

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**UNIVERSITE de BLIDA 1**

**Faculté de Technologie**

**Département de Génie des Procédés**



# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER EN GENIE DES PROCEDES**

**Spécialité : Matériaux et Produits Organiques Industriels**

Intitulé du mémoire

**Synthèse d'hétérocycles azotés par cyclisation  
réductive à partir des dérivés de 2-  
nitrophénylhydrazone d'acides  
2-oxo carboxyliques**

Présenté par :

ZERMANE Asma

ZERMANE Nour el houda

Encadré par :

Professeur KHODJA Mohamed

Année universitaire 2016/2017

## المخلص

قمنا بتوليف مشتقات (Z)-2- نتروفنيل هدرازون للأحماض بوريفيك و (E) -2- اكسو كلوتاريك وايضا مشتقات 2- نتروفنيل هدرازون بوتنات الميثيل عن طريق تكاتف بين مشتقات 2- نتروفنيل هدرازين مع بيروفات الصوديوم و حمض 2-اكسو كلوريك و ايضا 3- اكسوبنتوات الميثيل بالترتيب.

أدى إرجاع عن طريق مسحوق الحديد في حمض الخل لجميع الهدرازونات المتولفة الى تكوين مواد مختلفة. وتعرضت جميع المواد التي تحصلنا عليها لاختبارات بيولوجية التي اظهرت الانشطة المضادة للبكتريا و ايضا مضادة للفطريات.

تميزت جميع المركبات بنقطة انصهار و ايضا بطيف للأشعة الحمراء تحويل فورييه.

**كلمات مفتاحية :** حمض 2- اكسو كربوكسيليك.

## RESUME

Les dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone des acides pyruvique et 2-oxoglutarique ainsi que les dérivés de (E)-2-nitrophénylhydrazono butanoate de méthyle ont été synthétisés par condensation des dérivés de 2-nitrophénylhydrazine avec le pyruvate de sodium, l'acide 2-oxo glutarique et le 3-oxobutanoate de méthyle respectivement.

La réduction par la poudre de fer dans l'acide acétique de tous les hydrazones synthétisés a donné différents produits.

Les produits obtenus ont été soumis à des tests biologiques auxquels ils ont montré des activités antibactériennes et antifongiques.

Tous les composés synthétisés ont été caractérisés par leurs points de fusion et par la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier.

**Mots clés:** acides 2-oxocarboxyliques.

## ABSTRACT

The derivatives of (Z) -2-nitrophenylhydrazone of pyruvic and 2-oxoglutaric acids, as well as methyl (E) -2-nitrophenylhydrazono butanoate derivatives, have been synthesized by condensation of the 2-nitrophenylhydrazine derivatives with sodium pyruvate, 2-oxo glutaric acid and methyl 3-oxobutanoate respectively.

Reduction by the iron powder in acetic acid of all synthesized hydrazones gave different products.

The products obtained were subjected to biological tests to which they showed antibacterials and antifungals activities.

All synthesized compounds were characterized by their melting points and by Fourier transform infrared spectrometry.

**Key words:** 2- oxocarboxylic acid.

## ***DÉDICACE***

*Nous dédions ce mémoire à :*

*Nos parents, pour l'amour qu'ils nous vouent et le soutien qu'ils ne cessent de nous accorder.*

*À nos sœurs pour leur amour*

*À notre frère et nos beaux-frères pour leurs supports spirituels.*

*À tous nos amis qui pensent à nous, qui nous aiment sans compte.*

*Nous souhaitons que ce travail soit à la hauteur de toutes les espérances.*

**ZÉRMANE ASMA ET NOUR EL HOUDA**

## REMERCIEMENT

*Ce travail a été réalisé au laboratoire de recherche (232) à l'université de Blida 1, proposé et dirigé par notre promoteur KHODJA Mohamed.*

*Nous remercions en premier lieu le bon Dieu qui nous a donné le pouvoir des connaissances, et nous a aidé pour la finalisation de notre projet.*

*Nos vifs remerciements à nos parents qui nous ont soutenues et encouragées à tout moment et qui nous ont permis de choisir la voie que nous voulons suivre.*

*Nous sommes particulièrement heureuses de témoigner notre profonde gratitude à Monsieur KHODJA Mohamed notre encadreur de mémoire, pour son soutien et son aide précieuse.*

*Sans oublier l'aide de notre Co promoteur monsieur LETTREUCH*

*Nous adressons aussi nos très vifs remerciementsauxmembres du jury pour l'intérêt porté à ce travail.*

*Enfin nous ne saurions oublier notre famille proche ainsi que nos amis pour l'intérêt qu'ils ont toujours porté à notre travail.*

# SOMMAIRE

	Page
RESUME	
ABSTRACT	
الملخص	
DEDICACE	
REMERCIEMENT	
LISTE DES SCHEMAS	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
INTRODUCTION GENERALE	
<b>CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
I. 1. Introduction	12
I. 2. Synthèse d'hétérocycles à cinq membres	13
I. 3. Synthèse d'hétérocycles à six membres	14
I. 4. Synthèse d'hétérocycles à sept membres	15
<b>CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
II. 1. Synthèse de 5-méthyl-, 5-chloro- et 5,6-dichloro -2-nitrophénylhydrazines	17
II. 2. Synthèse des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide Pyruvique	18
II. 3. Préparation des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide 2-oxoglutarique	21
II. 4. Synthèse des dérivés de 2-nitrophénylhydrazono butanoate De méthyle	24
II. 5. Réduction des dérivés de l'hydrazone de l'acide pyruvique	26
II. 6. Réduction des dérivés de 2-nitrophénylhydrazone d'acide	

2-oxoglutarique	31
II. 7. Réduction des dérivés de 2-nitrophénylhydrazono butanoate	
De méthyle	32
II.8. Résultats et discussions de l'activité antimicrobienne	33
II.8.1. Evaluation de l'activité antibactérienne	35
II.8.2. Résultats et discussions de l'activité antifongique	37
<b>CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE</b>	
III.1. Réactifs et solvants	42
III.2.Appareillage et techniques analytiques	43
III.3. Préparation des dérivés de 2-nitrophénylhydrazine	44
III.4. Préparation des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone	45
III.4 .1. Préparation des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide	
2-oxoglutarique	45
III.4. 2. Préparation des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide	
Pyruvique	46
III.4. 3. Préparation des dérivés de (E)-2-nitrophénylhydrazono butanoate	
De méthyle	48
III.5. Réduction des dérivés des hydrazones	49
III.5.1. Réduction des dérivés des hydrazones de l'acide pyruvique	49
III.5. 2. Réduction des dérivés des hydrazones de l'acide	
2-oxoglutarique	50
III.5. 3. Réduction des dérivés de (E)-2-nitrophénylhydrazono butanoate	
De méthyle	50
III.6.Activité antimicrobienne des produits synthétisés	51
CONCLUSION	55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	56

## Liste des schémas

	Page
<b>Schéma II. 1</b> : Mécanisme réactionnel de la synthèse de 5-méthyl-, 5-chloro- et 5,6-dichloro-2-nitrophénylhydrazines	17
<b>Schéma II. 2</b> : Mécanisme réactionnel de la synthèse des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique	18
<b>Schéma II.3</b> : Mécanisme réactionnel de la synthèse des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide 2-oxoglutarique	22
<b>Schéma II.4</b> : Mécanisme réactionnel de la synthèse des dérivés de 2-nitrophénylhydrazonobutanoate de méthyle	24
<b>Schéma II.5</b> : Cyclisation réductive de 2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique	27
<b>Schéma II. 6</b> : Cyclisation éventuelle menant au dérivé 1, 2,4-benzotriazine	28
<b>Schéma II. 7</b> : Cyclisation éventuelle menant au dérivé 1, 2,5-benzotriazépine	28
<b>Schéma II. 8</b> : Cyclisation Réduction des dérivés 2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique	29
<b>Schéma II. 9</b> : Cyclisation éventuelle menant aux dérivés 1, 2,4-benzotriazine-4N-oxyeou 1, 2,5-benzotriazépine	32
<b>Schéma II. 10</b> : Réduction des dérivés de 2-nitrophénylhydrazone d'acide 2-2-oxoglutarique	32
<b>Schéma II. 10</b> : Réduction des dérivés de 2-nitrophénylhydrazonobutanoate deméthyle	33

## Liste des tableaux

	Page
<b><u>Tableau II.1</u></b> : Les structures et les numérotations des produits testés.	34
<b><u>Tableau II. 2</u></b> : Valeurs de diamètres d'inhibition (en mm) de différents produits synthétisés sur la croissance d' <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Pseudomonas</i>	35
<b><u>Tableau II. 3</u></b> : Valeurs de diamètres d'inhibition (en mm) de différents produits Synthétisés sur les champignons de <i>Candida</i> et <i>Aspergillus</i>	38
<b><u>Tableau III.1</u></b> :Solvants et réactifs utilisés	42
<b><u>Tableau III. 2</u></b> : Structures et concentrations des produits testés	52

## Liste des figures

	Page
<b>Figure II.1</b> : Spectre IR de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique	19
<b>Figure II.2</b> : Spectre IR de (Z)-5-méthyl-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique	20
<b>Figure II.3</b> : Spectre IR de (Z)-5-chloro-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique	20
<b>Figure II.4</b> : Spectre IR de (Z)-4,5-dichloro-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique	21
<b>Figure II.5</b> : Spectre IR de (Z)-5-chloro-2-nitrophénylhydrazone d'acide 2-oxoglutarique	23
<b>Figure II.6</b> : Spectre IR de (Z)-4,5-dichloro-2-nitrophénylhydrazone d'acide 2-oxoglutarique	23
<b>Figure II.7</b> : Spectre IR de 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazonobutanoate de méthyle	25
<b>Figure II.8</b> : Spectre IR de 4,5-dichloro -2-nitrophénylhydrazonobutanoate de méthyle	26
<b>Figure II.9</b> : Spectre IR de la réduction 2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique	29
<b>Figure II.10</b> : Spectre IR de la réduction de 5-chloro- 2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique	30
<b>Figure II.11</b> : Spectre IR de la réduction de 4,5-dichloro-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique	30
<b>Figure II.12</b> : Spectre IR de la réduction de 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique	31
<b>Figure II.13</b> : Photographies montrant les zones d'inhibition des produits 1, 2,3 sur Escherichia coli	36
<b>Figure II.14</b> : photographies montrant les zones d'inhibition des produits 1, 2,3 sur staphylococcus aureus	36
<b>Figure II.15</b> : photographies montrant les zones d'inhibition des produits 1, 2,3 sur Pseudomonas	36
<b>Figure II.16</b> : photographies montrant les zones d'inhibition des produits 1,2,3 sur aspergillus	39
<b>Figure II.17</b> : photographies montrant les zones d'inhibition des produits 1,2,3 sur candida	39

## INTRODUCTION GENERALE

La chimie des hétérocycles est un domaine très important de la chimie organique. Les hétérocycles existent à l'état naturel, par exemple dans les acides nucléiques, les alcaloïdes indoliques, les vitamines, les hormones. Les hétérocycles de synthèse sont largement utilisés comme herbicides, fongicides, insecticides, colorants, agents stabilisants, inhibiteurs de corrosion, sensibilisateurs, et bien sûr comme produits pharmaceutiques.

Les hétérocycles azotés constituent un intérêt particulier, à cause de leurs divers modes de synthèse et pour leurs propriétés remarquables. Ces motifs structuraux sont couramment rencontrés en synthèse organique. Ils sont très utilisés dans le traitement des maladies cardiovasculaires et les maladies cancéreuses, ces deux maladies constituent chez nous la première cause de mortalité.

Le but de ce présent travail est donc d'essayer d'obtenir de nouveaux hétérocycles azotés par cyclisation réductive à partir des dérivés de 2-nitrophénylhydrazone d'acides 2-oxocarboxyliques.

A cet effet, les objectifs suivants ont été fixés pour la réalisation de ce présent travail :

- Synthèse et caractérisation des dérivés de 2-nitrophénylhydrazine.
- Synthèse et caractérisation de 2-nitrophénylhydrazones des acides pyruvique, oxoglutarique et oxobutanoate de méthyle.
- Réduction des hydrazones obtenus par les méthodes classiques de réduction (Réduction avec la poudre de fer dans l'acide acétique).
- Explorer l'activité biologique des produits synthétisés (Activités antibactériennes et antifongiques).

Le présent mémoire comporte trois chapitres :

. Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur la synthèse d'hétérocycles azotés par cyclisation réductive. Des exemples choisis de la littérature de synthèse d'hétérocycles azotés par la dite méthode sont exposés montrant ainsi l'importance du thème étudié.

. Le deuxième chapitre décrit les résultats et discussion. Il comporte la description des synthèses des composés, leurs caractérisations par les différentes méthodes physiques

d'analyse avec interprétation des spectres infrarouge à transformée de Fourier et les résultats de l'activité biologique.

. Le troisième et dernier chapitre, réservé à la partie expérimentale, décrit en détails les protocoles de tous les composés synthétisés.

. Enfin une conclusion présente les résultats obtenus au cours de ce travail avec des recommandations futures en vue d'améliorer et de poursuivre ce travail.

**CHAPITRE I**  
**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## I. 1. INTRODUCTION

Les composés nitrés de la série aromatique sont des produits organiques intermédiaires qui, par réduction, sont transformés en une série de produits de départ ayant un grand intérêt technique par exemple pour la synthèse de colorants et de médicaments et bien sûr la synthèse de différents hétérocycles azotés.

Les procédés de réductions des composés organiques nitrés sont aussi nombreux que variés. Le groupement nitro est réduit au groupement nitroso, hydroxylamine et finalement l'amine. Cela dépend du moyen de réduction, de la valeur du pH et du solvant mis en œuvre. Parmi les procédés traditionnels et encore importants est la réduction avec du fer [1], du zinc [2] et de l'étain [3] et l'acide chlorhydrique ou l'acide acétique.

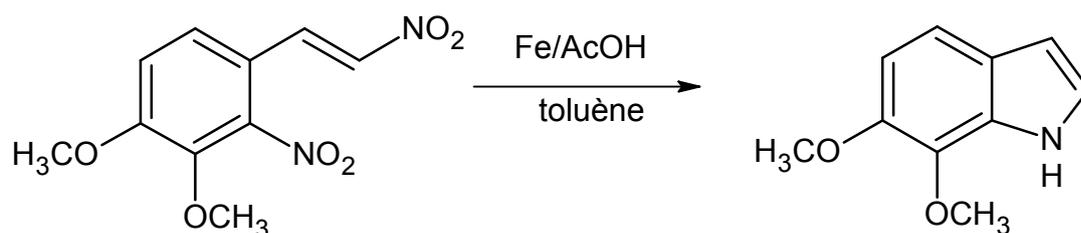
L'hydrogénation catalytique sous l'emploi de PtO<sub>2</sub> [4] ou Pd/C [5] est aussi employée.

La réduction des composés ortho-nitrés appropriés peut mener directement à la formation d'hétérocycles azotés si les produits de réduction réagissent par addition, condensation ou substitution intramoléculaire avec les autres groupements fonctionnels par formation d'une liaison C-N. Les réactions de ce type sont habituellement désignées comme des cyclisations réductives.

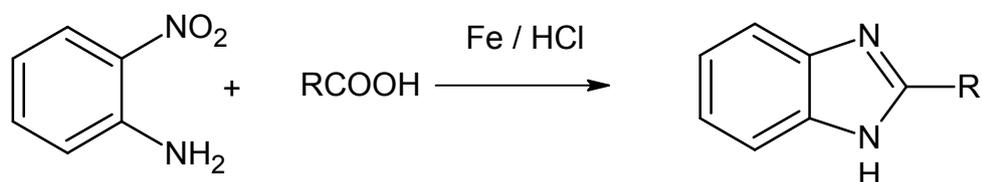
Nous rapportons dans ce qui suit des exemples choisis de la littérature mettant en œuvre cette méthode de synthèse d'hétérocycles azotés de différentes grandeurs de cycle.

## I. 2. Synthèse d'hétérocycles à cinq membres

Le dérivé 6,7-diméthoxyindole est accessible par cyclisation réductive, avec le fer et l'acide acétique, à partir du dérivé *o*-β-nitrostyrène [6].

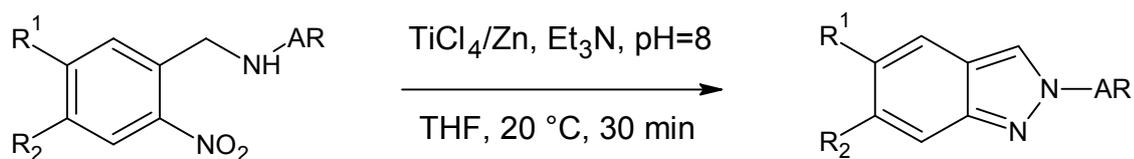


De nouveaux dérivés benzimidazoles doués d'une haute activité biologique sont obtenus, avec des rendements variables, à partir de l'*o*-nitroaniline et des acides aliphatiques par cyclisation réductive avec la poudre de fer et l'acide chlorhydrique [7].



R = H, Me, Et, Pr, Bu

Les dérivés de 2-*H*indazole sont obtenus à partir des dérivés de 2-nitroarylhydrazine en utilisant la poudre de zinc [8].

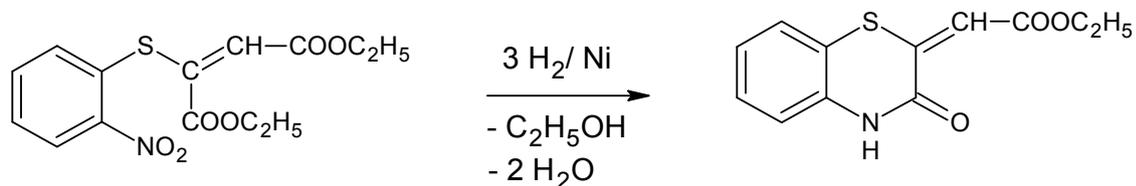


R<sup>1</sup> = H, Cl, CH<sub>3</sub>O

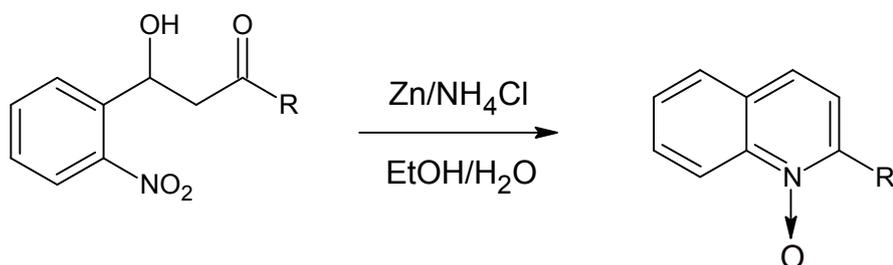
R<sup>2</sup> = H, CH<sub>3</sub>O

### I. 3. Synthèse d'hétérocycles à six membres

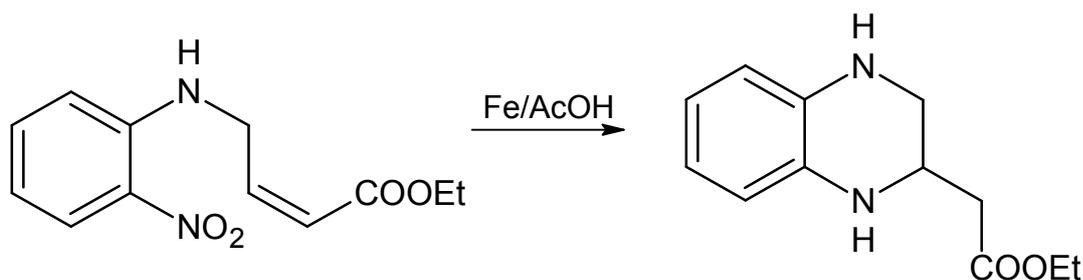
Le 3-éthoxycarbonylméthylène-3,4-dihydro-3-oxo-2*H*-benzo-1,4-thiazine a été synthétisé par hydrogénation catalytique en utilisant le Nickel de Raney comme agent de réduction[9].



Les dérivés de N-oxydes de quinoléine ont été préparés par cyclisation réductive à partir de 3-(2-Nitrophényl) -3-hydroxypropanone en utilisant la poudre de zinc comme agent réducteur [10].

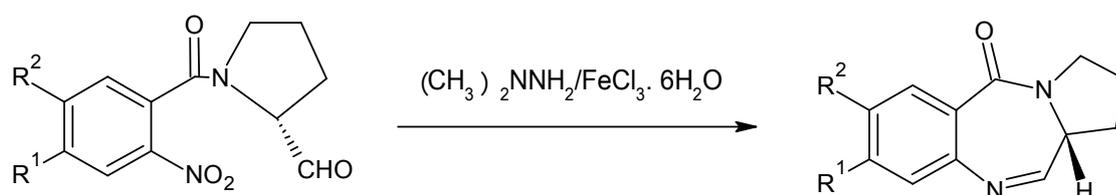


Le (1,2,3,4-tétrahydroquinoxalin-2-yl)acétate d'éthyle est accessible à partir de 4-(2-nitrophénylamino)butan-2-énoate d'éthyle par réduction avec le fer dans l'acide acétique avec un rendement de 89% [11].

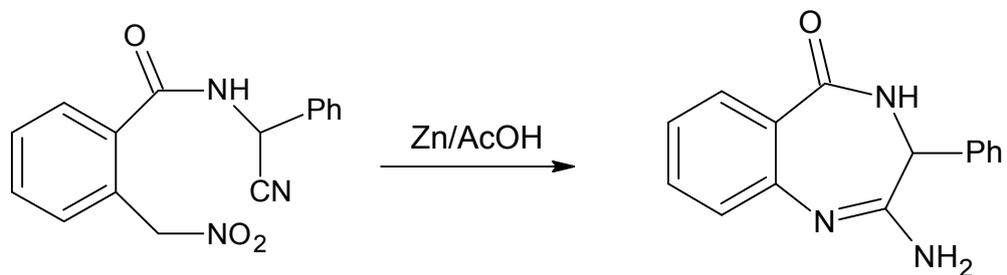


#### I. 4. Synthèse d'hétérocycles à sept membres

Les dérivés pyrrolo [2,1-C][1,4] benzodiazépine sont accessibles en une seule étape par cyclisation réductive au moyen de N, N- diméthylhydrazine à partir de (2R)-1-(2-nitrobenzoyl)pyrrolidine-2-carbaldéhyde[12].



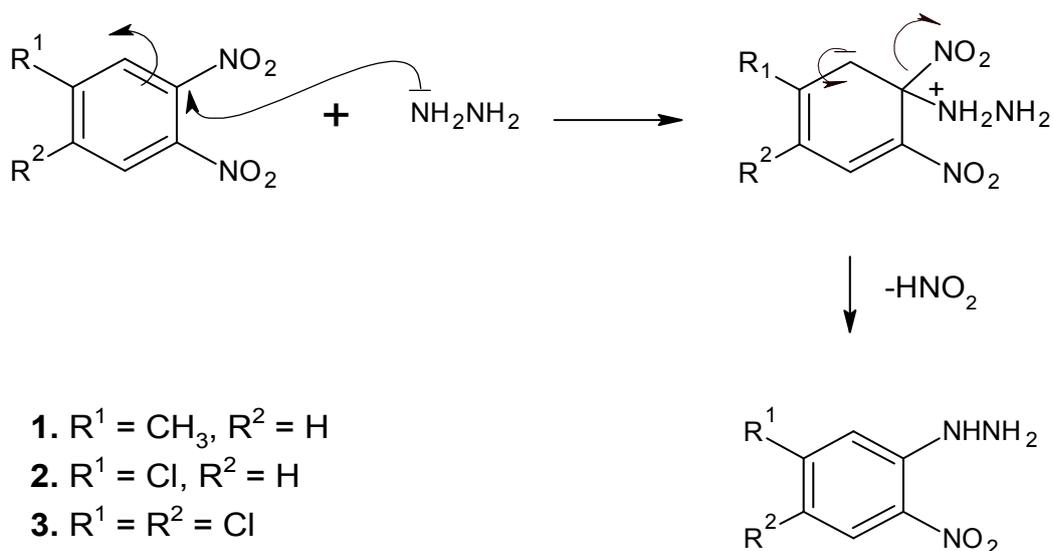
La cyclisation réductive avec la poudre de zinc dans l'acide acétique de *N*-[cyano(phényl)méthyl]-2-(nitrométhyl)benzamide a donné le 2-amino-3-phényl-3,4-dihydro-5*H*-1,4-benzodiazépin-5-one[13].



**CHAPITRE II**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

## II.1. Synthèse de 5-méthyl-, 5-chloro- et 5,6-dichloro-2-nitrophénylhydrazines

Les 5-méthyl-, 5-chloro- et 5,6-dichloro-2-nitrophénylhydrazines sont obtenues facilement à partir de 3,4-dinitrotoluène, de 1-chloro-3,4-dinitrobenzène et 1,2-dichloro-4,5-dinitrobenzène respectivement. Les groupements nitro étant des attracteurs d'électrons appauvrissent le noyau benzénique en densité électronique. Ceci rend une substitution nucléophile facile du groupement nitro en position 3 par l'hydrazine en un mécanisme en deux étapes : addition / élimination (Schéma II.1).

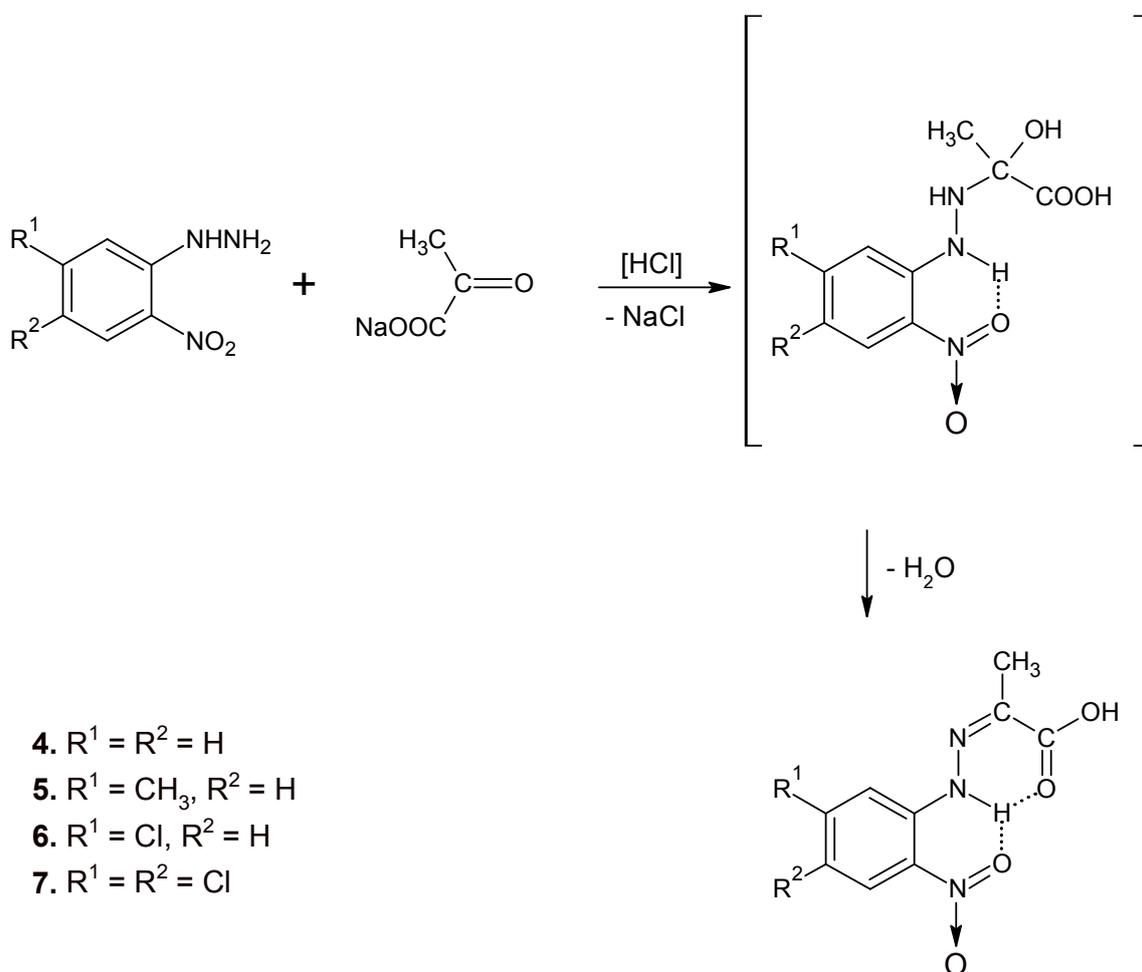


**Schéma II. 1 : Mécanisme réactionnel de la synthèse de 5-méthyl-, 5-chloro- et 5,6-dichloro-2-nitrophénylhydrazines**

Les 3,4-dinitrotoluène, 1-chloro-3,4-dinitrobenzène et 1,2-dichloro-4,5-dinitrobenzène respectivement sont mélangés à froid dans le méthanol en quantité équimolaire avec l'hydrazine monohydrate. Le précipité formé est porté à reflux pendant 30 minutes pour achever la réaction. Les 5-méthyl-, 5-chloro- et 5,6-dichloro-2-nitrophénylhydrazines sont obtenus avec de hauts rendements.

## II. 2. Synthèse des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique

La synthèse des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique se déroule d'après la réaction bien connue de condensation du groupement carbonyle avec le groupement amino en un mécanisme en deux étapes : addition / élimination (**Schéma II.2**).



**Schéma II. 2 : Mécanisme réactionnel de la synthèse des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique**

Dans un premier temps il se forme un produit d'addition mais celui-ci instable évolue vers l'hydrazone indiqué. Cette réaction se déroule dans le méthanol à température ambiante en présence d'acide chlorhydrique concentré. Par suite de la formation de la double liaison C=N azométhine, les 2-nitrophénylhydrazone d'acidepyruvique peuvent exister sous deux diastéréoisomères de configurations (E) et (Z). Vu les conditions opératoires fortement acides il se forme exclusivement les isomères (Z) thermodynamiquement plus stables.

Les spectres IR montrent les bandes d'absorptions caractéristiques des groupements carbonyles des groupements acides à 1727,28 et 1676,61  $\text{cm}^{-1}$  et le mode vibrationnel d'élongation du lien NH à 3307,63 et 3332,85  $\text{cm}^{-1}$ . A 1503,86 et 1580,58  $\text{cm}^{-1}$  apparaissent les bandes d'absorptions caractéristiques des groupements  $\text{NO}_2$ ; les bandes d'absorption des liens C-Cl se situent entre 1077,17 et 1072,93  $\text{cm}^{-1}$  et les bandes d'absorption du groupement  $\text{CH}_3$  entre 1412,52 et 1407,67  $\text{cm}^{-1}$  (Figures II.1-4).

#### 4. $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$

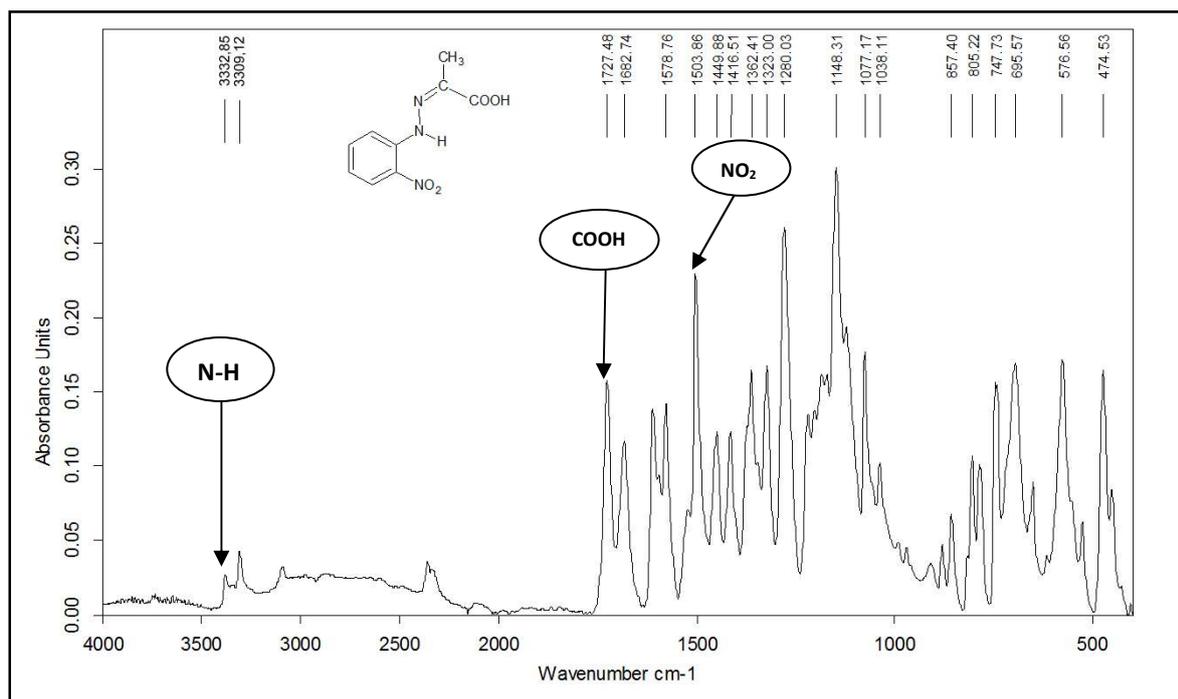


Figure II.1 : Spectre IR de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique

5.  $R^1 = \text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{H}$

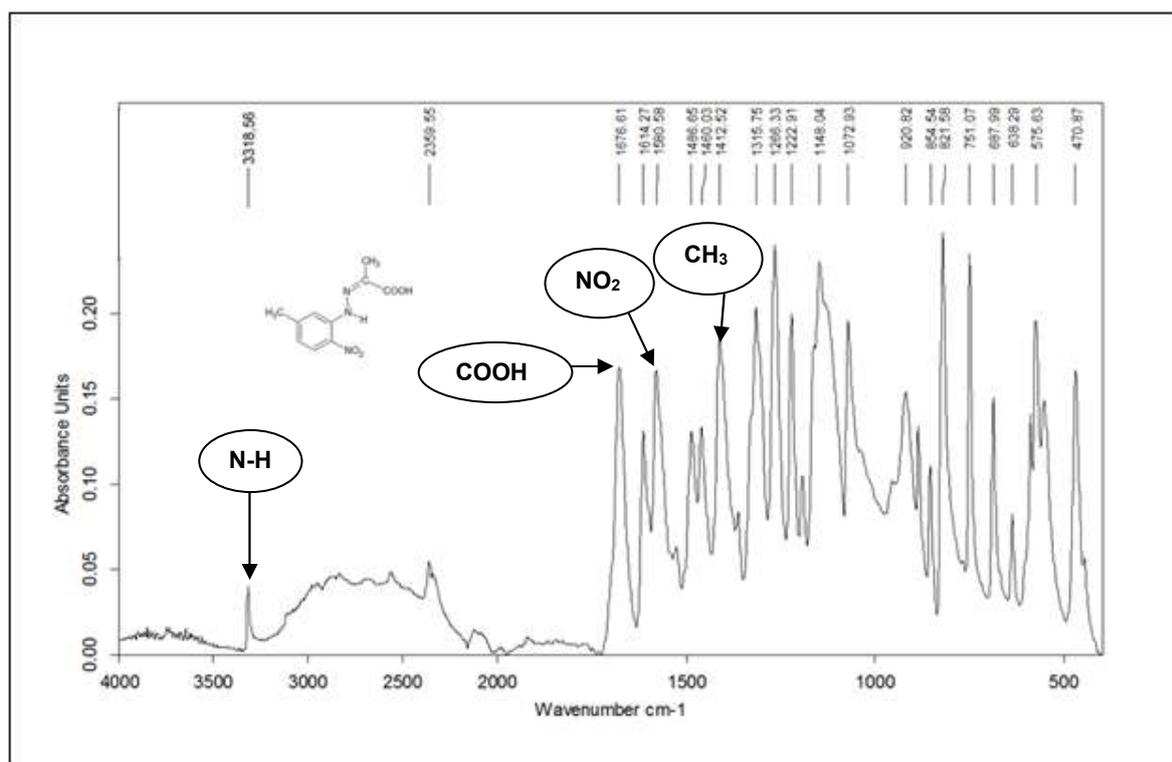


Figure II.2 : Spectre IR de (Z)-5-méthyl-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique

6.  $R^1 = \text{Cl}$ ,  $R^2 = \text{H}$

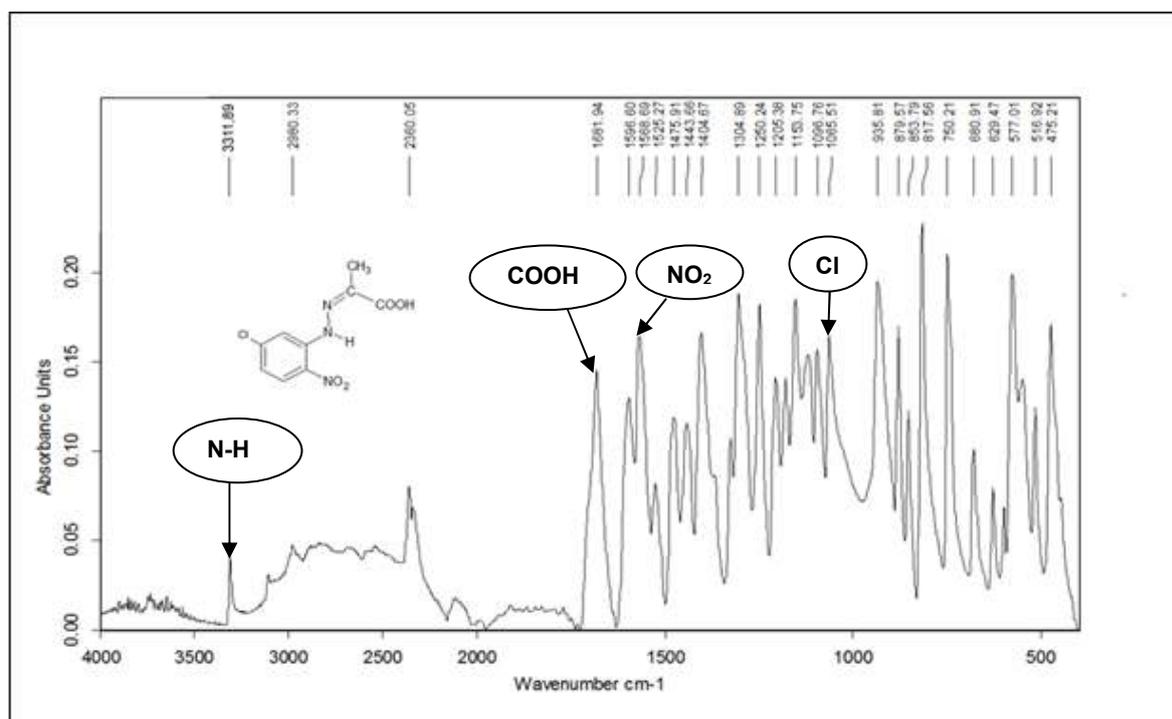
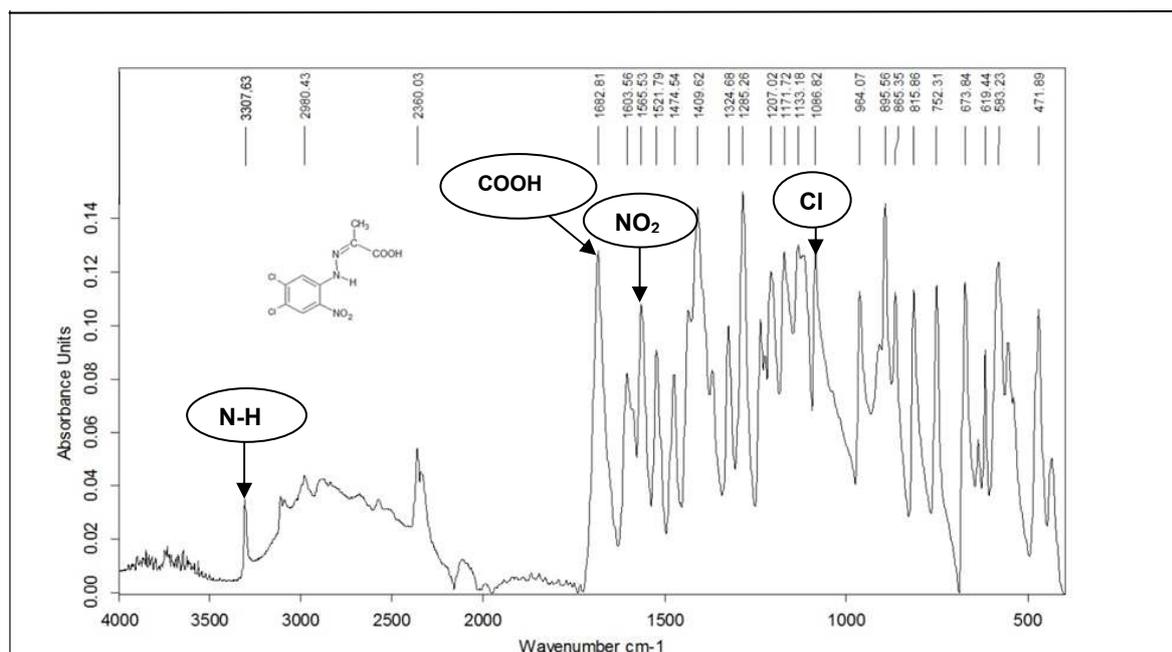


Figure II.3 : Spectre IR de (Z)-5-chloro-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique

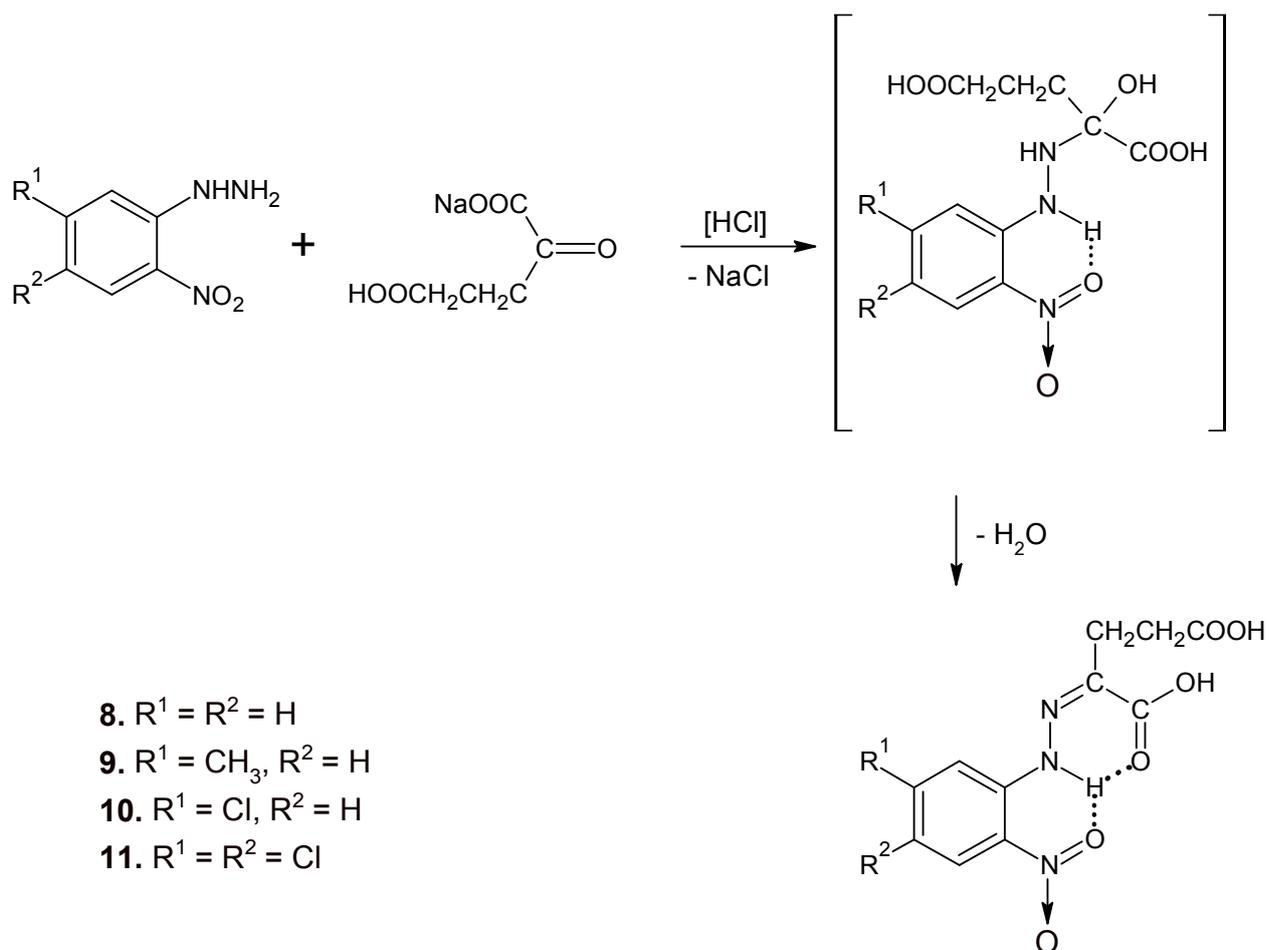
7.  $R^1 = R^2 = Cl$



**Figure II. 4 : Spectre IR de (Z)-4,5-dichloro-2-nitrophénylhydrazone d'acide Pyruvique**

### II.3. Préparation des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide 2-oxoglutarique

La synthèse des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide 2-oxoglutarique se déroule aussi comme dans le cas de l'acide pyruvique par condensation du groupement carbonyle avec le groupement amino en un mécanisme en deux étapes : addition / élimination (**Schéma II. 3**).



**Schéma II.3 : Mécanisme réactionnel de la synthèse des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazoned'acide 2-oxoglutarique**

Cette réaction se déroule exactement comme dans le cas de l'hydrazone d'acide pyruvique seulement le pyruvate de sodium est remplacé par le 2-oxoglutarate de sodium.

Ils se forment aussi exclusivement les diastéréoisomères (Z) vu les conditions opératoires fortement acides

Les spectres IR montrent les absorptions caractéristiques des groupements carbonyles des groupements acides entre 1708,34 et 1719,96  $cm^{-1}$  et le mode vibrationnel d'élongation du lien NH entre 3151,15 et 3229,76  $cm^{-1}$ ; les bandes d'absorption caractéristiques du groupement  $NO_2$  apparaissent entre 1553,15 et 1553,88  $cm^{-1}$ . La bande d'absorption du lien C-Cl se situe à 1061,11 et 1085,94  $cm^{-1}$  (**Figure II.5 et 6**)

10.  $R^1 = Cl, R^2 = H$

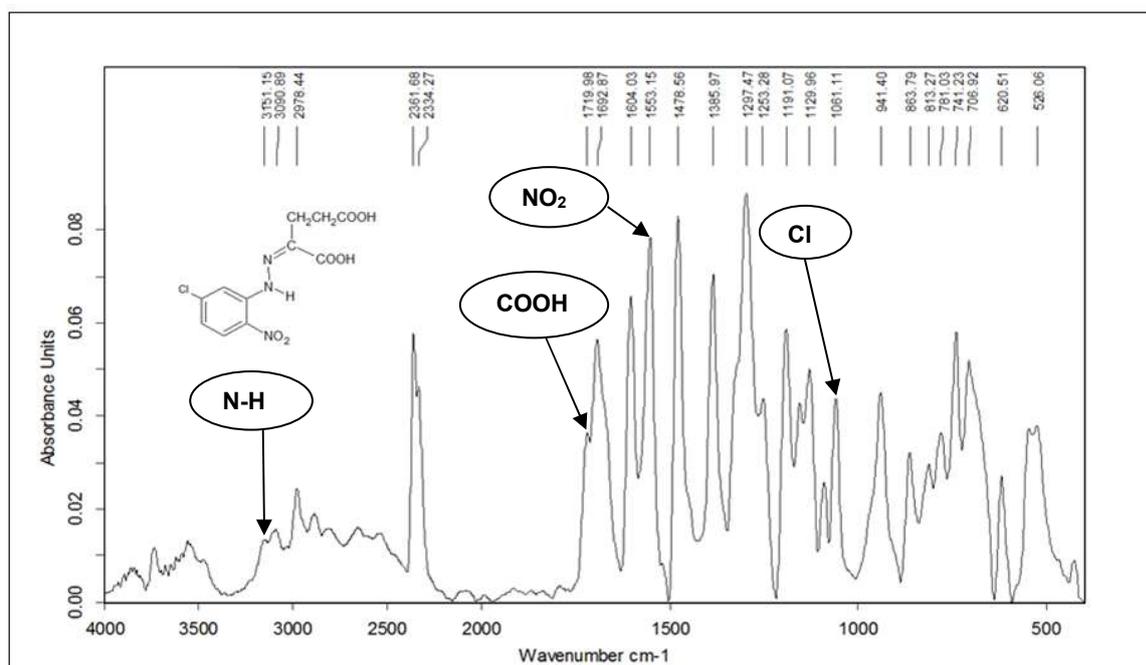


Figure II.5: Spectre IR de (Z)-5-chloro-2-nitrophénylhydrazone d'acide

2-oxoglutarique

11.  $R^1 = R^2 = Cl$

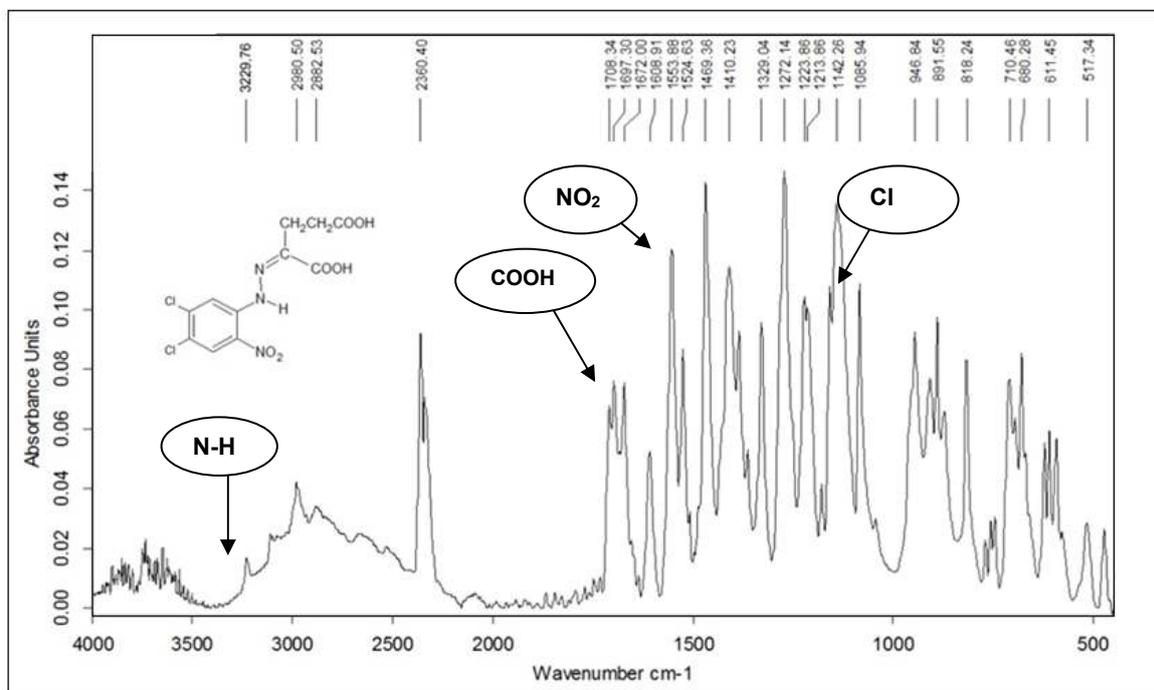
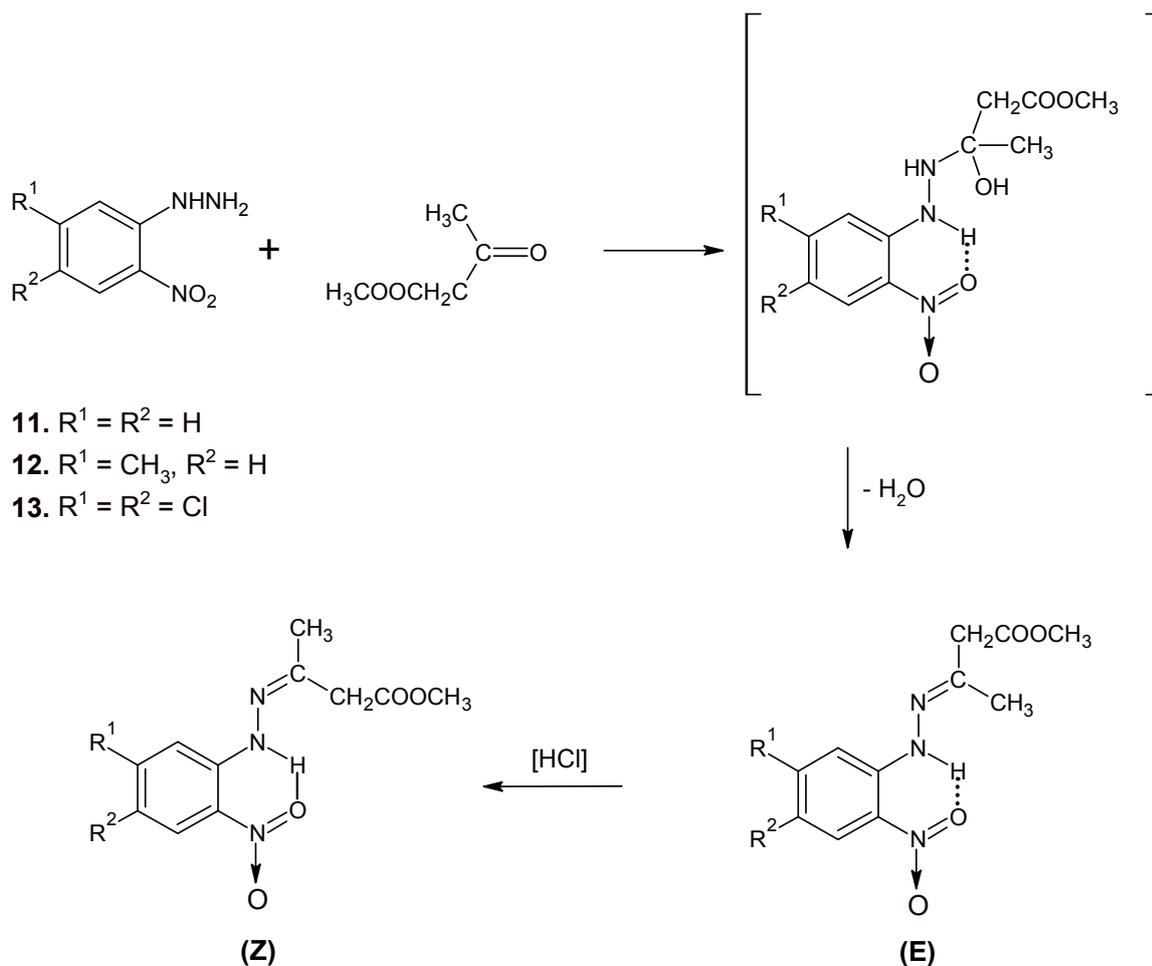


Figure II. 6 : Spectre IR de (Z)-4,5-dichloro-2-nitrophénylhydrazone d'acide

2-oxoglutarique

## II.4.Synthèse des dérivés de 2-nitrophénylhydrazonobutanoate de méthyle

La synthèse des dérivés de 2-nitrophénylhydrazonobutanoate de méthyle se déroule aussi suivant le même mécanisme décrit pour la synthèse des hydrazones d'acides pyruvique et d'acide 2-oxoglutarique en deux étapes : addition / élimination (**Schéma II. 4**).



**Schéma II.4 : Mécanisme réactionnel de la synthèse des dérivés de 2-nitrophénylhydrazonobutanoate de méthyle**

Les dérivés de 2-nitrophénylhydrazine sont mélangés à température ambiante avec le méthyle 3-oxobutanoate dans le méthanol et agités pendant un certain temps, les dérivés de 2-nitrophénylhydrazonobutanoate de méthyle se précipitent sous forme de cristaux.

Par suite de la formation de la double liaison C=N azométhine, les 2-nitrophénylhydrazono butanoate de méthyle peuvent exister sous deux diastéréoisomères de configurations (E) et (Z). A température ambiante dans le méthanol il se forme exclusivement l'isomère (E).

En traitant ce dernier dans le méthanol, ou mieux encore dans l'éther, en présence d'acide chlorhydrique concentré il se transforme facilement en isomère (Z) thermodynamiquement plus stable. L'isomère (Z) ne se transforme plus à la forme (E). Tous les essais (chauffage pendant plusieurs heures, catalyse basique ...), sont restés sans succès.

Les spectres IR montrent les absorptions caractéristiques des groupements carbonyles des groupes esters entre 1726,84 et 1729,52  $\text{cm}^{-1}$  et le mode vibrationnel d'élongation du lien NH entre 3320,98 et 3320,98  $\text{cm}^{-1}$ . Les bandes d'absorption caractéristiques du groupement  $\text{NO}_2$  apparaissent entre 1576,10 et 1560,66  $\text{cm}^{-1}$ . La bande d'absorption du lien C-Cl se situe à 1083,95 et 1075,99  $\text{cm}^{-1}$ . La bande d'absorption des groupements  $\text{CH}_3$  se situe à 1407,73  $\text{cm}^{-1}$  (Figure II. 7 et 8).

12.  $\text{R}^1 = \text{CH}_3$ ,  $\text{R}^2 = \text{H}$

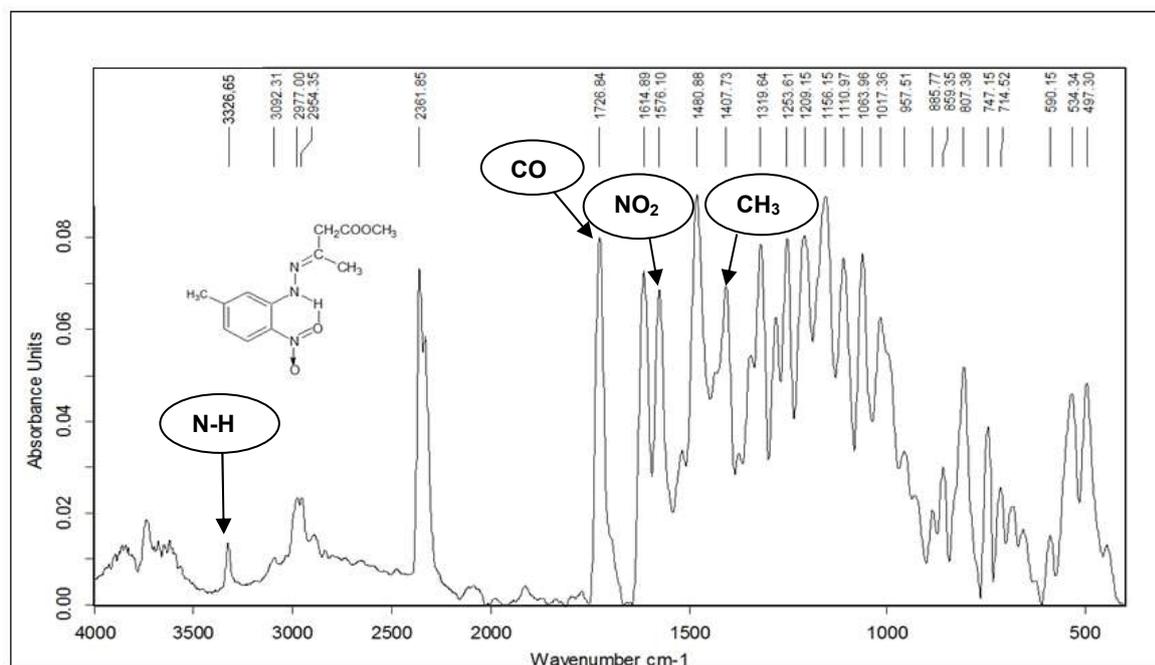


Figure II.7: Spectre IR de 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazonobutanoate de méthyle

13.  $R^1 = R^2 = Cl$

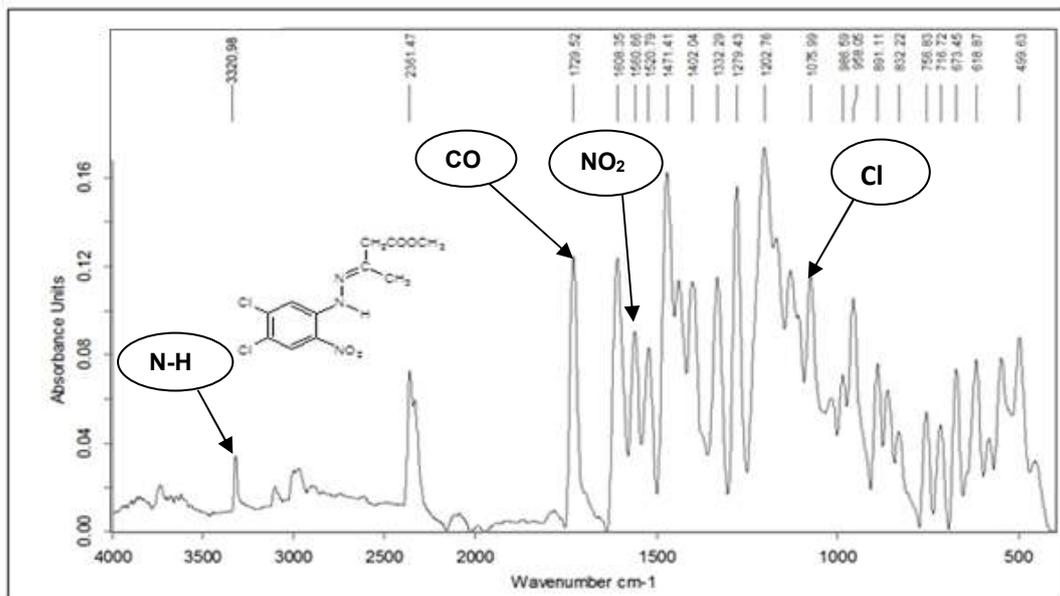
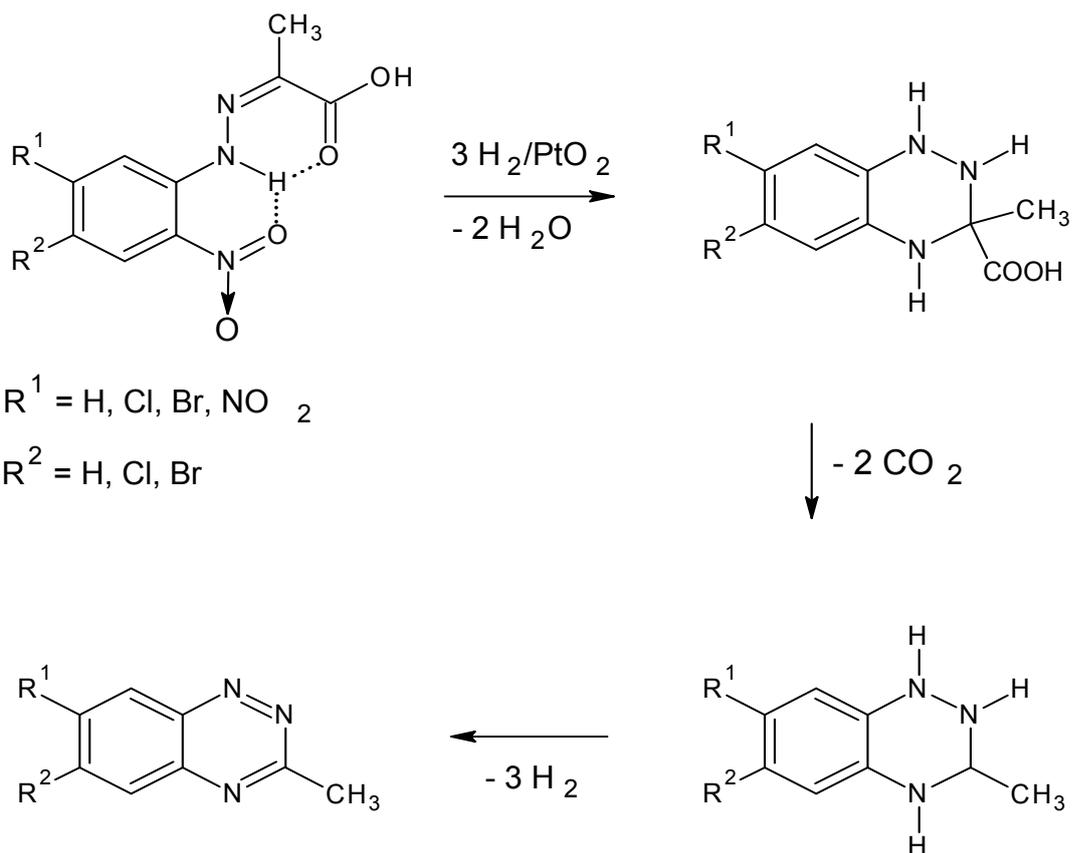


Figure II.8: Spectre IR de 4,5-dichloro-2-nitrophénylhydrazonobutanoate de méthyle

## II.5. Réduction des dérivés de l'hydrazone de l'acide pyruvique

Dans un travail précédent [14] l'hydrogénation catalytique des dérivés de 2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique a donné les 3-méthyl-1, 2,4-benzotriazines (Schéma II.5).



### Schéma II. 5 : Cyclisation réductive de 2-nitrophénylhydrazones d'acide pyruvique

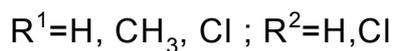
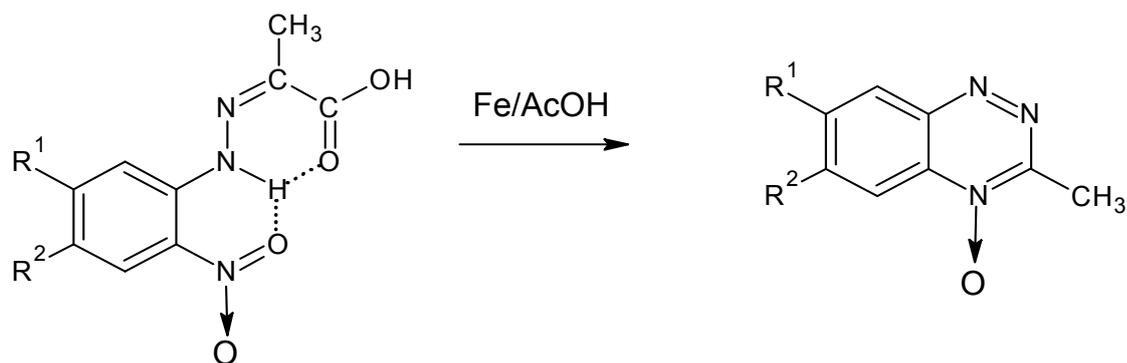
Cette cyclisation réductive des dérivés de 2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique aux benzotriazines a lieu en milieu neutre avec l'hydrogène moléculaire.

Notre objectif est de procéder à cette réduction en milieu acide et avec l'hydrogène naissant qui se forme par action de l'acide acétique sur le fer.

Pour cela nous envisageons deux autres possibilités de cyclisation :

La première possibilité est l'obtention du dérivé 1,2,4-benzotriazine-3N-oxyde.

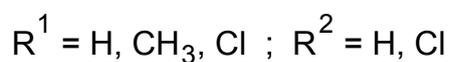
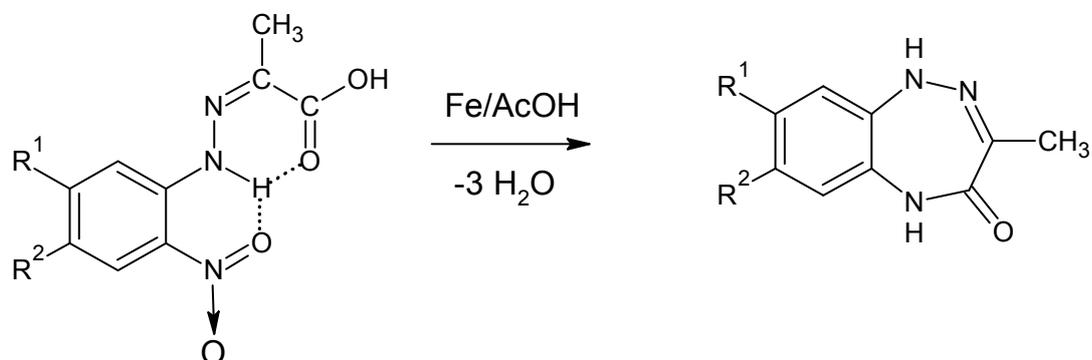
**(Schéma II. 6).**



**Schéma II. 6 : Cyclisation éventuelle menant au dérivé 1,2,4-benzotriazine-3N-oxyde**

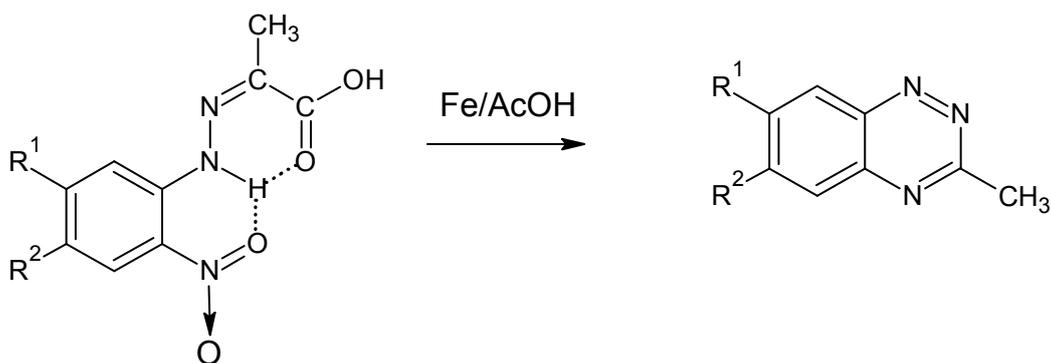
La deuxième possibilité est l'obtention du dérivé 1,2,5-benzotriazépine (schéma II. 7).

Ces dérivés 1, 2,4-benzotriazine-3N-oxyde et 1,2,5-benzotriazépine ne sont pas encore décrits dans la littérature.



**Schéma II. 7 : Cyclisation éventuelle menant au dérivé 1, 2,5-benzotriazépine**

A cet effet les 2-nitrophénylhydrazones d'acide pyruvique sont dissous respectivement dans l'acide acétique et réduits par la poudre de fer (Schéma II. 8).



**14.**  $R^1=R^2=H$ ; **15.**  $R^1=Cl$ ,  $R^2=H$ ; **16.**  $R^1=R^2=Cl$ ; **17.**  $R^1=CH_3$ ,  $R^2=H$

### Schéma II. 8 : Cyclisation réduction des dérivés de 2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique

Nous avons isolés des produits de différents points de fusion. Le composé **14a** le même point de fusion que celui décrit dans la référence [14]. Les composés **15**, **16** et **17**, non décrits dans la référence suscitée, sont donc de nouveaux dérivés de 3-méthyl-1,2,4-benzotriazine. En effet dans les spectres IR le mode vibrationnel d'élongation du lien NH à 3307,63 et 3332,85  $\text{cm}^{-1}$  a disparu. Il en est de même pour les bandes d'absorptions caractéristiques des groupements carbonyles des groupements acides à 1727,28 et 1676,61  $\text{cm}^{-1}$  qui n'apparaissent plus. (**Figure II.7et 8**).

14.  $R^1 = R^2 = H$

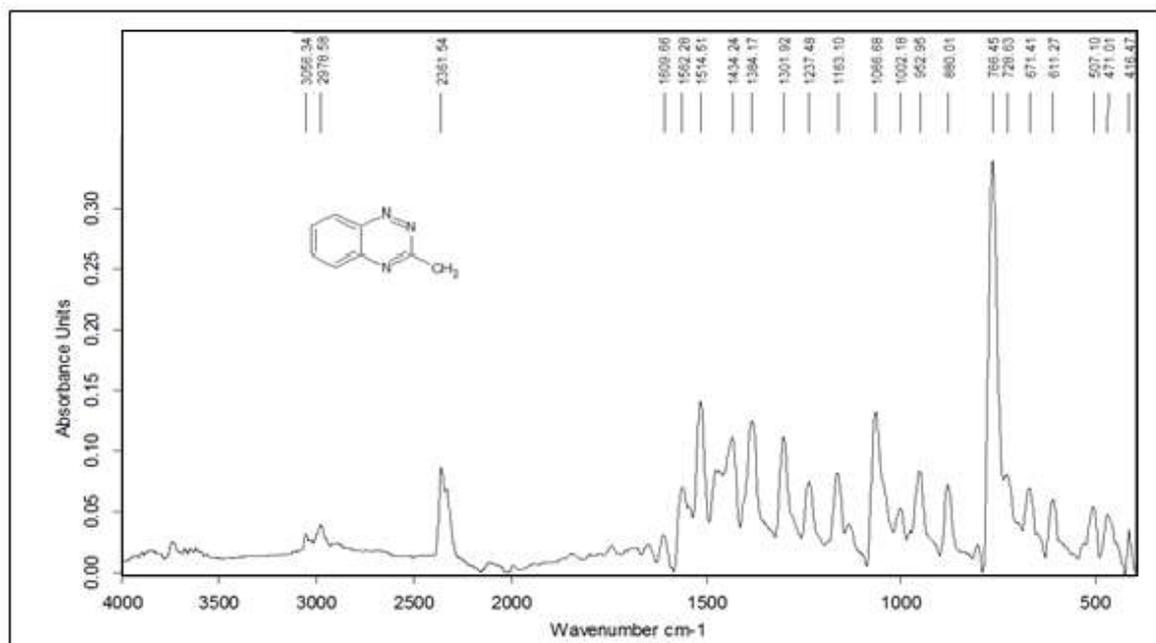


Figure II.9: Spectre IR de la réduction 2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique

15.  $R^1 = Cl, R^2 = H$

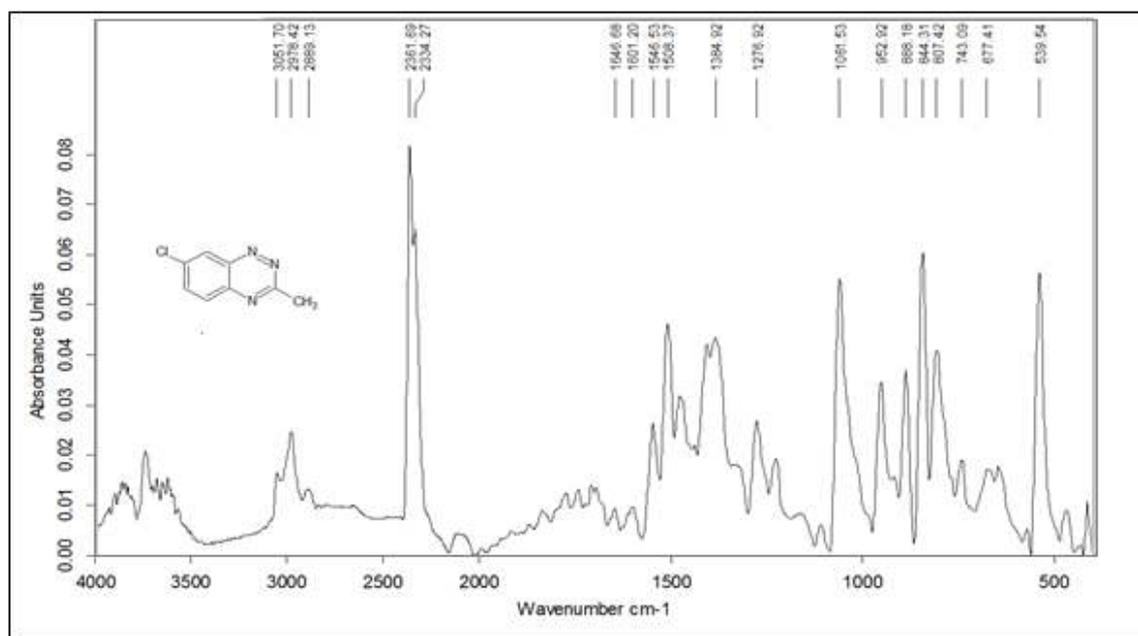


Figure II.10: Spectre IR de la réduction de 5-chloro- 2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique

16.  $R^1 = R^2 = Cl$

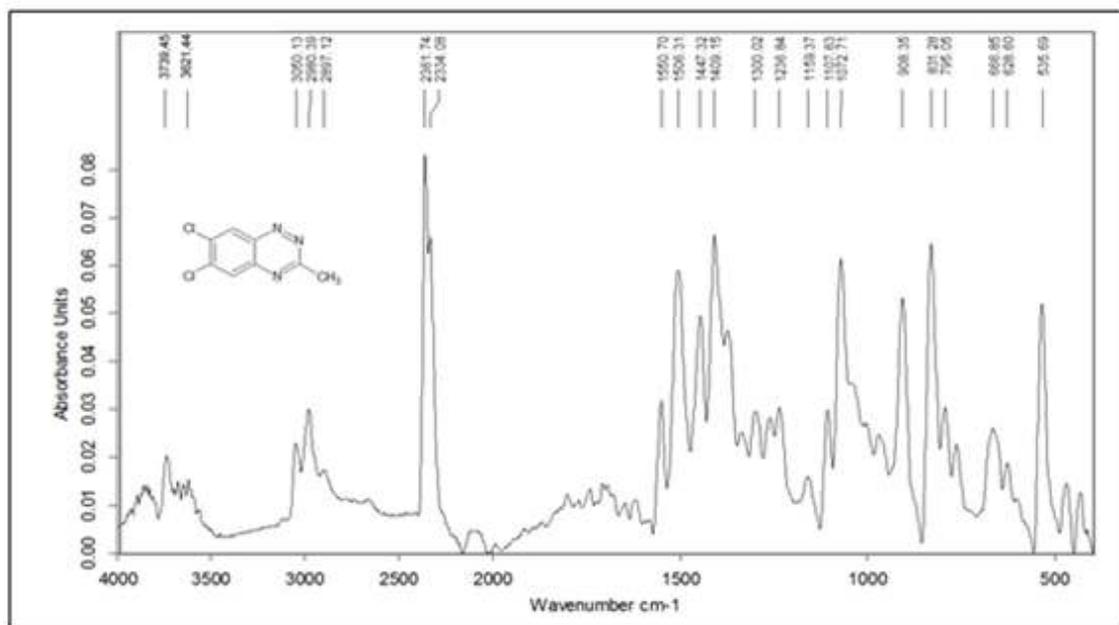


Figure II.11: Spectre IR de la réduction de 4,5-dichloro-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique

17.  $R^1 = CH_3$ ,  $R^2 = H$

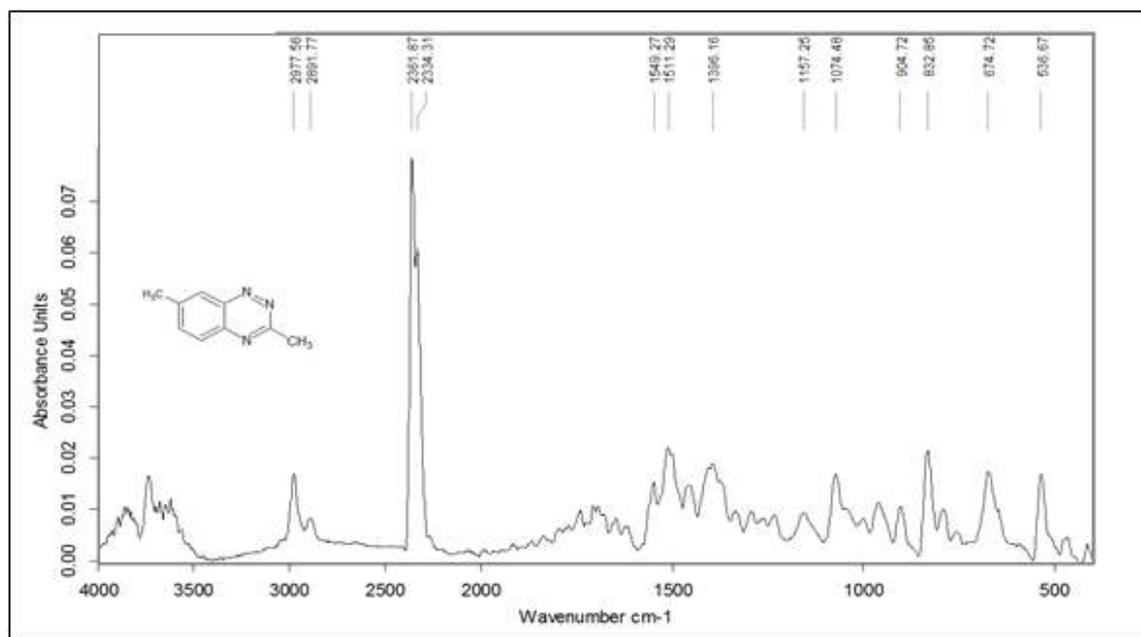


Figure II.12 : Spectre IR de la réduction de 5-méthyl-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique

## II. 6. Réduction des dérivés de 2-nitrophénylhydrazone d'acide 2-oxo glutarique

De même pour ces hydrazones les deux possibilités sont envisageables pour l'obtention de nouveaux dérivés 1,2,4-benzotriazine-3N-oxyde et 1,2,5-benzotriazépine (Schéma II. 9).

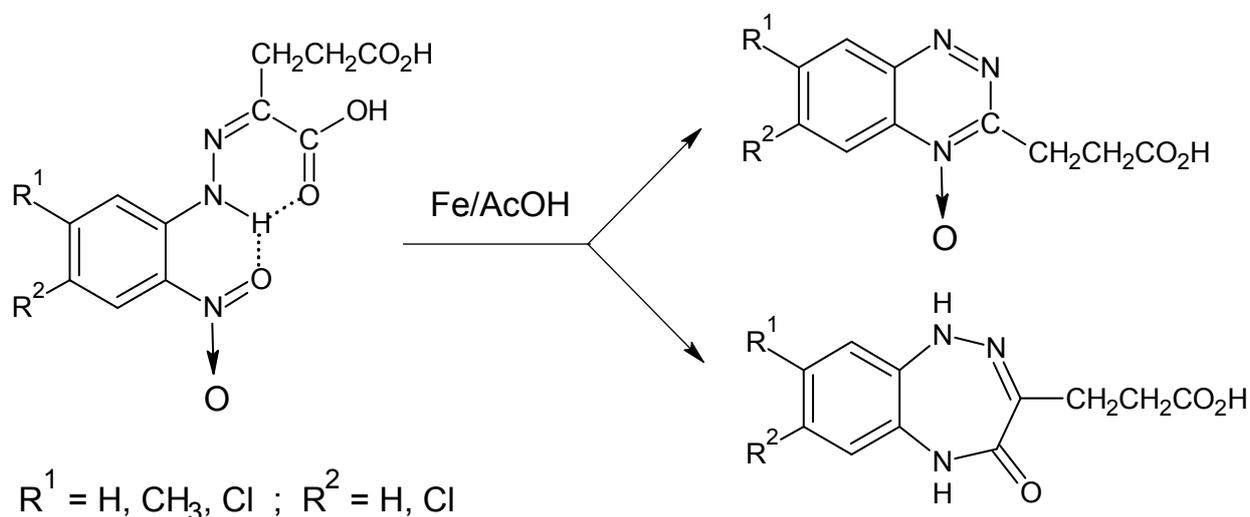


Schéma II. 9 : Cyclisation éventuelle menant aux dérivés 1, 2,4-benzotriazine-3N-oxyde ou 1,2,5-benzotriazépine

La réduction de ces hydrazones opérée dans les mêmes conditions que celles pour les hydrazones de l'acide pyruvique a donné des produits huileux (Schéma II. 10).

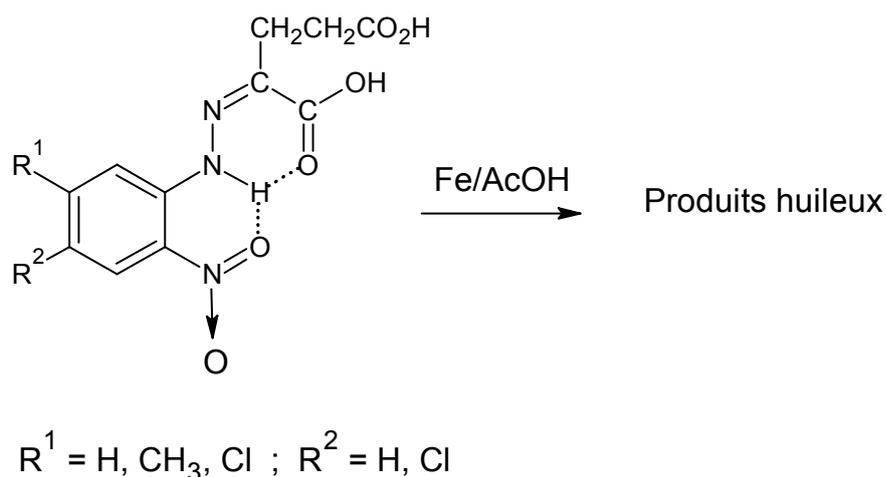
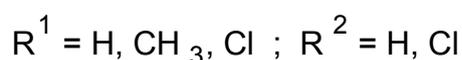
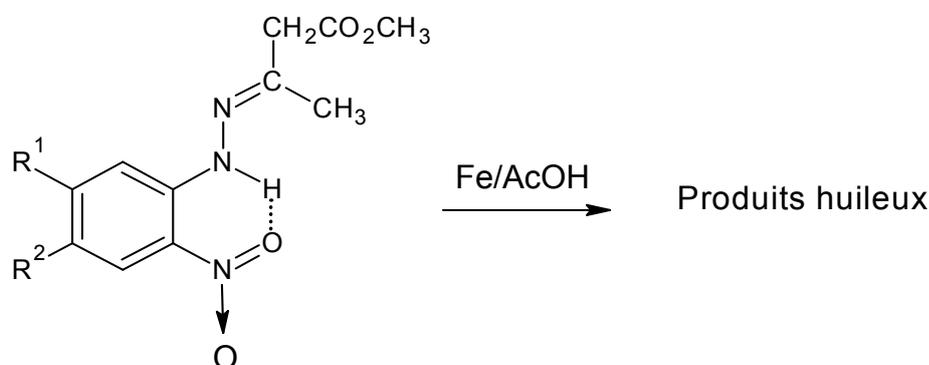


Schéma II. 10 : Réduction des dérivés de 2-nitrophénylhydrazone d'acide 2-oxoglutarique

## II. 7. Réduction des dérivés de (E)-2-nitrophénylhydrazono butanoate de méthyle

Il en est de même pour ces hydrazones dont la réduction opérée dans les mêmes conditions que celles pour les hydrazones de l'acide pyruvique n'a donné aucun produit solide. (**Schéma II. 11**).



**Schéma II. 11 : Réduction des dérivés de 2-nitrophénylhydrazonobutanoate deméthyle**

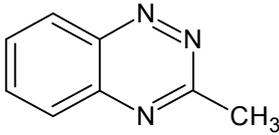
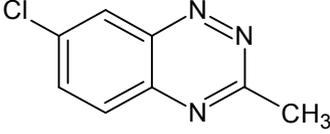
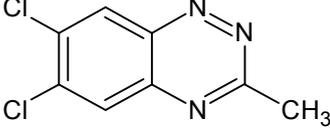
**II. 8. Résultats et discussion de l'activité biologique**

La progression importante des infections microbiennes, les pertes économiques dues aux altérations des aliments d'origines microbiennes ne cessent d'augmenter au fil du temps. En plus les intoxications alimentaires ainsi que les contaminations qui en résultent, posent de plus en plus de problèmes de santé publique à l'échelle mondiale. D'autant plus la résistance des microorganismes aux agents antimicrobiens chimiques (antibiotiques, conservateurs des aliments) ne cesse d'augmenter. Ainsi la mise au point de nouvelles molécules bioactives s'avère indispensable [15].

Donc dans ce qui suit nous présentons les résultats d'étude expérimentale établie pour évaluer le pouvoir antibactérien et antifongique des hétérocycles obtenus sur des espèces bactériennes, une espèce de levure une espèce de moisissure choisies pour leur pouvoir pathogène sur l'homme.

On a testé l'effet antimicrobien de 3 produits synthétisés, sur l'*Escherichia coli* et *Pseudomonas* (Gram-négatif), *Staphylococcus aureus* (Gram-positif), et les champignons (*Candida albicans*) et (*Aspergillus*). Un essai à blanc a été réalisé avec le DMSO, le résultat a été négatif.

Les disques contenant les différentes solutions ont été placés directement à la surface de la gélose. Les durées et les températures d'incubation ont été de 24 heures et 37 °C pour les souches bactériennes et de 48 heures et 30 °C pour les souches fongiques. Les activités antibactériennes et antifongiques ont ensuite été évaluées par la mesure du diamètre des zones d'inhibitions.

N°	La structure du produit
1	 <chem>Cc1nnc2ccccc12</chem>
2	 <chem>Cc1nnc2ccc(Cl)cc12</chem>
3	 <chem>Cc1nnc2c(Cl)cc(Cl)cc12</chem>

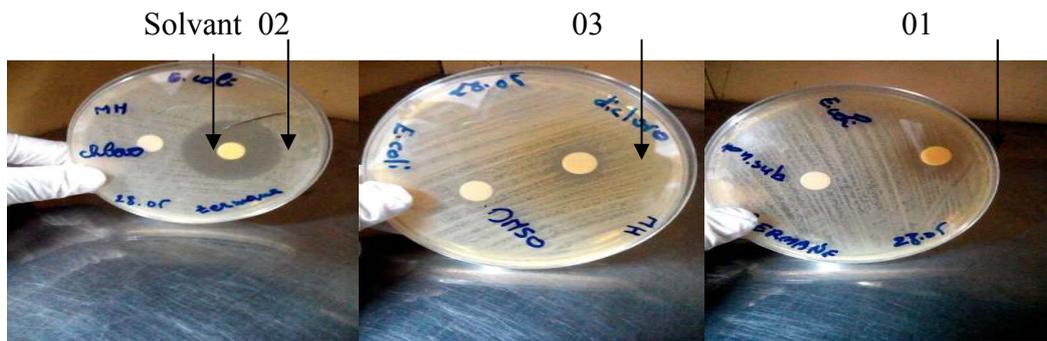
### II. 8. 1. Evaluation de l'activité antibactérienne

Après l'incubation de 24h, on peut remarquer l'apparition des diamètres du halo d'inhibition entourant les disques pour les souches bactériennes, qu'on a mesuré en millimètres pour obtenir les résultats suivants (**Tableau II .1**)

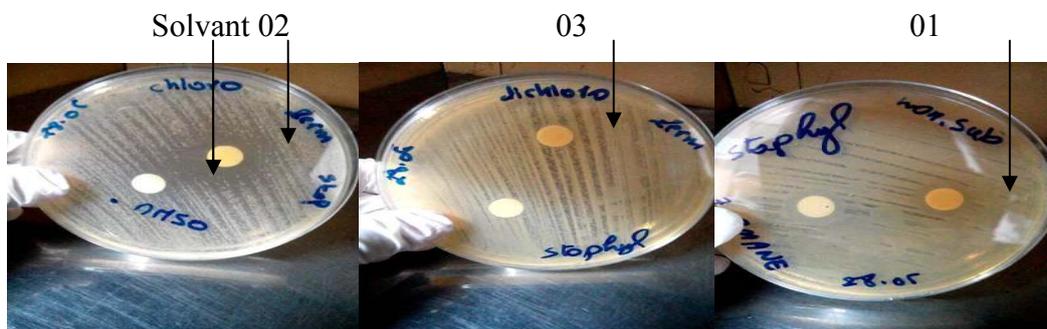
**Tableau II. 1** : Valeurs de diamètres d'inhibition (en mm) de différents produits synthétisés sur la croissance de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas*

Activité sur <i>Escherichia coli</i> à la concentration 20 mg/mL				
produits	solvant	1	2	3
Zone d'inhibition (mm)	-	20	35	17
Activité sur <i>Staphylococcus aureus</i> à la concentration 20 mg/mL				
Produits	solvant	1	2	3
zone d'inhibition (mm)	-	-	32	-
Activité sur <i>Pseudomonas</i> à la concentration 20 mg/mL				
Produits	solvant	1	2	3
Zone d'inhibition (mm)	-	12	11	11

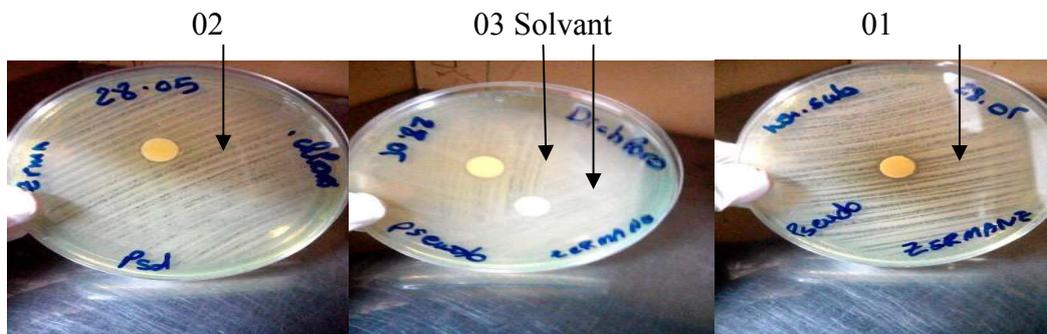
- : pas de zone d'inhibition observée au tour du disque



**Figure II.13** : Photographies montrant les zones d'inhibition des produits 1, 2, 3 sur *Escherichia coli*



**Figure II.14** : Photographies montrant les zones d'inhibition des produits 1, 2, 3 sur *staphylococcus aureus*



**Figure II.15** : Photographies montrant les zones d'inhibition des produits 1, 2, 3 sur *Pseudomonas*.

Les résultats des tests antibactériens du composé **1, 2 et 3** à la concentration de 20 mg/mL, présentés dans le (**Tableau II. 1**) montrent clairement que tous les composés présentaient une activité biologique contre les bactéries *Escherichia Coli*, *Pseudomonas* mais juste le composé **2** qui présente une activité biologique contre la souche *Staphylococcus aureus*.

Les produits synthétisés se sont avérés très actifs contre la souche *Escherichia Coli* avec des zones d'inhibition comprises entre 17 et 35 mm à la concentration de 20 mg/mL.

Les produits **1** et **3** étaient inactifs contre la souche *Staphylococcus aureus* par contre le produit **1** qui est très actif avec une zone d'inhibition de 32 mm.

Tous les produits ont montré une activité contre *Pseudomonas* pour une concentration de 20 mg/mL, avec des zones d'inhibition entre 11 et 12 mm.

Donc d'après les résultats il est indéniablement que tous les composés présentaient une activité antibactérienne dans l'ordre : **2 > 1 > 3**.

Le composé **2** présente une activité sur toutes les espèces bactériennes testées, il est très efficace successivement sur *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas*

La zone d'inhibition la plus grande a été observée chez ce composé sur *Escherichia Coli* avec une zone d'inhibition de 35 mm.

### **II. 8.2 .Résultats et discussion de l'activité antifongique :**

La méthode des disques a été utilisée pour confirmer les différences d'activités antifongiques observées entre les produits synthétisés. Des concentrations de 20 mg/mL ont été utilisées au cours de ce test. Les résultats obtenus après 48 h d'incubation sont regroupés dans le (**Tableau II.2**).

**Tableau II. 2 :** Valeurs des diamètres d'inhibition en mm de différents produits synthétisés sur les champignons de *Candida et Aspergillus*

Activité sur <i>Candida</i> à la concentration 20 mg/mL				
produit	solvant	1	2	3
Zone d'inhibition (mm)	-	30	45	37
Activité sur <i>Aspergillus</i> à la concentration 20 mg/mL				
Produit	solvant	1	2	3
Zone d'inhibition (mm)	-	22	45	27

– : pas de zone d'inhibition observée au tour du disque

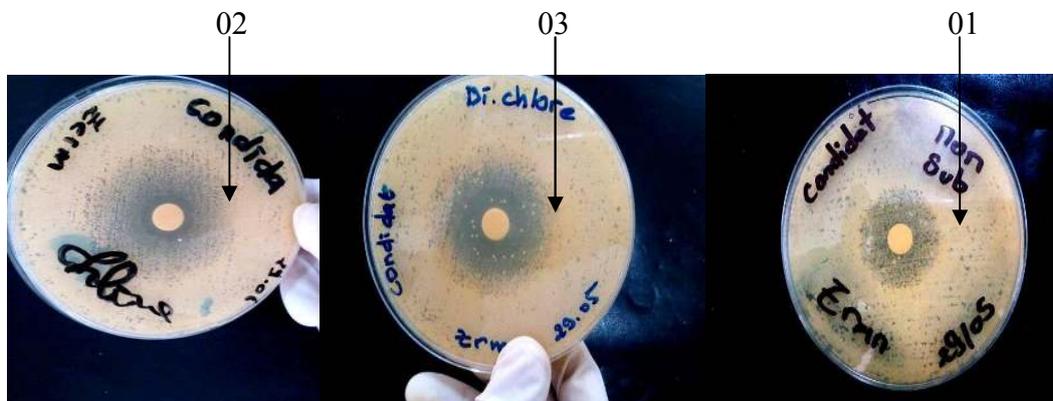


Figure II.16 : Photographies montrant les zones d'inhibition des produits 1, 2,3 sur *aspergillus*.

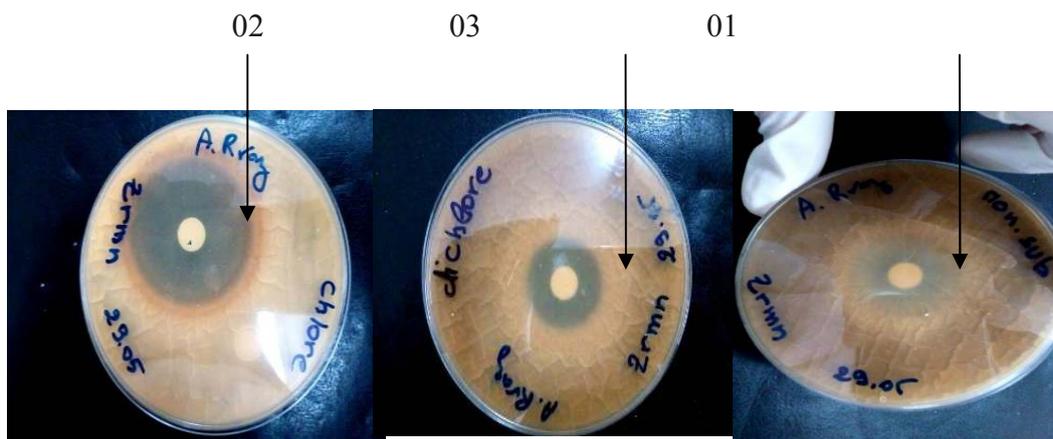


Figure II.17 : Photographies montrant les zones d'inhibition des produits 1, 2,3 sur *candida*.

Tous les produits ont montré une activité contre *Candida* et *Aspergillus* pour une concentration de 20 mg/mL comme il est indiqué dans le (**Tableau II.2**) dans l'ordre : 2 > 3 > 1.

Le pouvoir inhibiteur des produits synthétisés a affecté la souche *Candida* et *Aspergillus* respectivement avec des zones d'inhibition de 30 à 45 mm et de 22 à 45 mm.

L'activité antifongique la plus forte sur les deux souches a été obtenue avec le produit **2** qui a présenté une zone d'inhibition de 45 mm.

Il est à remarquer que tous les composés ont une activité antifongique très supérieure par rapport à l'activité antibactérienne.

**CHAPITRE III**  
**PARTIE EXPERIMENTALE**

### III.1. Réactifs et solvants :

L'origine des réactifs et solvants utilisés au cours de ce travail est présentée dans le tableau suivant :

**Tableau III.1** : Solvants et réactifs utilisés

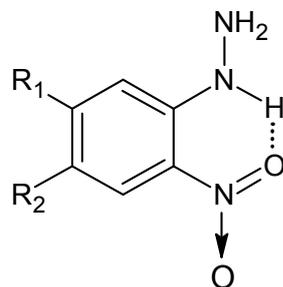
Nom du produit	Formule	Pureté (%)	Firme
Ethanol	$C_2H_5OH$	96 et 100	PANREAC
Méthanol	$CH_3OH$	99,8	SIGMA-ALDRICH
Hydrazine monohydrate	$N_2H_4.H_2O$	98	FLUKA
3-oxobutanoate de méthyle	$C_5H_8O_3$	99	PANREAC
Poudre de fer	Fe		SIGMA-ALDRICH
Acétone	$CH_3COCH_3$	99 et 100	SIGMA-ALDRICH
Ether de pétrole		99.5	MERCK
Sel mono sodique de 2-oxoglutarique	$C_5H_5NaO_5$	99	PANREAC
Pyruvate de sodium	$C_3H_3O_3Na$	99	PANREAC
Acide chlorhydrique	HCl	37	PANREAC
Acide acétique	$CH_3COOH$	100	SIGMA-ALDRICH

Tous ces composés sont utilisés tels quels. La pureté indiquée est la pureté minimale garantie par le fournisseur.

### **III.2.Appareillage et techniques analytiques :**

- Les points de fusions  $P_f$  ( $^{\circ}\text{C}$ ) sont déterminés à l'aide d'un appareil à plaque chauffante de FICHER-JONES (à lamelles).
- Les spectres infrarouge à transformée de Fourier ont été enregistrés sur un spectromètre BRUKER. Les fréquences d'absorption sont exprimées en  $\text{cm}^{-1}$  à leur maximum

### III. 3. Préparation des dérivés 2-nitrophénylhydrazine



1.  $R^1 = \text{Cl}, R^2 = \text{H}$  ; 2.  $R^1 = R^2 = \text{Cl}$  ; 3.  $R^1 = \text{CH}_3, R^2 = \text{H}$

Dans un ballon bicol muni d'un réfrigérant à reflux et d'une ampoule de coulée, on dissout respectivement 5g de 1-chloro-3,4-dinitrobenzène, 1,2-dichloro-4,5-dinitrobenzène et 3,4-dinitrotoluène dans 30 mL de méthanol. On égoutte sous agitation et à température ambiante 5 ml d'hydrazine monohydrate dissous dans 20 mL de méthanol. Après formation d'un précipité, le mélange est porté à reflux pendant 30 min pour achever complètement la réaction. Ensuite on verse la solution dans un cristalliseur et après refroidissement à température ambiante, on filtre sous vide le précipité formé et on le recrystallise dans le méthanol.

#### 1. $R_1 = \text{Cl}, R_2 = \text{H}$

$\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}$  (187,5 g/mol), cristaux orange.

$P_f = 156\text{-}157^\circ\text{C}$

Rendement = 73.33%

IR (KBr) = 3369 et 3336,2  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{NH}_2, \text{NH}$ ); 1639 ,19  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{NO}_2$ ) ; 1051.11 $\text{cm}^{-1}$  (C-Cl)

#### 2. $R_1 = R_2 = \text{Cl}$

$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_4\text{Cl}_2$  (222,9 g/mol), cristaux rouge brique.

$P_f = 172\text{-}173^\circ\text{C}$

Rendement = 88,03%

### 3. $R_1 = \text{CH}_3$ , $R_2 = \text{H}$

$\text{C}_7\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$  (167 g/mol), cristaux rouges.

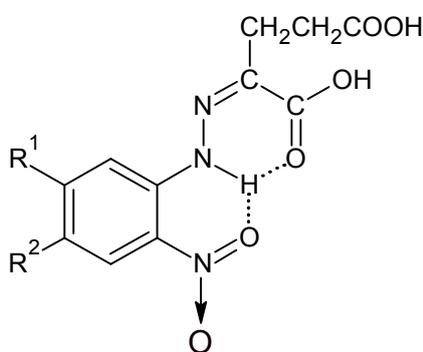
$P_f = 118-120^\circ\text{C}$

Rendement = 73,42%

IR (KBr) = 3321 et 3355  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{NH}$ ); 1509.98  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{NO}_2$ )

## III. 4. Préparation des 2-nitrophénylhydrazones

### III. 4.1. Préparation des dérivés de (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide 2-oxoglutarique



4.  $R^1 = \text{Cl}$ ,  $R^2 = \text{H}$ ; 5.  $R^1 = R^2 = \text{Cl}$ ; 6.  $R^1 = \text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{H}$ ; 7.  $R^1 = R^2 = \text{H}$

Dans un erlenmeyer, on dissout 0,8 g des dérivés 2-nitrophénylhydrazine dans l'éthanol, on ajoute 1,09g d'acide 2-oxoglutarique de sodium et 2 mL d'acide chlorhydrique. On laisse sous agitation le mélange réactionnel jusqu'à formation d'un précipité de couleur jaune. Ensuite on filtre le produit obtenu sous vide et on le recristallise dans l'éthanol.

### 4. $R^1 = \text{Cl}$ , $R^2 = \text{H}$

$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_6\text{Cl}$  (314,5 g/mol), cristaux jaune foncé.

$P_f = 215-217^\circ\text{C}$

Rendement = 50.74%

IR(KBr) = 3151.15  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{NH}$ ); 1553.15  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{NO}_2$ ); 1719.96  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{COOH}$ )  
et 1061.11  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{Cl}$ ).

### 5. $R^1 = R^2 = Cl$

$C_{11}H_{12}N_3O_6Cl_2$  (321g/mol), cristaux jaune citron.

$P_f = 223-225^\circ C$

Rendement = 86.36%

IR (KBr) =  $3229.76\text{ cm}^{-1}$ (NH);  $1553.88\text{ cm}^{-1}$ (NO<sub>2</sub>);  $1708.34\text{ cm}^{-1}$  (COOH) et  $1085.94\text{ cm}^{-1}$ (Cl).

### 6. $R^1 = CH_3, R^2 = H$

$C_{12}H_{15}N_3O_6$  (295g/mol), cristauxjaune.

$P_f = 216-218^\circ C$

Rendement= 69, 88%

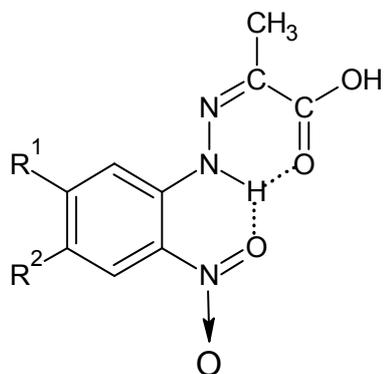
### 7. $R^1 = R^2 = H$

$C_{11}H_{14}N_3O_6$  (281g/mol), cristauxmarron.

$P_f = 169-171^\circ C$

Rendement= 62,84 %

## III.4. 2. Préparation des dérivés (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique



8.  $R^1 = Cl, R^2 = H$  ; 9.  $R^1 = R^2 = Cl$  ; 10.  $R^1 = R^2 = H$

Dans un erlenmeyer, on dissout 0,72 g des dérivés de 2-nitrophénylhydrazine dans l'éthanol, on ajoute 0,4 g de pyruvate de sodium et 2 mL d'acide chlorhydrique. On laisse sous agitation le mélange réactionnel jusqu'à formation d'un précipité de couleur jaune. Ensuite on filtre le produit obtenu sous vide et on le recristallise dans l'éthanol.

**8. R<sup>1</sup>= Cl, R<sup>2</sup>=H**

C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>Cl (257,5g/mol), cristaux jaune marron.

P<sub>f</sub>=223-225 °C

Rendement=78,5 %

IR (KBr) = 3311, 89 cm<sup>-1</sup> (NH); 1568, 69 cm<sup>-1</sup> (NO<sub>2</sub>); 1681, 94 cm<sup>-1</sup> (COOH) et 1065,51 cm<sup>-1</sup> (Cl).

**9. R<sup>1</sup>= R<sup>2</sup>=Cl**

C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>(264g/mol), cristaux jaune orange.

P<sub>f</sub> = 213-215°C

Rendement = 71,29 %

IR (KBr) = 3307, 63 cm<sup>-1</sup> (NH); 1565, 53 cm<sup>-1</sup> (NO<sub>2</sub>); 1682, 81 cm<sup>-1</sup> (COOH) ;  
1086.82 cm<sup>-1</sup> (Cl).

**10. R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup>= H**

C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>(224g/mol), cristaux marron.

P<sub>f</sub>=172-174 °C

Rendement=41, 3%

IR (KBr) = 3332, 85 cm<sup>-1</sup> (NH); 1503, 76 cm<sup>-1</sup> (NO<sub>2</sub>) et 1727, 28 cm<sup>-1</sup> (COOH).

**11. R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = H**

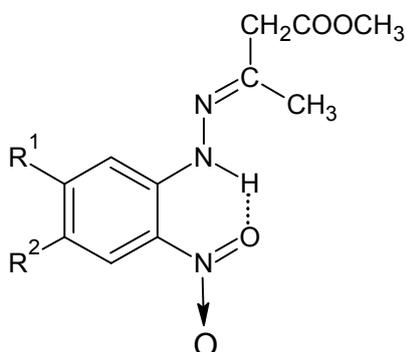
C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (238g/mol), cristaux jaunes.

P<sub>f</sub>= 227 °C

Rendement= 56.33%

IR (KBr) = 3318,56cm<sup>-1</sup> (NH); 1580,58 cm<sup>-1</sup> (NO<sub>2</sub>); 1676,61 cm<sup>-1</sup> (COOH) et  
1412,52 cm<sup>-1</sup> (CH<sub>3</sub>).

### III.4. 3. Préparation des dérivés de (E)-2-nitrophénylhydrazono butanoate de méthyle



12. R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H; 13. R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = Cl; 14. R<sup>1</sup> = CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = H

Dans un erlenmeyer, on dissout 0,8 g des dérivé de 2-nitrophénylhydrazine dans 30 mL de méthanol, on égoutte 0,51g de 3-oxobutanoate de méthyle dissous dans 10 mLde méthanol et on laisse le mélange réactionnel sous agitation jusqu'à formation d'un précipité de couleur orange. Ensuite on filtre le produit obtenu sous vide et on le recristallise dans le méthanol.

#### 12. R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H

C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (239g/mol), cristaux rouge brun.

P<sub>f</sub> = 62°C

Rendement = 69,35%

#### 13. R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = Cl

C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>(307g/mol), cristaux orange.

P<sub>f</sub> = 101-102 °C

Rendement = 63.23 %

IR (KBr) = 3320.98 cm<sup>-1</sup>(NH); 1560.66 cm<sup>-1</sup>(NO<sub>2</sub>); 1729.52 cm<sup>-1</sup> (CO) et1075.99cm<sup>-1</sup> (Cl).

**14. R<sup>1</sup> = CH<sub>3</sub>; R<sup>2</sup> = H**

C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (253 g/mol), Cristaux orange clair.

P<sub>f</sub> = 72-73 °C

Rendement = 60, 26%

IR (KBr) = 3326, 65 cm<sup>-1</sup> (NH); 1576, 10 cm<sup>-1</sup> (NO<sub>2</sub>); 1726, 84 cm<sup>-1</sup> (CO) et 1407, 73 cm<sup>-1</sup> (CH<sub>3</sub>).

**III. 5. Réduction des hydrazones****III. 5. 1. Réduction des hydrazones de l'acide pyruvique avec la poudre de fer dans****l'acide acétique**

Dans un erlenmeyer, on dissout 0,5g des dérivés (Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide pyruvique dans 30 ml d'acide acétique, on ajoute 2g de poudre de fer et on laisse le mélange réactionnel sous agitation jusqu'au changement de couleur vers le marron foncé ou le noir. On filtre l'excès de fer et le sel formé sous vide et on chasse le solvant dans l'évaporateur rotatif. Le produit restant dans le ballon est extrait avec de l'éther de pétrole.

**15. R<sup>1</sup> = Cl; R<sup>2</sup> = H**

Cristaux jaunes.

P<sub>f</sub> = 96 °C

Rendement = 13,55 %

IR = NH à 3307,63 et 3332,85 cm<sup>-1</sup> a disparu. Il en est de même pour les bandes (COOH) 1727,28 et 1676,61 cm<sup>-1</sup> qui n'apparaissent plus

**16. R<sup>1</sup> = CH<sub>3</sub>; R<sup>2</sup> = H**

Cristaux jaune marron.

P<sub>f</sub> = 130 °C

Rendement = 2,96 %

IR = NH à 3307,63 et 3332,85 cm<sup>-1</sup> a disparu. Il en est de même pour les bandes (COOH) 1727,28 et 1676,61 cm<sup>-1</sup> qui n'apparaissent plus.

### 17. $R^1=R^2=Cl$

Cristaux orange.

$P_f = 115\text{ }^\circ\text{C}$

Rendement = 10,75 %

IR=NH à 3307,63 et 3332,85  $\text{cm}^{-1}$  a disparu. Il en est de même pour les bandes (COOH) 1727,28 et 1676,61  $\text{cm}^{-1}$  qui n'apparaissent plus.

### 18. $R^1 = R^2 = H$

Cristaux marron foncé

$P_f = 101\text{ }^\circ\text{C}$

Rendement = 7,56 %

IR= NH à 3307,63 et 3332,85  $\text{cm}^{-1}$  a disparu. Il en est de même pour les bandes (COOH) 1727,28 et 1676,61  $\text{cm}^{-1}$  qui n'apparaissent plus.

## III. 5. 2. Réduction des hydrazones de l'acide 2-oxo glutamique

Dans un erlenmeyer, on dissout 0,5g des dérivés(Z)-2-nitrophénylhydrazone d'acide 2-oxoglutarique dans 30mL d'acide acétique, on ajoute 2g de poudre de fer et on laisse le mélange réactionnel sous agitation jusqu'au changement de couleur vers le marron foncé ou le noir. On filtre l'excès de fer et le sel formé sous vide et on chasse le solvant dans l'évaporateur rotatif. L'extraction du résidu restant dans le ballon avec de l'éther de pétrole n'a donné aucun produit solide.

## III. 5. 3. Réduction des dérivés (E)-2-nitrophénylhydrazono butanoate de méthyle

Dans un erlenmeyer, on dissout 0,5 g des dérivés (E)-2-nitrophénylhydrazono butanoate de méthyle dans 30mL d'acide acétique, on ajoute 2g de poudre de fer et on laisse le mélange réactionnel sous agitation jusqu'au changement de couleur vers le marron foncé ou le noir. On filtre l'excès de fer et le sel formé sous vide et on chasse le solvant dans l'évaporateur rotatif. L'extraction du résidu restant dans le ballon avec de l'éther de pétrole n'a donné aucun produit solide.

### **III.6. Activité antimicrobienne des hétérocycles synthétisés**

Les tests microbiens ont été faits dans le laboratoire d'hygiène de Blida (cité des orangers Zabana)

L'activité antimicrobienne des produits synthétisés a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé [16,17].

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

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester, les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Chaque produit à tester diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration.

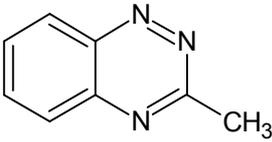
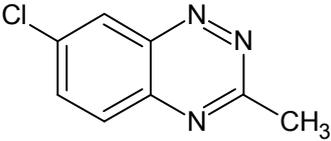
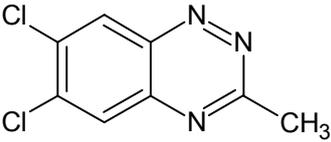
Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance, on observe ainsi autour des disques une zone circulaire échappée de colonies appelée zone d'inhibition.

#### **III. 6.1.Préparation des solutions**

On dissout 0,02 g de produit dans 1 mL de DMSO. On obtient une solution avec une concentration de 20 mg/ mL. On met la solution dans un tube à essai stérilisé. On refait ce travail avec les autres produits.

Les produits testés sont :

**Tableau III. 2 :** Structures et concentrations des produits testés

N°	structures	concentrations
1	 <chem>CN1=NC=NC2=CC=CC=C12</chem>	20 mg/mL
2	 <chem>CN1=NC=C(Cl)C2=CC=CC=C12</chem>	20 mg/mL
3	 <chem>CN1=NC(Cl)=C(Cl)C2=CC=CC=C12</chem>	20 mg/mL

### III. 6.2. Evaluation de l'activité antibactérienne des produits 1, 2 et 3

- Microorganismes :

Au cours de ce travail ont a utilisé trois souches bactériennes :

Gram-négatif : *Escherichia coli* et *Pseudomonas*.

Gram-positif : *Staphylococcus aureus*.

- Milieux de cultures :

*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas* : les trois bactéries sont cultivées sur un milieu Mueller-Hinton.

- L'ensemencement :

En premier lieu il faut chauffer le milieu de culture à 100 °C dans un bain marie, le laisser refroidir jusqu'à 50 °C, couler les boîtes de pétri à une épaisseur de 4 mm, les sécher pendant 30 minutes, ensuite déverser 2 à 6 mL de l'inoculation bactérienne d'une façon à recouvrir toute la surface gélosée, enfin sécher les boîtes ensemencées pendant 15 minutes.

- La distribution des disques :

Avec un distributeur de disques en respectant les précautions d'asepsie habituelles on place les disques stériles de 6 mm de diamètre en papier filtre imbibé dans les produits synthétisés à tester, de telle sorte que leurs centres soient distants d'au moins 24 mm du bord de la boîte de pétri, on appuie doucement sur chaque disque avec une pince stérile pour assurer un contact uniforme avec la surface de la gélose. On place les boîtes de pétri avec le côté gélose tourné vers le haut dans un incubateur à 35°C pendant 16 à 18 h.

### **III.6 .3 . Evaluation de l'activité antifongique des produits 1, 2 et 3**

- Micro-organismes

Deux souches fongiques sont utilisées :

Champignon non filamenteux *Candida albicans* (Levure).

Champignon filamenteux *Aspergillus flavus* (moisissure).

- Milieu de culture :

*Aspergillus et Candidas* : Les deux champignons sont cultivés sur un milieu gélose sabouraud+chloramphenicol

- Inoculation du milieu de culture et évaluation de l'activité antifongique :

Le milieu gélose sabouraud+chloramphenicol 20 mL est mis dans une chaque boîte de pétri. Après solidification, 2 mL de la solution physiologique contenant des spores de champignons sont ajoutés dans chaque boîte et répartis équitablement à la surface du milieu.

Les disques circulaires de 9 mm de diamètres en papier filtre et préalablement stérilisés, sont imbibés dans les produits et déposés à la surface du milieuensemencé.

Les disques imbibés de solvants utilisés ont été testés en même temps comme références. L'activité antifongique est évaluée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition se trouvant autour du disque et exprimée en millimètres.

## CONCLUSION

L'objectif de ce présent travail était d'obtenir de nouveaux hétérocycles azotés par cyclisation réductive à partir des dérivés de 2-nitrophénylhydrazono d'acides 2-oxocarboxyliques.

Ces hydrazones sont accessibles par condensation des acides 2-oxocarboxyliques avec les dérivés de 2-nitrophénylhydrazine.

Ces hydrazones peuvent exister sous deux configurations diastéréoisomères de la forme (E) et de la forme (Z).

Vu les conditions opératoires fortement acides, les 2-nitrophénylhydrazones d'acides 2-oxoglutarique et pyruvique ont été obtenus seulement les isomères (Z).

En revanche le 2-nitrophénylhydrazono butanoate de méthyle a été obtenu sous sa forme (E), vu que les conditions opératoires ont eu lieu en milieu neutre.

La réduction des dérivés des hydrazones de l'acide pyruvique par la poudre de fer dans l'acide acétique a donné de nouveaux dérivés de 1,2,4-benzotriazine.

La réduction des dérivés des hydrazones de l'acide 2-oxoglutarique par la poudre de fer dans l'acide acétique n'a donné aucun produit solide.

La réduction des dérivés de 2-nitrophénylhydrazono butanoate de méthyle aussi par la poudre de fer dans l'acide acétique n'a donné aucun produit solide.

Les tests des produits obtenus sur les bactéries (*Escherichia Coli*, *staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*) et les champignons (*candidat*, *Aspergillus*) ont montré une activité anti bactérienne ainsi qu'antifongique.

Un travail ultérieur doit être mené afin de caractériser complètement, par la résonance magnétique du proton  $^1\text{H}$  et du carbone  $^{13}\text{C}$ , de la spectrométrie de masse et de l'analyse élémentaire, les nouveaux dérivés de 1,2,4-benzotriazine.

De nouveaux hétérocycles azotés pourraient être obtenus à partir de ces hydrazones synthétisés en procédant par d'autres moyens de réduction et en variant les conditions opératoires.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] H. Berrie, G. T. Newbold, F. S. Spring, *J. Chem. Soc.* (1952), 2042
- [2] J. R. Sampey, E. E. Reid, *J. Am. Chem. Soc.* 69, 712 (1947)
- [3] Doxsee, K.M., Figel, M., Stewart K.D., Canary, J.W., Knobler, C.B., Cram, D.J., and Am, *J., Chem. Soc.*, 109, (1987) 3098
- [4] G. Just, Z. Y. Wang, L. Chan, *J. Org. Chem.*, (1988), 53, 1030
- [5] B. Kohne, K. Praefcke, *Liebigs Ann. Chem.* (1987), 265
- [6] He, F., Bo, Y., Altom, J.D., and Corey, E.J., *J. Am. Chem. Soc.*, 121, (1999), 6771
- [7] Abireimov, K. B., Mukhamedov, N. S., Aiymbetov, M. Zh., and Shakhidoyatov, Kh. M., *Chemistry of heterocyclic Compounds*, 46, (2010), 941
- [8] Fang Sun, Xian Feng, Xuan Zhao, Zhi-Bin Huang, Da-Qing Shi Key Laboratory of Organic Synthesis of Jiangsu Province, Suzhou 215123, PR China
- [9] S. M. Ulbag, M. D. Nair, P. Rajagopalan' and C. N. Talaty Ciba Research Caare, Goqaon East, Bombay 63, India 1967. Vol. 2.3. Page 1911 - 1914
- [10] Kentaro Okuma, Jun-ichi Seto, Noriyoshi Nagahora, and Kosei Shioji [11] Bunce, R.A., Herron, D.M., and Ackerman, M.L. *J. Org. Chem.*, 65, (2000), 2847
- [12] Ahmed Kamal, B.S. Nararyan Reddy, B.S. Praveen Reddy, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Volume 7, Issue 14, 22 July 1997, Pages 1825-1828
- [13] Weihui Zhong, Yongmin Zhang, Xiaoyuan Chen, *Tetrahedron Letters*, Volume 42, Issue 1, 1 January 2001, Pages 73-75
- [14] Mohamed Khodja, Saad Moulay, Hocine Boutoumi and Horst Wilde, *Heteroatom Chemistry*, Volume 17, N° 2, 2006
- [15] Ouahiba et al, *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.*, Vol 4, P 114-128 (2010)
- [16] Celiktas, O.Y., Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., Baser, K.H.C. 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.*, 100: 553-559
- [17] Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem.*, 91: 621-632.