



UNIVERSITE DE OUARGLA

**FACULTÉ DES SCIENCES
ET SCIENCES DE L'INGÉNIEUR**

DÉPARTEMENT DE GÉNIE DES PROCÉDÉS

N° d'ordre :
N° de série :

Mémoire
Présenté pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER

Spécialité : Chimie organique
Option : Chimie organique industrielle

Par : Salah eddine RAHMANI

Thème

*Synthèse et activité biologique de quelques
composés carbonylés utilisés comme précurseurs
d'alcools chiraux*

Soutenu publiquement le : 23/06/2004

Devant le jury composé de :

Mr. Segni LADJEL	M.C.	Université de Ouargla	Président
Mr. Malek RASOUL	Prof.	Université de O. El Bouaghi	Examineur
Mr. Lakhdar SAKHRI	M.C.	Université de Ouargla	Examineur
Mr. Mohammed Ridha OUAHRANI	M.C.	Université de Ouargla	Rapporteur

2003-2004

Remerciements

Je tiens à remercier mon promoteur Ouahrani Med Ridha Maître de conférence à l'université de Ouargla pour avoir dirigé ce travail avec compétence, pour tous les conseils précieux, pour l'intérêt qu'il porte et pour les fortes impulsions qu'il sait si bien donner.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance à Monsieur Ladjal Segni Maître de conférence à l'université de Ouargla pour avoir accepté de présider le jury de ce travail.

Je remercie vivement Monsieur Malek Rasoul Professeur à l'université de O.El Bouaghi, de l'honneur qu'il me fait en acceptant de juger mon travail.

Toute ma reconnaissance à Monsieur Lakhdar Sakhri Maître de conférence à l'université de Ouargla. Je lui exprime mes sincères remerciements pour sa participation au jury de ce travail.

Je remercie également M.Lanez Touhami et M. Saidi Mokhtar pour m'avoir accepté au sein des laboratoires pour la réalisation de ce travail.

Je remercie l'équipe du laboratoire Bactériologie de l'hôpital Med Boudiaf, surtout Mme Kourime pour aide et soutiens.

Mes remerciements vont à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

ملخص:

تم تحضير المركبات التالية:

3- نيترو فينيل ايثانول, 4-ميثيل بنزوفينون, 4-ميثيل اسيتوفينون بتفاعل اسيتوفينون مع حمض النتريك, كلوروبنزوايل مع تولوين, انهيدريد اسيتيك مع تولوين, على التوالي. المزيج الراسيمي لكل من:

3-نيترو فينيل ايثانول, 4-ميثيل فينيل بنزوميثانول, 4-ميثيل فينيل ايثانول. تم تحضيرها بإرجاع الكيتونات السابقة الذكر بواسطة NaBH_4 في وجود الإيثانول. المزيج الراسيمي ل: 2-ميثيل-1-فينيل بيوتانول تم تحضيره بإضافة برومو-2-بيتان للبنزالدهيد في المذيب إيثر إيثيلي.

إجراء اختبارات الفعالية البيولوجية للكيتونات المحضرة و الكحولات المرافقة لها. بالإضافة للمركب 2-ميثيل-1-فينيل بيوتانول على بعض الأجسام الميكروبية: ايشيريشيا كولي, بسودوموناس ايروجينوزا, ستافيلوكوكاس أوراس وكانديدا ألبيكانس.

الكلمات الدالة: كربونيل, كحول كيرالي, فعالية بيولوجية, ايشيريشيا كولي, بسودوموناس ايروجينوزا, ستافيلوكوكاس أوراس وكانديدا ألبيكانس.

Abstract :

The 3-nitroacetophenone, 4-methylbenzophenone, 4-methylacetophenone, have been prepared by the reaction of the acétophénone with nitric acid, the benzoyl chloride with Toluene and the acetic anhydride with Toluene, respectively.

The racemic mixture of:
m-nitrophenylethanol, p-méthylphenylbenzomethanol, p-methylphenylethanol, have been synthesized via reduction of the ketones, previously prepared, by using NaBH_4 in ethanol solvent.

The racemic mixture of 2-methyl-1-phenylbutanol has been prepared by addition of Bromo-2-butane to the Benzaldehyde using Magnesium turnings in ether solvent.

Biological activity tests of prepared ketones and their correspondent alcohols, also for the 2-methyl-1-phenylbutanol towards some microorganisms: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

Keywords: Carbonyl, Chiral alcohols, Biological activity, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*..

Résumé :

Les composés suivants :

3-nitroacetophenone, 4-methylbenzophenone, 4-methylacetophenone, ont été préparé par la réaction de l'acétophénone avec de l'acide nitrique, le chlorure de benzoyle avec du toluène, et d'anhydride acétique avec du toluène, respectivement.

Les mélanges racémiques des :

m-nitrophenylethanol, p-méthylphenylbenzomethanol, p-methylphenylethanol, ont été synthétisés par réduction des cétones précédemment préparés à l'aide de NaBH_4 dans de l'éthanol.

Le mélange racémique de 2-methyl-1-phenylbutanol a été obtenu par l'ajout du Bromo-2-butane suivi par l'ajout du Benzaldéhyde dans de l'éther diéthylique.

La réalisation des tests biologiques des cétones précédemment préparés et leurs alcools et aussi pour 2-methyl-1-phenylbutanol sur les microorganismes microbiens suivants : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

Mots clés : Carbonyle, alcools chiraux, activité biologique, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

Sommaire

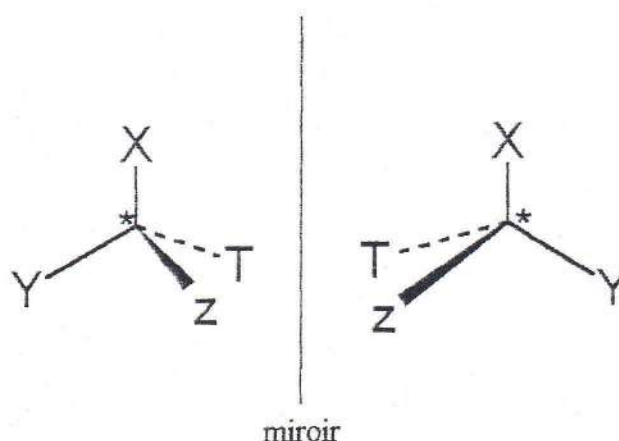
	Page
Introduction.....	1
Chapitre I : Généralités sur les composés carbonylés	2
La chiralité.....	2
L'activité optique.....	2
Composés carbonylés.....	4
1. Introduction	4
2. Propriétés physiques	5
3. Préparation.....	6
4. Addition nucléophile sur la fonction C=O	9
4.1. Addition des organomagnésiens	9
4.2. Réduction des carbonyles par les hydrures	10
4.3. Hydrosilylation.....	12
4.4. Acétalisation et cétalisation.....	13
5. Réactions des hydrogènes du carbone en α	14
5.1. Acidité en position α du carbonyle.....	14
5.2. Dimérisation des aldéhydes et cétones.....	15
5.3. Alkylation.....	16
5.4. Halogénéation.....	16
6. Alkylation et acylation de Friedel-Crafts	17
Chapitre II Généralités biologiques	19
1.Introduction.....	19
2.Définitions.....	19
3.champignons.....	19
4.Levures.....	20
5.Bactéries.....	22
Chapitre III Résultats et Discussion.....	26
III.1.Synthèse de m-nitroacetophenone	27
III.2. Synthèse de m-nitrophenylethanol	29
III.3. Synthèse de p-méthylbenzophénone	31
III.4. Synthèse de p-méthylphenylbenzométhanol	33
III.5. Synthèse de p-méthylacétophénone	35

III.6. Synthèse de p-methylphenylethanol.....	37
III.7. Synthèse de 2-methyl-1-phenylbutanol.....	39
Resultats de l'activité biologique.....	41
Chapitre IV Partie expérimentale	51
IV.1. Conditions expérimentales	51
IV.1.1. Synthèse de m-nitroacetophenone	52
IV.1.2. Synthèse de m-nitrophenylethanol	53
IV.1.3. Synthèse de p-méthylbenzophénone	54
IV.1.4. Synthèse de p-méthylphenylbenzométhanol.....	55
IV.1.5. Synthèse de p-méthylacétophénone.....	56
IV.1.6. Synthèse de p-methylphenylethanol.....	57
IV.1.7. Synthèse de 2-methyl-1-phenylbutanol.....	58
IV.2. Activité biologique	59
IV.2.1-Preparation des solutions-tests	59
IV.2.2-Materiel	59
IV.2.3-Preparation des disques	59
IV.2.4-Preparation des milieux d'ensemencement	60
IV.2.5-Preparation de la culture microbienne	60
IV.2.6-Culture et Incubation	60
IV.2.7-Resultats.....	60
Conclusion	62
Bibliographie	63
Annexes	65
Spectre IR m-nitroacetophenone	65
Spectre IR m-nitrophenylethanol	66
Spectre IR p-méthylbenzophénone	67
Spectre IR p-méthylphenylbenzométhanol	68
Spectre IR p-méthylacétophénone	69
Spectre IR p-methylphenylethanol	70
Spectre IR 2-methyl-1-phenylbutanol	71

Introduction

Introduction :

La découverte de la pluralité possible des activités biologiques de chacun des deux énantiomères d'une molécule chirale a entraîné un intérêt croissant pour la synthèse de composés organiques optiquement purs au cours de ces trente dernières années. En 1874, le Bel et Vant' Hoff ont montré qu'un carbone asymétrique est un atome de carbone saturé au centre d'un tétraèdre dont les sommets sont occupés par quatre substituants différents : $X \neq Y \neq Z \neq T$. Il apparaît dans l'espace sous deux configurations inversement égales, non superposables, symétriques l'une de l'autre dans un miroir plan :



De nombreuses molécules constituant les organismes vivants présentent au moins un de ces centres chiraux. Par exemple les acides aminés sont toujours de chiralité L. Si une réaction aboutit à la formation d'un composé chiral, ses deux énantiomères se forment presque toujours en quantités égales et l'on obtient son mélange racémique. A titre d'exemple le Ibuprofène et la fluoxétine des médicaments commercialisés sous leurs formes racémiques. [1] [2]

Dans le cadre de notre travail nous nous sommes intéressés à synthétiser des alcools à partir des cétones, puis à étudier l'activité biologique de ces derniers avec celles des alcools obtenus. On trouve dans le premier chapitre des généralités sur les composés carbonylés. Puis des généralités biologiques dans le deuxième chapitre. Le troisième chapitre est consacré aux résultats et discussion, et le dernier chapitre pour la partie expérimentale.

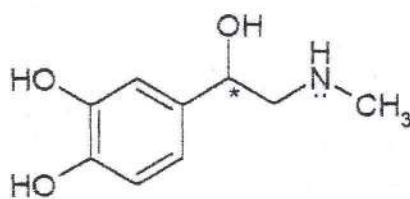
Chapitre I

***Généralités sur les composés
carbonylés***

Dans les réactions chimiques effectuées par les chimistes, les deux énantiomères d'un composé chiral ont le plus souvent des comportements identiques (les deux énantiomères du butan-2-ol s'oxydent, s'estérifient ou se déshydratent de la même façon). Si on aboutit à un composé chiral ses deux énantiomères se forment en quantités égales. Et lorsqu'un composé naturel est chiral, il est très fréquent qu'un seul de ses deux énantiomères existe dans la nature ; c'est le cas du camphre, du menthol, du glucose, du cholestérol, des acides aminés...etc.

Le comportement chimique de deux énantiomères vis-à-vis d'un « substrat » (récepteur) biologique peut être différent :

La forme lévogyre de l'adrénaline (agent hypertenseur produit par les capsules surrénales) est douze fois plus active que sa forme dextrogyre.



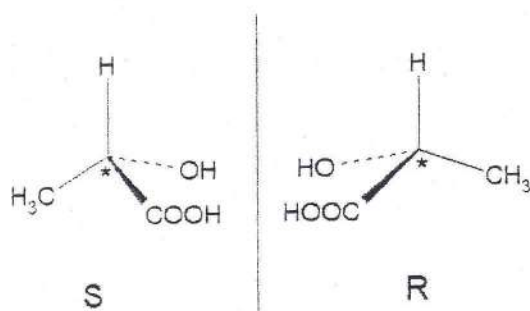
La chiralité :

Lorsqu'un objet n'est pas superposable à son image dans un plan, on dit qu'il est chiral (du grec $\chi\epsilon\iota\rho$ = main). Il l'est, s'il ne possède ni plan, ni centre de symétrie.

Les molécules chirales existent sous deux configurations non superposables, dont les solutions provoquant la rotation du plan de la polarisation de la lumière dans des sens opposés. Des molécules ayant des structures spatiales de configurations opposées sont appelées des énantiomères.

Les composés chiraux possèdent des carbones asymétriques dont l'asymétrie est associée avec le phénomène d'activité optique.

Un exemple est l'acide 2-hydroxy propanoïque connu sous le nom d'acide lactique.



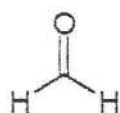
Les deux énantiomères ont des pouvoirs rotatoires identiques en valeur absolue, mais opposés. L'excès énantiomérique e.e. nous informe sur l'énantiosélectivité de chaque réaction.

L'activité optique :

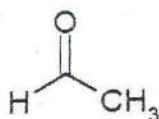
En 1966 Cahn, Ingold et Prelog [32] ont suggéré que le terme de la chiralité devrait être utilisé pour les énantiomères, ce terme est aussi employé par Kelvin en 1904 [33]. D'où une substance chirale possède toujours une propriété particulière, que ne possèdent jamais les substances achirales, appelée activité optique ou encore pouvoir rotatoire : si elle est traversée par un faisceau de lumière polarisée plane, elle provoque une rotation du plan de polarisation de cette lumière. [3], [4], [5]

Composés carbonylés :**1-Introduction:**

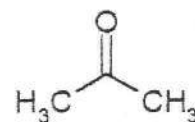
le groupe carbonyle est une des fonctions les plus importantes de la chimie organique. Cette fonction est présente dans un grand nombre de molécules : Dans les aldéhydes et les cétones le groupe fonctionnel est lié à deux atomes d'hydrogène, à un atome d'hydrogène et un atome de carbone, ou à deux atomes de carbone. [4]



formaldéhyde
(méthanal)

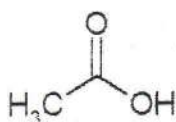


Acétaldéhyde
(éthanal)

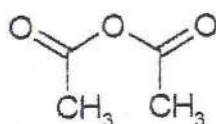


acétone
(propanone)

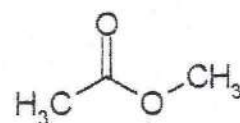
Dans les acides carboxyliques, les anhydrides et les esters :



acide acétique
(ethanoïque)

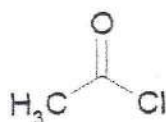


Anhydride acétique
(anhydride ethanoïque)



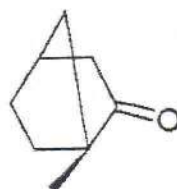
Acétate d'éthyle
(éthanoate de méthyle)

Dans les halogénures d'acides :



Chlorure d'acétyle
(Chlorure d'éthanoyle)

Certains composés sont d'origine naturelle, par exemple le camphre.

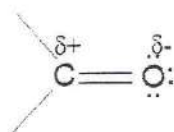


Camphre naturel

Fig. I-1 : Quelques composés carbonyles

2-Propriétés physiques :

la présence d'une liaison $C=O$ très polarisée implique la présence d'un moment dipolaire pour ces composés :



La structure réelle du groupe carbonyle :

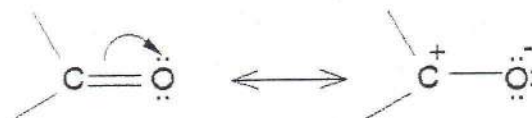
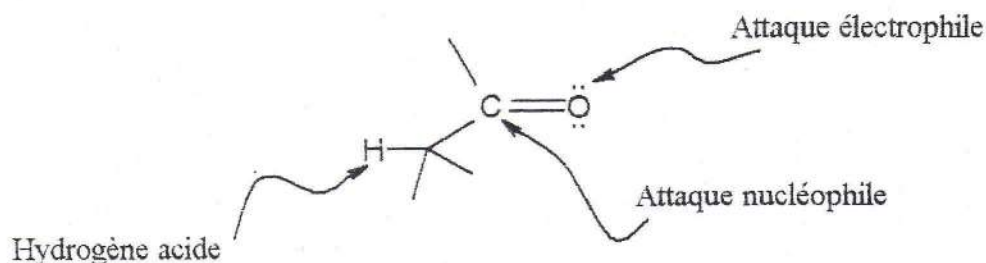


Schéma I-1 : Propriété physique du $C=O$

En conséquence, le carbonyle additionne les particules électrophiles E^+ sur l'oxygène, et les particules nucléophiles Nu^- sur le carbone. [6]

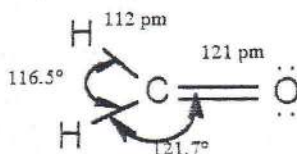
Le groupement en acquiert un caractère acide



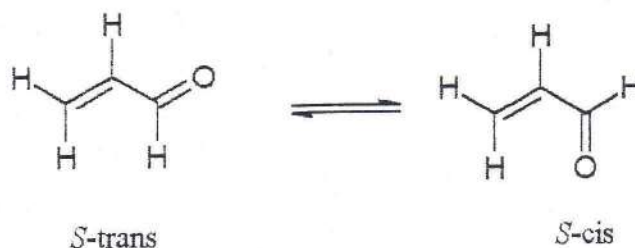
Structure géométrique :

Les expérimentaux montrent que les composés carbonylés sont localement plans au voisinage de groupe carbonyle. [3]

- Aldéhydes et cétones, exemple le méthanal :



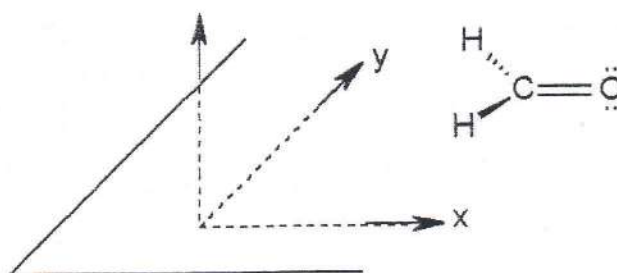
- conjugaison entre $C=O$ et $C=C$:



Structure électronique :

les orbitales atomiques mises en jeu sont de deux types :

- Symétriques sur le plan de la molécule :
 $1s(\text{H}), 2s(\text{C}), 2p_x(\text{C}), 2p_y(\text{C}), 2s(\text{O}), 2p_x(\text{O}), 2p_y(\text{O})$
- Antisymétriques sur le plan de la molécule :
 $2p_z(\text{C}), 2p_z(\text{O})$



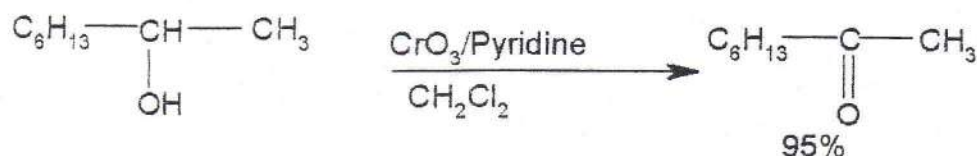
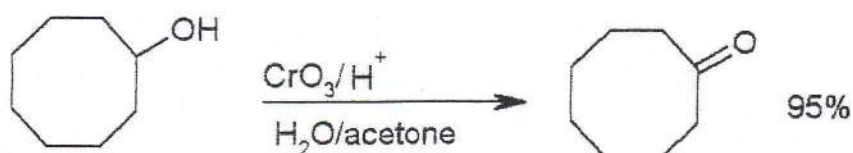
3-Préparation :

A partir des alcools : par oxydation ou déshydrogénation. La réaction s'effectue, par l'action des dérivés chromiques (l'acide chromique ou les bichromates de potassium ou de sodium) en présence d'acide sulfurique.[7]

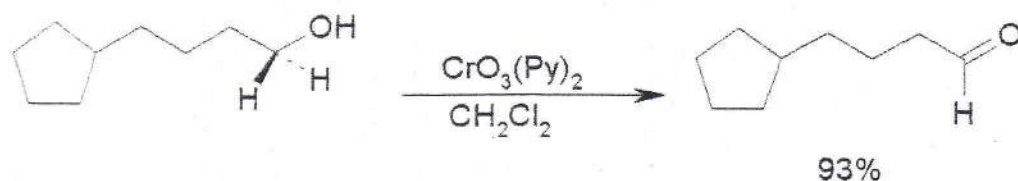
Tableau I-1 : Quelques composés de l'acide chromique

Réactifs	Application
CrO_3 /Acétone	Oxydation des alcools insaturés
CrO_3 /pyridine+Eau	Clivage des alcools tertiaires Oxydation sélective des alcools primaires
CrO_3 /DMF	
CrO_3 /AcOH	
CrO_3 /graphite	
CrO_2Cl_2 /pyridine + t-BuOH	

Des alcools secondaires :

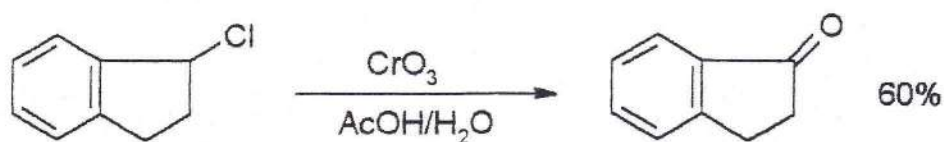


Des alcools primaires :

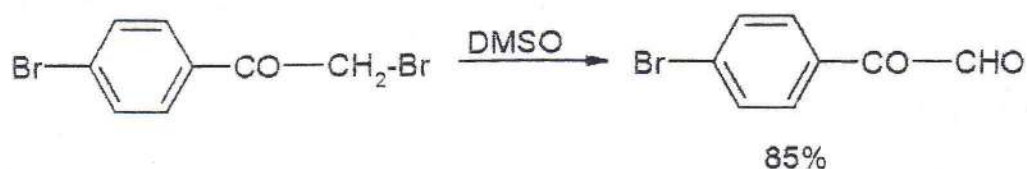
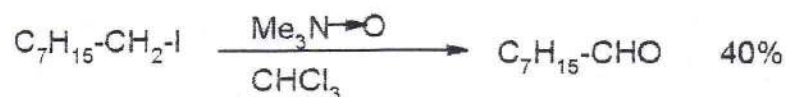


L'oxyde de manganèse est particulièrement recommandé pour l'oxydation des alcools allyliques [8]. Corey [9] a proposé une méthode d'oxydation à l'aide de N-halogeno-succinimide en présence de sulfure de méthyle. Ainsi une variante employant le chlore en présence de thioanisole $\text{C}_6\text{H}_5\text{SMe}$. On trouve aussi l'action de diméthylsulfoxyde en présence d'un déshydratant.

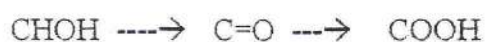
A partir des halogénures d'alkyles, l'oxydation des dérivés halogènes allyliques et benzyliques à l'aide de l'acide chromique.



On peut utiliser selon Franzen (1961) l'oxyde de tri éthylamine ou selon Kornblum (1957) le DMSO comme oxydant.[10]

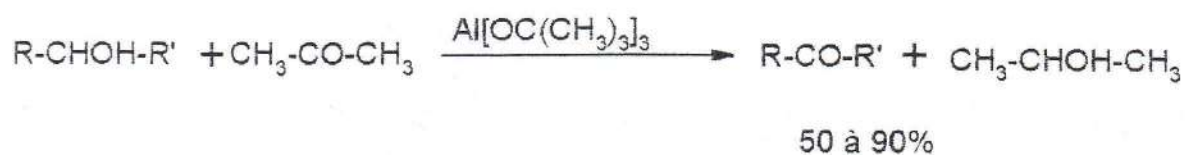


Pour arrêter au stade « dérive carbonyle » la séquence d'oxydation

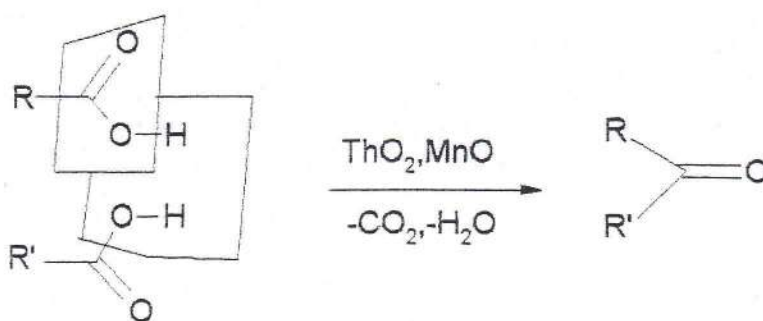


On utilise des oxydants sélectifs: [11]

$\text{CH}_3\text{-SO-CH}_3$, MnO_2 , $\text{CrO}_3(\text{Pyridine})_3$ (réactif de Collins) ou l'oxydation d'Oppenauer (échange des groupes fonctionnels)

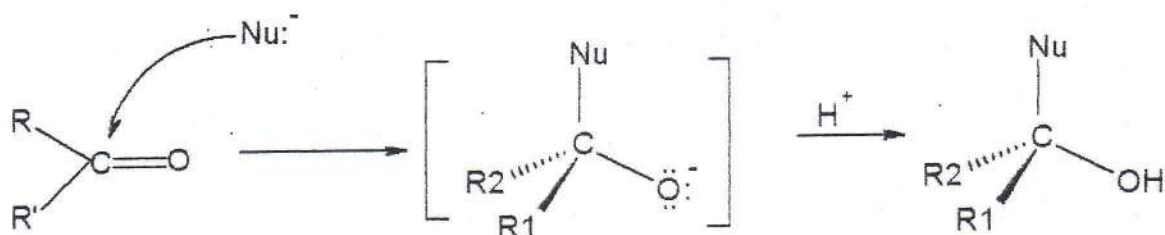


On peut les préparer aussi à partir des acides (méthodes de Senderens)



4-Addition nucléophile sur la fonction C=O :

l'addition d'un nucléophile Nu⁻ sur un carbonyle revient à transférer l'un des doublets du Nu⁻ vers le carbone de carbonyle.



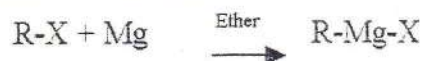
Le groupe carbonyle peut additionner une grande variété du Nu⁻ :

Anioniques (OH⁻, OR⁻, CN⁻, R₃C⁻, H⁻,...)

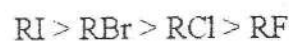
Neutres (H₂O, NH₃, RNH₂,...) [12]

4-a-Addition des organomagnésiens :

Les dérivés organomagnésiens, ou réactifs de Grignard, sont synthétisés par réaction de copeaux du magnésium métallique avec un dérivé halogéné dans un éther anhydre.[4]



L'ordre de réactivité des halogénures est le suivant :



Les réactifs de Grignard sont extrêmement basiques [13]. Ils agissent comme des nucléophiles en attaquant le groupe carbonyle des aldéhydes et des cétones pour former un alcool.

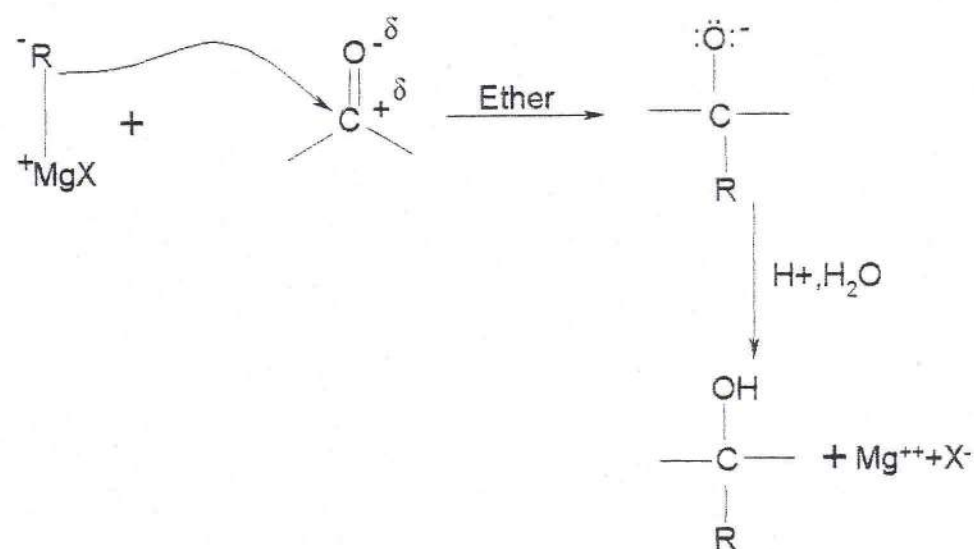
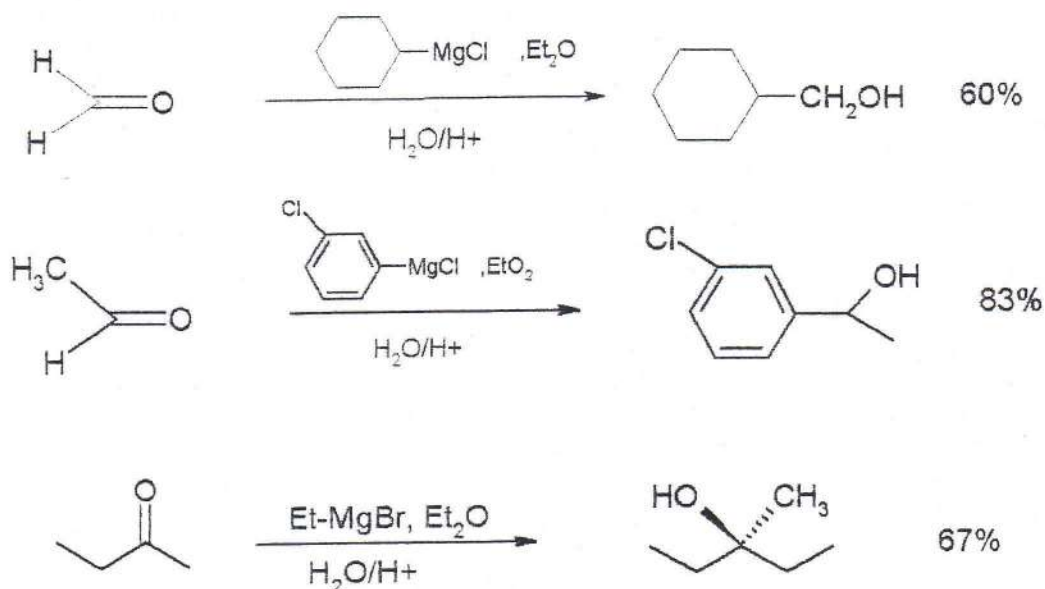
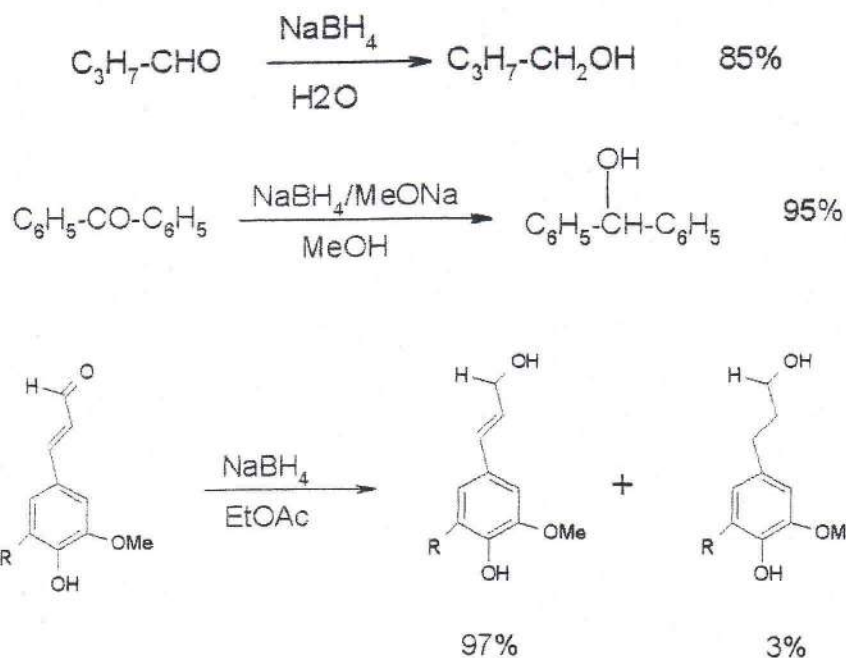


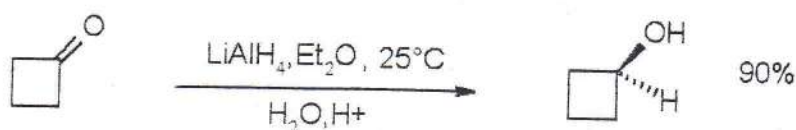
Schéma I-2 : mécanisme d'addition des organomagnésiens



4-b-Réduction des carbonyles par les hydrures :

C'est la méthode la plus largement utilisée. Le tétrahydroborate de sodium NaBH_4 et le tétrahydroaluminate de lithium LiAlH_4 présentent une liaison $\text{M}---\text{H}$ fortement polarisée. Les borohydrures NaBH_4 employés en milieu aqueux ou alcoolique fournissent les esters boriques des alcools qui sont hydrolysés directement. Il en est de même des alcoolates d'aluminium issus de l'action des aluminohydrures. [7]





La réduction des cyclanones a été rendue plus stéréosélective par l'emploi des hydrures suivants :

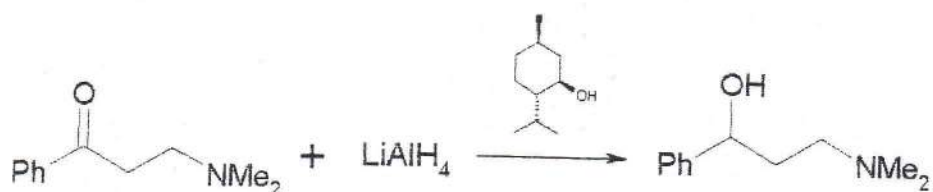
- $\text{LiAlH}(\text{OR})_3$
- $\text{LiBH}(\text{sBu})_3$
- $\text{LiAlH}_4 + \text{AlCl}_3$

Les aldéhydes α - β insaturés sont réduits sélectivement par NaBH_4 [14]

La réduction par les alcoolates d'aluminium (Meerwein-Pomdorf-Werly, 1925) est très sélective (respectant en particulier le groupe NO_2). [15]

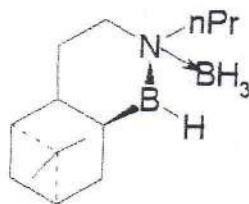


L'utilisation d'un ligand alcool chirale le (-) menthol sur un aminocétone donne un résultat avec un e.e. (excès énantiomérique) de l'ordre de 78 %. [16]



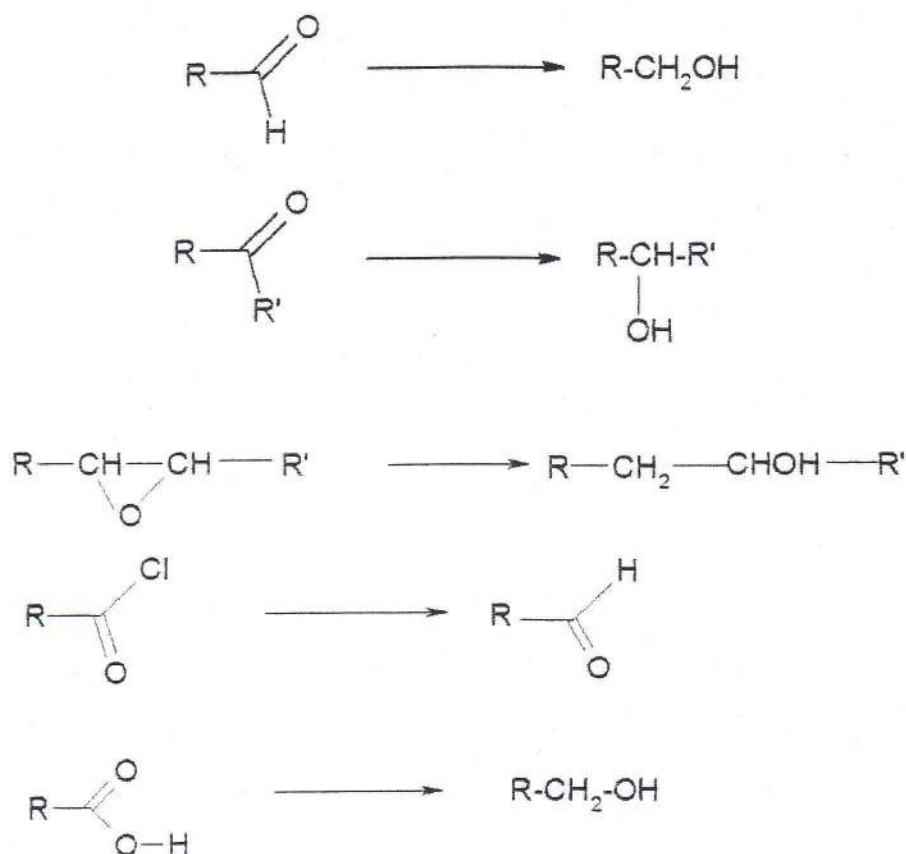
Aussi, l'utilisation des hydrures de Bore avec des ammonium quaternaires donne des résultats des e.e. ne dépassant pas les 80 % sur des cétones aromatiques. [17]

Et le Borane complexé par une amine a été utilisé pour la réduction des cétones. L'e.e. obtenu sur une cétone aliphatique est 82 %, à l'aide d'un dérivé de camphre. [18]



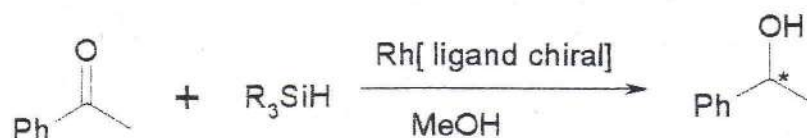
LiAlH_4 réduit tous les dérivés carbonyles et dérivés d'acide carboxyliques. NaBH_4 moins réactif que LiAlH_4 , est donc plus sélectif. [6]

Tableau I-2: Classement des principales réactions de réduction par l'hydruure de lithium aluminium LiAlH_4 par ordre de facilité décroissante. [13]



4-c-L'Hydrosilylation :

L'addition d'un groupe Si-H sur une cétone produit un éther Silyl, facilement hydrolysé en alcool. Les catalyseurs utilisés sont à base de Rhodium.

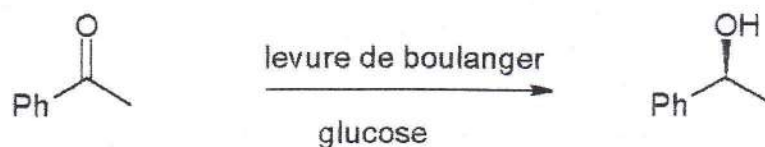


Certains ligands permettent la réduction de l'acétophénone avec des e.e. de 79 %. [19]

De nombreuses enzymes déshydrogénases ont été employées comme catalyseur pour la

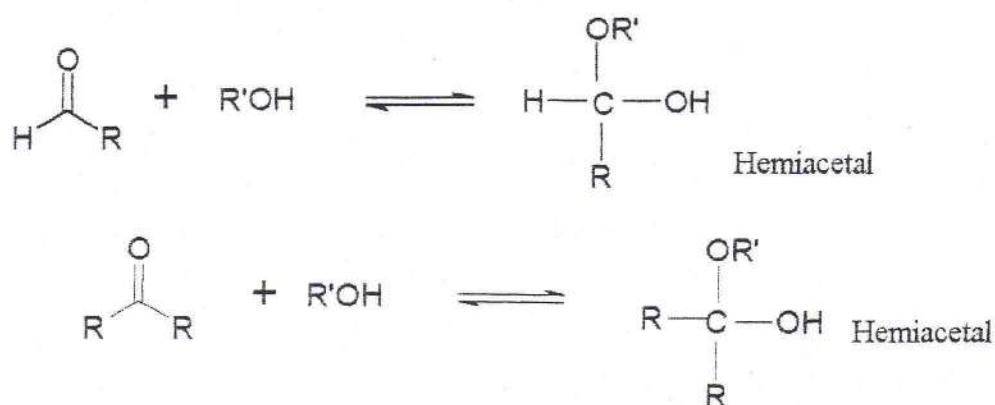
réduction surtout asymétrique de cétone. [20]

L'enzyme la plus utilisée est la levure de Boulanger. La réduction de l'acétophénone se fait avec un e.e. de 95%. [21]



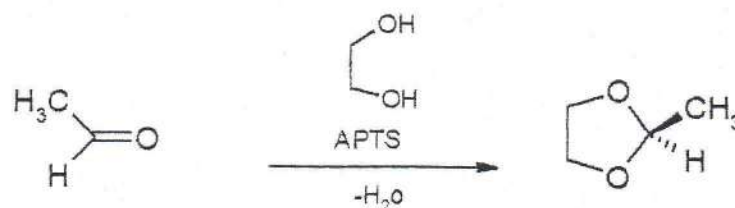
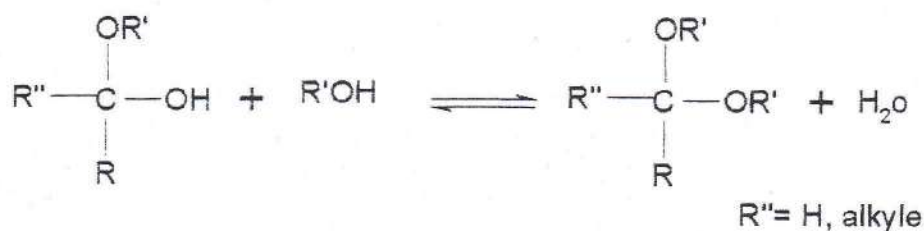
4-d-Acétalisation et citalisation :

Cette réaction est observée quand on traite un composé carbonyle par un alcool en présence d'Acide Para Toluène Sulfonique (APTS)



Le produit est un acétal (respectivement cétal) lorsqu'il est issu d'un aldéhyde (respectivement cétone).

En présence d'un excès d'alcool, on forme l'acétal et une molécule d'eau :



L'expérience montre que l'acétal est inerte vis-à-vis des nucléophiles, donc sa formation permet la protection du composé carbonyle de l'attaque d'un nucléophile. [6]

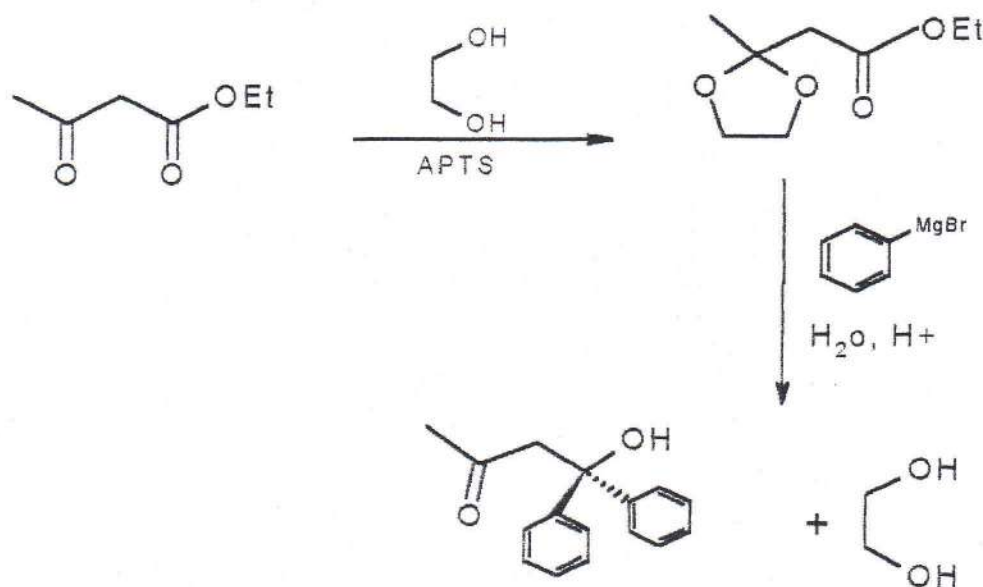
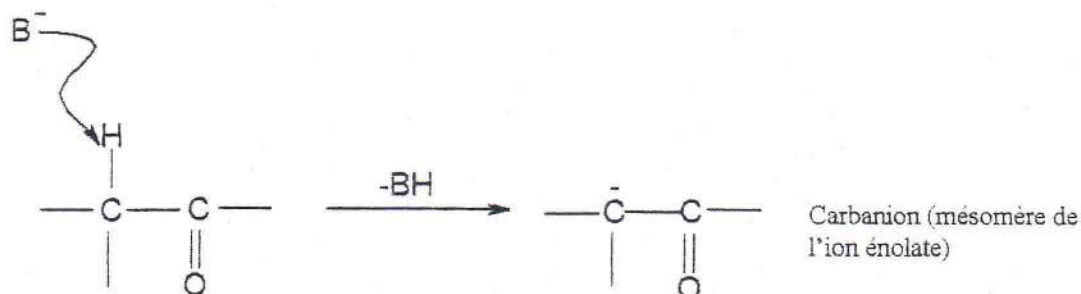


schéma I-2 : Protection de la fonction $\text{C}=\text{O}$ par acétalisation

5-Reactions des hydrogènes du carbone en α :

5-a-Acidité en position α du carbonyle :

L'atome d'hydrogène du carbone situé en α du groupement carbonyle peut être arraché sous forme de proton par des réactifs basiques (NH_2 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^-$, ...)



Le carbanion ainsi formé constitue le moteur d'importantes réactions électrophiles.

Le caractère acide donne naissance au phénomène de Tautomérie Céto-Énolique. [22]

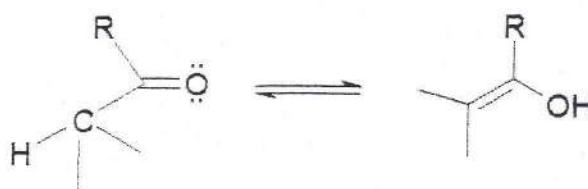
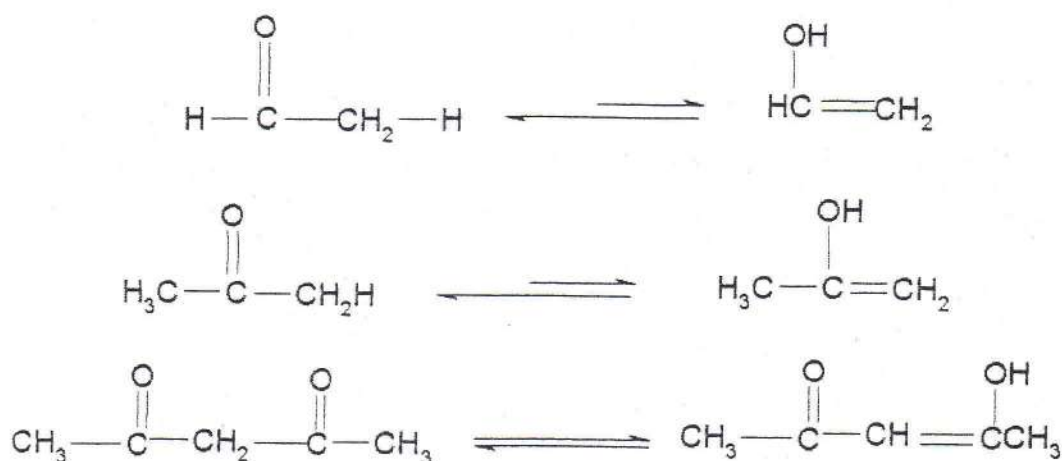


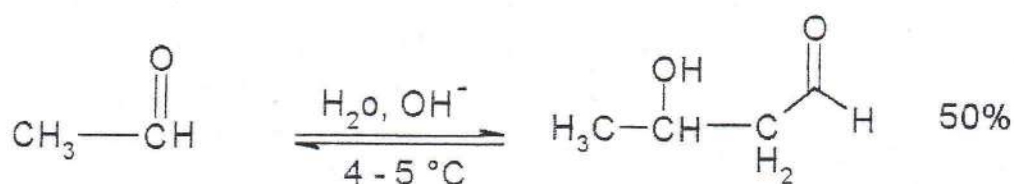
Tableau I-3 : Quelques composés comportant un équilibre céto-énolique

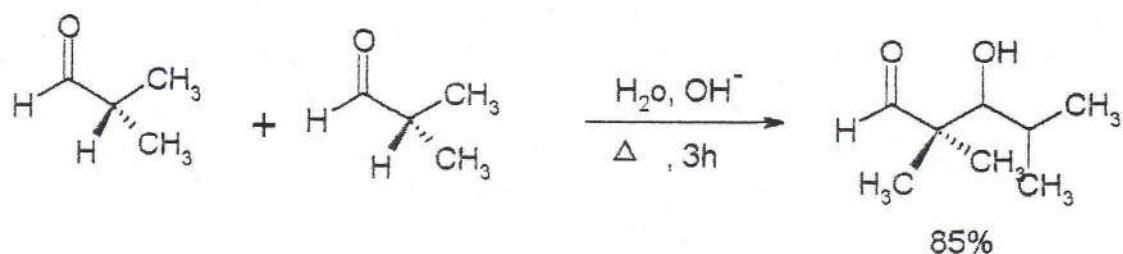


5-b-Dimérisation des aldéhydes et cétones :

5-b-1-Aldolisation et cétolisation :

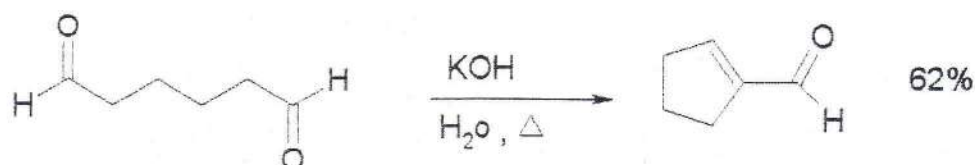
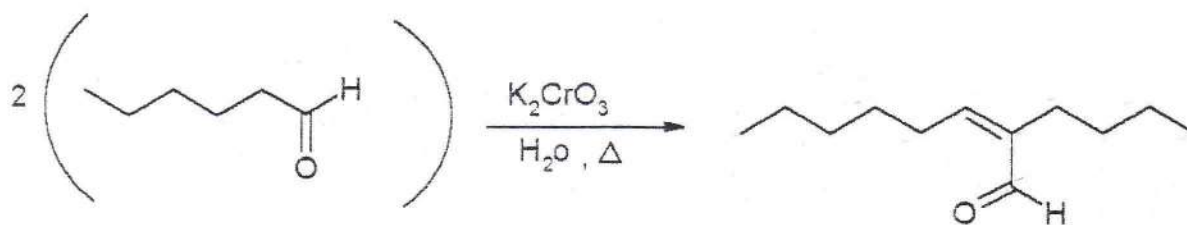
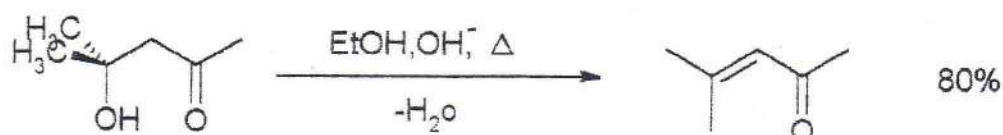
Deux molécules d'aldéhydes ou de cétones peuvent s'unir entre elles, en milieu légèrement alcalin, pour donner des aldéhydes-alcools (aldols) ou des cétones-alcools (cetols) [6].





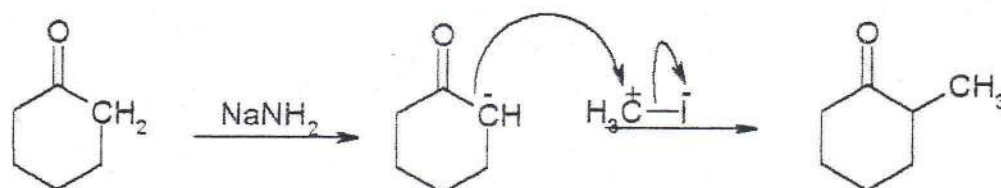
5-b-2-Crotonisation* :

C'est la déshydratation de l'alcool, catalysée par une base.[11]

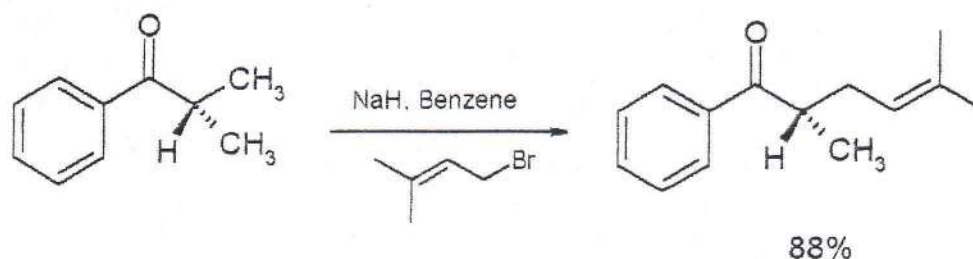


5-c-Alkylation :

Comme dans la réaction de Haller, en remplaçant l'hydrogène porté en α par un groupe alkyle.[4]

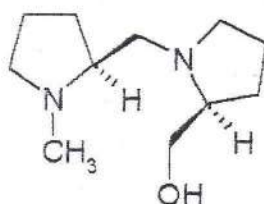


* : du nom trivial du produit de déshydratation de l'aldol de l'éthanal « aldéhyde crotonique »



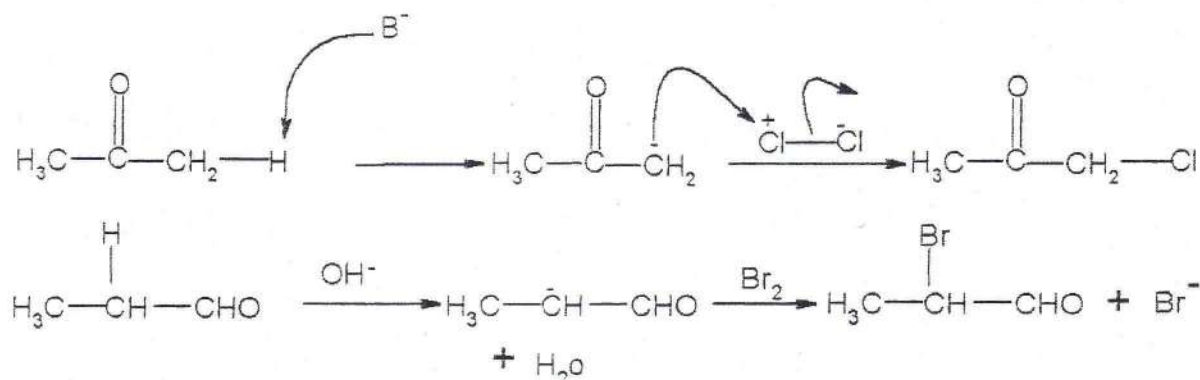
Lors de l'addition de Réactifs de Grignard sur des cétones aromatiques, selon Inch, on trouvait un e.e. de 70% en présence de ligands carbonhydratés. [23]

Mukaiyama [24] a trouvé un e.e. de 57-59 % lors de l'addition de réactifs organométalliques (n-BuLi) sur le benzaldéhyde, en utilisant des ligands chiraux (2*S*,2'*S*)-2-hydroxyméthyl-1-(1-méthylpyrrolidin-2-yl)méthylpyrrolidine.



5-d-Halogénéation :

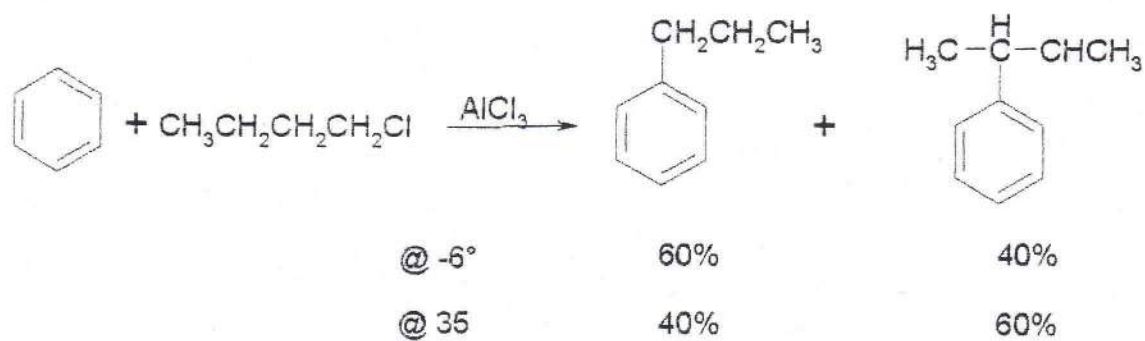
Elle se fait en arrachant l'hydrogène en α du carbonyle par une base.[11]



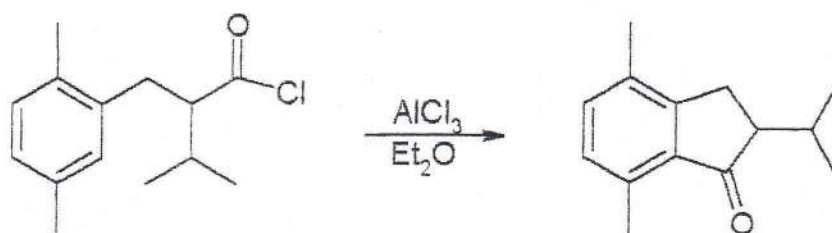
6-Alkylation et acylation de Friedel-Crafts :

L'alkylation et l'acylation, comme l'halogénéation, des noyaux benzéniques font intervenir un acide de Lewis comme activateur. Le chlorure d'Aluminium est le plus utilisé. Ce procédé peut être utilisé pour synthétiser des cétones. Par une substitution électrophile sur le cycle benzénique, qui fait intervenir des chlorure de benzoyle par exemple.[4]

Alkylation:



Acylation :



Chapitre II
Généralités biologiques

Introduction :

L'activité biologique d'un produit chimique, ou l'action d'un antibiotique, c'est la réaction des microorganismes (microbes), résistance ou sensibilité vers ce produit .

Il existe plusieurs méthodes pour la mise en évidence de l'action d'un antibiotique connues sous le nom d'*Antibiogramme*. la méthode la plus utilisée, dans les hôpitaux pour diagnostiquer les maladies infectieuses, est la méthode de diffusion qui se passe dans un milieu gélose parmi on cite le milieu Müller Hinton (préparé en 1941 par Müller Hinton pour caractériser la sensibilité ou la résistance de quelques pathogènes envers des antibiotiques.

L'objectif de cette analyse est de connaître le taux de sensibilité de la bactérie et de prévoir la concentration minimale de cet antibiotique connu sous le nom CMI.[32]

L'analyse se fait en suivant les étapes :

- préparation du milieu de culture
- préparation de la souche microbienne
- culture et ensemencement
- la mesure des diamètres d'inhibition

La sensibilité des bactéries ou autre microorganisme est déterminée en mesurant le diamètre d'inhibition du progression (avancement) bactérienne autour des disques déposés dans les boites de Pétri. [32][33]

Les microbes sont des microorganismes vivants (Champignons, Bactéries, virus,...). Ils existent dans notre entourage.

Définitions :

Les champignons, des eucaryotes, sont des microorganismes filamenteux. Leur source de carbone et d'énergie provient de molécules carbonés organiques. Ils peuvent souvent utiliser des polymères complexes grâce à des enzymes extracellulaires (dépolymérase), métaboliser les acides aminés et l'urée. Leur température de croissance varie de 25-35°C, quelques espèces (*A.Funigatus*) sont thermotolérantes. Ils peuvent se développer dans une zone de pH comprise entre 4.5 et 8.0. les champignons sont regroupés en plusieurs types. Certains sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire, autres sont nuisibles provoquant l'altération des aliments (*Aspergillus*) et des produits stockés, génèrent des

maladies (asthme, broncho-pneumonie) à noter que dans 20 % des cas d'allergies, les champignons sont impliqués.

Parmi ces champignons, on cite : *Candida Albicans*, *Saccharomyces Cereviceae*.

Tableau II-1 : Quelques espèces de Champignons responsable d'altérations.

Espèces	Température de croissance (°C)
<i>Alternaria alternata</i>	+0 +35
<i>Aspergillus candidus</i>	+3 +44
<i>Cladosporium herbarum</i>	-10 +32
<i>Wallemia sebi</i>	+6 +35

On appelle Levures les champignons microscopiques de type unicellulaire ou présentant dans leur cycle biologique une phase unicellulaire prépondérante. Elle se reproduisent par scissiparité ou bourgeonnement, ont des formes sphériques, ovoïdes, allongées, cylindriques ou en forme de citrons (Fig II-1). Les levures occupent une place essentielle dans l'industrie alimentaire. Elles participent à la fabrication de nombreux produits alimentaires (brasserie, cidrerie, vinification, fromagerie) mais aussi à la revalorisation des déchets agricoles et industriels et à la production de protéines. Enfin, elles jouent parfois un rôle de contamination et de dégradation pour certains aliments.

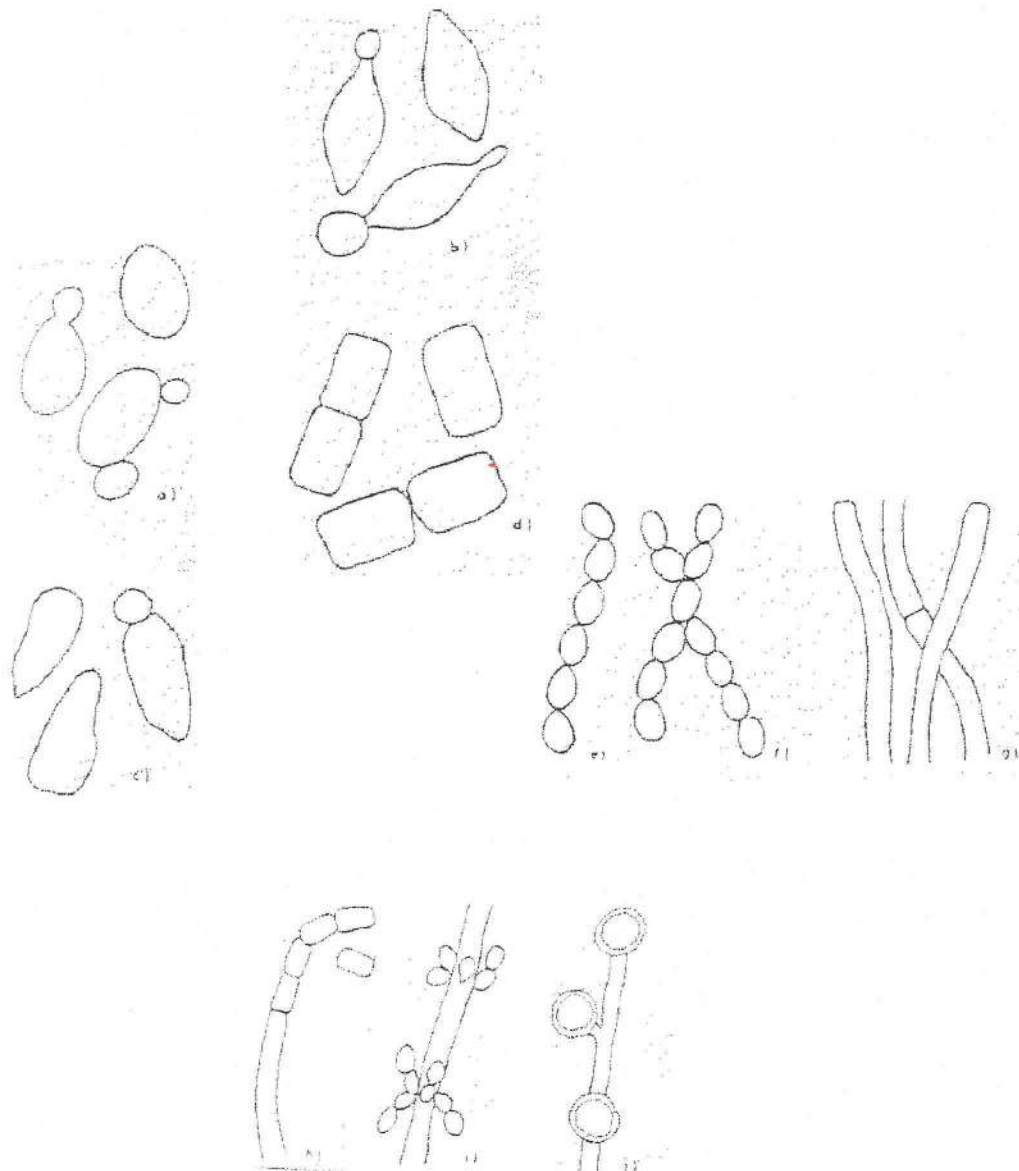
Quelques types de levures :

Candida Albicans (*C. Albicans*) :

C'est une levure de la famille de *Cryptococcaceae*, elle est caractérisée par les chlamydospores. Elle se trouve chez l'homme dans la bouche, le tube digestif et dans l'appareil génital. Elle engendre des infections de la peau dermatites, des muqueuses (stomatites, glossites, oesophagites, vaginites, balanites, atteintes des muqueuses bronchiques et pulmonaires), des organes profonds, des septicémies. Elle est responsable de la *Condidose*.

Saccharomyces cerevisiae (*S. Cerevisiae*) :

C'est levure alcooligène des industries de fermentation (brasserie, vinification, cidrerie, boulangerie, diététique), formation d'éthanol et dioxyde de carbone.



a) bourgeonnement multipolaire b) bourgeonnement bipolaire c) cellules en ogive d) cellules rectangulaires se divisant par scissiparité e) f) pseudomycélium g) vrai mycélium h) mycélium à arthrospores i) mycélium à blastospores j) mycélium à chlamydospores

Fig II-1 : Morphologie des levures

Les bactéries ou les procaryotes, sont des êtres vivants unicellulaires microscopiques (0.5-50 μm) (Fig II-2). Elles ont des formes variables : bâtonnets, sphériques, ou encore spirille. On les trouve dans tous les milieux : l'air, les sols, l'eau, la glace et les sources d'eau chaude. La plupart des bactéries sont immobiles. Elles sont classées à partir de critères morphologiques ou physico-chimiques : - la structure de la paroi.- le besoin en oxygène.- la forme.

Les bactéries se produisent de façon asexuée, par scissiparité . Selon le mode de nutrition, on distingue : les bactéries Saprophytes, qui puisent leur énergie da matière organiques morte (débris ou cadavres animaux ou végétaux), les Symbiotes, qui vivent sur ou dans les organismes vivant avec bénéfice mutuel, les Commensales (qui en nuisent pas à leur hôte), et les parasites (pouvant détruire les végétaux ou les animaux sur lesquels ils vivent).

Les effets pathogènes des bactéries sur les tissus peuvent prendre plusieurs formes :

- action locale directe (la gangrène gazeuse causée par *Clostridium Perfringen*. – nocivité de la réaction de l'organisme face à l'infection bactérienne.

La capacité de fermentation des bactéries sont utilisées pour la production de fromage, de yaourts, la production de fibres textiles....

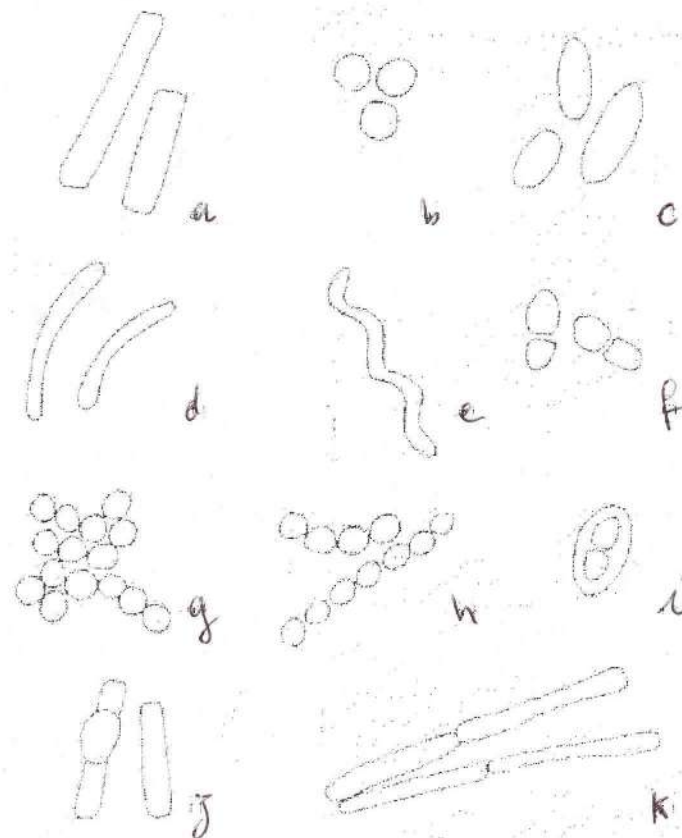
Certains champignons et bactéries synthétisent des substances toxiques pour certaines bactéries. Ces substances sont antibiotiques. Elles agissent soit en tuant les bactéries, soit en les empêchant de se développer et de se produire. Les antiseptiques sont des substances capables de tuer les bactéries, que l'on utilise pour désinfecter la peau ou les muqueuses.

Il y a deux grandes familles les plus répandues sont les *bacilles* (sous forme bâtonnets, *Bacilles de Koch*) et les *coccis* ou microcoques (sous forme sphérique, *Staphylocoque*).

Entérobactéries :

Cette famille (Entérobacteriaceae) est importante de point de vue sanitaire. Elle contient plusieurs genres comportant de nombreux espèces qui sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux. Ces bactéries sont fréquemment des contaminants alimentaires d'origine fécale, capables de dégradation importante. Certaines espèces sont pathogènes, responsables d'intoxications ou de toxi-infections

Elles sont sous formes de bacilles ou coccobacilles, se multiplient sur milieu ordinaire à pH neutre à une température de 37°C. elles donnent des colonies apigmentes lisses ou rigeuses de 1 à 3 mm de diamètre.



- a) bacilles b) coques c) coccobacilles d) vibrions e) spirilles f) diplocoques g) coques en amas
h) coques en chaîne i) bactérie encapsulée j) bactérie sporulée k) bacilles en chaîne

Fig II-2: Types morphologiques des bactéries



Fig II-3 : Entérobactéries

Escherichia Coli (E. Coli) :

Cette bactérie appartient à la famille des entérobactéries, vit dans l'intestin de l'homme et des animaux, aussi dans l'eau, les plantes et les sols. Elle est sous forme de bacilles mobiles provoque plusieurs maladies telle que la diarrhée parasitaire, maladies de l'appareil urinaire, le septicémie et la méningite des nourissants.

Pseudomonas Aeruginosa (Ps. Aeruginosa) :

Elles sont tes variées, contaminent fréquemment les produits alimentaires, sous forme de bacilles ou coccobacilles, mobiles, formant des colonies, et très répandues dans la nature. Elles se développent préférentiellement à 30°C. elles sont des agents pathogènes. L'origine de cette bactérie c'est l'eau ou dans l'appareil digestif.

Elle se trouve dans les milieu hospitaliers, est reconnue comme purulente, altère les surfaces des aliments refroidis.

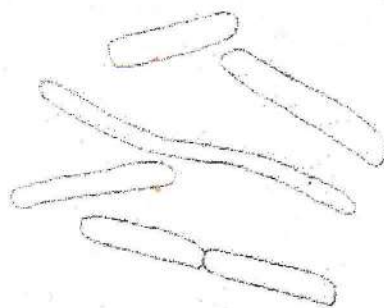
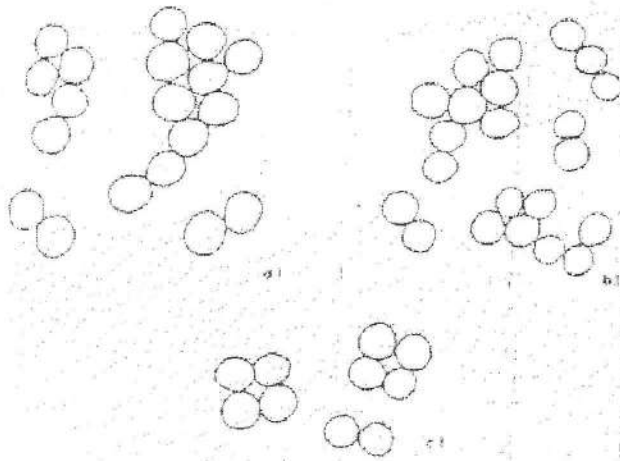


Fig II-4 : *Pseudomonas*

***Staphylococcus Aureus* (*St. Aureus*) :**

C'est une bactérie de forme sphérique, nommée *cocci* ou coque appartient à la famille des *Micrococcaceae*, immobile, anaérobie facultatif d'une couleur jaune ou dorée, groupée généralement en amas plans irréguliers



a) Micrococcus b) Staphylococcus c) Sarcina

Fig II-5: Microcoques

Leur colonies sont lisses et fréquemment pigmentées . Elle est très répandue dans la nature et présente des capacités de développement et de résistance importantes.

L'origine de cette bactérie est le rhume, les moisissures, le pharyngite, les maladies infectieuses de la peau et l'acné. Elle est responsable de la formation de pus et provoque une intoxication alimentaire, par une toxine, thermostable, libérée dans les aliments ayant supporté sa croissance. Les symptômes sont des vomissements, chute de tension, et parfois diarrhée.[29][30][31]

Le procédé et manipulations de l'activité biologique est décrit dans le chapitre consacré à la partie expérimentale.

Chapitre III

Résultats et Discussion

L'objectif de notre travail est d'étudier l'activité biologique de quelques cétones et de leurs alcools correspondants.

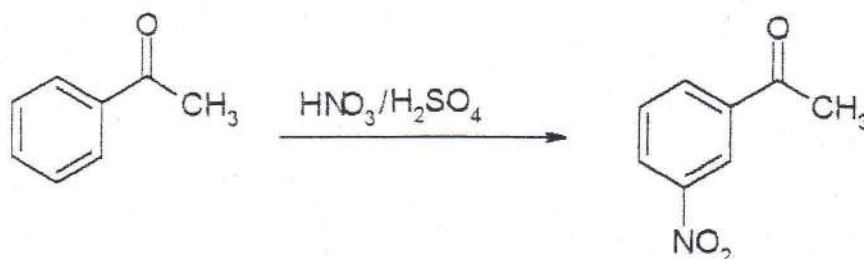
La première partie du travail expérimental concerne la synthèse des cétones, qui sont caractérisés par la spectroscopie IR.

Deuxièmement la synthèse des alcools, par réduction de ces cétones.

En troisième lieu, on procède aux tests d'activité biologique, qui sont fait sur quelques souche microbienne, la souche de *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus Aureus* et la souche fongique de *Candida Albicans*.

Dans ce chapitre nous essayons d'évaluer les composés synthétisés et leurs activités biologiques.

1-Synthèse de m-nitroacetophénone



La préparation de m-nitroacetophénone se fait par l'addition de 0.12 mole d'acide nitrique à 0.56 mole acétophénone en présence de l'acide sulfurique H_2SO_4 . cette réaction suit le mécanisme suivant:

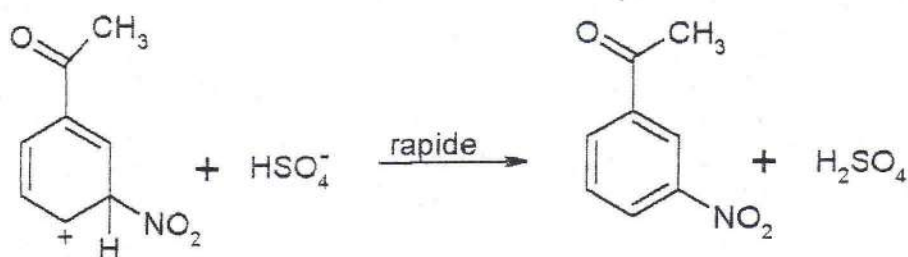
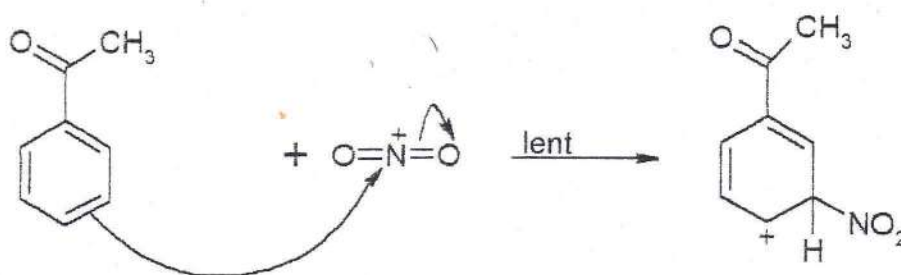


Schéma III-1 : mécanisme de réaction de nitration de acétophénone

Le produit de la réaction est obtenu avec un rendement de 62.9 %.

L'identification et la confirmation sont faites par CCM, Point de fusion et Spectres IR.

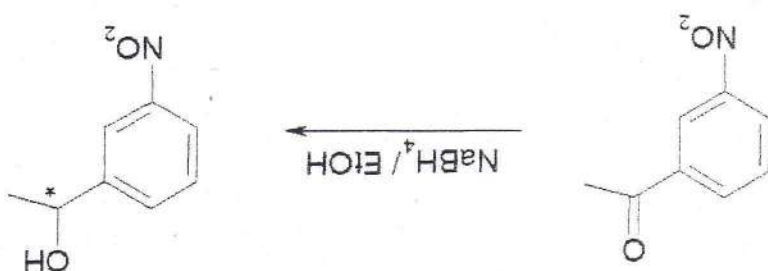
La température de fusion donne la valeur $P_f = 75-77\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Le spectre IR a donné un pic de 1691 cm^{-1} qui représente une vibration d'élongation de la liaison C=O, et deux autres pic de 1525.6 , 1348 cm^{-1} relatifs aux vibrations symétrique et asymétrique du liaison NO, d'autres bandes caractéristiques de ce composé sont indiquées dans le tableau III-1

Tableau III-1 : Bandes IR du m-nitroacetophenone

Bandes (cm^{-1})	Types de vibrations
3200-3040	Vibration d'élongation de C-H aromatique
3040-2820	Vibration d'élongation de C-H du groupement CH_3 .
1720-1660	Vibration d'élongation de la liaison C=O
800-700	Substitution sur le cycle aromatique

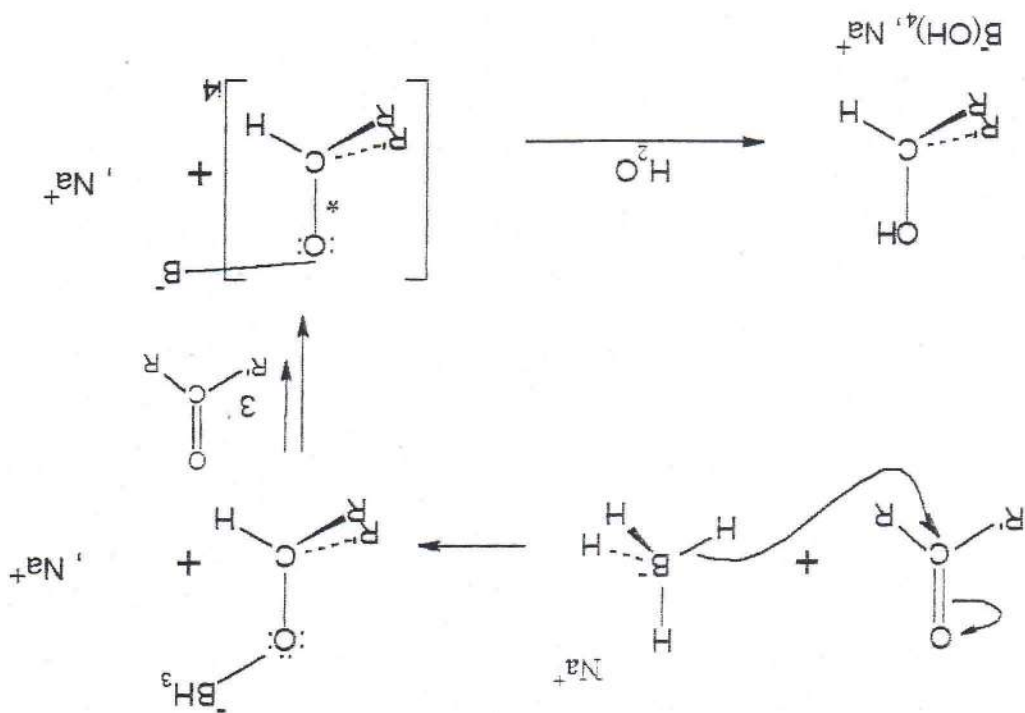
2. Synthèse de m-nitrophenylethanol



la préparation de m-nitrophenylethanol est réalisée en faisant réagir 3 mmole de m-nitroacétophénone avec 0,7 mmole de Borohydruure de sodium dans l'éthanol à température ambiante.

Le m-nitrophenylethanol obtenu présente un rendement de 40,6 %.

Le mécanisme géant la réaction peut être présentée comme suit :



tel que : $R = \text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4-$
 $R' = \text{CH}_3-$

Schéma III-2 : mécanisme de réduction de m-nitroacétophénone.

L'alcool obtenu, qui a un carbone asymétrique, est présent sous forme d'un mélange racémique de ses deux énantiomères.

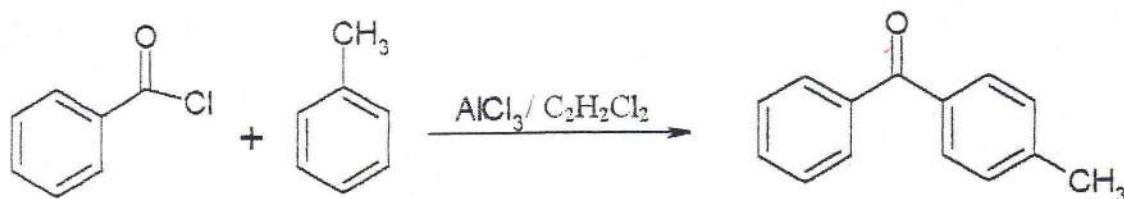
L'identification du produit est faite par CCM, et confirmée par le Point de fusion et Spectroscopie IR. Le point de fusion a donné la valeur $Pf = 79-81\text{ }^{\circ}\text{C}$

le spectre IR montre une bande caractéristique à $3450-3273\text{ cm}^{-1}$ du groupement O-H, en plus d'autres bandes caractéristiques qui sont indiquées dans le tableau N° III-2

tableau III-2 : Bandes IR du m-nitrophenylethanol

Bandes (cm^{-1})	Types de vibrations
3200-3014	Vibration d'élongation de C-H aromatique
3014-2823	Vibration d'élongation de C-H du groupement CH_3 .
1550-1480 1420-1317	Vibration d'élongation symétrique et asymétrique de la liaison NO
800-700	Substitution sur le cycle aromatique

3. Synthèse de p-méthylbenzophénone



Le composé préparé 4-méthylbenzophénone est obtenu par l'utilisation de 0.05 mole de Chlorure de benzoyle, et 0.05 du toluène en présence du Chlorure d'Aluminium. C'est une réaction d'acylation Friedel-Crafts, qui suit le chemin :

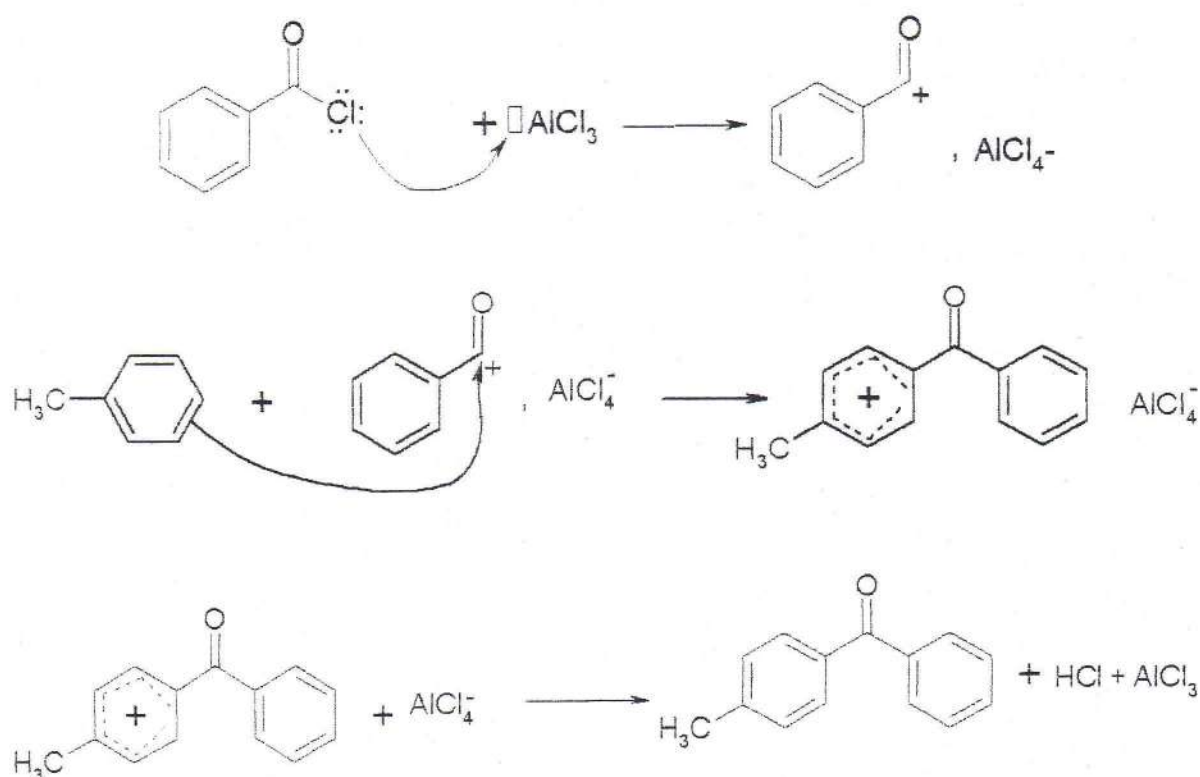


Schéma III-3 : mécanisme de synthèse de p-méthylbenzophénone.

Le produit obtenu présente un rendement de 45 %.

L'identification du produit est faite par CCM, point de fusion et Spectres IR.

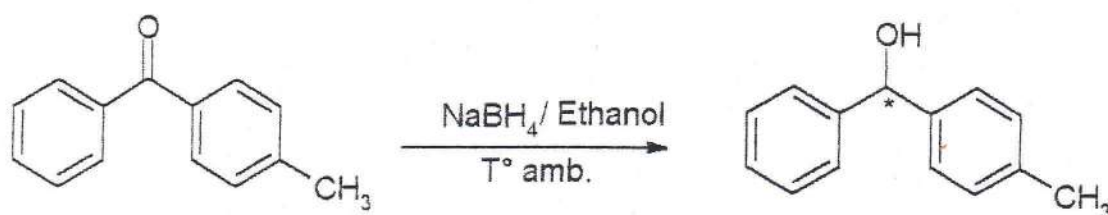
La lecture du Point de fusion donne $P_f = 54-55\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Et le spectre IR présente un pic caractéristique à 1701 cm^{-1} de vibration d'élongation de la liaison C=O, d'autres bandes caractéristiques sont indiquées dans le tableau N° III-3

Tableau III-3 : Bandes IR du p-méthylbenzophénone

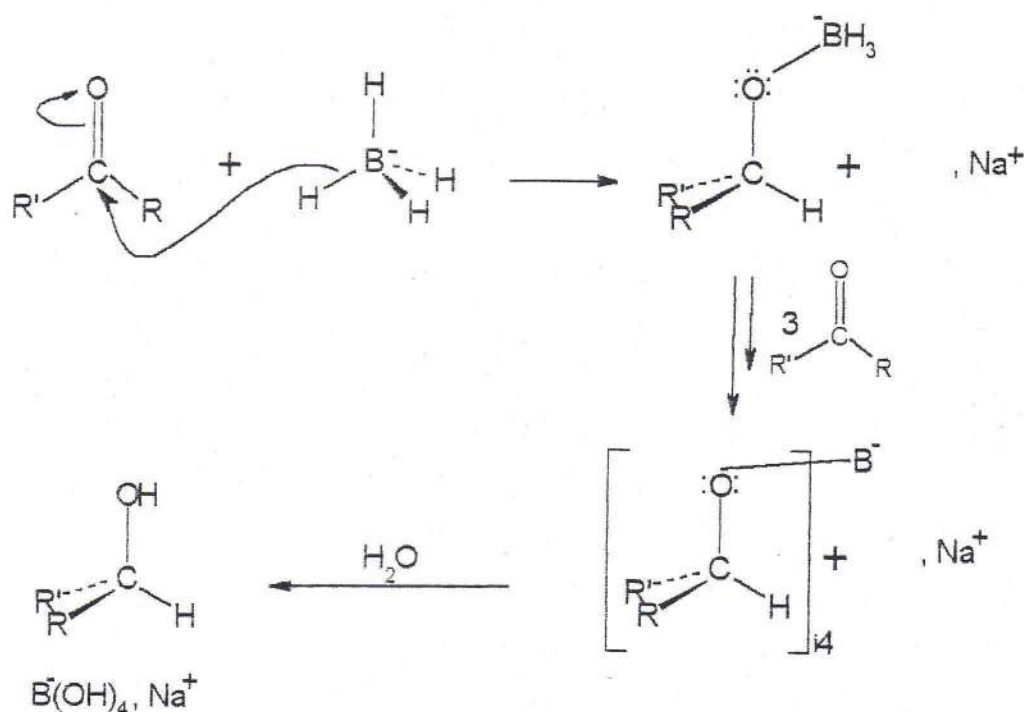
Bandes (cm^{-1})	Types de vibrations
3160-3000	Vibration d'élongation de C-H aromatique
2940-2740	Vibration d'élongation de C-H du groupement CH_3 .
830-730	Substitution sur le cycle aromatique

4. Synthèse de p-méthylphenylbenzométhanol



le produit p-méthylphenylbenzométhanol a été obtenu par la réaction de 5.1 mmole de p-méthylbenzophénone avec 1.3 mmole de NaBH_4 borohydrure de sodium dans l'éthanol.

En suivant le mécanisme de réduction des cétones par les hydrures:



tel que: $\text{R} = -\text{C}_6\text{H}_5$

$\text{R}' = -\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3$

Schéma III-4 : mécanisme de réduction de p-méthylbenzophénone.

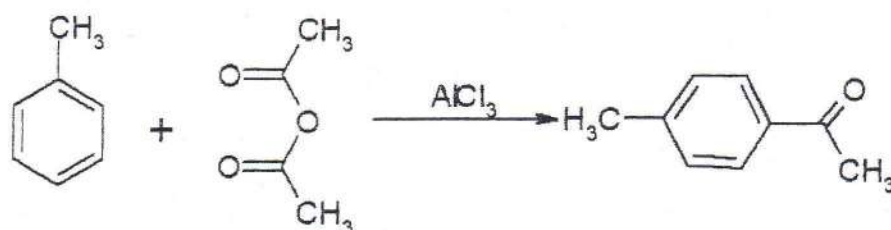
Le produit obtenu, est un alcool, présente un mélange racémique de ses deux énantiomères, dont le point de fusion a la valeur $\text{Pf} = 53-55^\circ\text{C}$

le spectre IR montre une bande caractéristique à $3560\text{-}3430\text{ cm}^{-1}$ du vibration du groupement O-H. d'autres bandes caractéristiques sont présentes dans le tableau N° III-4

tableau III-4 : Bandes IR du p-méthylphenylbenzomethanol

Bandes (cm^{-1})	Types de vibrations
3100-3000	Vibration d'élongation de C-H aromatique
2980-2870	Vibration d'élongation de C-H du groupement CH_3 .
1700-1625	Vibration d'élongation de C=O
1625-1580	Vibration de cycle aromatique
750-740	Substitution sur le cycle aromatique 4H voisins
740-670	Substitution sur le cycle aromatique 5H voisins

5. Synthèse de p-méthylacétophénone



Le p-méthylacétophénone est obtenu à partir de la réaction de 0.3 mole du Toluène avec 0.1 mole d'Anhydride acétique, en présence du Chlorure d'Aluminium. Cette réaction, de Friedel-Crafts, a lieu selon le schéma suivant :

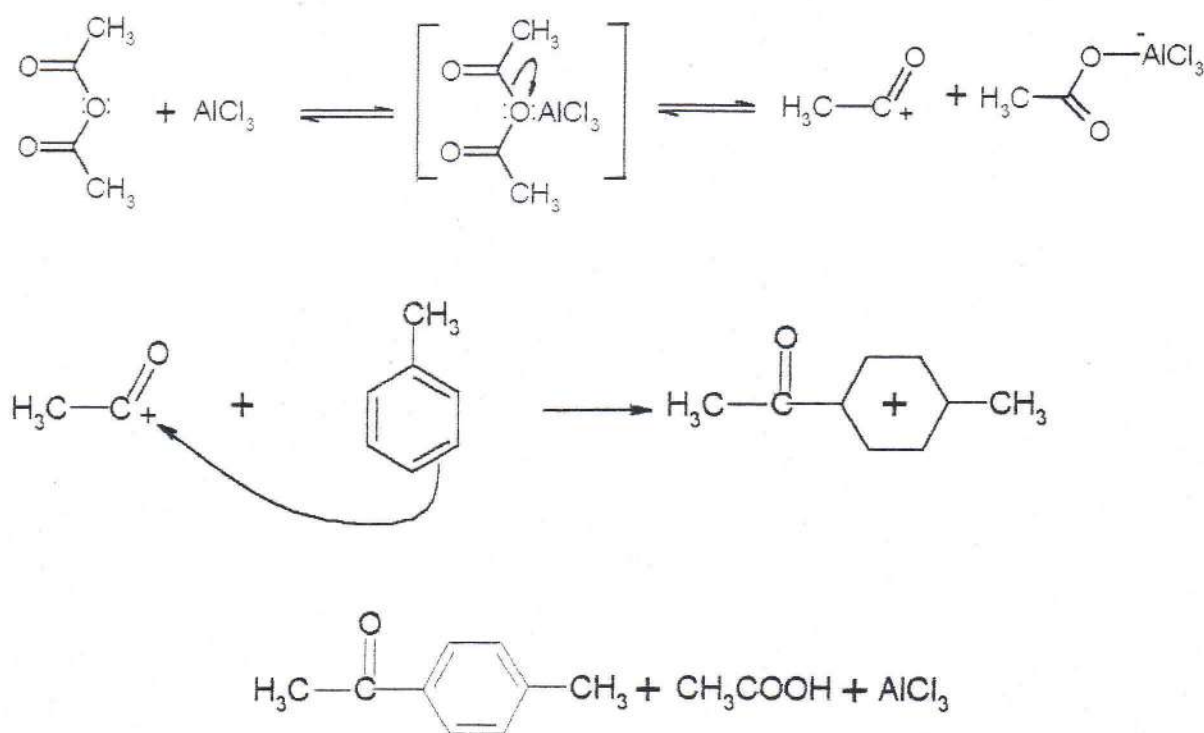


Fig. III-5 : mécanisme de synthèse de p-methylacétophénone.

Le produit est obtenu avec un rendement de 65.45 %

On a identifié et confirmé le produit par révélation sur CCM, lecture de la température de fusion et analyses des Spectres IR.

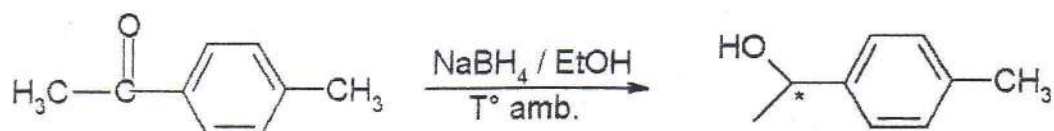
Le point de fusion a pour valeur $P_f = 27-28\text{ }^{\circ}\text{C}$

Le spectre IR a donné un pic caractéristique à 1680 cm^{-1} du vibration de la liaison $\text{C}=\text{O}$, d'autres bandes caractéristiques sont aussi présentées dans le tableau N° III-5

Tableau III-5 : Bandes IR du p-methylacetophenone

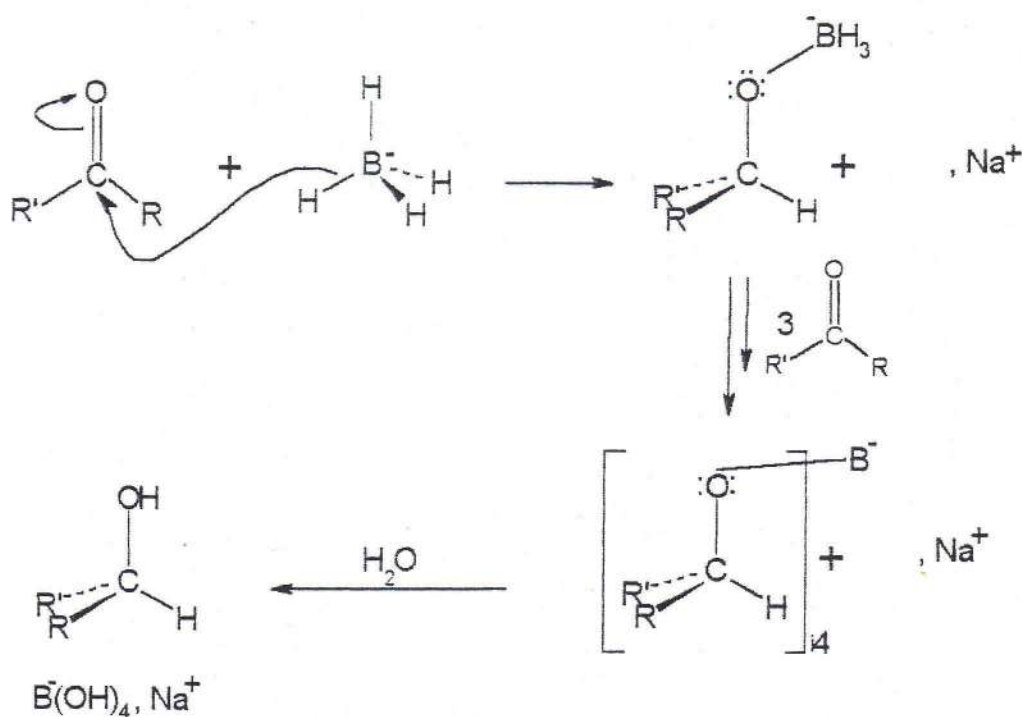
Bandes (cm^{-1})	Types de vibrations
3210-3000	Vibration d'élongation de C-H aromatique
3000-2860	Vibration d'élongation de C-H du groupement CH_3 .
1640-1590	Vibration d'élongation de $\text{C}=\text{C}$ du cycle aromatique
840-750	Substitution sur le cycle aromatique

6. Synthèse de p-methylphenylethanol



Le produit p-methylphenylethanol est obtenu avec un rendement de 53 % suite à une réaction de 7.5 mmole de p-methylacetophenone avec 1.9 mmole de NaBH₄ dans de l'éthanol.

Il se passe toujours une réduction de la fonction carbonyle selon le même mécanisme de réduction par les hydrures :



tel que : R = -CH₃

R' = -CH₂C₆H₄

Fig. III-6 : mécanisme de réduction de p-methylacetophenone.

La confirmation du produit se fait par révélation sur CCM et spectres IR.

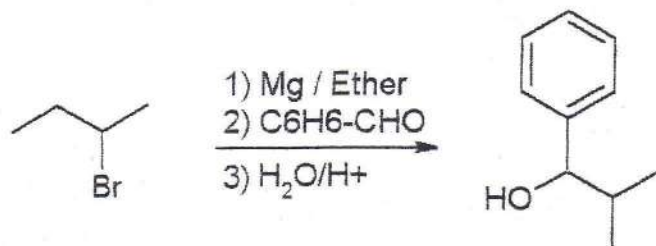
Le point de fusion a pour valeur $Pf = 20-22\text{ }^{\circ}\text{C}$

Le spectre IR a donné une bande caractéristique de $3544\text{ à }3197\text{ cm}^{-1}$ de vibration de la liaison O-H, d'autres bandes sont aussi présentes, comme le montre le tableau III-6

Tableau III-6 : Bandes IR du p-méthylphenylethanol

Bandes (cm^{-1})	Types de vibrations
3100-3000	Vibration d'élongation de C-H aromatique
3000-2835	Vibration d'élongation de C-H du groupement CH_3 .
1473-1400	Vibration d'élongation de C=C du cycle aromatique
840-750	Substitution sur le cycle aromatique

7. Synthèse de 2-méthyl-1-phenylbutanol



Le produit 2-méthyl-1-phenylbutanol est obtenu en utilisant 0.1 mole de Bromo-2-butane avec 0.1 mole de benzaldéhyde en présence de 0.12 mole de magnésium en tournures pour préparation de réactif de Grignard. Le produit obtenu a un rendement de 41.2 %.

Le chemin de synthèse est le suivant :

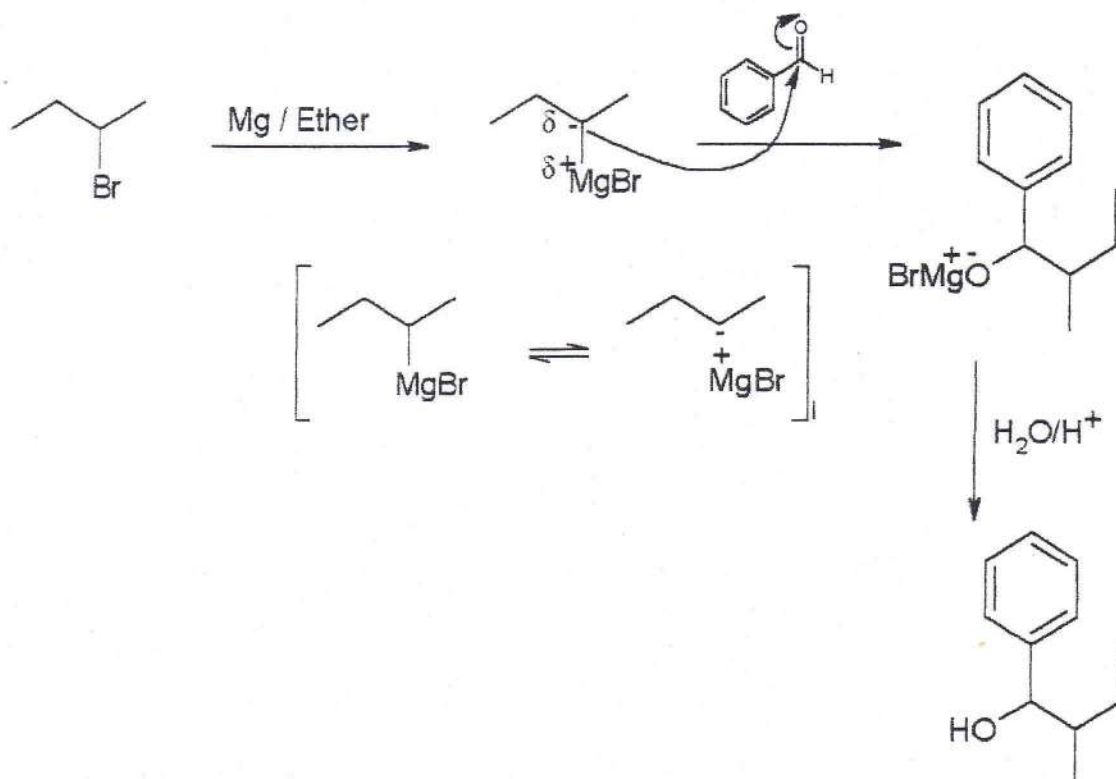


Schéma III-7 : mécanisme de synthèse de 2-méthyl-1-phenylbutanol

L'identification du produit est donnée par révélation sur CCM et spectres IR.

Le point de fusion a pour valeur $P_f = 51-52^\circ\text{C}$

Le spectre IR montre une bande caractéristique à $3566-3400\text{ cm}^{-1}$ du vibration de la

liaison O-H, d'autres bandes caractéristiques sont également présentes dans le tableau III-7.

tableau III-7 : Bandes IR du 2-méthyl-1-phenylbutanol

Bandes (cm^{-1})	Types de vibrations
3085-3000	Vibration d'élongation de C-H aromatique
3000-2870	Vibration d'élongation de C-H du groupement CH_3 .
1716-1670	Vibration d'élongation de C=C du cycle aromatique
750-690	Substitution sur le cycle aromatique

L'étape des tests d'activité biologique est réalisée au niveau du laboratoire de l'Hôpital « Med Boudiaf » à Ouargla.

Après préparation du matériel biologique nécessaire, et des solutions de différents produits dans l'acétone. Les résultats obtenus de l'activité biologique (Diamètre d'inhibition (mm) en fonction de la concentration (g/l)) sont regroupés dans les tableaux suivants :

Tableau III-8 : Résultats de l'activité biologique de m-nitroacetophenone

Produit testé	Concentration (g/l)	Souche Bactérienne Diamètre d'inhibition (mm)			Souche Fongique
		<i>E.Coli</i>	<i>Ps. Aeruginosa</i>	<i>St. Aureus</i>	
A	$5 \cdot 10^{-2}$	8	8	7	8
	10^{-1}	11	9	10	10
	$5 \cdot 10^{-1}$	15	10	14	10
	1	18	12	15	12
	1.5	19	12	17	12

Tableau III-9 : Résultats de l'activité biologique de m-nitrophenylethanol

Produit testé	Concentration (g/l)	Souche Bactérienne			Souche Fongique
		<i>E.Coli</i>	<i>Ps. Aeruginosa</i>	<i>St. Aureus</i>	
B	$5 \cdot 10^{-2}$	12	11	9	8
	10^{-1}	14	13	12	12
	$5 \cdot 10^{-1}$	18	16	17	16
	1	23	19	22	18
	1.5	28	20	26	20

Tableau III-10 : Résultats de l'activité biologique de p-méthylbenzophenone

Produit testé	Concentration (g/l)	Souche Bactérienne			Souche Fongique
		<i>E.Coli</i>	<i>Ps. Aeruginosa</i>	<i>St. Aureus</i>	<i>C. Albicans</i>
C	$5 \cdot 10^{-2}$	8	8	8	9
	10^{-1}	9	10	9	10
	$5 \cdot 10^{-1}$	10	12	11	11
	1	14	14	12	14
	1.5	22	16	18	19

Tableau III-11 : Résultats de l'activité biologique de p-méthylphenylbenzomethanol

Produit testé	Concentration (g/l)	Souche Bactérienne			Souche Fongique
		<i>E.Coli</i>	<i>Ps. Aeruginosa</i>	<i>St. Aureus</i>	<i>C. Albicans</i>
D	$5 \cdot 10^{-2}$	13	10	9	8
	10^{-1}	16	13	12	11
	$5 \cdot 10^{-1}$	20	17	16	16
	1	24	20	19	22
	1.5	29	27	25	23

Tableau III-12 : Résultats de l'activité biologique de p-méthylacétophénone

Produit testé	Concentration (g/l)	Souche Bactérienne			Souche Fongique
		<i>E.Coli</i>	<i>Ps. Aeruginosa</i>	<i>St. Aureus</i>	<i>C. Albicans</i>
E	$5 \cdot 10^{-2}$	9	8	8	8
	10^{-1}	10	11	11	9
	$5 \cdot 10^{-1}$	12	11	12	9
	1	14	14	15	11
	1.5	18	17	17	12

Tableau III-13 : Résultats de l'activité biologique de p-methylphenylethanol

Produit testé	Concentration (g/l)	Souche Bactérienne			Souche Fongique
		<i>E.Coli</i>	<i>Ps. Aeruginosa</i>	<i>St. Aureus</i>	<i>C. Albicans</i>
F	$5 \cdot 10^{-2}$	8	10	10	9
	10^{-1}	10	12	12	11
	$5 \cdot 10^{-1}$	14	14	14	15
	1	22	23	19	19
	1.5	28	26	20	20

Tableau III-12 : Résultats de l'activité biologique de 2-méthyl-1-phenylbutanol

Produit testé	Concentration (g/l)	Souche Bactérienne			Souche Fongique <i>C. Albicans</i>
		<i>E.Coli</i>	<i>Ps. Aeruginosa</i>	<i>St. Aureus</i>	
G	$5 \cdot 10^{-2}$	16	14	15	11
	10^{-1}	19	16	17	14
	$5 \cdot 10^{-1}$	22	19	21	16
	1	24	22	23	20
	1.5	27	25	26	23

A : m-nitroacétophénone

B : m-nitrophenylethanol

C : p-méthylbenzophénone

D : p-méthylphenylbenzomethanol

E : p-méthylacétophénone

F : p-méthylphenylethanol

G : 2-méthyl-1-phenylbutanol

Les résultats des tableaux nous ont permis de dire :

- D'après la fig. III-8, le produit (A) a donné une activité biologique moyenne envers deux types de bactéries (*E.Coli*, *St. Aureus*) et une activité nulle envers la bactérie (*Ps. Aeruginosa*) et le champignon (*C. Albicans*).
- Dans la Fig. III-9 le produit (B), qui est l'alcool correspondant du (A), a présenté une forte activité biologique envers les deux bactéries (*E.Coli*, *St. Aureus*), et une activité moyenne envers la bactérie (*Ps. Aeruginosa*) et le champignon (*C. Albicans*).

- Et dans la fig. III-10 le produit (C), lui aussi, présente une activité biologique moyenne envers les *Ps. Aeruginosa*, *St. Aureus*, *C. Albicans*, et une forte activité pour *E.Coli*.
- A partir de la fig. III-11 l'alcool (D) a prouvé une activité biologique efficace envers les trois bactéries *E.Coli*, *St. Aureus*, *Ps. Aeruginosa* et aussi pour la *C. Albicans*.
- D'après la fig. III-12, le produit (E) présente une activité moyenne pour les bactéries *E.Coli*, *Ps. Aeruginosa*, *St. Aureus* et nulle pour *C. Albicans*.
- Le produit (F), dans la fig. III-13 a donné une forte activité biologique pour les bactéries *E.Coli*, *Ps. Aeruginosa* et une activité moyenne pour *St. Aureus* et *C. Albicans*.
- Le produit (G), fig. III-14, dans la a présenté une forte activité pour tous microorganismes utilisés *E.Coli*, *St. Aureus*, *Ps. Aeruginosa* et *C. Albicans*.

On peut aussi déduire que :

- la concentration optimale du produit (A), pour laquelle il présente une activité biologique, envers :
 - la bactérie *E.Coli* c'est à partir 1.5 g/l
 - la bactérie *Ps. Aeruginosa* non déterminée
 - la bactérie *St. Aureus* c'est supérieur à 1.5 g/l
 - le champignon *C. Albicans* non déterminée
- la concentration optimale du produit (B) envers :
 - la bactérie *E.Coli* se situe entre 0.5-1 g/l
 - la bactérie *Ps. Aeruginosa* à partir de 1 g/l
 - la bactérie *St. Aureus* c'est entre 0.5-1 g/l
 - le champignon *C. Albicans* c'est entre 1-1.5 g/l
- la concentration optimale du produit (C) c'est :
 - entre 1-1.5 g/l pour l'*E.Coli*
 - non déterminée pour *Ps. Aeruginosa*

- supérieur à 1.5 g/l pour *St. Aureus*
- à partir de 1.5 g/l pour *C. Albicans*

- la concentration optimale du produit (D) c'est :
 - à partir de 0.5 g/l pour l'*E.Coli*
 - entre 0.5-1 g/l pour la *Ps. Aeruginosa*
 - à partir de 1 g/l pour la *St. Aureus*
 - entre 0.5-1 g/l pour la *C. Albicans*

- la concentration optimale du produit (E) c'est :
 - à partir de 1.5 g/l pour l'*E.Coli*
 - supérieur à 1.5 g/l pour la *Ps. Aeruginosa*
 - supérieur à 1.5 g/l pour la *St. Aureus*
 - supérieur à 1.5 g/l pour la *C. Albicans*

- la concentration optimale du produit (F) c'est :
 - entre 0.5-1 g/l pour l'*E.Coli*
 - entre 0.5-1 g/l pour la *Ps. Aeruginosa*
 - entre 1-1.5 g/l pour la *St. Aureus*
 - entre 1-1.5 g/l pour *C. Albicans*

- la concentration optimale du produit (G) c'est :
 - entre 0.1-0.5 g/l pour l'*E.Coli*
 - entre 0.5-1 g/l pour la *Ps. Aeruginosa*
 - entre 0.1-0.5 g/l pour la *St. Aureus*
 - entre 0.5-1 g/l pour *C. Albicans*

Ces résultats peuvent être représentés, sous forme des histogrammes de l'activité biologique en fonction de la concentration, dans les figures suivantes :

a. b. de m-nitroacetophenone

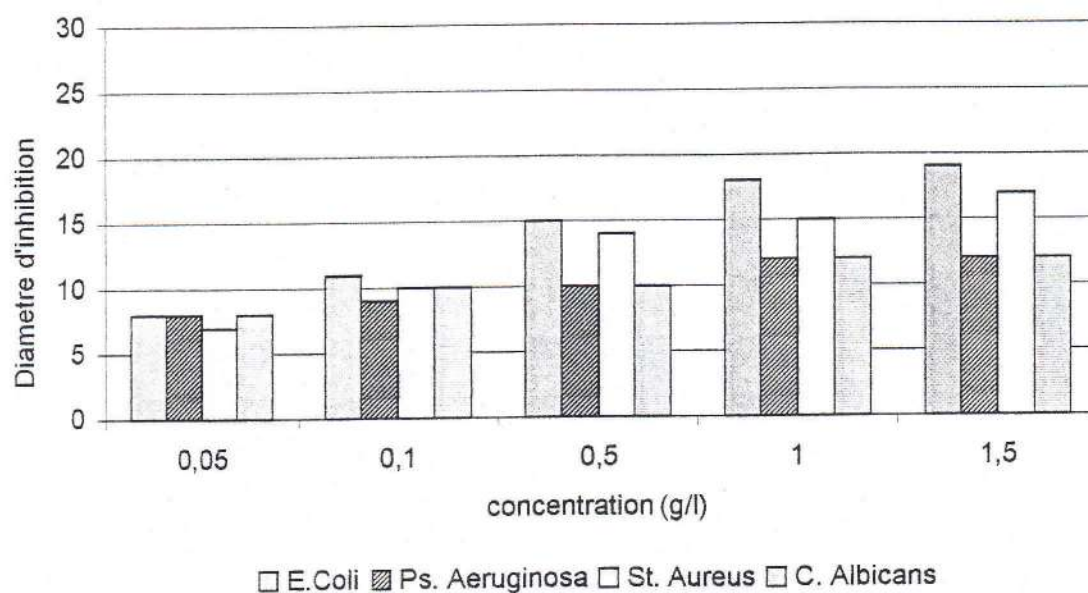


Fig III-8 : Activité biologique de m-nitroacetophenone

a. b. de m-nitrophenylethanol

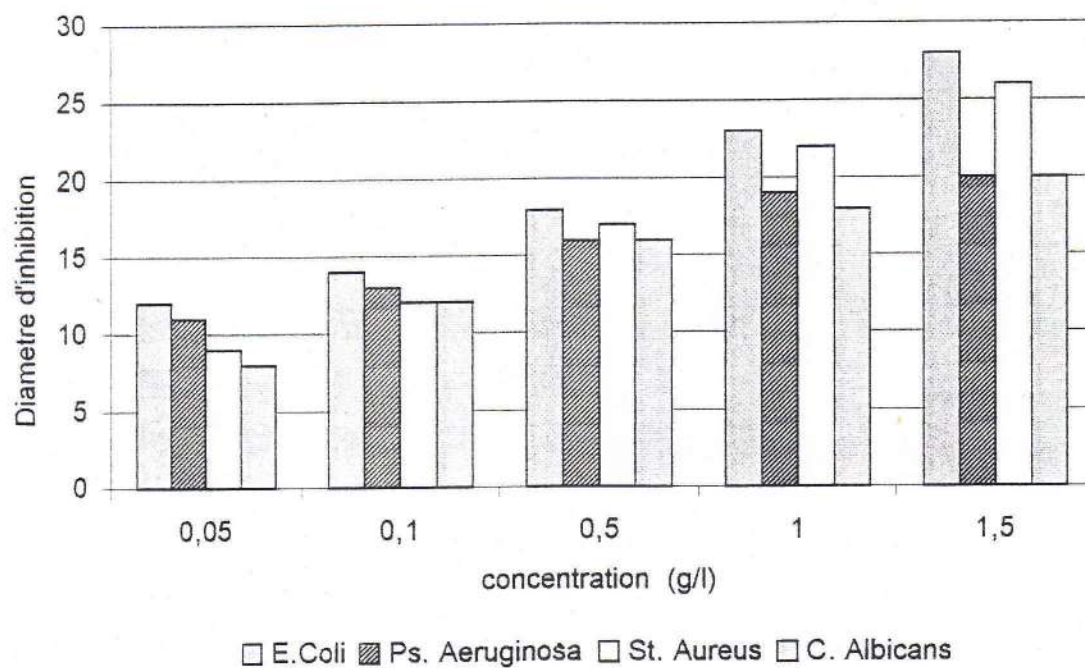


Fig III-9 : Activité biologique de m-nitrophenylethanol

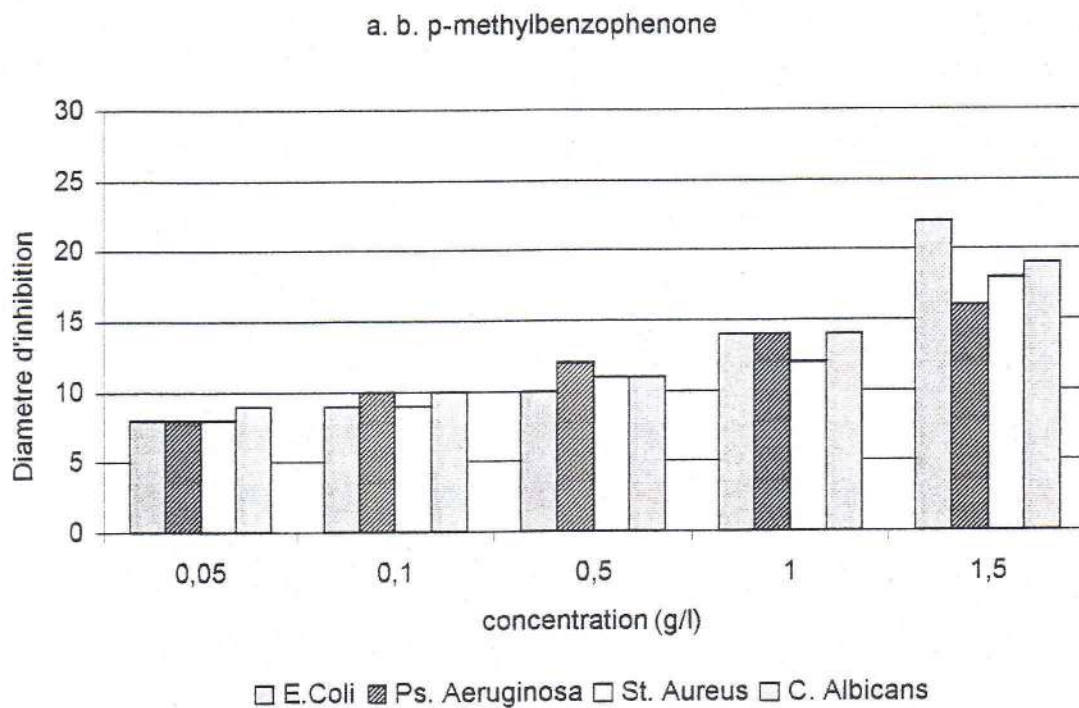


Fig III-10 : Activité biologique de p-methylbenzophenone

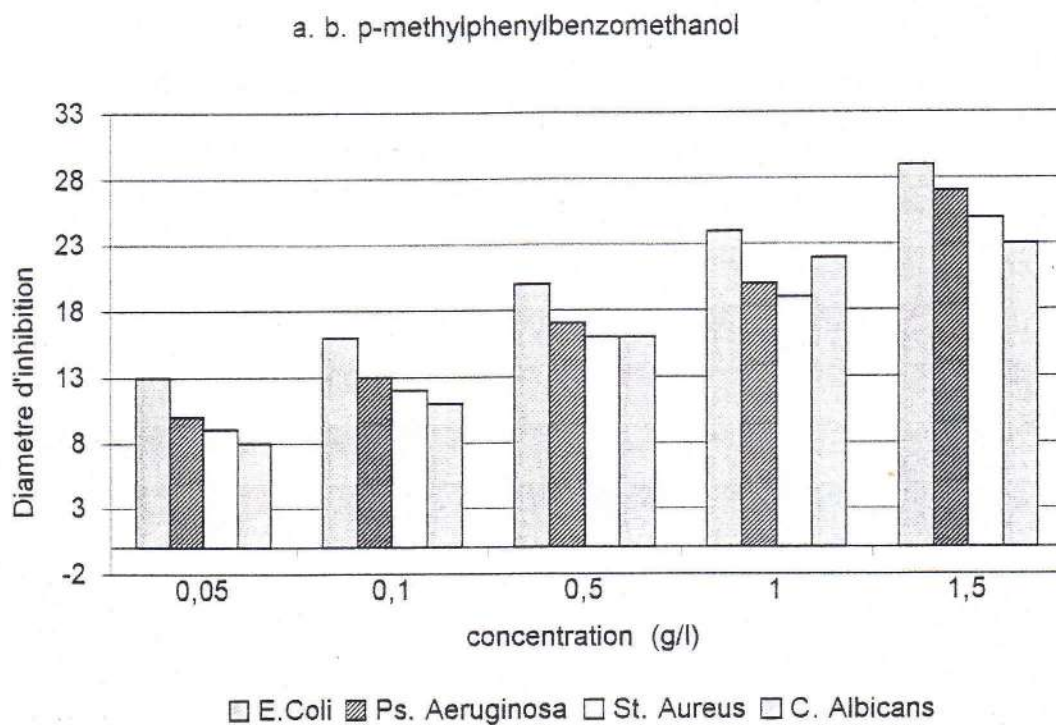


Fig III-11 : Activité biologique de p-méthylphenylbenzomethanol

a. b. de p-methylacetophenone

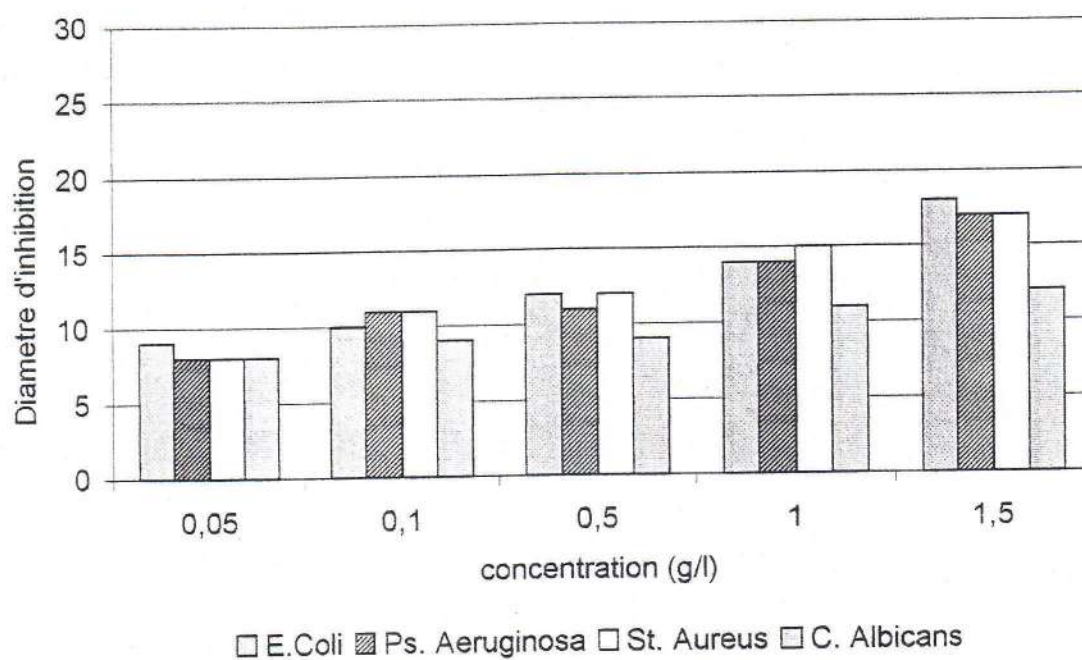


Fig III-12 : Activité biologique de p-méthylacétophénone

a. b. de p-methylphenylethanol

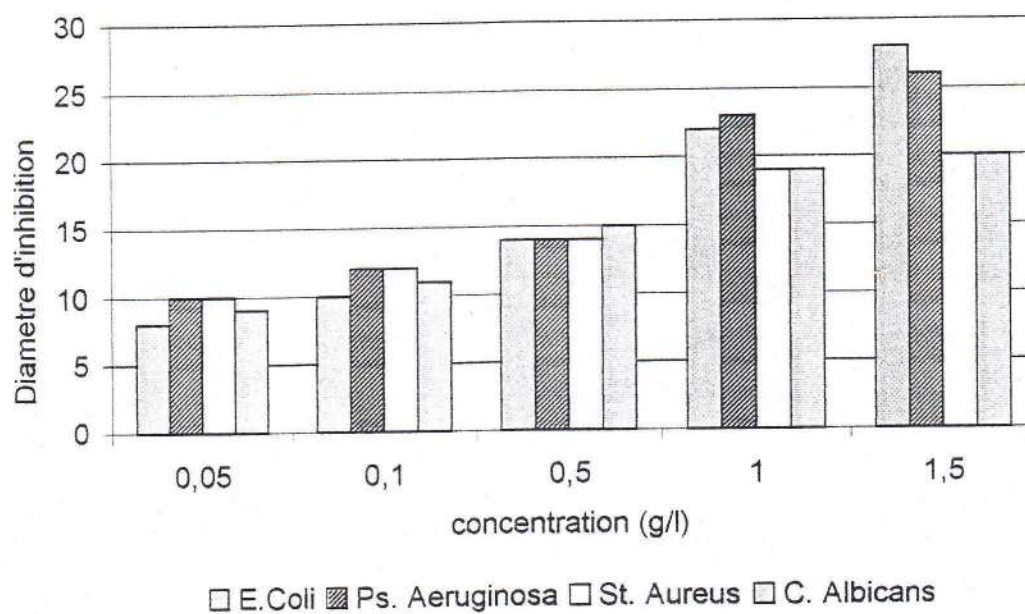


Fig III-13 : l'activité biologique de p-methylphenylethanol

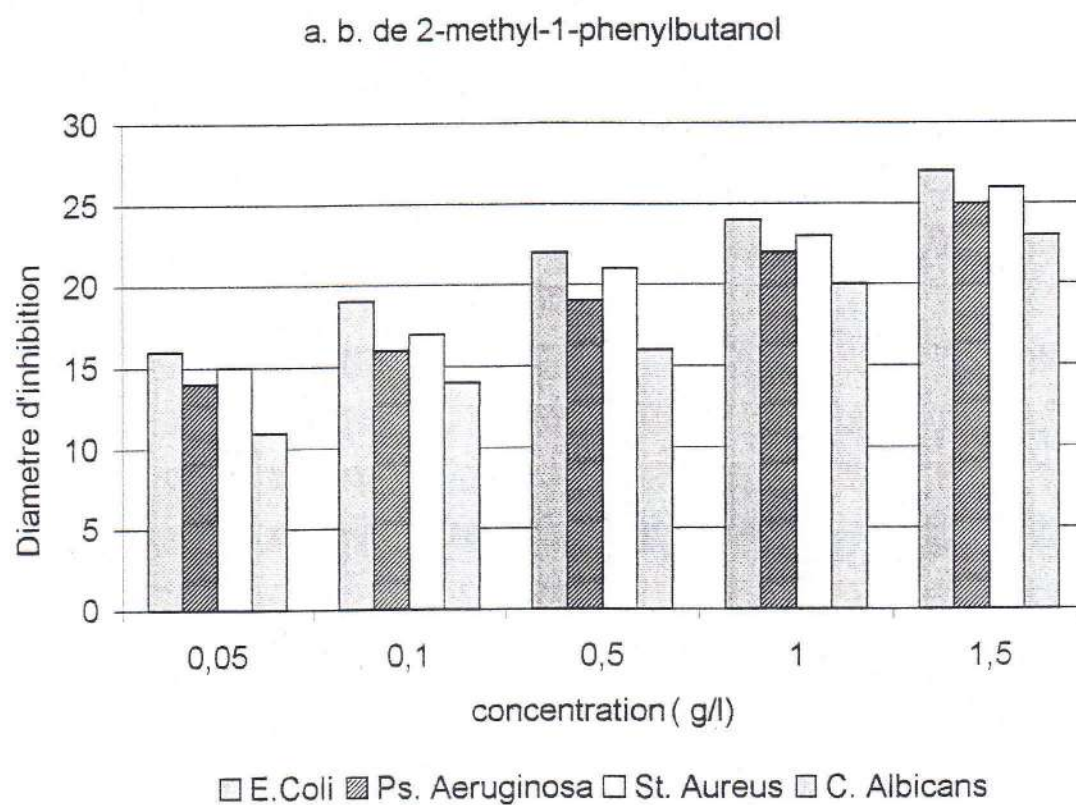


Fig III-14 : L'activité biologique de 2-methyl-1-phenylbutanol

Chapitre IV

Partie Expérimentale

Conditions expérimentales :**Réactifs :**

- Chlorure de benzoyle
- Bromo-2-butane
- Benzaldéhyde
- Anhydride acétique
- Chlorure d'Aluminium
- NaBH_4
- LiAlH_4
- Mg en tournures
- HNO_3
- H_2SO_4
- Toluene
- Ethanol
- Methanol
- Acetone
- Hexane

Les pesés:

les masses des produits ont été pesées par une balance marque BP221s de précision 0.1mg et max. 120g.

Le point de fusion :

Les points de fusion ont été mesurés par un appareil électrothermique de type GALLENKAMP.

Chromatographie :

La chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur plaque d'alumine et les spots ont été révélés à la lumière U.V. et par les vapeurs d'Iode.

Spectrophotométrie IR :

Les spectres IR ont été enregistrés sur un appareil à transformée de Fourier FTIR 830 SHIMADZU. Les produits solides sont analysés sous forme de pastille avec le KBr et les produits huileux sous forme de film.

1. Synthèse de m-nitroacétophénone

Au moyen d'un bain d'eau glacée, refroidir dans un ballon bicol muni d'une ampoule à écouler et d'un agitateur 0.56 mole (54.92 g) d'acide sulfurique concentré. Ajouter goutte à goutte 0.1 mole (12.015g) d'acétophénone puis peu à peu un mélange sulfonitrique de 0.12 mole (7.5612g) d'acide nitrique et 0.22 mole (21.5776g) d'acide sulfurique concentré, en gardant la température à 0°C, puis verser le mélange sur 150g de glace ans 200 ml d'eau. Filtrer le précipité, laver avec de l'eau, puis avec de l'éthanol froide. Après recristallisation on obtient le m-acétophénone (7.557 g, 62.9 %).

IR $\nu_{\max}$ (KBr, disc) : 1691, 1525, 1348 cm^{-1}

$P_f = 75-77^\circ\text{C}$

Lit* $P_f = 76-78^\circ\text{C}$

(*) : Produit de la firme Aesar Allemagne

2. Synthèse de m-nitrophenylethanol

0.5g (3 mmole) de m-nitroacétophenone dans 20ml d'éthanol auxquels sont ajoutés 0.0266g (0.7 mmole) de NaBH_4 , sont agités à température ambiante pendant 6 heures.

On neutralise avec HCl à 10% et on extrait à l'acétate d'éthyle. On sèche puis évapore la phase organique afin d'obtenir (0.203 g, 40.6 %) de m-nitrophenylethanol.

IR ν_{max} (KBr, disc) : 3546, 1525, 1355 cm^{-1}

$P_f = 79-81\text{ }^\circ\text{C}$

Lit* $P_f = 80-82\text{ }^\circ\text{C}$

(*) : Produit de la firme Aesar Allemagne

3. Synthèse de p-méthylbenzophénone

Dans un ballon tri col, muni d'un agitateur magnétique, d'un réfrigérant et d'une ampoule à écouler. Ajouter 0.1 mole (13.33 g) de poudre de chlorure d'Aluminium à 30ml de Dichloroethane. Laisser écouler 0.05 mole (7.08 g) de chlorure de benzoyle à l'aide de l'ampoule.

Ensuite 0.05 mole (4.61 g) de Toluène goutte à goutte, en chauffant le mélange durant 2 heures d'agitation. Si nécessaire refroidir avec un bain e glace. Ensuite agiter 2 heures et demi en chauffant. Apres avoir laisser refroidir verser sur 100g de glace et séparer la phase organique de la phase aqueuse.

Laver avec de l'eau et ensuite avec NaOH 2 % et encore une fois avec de l'eau. Apres avoir séché sur MgSO_4 , filtré, évaporé et purifie par recristallisation dans l'éthanol. On obtient le p-methylbenzophenone (3.18 g, 45 %).

IR ν_{max} (KBr, disc) : 1701 cm^{-1}

$P_f = 54-55^\circ\text{C}$

Lit* $P_f = 56-57^\circ\text{C}$

(*) : Produit de la firme Aesar Allemagne

4. Synthèse de p-méthylphenylbenzomethanol

1 g (5.1 mmole) de p-méthylbenzophenone dans 20ml auxquels sont ajoutés 0.0482 g (1.3 mmole) de NaBH_4 , sont agités à température ambiante pendant 6 heures.

On neutralise avec HCl à 10 % et on extrait à l'acétate d'éthyle. On sèche puis évapore la phase organique afin d'obtenir (0.433 g, 43.3 %) de p-méthylphenylbenzomethanol.

IR ν_{max} (KBr, disc) : 3433 cm^{-1}

$P_f = 53-55\text{ }^\circ\text{C}$

Lit* $P_f = 50-54\text{ }^\circ\text{C}$

(*) : Produit de la firme Aesar Allemagne

5. Synthèse de p-méthylacétophénone

Dans un ballon tri col , muni d'un agitateur magnétique, d'une ampoule à écouler, d'un réfrigérant muni d'un absorbeur à gaz constitue d'un entonnoir retourne sur un bain d'eau. Introduire 0.14 mole (19 g) de chlorure d'Aluminium et 0.3 mole (32ml) de Toluène anhydre, puis 0.1 mole (6ml, 6.5 g) d'anhydride acétique dans l'ampoule.

Ajouter, sous agitation, lentement l'anhydride acétique. Qui est accompagnée d'un dégagement gazeux et d'une élévation de la température. En chauffant durant 1heure d'agitation. Refroidir à température ambiante , verser sur de la glace acidifiée, sous agitation. Eliminer la phase aqueuse. Laver encore avec de l'eau puis avec NaOH 10 %. Sécher sur MgSO_4 puis filtrer.

La p-méthylacétophénone produite et le toluène en excès sont séparés par distillation. Puis recristalliser la cétone dans l'éthanol.

On obtient (4.2543 g, 65.45 %)

IR ν_{max} (KBr, disc) : 1680 cm^{-1}

$P_f = 26-28 \text{ }^\circ\text{C}$

Lit* $P_f = 22-24 \text{ }^\circ\text{C}$

(*) : Produit de la firme Aesar Allemagne

6. Synthèse de p-methylphenylethanol

1 g (7.5 mmole) de p-methylacetophenone dans 20ml d'éthanol auxquels sont ajoutés 0.0708 g (1.9 mmole) de NaBH_4 , sont agités à température ambiante pendant 6 heures.

On neutralise avec HCl à 10% et on extrait à l'acétate d'éthyle. On sèche puis évapore la phase organique afin d'obtenir (0.532 g, 53.2 %) de m-nitrophenylethanol.

IR ν_{max} (KBr, disc) : 3502 cm^{-1}

$P_f = 20\text{-}22 \text{ }^\circ\text{C}$

Lit* $P_f = 19\text{-}21 \text{ }^\circ\text{C}$

(*) : Produit de la firme Aesar Allemagne

7. Synthèse de 2-methyl-1-phenylbutanol

Mettre 0.12 mole (3.2715 g) de tournures de magnésium et 30ml d'éther diéthylique sec dans un ballon tricol équipé d'une ampoule à écouler et d'un réfrigérant.

Ajouter goutte à goutte 0.1mole (13.7g) de Bromo-2-butane et attendre le départ de la réaction. Ajouter le reste du Bromo-2-butane/Ether (d'une acon que la solution reste bouillante. Chauffer pendant 30 min. Après laisser refroidir, ajouter goutte à goutte 0.1 mole (10.612g) de Benzaldéhyde dans l'éther.

Chauffer une heure sous agitation. Ensuite hydrolyser avec de la glace puis de l'eau acidifiée (jusqu'à dissolution du précipité). Extraire, sécher avec MgSO_4 , filtrer et distiller.

On obtient une huile jaune.

IR ν_{max} (KBr, disc) : 3417 cm^{-1}

$P_f = 51-52 \text{ }^\circ\text{C}$

Lit* $P_f = 54-56$

(*) : Produit de la firme Aesar Allemagne

Pour la réalisation de l'étape de l'activité biologique des composés synthétisés précédemment, on prépare une série des solutions-test, pour chaque composé à différentes concentrations.

L'activité est effectuée sur les souches bactériennes de *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus Aureus* et la souche fongique de *Candida Albicans*.

1-Préparation des solutions-tests :

Pour la préparation des solutions de différentes concentrations on utilise l'Acétone comme solvant de dilution.

Les concentrations préparées sont : 0.5 mg/10 ml, 1 mg/10 ml, 5 mg/10 ml, 10 mg/10 ml, 15 mg/10 ml, ($5 \cdot 10^{-2}$ g/l, 10^{-1} g/l, $5 \cdot 10^{-1}$ g/l, 1 g/l, 1.5 g/l.)s

On attribue à chaque produit la lettre :

A : m-nitroacétophénone

B : m-nitrophenylethanol

C : p-méthylbenzophénone

D : p-méthylphenylbenzomethanol

E : p-méthylacétophénone

F : p-méthylphenylethanol

G : 2-méthyl-1-phenylbutanol

Chaque produit est utilisé avec les concentrations citées précédemment. On imprègne chaque disque de test dans une solution pour effectuer l'étape d'incubation.

2-Matériel :

- Milieu de culture Muller Hinton pour les bactéries et levures utilisées.
- Boîtes de Pétri.
- Disques de test.
- Bec Bunsen, pipetteur de sécurité, étaioirs, pinces fines, pipettes Pasteur, récipient avec eau de Javel.

3-Préparation des disques :

A l'aide du papier filtre N°3, on prépare des disques de 5 mm de diamètre, on les dépose dans un tube à essai pour stérilisation à l'étuve pendant 45 min à 130°C.

4-Préparation des milieux d'ensemencement :

A noter que toutes les manipulations se font dans la zone de stérilité du bec Bunsen. Et les boîtes ouvertes le moins longtemps possible. Après fondement, le milieu Muller Hinton, est versé dans les boîtes de Pétri à raison de 10 ml/boîte, laissé pour se solidifier puis séché à l'étuve pendant 30 min (afin d'éliminer l'humidité résiduelle).

5-Préparation de la culture microbienne :

On prend un échantillon de la souche, le met dans un tube à essai contenant un quantité suffisante d'eau (10 ml). On agite jusqu'à homogénéiser la solution. Avec le pipetteur et une pipette Pasteur passée à la flamme, on prélève une petite quantité (2 gouttes) dans le tube de culture (par exemple d'*Escherichia Coli*) et on dépose le liquide à 2 cm du bord de la boîte de Pétri « milieu MH » le tube de culture est passé à la flamme avant d'être refermé.

A l'aide de l'étaioir, on répand le liquide sur toute la surface de la gélose. (faire tourner la boîte).

Les boîtes de Pétri sont laissées pour 10 min puis séchées à l'étuve pendant 10 min à 37°C.

6-Culture et Incubation :

On imprègne les disques dans les différentes solutions-tests, les laisse un peu de temps puis les met dans les boîtes de Pétri. Il faut laisser des espaces entre les disques. Les boîtes de Pétri sont placées à l'envers dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures. (Fig IV-1)

7-Resultats :

les résultats sont regroupés dans des tableaux pour chaque valeur de concentration. On remarque et on note le diamètre (mm) du cercle d'inhibition autour du disque. Les diamètres pour lesquels la bactérie est sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) .

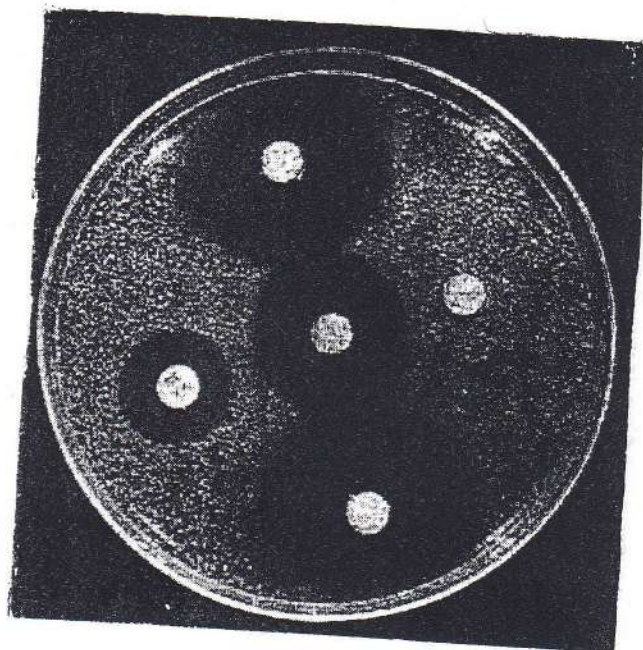


Fig. IV-1 : Disposition des disques des solutions tests dans les boîtes de Pétri.

Conclusion

Dans ce travail nous avons procédé à la synthèse de quelques composés carbonylés, et de leurs alcools correspondant, qui sont présents sous forme d'un mélange racémique. Les synthèses ont été effectuées avec des rendements acceptables.

La caractérisation a été limitée à leurs spectres IR, qui caractérise les groupements fonctionnels attendus, il reste leur confirmation structurale à l'aide de leurs spectres RMN.

La deuxième étape consiste à étudier l'activité biologique, des composés synthétisés, appliquée pour quelques microorganismes (*Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Candida Albicans*).

On constate en général que les alcools présentent une activité supérieures à celle des cétones correspondants

Ce travail d'activité biologique pourrait être étendu à d'autres microorganismes afin de tester leurs pouvoirs antibactériens.

Nous pouvons aussi imaginer des synthèses d'alcools chiraux afin d'augmenter l'activité biologiques des alcools obtenus.

Bibliographie

BIBLIOGRAPHIE

- [1] : Bada J.L. *Nature*, 1995, 374, 594.
- [2] : Chauvin Y., Vedrine J.C., *L'Act.Chim. (EC)* 1996, 7, 58.
- [3] : P.Arnaud, *Chimie organique*, 16^e ed., DUNOD, Paris, (1997)
- [4] : J.P.Mercier, P.Godard, *Chimie organique (une initiation)*, 2^e ed., Presses polytechniques et universitaires Romandes, Lausanne, 2001, p63-66
- [5] : L.Mackenzie, Miall (Ed), *New Dictionary of chemistry*, Longmans
- [6] : J. Lalande, M. Le MEUR, *Chimie organique*, Masson, Paris, (1997)
- [7] : J. MATHIEU, R.PANICO, J.WEILL-RAYNAL, *L'aménagement fonctionnel en synthèse organique*, Hermann, Paris, (1977)
- [8] : L.Sakarov, *Russ.Chem.Soc.* 35, 945 (1966)
- [9] : R.A.Corey, *J.A.C.S.* 94, 7586 (1972)
- [10] : J.Kornblum, *J.A.C.S.* 79, 6562 (1957)
- [11] : V.Loppinet, G. Germain, R.Mari, D.Burnel, *Abrégé de Chimie*, Masson, Paris, (1976)
- [12] : P.LASZLO, *Logique de la synthèse organique*, Ellipses, Paris, (1993)
- [13] : J.MARCH, *Advanced Organic Chemistry*, 4th ed., Wiley , New York, (1992) ,
- [14] : F. Lu, J. RALPH, *J.Agric.Food.Chim.* 1998, 46, 1794
- [15] : J.P.Meerwein, *J.A.C.S.*, (1949), 71, 240
- [16] : R. Andrisano, A.S. Angeloni, S.T.Marzocchi, *Tetrahedron*, (1973), 29, 913
- [17] : S.Colonna, R.Fornasier, *J.Chem.Soc., Perkin, Trans.1*, (1978), 371
- [18] : M.M.Midland, A.Kazubski, *J.Org.Chem.*, (1992), 57, 2953
- [19] : H.Brunner, G.Riepel, *Chem. Ber.*, (1984), 117, 1339
- [20] : J.B.Jones, *Comprehensive Organic Synthesis*, I.Fluning, B.M.Trost Eds, Pergamon Press, Oxford, (1991)
- [21] : G.Fantin, M.Fogagnolo, *J.Org.Chem.*, (1994), 59, 924
- [22] : F.R. CAREY, *Organic Chemistry* , 2nd ed., McGraw-Hill , New York, (1992)
- [23] : T.D.Inch, G.J.Lewis, G.L.Sainsburg, *Tetrahedron Lett.*, (1969), 3657
- [24] : T.Mukaiyama, K.Suzuki, K.Soai, *Chem. Lett.*, (1979), 447
- [25] : S.N.EGE, *Organic Chemistry*, 2nd ed., Heath, Lexington, Massachusetts

-
- [26] : A.S.Pfeau, P.PLATTNER, *Helv. Chim. Acta.*, (1939), 22, 202
- [27] : J.Guiraud, P. Galzy, *L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires*, l'USINE, Paris, (1980)
- [28] : J.P.Larpent, M.L.Gourgaud, *Mémento technique de Microbiologie*, 2e ed., Technique et Documentation Lavoisier, Paris, (1990)
- [29] : J.Rozier, F.Bolnot, V.Carlier, *Bases Microbiologiques de l'Hygiène des Aliments*, Maison Alfort, Paris, (1985)
- [30] : R.S.Cahn, C.K.Ingold, V.Prelog, *Angew.Chem.*, Int. Ed., England, (1966), 5, 385
- [31] : M.Nakazaki, S.Kagakey, Ed.Che.Soc.Japan, Tokyo University Press, (1974), Vol4, 13
- [32] : A.Baurer, W. Kirry, Sherris J.C.A., Turch M., *Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method*, *Amer. J. Clin. Pathol.*, (1966), 45, 493-496
- [33] : V. Guerin-Faubleé, C.Carret, *L'antibiogramme : principes, méthodologie, intérêt et limites*, (1999) Journées nationales GTV-INRA.

Annexes

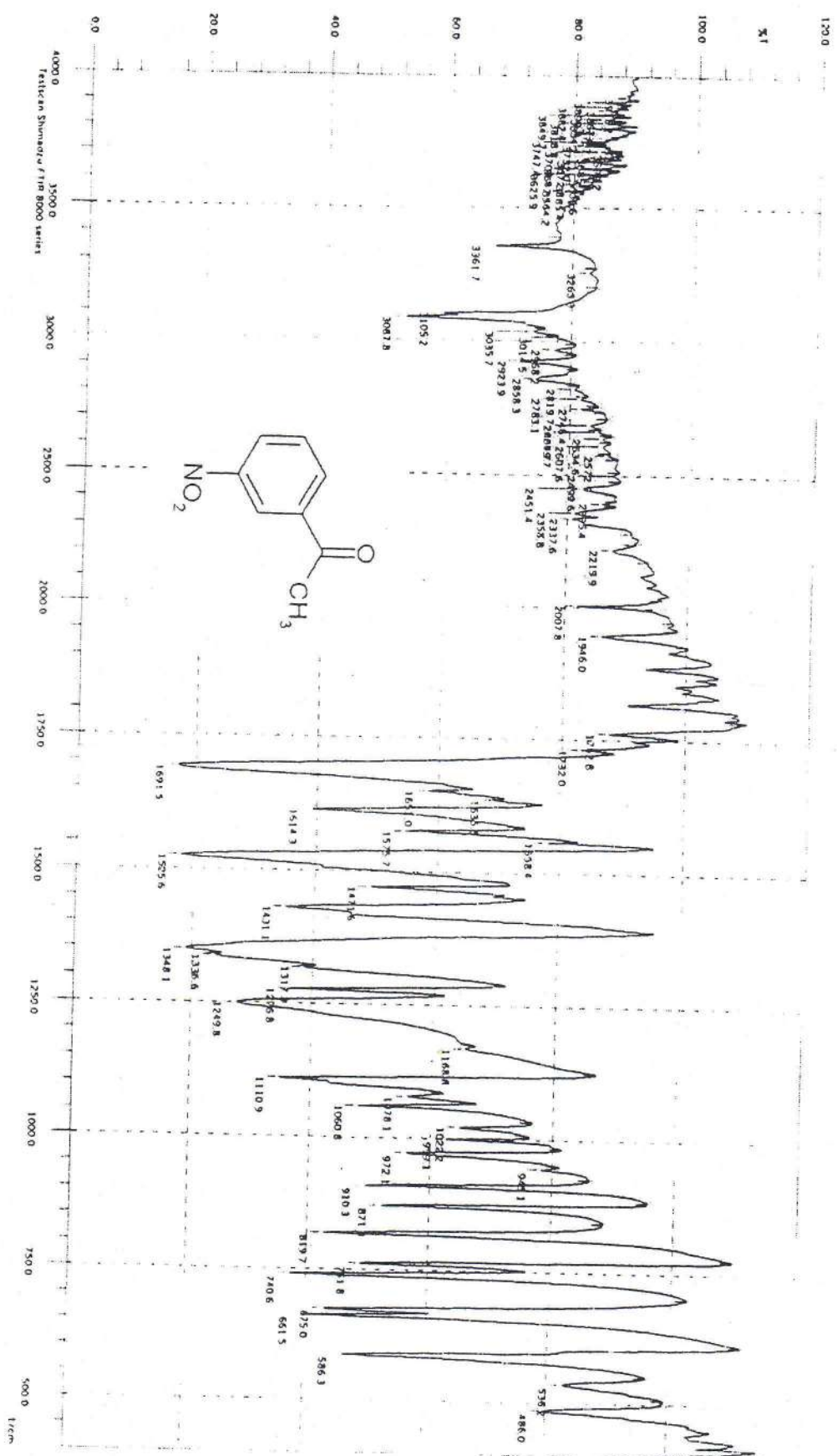


Fig. A-1 : Spectre IR de m-nitroacétophénone



Fig. A-2 : Spectre IR de m-nitrophenylethanol

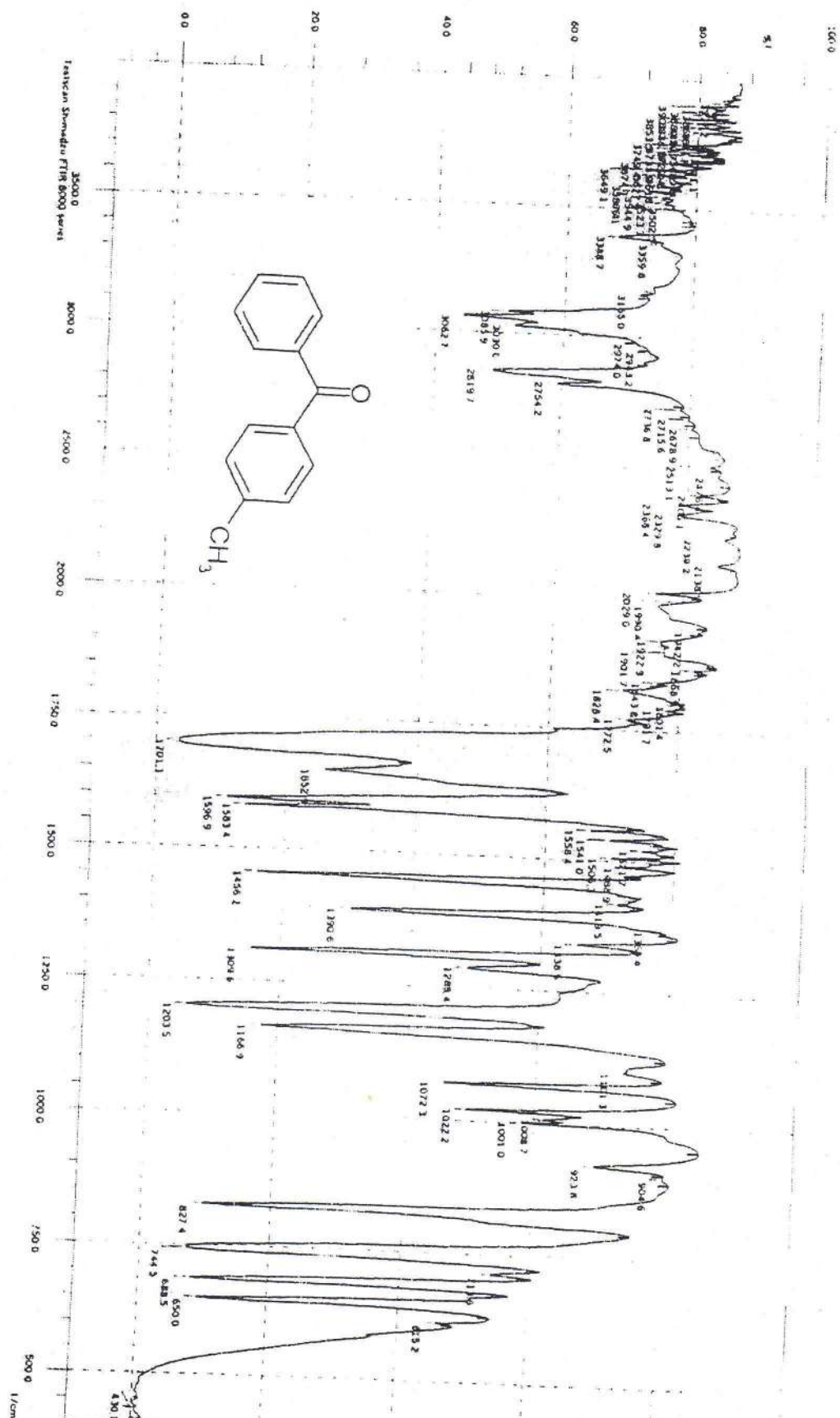


Fig. A-3 : Spectre IR de p-methylbenzophenone

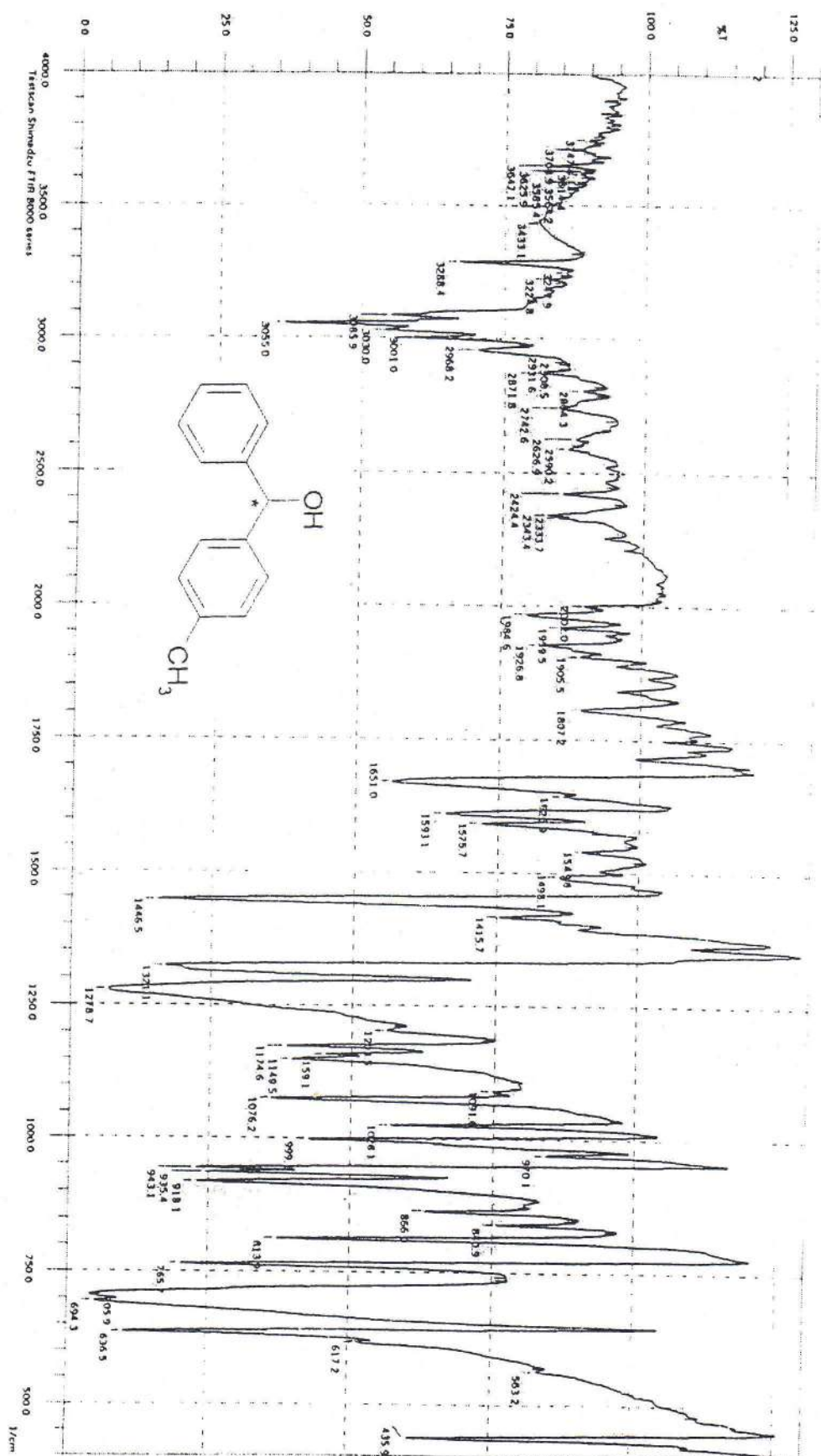


Fig. A-4 : Spectre IR de p-méthylphenylbenzomethanol

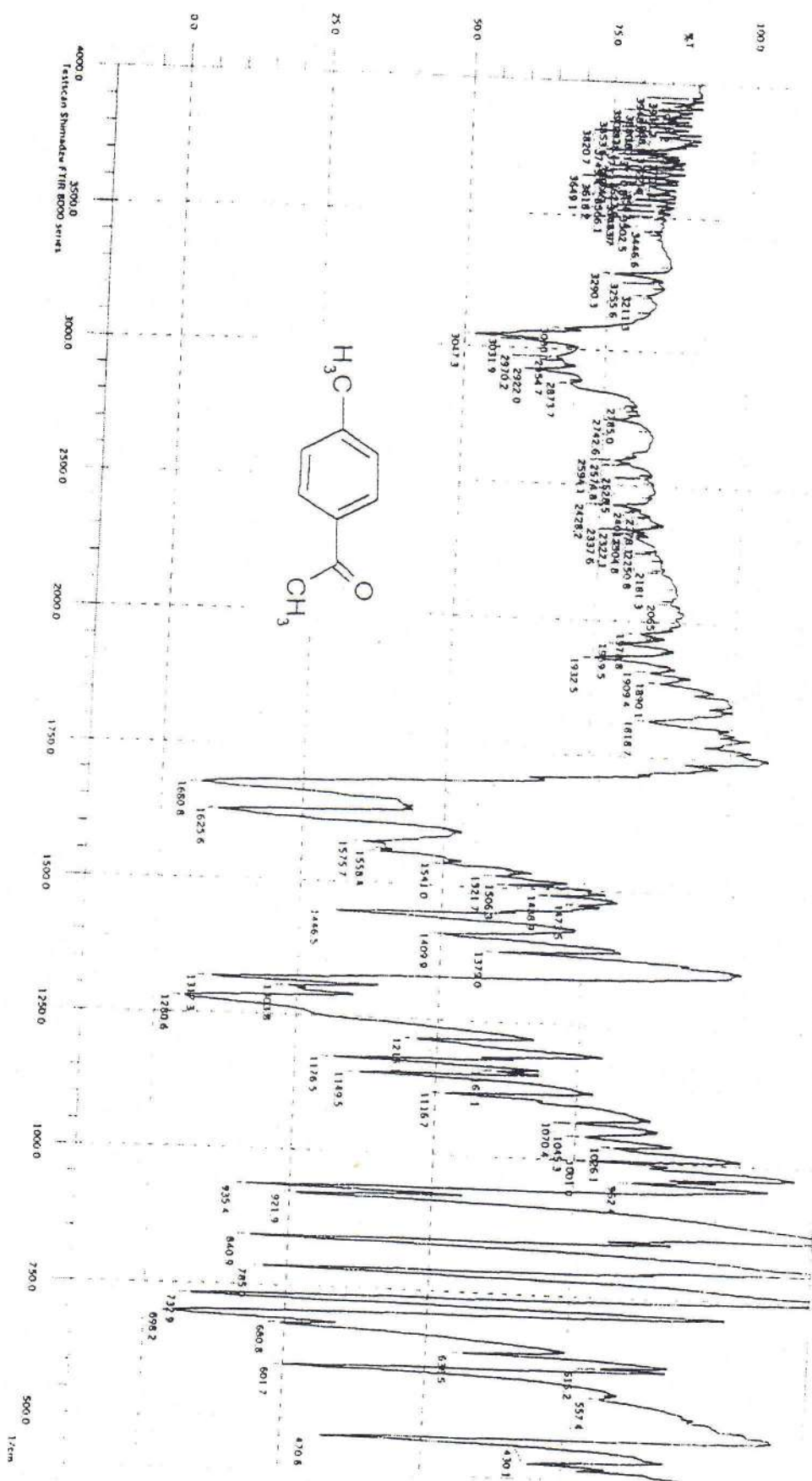


Fig. A-5 : Spectre IR de p-méthylacetophenone

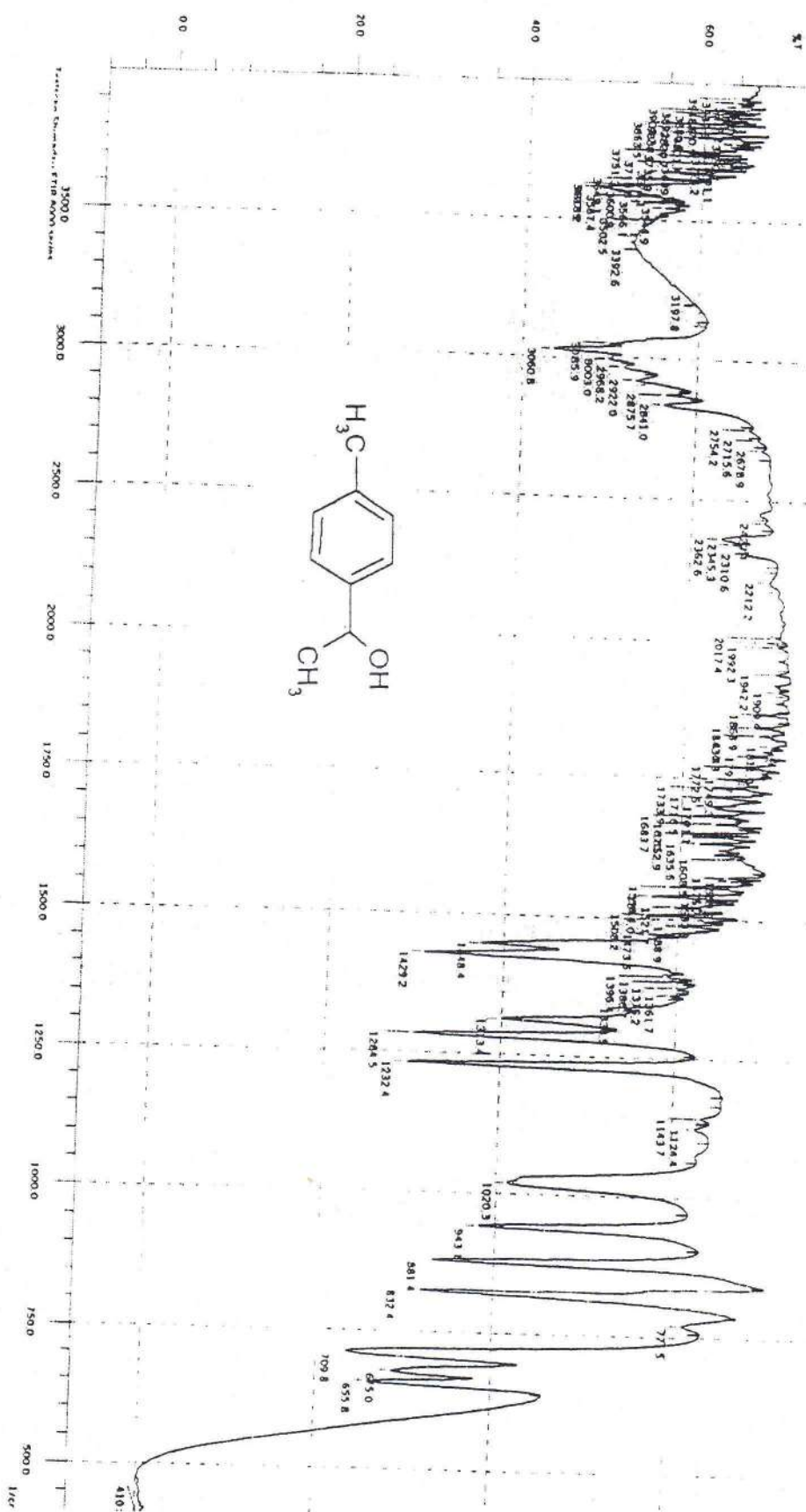


Fig. A-6 : Spectre IR de p-methylphenylethanol

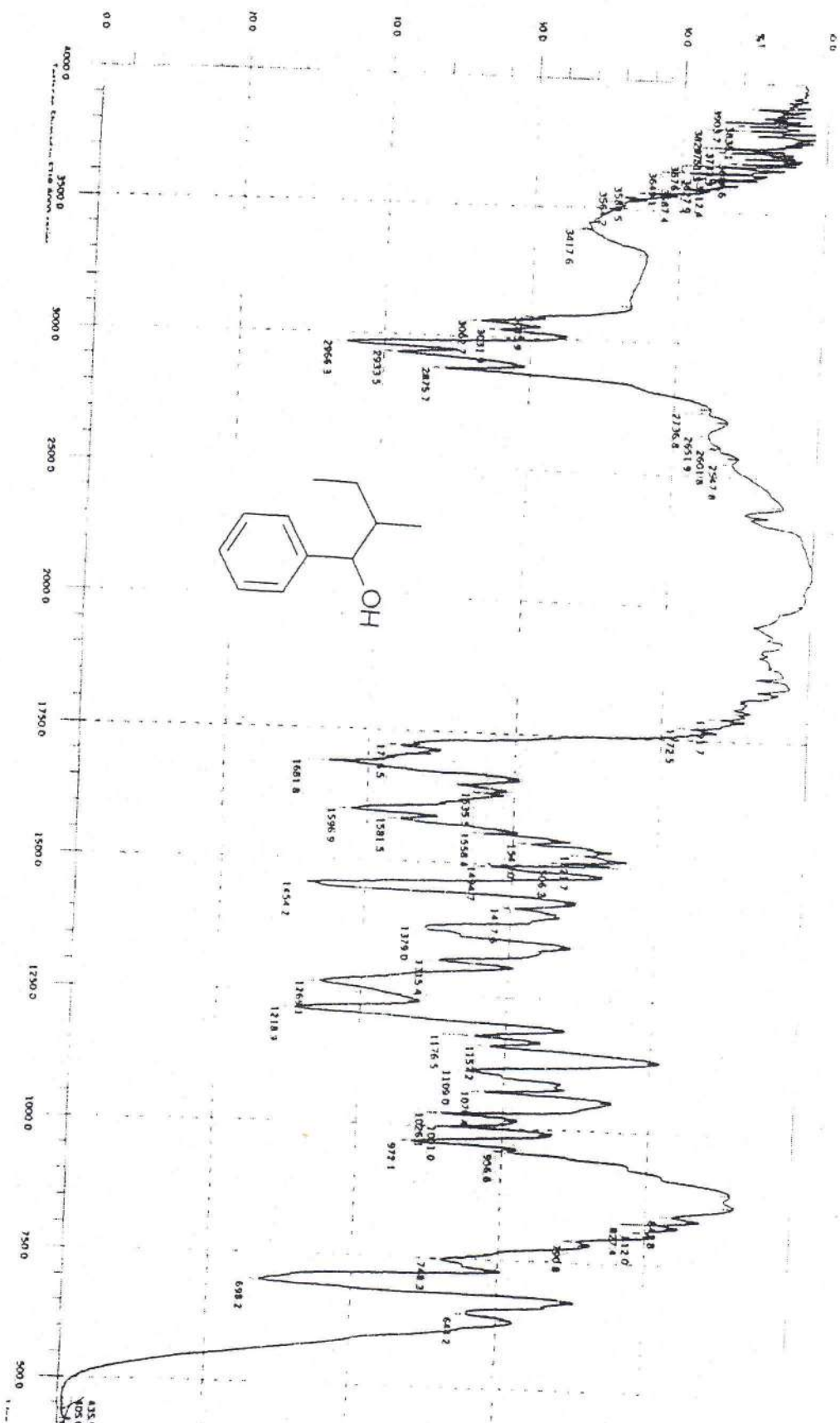


Fig. A-7 : Spectre IR de 2-méthyl-1-phenylbutanol

ملخص:

تم تحضير المركبات التالية:
3-نيترو فينيل ايثانول، 4-ميثيل بنزوفينون، 4-ميثيل اسيتوفينون بتفاعل اسيتوفينون مع حمض النتريك، كلوروبنزوايل مع تولوين، انهيدريداسيتيك مع تولوين، على التوالي.

المزائج الراسيمية لكل من:
3-نيترو فينيل ايثانول، 4-ميثيل فينيل بنزوميثانول، 4-ميثيل فينيل ايثانول، تم تحضيرها بإضافة NaBH_4 الى الكيتونات سابقة الذكر في المذيب ايثانول.

المزيج الراسيمي ل: 2-ميثيل-1-فينيل بيوتانول تم تحضيره بإضافة برومو-2-بيوتانول للبنزالدهيد في المذيب ايثر ايثيلي. إجراء اختبارات الفعالية البيولوجية للكيتونات المحضرة و الكحولات المرافقة لها. بالإضافة ل: 2-ميثيل-1-فينيل بيوتانول على بعض الأجسام الميكروبية: ايشيريشيا كولي، بسودوموناس ايروجينوزا، ستافيلوكوكاس أوراس، كانديدا أليكانس.

الكلمات الدالة: كربونيل، كحول كيرالي، فعالية بيولوجية، ايشيريشيا كولي، بسودوموناس ايروجينوزا، ستافيلوكوكاس أوراس، كانديدا أليكانس.

Abstract :

The 3-nitroacetophenone, 4-methylbenzophenone, 4-methylacetophenone, have been prepared by the reaction of the acetophenone with nitric acid, the benzoyl chloride with Toluene and the acetic anhydride with Toluene, respectively.

The racemic mixtures of:

m-nitrophenylethanol, p-methylphenylbenzomethanol, p-methylphenylethanol, have been synthesized via addition of NaBH_4 to the ketones, previously prepared, in ethanol solvent.

The racemic mixture of 2-methyl-1-phenylbutanol has been prepared by addition of Bromo-2-butane to the Benzaldehyde using Magnesium turnings in ether solvent.

Biological activity tests of prepared ketones and their correspondent alcohols, also for the 2-methyl-1-phenylbutanol towards some microorganisms: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

Keywords: Carbonyl, Chiral alcohols, Biological activity, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

Résumé :

Les composés suivants :

3-nitroacetophenone, 4-methylbenzophenone, 4-methylacetophenone, ont été préparé par la réaction de l'acétophénone avec de l'acide nitrique, le chlorure de benzoyle avec du toluène, et d'anhydride acétique avec du toluène, successivement.

Les mélanges racémiques des :

m-nitrophenylethanol, p-méthylphenylbenzomethanol, p-méthylphenylethanol, ont été synthétisés par l'ajout de NaBH_4 aux cétones précédemment préparés dans de l'éthanol.

Le mélange racémique de 2-méthyl-1-phenylbutanol a été obtenu par l'ajout du Bromo-2-butane suivi par l'ajout du Benzaldéhyde dans de l'éther diéthylique.

La réalisation des tests biologiques des cétones précédemment préparés et leurs alcools et aussi pour 2-méthyl-1-phenylbutanol sur les microorganismes microbiens suivants: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

Mots clés : Carbonyle, alcools chiraux, activité biologique, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.