

MA-540-108-1

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université BLIDA 1

Faculté des Sciences

Département de Chimie



Mémoire présenté par

BENZITOUNI Amina

En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie des Substances Naturelles

Titre

**Synthèse de la bis (benzylidene) cyclohexanone  
et de leurs dérivés. Détermination de  
l'activité biologique.**

Soutenu publiquement le 29 septembre 2015 devant le jury composé de :

A. Badis	Pr	Président	Université de Blida 1
M. Touafek	MCB	Examinatrice	Université de Blida 1
S. Kasmi	MCA	Promotrice	Université de Blida 1

Promotion 2014-2015

MA-540-108-1

## **Résumé**

Les dérivés de la bis(benzylidène)cyclohexanone sont des molécules possédant de nombreuses propriétés biologiques et propriétés pharmacologique. Leur utilisation est très prometteuse dans les différents domaines tels que l'agroalimentaire, cosmétique (crème solaire) et pharmaceutiques.

La dibenzylidénecyclohexanone(DBC) et leur dérivés sont obtenus par condensation de Claisen-Schmidt entre la cyclohexanone et aldéhydes aromatiques catalysée par du NaOH solide ou NaOEt. Tous les produits synthétisés ont été caractérisés par les différentes méthodes spectroscopiques tels que : IRTF, RMN<sup>1</sup>H.

Une étude biologique a été réalisée sur le dibenzylidénecyclohexanone ainsi que sur ses dérivés vis-à-vis de quelques bactéries : *Escherichia coli* (Gram<sup>-</sup>), *p.aeruginosa* (Gram<sup>-</sup>), *Staphylococcus aureus* (Gram<sup>+</sup>), *Bacillus subtilis* (Gram<sup>+</sup>) pour l'activité antibactérienne, et *Candida albicans* pour l'activité antifongique. Ces tests ont été effectués au niveau de l'unité de bactériologie clinique de laboratoire centrale de l'Etablissement Public Hospitalier de Blida et laboratoire d'hygiène de Blida.

Les résultats obtenus dans cette étude ont révélé que les produits synthétisés présentaient des activités antibactériennes et antifongiques.

**Mots clés** : Dibenzylidénecyclohexane, RMN, tests biologiques , Claisen-Schmidt

## *Abstract*

Derivatives of bis (benzylidene) cyclohexanone are molecules with many biological properties and pharmacological properties. Their use is very promising in various fields such as food, cosmetics (sunscreen) and pharmaceuticals.

The dibenzylidénecyclohexanone (DBC) and their derivatives are obtained by Claisen-Schmidt condensation between cyclohexanone and aromatic aldehydes catalyzed by solid NaOH or NaOEt. All synthesized products were characterized by various spectroscopic methods such as FTIR, <sup>1</sup>H-NMR.

A biological study was carried out on the dibenzylidénecyclohexanone well as derivatives thereof vis-a-vis some bacteria: *Escherichia coli* (Gram-), *P. aeruginosa* (gram), *Staphylococcus aureus* (Gram +), *Bacillus subtilis* (Gram +) for Antibacterial activity and *Candida albicans* to antifungal activity. These tests were conducted at the Clinical Bacteriology Unit of Hospital Central Laboratory of the Public Establishment of Blida and hygiene laboratory Blida.

The results obtained in this study revealed that the synthesized products showed antibacterial and antifungal activities.

Keywords: Dibenzylidénecyclohexane, NMR, biological tests, Claisen-Schmidt

## *Remerciements*

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre gratitude et nos remerciements pour toutes les personnes qui ont contribué à sa réalisation.

Les travaux de recherche présentés dans ce mémoire ont été réalisés au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles du département de chimie de la faculté des sciences de l'Université BLIDA 1, sous la direction de Mme KASMI.S. Je tiens à la remercier pour son encadrement, ses conseils, ses commentaires et sa bienveillance. Qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude pour m'avoir guidée et aidée tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Ce mémoire est le résultat d'un travail de recherche de près deux ans. En préambule, je veux adresser tous mes remerciements aux personnes avec les quelles j'ai pu échanger et qui m'ont aidé pour la rédaction de ce mémoire.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur le Pr. M.El Hattab qui a accepté de présider le jury de ce travail.

Mes remerciements vont également à Madame la Dr. Z.Chemat qui m'a fait l'honneur de juger ce travail en tant que examinatrice.

Nous présentons nos sincères remerciements à tous nos enseignants et toute l'équipe pédagogique du master option « Chimie des Substances Naturelles ».

Nous remercions également le Pr. M.El Hattab, initiateur du projet master, Madame la Pr. Y.Daghbouche, Monsieur le Pr. A.Badis, Madame la Dr.Touafek, madame la Dr Z.Chemat, Madame la Dr. bouzidi pour tout soutien et conseils pendant ces deux années.

A la fin nous tenons à remercier tous nos collègues d'étude, particulièrement notre promotion.

*Merci à tous*

## *Dédicaces*

*Avec une immense joie, Je dédis ce mémoire à mes chers et respectueux parents*

*Ma mère et Mon père*

*Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements*

*A mes frères*

*«Moudjib, mahdi»*

*A ma belle sœur « hadjer »*

*A mes amies et mes camarades de classe*

*En témoignage de ma sincère amitié, veuillez trouver dans ce travail, mon profond hommage.*

*A tous ceux qui m'ont aidé dans l'élaboration de ce travail.*

*A tous ma famille et toutes les personnes que j'aime*

*Pour le soutien moral qu'ils m'ont apporté.*

*Avec toute mon affection et ma reconnaissance*

## *Liste des Abréviations et symboles*

$\text{Al}_2\text{O}_3$  : L'alumine ou oxyde d'aluminium

C : Concentration

CCM : chromatographie sur couche mince

$\text{CH}_2\text{Cl}_2$  : Dichlorométhane

DBC: Dibenzylidenecyclohexanone

DCBC: di(2-carboxybenzylidene)cyclohexanone

DHBC: di(2-hydroxybenzylidene)cyclohexanone

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

DMSO : Diméthylsulfoxyde

d : Doublet

EtOH : Ethanol

g : gramme

HIV : virus de l'immunodéficience humaine

IR : Infrarouge

KBr : Bromure de potassium

M : Mole par millilitre

m: Multiplet

min : Minute

mg/ml : Milligramme par millilitre

ml : Millilitre

mmole : Millimole

MeOH : méthanol

NaOH : Hydroxyde de sodium

pH : Potentiel d'hydrogène

ppm : partie par million

Rdt : Rendement

$R_f$  : Rapport frontal

RMN: Résonance magnétique nucléaire

t.a : température ambiante

s : Singulet

t : Triplet

$T_f$  : Température de fusion

UV-Vis : Ultra-violet visible

V : Volume

$\Lambda$  : Conductivité équivalente molaire ( $S.cm^2.mole^{-1}$ )

$\sigma$  : Conductivité spécifique ( $S.cm^{-1}$ )

°C : Degrés Celsius

$\mu l$  : Microlitre

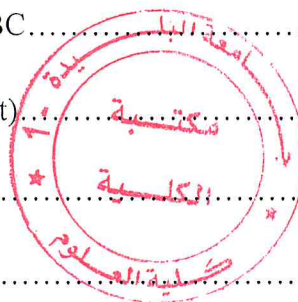
$\mu M$ : micromole par millilitre

$\nu$  : Nombre d'onde exprimé en  $cm^{-1}$

$\lambda$  : Longueur d'onde exprimé en nm

## Liste des figures

Figure 01 : La dibenzylidène cyclohexanone.....	02
Figure 02 : Simulation des spectres RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C par le logiciel Chem Draw de la DBC..	08
Figure 03 : Les analogue synthétiques de la DBC.....	09
Figure 04 : les dérivés du DBC(des médicament).....	10
Figure 05 : spectre IR du DBC.....	19
Figure 06 : spectre IR du DCBC.....	22
Figure 07: spectre IR du DHBC.....	25
Figure 08 : Chromatogramme de DBC.....	28
Figure 09 : Chromatogramme de DCBC.....	29
Figure 10 : Chromatogramme de DHBC.....	29
Figure 11 : spectre RMN <sup>1</sup> H du DBC.....	30
Figure 12 : Simulation de spectre RMN <sup>1</sup> H par le Chem Draw de la DBC.....	31
Figure 13 : Simulation de spectre RMN <sup>1</sup> H par le Chem Draw de la DCBC.....	32
Figure 14 : Simulation de spectre RMN <sup>1</sup> H par le Chem Draw de la DHBC.....	33
Figure 15 : Gélose fusionne dans des biotes de pétri.....	35
Figure 16 : Ensemencement de la suspension bactérienne sur les milieux gélosés.....	36
Figure 17 : Dépôt des disques sur le milieu gélosé.....	37
Figure 18 : Aromatogramme de P.arruginosa avec les produits A, B,C.....	39
Figure 19: Aromatogramme de S.aureus avec les produits A,A <sup>-</sup> et C,C <sup>-</sup> .....	39
Figure 20 : Aromatogramme d'E.coli avec les produits A(DHBC),C(DCBC).....	39
Figure 21 : Aromatogramme deB.subtilis avec les produits A, B,C.....	40





<b>Figure 22</b> : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de DBC relatif aux différentes souches bactériennes.....	40
<b>Figure 23</b> : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de DCBC relatif aux différentes souches bactériennes.....	41
<b>Figure 24</b> : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de DHBC relatif aux différentes souches bactériennes.....	41
<b>Figure 25</b> : Aromatogramme de Candida Albicans avec les produits A, B,C .....	44
<b>Figure 26</b> : Histogramme représentant l'étude comparative de l'activité antifongique des trois produits A.B.C avec Candida Albicans . .....	45

## *Liste des schémas*

<b>Schéma 01</b> : synthèse de la 2,6-bis(benzylidène)cyclohexanone.....	05
<b>Schéma 02</b> : synthèse de 3,5-bis(pyridinylméthylène) pipéridine-4-one.....	12
<b>Schéma 03</b> : Voies de synthèse des composés 2-5.....	14
<b>Schéma 04</b> : Synthèse de DiBenzylidèneCyclohexanone (DBC).....	18
<b>Schéma 05</b> : Mécanisme réactionnel de la préparation de DBC.....	19
<b>Schéma 06</b> : Synthèse de 2,6-Di (2-carboxybenzylidène)cyclohexanone.....	20
<b>Schéma 07</b> : Mécanisme réactionnel de la préparation de DCBC.....	21
<b>Schéma 08</b> : Synthèse de (2E ,6E)-bis(2-Hydroxybenzylidène)cyclohexanone.....	23
<b>schéma 09</b> : Mécanisme réactionnel de la préparation de DHBC.....	24

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01</b> : Résultats expérimentaux des composés.....	26
<b>Tableau 02</b> : les résultats de solubilité.....	27
<b>Tableau 03</b> : Les résultats de la chromatographie sur couche mince de DBC.....	28
<b>Tableau 04</b> : Les résultats de la chromatographie sur couche mince de DCBC.....	28
<b>Tableau 05</b> : Les résultats de la chromatographie sur couche mince de DHBC.....	29
<b>Tableau 06</b> : Provenance des germes étudiés .....	35
<b>Tableau 07</b> : Les valeurs de diamètre des zones d'inhibition (mm) des produits aux souches bactériennes testées.....	38
<b>Tableau 08</b> : Les valeurs de diamètre des zones d'inhibition des produits aux levures.....	44

# SOMMAIRE

I. 1 RAPPEL SUR La BIS(BENZYLIDENE)CYCLOHEXANONE.....	02
I. 1.1 Introduction.....	02
I. 1.2 propriétés biologiques .....	02
a. Activités antioxydants .....	02
b. Activités anti-inflammatoires.....	03
c. Anti-cancérigène et inhibiteur HIV.....	03
I. 1.3 Propriétés pharmacologiques.....	04
I. 1.4 Synthèse des molécules de type arylethylidenyl-2,6cyclohexanone.....	04
I. 1.5 techniques de purification des produits de synthèses.....	06
I. 1.5.1 La recristallisation .....	06
I. 1.5.2 La chromatographie sur colonne<FLASH>.....	06
I. 1.5.3 HPLC CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUT PERFORMANCE EN PHASE INVERS.....	06
I. 1.6 Caractérisation structurale.....	07
I. 1.6.1 Caractérisation par spectrophotométrie UV-Visible.....	07
I. 1.6.2 Mesure du point de fusion.....	07
I. 1.6.3Caractérisation par résonance magnétique nucléaire (RMN).....	07
I. 2 Les dérivés synthétiques de la bis(benzylidène)cyclohexanone.....	09
I. 3 Travaux décrits dans la littérature.....	11
I. 3.1 Synthèse des dérivés de la bis (benzylidène)cyclohexanone par la réaction de condensation Claisen-Schmidt.....	11
• Caractérisation.....	11
• Conclusion.....	12
I. 3.2 Synthèse de 3,5-bis (pyridinylméthylène) pipéridin-4-ones.....	12
• Activité biologique.....	13
I. 3.3 Synthèse de thiopyrimidine et thiazolopyrimidine.....	13
• Principe.....	13
• Activité biologique.....	15

## Partie II : Partie expérimentale

II. 1 Réactifs utilisés .....	16
II. 2 Techniques de caractérisation .....	16
II.2.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM) .....	16
II. 2.2. Caractérisation par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) .....	16
II. 2.3. spectrophotométrie d'infrarouge(IR).....	17
II. 2. 4. Températures de fusion.....	17
II. 2. 5. Spectrophotométrie d'ultraviolet-visible (UV-vis).....	17
II. 3.Synthèse et caractérisation de bis(benzylidène)cyclohexanone et leurs dérivés.....	18
II.3.1. Synthèse de DiBenzylidèneCyclohexanone(DBC) .....	18
II.3.1.1. Mode opératoire .....	18
II.3.2. Synthèse de 2 ,6-bis(2-carboxybenzylidène)cyclohexanone.....	20
II.3.2.1. mode opératoire .....	20
II.3.2.2. Mécanisme réactionnel .....	21
II.3.3. Synthèse de (2E ,6E)-bis (2-hydroxybenzylidène)cyclohexanone.....	23
II.3.3.1. mode opératoire.....	23
II.3.3.2. Mécanisme réactionnel.....	24
II. 4. Les propriétés physiques des produits.....	26
II.4.1. Teste de solubilité.....	27
II. 5. Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM).....	27
II. 5.1. Analyse par chromatographie sur couche mince de DBC.....	28
II. 5.2. Analyse par chromatographie sur couche mince de DCBC.....	28
II. 5.3. Analyse par chromatographie sur couche mince de DHBC.....	29
II. 6. Analyse par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire(RMN).....	30
II.6.1. spectre RMN <sup>1</sup> H du DBC.....	30
II.6.2. L'étude par RMN <sup>1</sup> H.....	31
1-DBC.....	31
2-DCBC.....	32
3-DHBC.....	33

### Partie III : activités biologique

III. Etude des activités biologiques.....	34
III.1. Introduction.....	34
III. 2. L'étude du pouvoir antibactérien.....	34
III. 3. Principe.....	34
III. 4. Provenance des germes étudiés.....	35
III. 5. Protocole expérimental.....	35
1. Préparation des milieux de culture .....	35
2. Préparation des pré- cultures .....	36
3. Ensemencement.....	36
4. Dépôt des disques ... ..	37
5. La lecture .....	37
III.6. Résultats et discussion.....	38
III.7 .Activité antifongique .....	44
Conclusion générale .....	46

# *Introduction générale*

Aujourd'hui, plus que jamais, les scientifiques font beaucoup de recherche sur les molécules biologiquement actives qui occupent une place importantes dans la vie puisqu'elles sont à la base de nombreux principes actifs utilisés dans plusieurs domaines : pharmaceutiques, thérapeutiques, cosmétiques ect.....

Ces molécules forment un groupe très vaste de substances à différente structures. Parmi elles, on peut trouver des grandes familles de composés comme les alcaloïdes et les terpènes. Avec un isolement moderne et des techniques de séparation et l'application de méthodes spectroscopiques pour la détermination structurale, le nombre de ces composés connus a grandi considérablement. Ces molécules peuvent être d'origine naturelle, semi synthétique ou totalement synthétique.

L'objectif de la chimie médicinale réside dans la découverte de structures nouvelles ayant des activités biologiques. Nous nous sommes intéressés alors à la synthèse du bis (benzylidène) cyclohexanone et leur dérivé, qui est une molécule présentant un très grand nombre de propriétés pharmacologique. Elle est notamment considérer comme une substance anti-inflammatoire, antioxydant et anti-tumorale. Leur utilisation est très prometteuse dans les différents domaines tels que cosmétique (crème solaire) et pharmaceutiques.

Donc Notre objectif est de synthétiser et caractériser la dibenzylidenecyclohexanone et leurs analogues.

Nous comparerons par la suite les propriétés antibactériennes, antifongique et antioxydant.

Ce mémoire est structuré en trois parties :

- partie I : synthèse bibliographique
- partie II : Partie expérimentale
- partie III : Etudes des activités biologiques
- Conclusion.



*Partie*  
*bibliographique*

## I. 1. RAPPEL SUR La BIS(BENZYLIDENE)CYCLOHEXANONE :

### I. 1.1 Introduction :

La bis (benzylidène)cyclohexanone une molécule structurellement simple qui va nous permettre de développer la réaction d'aldolisation croisée à partir de la cyclohexanone et du benzaldéhyde, et dont les dérivés peuvent trouver des applications en catalyse, dans le domaine médical et en chimie organique.

La molécule dibenzylidène cyclohexanone est symétrique et composée d'une cétone, de deux doubles liaisons C=C et de deux noyaux benzéniques (Figure 1).

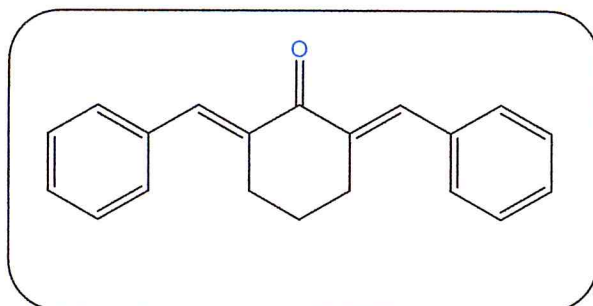


Figure 1 : La dibenzylidène cyclohexanone.

### I. 1.2 propriétés biologiques :

#### a. Activités antioxydants :

La bis(benzylidène)cyclohexanone a été testée dans différents modèles de peroxydation des lipides membranaires. Elle inhibe la lipoperoxydation dans des hépatocytes de rat traités au paracétamol et dans des microsomes de rats ayant subi un stress oxydatif généré par radiation gamma ou un excès d'ions de  $Fe^{+2}$ . L'inhibition de la lipoperoxydation par la bis(benzylidène)cyclohexanone pourrait être due en partie à capacité à maintenir l'activité des enzymes anti-oxydants.

Les bis(benzylidène)cyclohexanone sont classés comme bio protecteurs. Ils agissent à deux niveaux sur les radicaux libres : sur la phase d'initiation en piégeant les amorceurs radicalaires et sur la phase de propagation des réactions radicalaires en offrant d'autres possibilités de réactions aux intermédiaires radicalaires [1].

#### **b. Activités anti-inflammatoires :**

En médecine traditionnelle, la bis(benzylidène)cyclohexanone peut être utilisée pour le traitement des otites chroniques, contre des manifestations allergiques [2], des manifestations inflammatoires [3], ou encore en tant que cicatrisant. Le sel de sodium de la curcumine est encore plus efficace comme anti-inflammatoire [4].

La bis(benzylidène)cyclohexanone provoque l'inhibition de la migration et de la prolifération des cellules pro-inflammatoires [5] et inhibe la lipoxgénase et la cyclooxygénase, deux enzymes impliquées dans la dégradation de l'acide arachidonique en médiateurs de l'inflammation tels les leucotriènes et les prostaglandines. Elle empêche l'activation des macrophages et donc le relargage de substances cytotoxiques ou de médiateurs de l'inflammation tels  $O^2$ .

#### **c. Anti-cancérigène et inhibiteur HIV :**

La bis(benzylidène)cyclohexanone semblerait assurer une activité chimio-protectrice vis-à-vis du cancer, particulièrement celui du colon. Elle doit cependant être administrée à une concentration élevée pour la réduction des tumeurs, plusieurs centaines de mg par kg de masse corporelle [6].

Plusieurs autres activités pharmacologiques ont été décrites :

- Inhibition des protéases des virus HIV-1 et HIV-2 -[7]
- Inhibition de l'oxyde d'azote (NO) pour le traitement du syndrome d'Oketsu : syndrome de stagnation du sang avec détérioration des molécules d'hémoglobine souvent accompagné de désordres cérébro-vasculaires [8]. Récemment, la bis(benzylidène)cyclohexanone apparaît aussi comme un traitement prometteur pour lutter contre la mucoviscidose ou encore la maladie d'Alzheimer [9].

### **I. 1.3 Propriétés pharmacologiques :**

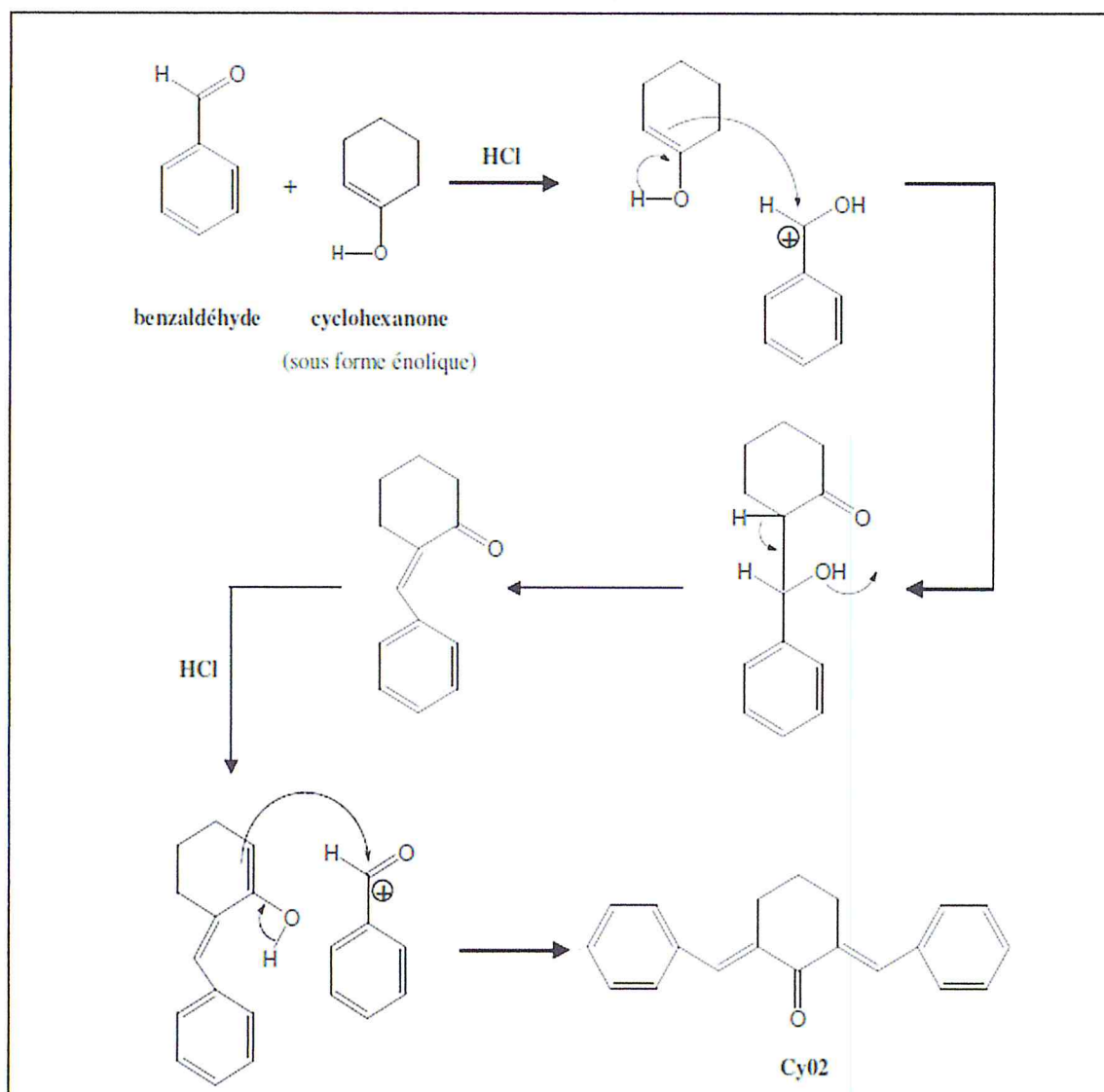
Puisque la bis(benzylidène)cyclohexanone est la molécule la plus active entre les différents dérivés, ses propriétés permettent d'entrevoir des pistes de développement de nouvelles thérapies.

La bis(benzylidène)cyclohexanone démontre des activités anti-inflammatoires directes.[10-11] Comme c'est un agent anticancéreux important. [12]La bis(benzylidène)cyclohexanone améliore les lésions hépatiques aiguës et subaiguës. [13]

### **I. 1.4 Synthèse des molécules de type aryéthylidényl-2,6cyclohexanone :**

La synthèse de la cyclovalone (2,6-bis(4-hydroxy-3-méthoxybenzylidényl ) cyclohexanone) et les autres dérivés de ce type s'effectue suivant le même protocole. Comme pour la synthèse des dérivés  $\beta$ -dicétoniques. La seule variante est le choix de l'arylaldéhyde.

Le protocole général de synthèse est le suivant : l'arylaldéhyde (0.061 mol) et la cyclohexanone (3.16 ml ) sont solubilisés dans le minimum d'éthanol absolu puis refroidi dans un bain glace . Après passage d'un courant d'acide chlorhydrique gazeux dans la solution. Un précipité se forme au bout d'un quart d'heure. Il est filtré et recristallisé dans l'éthanol absolu. Le produit est alors obtenu avec un rendement d'environ 90%. [14]



**Schéma 1 :** Synthèse de la 2,6-bis(benzylidène)cyclohexanone. [15]

Les composés synthétisés sont généralement contaminés. En faibles quantités, par les Réactifs utilisés ou des produits secondaire.après la synthèse organique, les produits sont donc purifiés et leur état de pureté est vérifié grâce à divers technique analytique.

## **I. 1.5 techniques de purification des produits de synthèses :**

### **I. 1.5.1 La recristallisation :**

Cette technique permet de séparer plusieurs solides grâce à leur différence de solubilité à chaud et à froid dans un solvant ou un éluant (mélange de solvant).

La recristallisation de dérivés  $\beta$ -cétonique a été réalisée dans un mélange d'acétate d'éthyle/méthanol. Alors que celle des dérivés de type aryléthylidényl-2,6-cyclohexane a été réalisée dans l'éthanol absolu.

### **I. 1.5.2 La chromatographie sur colonne<FLASH> :**

Cette technique permet de séparer les constituants d'un mélange en fonction de leurs propriétés intrinsèques (taille, structure), de leur affinité avec une phase stationnaire (billes de silice de 60  $\mu$ m de diamètre, Amicon) et de leur solubilité dans une phase mobile. À la sortie de la colonne, les différents produits sont recueillis dans des fractions distinctes.

### **I. 1.5.3 HPLC CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUT PERFORMANCE EN PHASE INVERS :**

Le principe de la HPLC est identique à celui de la chromatographie sur colonne mais cette technique est plus rapide et nécessite moins d'échantillons. La phase stationnaire est constituée de billes de silice sur lesquelles sont greffées des chaînes aliphatiques à plusieurs atomes de carbone.

L'échantillon est injecté dans une colonne Symmetry C8 contenant les billes de silice, par application d'une haute pression à une des extrémités de la colonne, le passage du solvant/éluant est accéléré et les différents produits sont entraînés. Lorsqu'ils sortent de la colonne, ils sont quantifiés par mesure de leur absorption en UV.

## **I. 1.6 Caractérisation structurale :**

### **I. 1.6.1 Caractérisation par spectrophotométrie UV-Visible :**

Le spectre UV-visible d'une solution de bis(benzylidène) cyclohexanone dans l'alcool éthylique montre une absorption forte de 320 à 500 nm. En présence de base, cette bande est déplacée jusqu'à 640 nm [16]. Dans le méthanol, le coefficient d'absorption molaire ( $\epsilon$ ) est égal à 4,8.104 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup> pour  $\lambda_{\max} = 428$  nm.

Les variations de  $\lambda_{\max}$  et de  $\epsilon$  sont dues à l'aptitude de la curcumine à former des liaisons hydrogène inter- ou intramoléculaires, en fonction du solvant [17].

### **I. 1.6.2 Mesure du point de fusion :**

Le point de fusion correspond à la température minimale nécessaire pour provoquer la fusion d'un produit. Cette température est caractéristique d'une substance. Deux appareils ont été utilisés pour déterminer le point de fusion : un appareil à capillaire (le solide est placé dans un capillaire chauffé par une résistance électrique) et un banc Kofler. Ce dernier est constitué d'une lame de métal chauffée à une extrémité afin de générer un banc à gradient de température. Le solide est déposé sur la lame et déplacé vers l'extrémité chauffée jusqu'à ce qu'il fonde.

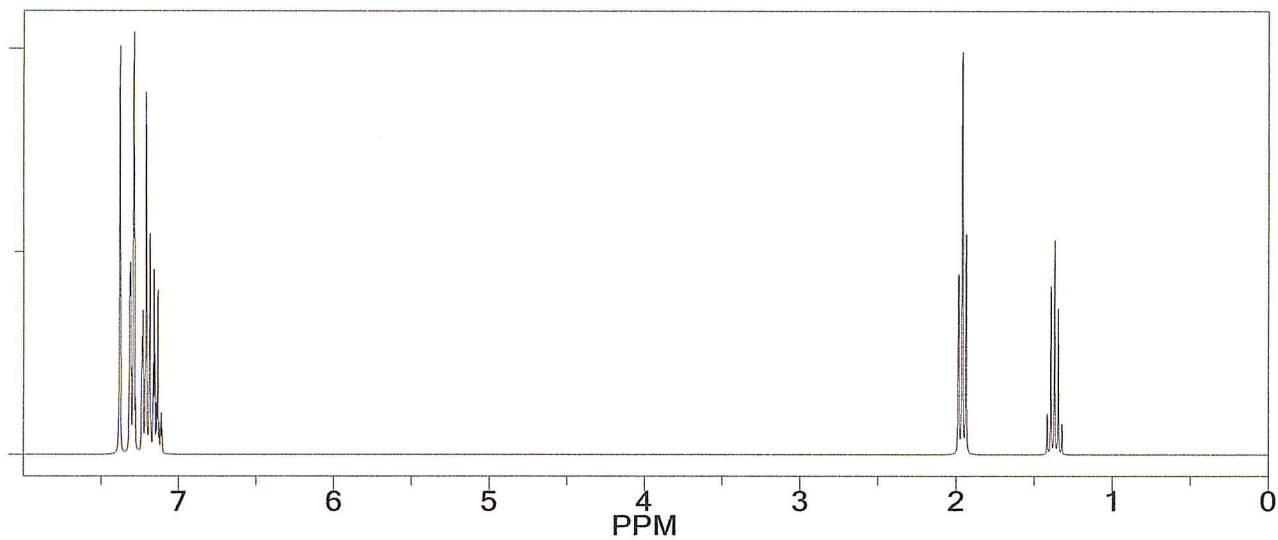
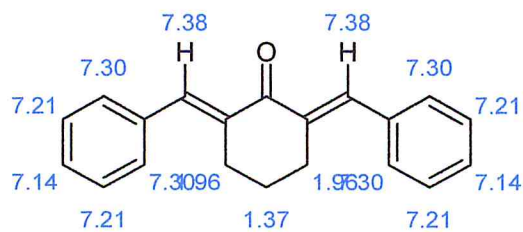
### **I. 1.6.3 Caractérisation par résonance magnétique nucléaire (RMN) :**

Cette technique est basée sur les propriétés que les atomes d'hydrogène acquièrent lorsqu'ils sont placés dans un champ magnétique. Les signaux (spectre RMN<sup>1</sup>H) permettent d'identifier l'environnement de l'atome d'hydrogène. C'est-à-dire la structure chimique de la molécule. Pour réaliser les spectres, les molécules ont été solubilisées dans le chloroforme. Les spectres RMN<sup>1</sup>H ont été réalisés avec un appareil BRUKER AC 200 ou 250.

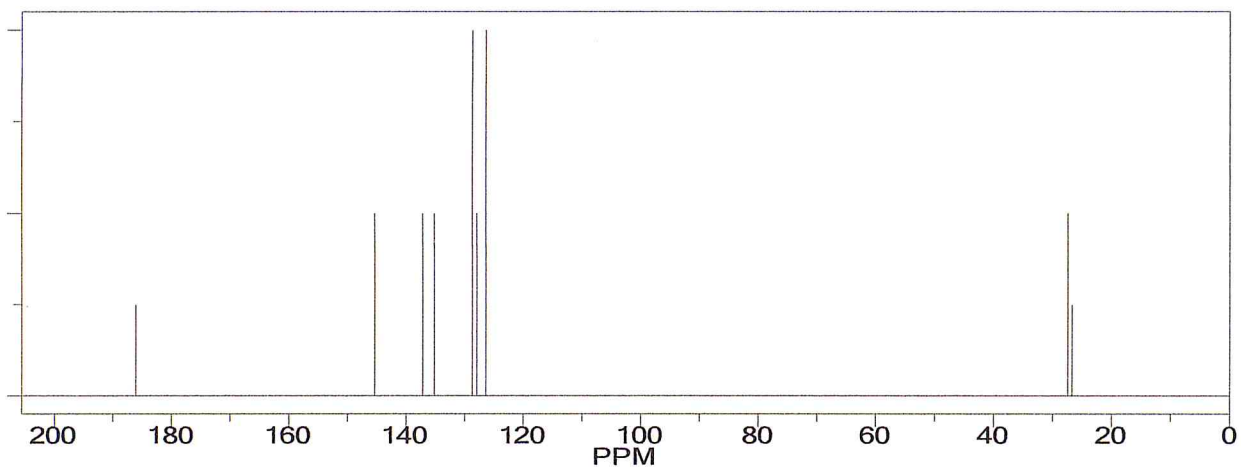
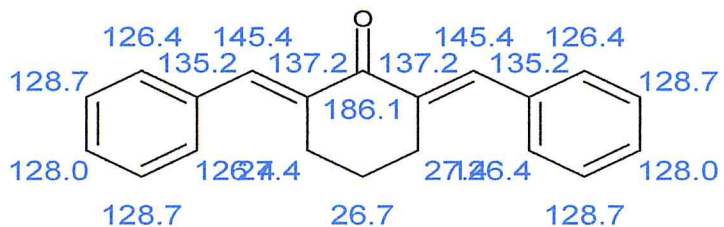
Les valeurs des constantes de couplage ( $J_{ab}$  et  $J_{fg}$ ) sont caractéristiques de doubles liaisons "trans" :  $J = 13-15$  Hz dans CDCl<sub>3</sub> [18] et  $J = 16$  Hz dans CD<sub>3</sub>OD [19].

La figure 2 montre les spectres théoriques du proton et du carbone 13 de la bis(benzylidène) cyclohexanone réalisés à l'aide du logiciel « ChemDraw ».

### RMN<sup>1</sup>H



### RMN<sup>13</sup>C

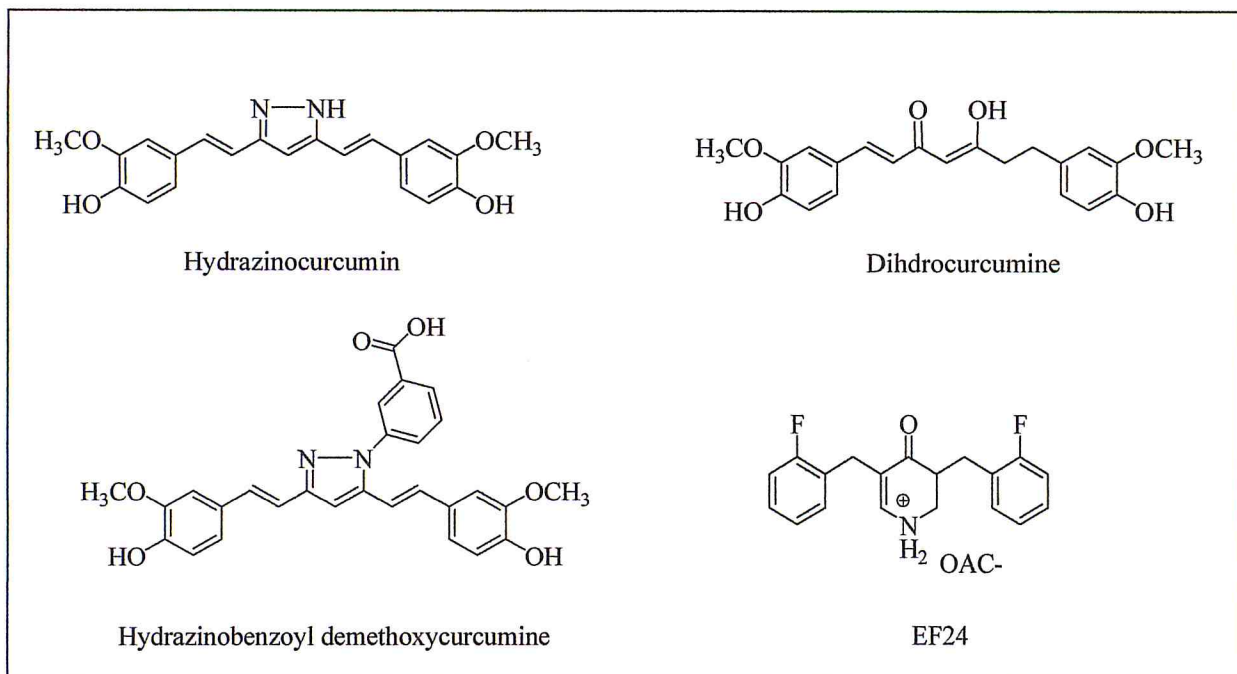


**Figure 2** : Simulation des spectres RMN<sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C par le Chem Draw de la DBC.



## I. 2. Les dérivés synthétiques de la bis(benzylidène)cyclohexanone :

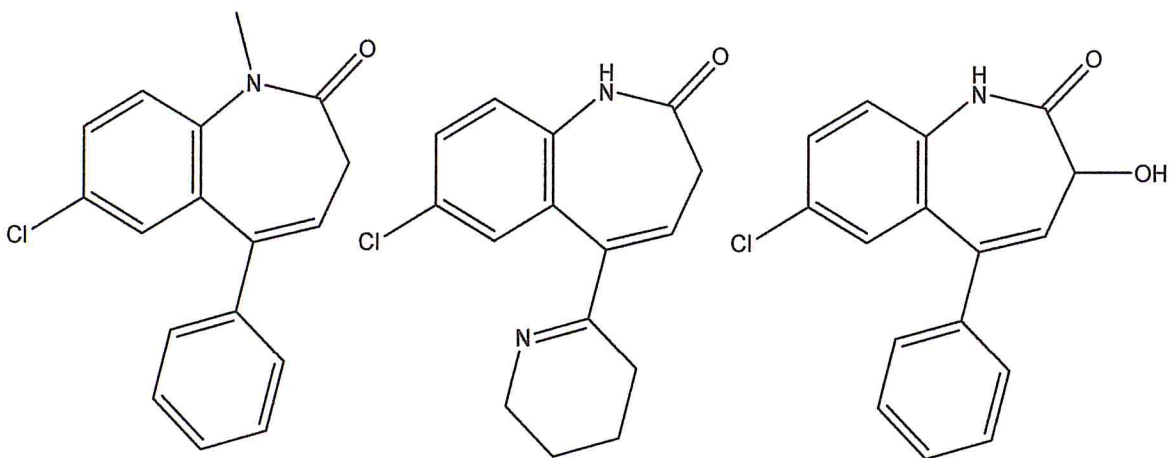
A côté de la bis(benzylidène)cyclohexanone plusieurs dérivés ont été synthétisés et testés. La tétrahydrodibenzylidène cyclohexanone une substance antioxydante, qui est une dérivée de la bis(benzylidène)cyclohexanone par hydrogénation, possède un effet protecteur sur le stress oxydatif chez les lapins recevant un régime riche en cholestérol.



**Figure 3 :** Les analogues synthétiques de la DBC.

Les réactions faisant intervenir les dérivés de l'acétone dibenzylidène sont nombreuses. Nous pouvons cependant citer un exemple récent :

La synthèse d'azocinone par réaction domino : une cycloaddition [2+2] suivie d'un réarrangement de Cope [20], Ces dérivés présentent une certaine ressemblance avec les benzodiazépines, utilisées en traitement de certaines maladies du système nerveux central [21] (Figure 4).



Diazépam (VALIUM®)

Bromazépam (LEXOMIL®)

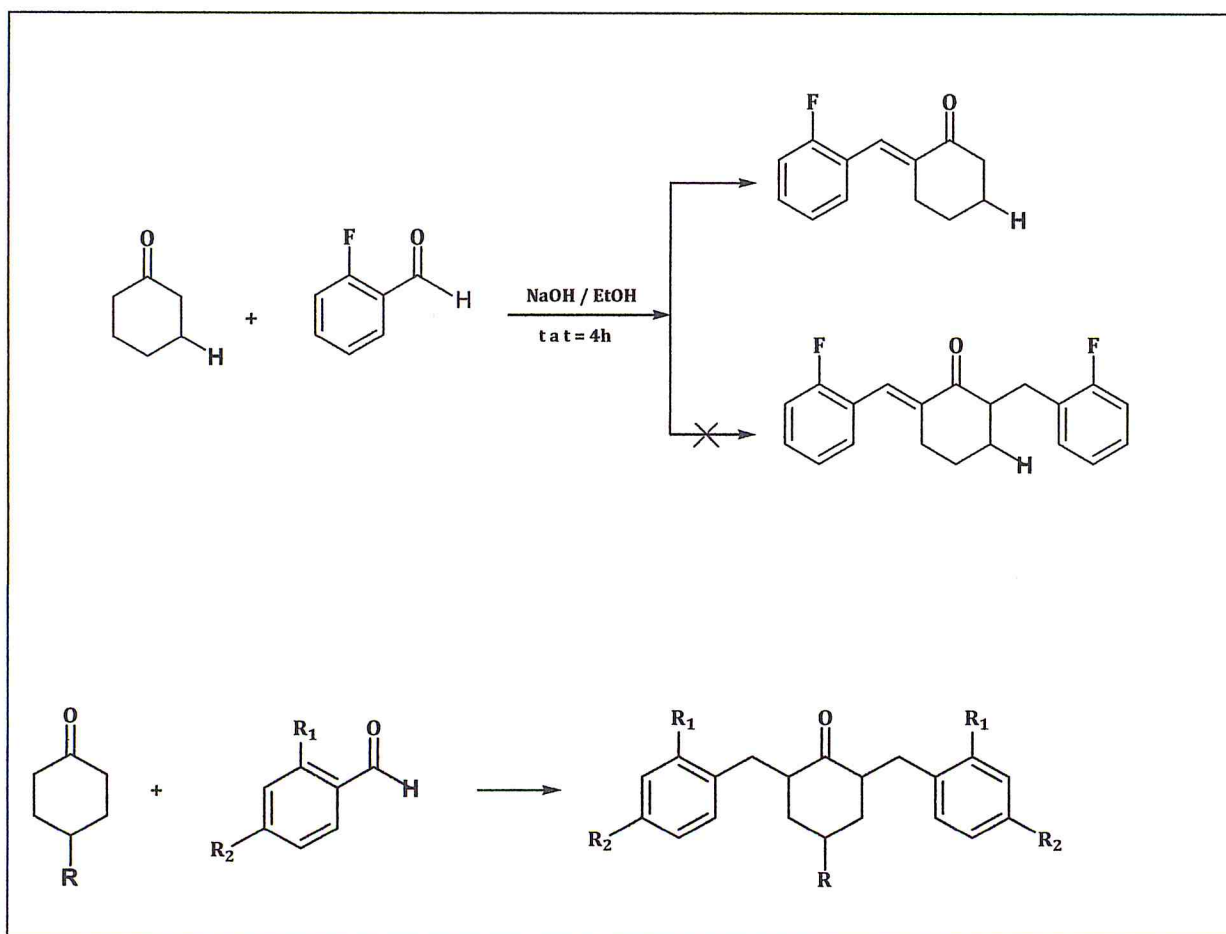
Lorazépam (TEMESTA®)

Figure4 : les dérivés du DBC (des médicaments).

### I. 3 Travaux décrits dans la littérature :

#### I. 3.1 Synthèse des dérivés de la bis(benzylidène)cyclohexanone par la réaction de condensation Claisen-Schmidt :

Une série d'analogues à la DBC a été obtenue par N. Ziani et ses collaborateurs [22], selon la réaction de condensation Claisen-Schmidt de benzaldéhydes substitués avec des dérivés cyclohexanone en présence d'hydroxyde de sodium à la température ambiante.



#### ▪ Caractérisation :

Les analogues à la bis(benzylidène)cyclohexanone synthétisés ont été caractérisés par leur point de fusion, l'infrarouge et la RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C. Leurs spectres IR ont montré une forte bande pour le carbonyle conjugué à (1678-1600 cm<sup>-1</sup>) [23], et une bande à (1610-1508 cm<sup>-1</sup>) pour le groupe C = C.

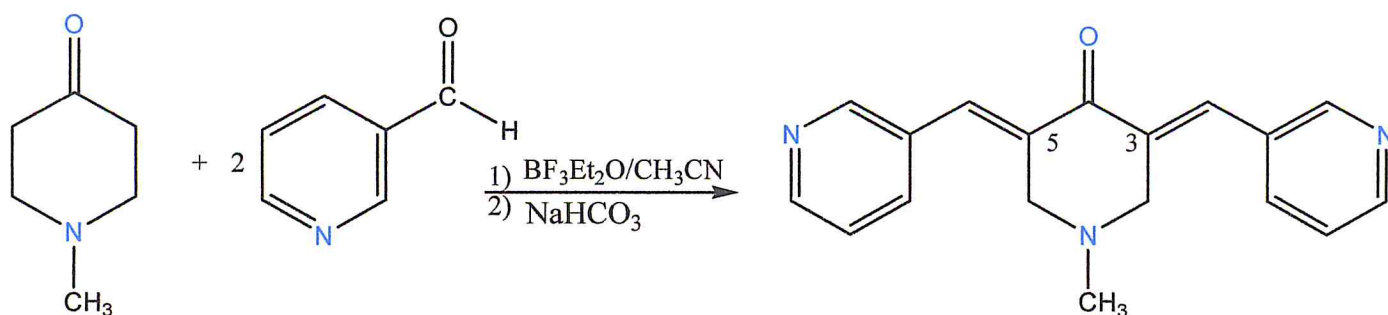
Dans les spectres de RMN  $^1\text{H}$  de nouveau  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturé cétones, le proton oléfinique ont donné un signal de singulet à (7,89 à 7,46 ppm),  $^{13}\text{C}$  RMN déplacements chimiques du  $\text{C}=\text{O}$  groupe ont été affectés à (190,2 à 189,6ppm).

▪ **Conclusion :**

En raison de l'importance des dérivés de la bis(benzylidène)cyclohexanone, leur large éventail d'activités biologiques, et leurs applications en synthèse de pyrazolines, une série de nouveaux dérivés de la bis(benzylidène)cyclohexanone a été synthétisé. Ces composés peuvent être des précurseurs pour préparer une série de dérivés de la pyrazoline.

**I. 3.2 Synthèse de 3,5-bis (pyridinylméthylène) pipéridin-4-ones :**

A partir de début des années 1970 bis (arylidène) pipérid-4-ones et les bis connexes (arylidène)-4-ones cycloalcane ont été intensivement étudiés par rapport à leurs propriétés cytotoxiques et des activités antitumorales [1E7]. Les excellentes propriétés cytotoxiques de différent compounds possédant la générale structure I est censé être attribué à la présence de 1,5-diaryl-3-oxo-1,4-pentadiényle (diénone) fraction pharmacophore observée à la fois dans énones insaturés alicycliques et les dérivés de pipéridone cycliques.



**Schema2 :** Synthèse de 3,5-bis (pyridinylméthylène) pipéridin-4-ones.

▪ **Activité biologique :**

4-pyridinyl ismoch supérieur (sP<sup>1/4</sup> 0,44) [24]. Par conséquent, on peut se attendre cytotoxicité élevée pour 3,5-bis (pyridinylméthylène)-4-ones -piperid. Néanmoins, seul un composé appartenant à la pyridine substitué 3,5-bis (arylidène) -piperid-4-ones (notamment la N, N-diméthyl-3,5-bis (4-pyridinylméthylène) -4-piperidonium iodure) a été testé pour cette type d'activité [25] et rapporté possèdent la antitumorale diminué comparaison des propriétés d'un grand choix de 3,5-bis (arylidène) - pipérid-4-ones dans les écrans utilisés en moyenne 54 humaine des lignées cellulaires de tumeur de huit maladies néoplasiques telles que la leucémie, mélanome, du colon, non à petites cellules du poumon, du poumon à petites cellules, central système nerveux, de l'ovaire et les cancers du rein.

**I.3.3 Synthèse de thiopyrimidine et thiazolopyrimidine :**

U. W. Hawas et ses collaborateurs [26], ont synthétisé une série de nouveaux arylidène N-substitué, pyrazole, thioxopyrimidine et des dérivés de thiazolopyrimidine 2-7, par des réactions à partir de 2-méthyl cyclohexanone avec des aldéhydes aromatiques pour donner le 2,6-dibenzylidène-3-méthylcyclohexanone 2.

▪ **Principe :**

Une réaction de la 3-méthylcyclohexanone 1 avec des aldéhydes aromatiques, à savoir, le 3,4-diméthoxy-, 3,4,5-triméthoxy-, le p-chloro-, p-fluoro-, ou p-N,N-diméthylamino benzaldéhyde dans de l'hydroxyde de potassium éthanolique a donné les dérivés bis-aryl méthylène 2a-e correspondant respectivement.

Les dérivés de thioxopyrimidine 5a-d ont été obtenus à partir de la réaction des dérivés de l'arylméthylène 2a-d avec chauffage au reflux de la thiourée dans de l'hydroxyde de potassium éthanolique.

La condensation des composés 2a, b avec l'hydrate d'hydrazine dans de l'acide acétique glacial ou avec un groupe phényle hydrazine dans l'éthanol absolu en présence de triéthylamine comme catalyseur a donné les dérivés de pyrazole correspondants 3a, b et 4a, b, respectivement (Schéma 3).

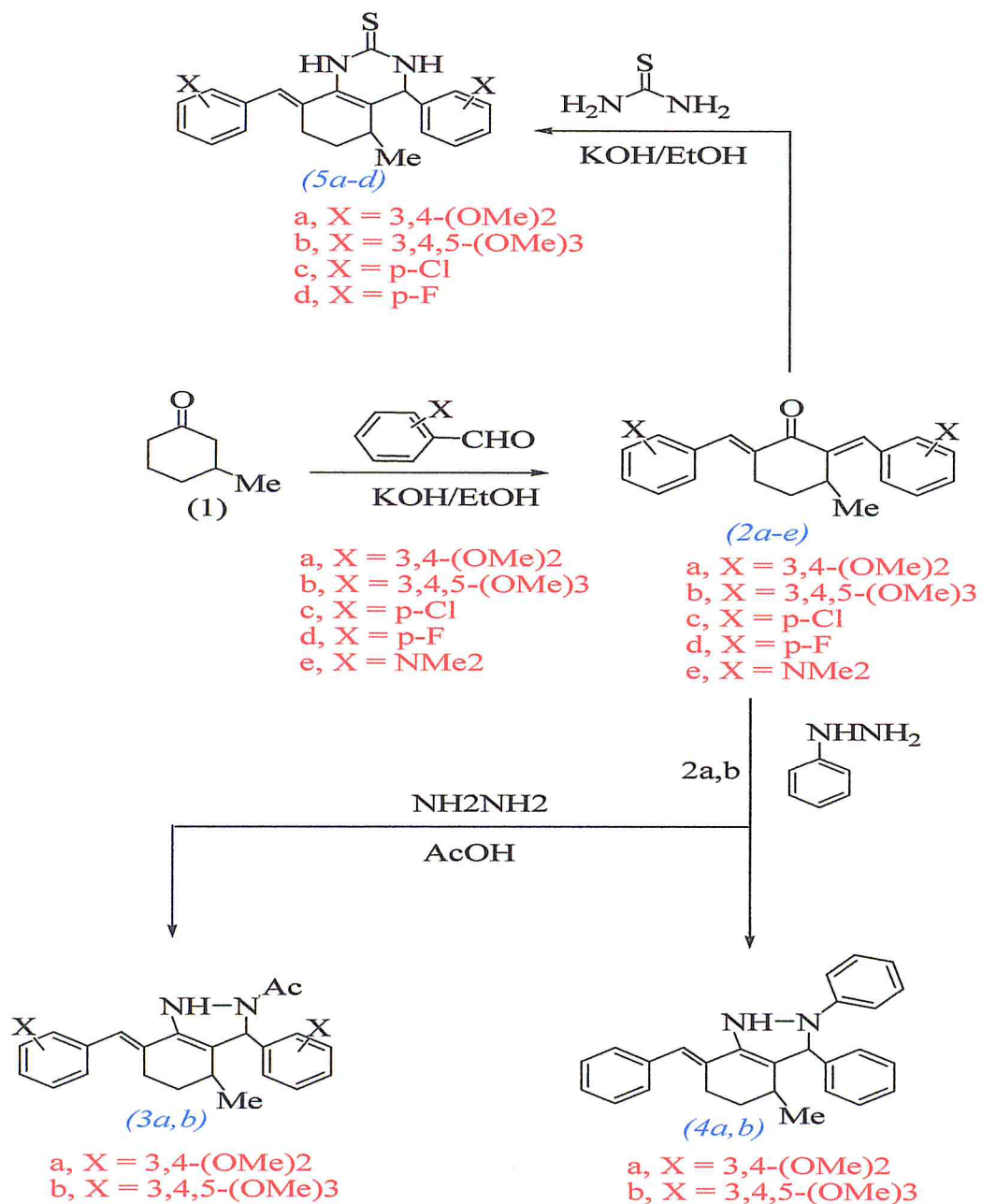


Schéma 3 : Voies de synthèse des composés 2-5.

▪ **Activité biologique :**

Un criblage préliminaire de l'activité antimicrobienne des composés synthétisés a été effectuée contre des micro-organismes représentant des bactéries Gram-positif (*Bacillus subtilis*, *Bacillus aureus* et *Staphylococcus aureus*), des bactéries Gram-négatif (*Escherichia coli*), une levure (*Candida albicans*) et un champignon (*Aspergillus Niger*), en utilisant la technique de la bio-essai d'antibiotiques spécifiée dans la pharmacopée des États-Unis à 50 µg / ml. Ce criblage a révélé que les composés les plus actifs contre *Bacillus subtilis* sont 3b, 4b, 5c, , 2e, 3a, 4a, 5b, et les composés 2b, 2e, 4b, 5d, contre *Staphylococcus aureus*, et les composés 2d, 3b, contre *Escherichia coli* et les composés 2c, 3a, contre *Candida albicans*, et enfin les composés 2c, 4a, 5a, 5d, contre *Aspergillus Niger*. L'ampicilline et le chloramphénicol ont été utilisés comme étalons.

*Partie*  
*expérimentale*



## **II. 1. Réactifs utilisés :**

Les réactifs utilisés pour la préparation des produits sont KOH, les aldéhydes aromatiques diversement substitués le benzaldehyde, 2-carboxybenzaldehyde, salicylaldehyde et la cyclohexanone.

Les solvants utilisés dans notre travail sont : L'acétone, l'éthanol absolu, l'éther, dichlorométhane et le méthanol.

## **II. 2. Techniques de caractérisation :**

### **II. 2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) :**

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple dont le principe est basé sur le phénomène d'adsorption. Il est extrêmement utile, on l'utilise en générale pour suivre l'avancement des réactions, connaître la composition de fraction séparés sur colonne ou contrôlé la pureté des produits [27]. Nous avons utilisé la chromatographie pour suivre les réactions et pour vérifier la pureté des produits synthétisés.

Les chromatographies sur couches minces (CCM) ont été effectuées, en utilisant des feuilles d'aluminium  $Al_2O_3$ . Les révélations ont été effectuées dans un bain de sable iodé.

### **II. 2.2. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) :**

Le développement de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire à partir de 1955 a fortement contribué aux progrès rapides de la synthèse organique, c'est en effet un moyen d'identification sur et rapide de la structure d'une molécule. Elle concerne à la fois l'état liquide et l'état solide, elle est basée sur les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques. C'est la première méthode utilisée par les chimistes organiciens pour déterminer la structure des molécules [28 ].

Les spectres RMN  $^1H$  des composés étudiés ont été enregistrés à l'aide d'un appareil à transformée de Fourier Bruker 400MHz.au laboratoire LIMBP de Metz .Le solvant utilisé est le DMSO- $d_6$ . Les déplacements chimiques  $\delta$  sont exprimés en ppm par rapport au TMS (tétraméthylsilane) utilisé comme référence interne. La multiplicité des pics est indiquée par les lettres suivantes : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), td (triplet de doublet), m (massif).

### **II. 2.3. Spectrophotométrie d'infrarouge (IR) :**

C'est une technique d'analyse utilisée pour l'identification des groupements fonctionnels du produit synthétisé. Le domaine de fréquence le plus couramment utilisé s'étend de 4000 à 650 $\text{cm}^{-1}$  et correspond à des transitions entre niveaux vibrationnels. Ces vibrations peuvent être des vibrations d'élongation ou de déformation et seules celles entraînant une variation du moment dipolaire de la molécule sont actives pour cette spectroscopie [29].

Les spectres FTIR de ligand et leurs complexes ont été réalisés à l'aide d'un spectre photomètre FTIR à transformée de fourrier modèle BRUKER du type Tensor 27 dans un domaine de nombre d'onde allant de 400 à 4000 $\text{cm}^{-1}$ .

Le ligand et leurs complexes sont échantillonnés sous forme de pastilles de KBr. Le bromure de potassium ne présente aucun pic dans le domaine exploité, toutes les bandes de vibrations enregistrées sont donc propres aux complexes.

### **II. 2. 4. Températures de fusion :**

Les points de fusion ( $P_f$ ), exprimés en degré Celsius ( $^{\circ}\text{C}$ ), sont mesurés sur un appareil SMP3 Stuart Scientific.

### **II. 2. 5. Spectrophotométrie d'ultraviolet-visible (UV-vis) :**

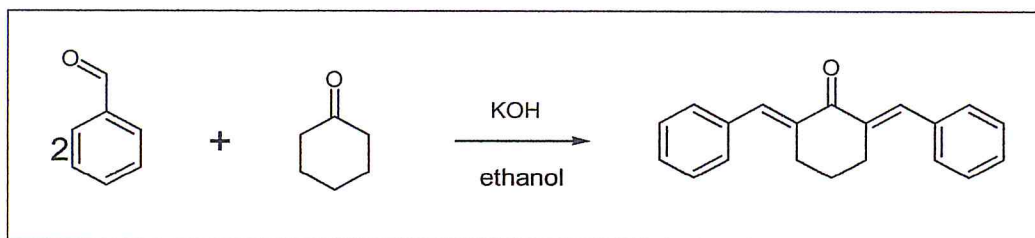
La spectroscopie d'absorption ultraviolet - visible nous renseigne sur le mode de coordination de l'ion central avec le ligand. Cette méthode est fondée sur le phénomène d'absorption d'énergie lumineuse par une substance. Lorsque cette dernière absorbe une partie d'énergie de la radiation électromagnétique, cette absorption est automatiquement accompagnée d'une transition électronique d'un niveau fondamental à un niveau d'énergie supérieur [30].

## II. 3. Synthèse et caractérisation de bis benzylidène cyclohexanone et leurs dérivés :

### II. 3.1. Synthèse de DiBenzylidèneCyclohexanone (DBC) :

#### II. 3.1.1. Mode opératoire :

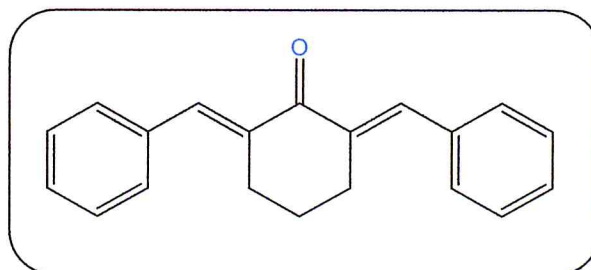
Dans un erlenmeyer de 250 ml, on dissout 5g de la potasse KOH( 0.1 mol) dans 50ml d'eau du distillée qu'on refroidit dans un bain de glace et on rajoute 40ml d'éthanol à 95% .le mélange est agité à température ambiante jusqu'à obtention d'une solution transparente ,on rajoute à ce mélange 0.985g (10mmol,1eq) de cyclohexanone et 2,12g (20mmol,2eq) de benzaldéhyde et on laisse agiter quelques minutes à température ambiante. La réaction est suivie par CCM. Le précipité solide de couleur jaune obtenu est filtré à l'aide d'un entonnoir de Büchner qui contient du papier filtre, puis lavé avec de l'eau froide à plusieurs reprises et séché à l'air libre et enfin stocké sous pression réduite dans un dessiccateur. La synthèse de ce produit est représentée dans le (schéma 4).



**Schéma 4 :** Synthèse de DiBenzylidèneCyclohexanone (DBC).

#### Description du DBC : DiBenzylidène Cyclohexanone

- Masse exacte (C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O) : 274 g.mol<sup>-1</sup>.
- Aspect : cristaux jaunes
- Rdt = 84%.
- T<sub>f</sub> = 182°C.
- R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) = 0,75.



Le mécanisme réactionnel proposé est le suivant :

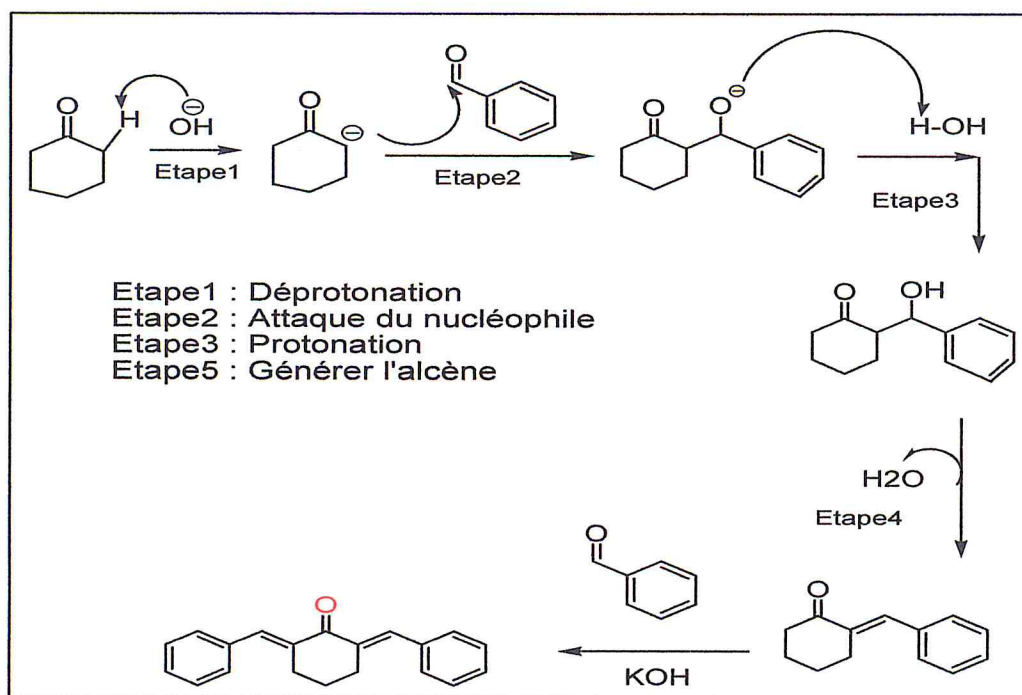


Schéma 5 : Mécanisme réactionnel de la préparation de DBC.

La structure de DiBenzylidèneCyclohexanone ( DBC) est confirmée par IR

➤ IR (KBr ,  $\text{cm}^{-1}$ ) :

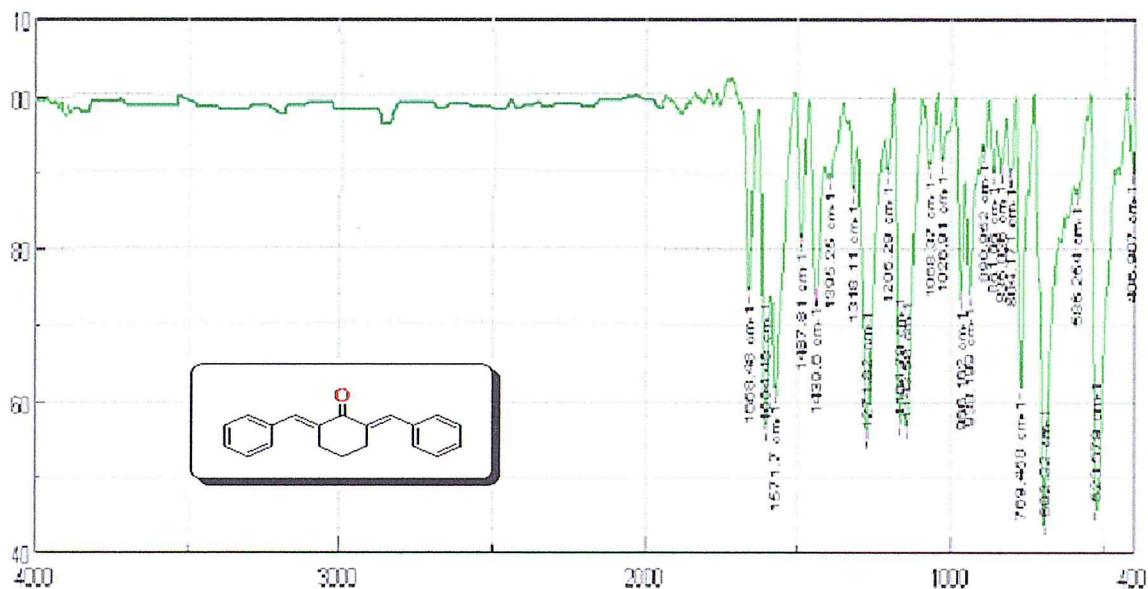


Figure 5: spectre IR du DBC.

L'examen de ce spectre IR montre :

- une bande vers  $1668\text{ cm}^{-1}$  Attribuable à C=O de cyclohexanone.
- D'autres bandes caractéristiques du noyau benzénique se trouvent vers  $1604, 1571, 1497$  et  $802\text{ cm}^{-1}$ .

## II. 3.2. Synthèse de 2,6-bis(2-carboxybenzylidène)cyclohexanone :

### II. 3.2.1. mode opératoire :

Dans un erlenmeyer de 250 ml, on introduit 2.25g (15 mmol) de 2-carboxybenzaldehyde et 0.78 ml (7.5 mmol) de cyclohexanone est laissé sous agitation à température ambiante pendant 5 min, on ajoute a cette mélange (1.8g de Na OH dans 16.2 ml d'eau), on laisse agiter pendant 4h à température ambiante. La réaction est suivie par CCM.

Le précipité solide de couleur jaune obtenu est filtré, puis lavé avec du l'eau froid à plusieurs reprises et séché à l'air libre et enfin stocké. La synthèse de ce produit est représentée dans le (schéma 6).

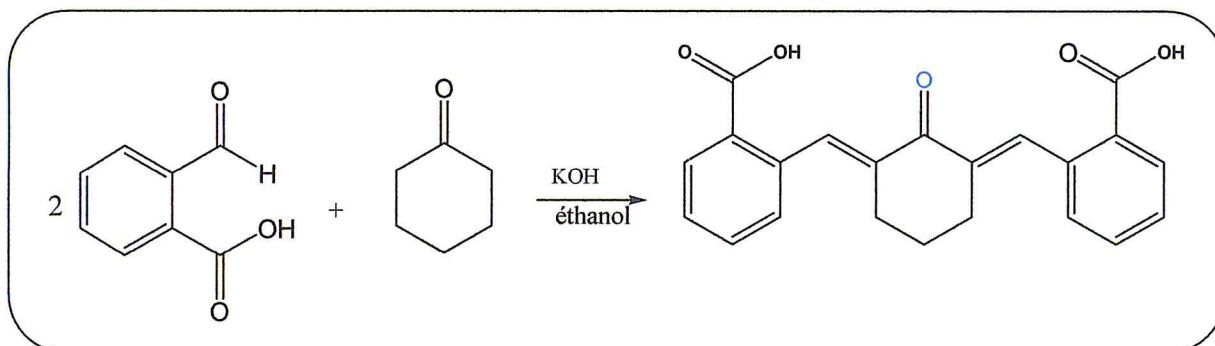
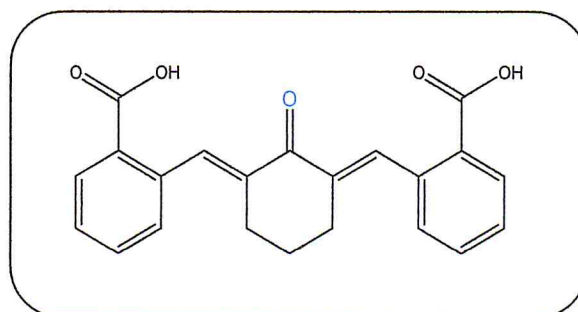


Schéma 6 : Synthèse de 2,6-Di (2-carboxybenzylidène) cyclohexanone.

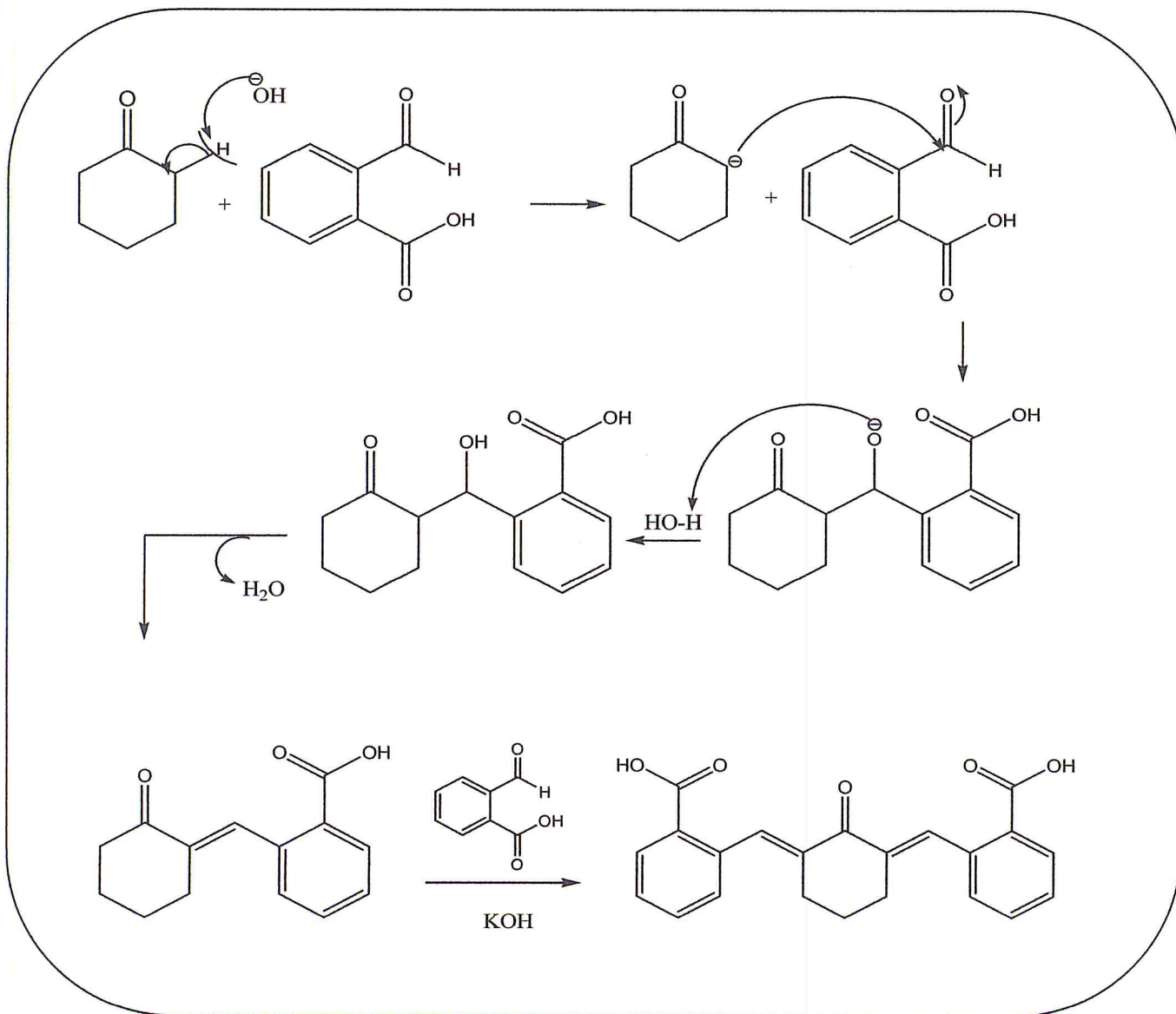
### Description du DCBC : 2,6-Di (2-carboxybenzylidène) cyclohexanone

- Masse exacte ( $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_5$ ) :  $362\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .
- Aspect : cristaux jaunes.
- Rdt = 66%.
- $T_f = >300^\circ\text{C}$ .
- $R_f (\text{CH}_2\text{Cl}_2) = 0,81$ .



## II. 3.2.2. Mécanisme réactionnel :

Le mécanisme réactionnel proposé est :



**schima 7:** Mécanisme réactionnel de la préparation de DCBC.

La structure de 2,6-bis(2-carboxybenzylidène)cyclohexanone( DCBC) est confirmée par IR

➤ IR(KBr ,  $\text{cm}^{-1}$ )

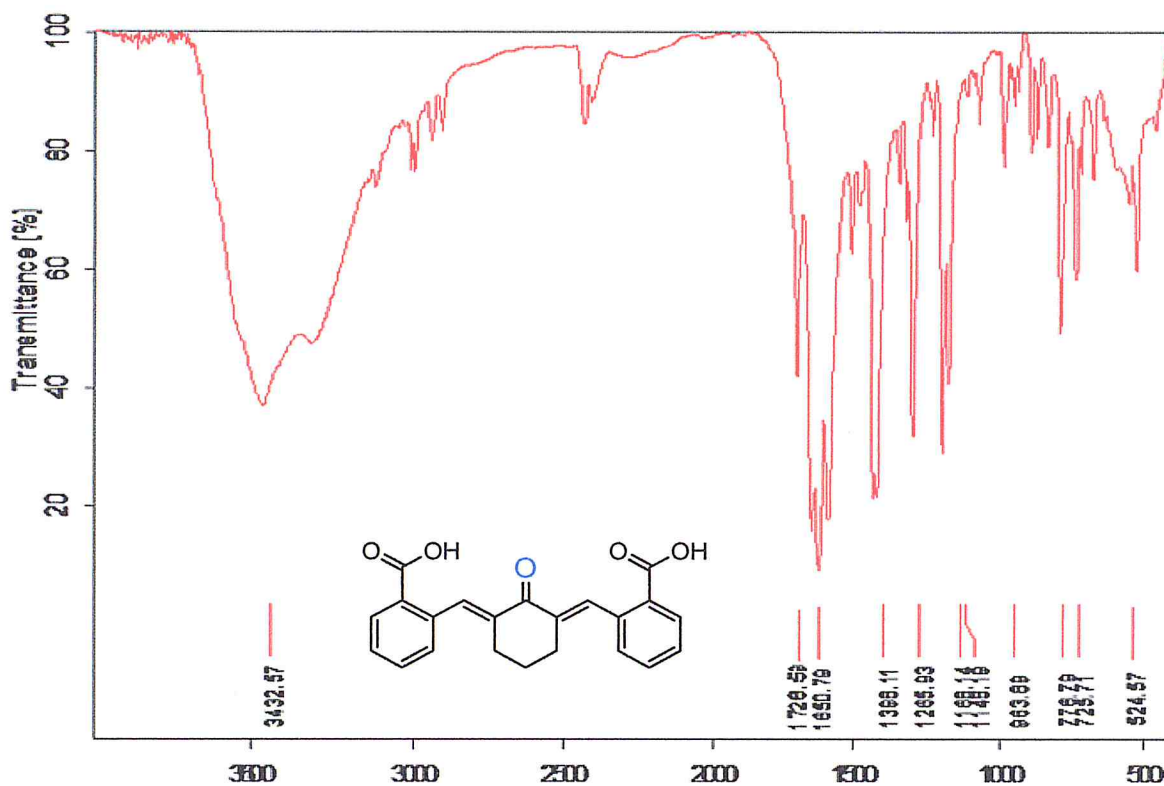


Figure 06: spectre IR du DCBC.

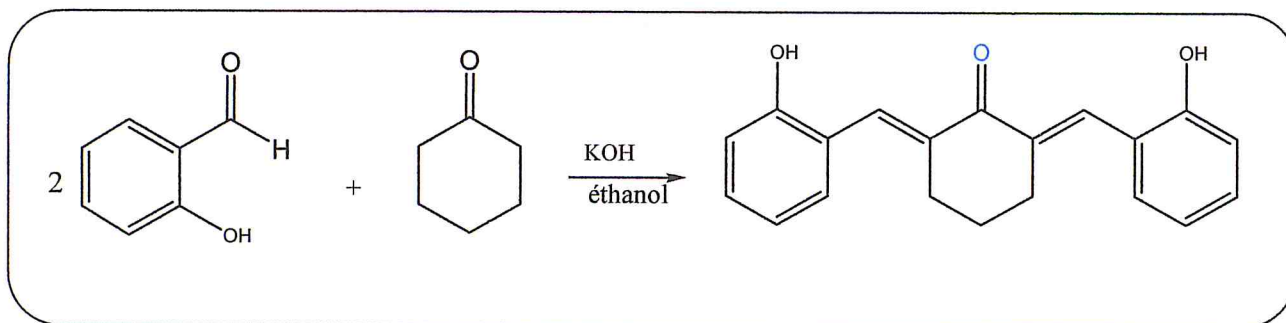
- Deux bande à  $1650 \text{ cm}^{-1}$  et  $1720 \text{ cm}^{-1}$  présent la liaison C=O d'élongation.
- On peut constater la présence des bandes vers  $725 \text{ cm}^{-1}$  et  $776 \text{ cm}^{-1}$  caractéristique de C-H.
- Une large bande vers  $3440 \text{ cm}^{-1}$  (OH d'élongation).

## II. 3.3. Synthèse de(2E ,6E)-bis (2-hydroxybenzylidène)cyclohexanone :

### II. 3.3.1. mode opératoire :

2.5ml de salicyaldéhyde (2eq, 20mmol) et 1.04ml de cyclohexanone (1eq, 10mmol) sont introduites dans un erlenmeyer de 250ml contenant 10ml d'éthanol, Le mélange est porté sous agitation magnétique pendant 5mn, on rajoute à ce mélange une solution de (2.4g de NaOH et 21.6ml d'eau), laissé sous agitation à température ambiante pendant 2h.

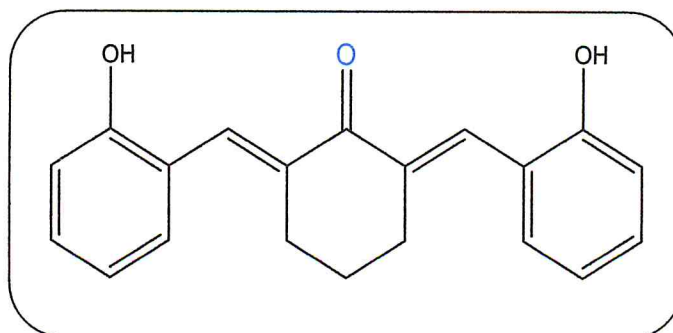
La réaction est suivie par CCM. La précipitation du DHBC est provoquée par l'ajout de HCL (le milieu PH = 3), on met le mélange dans une ampoule a décanté et on rajoute le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et on laisse décanté. La phase organique est séparée puis distillé. Le précipité obtenu est filtré puis lavé à l'éther. Il est séché puis maintenu dans un dessiccateur sous vide. Le schéma 8 représente la synthèse de ce produit.



**Schéma 8** : Synthèse de (2E ,6E)-bis(2-Hydroxybenzylidène) cyclohexanone.

Description du DHBC : (2E, 6E)-bis (2-Hydroxybenzylidène)cyclohexanone :

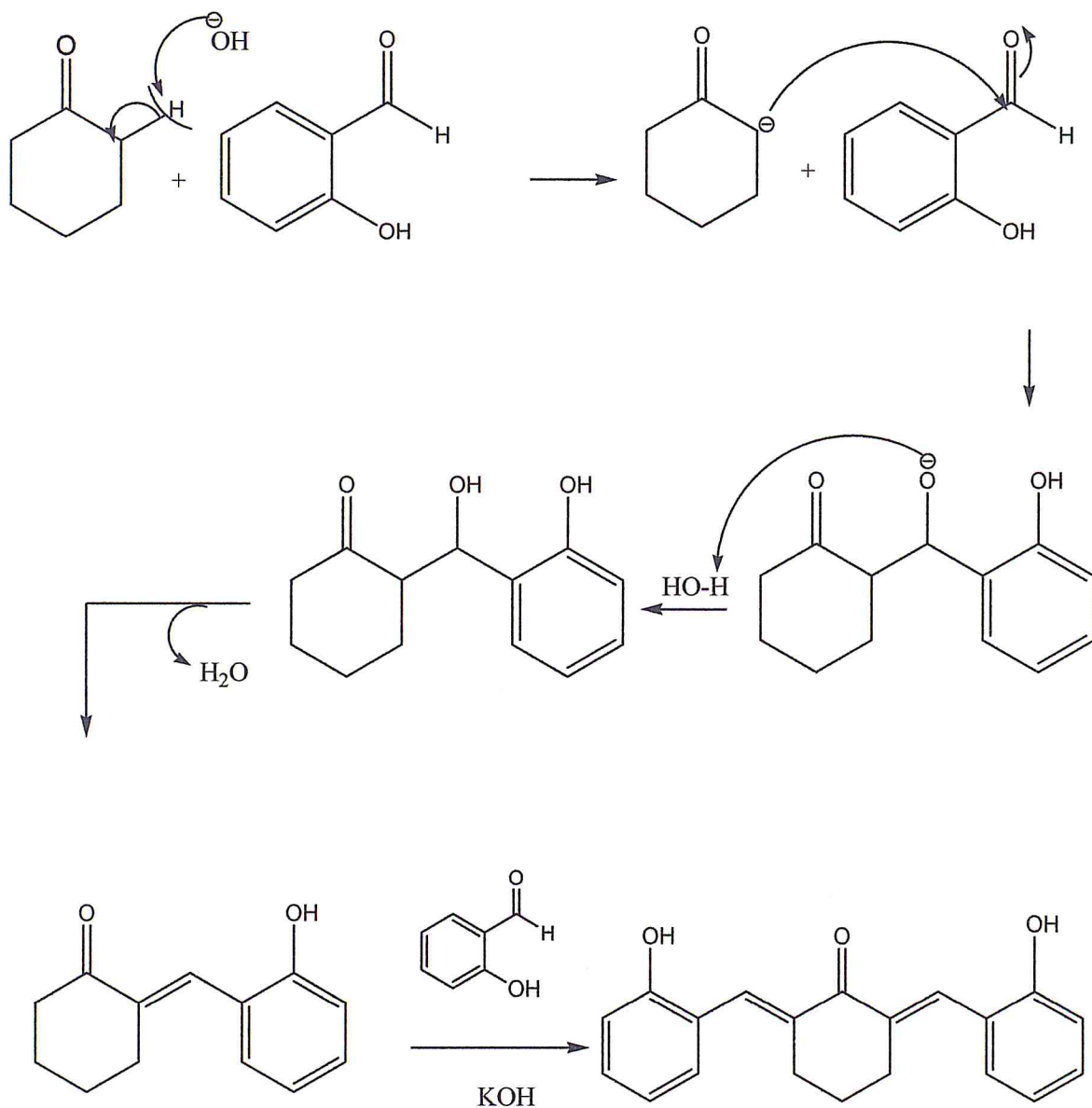
- Masse exacte (C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub>) : 306 g.mol<sup>-1</sup>.
- Aspect : cristaux jaune-verte.
- Rdt =58%.
- T<sub>f</sub> = >300°C.
- R<sub>f</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) = 0,87





## II. 3.3.2. Mécanisme réactionnel :

Le mécanisme réactionnel proposé est :



schima 9 : Mécanisme réactionnel de la préparation de DHBC.

La structure de 2,6 Di(2-hydroxyBenzyldéne)Cyclohexanone ( DHBC) est confirmée par IR

➤ IR(KBr ,  $\text{cm}^{-1}$ ) ;

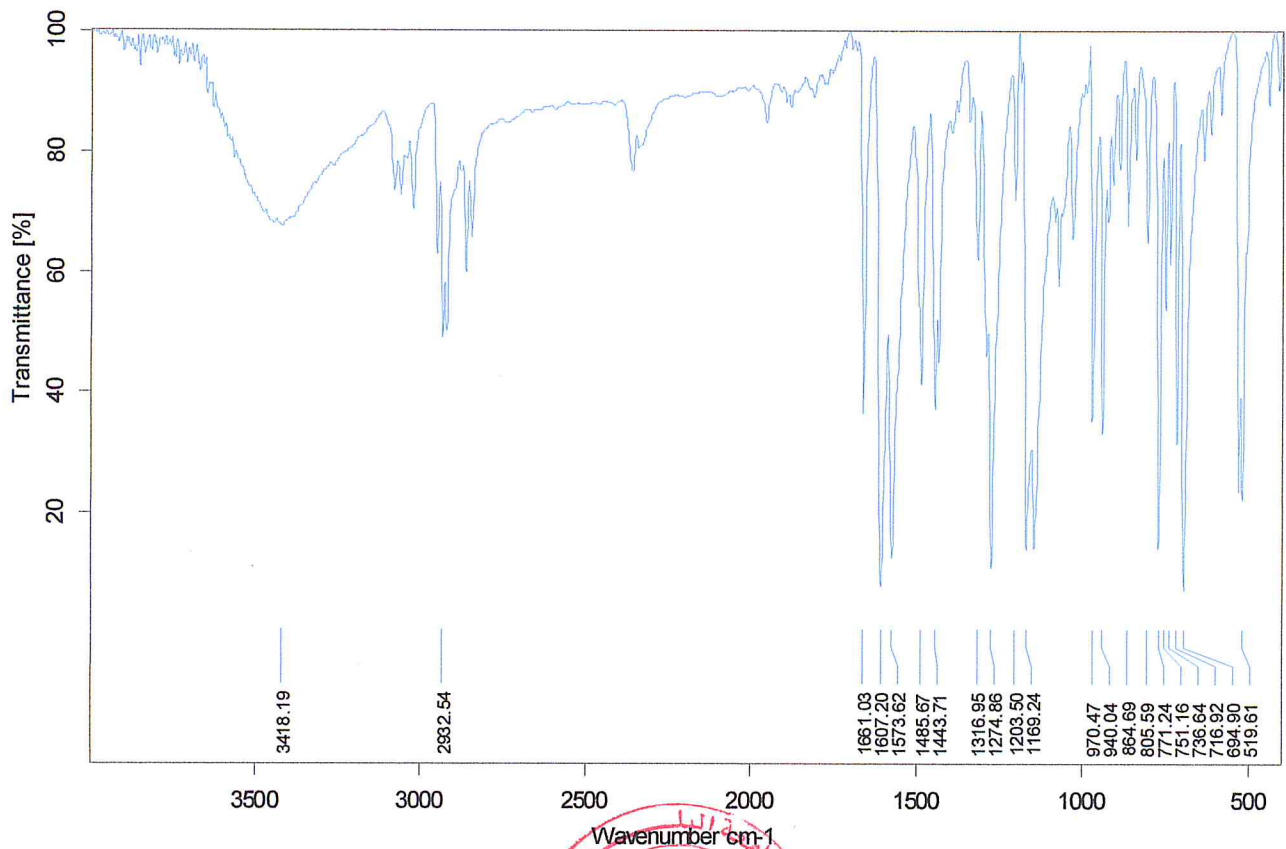


Figure 07: spectre IR du DHBC

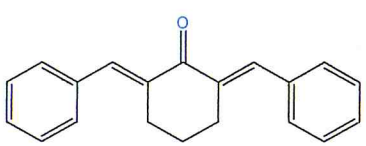
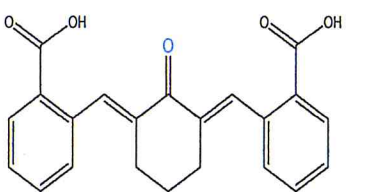
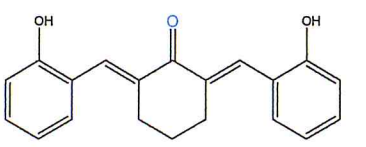
- une bande à  $1661 \text{ cm}^{-1}$  présent la liaison C=O d'élongation.
- Deux bandes à  $1489 \text{ cm}^{-1}$  et  $1446 \text{ cm}^{-1}$ , indiquent la présence de la liaison C=C aromatique.
- On peut constater la présence des bandes vers  $679 \text{ cm}^{-1}$  et  $765 \text{ cm}^{-1}$  caractéristique de C-H.
- Une large bande vers  $3418 \text{ cm}^{-1}$  (OH d'élongation).

## II. 4. Les propriétés physiques des produits :

Tous les produits synthétisés sont solides et stables à température ambiante. Leurs points de fusion ont été déterminés à l'aide d'un fusiomètre (tableau 01).

Les résultats expérimentaux sont regroupés dans le tableau 01.

**Tableau 01 : Résultats expérimentaux des composés.**

composés	Aspect physique	Temps(h)	Rendement(%)	Point de fusion (°C)	R <sub>f</sub>
 <b>1</b>	Cristaux jaune	2h	84%	184	0.75
 <b>2</b>	Cristaux jaune claire	4h	66%	>300	0.81
 <b>3</b>	Cristaux jaune-verte	2h	58%	>300	0.87

## II. 4.1. Teste de solubilité :

Nous avons effectué des tests de solubilité de (1mg/ml) avec nos produits dans différents solvants, les résultats sont présentés dans le tableau 02.

**Tableau 02** : les résultats de solubilité.

Composés	Solvants					
	diethylether	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	EtOH	MeOH	DMSO	H <sub>2</sub> O
<b>DBC</b>	+++	+++	-	-	+++	-
<b>DCBC</b>	-	-	+	+++	+++	+++
<b>DHBC</b>	-	-	+++	+++	+++	+++

- (insoluble) ; + (peu soluble) ; ++ (soluble) ; +++ (très soluble).

## II. 5. Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) :

Nous avons soumis nos produits à une analyse chromatographique sur couche mince, en utilisant le dichlorométhane et l'éthanol comme éluant, nous sommes arrivés à une bonne séparation de nos produits.

Après le développement du chromatogramme, et lorsque le front du solvant d'éluion a atteint la ligne supérieure, la plaque a été retirée, séchée et révélée par l'iode afin d'avoir la séparation chromatographique du produit présent. (Figure 08,09 et10)

## II. 5.1. Analyse par chromatographie sur couche mince de DBC :

D'après les résultats obtenus nous avons confirmés que notre produit est pur (tableau03).

**Tableau 03 :** Les résultats de la chromatographie sur couche mince de DBC.

	Composés	Rapport frontal $R_f$ ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )
2	DBC (produit obtenu)	0,75



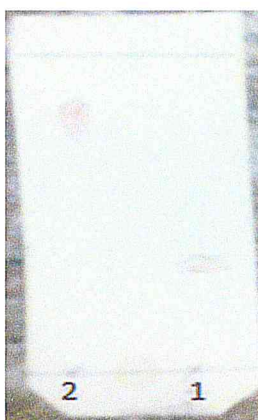
**Figure 08 :** Chromatogramme de DBC.

## II. 5.2. Analyse par chromatographie sur couche mince de DCBC :

Les résultats de l'analyse chromatographique sur couche mince de nos produits ont été résumés dans le (Tableau 04) ont confirmé que ces produits sont purs.

**Tableau 04 :** Les résultats de la chromatographie sur couche mince de DCBC.

	Composés	Rapport frontal ( $R_f$ ) ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )
1	2-carboxybenzaldéhyde(réactif)	0.31
2	DCBC	0.81



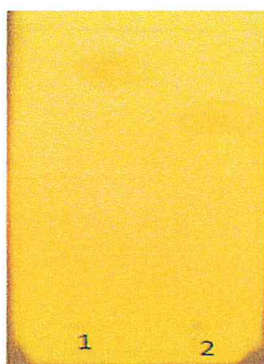
**Figure 09** : Chromatogramme de DCBC

### II. 5.3. Analyse par chromatographie sur couche mince de DHBC :

D'après les résultats obtenus nous avons confirmés que notre produit est pur (tableau 05).

**Tableau 05** : Les résultats de la chromatographie sur couche mince de DHBC.

	Composés	Rapport frontal ( $R_f$ ) ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )
2	Salicylaldéhyde(réactif)	0,73
1	DHBC	0.87



**Figure 10** : Chromatogramme de DHBC.

## II. 6. Analyse par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) :

### II. 6.1. Spectre RMN $^1\text{H}$ du DBC :

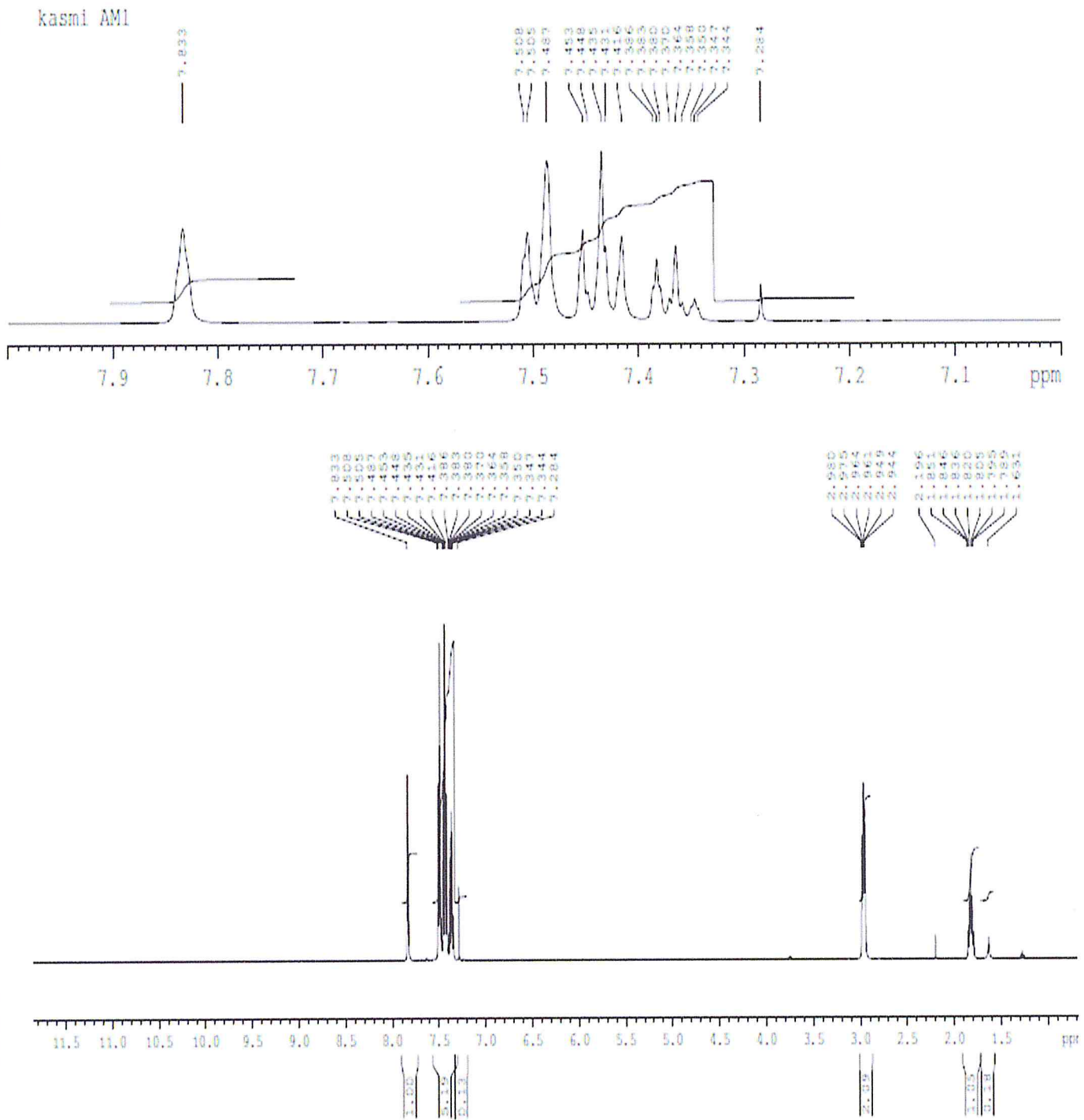


Figure 11 : Spectre RMN  $^1\text{H}$  du DBC.

Le spectre RMN du proton de cette DBC a été enregistré dans un solvant  $\text{CDCl}_3$  qui est réalisé en France.

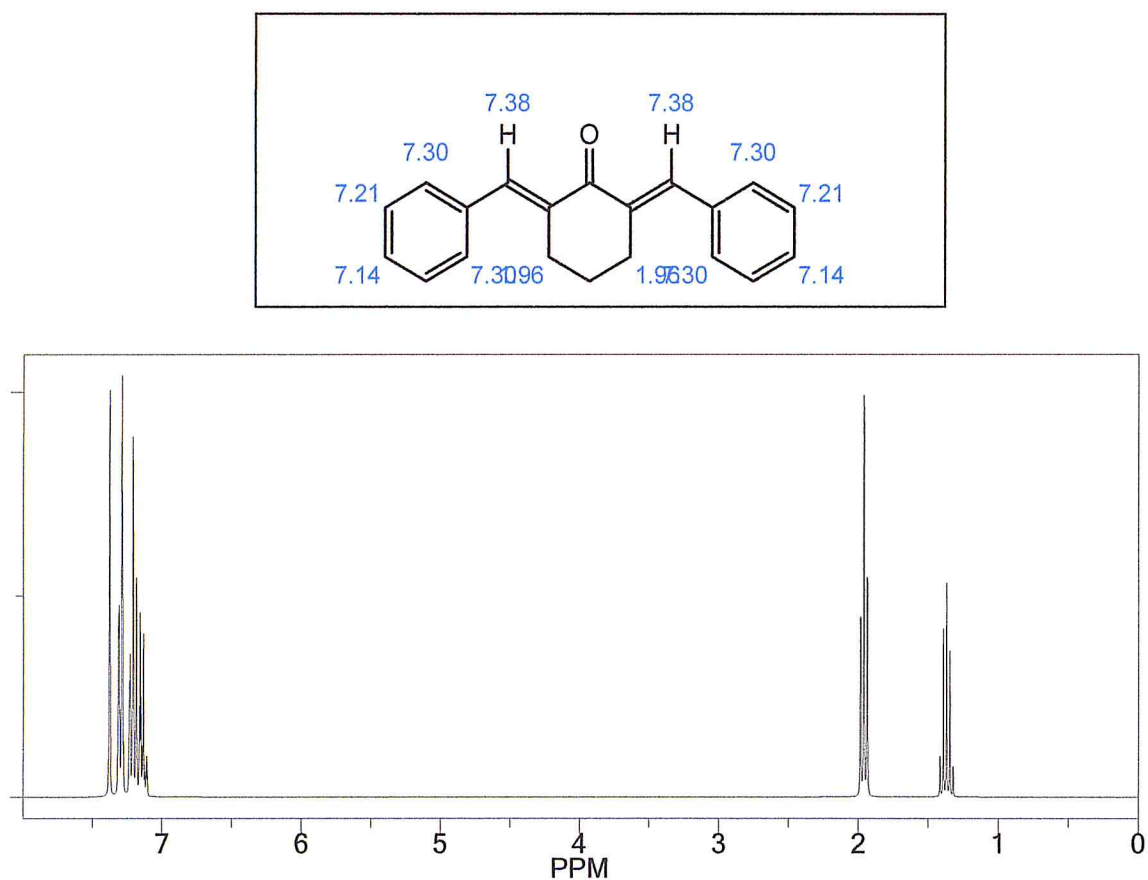
On observe :

- un signal entre 7.83ppm sous forme de singulet attribuable aux 2H de l'alcène.
- Un signal sous forme de multiplet attribuable entre 7.50et 7.43 ppm caractéristiques des 10 hydrogènes aromatiques.
- Un signal sous forme un triplet de doublet attribuable vers 2.96 ppm caractéristiques des 4H de motif cyclohexanone.
- un signale vers 1.82 ppm sous forme triplet caractéristique de 2H de motif cyclohexanone.

## II. 6.2. L'étude par RMN $^1\text{H}$ :

Les caractéristiques théoriques de la RMN sont répertoriées dans les figures suivantes

### 1-DBC :



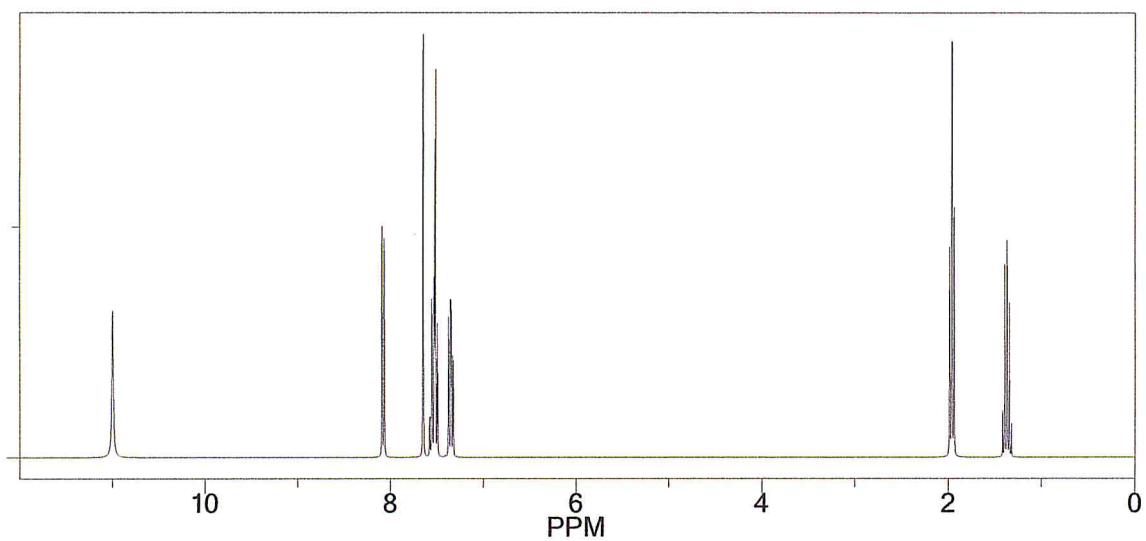
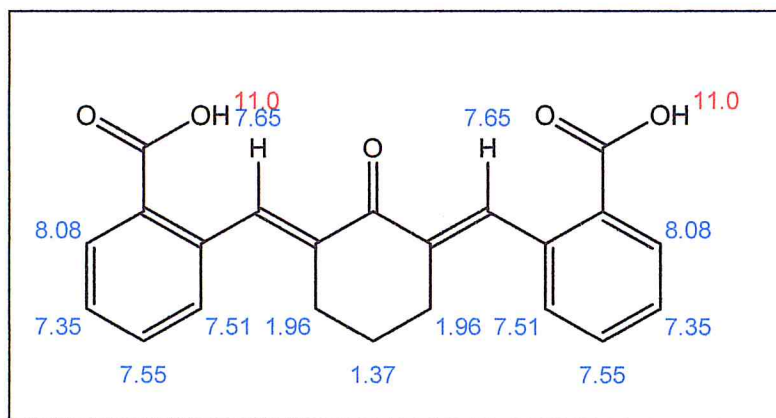
**Figure12 :** Simulation de spectre RMN $^1\text{H}$  par le Chem Draw de la DBC.

$\delta$ ppm des signaux théorique et leur attributions :

7.14-7.38ppm (m, 12H<sub>1</sub>); 1.95ppm(t, 4H, H<sub>2</sub>); 1.37ppm(quint, 2H, H<sub>3</sub>).



## 2-DCBC :

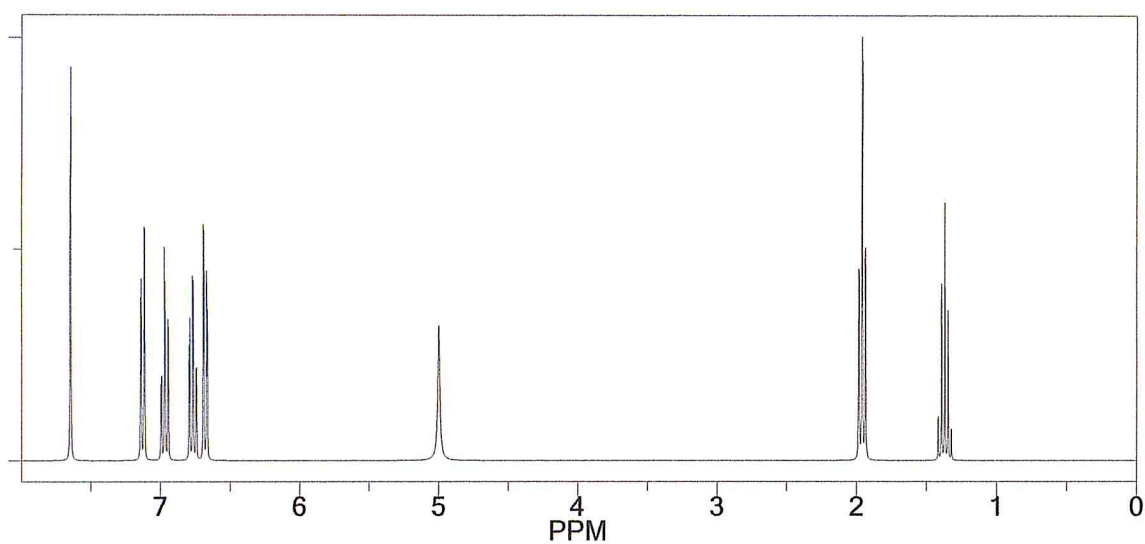
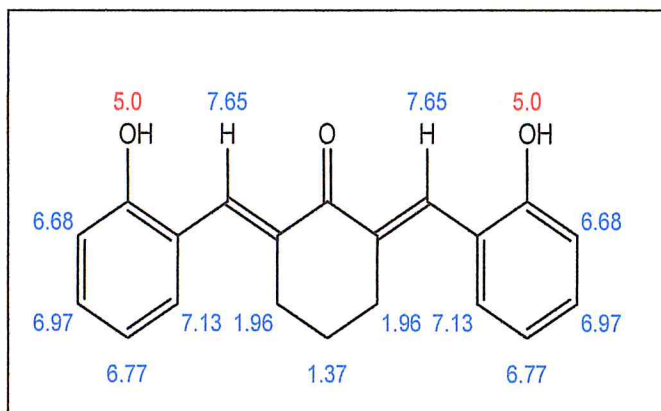


**Figure 13 :** Simulation de spectre RMN $^1\text{H}$  par le Chem Draw de la DCBC.

$\delta$ ppm des signaux théorique et leur attributions

11 ppm (s, 2H, H<sub>OH</sub>); 8.08 ppm (d, 2H, H<sub>1</sub>); 7,65 ppm (s, 2H, H<sub>2</sub>); 7.55 ppm (t, 2H, H<sub>3</sub>); 7.51 ppm (d, 2H, H<sub>4</sub>); 7.35 ppm (d, 2H, H<sub>5</sub>); 1.90 ppm (t, 4H, H<sub>6</sub>); 1.37 ppm (quint, 2H, H<sub>7</sub>).

### 3-DHBC :



**Figure 14 :** Simulation de spectre  $\text{RMN}^1\text{H}$  par le Chem Draw de la DHBC.

$\delta$ ppm des signaux théorique et leur attributions

7.65 ppm (s, 2H,  $\text{H}_1$ ); 7.13 ppm (d, 2H,  $\text{H}_2$ ); 6.97 ppm (t, 2H,  $\text{H}_3$ ); 6.77 ppm (t, 2H,  $\text{H}_4$ ); 6.68 ppm (d, 2H,  $\text{H}_5$ ); 5 ppm (s, 2H,  $\text{H}_{\text{OH}}$ ); 1.90 ppm (t, 4H,  $\text{H}_6$ ); 1.37 ppm (quint, 2H,  $\text{H}_7$ ).

### **III. Etude des activités biologiques :**

#### **III. 1. Introduction :**

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien. Différents types d'aromatogrammes, en milieu solide, liquide, sont exploitables. Cependant, en pratique quotidienne, c'est le milieu solide qui est le plus simple et facilement reproductible [30].

L'aromatogramme représente cependant un point de repère essentiel puisque sa technique est identique à celle utilisée pour mesurer l'activité bactéricide des antibiotiques [31].

#### **III. 2. L'étude du pouvoir antibactérien :**

Les tests antibactériens ont pour but de savoir si les composés suivants : DBC, DCBC et DHBC présentent un effet antibactérien vis-à-vis de différentes bactéries testés.

L'activité antibactérienne du DBC et ses dérivés synthétisés a été déterminée vis-à-vis les quatre bactéries suivants : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* et *Bacillus subtilis*, par la méthode de diffusion de disque sur milieu de Mueller-Hinton gélosé.

Les composés ont été solubilisés dans le DMSO pour obtenir des concentrations de 15 et 30 mg/ml

Cette étude est faite au sein du laboratoire microbien du laboratoire central de centre hôpitalo- universitaire de Frantz-Fanon de Blida et laboratoire d'hygiène de Blida.

#### **III. 3. Principe :**

La méthode de diffusion est très utilisée en microbiologie, repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide.

L'effet antibactérien du produit sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre de cette dernière, la souche du microorganisme sera qualifiée comme sensible, intermédiaire ou résistante.

### III. 4. Provenance des germes étudiés :

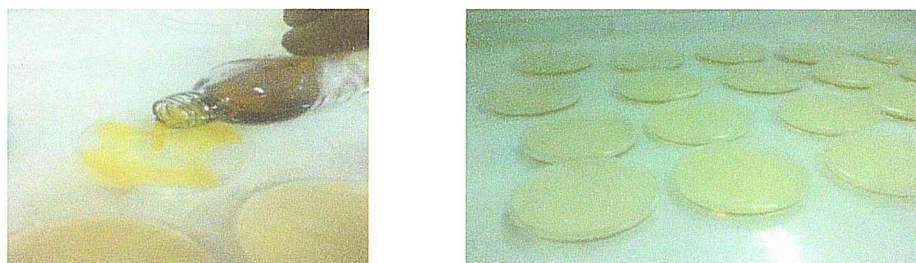
**Tableau 06:** Provenance des germes étudiés.

Souches utilisées	Code de la souche	Provenance
<b>Bactéries</b>		
Bactéries à Gram (+)		
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	Laboratoire d'antibiothérapie et d'hygiène de l'institut Pasteur d'Algérie à Dely Brahim
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	
Bactéries à Gram (-)		Laboratoire d'antibiothérapie et d'hygiène de l'institut Pasteur d'Algérie à Dely Brahim
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	

### III. 5. Protocole expérimental :

#### 1. Préparation des milieux de culture :

Les milieux de culture sélectifs pour chaque souche sont mis en surfusion et sont coulés dans des boîtes de pétri à raison de 20ml par boîte. (Figure 15).



**Figure 15 :** Gélification dans des boîtes de pétri.

## 2. Préparation des pré- cultures :

La concentration bactérienne des inoculums est évaluée par la méthode des dilutions et elle est exprimée par la mesure de l'opacité à l'aide d'un Mc Farland densitomètre qui doit être équivalent à 0,5 Mc pour les bactéries.

L'inoculum est ajusté, soit en ajoutant des colonies s'il est trop faible ou de l'eau physiologique stérile, s'il est trop fort.

A partir d'une culture pure et jeune de 18h pour les bactéries, les suspensions sont réalisées par le prélèvement de quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

Les suspensions sont émulsionnées dans un tube contenant 6 ml d'eau physiologique et homogénéisées par agitation au vortex.

## 3. Ensemencement :

L'ensemencement est fait à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans la suspension microbienne. L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées, répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

L'écouvillon est rechargé à chaque fois dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche. (Figure 16).



**Figure 16 :** Ensemencement de la suspension bactérienne sur les milieux gélosés.

#### 4. Dépôt des disques :

Les disques de 9mm de diamètre, sont imbibés par différentes concentrations des solutions de chaque composé. Le volume pris de chaque concentration est de l'ordre de 20  $\mu$ l.

Les disques absorbants sont stérilisés et imprégnés d'une quantité de 20  $\mu$ l de solution du test et sont déposés sur la surface de gélose inoculée avec les souches testées. Les boîtes de pétri sont incubées à l'étuve pendant 24h à 37°C.

Pour permettre une bonne diffusion de ces composés dans le milieu, et inhiber momentanément la croissance du germe testé, les boîtes sont placées à 4°C pendant trois heures, puis incubées à 30°C pendant 24h. (Figure 17)

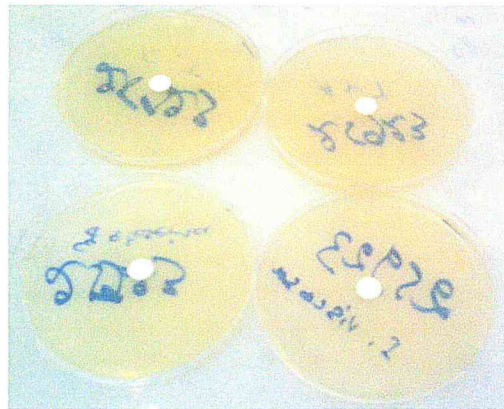


Figure 17 : Dépôt des disques sur le milieu gélosé.

#### 5. La lecture :

Le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné a été déterminé en mesurant à l'aide d'un pied à coulisse, déterminé par les différentes concentrations des différents composés autour des disques.

### III. 6. Résultats et discussion :

Nous avons testé l'effet antibactérien du DBC et leurs dérivés vis-à-vis de quatre bactéries via la méthode de diffusion sur le milieu solide. Certain composés testés ont démontré une activité biologique remarquable contre les différents types de bactéries à Gram positifs et négatifs.

Les résultats qualitatifs concernant les diamètres des zones d'inhibition du développement des différentes souches bactériennes testées, sont regroupés dans le tableau 07.

**Tableau 07:** Les valeurs de diamètre des zones d'inhibition (mm) des produits aux souches bactériennes testées.

Composé	Diamètre de zone d'inhibition en mm, la concentration en mg/ml							
	<i>B.subtilis</i>		<i>E.Coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>S.aureus</i>	
	15	30	15	30	15	30	15	30
DBC	<9	12	<9	11	<9	<9	<9	10
DCBC	<9	<9	<9	<9	12	13	10	12
DHBC	12	16	16	9,5	12	20	35	40

Les résultats de l'activité antimicrobienne du DBC, DCBC et DHBC obtenus par la mesure des diamètres d'inhibition de la croissance des microorganismes sont illustrés graphiquement par les figures 22, 23, 24.

Les figures 18, 19, 20 et 21 montrent les photographies des résultats obtenus de l'activité antibactérienne des composés testés contre les cinq souches bactériennes après 24 h d'incubation à 37°C.



Figure 18 : Aromatogramme de P.aeruginosa avec les produits A, B, C.

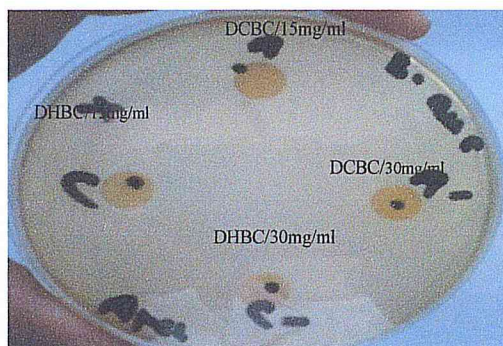


Figure 19: Aromatogramme de S.aureus avec les produits A,A' et C,C' .

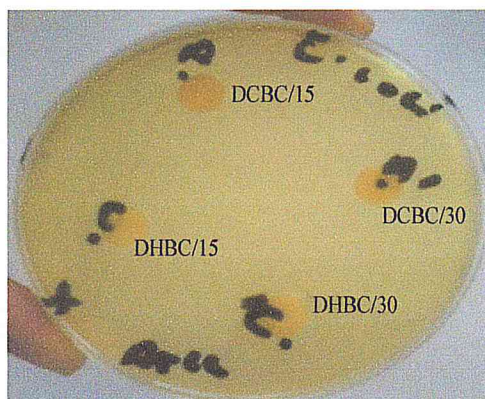
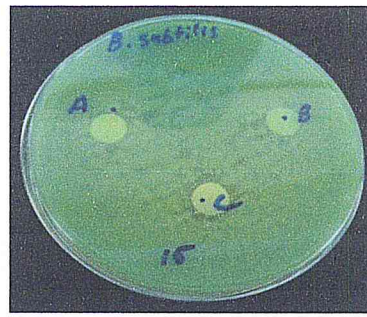
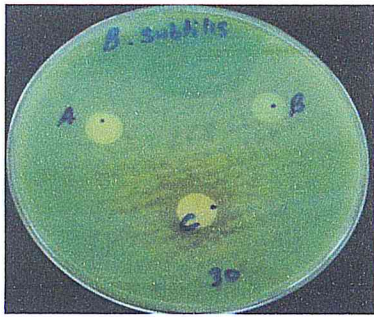
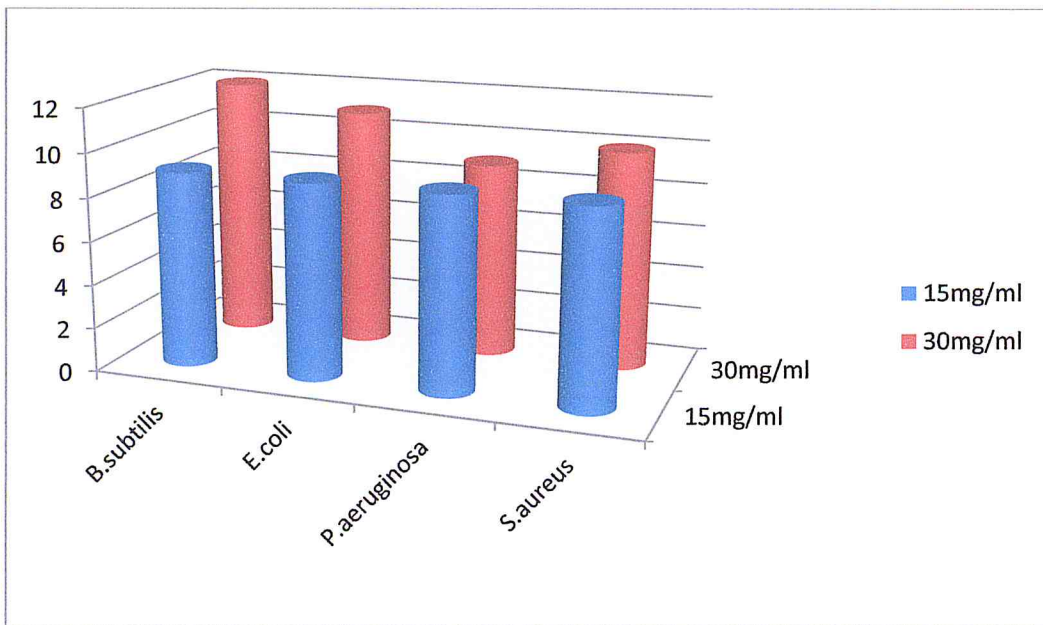


Figure 20 : Aromatogramme d'E.coli avec les produits A(DHBC), C(DCBC).

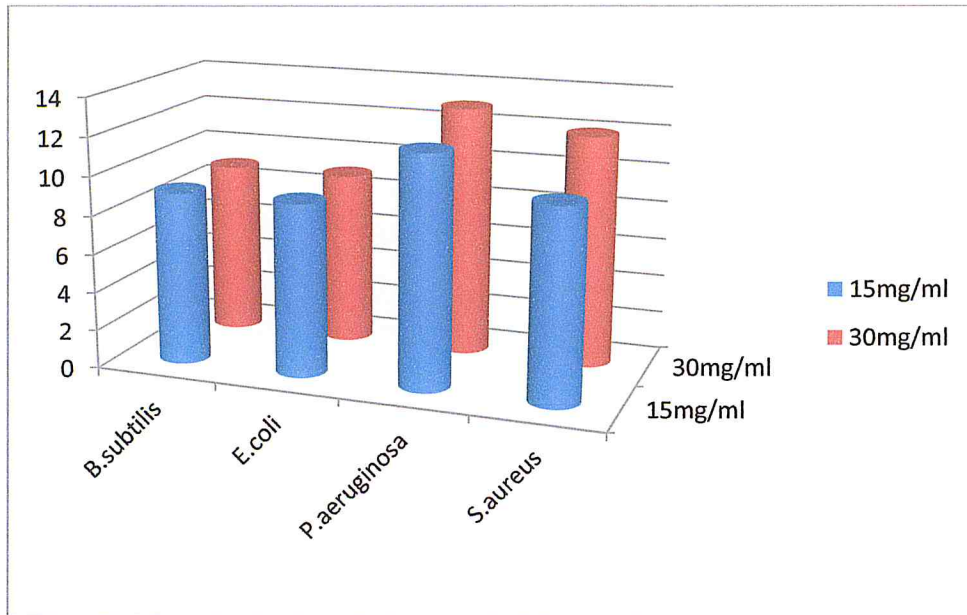




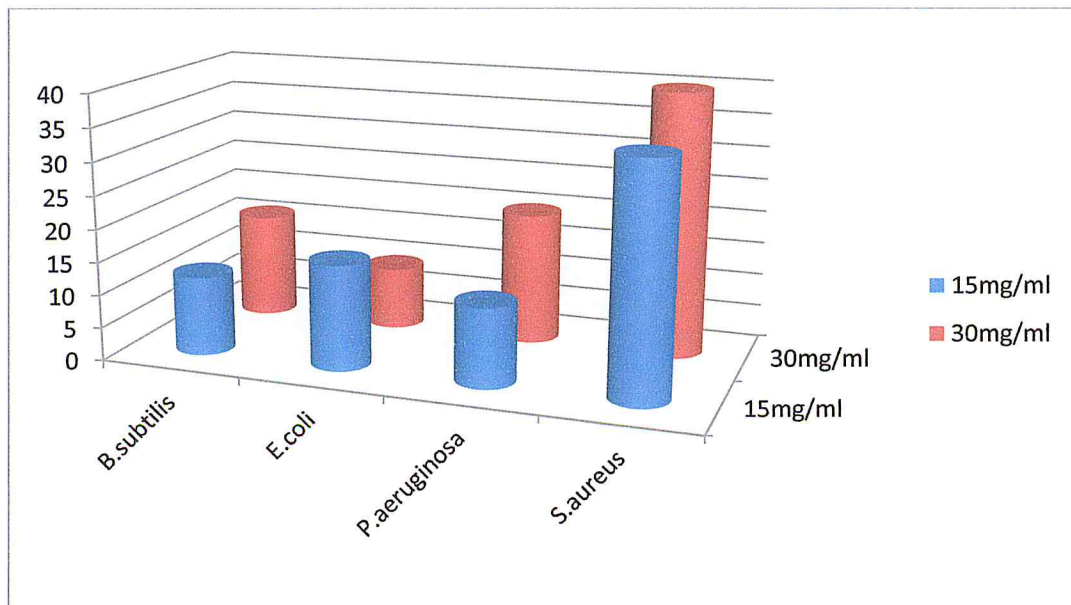
**Figure 21 :** Aromatogramme de *B.subtilis* avec les produits A, B, C.



**Figure 22:** Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de DBC relatif aux différentes souches bactériennes.



**Figure 23:** Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de DCBC relatif aux différentes souches bactériennes.



**Figure 24:** Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de DHBC relatif aux différentes souches bactériennes.

L'estimation de l'activité antibactérienne est basée sur une échelle de mesure, ils ont classé le pouvoir antibactérien, en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne en quatre classes [32] :

- Fortement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition  $\geq 28$  mm.
- Modérément inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 16 et 28 mm.
- L'égerment inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 10 et 16 mm.
- Non inhibitrice lorsque le diamètre le diamètre de la zone d'inhibition  $< 10$ mm.

L'examen des résultats obtenus montre que les produites **A, B et C** présentent une activité antimicrobienne vis-à-vis des quatre souches testées, à savoir : *Escherichia coli* (Gram<sup>-</sup>), *Pseudomonas aeruginosa* (Gram<sup>-</sup>), *Staphylococcus aureus* (Gram<sup>+</sup>), *Bacillus subtilis* (Gram<sup>+</sup>), et antifongique vis-à-vis *Candida albicans* (levure)

Selon l'échelle de mesure de l'activité antibactérienne on constate que :

La figure 22 montre que le composé DBC présente des diamètres d'inhibition inférieurs à 12mm. La bactérie *P. aeruginosa* n'est pas sensible pour le DBC avec un diamètre ( $<9$  mm) aux les deux concentrations (15mg/ml et 30mg/ml), par contre elle est moyennement sensible contre les deux bactéries *E.Coli* et *B.subtilis* avec une zone d'inhibition de 11mm, 12 mm respectivement comme elle est présente dans la figure22. Ce qui nous amène à dire que notre produit a un faible effet inhibiteur vis-à-vis de ces bactéries et par conséquence les souches *S.aureus* et *P. aeruginosa* sont moins sensibles au DBC par rapport aux autres souches.

D'après l'histogramme représenté par la figure 23, La bactérie *P.aeruginosa* elle est moyennement sensibles pour le produit DCBC aux les concentrations 30mg/ml et 15 mg/ml avec un diamètre de 13 mm, 12 mm respectivement comme elle est présenté dans la figure23. Par contre le DCBC il ne présente aucun effet antibactérien contre les bactéries *E.coli*, et *B.subtilis* avec un diamètre de ( $<9$  mm).

Le produit DHBC, à la concentration de 15 mg/ml est modérément inhibiteur vis-à-vis de *B.subtilis*, *E.Coli* et *P. aeruginosa*, présentant des zones d'inhibition de 12 mm, 16 mm et 12 mm respectivement, et a une action extrêmement sensible contre la bactérie *S.aureus* avec zone de 35mm. A la concentration de 30 mg/ml, il présente une grande activité contre la bactérie *S.aureus*, avec une zone d'inhibition de 40mm, et a une action extrêmement sensible contre les deux bactéries *P. aeruginosa* et *B.subtilis*, ces bactéries présentant des zones d'inhibition de 20 mm et 16 mm respectivement comme elle est présentée dans la figure24. Par contre son effet antibactérien est nul contre la bactérie *E.coli*.

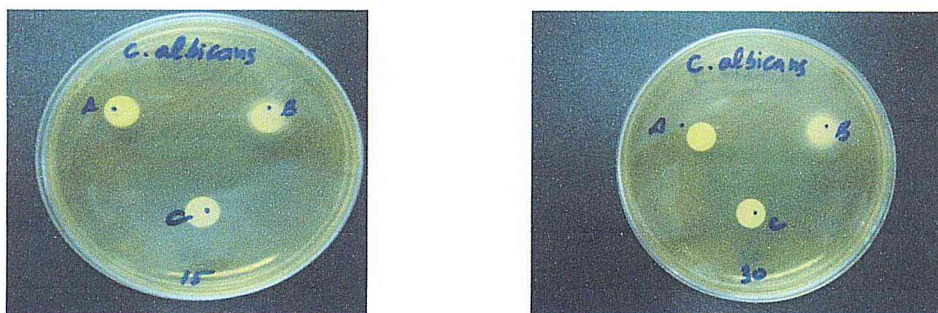
### III. 7. Activité antifongique :

Nous avons effectués des tests sur nos produits synthétisés contre UNE LEVURE le *Candida albican*. Les résultats expérimentaux sont présentés dans le tableau 08 :

**Tableau 08 :** Les valeurs de diamètre des zones d'inhibition (mm) des produits aux levures.

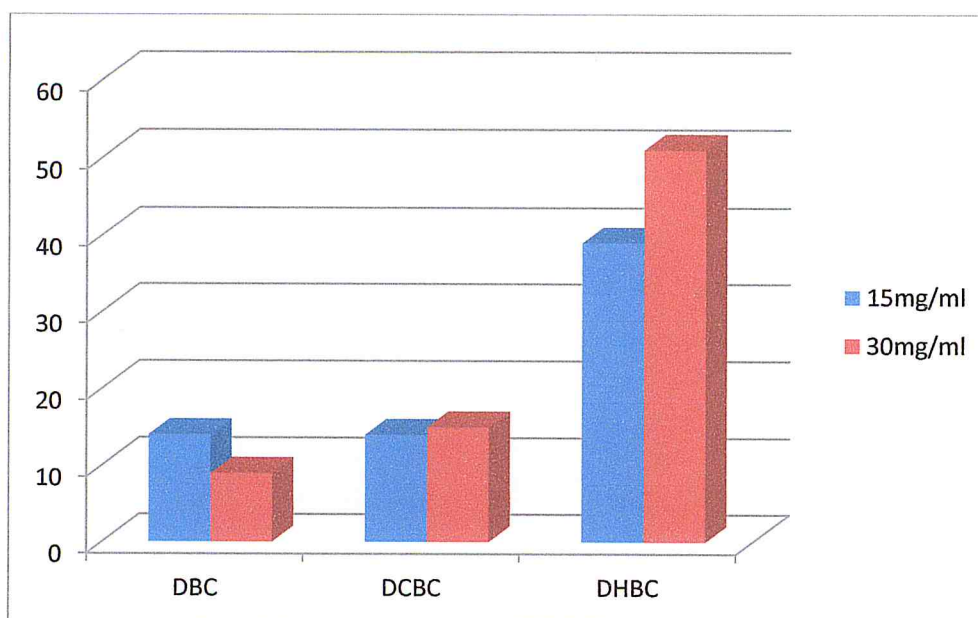
Composé	Diamètre de zone d'inhibition en mm, la concentration en mg/ml					
	DBC		DCBC		DHBC	
	15	30	15	30	15	30
<i>Candida albicans</i>	14	<9	14	15	39	51

LA figure 25 montrent les photographies des résultats obtenus de l'activité antifongique des composés testés contre *Candida albicans* après 48h d'incubation à 37°C.



**Figure 25 :** Aromatogramme de *Candida Albicans* avec les produits A, B, C.

Les résultats de l'activité antifongique des composés sont obtenus par la mesure des diamètres d'inhibition de la croissance des microorganismes qui sont illustrés graphiquement par le figure suivante. (Figure 26)



**Figure 26 :** Histogramme représentant l'étude comparative de l'activité antifongique des trois produits A.B.C avec *Candida Albicans* .

D'après la figure 26, à la concentration de 15 mg/ml, La levure *Candida albicans* elle est sensible pour les deux produits DBC et DCBC avec une zone d'inhibition 14 et 14 mm respectivement, elle est aussi extrêmement sensible pour le produit DHBC avec une zone de 39 mm. A la concentration de 30 mg/ml, le DBC ne montre aucune zone d'inhibition (<9 mm), par contre elle est très sensible pour le produit DCBC avec un diamètre de 15 mm et elle est extrêmement sensible pour le produit DHBC avec une zone d'inhibition de 51 mm.

#### **Interprétation des résultats :**

Les résultats obtenus dans cette étude ont révélé que tous les produits synthétisés présentaient des activités antibactériennes et antifongiques.

Le pouvoir antibactérien et antifongique sur les souches *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *P.aeruginosa*, *Candida albicans*, apparaît plus puissant le produit DHBC Donc on peut conclure que le produit DHBC exercent une activité antibactérienne et antifongique très importante par rapport aux autres produits DBC et BCBC.

# *Conclusion générale*

## *Conclusion générale*

Au cours de ce travail, nous avons synthétisé la molécule du dibenzylidène cyclohexanone et leur dérivé, le (2E,6E)-bis(2-carboxybenzylidene)cyclohexanone et (2E,6E) -bis(2-hydroxybenzylidene)cyclohexanone.

Le dibenzylidénecyclohexanone et ses dérivés synthétisés sont en cours de caractérisation par les différentes techniques spectroscopiques : (RMN du  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ ), l'IR à confirmé les bandes caractéristiques de nous produits.

Les produits synthétisés sont solides et stables à température ambiante, Leurs points de fusion sont élevés (>300).

Nous avons également réaliser une étude biologique sur les produits final (DBC), (DCBC) et (DHBC) vis-à-vis de quelques bactéries : *Escherichia coli* ( $\text{Gram}^-$ ) *p.aeruginosa* ( $\text{Gram}^-$ ) *Staphylococcus aureus* ( $\text{Gram}^+$ ) , *Bacillus subtilis* ( $\text{Gram}^+$ ) pour l'activité antibactérienne ,et *Candida albicans* pour l'activité antifongique. Ces tests ont été effectués au niveau de l'unité de bactériologie clinique de laboratoire centrale de l'Etablissement Public Hospitalier de Blida

Les résultats obtenus dans cette étude ont révélé que les composés synthétisés présentaient des activités antibactériennes et antifongiques. Les produits DHBC et DCBC exercent une activité antibactérienne et antifongique importantes.



*Références  
bibliographique*

## *Références bibliographiques*

- [1] S.Venkateswarlu; A. Krishnaraju ; V. Sushruta; G.V. Subbaraju. Asian Journal of Chemistry, 14 . 2002 , 409
- [2] V.Badmaev ;M.Majeed ; *Un Bioprotecteur Issu Du Curcuma*. Parfums Cosmétiques.Actualités, 154. 2000, 48
- [3] R.Anto ; J. Kuttan ; G. Dinesh Babu ; K.V. Rajasekharan ; International Journal of Pharmacy. 1996, 166
- [4] A.Nurfina ; N. Reksohadiprodjo ; M.S. Timmerman ; H. Jenie ; U. A. Sugiayanto ; European Journal Of Medicinal Chemistry.1997, p 321
- [5] C.C.Araujo; L.L.Leon: Biological Activities Of Curcuma Longa L. Mem Inst Oswaldo Cruz .2001, 723
- [6] M.Man Yin Chan; H.Huang; I.Fenton; D.Fong . Biochemical Pharmacology 55. 1998, 1955
- [7] E.Asente Appiah; A.Skalka; Molecular Mechanisms In Retrovirus DNA Integration. Antiviral Research 36.1997, 139
- [8] Y.Sasaki; H.Goto; C. Tohda; F. Hatanaka; N.Shibahara; Y.Shimada ; K.Terasawa; Biologica And Pharmaceutical Bulletin.2003, 1135
- [9] J.M.Ringman; S.A.Frautschy; G.M Cole; D.L.Masterman ; S.Cummings, Alzheimer Research,2005,131
- [10] a-Ammon HP, Wahl MA Pharmacology of Curcuma longa. Planta Med 57: 1-7.1991
- [11] Mukhopadhyay A, Basu N, Ghatak N, et al. Anti-inflammatory and irritant activities of curcumin analogues in rats. Agents Actions 12: 508-15,1982.
- [12] Surh Y-J, et al. Inhibitory effects of curcumin and capsaicin on phenol ester-induced activation of eukaryotic transcription factor, NF-kB and AP-L Biofactors ~2:107-112.(2000)
- [13] AGGARWAL B.B., SUNDARAM C., MALANI N., ICHIKAWA H. Curcumin: the Indian solid gold. Adv. Exp. Med. Biol., 2007; 595: 1 – 75.
- [14] M.K.Krackov; H.Bellis; Brevet PCT WO 97/16403 (1997). Chemical Abstracts; 1997, 17480
- [15] U.Das; J.Alcorn; A.Shrivastav; R.Sharma; E. Clercq; J. Balzarini; *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2007, 71

- [16] H.H.Tonnesen ; j.Karlsen; V.Henegouwen; Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und Forschung,1986,116
- [17] P.H.Bong; Bulletin of the Korean Chemical Society, 2000, 81
- [18] M.Ali ; A. Bagati; A Gupta; Indian Journal Of Chemistry,\*,1995.884
- [19] H.Tonnesen ;H.Karlsen,; Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und Forschung, ,1986, 215
- [20] Singh P., Bhargava G., Mahajan M.P., Tetrahedron, 2006, 62, 11267
- [21] Kirkiacharian S. ; Guide de chimie thérapeutique, 1996, Ellipses
- [22] A.Nouara Ziani; B.Assia Sid ;C.Albert Demonceau European Journal of Chemistry,2013, 123
- [23] U.Das; J.Alcorn; A.Shrivastav; R.Sharma; E. Clercq; J. Balzarini; *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2007, 71
- [24] W.Usama ;A. Hawas; A. Mohamed ;B. Al-Omar ;E.Abdel Galil ;B. Amr ; G.Abu El-Ftough ;A. Hammam ; Arabian Journal of Chemistry,2012, 509
- [25] M.C. Pibiri; Assainissement microbiologiques de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, Thèse de Doctorat de la Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit LAUSANNE, 28, 2005.
- [26] D.A Skoog; D.M. West; F.J. Holler ; Chimie Analytique Ed. De Boeck, 1991,11
- [27]. K. Randerath, Chromatographie sur couche mince. Ed. G. Villars. 1971.
- [28]. H. Günther, La spectroscopie de RMN. Principes de base, concepts et applications de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone-13 en chimie, 1994.
- [29]. M.J.D. Low, Infrared Fourier transforms spectroscopy. *anl.chem*, 41, 1969, 97-108
- [30] M.C. Pibiri; Assainissement microbiologiques de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, Thèse de Doctorat de la Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit LAUSANNE, 28, 2005.
- [31] A. ZHIRI; Aromathérapie:, Nutranews ; Ed: FONDATION LIBRE CHOIX, 2-16, 2006.
- [32] E. Jawetz; J.-L. Melnick; E.-A. Adelberg; « Microbiologie médicale », Presses Université Laval, 1973, 629.