

UNIVERSITE KASDI MARBAH OUARGLA

Faculté des Sciences et de la Technologie et des Sciences de la matière

Département de Génie des Procédés



Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine Sciences et Techniques

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie Chimique

Présenté Par : Ouahiba Bouchaala

Thème :

Synthèse, Caractérisation et Activité biologique d'une base de Schiff

Soutenu publiquement le : 25/06/2013

Devant le jury composé de :

Mr : GUERRI Messaoud	M.A. (A)	président	UKMO
M elle : KENDOUR Zaouia	M.A. (A)	Examinatrice	UKMO
Mr : SEKHRI Lakhdar	Professeur	Encadreur	UKMO

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2012/2013

Remerciement

Je remercie tout d'abord mon encadreur professeur SEKHRI Lakhdar qui m'a énormément guider et aider à réaliser ce mémoire de fin d'étude.

Je remercie également les membres des jurer, le président GURRI Messaoud et l'examinatrice M.elle KENDOUR Zaouia.

Un grand merci à l'étudiante en doctorat RAACHE Imane pour son assistance et la responsable de laboratoire de génie des procédés OMaya Saadia pour son collaboration.

A la fin, je tiens à remercies de fond du cœur ma famille et mes ami(e)s.

Sommaire

Introduction générale

Chapitre I : généralité sur les antibiotiques

I-1	Historique.....	2
I-2	Définition.....	2
I-3	Les types des antibiotiques.....	2
I-4	Le mode d'action des antibiotiques.....	3
I-4-1	Action sur la membrane des cellules.....	3
I-4-2	Inhibition de la synthèse protéique.....	3
I-4-3	Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne.....	3
I-4-4	Inhibition de la synthèse de l'acide nucléique.....	4
I-5	La classification des antibiotiques.....	4
I-5-1	En fonction de leur origine.....	4
I-5-2	En fonction de leur spectre d'activité.....	4
I-5-3	En fonction de leur mode d'action.....	4
I-5-4	En fonction de leur structure chimique.....	5
I-6	Paramètre d'activité.....	5
I-7	Méthodes d'études de la bactériostase.....	6
I-7-1	Définition de bactériostase.....	6
I-7-2	Méthode de dilution.....	6
I-7 -3	Méthode de diffusion.....	6

Chapitre II : Généralité sur les bases de Schiff

II-1	Généralité.....	8
II-2	Définition.....	8
II-3	Structure générale d'une base de Schiff.....	8
II-4	Mécanisme réactionnelle.....	9
II-5	Classification et des bases de Schiff.....	9
II-6	Propriété des bases de Schiff	1
II-7	Utilisation des bases de Schiff	11

Chapitre III : Généralité sur les bactéries

III-1	Généralité sur les bactéries.....	12
III-1-1	Les bactéries.....	12
III-1-2	La structure des bactéries.....	12
III-2	Classification et identification des bactéries.....	13
III-3	Définition de la résistance.....	14
III-3-1	Résistance naturelle.....	14
III-3-2	Résistance acquise	14

Chapitre IV : Méthodes et matériels

IV-1	Introduction.....	15
IV-2	Objectif.....	15
IV-3	Methodologie de travail.....	15
IV-4	Les conditions expérimentales.....	17
IV-4-1	Les réactifs.....	17
IV-4-2	Les solvants.....	17
IV-5	Les matérielles utilisés.....	17

IV-6	distillation des réactifs	17
IV-6-1	distillation d'aniline.....	17
IV-6-2	distillation d'éthanol	18
IV-7	synthèse de bases de Schiff.....	18
IV-7-1	réaction.....	18
IV-7-2	Mode opératoire.....	19
IV-7-2-1	Préparation d'une base de Schiff en utilisant un mortier	19
IV-7-2-2	Préparation d'une base de Schiff en utilisant le reflux	20
IV-7-3	Recristallisation.....	20
IV-7-4	Filtration.....	21
IV-8	Méthode d'analyse.....	22
IV-8-1	Chromatographie sur couche mince.....	22
IV-9	Les appareils d'analyse.....	22
IV-9-1	point de fusion.....	22
IV-9-2	Spectroscopie Infrarouge.....	23
IV-9-3	Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible.....	23
IV-9-4	Spectroscopie RMN	24
IV-10	Tests bactériologiques	24
IV-10-1	Technique bactériologique	25
IV-10-2	Les concentrations utilisées pour les produits testés.....	25
IV-10-3	Préparation des disques de papier.....	25
IV-10-4	Préparation de milieu de culture.....	26
IV-10-5	Préparation de la suspension microbienne.....	26
IV-10-6	Préparation des inoculums.....	26
	Chapitre V : résultats et discussions	
V-1	La synthèse de benzaldéhyde phenylimine.....	27
V-1-1	réaction.....	27
V-1-2	La structure générale de benzaldéhyde phenylimine.....	27
V-1-3	Le rendement dans les trois méthodes	28
V-2	Les techniques d'analyse.....	28
V-2-1	La chromatographie sur couche mince (CCM).....	28
V-2-2	L'infrarouge (IR).....	29
V-2-3	UV-visible	31
V-2-4	RMN ¹ H et RMN ¹³ C	32
V-3	Résultats des tests bactériologiques.....	33
V-3-1	Test préliminaire de solvant utilisé.....	33
V-3-2	Résultats de la détermination des diamètres d'inhibition de chaque souche par la méthode de diffusion	33
V-3-2-1	Les diamètres d'inhibition de Streptococcus.....	33
V-3-2-2	Les diamètres d'inhibition d'Escherichia coli.....	34
V-3-2-3	Les diamètres d'inhibition pseudomonas.....	35
V-3-2-4	Les diamètres d'inhibition staphylococcus.....	36
V-3-3	Conclusion.....	37

Conclusion générale

Bibliographie

Annexes

Liste des abréviations

CCM : chromatographie sur couche mince.

UV : Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible.

IR : Spectroscopie Infrarouge.

R_F : rapport frontal.

CMI : la concentration minimale d'antibiotique permettant d'inhiber (bactériostase).

CMB : la concentration minimale bactéricide.

T_f : indique la température de fusion.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire .

Liste des tableaux :

Titre	Page
Tableau 1 : Liste des réactifs utilisés	17
Tableau 2 : Liste des solvants utilisés	17
Tableau 3 : Gamme de dilution de benzaldéhyde phénylimine	25
Tableau 4 : Les Propriétés physiques de benzaldéhyde phénylimine et chimique	27
Tableau 5 : <i>Les</i> bandes d'absorptions de principales liaisons de benzaldéhyde phénylimine.	29
Tableau 6 : Les valeurs de RMN ¹ H	32
Tableau 7 : les valeurs de RMN ¹³ C	32
Tableau 8 : Test préliminaire	33
Tableau 9 : la sensibilité de Streptococcus	33
Tableau 10 : la sensibilité d'Escherichia coli	34
Tableau 11 : la sensibilité de pseudomonas	35
Tableau 12 : la sensibilité de staphylococcus	36

Liste des figures :

Titre	page
Figure 1 : efficacité des antibiotiques	7
Figure 2 : Structure générale d'une base de Schiff	8
Figure 3 : mécanisme d'obtention d'une base de Schiff Base	9
Figure 4 : aldimine primaire	10
Figure 5 : Aldimine secondaire	10
Figure 6 : cétimine primaire	10
Figure 7 : Cétimine secondaire	10
Figure 8 : La structure des bactéries	12
Figure 9 : La méthodologie de travail	16
Figure 10 : montage de distillation d'éthanol	18
Figure 11 : mécanisme réactionnel	18
Figure 12 : mode opératoire par mortier	19
Figure 13 : mode opératoire à reflux	20
Figure 14 : la recristallisation de produit	21
Figure 15 : filtration sous vide	21
Figure 16 : Point de fusion	22
Figure 17 : Spectroscopie Infrarouge	23
Figure 18 : Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible	24
Figure 19 : la synthèse de benzaldéhyde phénylimine	27
Figure 20 : benzaldéhyde phénylimine	27
Figure 21 : chromatographie sur couche mince	28
Figure 22 : le produit synthétisé (benzaldéhyde phénylimine)	29
Figure 23 : spectre infrarouge de benzaldéhyde phénylimine	30
Figure 24 : spectre UV-visible de benzaldéhyde phénylimine	31
Figure 25 : l'effet de benzaldéhyde phénylimine sur Streptococcus	34
Figure 26 : l'effet de benzaldéhyde phénylimine sur Escherichia coli	35
Figure 27 : l'effet de benzaldéhyde phénylimine sur pseudomonas	36
Figure 28 : effet de benzaldéhyde phénylimine sur staphylococcus	37

Introduction

générale

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

L'application des méthodes d'analyses chimiques était indispensable pour l'isolement, la purification et l'identification des éléments constitutifs des molécules médicamenteuses entre autres les antibiotique [1].

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

Le but principal de ce travail est la synthèse des bases de Schiff (benzaldéhyde phénylimine ou 1,2-diphényléthène amine) à partir de benzaldéhyde et l'aniline, puis l'étude de l'effet biologique sur des différentes bactéries.

Notre travail est réparti en Cinq chapitre :

- Dans le premier chapitre, nous allons présenter une importante bibliographie des antibiotiques, où nous avons exposé l'essentiel des structures, leurs classifications et leur voie d'obtention, un rappel sur les mécanismes d'action des antibiotiques.
- Dans le deuxième chapitre un aperçu général sur les bases de Schiff, la structure générale, et l'étude de mécanisme d'obtention d'une base de Schiff, propriété et application
- Le troisième chapitre est consacré aux études des bactéries et les différences techniques pour étudier l'interaction des bactéries vis à vis les antibiotiques.
- La description du protocole expérimental est présentée dans le quatrième chapitre dans la partie expérimentale, tandis que le dernier chapitre est réservé à l'interprétation et la discussion des résultats obtenus.

Partie I:

Partie théorique

Chapitre I : Généralités sur les antibiotiques

I-1 Historique :

Les antibiotiques ont en particulier fourni des traitements efficaces pour la plupart des grandes maladies infectieuses bactériennes.

Le premier antibiotique identifié fut la pénicilline. Si dès la fin du XIX^e siècle Ernest Duchesne découvrit les propriétés curatives de *Penicillium glaucum*, la découverte de pénicilline est à mettre au crédit de Sir Alexander Fleming qui s'aperçut en 1928 que certaines de ses cultures bactériennes dans des boîtes oubliées avaient été contaminées par les expériences de son voisin de pailleuse étudiant le champignon *penicillium notatum* et que celui-ci inhibait leur reproduction.

En 1932, Gerhard Domagk met au point chez Bayer AG le Prontosil, un sulfamidé, le premier antibiotique de synthèse.

En 1944, Selman A. Waksman, Albert Schatz et E. Bugie découvrent la streptomycine, le premier antibiotique ayant un effet sur le bacille de Koch, rendant ainsi possible le traitement de la tuberculose [2].

I-2 Définition

Un antibiotique (du grec anti : « contre », et bios : « la vie ») est une molécule naturelle ou semi-synthétique qui détruit ou bloque la croissance des bactéries.

De manière simplifiée un antibiotique est, dans le domaine médical, « une substance chimique organique d'origine naturelle ou synthétique inhibant ou tuant les bactéries pathogènes à faible concentration et possédant une toxicité sélective ». Plus généralement, pour les microbiologistes et les chimistes, un antibiotique est une substance antibactérienne [3].

I-3 Les types des antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent être soit bactéricide qui arrêtent le développement des micro-organismes par mort cellulaire avec ou sans lyse et à dose plus élevée,

soit bactériostatiques qui arrêtent le développement des micro-organismes par inhibition partielle ou totale de leur croissance et à faible dose [1,2].

I-4 Le mode d'action des antibiotiques :

Le principe d'action des antibiotiques consiste à bloquer sélectivement une étape d'un mécanisme essentiel à la survie ou à la multiplication des micro-organismes, Il existe ainsi quelques grandes familles de mécanisme d'action pour les antibiotiques [4].

I-4-1 Action sur la membrane des cellules :

Un pore (un trou) dans la membrane qui va permettre la fuite des composés cellulaires. Il Existe un certain nombre de molécules antibiotiques qui agissent sur la membrane des cellules, soit en agissant comme des détergents qui désorganisent les lipides.

I-4-2 Inhibition de la synthèse protéique :

La synthèse des protéines est un processus essentiel des cellules vivantes, dans ce cas les molécules antibiotiques sont capables de bloquer sélectivement la traduction des protéines chez les bactéries, et en inhibant l'action des facteurs de traduction associés au ribosome.

I-4-3 Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne :

Certaines bactéries sont protégées de l'environnement extérieur par une paroi. Il existe une machinerie de synthèse qui fabrique les composants de cette paroi et qui est composée d'enzymes et de systèmes de transport acheminant les composants à la surface cellulaire.

Il existe un ensemble d'antibiotiques qui bloquent différentes étapes de cette machinerie.

I-4-4 Inhibition de la synthèse de l'acide nucléique :

La synthèse des acides nucléiques, ADN et ARN est absolument vitale pour les cellules, sans elle, la division cellulaire et la fabrication des protéines est impossible.

I-5 La classification des antibiotiques :

Les antibiotiques sont très nombreux et peuvent être classés selon plusieurs critères [5] :

I-5-1 En fonction de leur origine :

- **Les antibiotiques naturels ou produits par les micro-organismes :** Champignons (Pénicilline, Céphalosporine) ou bactéries (Streptomycine, Chloramphénicol, polypeptides).
- **Les antibiotiques synthétiques ou produits obtenus entièrement par voie chimique :** Sulfamides. Acides nalidixiques
- **Les antibiotiques semi-synthétiques :** Ces antibiotiques sont obtenus à partir d'une fraction moléculaire naturelle sur laquelle a été greffé un radical chimique.

I-5-2 En fonction de leur spectre d'activité :

- **Large spectre :** Actif sur la majorité des bactéries Gram positif ou négatif.
- **Spectre limité :** Actif sur les bactéries Gram positif et quelques Gram négatif.
- **Spectre étroit :** Actif uniquement sur certains germes Gram positif ou sur certains Gram négatif.

I-5-3 En fonction de leur mode d'action :

En fonction des cibles bactérienne : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse d'acide nucléique.

I-5-4 En fonction de leur structure chimique :

Les nombreux antibiotiques peuvent être groupés en familles. Une famille d'antibiotique comprend des composés ayant des analogies de structure, des mécanismes d'action comparable. Par exemple :

- Les β -lactamines (Pénicillines, Céphalosporines, Pénèmes.....)
- Les quinolones (L'acide nalidixique, L'acide oxolinique, L'acide pipemidique)
- Les sulfamides (Sulfafurazol, Sulfanilamide, Sulfacélamide.....)
- Les polypeptides (Colistine, Colistiméthate).

I-6 Paramètre d'activité :

L'analyse de l'activité d'un antibiotique donné sur une bactérie a conduit à définir un certain nombre de paramètres qualitatifs et quantitatifs, pour chaque antibiotique on mesure le diamètre d'inhibition en mm et en déduit la sensibilité ou la résistance.

On définit deux concentrations critiques d'antibiotique :

CMI : concentration minimale inhibitrice ou CMI (en anglais MIC, pour Minimal inhibitory concentration). Dans la pratique, on définit la CMI comme la concentration minimale d'antibiotique permettant d'inhiber (bactériostase) totalement la multiplication bactérienne, après 18 à 24 heures de contact à 37 °C.

CMB : la concentration minimale bactéricide, qui est la plus faible concentration permettant de détruire ou de tuer (bactéricidie) 99,99 % des bactéries après 18 à 24 heures de contact avec l'antibiotique.

L'analyse de la concentration minimale bactéricide et de la concentration minimale inhibitrice (CMB/CMI) permet de caractériser l'effet de l'antibiotique étudié sur une souche bactérienne donnée :

- . Lorsque le rapport $CMB / CMI = 1$, l'antibiotique est dit « bactéricide absolu »
- S'il est proche de 1, l'antibiotique est dit « bactéricide »
- S'il est supérieur à 2, l'antibiotique est dit simplement « bactériostatique » [2].

I-7 Méthodes d'études de la bactériostase : [6,1]

I-7-1 Définition de bactériostase :

C'est une méthode technique qui permet de savoir si l'antibiotique a seulement inhibé la croissance.

I-7-2 Méthode de dilution :

➤ **En milieu liquide :** Préparation d'une série de tubes d'une gamme de concentrations d'antibiotique à tester, (par exemple 0.5mg/l, 1, 2, 4, 6, 8 mg/l) puis addition d'une même quantité de germes. Après incubation à 37 °C pendant 18 heures on détermine la plus faible concentration d'antibiotique inhibant la croissance bactérienne visible à l'œil nu.

➤ **En milieu solide :** Incorporation de l'antibiotique à une concentration donnée dans une gélose, maintenue liquide à 42°C puis coulée en boîtes de Pétri. Après solidification les boîtes sont ensemencées avec les bactéries. Après incubation à 37°C pendant 18 heures détermination par la plus faible concentration ne donnant pas de croissance visible.

I-7 -3 Méthode de diffusion :

Les méthodes de diffusion ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic. Des disques à papier buvard, imprégnés des antibiotiques à tester à une certaine concentration sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Après incubation d'une nuit à 37°C, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture. Chaque zone peut être mesurée selon divers moyens en mm, puis il sera possible de calculer la CMI de l'antibiotique pour la souche examinée en reportant ce diamètre sur une courbe de concordance.

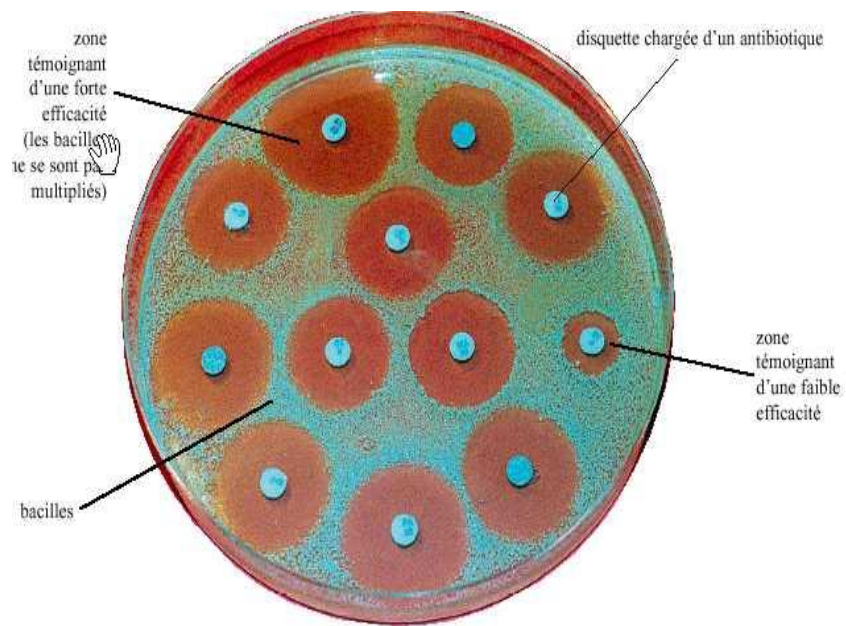


Figure1 : Efficacité des antibiotiques.

chapitre II:

généralités sur les bases de Schur

II-1 : Généralité :

Les bases de Schiff, nommé d'après Hugo Schiff en 1864 [7]. Elles sont des ligands largement exploités en chimie médicale et chimie de coordination, et ce revient à la simplicité de leurs préparation, la diversité de leurs application par le biais de la stabilité relative de leurs complexes avec la majorité des métaux de transition, ces ligands présentent des intérêts potentiels très variées pour un grand nombre de domaines interdisciplinaires [8].

II-2 Définition :

Une base de Schiff est définie comme étant le produit résultant de la condensation d'une amine primaire avec une cétone ou aldéhyde. Elle est un composé comportant une double liaison C=N avec l'atome d'azote lié à un groupe aryle ou alkyle [8].

Les bases de Schiff au sens large ont une formule générale de type $R^1R^2C=NR^3$, où R est une chaîne organique. Dans cette définition la base de Schiff est synonyme d'azométhine. Certains limitent la définition aux aldimines secondaires (azométhines ou le carbone n'est lié qu'à un seul hydrogène), et ont donc pour formule générale $RCH=NR'$.

La chaîne carbonée sur l'atome d'azote fait des bases de Schiff (une imine) stable. Les bases de Schiff dérivées de l'aniline, où R^3 est donc un phényle ou un phényle substitué sont appelées aniles.

II-3 Structure générale d'une base de Schiff :



Figure 2 : Structure générale d'une base de Schiff

II-4 Mécanisme réactionnel :

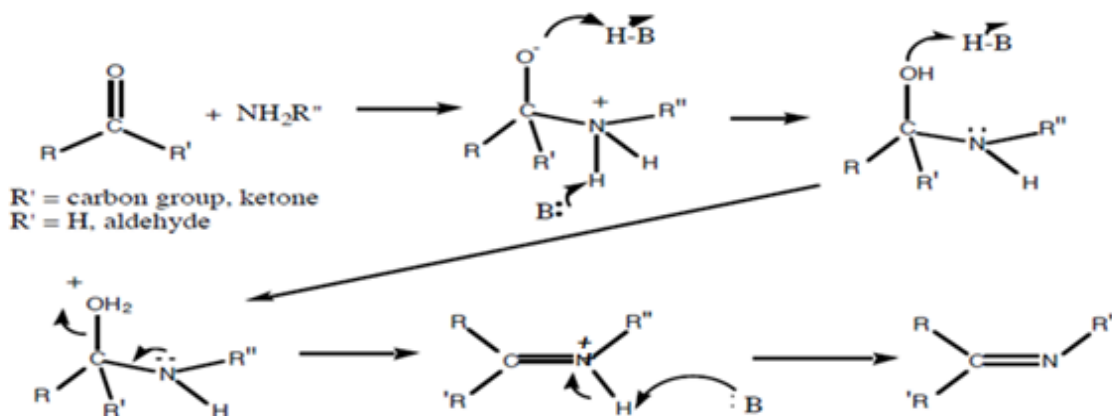


Figure 3 : Mécanisme d'obtention d'une base de Schiff.

La réaction de synthèse des bases de Schiff est souvent caractérisée par la présence des molécules d'eau qui pourraient conduire à une réaction réversible (hydrolyse). Cette réaction est réalisée habituellement dans un milieu alcoolique ou parfois à reflux [9].

II-5 Classification des bases de Schiff :

Les imines sont des analogues des composés carbonylés (aldéhydes et cétones), on peut les classer comme suit :

- **Aldimine :** Est une imine dans laquelle le carbone lié à l'azote porte un groupe alkyle et un atome d'hydrogène. Lorsque l'atome d'azote est lié à un atome d'hydrogène ou un groupe hydrocarbyle, on l'appelle respectivement « aldimine primaire » ou « aldimine secondaire » [7].

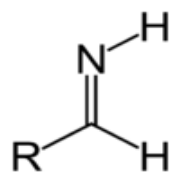


Figure 4 : Aldimine primaire.

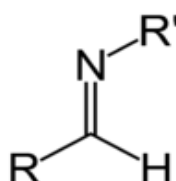


Figure 5 : Aldimine secondaire.

- **Cétimine :** Une imine dans laquelle le carbone lié à l'azote est attaché à deux groupes alkyles est appelée « cétimine ». De même, en fonction de la nature du substituant de N, on l'appellera « cétimine primaire » ou « cétimine secondaire » [7].

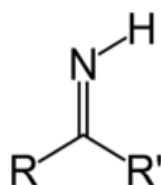


Figure 6 : cétimine primaire.

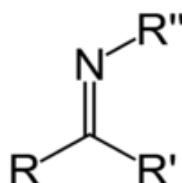


Figure 7 : Cétimine secondaire.

II-6 Caractérisation des bases de Schiff :

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

La RMN du proton H^1 est aussi un moyen puissant pour l'élucidation des caractéristiques structurales des (BS.s) en solution, particulièrement pour l'étude des tautomerismes ceto-enolique et thione-thiolique.

L'UV-Vis des composés contenant un chromophore non-conjugué sont caractérisés par des spectres de transition de type $n-\pi^*$ dans l'intervalle $235 - 272 \text{ nm}$ [8].

II-7 Utilisation des bases de Schiff :

L'importance des bases de Schiff réside dans leur utilisation comme antibactérienne, anti tuberculose, anticancéreux et anti tumeurs, ainsi que leurs capacités de capturer les ions métalliques. Les bases de Schiff jouent un rôle important dans la chimie analytique et industrielle, comme elles ont l'habitude de résister à la corrosion des métaux [10].

chapitre III:

généralités sur les bactéries

III-1 Historique :

Les bactéries sont des organismes minuscules que l'on trouve à peu près partout. Elles manifestent parfois leur présence dans les blessures, elles s'infectent ; le lait s'acidifie, la viande, mais habituellement nous les ignorons parce que leurs activités sont moins évidentes et à cause de leur petite taille.

En 1673, Antoni Van Leeuwenhoek (1632-1723) fut le premier à observer les bactéries qu'il appela animalcules. En plus de la première description des globules rouges et des spermatozoïdes, ce drapier hollandais observa pour la première fois les bactéries et décrivit leurs différentes formes.

Ce n'est que deux siècles plus tard que le rôle des bactéries dans les processus de fermentation et dans la transmission des bactéries a été découvert et que leur étude a commencé [11,3].

III-1-1 Définition :

La bactérie est un être unicellulaire autonome de petite taille (microorganisme). La cellule bactérienne présente une organisation procaryote et diffère de façon marquée des cellules eucaryotes des animaux et des plantes [3].

III-1-2 La structure des bactéries :

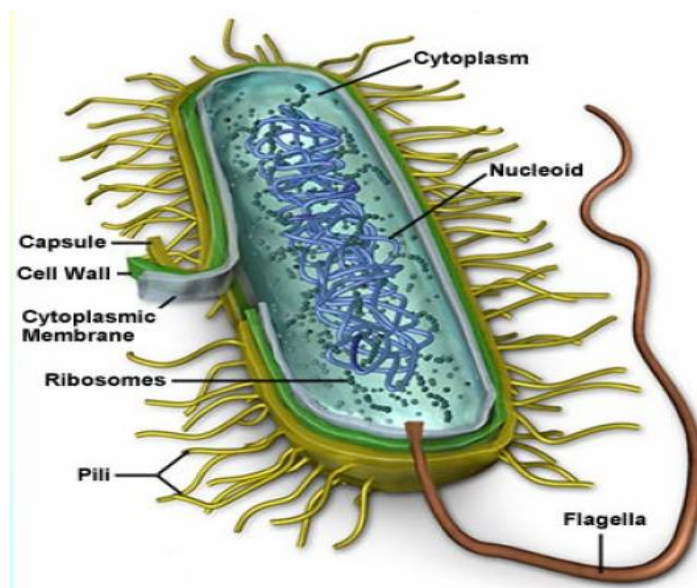


Figure 8 : La structure des bactéries

D'une façon générale, une bactérie est composée de [1] :

- **Cytoplasme** : le cytoplasme des bactéries contient de nombreux ribosomes et un chromosome fait d'ADN" à double brin, en général unique, circulaire
- **Membrane Cytoplasmique** : Entoure le cytoplasme et fait la limite avec le milieu extérieur. Elle permet le maintien d'un milieu interne dans un état constant. Elle est composée de protéines et de lipides. Elle sert de barrière perméable et sélective comme elle contrôle les échanges de la cellule avec le milieu extérieur.
- **La paroi cellulaire** : Elle donne la forme à la bactérie et la protège de la lyse osmotique. Elle présente des constituants qui contribuent aux pouvoirs pathogènes.

Elles protègent contre les substances toxiques, c'est le site d'action des antibiotiques. La structure de la paroi varie selon les bactéries et conditionne leur aspect après la coloration de Gram.

Après la coloration on distingue deux types de bactéries : bactéries Gram positif, et bactéries à Gram négatif.

- **La capsule** : Couche supplémentaire à l'extérieur de la paroi composée de polysaccharides.
- **Appendices** : certaines bactéries peuvent se déplacer dans un milieu liquide grâce à des flagelles de nature protéique. Certaines bactéries possèdent également des pilis, elles sont des éléments rigides plus courts que les flagelles, de nature protéique. Ils peuvent intervenir dans les interactions avec d'autres bactéries ou avec des cellules eucaryotes.

III-2- Classification et identification des bactéries :

Les bactéries sont classées selon une nomenclature internationale, elles sont désignées par deux mots latins écrits en italique : le premier, commence par une majuscule, désigne le genre, et le second en commence par une minuscule, qui caractérise l'espèce (par exemple *Staphylocoques aureus*). En pratique, on utilise aussi des termes communs tels que staphylocoque, colibacille, etc.

La classification des bactéries (taxonomie) a d'abord été fondée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques, puis de leurs caractères génotypiques [3,11].

III-3 Définition de la résistance :

La résistance des bactéries aux antibiotiques est soit naturelle, soit acquise [2]

III-3-1 Résistance naturelle :

La résistance naturelle, ou intrinsèque, à l'égard d'un antibiotique est un caractère présent pour toutes les souches sauvages appartenant à la même espèce bactérienne. La résistance naturelle d'une espèce bactérienne vis-à-vis d'un antibiotique explique le spectre d'activité d'un antibiotique.

La résistance naturelle des bactéries à l'égard d'un antibiotique provient de facteurs génétiques de la bactérie. Elle dépend de caractéristiques métaboliques et de structure de cette espèce.

Elle peut être due à :

- ✓ Une imperméabilité de la paroi bactérienne
- ✓ La sécrétion d'enzyme inactivant l'antibiotique
- ✓ L'absence de cible moléculaire à l'antibiotique ou absence de site d'action

III-3-2 Résistance acquise :

Pour une espèce bactérienne, la résistance acquise à un antibiotique résulte d'une modification des informations de la bactérie type sauvage. Elle provient d'une information génétique nouvelle située sur le chromosome ou sur un plasmide R (ou sur un transposon).

Elle existe deux types de résistance :

- ✓ Chromosomique : L'apparition de la résistance est en général la conséquence d'une mutation qui apparaît dans le chromosome.
- ✓ Plasmidique : Les plasmides naturels en général un certain nombre de gènes et en particulier des gènes de résistances à des antibiotiques, ainsi que des gènes de transfert permettant le passage du plasmide d'une bactérie à une autre. Ce transfert s'effectue en général par conjugaison.

Partie II:

Partie pratique

Chapitre IV :

Méthodes

et matériels

IV-1 Introduction :

D'après les résultats obtenus par *KADRI Lakhdar* [8] et une recherche bibliographique très poussées, nous nous sommes intéressées à la synthèse d'une base de Schiff. Ensuite, nous avons testé ce produit sur quatre types des bactéries au niveau de laboratoire d'analyse microbiologique de l'hôpital de Mouhamed boudiaf Ouargla pour déterminer leurs activités antibactériennes.

IV-2 Objectif :

L'objectif principal de ce travail est la synthèse des bases de Schiff (benzaldéhyde phénylimine ou 1,2-diphényléthène amine) à partir de l'aldéhyde (benzaldéhyde) et l'amine (aniline), puis l'étude de l'effet biologique sur des différentes bactéries.

IV-3 Méthodologie de travail :

La méthodologie adoptée pour cette étude repose sur :

- La synthèse de notre produit qu'est benzaldéhyde phénylimine (base de Schiff)
- Analyses spectroscopique de notre produit
- L'étude de la sensibilité des bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcie*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*) vis-à-vis benzaldéhyde phénylimine (base de Schiff).

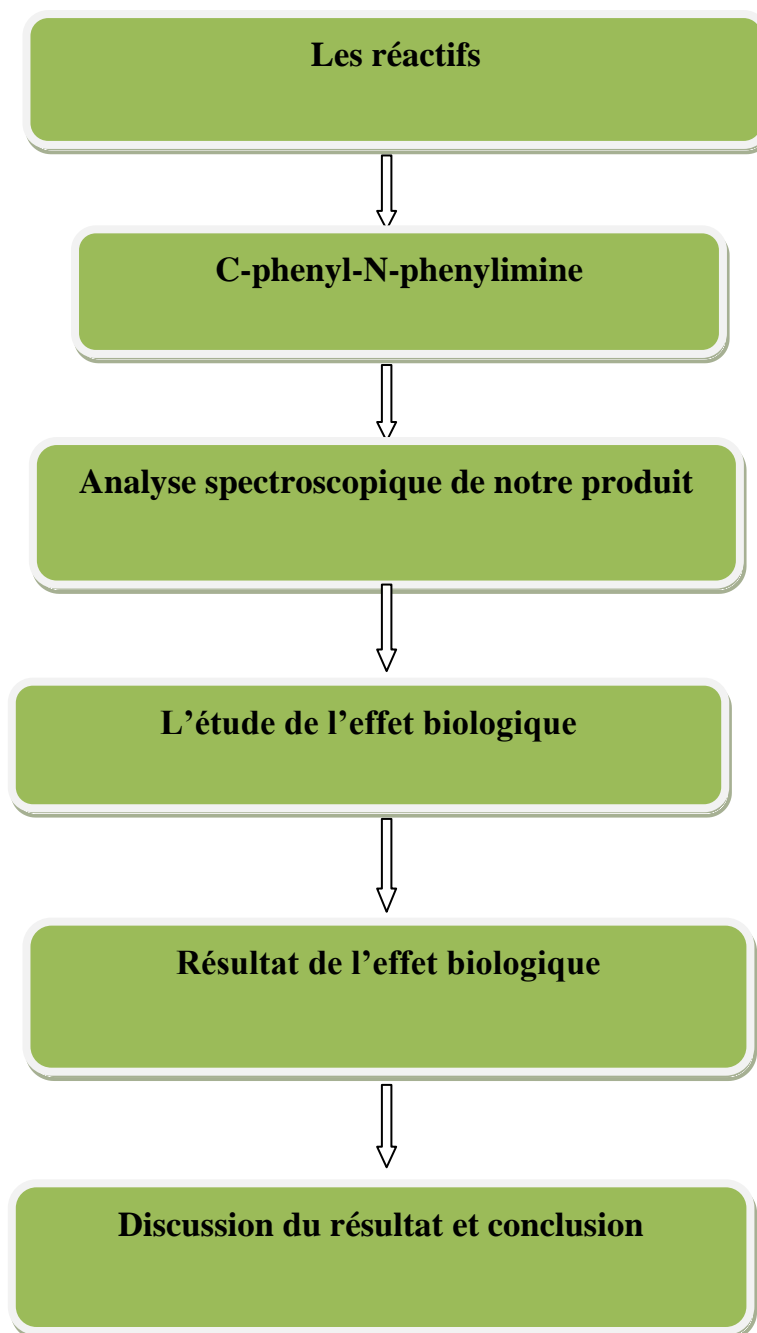


Figure 9 : La méthodologie de travail

IV-4 Les conditions expérimentales :

IV-4-1 Les réactifs :

Tableau 1 : Liste des réactifs utilisés :

Réactifs	Pureté %	Origine
Aniline	99	Biochem chemopharma
Benzaldéhyde	99	Biochem chemopharma

IV-4-2 Les solvants :

Tableau 2 : Liste des solvants utilisés :

Solvants	Purété %	Origine
Ethanol	96	w.S.P
Petroleum ether	-	Biochem chemopharma
Ethyl acetate	99	PROLABO

IV-5 Le matériels utilisés :

Éprouvette graduée – pipettes de 1ml et 5ml — bêcher – papier filtre – ErlenMeyer – Buchner- barreau magnétique- thermomètre – agitateur magnétique– balance (Scout Pra)- pompe à sous vide- rota vapeur – Chauff ballon –pipette pasteur.

IV-6 Distillation des réactifs :

IV-6-1 Distillation d'aniline :

on préparé le montage de distillation, on verse 200ml d'aniline dans un ballon de distillation et couvre le montage par papier aluminium pour évité l'oxydation avec la lumière.

IV-6-2 Distillation d'éthanol :

on préparé le montage de distillation, on verse une quantité d'éthanol 200ml dans un ballon de distillation et on ajoute 20g de CaCl_2 pour éliminer les traces d'eau, et on chauffe jusqu'à 78°C (Température d'ébullition de l'éthanol) sur un chauff-ballon, puis on récupère le distilla dans une bouteille.



Figure10 : Montage de distillation d'éthanol.

IV-7 Synthèse de bases de Schiff :

IV-7-1 Réaction :

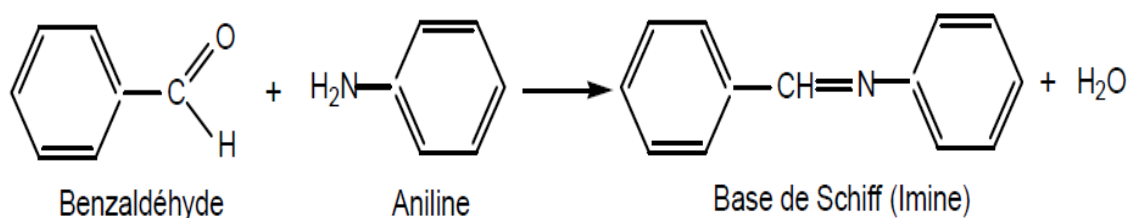


Figure 11: Réaction de l'aniline avec benzaldéhyde.

IV-7-2 Mode opératoire

IV-7-2-1 Préparation d'une base de Schiff en utilisant un mortier :

- ✓ **Avec catalyseur :** Dans un mortier on verse 2,328g d'aniline et 2,653g de benzaldéhyde et ajouté 10 gouttes de Fe So_4 de concentration 0,026 (mol/l) et broyer jusqu'à l'observation de changement de couleur vers jaune et la formation des cristaux.
- ✓ **Avec éthanol :** Nous déposons dans un mortier 2,328g d'aniline et 2,653g benzaldéhyde et on utilise 5ml éthanol et broyer jusqu'à la formation des cristaux (et le produit brut sont jaunâtres)



Figure 12 : Mode opératoire par mortier.

IV-7-2-2 Préparation d'une base de Schiff en utilisant le reflux :

On Verse dans un ballon Bicol 2,328g d'aniline et 2,653g de benzaldéhyde, on ajoute 20 ml d'éthanol, et on chauffe l'égerment dans un bain-marie pendant 1h, avec agitation.



Figure 13 : Mode opératoire à reflux.

IV-7-3 Recristallisation :

Faire recristalliser une substance brute, consiste dans les cas les plus simples à la dissoudre dans la quantité minimum d'un solvant choisi, à son point d'ébullition et à laisser refroidir la solution qui donne des cristaux purs.

Récupéré la quantité de produit dans un bécher et ajouté 10ml d'éthanol et chauffé jusqu'à l'ébullition de l'éthanol (dissolution des cristaux), refroidir dans un bain de glace jusqu'à la formation des cristaux.

Dans le 2^{ème} cas (à reflux) : on utilise l'acétate d'éthyle pour la recristallisation et l'élimination des impuretés.

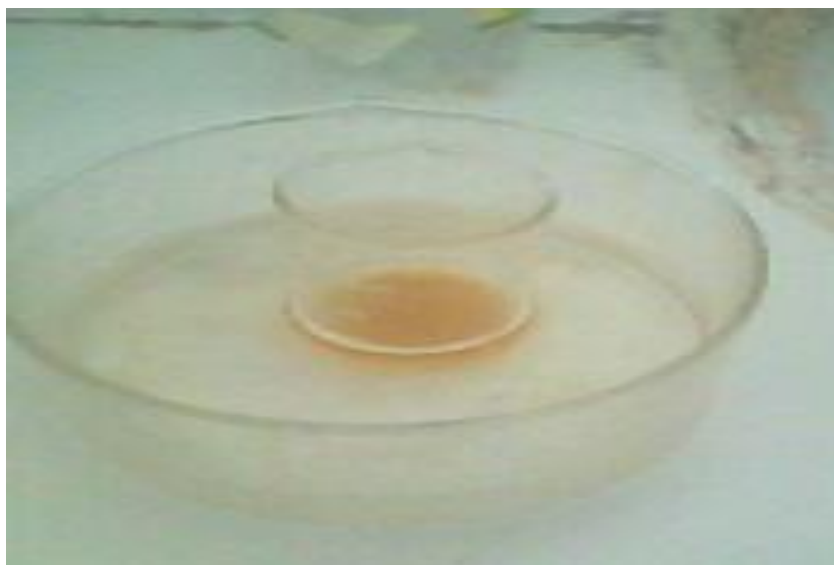


Figure 14 : La recrystallisation de produit

IV-7-4 Filtration :

Après la formation des cristaux filtré le produit (C-phényle-Phénylimine) sous vide et rincer avec un peu d'éthanol froid.



Figure 15 : Filtration sous vide

IV-8 Méthode d'analyse :

IV-8-1 Chromatographie sur couche mince :

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur la différence d'affinité d'un corps pur vis à vis de deux phases

La chromatographie sur couche mince, ou CCM, est essentiellement une technique par adsorption (L'adsorption est la fixation plus ou moins énergétique d'un gaz, d'un liquide ou d'un soluté sur une surface solide). La phase Stationnaire est un solide adsorbant, la silice ou l'alumine, fixé sur un support de matière plastique, d'aluminium ou de verre.

La révélation de la plaque se fait par observation sous une lampe UV à 254 et 366nm. Les spots sont enregistrés aussi pour les R_F (facteur de rétention).

IV-9 Les appareils d'analyses :

IV-9-1 point de fusion :

Le point de fusion ou la température de fusion d'un corps représente la température à une pression donnée, à laquelle un élément pur ou un composé chimique passe de l'état solide à l'état liquide.

Le point de fusion a été déterminé sur un appareil de Gallen Kamp

T_f : indique la température de fusion



Figure 16 : Point de fusion

IV-9-2 Spectroscopie Infrarouge :

Le domaine infrarouge entre 4000cm^{-1} et 400cm^{-1} correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules

L'appareil utilisé est (FTIR-8300)

Le produit utilisé est le KBr.



Figure 17 : Spectroscopie Infrarouge.

IV-9-3 Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible :

La spectrophotométrie UV-visible est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée, généralement en solution.

Le domaine du spectre visible (longueurs d'onde comprises entre 400 et 800 nm)

L'appareil utilisé est Spectro Scan 80 DV.

Le solvant utilisé est l'éthanol.



Figure 18 : Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible

IV-9-4 Spectroscopie RMN :

La spectrométrie RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) est basée sur les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques.

Nous n'étudierons que la RMN ^1H , donc le noyau de l'atome d'hydrogène.

IV-10 Tests bactériologiques :

Notre travail consiste à étudier l'activité de nos produits vis –à-vis les souches bactériennes multi résistantes responsables des maladies nosocomiales :

- Escherichia coli : Bacille, Gram (-) est responsable d'infection nosocomiales dans 19% des cas (urinaire- sanguine).
- Staphylococcus aureus : Cocci, Gram (+) est responsable d'infection nosocomiales dans 10% des cas sanguine.
- Pseudomonas aeruginosa : Bacille, Gram (-) est responsable d'infection nosocomiales dans 9% (respiratoire, sanguine, urinaire).
- Streptococcus : Gram(+)

IV-10-1 Technique bactériologique :

Nous avons étudié la sensibilité des souches de test vis-à-vis le C-phenyl-N-phenylimine (base de schiff) par la méthode de diffusion (antibiogramme standard), ainsi on mesure la zone d'antibiotique circulaires correspondant en mm, puis il sera possible de calculer la CMI de l'antibiotique.

IV-10-2 Les concentrations utilisées pour les produits testés :

Les produits testés sont solubles dans chloroforme ce solvant était choisi d'après des études précédemment faites [12] donc on l'a utilisé comme solvant, puis on a testé la toxicité du solvant (test préliminaire)

On a fait un intervalle de dilution 20mg/ml jusqu'à 0,2mg/ml pour le produit synthétisé

On préparé la solution mère de concentration 25mg/ml, dont on préparé autre solution mère de concentration 20mg/ml au but de diluer pour préparer les autres concentrations

Solution mère 0.3g dans 12ml chloroforme (25mg/ml) (25000 μ g/ml) (25g/l)

Tableau 3: Gamme de dilution de benzaldéhyde phénylimine

La solution mère $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	Solution initiale (ml) a pris de la solution mère	chloroforme distillée ajouté (ml)	Titre obtenu	
			$\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$
25000	8	2	20	20000
20000	2,5	2,5	10	10000
	0,5	4,5	2	2000
	0,05	4,95	0,2	200

IV-10-3 Préparation des disques de papier :

Pour préparer des disques de 5mm de diamètre, on utilise le papier filtre N°1 de wattman, puis on les met dans un tube à essai pour les stérilisés à une température de 130°C pendant 45 minute.

IV-10-4 Préparation de milieu de culture :

Après la dissolution des milieux dans un autoclave, on le verse dans les boîtes de pétri ; on laisse le milieu jusqu'il sera solide, et on le sèche dans un étuve pendant 15 minutes pour déshumidifier.

IV-10-5 Préparation de la suspension microbienne :

On frotte à chaque fois à l'aide de pipette pasteur les trois souches bactériennes et on les dépose dans des tubes à essai contenant un bouillon nutritif (10ml), en agitant bien.

On disperse la suspension dans les boîtes de pétri, Passé 3 fois sur la même zone afin de s'assurer qu'elles sont entièrement couvert puis ré aspirer l'excès minutieusement, et sécher les boîtes dans l'étuve à 37 °C durant 15 minutes

IV-10-6 Préparation des inoculums :

La méthode utilisée pour la préparation est la méthode de VINCENT (JACOBETAL, 1979), on prépare 5 tubes a essai pour chaque composé contient les dilutions qu'on a déjà préparées, les disques de papier filtre de 5mm de diamètre sont immergé dans les tubes et sont imprégnés d'une faible quantité de produit, puis à l'aide d'une pince, on les dépose à la surface des boîtes pétris préalablement ensemencées par la suspension microbienne.

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

Chapitre V : Résultats et discussions

V-1 La synthèse de benzaldéhyde phénylimine:

V-1-1 Réaction :

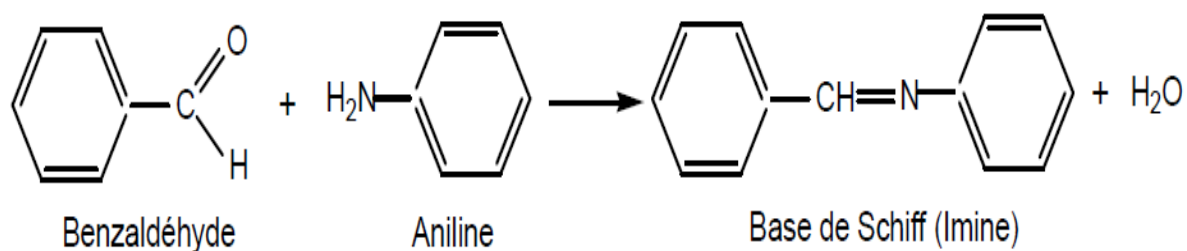


Figure 19 : La synthèse de benzaldéhyde phénylimine

Une réaction de condensation consiste en une réaction d'addition nucléophile accompagnée d'une élimination d'une petite molécule, ici : H₂O.

V-1-2 La structure générale de benzaldéhyde phénylimine :

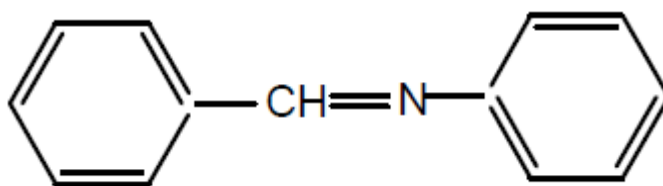


Figure 20: Benzaldéhyde phénylimine

Tableau 4 : Les Propriétés de benzaldéhyde phenylimine:

Nom	Formule	Masse molaire (g/mol)	Température de fusion (c°)
C-phenyl-N-phenylimine	C ₁₃ H ₁₁ N	181	48

V-1-3 Le rendement dans les trois méthodes :

- **Par mortier :**

Avec éthanol : 25%

Avec catalyseur (Fe SO_4) :45,86%

- **A reflux :**

Le rendement est : 30,35%

V-2 Les techniques d'analyse :

V-2-1 La chromatographie sur couche mince (CCM) :

Le pourcentage de l'éluant utilisé (20% acétate d'éthyle, 80% éther de pétrole).

La plaque CCM montrée qu'il a une tache d'un R_F : 0,56 de benzaldéhyde phénylimine qui est différent à R_F de l'aniline et benzaldéhyde.

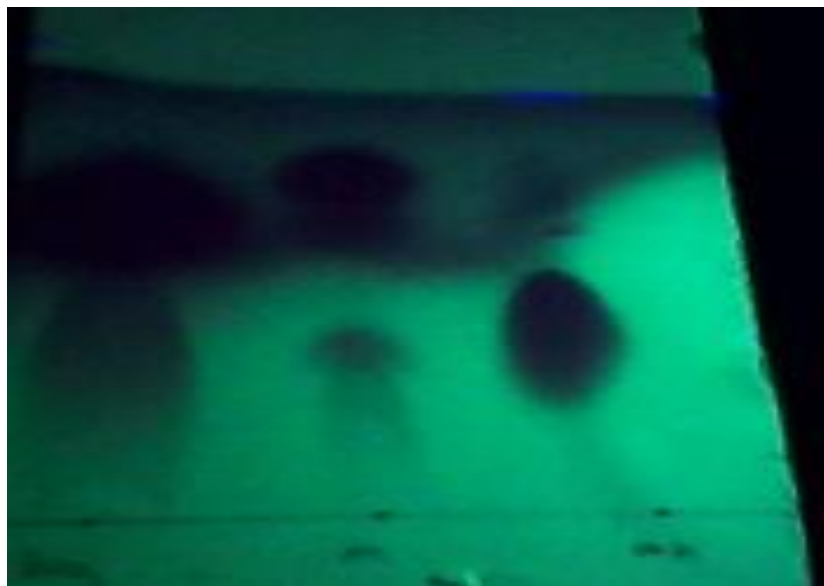


Figure 21 : Chromatographie sur couche mince.

Donc, on conclut que les deux réactifs sont réagis et donnés un autre produit (benzaldéhyde phénylimine).



Figure 22 : Le produit synthétisé (benzaldéhyde phénylimine)

V-2-2 L'infrarouge (IR):

Le tableau regroupe les différentes bandes d'absorptions des principaux groupes fonctionnels.

Tableau 5 : Les bandes d'absorptions de principales liaisons de benzaldéhyde phénylimine.

Fréquence (cm ⁻¹)	Observation
1670	Bande de vibration de valence d'un groupe C=N
1593	Bande de vibration de valence d'un groupe C=C
3080-2854	Vibration de valence d'un groupement C-H insaturé
690	C-H (def) insaturé

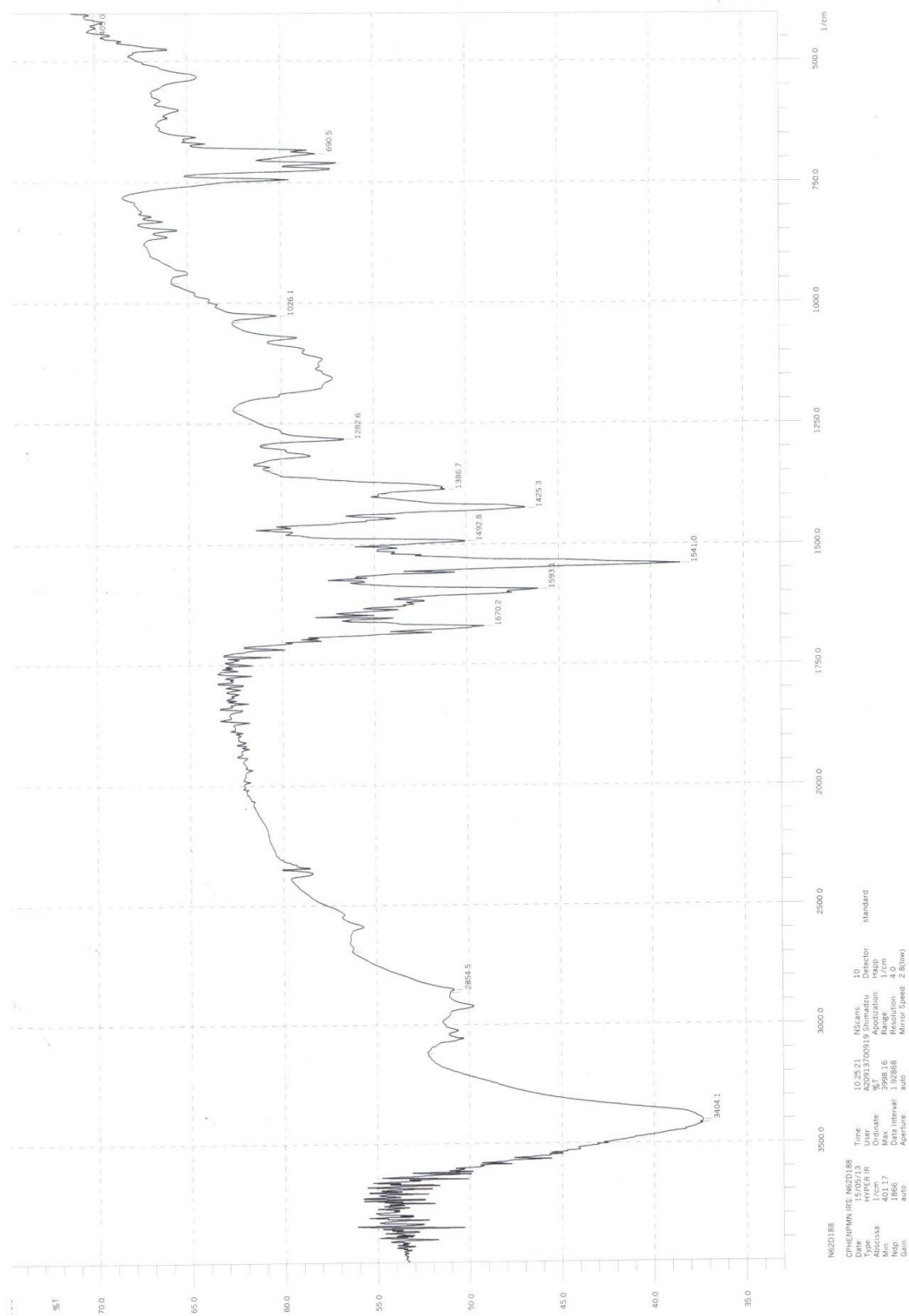


Figure 23 : spectre infrarouge de benzaldéhyde phénylimine

Le spectre IR montre la bande caractéristique des bases de Schiff à 1670cm^{-1} attribuée à la fréquence de vibration du groupe azomethine (imine), $\text{C}=\text{N}$. Mais il ya des traces d'eau.

V-2-3 UV-visible :

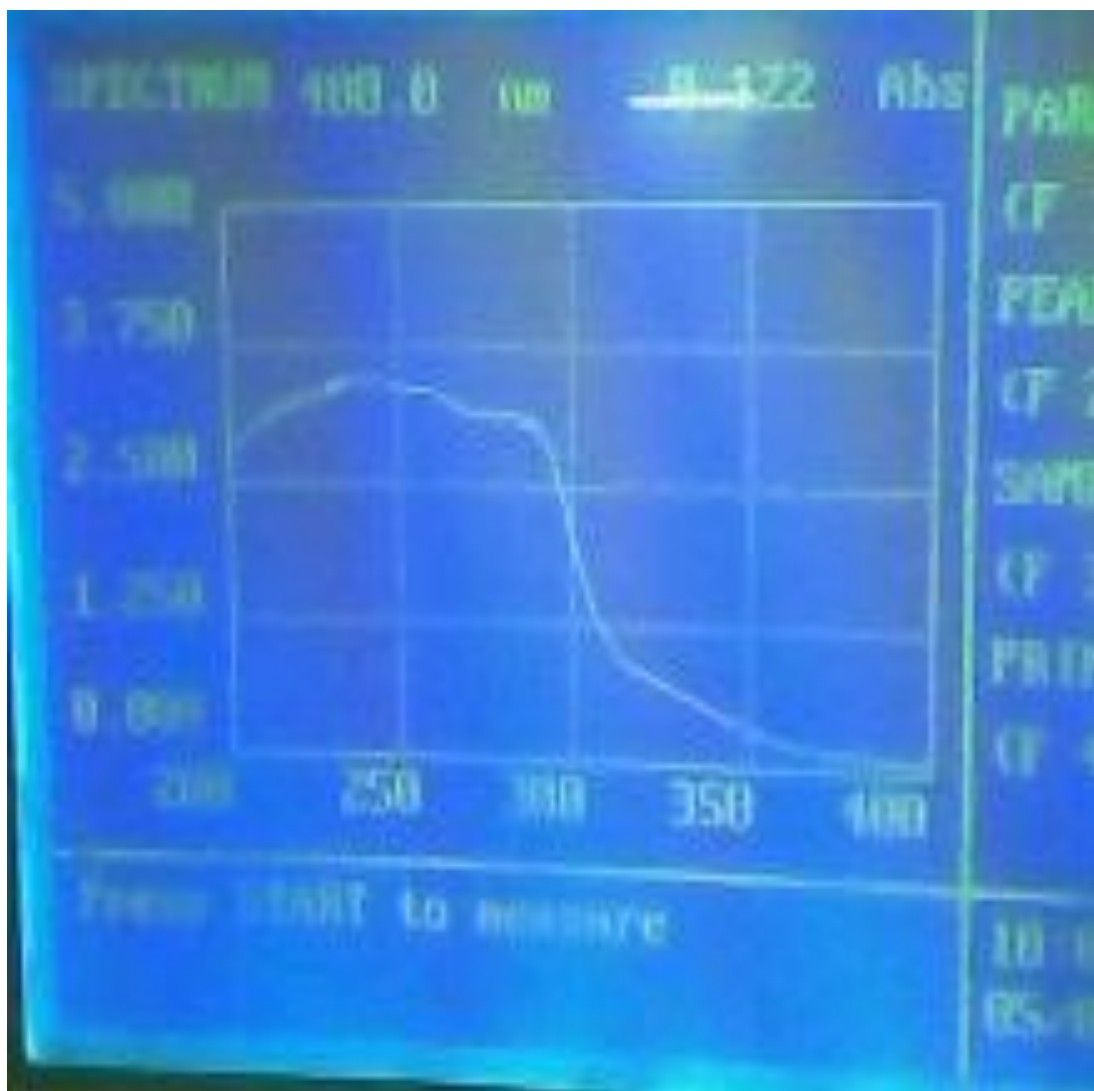


Figure 24 : spectre UV-visible de Les valeurs de benzaldéhyde phénylimine

Les deux bandes localisées à 241nm et 280nm pourraient être assignée respectivement aux deux liaisons $\text{C}=\text{C}$ et $\text{C}=\text{N}$.

V-2-4 RMN ^1H et RMN ^{13}C :Tableau 6: Les valeurs de RMN ^1H

Déplacement chimique	type des protons	Type des pics
6,98	C-H para	m
7,06	C-H ortho	m
7,45	C-H Ar (Meta)	m
7,52	C-H (p), C-H (m)	m
7,88	C-H (m)	m
8,39	C-H=N	S

Tableau 7 : Les valeurs de RMN ^{13}C

Déplacement chimique	type des carbones
122,3	C-6 et C-2
127,2	C-4
128,8	* C-3 et C-5
129,2	* C-2 et C -6
130	C-3 et C-5
131	* C-4
152	1
160	C-H=N

V-3 Résultats des tests bactériologiques :

V-3-1 Test préliminaire de solvant utilisé :

Tableau 8: Test préliminaire

Souche de test	Sporulation de la souche sans Chloroforme	Sporulation avec Chloroforme
Escherichia coli	-	-
Staphylococcus aureus	-	-
Streptococcus	-	-
Pseudomonas	-	-

- : Signifie que les bactéries sporulent, + : Signifie qu'il n'y a aucune sporulation visible.

D'après ces résultats satisfaisants du test préliminaire, on peut utiliser le chloroforme comme solvant de notre composé de test.

V-3-2 Résultats de la détermination des diamètres d'inhibition de chaque souche par la méthode de diffusion :

Cette méthode est décrite dans le premier chapitre de cette partie et les résultats sont accumulés dans les tableaux suivants.

V-3-2-1 Les diamètres d'inhibition de Streptococcus :

Tableau 9: la sensibilité de Streptococcus

	concentration mg/ml composés	25	20	10	2	0,2	Catégorie de la souche
Diamètre d'inhibition (mm)	Base de Schiff	9	0	0	0	0	I



Figure 25 : L'effet de benzaldéhyde phénylimine sur Streptococcus

On conclut que le produit synthétisé (benzaldéhyde phénylimine) a un effet sur la souche Streptococcus, donc, on peut classer la Streptococcus dans la catégorie des souches intermédiaire.

V-3-2-2 Les diamètres d'inhibition d'Escherichia coli

Tableau 10 : la sensibilité d'Escherichia coli

	concentration mg/ml composés	25	20	10	2	0.2	Catégorie de la souche
Diamètre d'inhibition (mm)	Base de Schiff	12	11	-	10	8	S



Figure 26 : L'effet de benzaldéhyde phénylimine sur Escherichia coli

On conclut que le produit synthétisé (benzaldéhyde phénylimine) a un effet sur la souche d'Escherichia coli, donc, on peut classer l'Escherichia coli dans la catégorie des souches sensible à ce composé.

V-3-2-3 Les diamètres d'inhibition pseudomonas

Tableau 11 : la sensibilité pseudomonas

	concentration mg/ml composés	25	20	10	2	0.2	Catégorie de la souche
Diamètre d'inhibition (mm)	Base de Schiff	-	11	10	9	-	S



Figure 27 : L'effet de benzaldéhyde phénylimine sur pseudomonas

On conclut que le produit synthétisé (benzaldéhyde phénylimine) a un effet sur la souche

Streptococcus, donc, on peut classer Streptococcus dans la catégorie des souches sensible.

V-3-2-4 Les diamètres d'inhibition staphylococcus

Tableau 12: la sensibilité de staphylococcus

		concentration mg/ml					Catégorie de la souche
		25	20	10	2	0.2	
		composés					
Diamètre d'inhibition (mm)	Base de Schiff	0	0	0	0	0	R



Figure 28 :L'effet de benzaldéhyde phénylimine sur staphylococcus

On conclut que le produit synthétisé (benzaldéhyde phénylimine), n'a aucune influence sur staphylococcus, donc, on peut classer staphylococcus dans la catégorie des souches résistante à ce composé. Mais il y'a des contaminations sur le disc numéro 5.

On a :

S : la souche est sensible à ce composé, **R** : la souche est résistante à ce composé,

I: la souche est intermédiaire à ce composé.

V-3-3 Conclusion :

D'après chaque expérience, on a constaté que ce produit (benzaldéhyde phénylimine) ou (base de Schiff) synthétisé à influé sur les souches testé, mais par différent effet pour chaque bactérie et pour chaque concentration sauf la bactérie staphylococcus.

Conclusion

générale

Au cours de ce travail nous avons synthétisé et caractérisé un composé organique type base de Schiff. Ainsi nous avons focalisé nos efforts sur l'étude de l'effet biologique sur quatre types des bactéries pour déterminer leurs activités biologiques.

La réalisation de présent travail nous a permis la maîtrise de différentes techniques d'analyses à savoir ; l'infrarouge, l'ultra violet et RMN.

Les résultats obtenus montrent que le rendement de la réaction de synthèse du benzaldéhyde phénylimine est relativement moyen. Cependant, les tests d'activités antibactériennes montrent que ce produit a une influence sur les différentes bactéries, alors que l'effet de notre produit sur *Escherichia coli* et *pseudomonas* est fort, et sur *Streptococcus* est intermédiaire, et n'a aucun effet sur *staphylococcus*.

Références

bibliographique

Référence :

[1] RAACHE Imane ; *Synthèse d'acétanilide et l'étude de son effet synergique avec le noyau de l'acide 6-Aminopénicillanique* ; Mémoire de fin d'études (1012), Université de Ouargla.

[2] <http://www.infirmiers.com/etudiants-en-ifs/cours/cours-pharmacologie-lesantibiotiques.html>

[3] Emile de LAVERGNE ; Jean-Claude BURDIN ; *les bactéries*, presses universitaires de France-Paris (1973).

[4] <http://www.sante.dz/aarn/classification.pdf>

[5] http://www.arnobio2.com/microbiologie/les_agents_antimicrobiens.pdf.

[6] Haffas Maamar ; *synthèse et application de phosphinoyl des pénicillines, étude leur activité biologique* ; Mémoire de Magister chimie organique (2008), Université de Ouargla.

[7] IUPAC, Compendium of Chemical Terminology (1997).

[8] Kadri-Lakhdar ; *Acylation d'une amine primaire en vue de l'obtention d'un précurseur de base de schiff*, Mémoire de fin d'études (2011), Université de Ouargla.

[9] Kurt Rublein; *the Reaction of Benzaldehyde and Aniline*, Organic Instructional Laboratories (1995).

[10] Ketfi Bouzid ; *Synthèse et caractérisation de complexes base de schiff tétradentates Ni^{II} -salen et Ni^{II} -salophen dihydroxyles*, Mémoire de magister (2010), Université Farhat Abbas-Setif.

[11] Paul Singleton ; Jean Dusart ; *Bactériologie*, 6^{ème} édition DUNOD, Paris, (2005). P.3-455,

[12] journal homepage: www.elsevier.com/locate/molstruc.

[1] Emile de LAVERGNE et Jean-Claude BURDIN, les bactéries(1973), presses universitaires de France-Paris.

[2]<http://www.infirmiers.com/etudiants-en-ifsu/cours/cours-pharmacologie-lesantibiotiques.html>

[4] Kadri-Lakhdar, Acylation d'une amine primaire en vue de l'obtention d'un précurseur de base de schiff, Mémoire de fin d'études(2011), Université de Ouargla.

[5] IUPAC (1997), Compendium of Chemical Terminology.

[6] Paul Singleton, Jean Dusart, Bactériologie, 6^{ème} édition DUNOD(2005), Paris, p 3, 455.

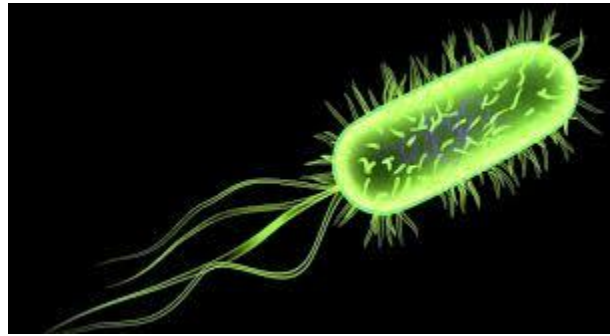
Annexe



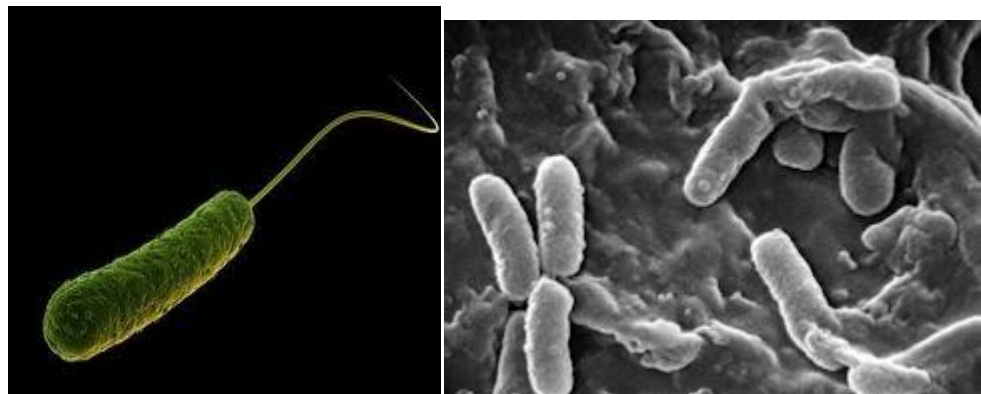
Pompe se vide



Staphylocoque



Escherichia coli



Pseudomonas



streptococcus

annexes



Autoclave



ETuve

Résumé

Résumé :

Dans cette étude, la préparation (base de Schiff) à partir de réaction de l'Aniline et Benzaldéhyde, Comme cela a été confirmé que la formule de ce composant par les analyses spectroscopie Y compris infrarouge et Ultraviolet Visible.

C'est aussi durant ce travail de tester l'efficacité biologique de ce composé sur quatre types différents de bactéries: la bactérie Escherichia coli, Streptococcus, Pseudomonas, Staphylococcus,

La base de Schiff pour ce dérivé a montré une bonne efficacité pour tous les types de bactéries sauf bactérie Staphylococcus.

Mots clés : Base Schiff, Effet biologie, bactérie, antibiotique.

Abstract:

In this study, preparation (Schiff base) from reaction of aniline and Benzaldehyde, as it was confirmed that the formula of this component in the analysis and infrared spectroscopy including Ultraviolet Visible.

It was also during this work to test the biological efficacy of this compound on four different types of bacteria: the bacterium Escherichia coli, Streptococcus, Pseudomonas, and Staphylococcus.

Schiff base for this derivative showed good efficiency for all types of bacteria except bacterium Staphylococcus.

Key words: Schiff base, biological effect, bacterium, antibiotic.

المخلص:

تم في هذه الدراسة تحضير (قاعدة شيف) انطلاقاً من مفاعلة الأنيلين و البيزالدهيد , كما تم التأكد من صيغة هذا المركب بواسطة التحليل المطيافية منها الأشعة تحت الحمراء و الأشعة فوق البنفسجية - المرئية.

كما تم خلال هذا العمل اختبار الفعالية البيولوجية لهذا المركب على أربع أنواع مختلفة من البكتيريا : البكتيريا القولونية , البسودوموناس المكورات السبحية , البكتيريا العنقودية.

إن قاعدة شيف لهذا المشتق قد أظهرت فعالية جيدة لكل أنواع البكتيريا ماعدا البكتيريا العنقودية.

الكلمات المفتاحية: قاعدة شيف , التأثير البيولوجي , بكتيريا , مضاد حيوي.