 ppm à (CO_2) **(Figure III.48)**

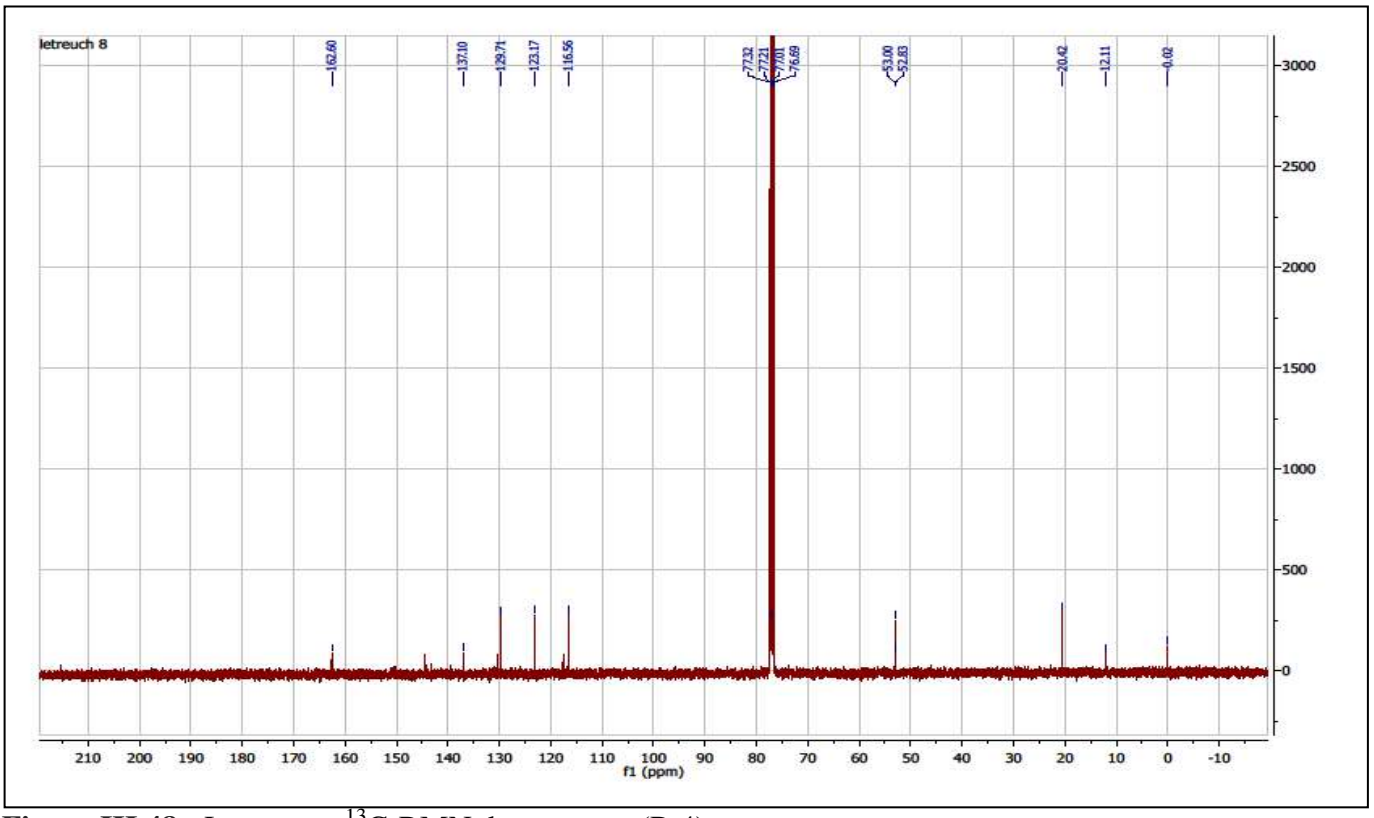


Figure III.48 : Le spectre ^{13}C-RMN de compose (R 4)

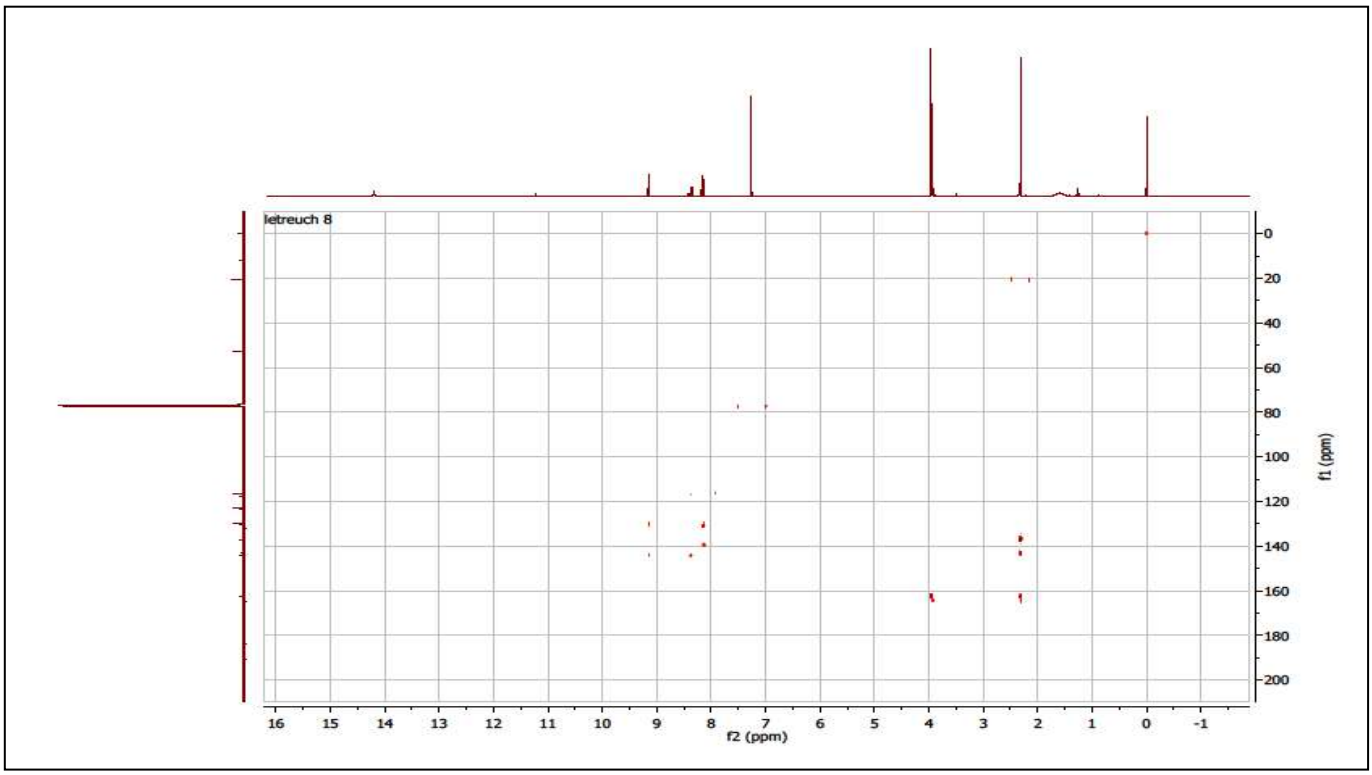


Figure III.49 : Spectre HMBC de composé (R 4)

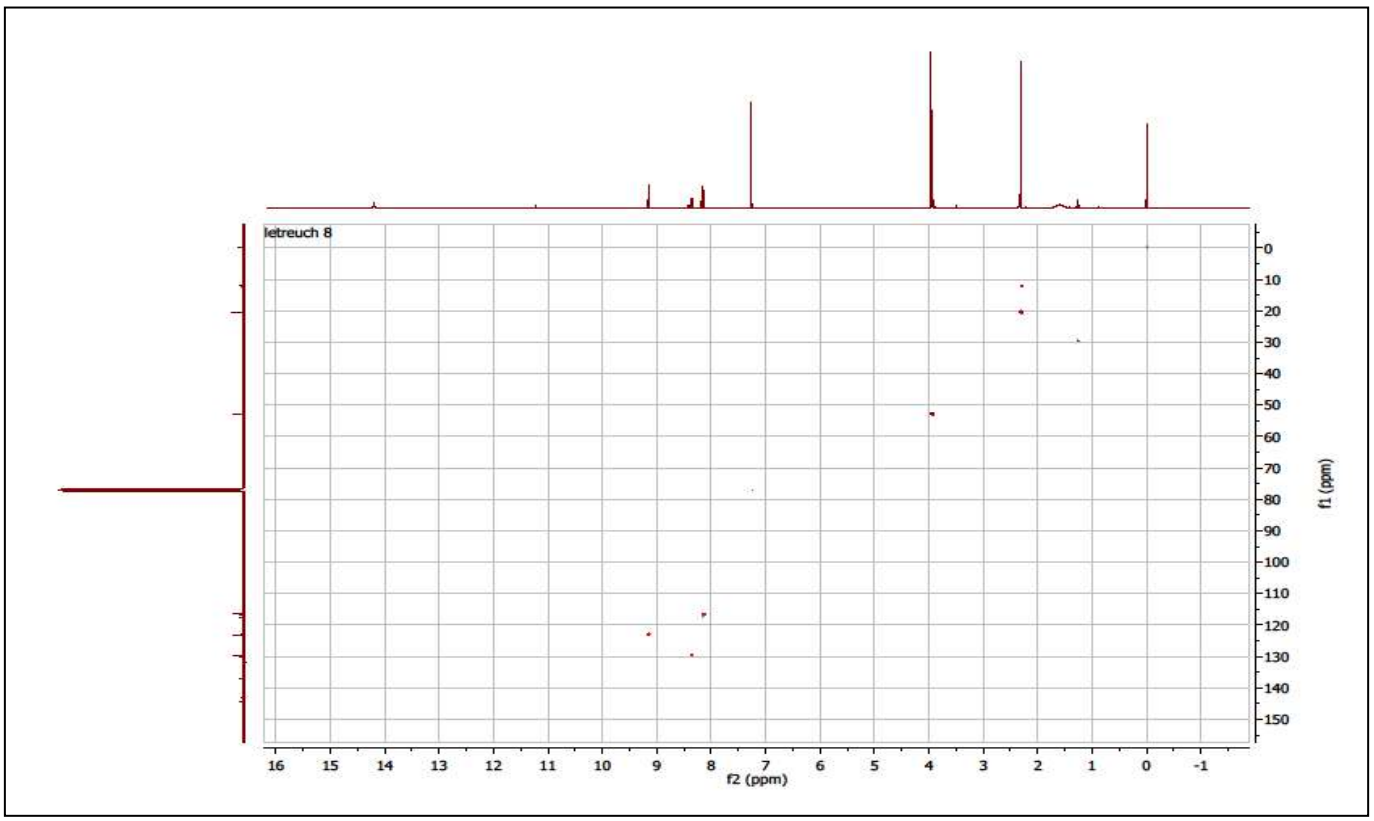


Figure III.50 : Spectre HSQC de composé (R 4)

Le spectre IR montre le pic du groupement (C=O) à 1696,67 cm^{-1} ; le (NH_2) entre 3306,64 et 3392,25 cm^{-1} et le (NH) à 3146,81 cm^{-1}**(Figure III.51)**.

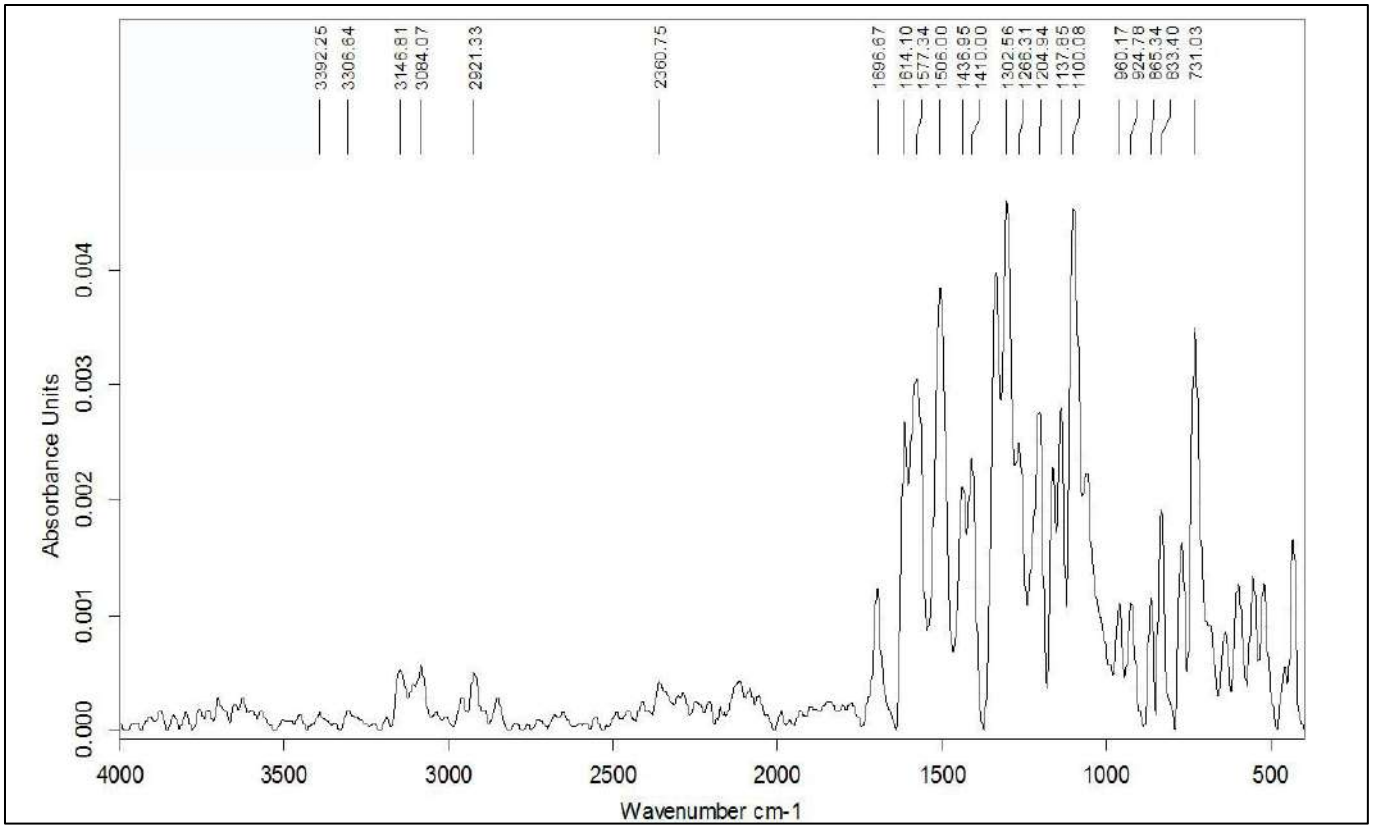


Figure III.51 : Spectre IR de composé (R 4)

La réduction du bishydrazone (Z/Z) à meait aussi à l'amine correspondant seulement selon le spectre IR qui montre le pic du groupement (C=O) à 1690,93 cm^{-1} et le (NH_2) entre 3401,39 et 3495,15 cm^{-1}**(Figure III.52)**.

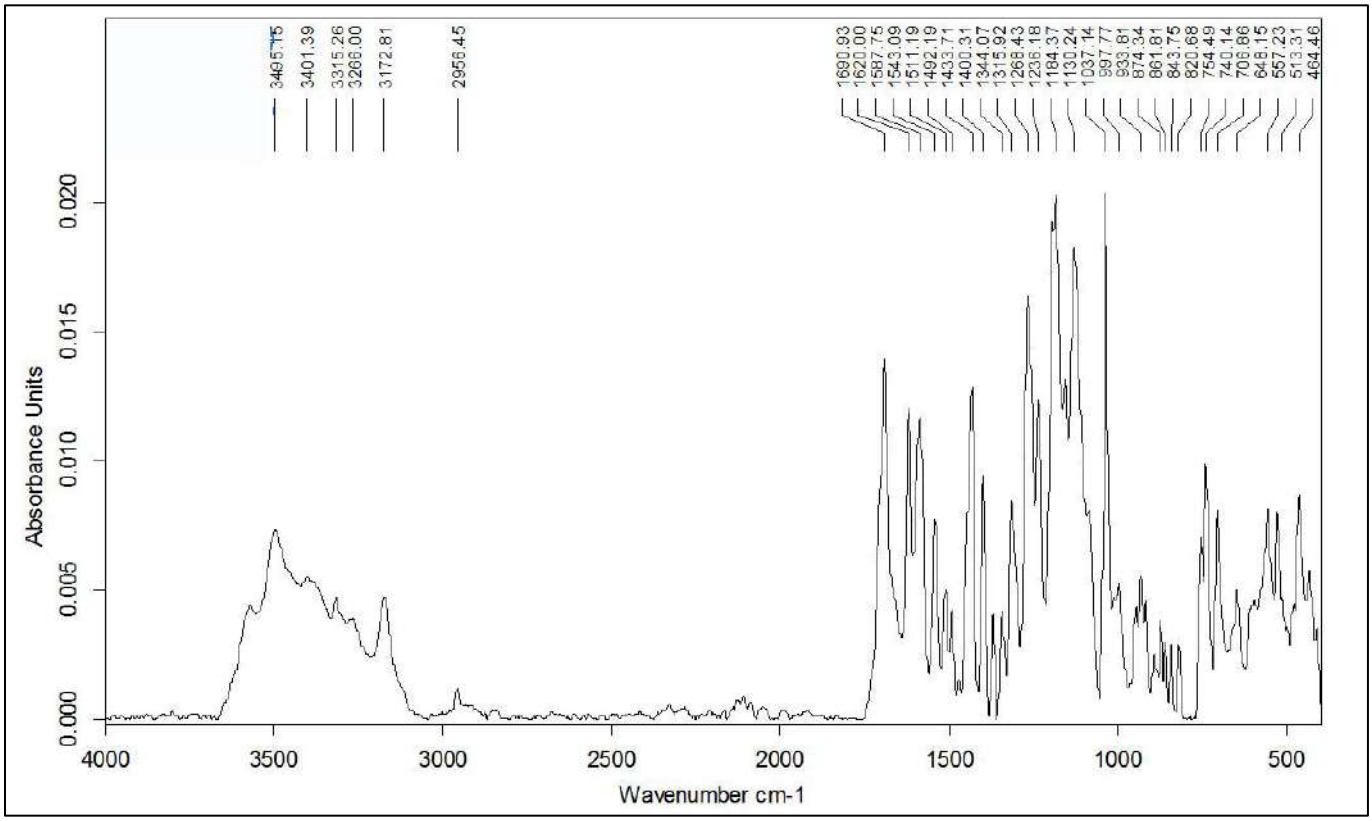


Figure III.52 : Spectre IR de composé (R /R)

III.4. L'activité biologique

III.4.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La valeur de concentration minimale inhibitrice (CMI) des composés testés, définiecomme la concentration la plus petite de produit qui empêche la croissance visible [68]La technique de dilution est utilisée pour déterminer la concentration minimaleinhibitrice (CMI) des composés synthétisés [69].

Différentes dilutions sont préparées à partird'une solution mère de 20 mg/mL, selon les dilutions suivantes : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32.

III.4.2 Technique en milieu solide (méthode de la diffusion en disque) :

La diffusion de l'argent antimicrobien dans le milieu de culture ensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien. Quand la concentration de l'antimicrobien devient si diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée.

Le diamètre de cette zone d'inhibition autour du disque de l'antimicrobien estcorréléeavec la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la combinaison particulière bactérie/antimicrobien, la zone d'inhibition correspond inversement à la CMI de l'essai.

Généralement, plus la zone d'inhibition est importante, plus la concentration d'antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne des organismes est faible.

La mesure des zones d'inhibition peut être manuelle.

III.4.3 Technique en milieu liquide (méthode de dilution) :

Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérietestée (la CMI habituellement exprimée en (mg/ml ou mg/l).

- La dilution en bouillon :

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macro dilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de micro titration (micro dilution).

L'utilisation de ces plaques avec un protocole documenté. Y compris les précisions sur les micro-organismes de référence appropriée, peut faciliter la comparaison des résultats entre analyses.

- La dilution en gélose :

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de 2 en 2, suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boite.

III.4.4 Méthode utilisées :

La méthode utilisée est méthode de VINCENT (JACOBETALE. 1979) ainsi des disques, de papier filtre de 9 mm de diamètre, sont imprégnés d'une faible quantité de nos échantillons, puis déposés à la surface d'un milieu de MUELLER-HINTON, coulé en boites de pétri préalablement ensemencée en surface en nappe l'aide d'une suspension de la bactérie étudiée. Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre, en mm, de la zone d'inhibition. Pour la préparation des inoculums, on a utilisé la méthode dite d'antibiogramme (méthode de la SFM Société Française Microbiologie).La technique d'antibiogramme utilisée est celle de la diffusion de disque en gélose conçus par CHABBET en 1973.

- **Préparation de l'inoculums :**

La méthode préparation des inoculums est celle préconisée par la SFM (communiqué de 2005) qui consiste à préparer, à partir d'une culture de 18-24h de la bactérie étudiée sur le milieu gélose, une suspension en solution saline (0,9%NaCl) équivalente au standard Mc FARLAND 0,5(~10^8UFC/ ml). Cette suspension peut être obtenue par la mesure de la densité optique (D.O) allant de 0,08 à 0,1 lue à 625nm (standardisation de l'antibiogramme selon L'OMS, 1999).

Par la suite, on prend 1ml de la suspension de l'inoculum, on l'étale par inondation à la surface d'une boite de pétré contenant de la gélose de MUELLER –HINTON, on déverse l'excès, ce que correspond à une densité de 10_6 à10_8 UFC/Ml et on laisse sécher la boite de pétri dans la zone septique du bec bunsen.

- **Distribution des disques :**

Des disques de papier filtre (diamètre de 9 mm) sont individuellement imprégnés avec 10 pi des hétérocycles et placés sur les plaque inoculées et, après un séjour à 4 $_0$C pondant 2 h ,ils incubée à 37C° pendant 18-24 h pour les bactéries, à 35 C° pendant 48 h pour les levures et à 25C° pendant 72h pour les champignons.

Les disques standards (diamètre 9mm) de la gentamycine (Gen) (10µg) ont servis de contrôle antibactérien positif. L'activité antimicrobienne est évaluée en mesurant la zone d'inhibition contre les organismes d'essai.Chaque expérience est réalisée en triple exemplaire et le diamètre moyen de la zone d'inhibition est enregistré.

- **Méthode de préparation :**

Les diamètres d'inhibitions (DI) sont déterminés pour les souches bactériennes sensibles à des hétérocycles dans les tests de diffusion sur disque.

L'amphotéricine B (Am B) est utilisée comme médicament antifongique de référence. Les plaques inoculées sont incube à 25 C° pendant 72 h. A la fin de la période d'incubation, les plaques sont évaluées par la présence ou l'absence de croissance. Les valeurs des DI sont déterminées. Chaque test a été répété au moins deux fois.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif de ce travail était de synthétiser de nouveaux hétérocycles azotés, doués d'activité biologique, des différentes molécules par cyclisation réductive à partir des dérivés des hydrazones (Z)-2-nitrophynylhydrazono pyruvate de méthyle, ainsi que le bishydrazone(Z/Z)-1,4-dinitrophénylénhydrazonopyruvate de méthyle.Ensuite évaluer leurspouvoir anti microbien et anti fongique.

La synthèse de ces hydrazones est diastéréosélective. Ainsi la condensation des dérivés de 2-nitrophénylhydrazine avec l'ester de l'acide pyruvique dans l'alcool correspondant donne exclusivement les dérivés de (E)-2-nitrophényl hydrazono pyruvate de méthyle, qui, par traitement avec l'acide chlorhydrique concentré, se transforment complètement en dérivés (Z)-2-nitrophényl hydrazono pyruvate de méthyle.

Ces diastéréoisomères se différencient nettement par leur point de fusion et surtout par la position caractéristique de leurs signaux du proton du groupement NH dans le spectre ^{1}H-RMN.

La réduction par le dithionite de sodium des dérivés de (Z) (2-nitrophényl hydrazono pyruvate de méthyle à mené à des produits ; d'après leurs caractérisation à différents nouveaux composés.

La réduction du dérivé non substitué et du dérivé méthylé à menait a des nouvelles dérivés de cinnoline qui ne sont pas encore décrite dans la littérature.

La réduction du dérivé chloré et du dérivé nitré ont mené seulement aux amines correspondant, une cyclisation menant au dérivé cinnoline n'a pas eu lieu.

Une caractérisation ultérieure avec d'autres méthodes physiques d'analyses telles qu'une analyse élémentaire CHN et une spectroscopie de masse devra êtremené,afin de déterminer la structure exacte et finale des molécules synthétisés.

Références bibliographiques

[1]. B. Horowska , A. Ledochowski, A. Potrykus, Pol. J. Chem. **1984**, 58 , 603.

[2]. T. E. Nickson , J. Org. Chem. **51** (1986) 3903.

[3]. D. Huber , G. Andermann , G. Leclerc , Tetrahedron Lett., **1988**, 29, 635.

[4]. G. R. Ramage, G. TRAPPE ; J. Chem. Soc. **1952**, 4406.

[5]. A. Er-Rhaimini , R. Mornet , Synthesis **1988,** 154.

[6]. H. H. Hodgson , E. R. Ward, J. Chem. Soc. **1947**, 327.

[7]. H. M. Woodburn , C. F. Stuntz , Am. Soc. **1950, 72,** 1361.

[8]. R. Adams, J. H. Looker, Am. Soc, **1951, 73,** 1145.

[9]. N. A. Silk , C. N. Martin , J. Chem. Res. (S) **1987 ,** 247.

[10]. G. Just , Z. Y. Wang , L. Chan , J. Org. Chem, **1988, 53,** 1030.

[11]. B.Kohne , K. Praefcke , Liebgs Ann. Chem. **1987,** 265.

[12]. J. George , S. Chandrasekarn , Synth. Commun., **1983**, 13, 495.

[13]. R. A. Johnstone , A. H. Wilby , D. Enstwiwtle, Chem. Rev. **1985,** 85, 129.

[14]. S. Ram , R. E. Ehrenkaufer , Synthesis **1988**, 91.

[15]. R. A. Rampulla , R. K. Russel , Synth. Commun. **1986**, 16, 1229.

[16]. J. G. Westra ,Carcinogenesis, **1981,** 2, 355.

[17]. C. S. Rondestvedt , T. A. Johnson , Synthesis, **1977,** 850.

[18]. M. Petrini , R. Ballini , G. Rosini, Synthesis, **1987,** 713.

[19]. R. T. Coutts , J. Chem. Soc. **1969**, 713.

[20]. Chen, B-C ; hynes , Jr , J ; Randit, C.R ; Zhao , R ; skoumbourdis,A.P ;Wu ;h ;Sundeen.J.E. ;leftheris,k.Heterocycles 2001, 55, 951.

[21]. T. Zumir, M , M. Soutome, T. Minra, J. Heterocyclic Chem. 29 (1992) 1625.

[22]. H. Wilde, S. Hauptmann, A. Kanitz, M. Franzheld. G. Mann, J. Pakt. Chem. 327 (1985) 297.

[23].Sacchi, A.; Laneri, S.; Arena, F.; Abignente, E.; Gallitelli, M.; Damico, M.; Filippelli, W.and Rossi, F., *Eur. J. Med. Chem*, Vol. 34, **(1999)**, P. 1003.

[24].Matyus, P.; Barlin, G.B.; Harrison, P.W.; Wong, M.G.; and Davies, L.P. *Aus. J. Chem.* Vol.49, **(1996)**,P. 435.

[25].Dumas, J.; and Sherer, B., PCT Int. Appl., WO 2009027733 A1 20090305, 2009. *Chem. Abstr.*150, **(2009)**, 283062

[11].Hamdouchi, C.; Sanchez-Martinez, C.; Gruber, J.; del Prado, M.; Lopez, J.; Rubio, A.; and Heinz, B. A., *J. Med. Chem.* **(2003)**, Vol. *46,*P. 4333.

[12].Barbosa, H. J.; Collins, E. A.; Hamdouchi, C.; Hembre, E. J.; Hipskind, P. A.; Johnston, R. D.; Lu, J.; Rupp, M. J.; Takakuwa, T.; and Thompson, R. C . PCT Int. Appl. WO 2006102194, 2006.*Chem. Abstr*, Vol. 145, **(2006)**, 419159

[28].Burnier, P.; Chiang, Y.; Cote-des-Combes, S.; Li, A. T.; and Puech, F. PCT Int. Appl. WO 2009037394, 2009.*Chem. Abstr*, Vol. 150, **(2009)**, 374547

[29]. Ple-Colombier, N, N. Queguiner, G. Paston, P. J. of Heterocyclic chemistery (1973) 10 (6) 1073.

[30]. B. W. Cuc, Jr. L, J. Cruba and J.P.Dirham, J. Org. Chem, 1978, 43, 4125.

[31]. Pie, Nelly, Queguiner, Guy, Paston, Paul, Comptes rendus des scances de l'Aacademic des sciences ; Series C : Sciences chimiques (1976) 283 (11) 487-9.

[32]. D. Li, R. Zhao, and E. J. La Voie, J. Org. Chem. **2000**, 65,2802.

[33]. J. A. Valderrama, H. Pessoa-Mahana, G. Sarras, R. Tapia, Heterocycles**1999**, 51, 2193.

[34].A. J. Nunn, K. Schofield, J. Chem. Soc. 1953, 3700–3706

[35].Denny, W.A., Wilson, W.R., Ware, D.C., Atwell, G.J., Milbank, J.B., Stevenson, R.J., *U.SPatent* 7064117 **(2006)**.

[36].Hazra, A., Mondal, S., Maity, A., Naskar, S., Saha, P., Paira, R., Sahu, K.B., Paira, P., Ghosh, S., Sinha, C., Samanta, A., Banerjee, S., and Mondal, N.B., *European Journal of Medicinal Chemistry*,Vol. 46, **(2011)**, P. 2132-2140.

[37].Eswaran, S., Adhikari, A., Chowdhury, I., Pal, N., and Thomas, K.D., *European Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 45, **(2010)**, P. 3374-3383.

[38].Shiraki, H.; Kozar, M. P.; Mlelndez, V.; Hudson, T. H.; Ohrt, C.; Magill, A. J.; and Lin, A. J., *J. Med. Chem*, Vol. 54, **(2011)**, P. 131.

[39].Muruganantham, N., Sivakumar, R., Anbalagan, N., Gunasekaran, V., and Leonard, J.T., *Biol. Pharm. Bull*,Vol. 27, **(2004)**, P. 1683–1687.

[40]Mathew, V., Keshavayya, J., Vaidya, V.P., and Giles, D., *Eur. J. Med. Chem*,Vol. 42, **(2007)**; P. 823–840.

[41].Narsinh, D.; and Anamik, S. *Ind. J. Pharm. Sci*, Vol. 63, **(2001)**, P. 211.

[42].Harmenberg, J.; Akesson-Johansson, A.; Greaslund, A.; Malmfors, T.; Bergman, J.; Wahren, B.; Akerfeldt, S.; Lundblad, L.; and Cox, S., *Antiviral Res*, Vol. 15, **(1991)**, P. 193.

[43].Tandon, V.K., Yadav, D.B., Maurya, H.K., Chaturvedib, A.K. and Shuklab, P.K., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 14, **(2006)**, P. 6120–6126.

[44].Pie, Nelly, Queguiner, Guy, Paston, Paul, Comptes rendus des scances de l'Aacademic des sciences ; Series C : Sciences chimiques (1976) 283 (11) 487-9.

[45] .M. Khoja, D. Sicker and H. Wilde, Heterocycles, **1994,** 37, 401.

[46]. K. H. Weber, A. Bauer, K. H. Hauptmann, Liebigs Ann. Chem., **1972,** 128.

[47].Schultz, C.; Link, A.; Leost, M.; Zaharevitz, D. W.; Gussio, R.; Sausville, E. A.; Meijer, L.; Kunick, C., *J. Med. Chem*., Vol. 42, **(1999)**, P. 2909.

[48].Qiao, Z., Wang, W., Wang, L., Wenb, D., Zhao.,Wanga, Q., Meng, Q., Chen G., Wub, Y., Zhou, H., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 21, **(2011)**, P. 6389–6392.

[49].Ben-Cherif, W., Gharbi, R., Sebai, H., Dridi, D., Boughattas, N.A., Ben-Attia, M., C. R. *Biologies*,Vol. 333, **(2010)**, P. 214–219.

[50].Drabczy_nska, A.., Yuzlenko, O., Köse, M., Paskaleva, M., Schiedel, A.C., Karolak-Wojciechowska, J., Handzlik, J., Karcz, T., Kuder, K., Müller, C.E., Kie_c-Kononowicz, K., *European Journal of Medicinal Chemistry,* VOL. 46, **(2011)**; P. 3590-3607.

[51].Davidson, J. R., *J. Clin. Psychiatry,* **(2001)**,Vol. 62 (Suppl.),P. 46.

[52].McCall, W. V., *J. Clin. Psychiatry,* **(2001)**,Vol. 62 (Suppl.),P. 27.

[53].L'arpent, J. P. Listeria., *Technique et documentation, Lavoisier*, Paris, France **(2004)**

[54].Image 8. http://www.Universityofcalifornia.Edu/Everyday/Agriculture/Images/ e_Coli. Jpg**(2008)**.

[55].Kaper, J.B., P.Nataro, J., Mobley, H.L.T., *Nature Reviews Microbiology,Vol.* 2, **(2004)**, P. 123-140.

[56].Whitt, DD, Salyers, AA. *Bacterial Pathogenesis a Molecular Approach*, **(2002)**.

[57]http://pharmtox.free.fr/pharmacie/antibacteriens/Presentation-long/page_01.htm

[58].Cahagnier, B, *Collection Sciences et Technique*, *Technique et documentation, Lavoisier*, Paris, France **(1998)**.

[59].Balchin, M.lis. .Hart, S.L et coll, *Phytothérap. Research*, Vol 14, (**2000),** P. 623.

[60]. TOUITOU YVAN, **(2003)** : Pharmacologie, édition : Masson, pp 229.

[61].ROBERT C., vencent P., **(1995) :** Biologie et physiologie humaine, 2ème Ed. Vuibert, France, 700p.

[62].GIRAUDET P., FAURE A. et FROT J. C, **(1984)** : La réaction inflammatoire (Physiopathologie et exploitation clinique), Ed. Rinçot, Paris, 260p.

[63].TORTORA G. et REYNOLDS S., **(2001)** : Principe d'anatomie et physiologie, 3ème Ed. de Boeck université, Québec, 1121p.

[64.]CHARPENTIER B. et *al.* **(2004) :** Guide du préparateur en pharmacie, 2ème édition Masson, Paris, p1300.

[65].PIERI François, **(1992) :** Pharmacologie et thérapeutique, édition : Elipses, Paris, pp 298.

[66].Nyerges, M.; Fejes, I.; Toke, L. Tetrahedron Lett. **(2000)**, Vol. 41, P. 7951.

[67].Parvatkara, P. T., Parameswarana, P.S., and Tilveb S. G., *Tetrahedron letters*, Vol. 48, P.7870-7872.

[68]. m. Purohit, y. C. Mayur, med. Chem. Res., 9517-9527 (2010).

[69]. V. Gupta, S. K. Kashaw, V. Jatav, P. Mishra, Med. Chem. Res., 17, 205–211 (2008).