

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed Boudiaf -M'sila



MEMOIRE

Présenté à la Faculté des Sciences

Département de Chimie

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Option : Chimie Pharmaceutique

Par **BOUBAAYA El-batoul** et **BEN OUMHANI Rahma**

THEME

**Activité biologique des complexes à base de
dérivés de la β -D-Glucosamine modifiée**

La soutenance aura lieu le **10/07/ 2019** devant le jury:

Mr. A. REFFES	Université M^{ed} Boudiaf-M'sila	Président
Mr. H. BOULEGHLEM	Université M^{ed} Boudiaf-M'sila	Rapporteur
M^{elle}. N. BENZEGGOUTA	Université M^{ed} Boudiaf-M'sila	Examinatrice

Année Universitaire : 2018/2019

Résumés

L'intérêt grandissant porté pour les Azométhane (imine) à la base de dérivés de β -D-glucosamine et leurs complexes. Dans la présente étude, nous avons testé l'efficacité biologique d'une imine native **1** et les trois complexes M (+II)-Azométhin-O-acétyl- β -D-Glucosamine (Ni **2**, Fe **3** et Co **4**) synthétisés et confirmés par l'analyse de la spectroscopie Y compris infrarouge et ultraviolet visible . L'activité biologique a été appliquée sur trois types de bactéries lequel : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, afin de déterminer si ces composés sont antibactériens. À travers les résultats, nous avons trouvé que, les azométhines et ces complexes n'ont pas montré une efficacité contre ces types des bactéries.

Mots Clés: Azométhines, Bactéries, Complexes, β -D-glucosamine modifiées, Activité Biologique.

ملخص

نظرا للاهتمام المتزايد عن لأزوميثان (إيمين) بقاعدة β -D- الجلوكوزامين ومجمعاتها التعقيدية. في هذه الدراسة، قمنا باختبار فعالية الأمينات الأصلية 1 والمجمعات الثلاثة معدن (II+) لأزوميثان O- استيل β -D- الجلوكوزامين (Ni 2, Fe 3, Co 4) تصنيعها وتأكيدها بواسطة تحليل التحاليل المطيافية بما في ذلك الأشعة تحت الحمراء والأشعة فوق البنفسجية المرئية . تم تطبيق النشاط على ثلاثة أنواع من البكتيريا بما في ذلك: الإشريكية القولونية، الزائفة الزنجارية، المكورات العنقودية الذهبية، لتحديد ما إذا كانت هذه المركبات مضادة للبكتيريات. من خلال النتائج، وجدنا أن، الأزوميثان وهذه المجمعات لم تظهر فعالية ضد هذه الأنواع من البكتيريا.

الكلمات المفتاحية: أزوميثان ، بكتيريا ، معقدة ، β -D- جلوكوزامين معدلة، نشاط بيولوجي

Abstract

The growing interest carried for Azomethane (imine) at the base of the drift of β -D-glucosamine and their complexes. In the present study, we tested the efficacy of a native imine **1** and the three complexes M (+II)-Azomethin-O-acetyl- β -D-Glucosamine (Ni **2**, Fe **3** and Co **4**) synthesized and confirmed by analysis of the spectroscopy Including infrared and ultraviolet visible . The activity was applied to three types of bacteria including: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, to determine if these compounds are antibacterial. Through the results, we found that, azomethanes and these complexes have not shown efficacy against these types of bacteria.

Keywords: Azomethines, Bacteria, Complex, Modified β -D-glucosamine, Biological Activity.

Dédicace

À mes chers parents, ma mère et mon père, sans leurs soutiens et leurs encouragements, je

n'aurai jamais pu accomplir ce travail

À toute ma famille, particulièrement

mes chers sœurs et frères : Yamina ,Salha , Soumia ,Abla ,Lakhdar et Ayoub

À mes petites :Alae Rahman , Soudjoud ,Djihad et Mouhamed

À mes tentes Malika et Aicha

À tous mes amis et proches : Rahma ,Kheyra , Souhila ,Soumia ,Nariman et Sara,

*À tous mes collègues et tous mes camarades (étudiants de
chimie pharmaceutique promotion 2018) pour tous les bons moments que
nous avons partagés.*

Merci.....

El-batoul

Dédicace

J'aimerais dédier ce travail :

*À ma mère, qui a toujours consenti pour moi les plus durs sacrifices,
et dont l'amour qu'elle a m'entouré m'émeut chaque jour davantage.*

À mon chère père .

À mes frères ; Khalil, Amar, Khemies, Tarek et Sami .

À mes sœurs ; Wafia, Fatima, Khadhra, Saliha, Hamida et Djihad ,

Pour leurs encouragements.

À mes amies d'ici et d'ailleurs, qui font partie de ma vie ; batoul,

Kheira, Souhila, Soumia, Sara, Karima, Ahlem, Halima .

À mes familles.

À mon Fiancé Outhemen.

À tous les personnes ayant connue de RAHMA loin au de près.



Rahma

Remerciements

*Ce travail a été réalisé au laboratoire centrale d'analyse à l'hôpital Zahraoui – M'sila, sous la direction de **Mr. BOULEGHLEM Hocine**.*

***A**vant tout nous remercions Allah le tout puissant qui nous à donner la force et la patience d'accomplir ce travail.*

***N**ous tenons tous d'abord à exprimer mes vifs remerciements à nous promoteur **Mr. BOULEGHLEM.H** d'avoir accepté d'encadrer ce travail.*

***P**our m'avoir fait découvrir et aimer la Chimie Pharmaceutique.*

***N**ous remercions tout particulièrement pour l'intérêt qu'il a porté à ce sujet, pour la confiance qu'il m'a accordée ainsi que pour les conseils qui m'ont encouragé à la mener à bien.*

***N**ous souhaitons remercier les membres du jury **Mr. A. Reffes** président de jury, et **M^{elle}. N.BENZEGGOUTA** d'avoir accepté d'examiner ce travail et d'être venu assister à la soutenance de ce Mémoire.*

***N**ous adressons mes remerciements également aux membres du laboratoire central (bactériologie):le chef service **M^{elle}. R. BAKIR** . et tous les membre de laboratoire pour leurs bonnes humeurs, leurs gentilleses et leurs collaborations et l'aide au laboratoire.*

***N**ous n'oublions pas de remercier **Mr. SAOUDI .A** pour son aide et à tous les membres du laboratoire de chimie.*

*Tables
des
Matières*



Tables des Matières

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

PARTIE.I

Etude Bibliographique

Chapitre .I.

Généralité sur les Azométhines et leurs complexes

I-1. Introduction.....	4
I-2 . Azométhines monodentate :.....	4
I-3. Utilisations des Azométhines.....	5
I-4. Rappel sur chimie des complexe	5
I-4-1. Historique	5
I-5. Rappel sur les Métaux de transition.....	6
I-5-1. Propriétés chimiques :.....	6
I-5-2. Eléments de transition en biologie :.....	6
I-6. Complexes des Métaux de transition	8
I-6-1. Types de Complexe	8
I-7. Applications des complexes des azométhines	8
I-8. Conclusion :	9

Chapitre .II .

Généralité sur les Bactéries

II-1. La découverte du monde bactérien :.....	14
II-2.Historique :	14
II-2-1.Définition :.....	15
II-2-2.Anatomie des bactéries :.....	15
II-2-3. Classification et identification des bactéries :	16
II-3. Antibiotiques	16
II.3.1. Introduction:.....	16
II-3-2. Définition :.....	16
II-3-3. Définition de la résistance aux antibiotiques :.....	16
II-3-4. Conclusion :.....	17

PARTIE.II

Partie Expérimental

Chapitre I

I-1 Introduction:.....	22
I-2 Objectif:.....	22
I-3. Méthodologie de travail :	22
I.4. Matériels et produits et réactifs:	23
I.4.a. Structure chimique des produits utilise et leurs caractérisations	23
I.4.b. Souches de références bactériennes incluses :.....	25
I.4.c. Appareillages et matériels:.....	25
I.4.d. Milieux de cultures utilisées:	25

I.4.e. Réactifs:	26
I.5. Préparation de milieu de culture :	26
I.6. Isolement et purification:	26
I.7. Identification:	26
I.7.a Aspect macroscopique (colonies) :	26
I.7.b. Aspect microscopique (coloration de Gram):	27
I.7.c Technique de la coloration de Gram :	27
I.8. Tests bactériologiques:	28
I.9. Identification des espèces bactérienne:	28
I.10. Conservation des souches bactériennes:	29
I.11. Les concentrations utilisées pour les produits testés :	29
I.12. Préparation des disques de papier :	30
I.13. L'antibiogramme :	30
I.13.a. Principe:	30
I.13.b. Antibiogramme standard:	30
I.13.c. Préparation de l'inoculum :	31
I.13.d. Préparation de la suspension microbienne :	31
I.14. Méthodes de travail et Application des disques :	31
I.15 Résultats des tests bactériologiques:	32
I.15.1 Test préliminaire de solvant utilisé:	32
I.15.2 Résultats de la détermination des diamètres d'inhibition de chaque souche par la méthode de diffusion :	32
I.16. Discussions des résultats :	33
I.17. Conclusion.....	34
Conclusion générale	38
Annexes	

Liste des tableaux :

PARTIE II: Partie Expérimental

Chapitre I

Tableau.1 : Caractéristiques physico-chimiques de l'imine 1, 3, 4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2-déoxy-2-[benzyliden-(amino)]- β - <i>D</i> -glucosamine 1	23
Tableau.2 : Caractéristiques physico-chimiques du complexe l'imine 1, 3, 4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2-déoxy-2-[benzyliden-(amino)]- β - <i>D</i> -glucosamine-Ni(II) :	24
Tableau.3 : Caractéristiques physico-chimiques du complexe 1, 3, 4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2-déoxy-2-[benzyliden-(amino)]- β - <i>D</i> -glucosamin-Fe(II) :	24
Tableau.4 : Caractéristiques physico-chimiques du complexe 1, 3, 4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2-déoxy-2-[benzyliden-(amino)]- β - <i>D</i> -glucosamin-Co(II)	24
Tableaux .5 : Caractères biochimiques et enzymatiques (<i>Escherichia Coli</i>).....	28
Tableaux .6 : Caractères biochimiques et enzymatiques (<i>Staphylococcus aureus</i>):	28
Tableaux .7 : Caractères biochimiques et enzymatiques (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>).....	29
Tableaux .8 : Gamme de dilution l'imine Native et des complexes M (+II)-Azométhin- <i>O</i> -acétyl- β - <i>D</i> -Glucosamine (Ni, Fe et Co).	30
Tableaux .9 : Test preliminaries.....	32
Tableaux .10 : Caractères des souches testées sur les quatre produits (Imine Native et les trois complexes M (+II)-Azométhin- <i>O</i> -acétyl- β - <i>D</i> -Glucosamine (Ni, Fe et Co).....	33

Lise des figures :

PARTIE.I: Etude Bibliographique

Chapitre I: Généralité sur les azométhines et leurs complexes

Fig.1 Complexes de Pd à base de Schiff monodentate	4
Fig.2 Structure de complexes de $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ et $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$	8

PARTIE II: Partie Expérimental

Chapitre I

Fig.1 Aspect macroscopique des colonies vu à l'œil nu	27
Fig.2 Galerie spécifique pour l'identification de la bactérie (Escherichia Coli).....	28
Fig.3 Galeries spécifiques pour l'identification de la bactérie (Staphylococcus aureus).....	28
Fig.4 Galerie spécifique pour l'identification de la bactérie (Pseudomonas aeruginosa).....	29
Fig.5 Suspension bactérienne (inoculum).	31
Fig.6 Antibiogramme des produits avant l'incubation de 24h	32
Fig.7 Antibiogramme des produits après l'incubation de 24h	32
Fig.8 Effet des produits sur les trois souches bactériennes.	33

Lise des Schéma:

PARTIE II: Partie Experimental

Chapitre I

Shéma.1 : Méthodologie de travail	22
--	-----------

Liste d'abréviation

UV : Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible.

IR : Spectroscopie Infrarouge.

CMI : Concentration Minimale d'Inhibition d'Antibiotique.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

EDTA : Éthylène Diamine Tétra Acétate

LPS : Lipopolysaccharides

ARN : L'acide ribonucléique

ADN : L'acide désoxyribonucléique

TSI : Triple Sugar Iron

LDC : Lysine décarboxylase

ODC : L'ornithine décarboxylase

ADH : L'arginine dihydrolase

VP : Voges-Proskauer

CS : Citrate de Simmons

Introduction générale

Introduction générale

Les succès de la thérapeutique anti-infectieuse moderne, sont les conséquences de nombreuse recherche. Les anti-infectieuses ont été développées dans les domaines de synthèse, d'analyse et de contrôle des produits pharmaceutiques. ^[1]

Dans les dernières années, les chercheurs se sont intéressés à la préparation des azométhines par différentes méthodes, et ce pour les différences de réactivités médicale, biologique, et autre qu'elles présentent. Elles utilisent des antibiotiques, Antibactérienne, anticancéreux, anti tumeurs, anti tuberculose et plusieurs maladies Incurables. ^[2]

Aujourd'hui, les azométhines sont utilisées comme intermédiaires pour la synthèse des acides aminés ou comme ligands pour la préparation des complexes métalliques ayant une série de différentes structures. Une azométhine se comporte comme un ligand de Flexidentate et se coordonne généralement avec l'ion métallique par l'atome d'oxygène provenant de la déportation du groupement phénolique et par l'atome d'azote du groupement d'azométhine. ^[3]

Le but principal de ce travail est l'étude de l'effet biologique que la présence d'une activité antibactériennes ou une autre activité des complexes M (+II)-Azométhin-O-acétyl- β -D-Glucosamine (Fe, Ni et Co), sur des différentes souches bactéries. Dans ce manuscrit, nous présenterons une revue bibliographique concernant les deux axes principaux de ce projet, à savoir les ligands de type azométhines et leurs complexes et le mode des bactéries. Par suite, nous résumerons le travail effectué tout le long de cette mémoire, nous exposerons les résultats trouvés et interpréterons ces derniers. Nous terminerons par une conclusion des acquis obtenus à travers ce travail.

Introduction générale

*Etude
Bibliographique*



PARTIE.I
Etude Bibliographique

Chapitre. I



Chapitre .I. Généralité sur les Azométhines et leurs complexes

I-1. Introduction

Les Azométhine (imines) connaissent actuellement un développement considérable en chimie thérapeutique et en chimie des polymères. La fonction imine est une fonction plus simple de formule générale $[R_1, R_2C=NR_3]$. Ils sont obtenus par condensation d'une amine primaire avec un aldéhyde ou une cétone. À cause de cette réactivité les imines sont utilisées pour détecter la présence d'un groupement carbonyle dans un composé, et pour former les dérivés cristallins des composé carbonylés c'est une application importante [4]

Les Azométhines doivent leur nom à Hugo Schiff qui les a synthétisées pour la première fois en 1864 par condensation d'une amine primaire avec un aldéhyde ou une cétone. Elles sont très étudiées en chimie de coordination car elles constituent une classe importante d'agents chélatants. Elles possèdent également une vaste activité biologique attribuée à leur grande capacité à complexer les ions métalliques pour former des complexes susceptibles de mimer les systèmes biologiques. [5]

On peut classer les ligands des Azométhines selon plusieurs structures : mono, bi, tri, tétra, penta, hexa, heptadentate et polydentate comme suit : [6]

I-2 . Azométhines monodentate :

C'est une molécule qui possède un seul site de fixation à l'atome métallique, elle cède au métal central un doublet non liant avec création d'une liaison. Cette base est illustrée par l'exemple qui suit à savoir la réaction du méthyl amine avec le benzaldéhyde suivi par une déshydratation (Schéma. I.1.) :

- ⊕ Un complexe de palladium stabilisé par l'interaction de la liaison intramoléculaire entre le palladium et l'hydrogène. [06]

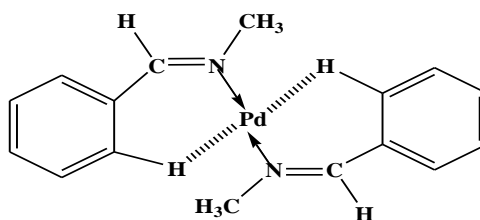


Fig.1 Complexes de Pd à base de Schiff monodentate

I-3. Utilisations des Azométhines

Grâce à leurs importances dans la vie humaine, les azométhines et ses complexes sont exploités dans divers domaines, parmi lesquels on cite leurs utilisations dans :

- ✚ Le traitement de quelques maladies (accumulation du cuivre dans le foie, le crevé au et les reins ou certaines formes de cancer) .
- ✚ Dans le domaine de la chimie analytique (titrage, précipitation et Séparation des métaux).
- ✚ L'oxydation catalytique des hydrocarbures qui sont diversifiés suivant la Nature de fonction chimique des composés organiques, tel que l'oxydation des alcools, carboxylation des halogénures, oxydation des amines primaire, les phénols et les hydrocarbures. ^[05]

En biologie :

Ces systèmes biomimétiques ont fait l'objet de nombreux travaux durant ces dernières décennies et acquièrent actuellement une importance primordiale, tant sur le plan de la recherche que sur le plan industriel. Ainsi, leurs propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes et antifongiques ont été testées et examinés vis-à-vis de plusieurs bactéries et maladies virales ou infectieuses. ^[07]

I-4. Rappel sur chimie des complexe

I-4-1. Historique

Par le milieu des années 1870, Sophus Jorgensen au Danemark avait systématisé les méthodes de synthèse pour préparer les composés de coordination qui étaient connus à cette époque, en particulier ceux de cobalt (III). Seulement en 1893 est le mode de liaison dans les complexes mis en place par Alfred Werner (qui a reçu le prix Nobel en 1913 pour ce travail).

Werner a conclu que la plupart des complexes de coordination étaient essentiellement octaédriques, avec six ligands liés à un ion métallique central (plus ou moins, un dessus, un dessous et quatre dans le même plan que l'ion métallique). Il en déduit que les complexes Pd(+II) et Pt (+II) ont été plan carré, avec quatre ligands liés à l'atome métallique. Il a utilisé le mot Allemand Nebenvaleanz (valence secondaire de signification) pour le nombre de coordinations et Hauptvalenz (principal valence) pour le nombre d'oxydation du métal. ^[08]

I-5. Rappel sur les Métaux de transition

Le corps humain contient environ 3% en masse d'ions métalliques. Malgré cette faible teneur, ces ions jouent des rôles extrêmement importants dans les divers mécanismes du métabolisme des organismes vivants pour lesquels les métaux sont indispensables. ^[05]

Les métaux de transition ont été ainsi appelés parce qu'ils semblaient assumer la transition entre les éléments à caractères métalliques très prononcés et les non-métaux (Anciennement métalloïdes). Dans le tableau de MENDELEÏEFF, ils constituent un pont entre les deux classes d'éléments.

La caractéristique principale des métaux de transition est de présenter une couche d'orbitales *d* incomplètement saturée en électrons. Les cinq orbitales *d* se remplissent progressivement par acquisition de 1 à 10 électrons, selon une des règles d'Hund. [09]

I-5-1. Propriétés chimiques :

Excepté les éléments de la première colonne (Sc, Y et La), la plupart des métaux d'éléments *d* sont peu réactifs vis à vis de l'eau à température ordinaire. Au contact de l'atmosphère, ils se recouvrent d'une fine pellicule d'oxyde qui protège le métal d'attaque chimique dans les conditions standards. Notons que le fer à l'état métallique subit des phénomènes de corrosion si importants qu'ils conduisent à la destruction du métal pour former la rouille (oxyde de Fe (+III) : Fe_2O_3).

Quant au cuivre, il réagit avec l'humidité et le gaz carbonique de l'air et forme au cours de cette réaction du carbonate hydraté vert. C'est lui qui est responsable du manteau vert des toits de cuivre. [10]

I-5-2. Eléments de transition en biologie :

Les métaux de transition, notamment le fer, le cuivre, le manganèse, le cobalt et le molybdène, sont des catalyseurs et des peroxydations lipidiques. Leur structure électronique leur permet d'être complexés par des ligands (ou chélateurs), au moyen de liaisons de coordination laissant libres leurs liaisons de valence. Les complexes métalliques ainsi formés permettent la fixation d' O_2 sur des molécules organiques. Les hèmes, groupements prosthétiques d'un grand nombre d'enzymes, des cytochromes, de l'hémoglobine et de la myoglobine, sont constitués par un atome de fer complexé par une porphyrine.

Aux très faibles concentrations (ordre de la micromole), ils catalysent énergiquement la peroxydation des lipides. Des traces d'hémoglobine provoquent le rancissement du lard, c-à-d la peroxydation des graisses non saturées de cet aliment. [10]

Cobalt

Est l'un des plus importants métaux de transition du point de vue Biologique, les ions cobalt agissent dans l'activation du cholinestérase, carboxylase et phosphoglucomutase, de plus ils assurent une protection contre la pression trop élevée de l'oxygène entrant dans les

poumons lors de la respiration. Les ions cobalt agissent aussi comme agents bactériostatiques compétitifs aux antibiotiques.^[105]

Le rôle biologique du cobalt est aussi lié à celui de la vitamine B12, contenant dans sa molécule un atome de cobalt. Il doit être fourni en totalité dans sa forme physiologiquement active, la cyanocobalamine ou vitamine B12. Sa carence est très difficile à mettre en évidence en raison de sa concentration extrêmement faible dans les milieux biologiques.^[11]

Fer

Le fer est un élément chimique, Il est un oligo-élément et fait partie des sels minéraux indispensables qu'on retrouve dans les aliments, mais peut être toxique sous certaines formes. Le fer est essentiel au transport de l'oxygène et à la formation des globules rouges dans le sang. Il est un constituant essentiel des mitochondries, puisqu'il entre dans la composition de l'hème du cytochrome C. Il joue aussi un rôle dans la fabrication de nouvelles cellules, d'hormones et de neurotransmetteurs.

L'accumulation de fer dans l'organisme entraîne la mort cellulaire. Des chercheurs de l'Inserm suspectent, à cause de cela, que l'excès de fer pourrait être impliqué dans la dégénérescence des neurones chez les patients atteints de la maladie de Parkinson.^[12]

Nickel

Le Nickel a été utilisé pendant des siècles avant sa découverte réelle et son isolement. Au 17^{ème} siècle, les mineurs allemands ont découvert un minerai de couleur rouge qu'ils croyaient contenir du cuivre.^[13] Le nickel est classé en 24^{ème} place selon le degré d'abondance dans la nature,^[14] et il est le septième élément de transition le plus abondant.^[13] Le nickel est un métal de transition dans le groupe VIII_(B) du tableau périodique qui suit le fer et le cobalt. Sa configuration électronique est: 4s² 3d⁸. Bien que le nickel puisse exister dans plusieurs états d'oxydation -1, 0, +2, +3, +4, son état d'oxydation le plus fréquent est le nickel (+II) dans les conditions environnementales normales.^[15] Le nickel est un élément dont l'intérêt biologique ne cesse d'accroître. Divers complexes à base de nickel ont été utilisés avec succès comme agent antiépileptiques, anticonvulsifs. D'autres complexes de Ni (+II) présentent une activité antibactérienne, Antimicrobienne et anti-cancéreuse.^[16]

I-6. Complexes des Métaux de transition

Un complexe est constitué d'un ion métallique central sur lequel viennent se fixer un certain nombre de molécules neutres ou d'ions, appelés ligands. Les propriétés chimiques de l'assemblage qui en résulte dépendent de la nature de la liaison entre l'ion métallique et les

ligands (ion-dipôle, ionique) et de l'arrangement géométrique de ceux-ci autour de l'ion central, lui-même contrôlé par les propriétés électroniques de l'ion et des ligands. Deux exemples d'arrangements octaédriques sont présentés ci-dessous, dans lesquels l'assemblage se fait soit par liaisons ion-dipôle (ici entre le cation et le dipôle de l'eau) ou ion-ion (entre le cation et le chlorure).

L'arrangement choisi est octaédrique, une géométrie que l'on retrouve souvent dans les complexes des cations métalliques 3d, (c'est-à-dire de la première série de transitions). [17-18] Lorsqu'un ion s'entoure de ligands pour former un complexe, on parle de réaction de complexation. Ces réactions provoquent souvent des changements de couleur, démontrant que les propriétés électroniques des complexes sont différentes de celles des réactifs de départ [09].

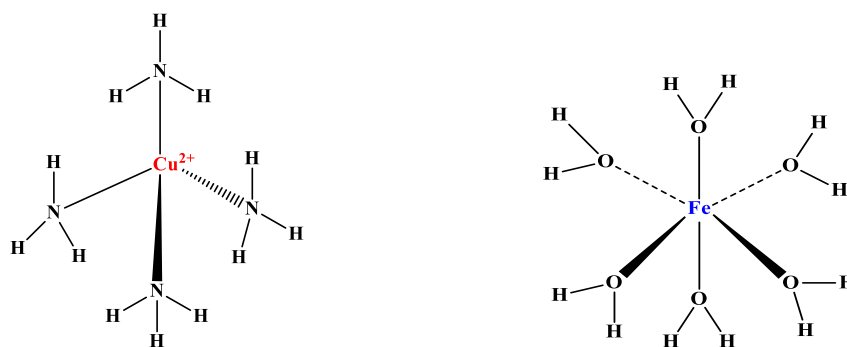


Fig.2 Structure de complexes de $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ et $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$

I-6-1. Types de Complexe

La classification des complexes se base sur le nombre d'ions ou d'atomes centraux qu'ils comportent. Ce sont des complexes monométalliques (on dit aussi mononucléaires). Si l'entité complexe comporte deux ou plusieurs ions métalliques on la désigne par les termes bimétalliques (Binucléaire), Trimétallique (Trinucléaire), Polymétallique (Polynucléaire). [19]

I-7. Applications des complexes des azométhines

Au cours de ces dernières décennies, les chercheurs ont prêté une grande importance à la synthèse et caractérisation des azométhines et de leurs complexes métalliques, en vue de les appliquer dans différents domaines de la chimie, à savoir : la chimie analytique, la catalyse homogène et hétérogène [20], l'industrie pharmaceutique, la médecine ainsi que l'activité biologique [21] comme agents antibactériens et antifongiques. [22]

En Médecine :

- ✚ Des complexes de platine sont utilisés dans le traitement de certains cancers (cisplatine, carboplatine, oxaliplatine...etc.) [23];

- ✚ La capacité complexant de l'EDTA est mise à profit dans le traitement d'intoxication par des métaux, le plomb en particulier ;
- ✚ Des complexes de gadolinium sont utilisés comme agents de contraste en imagerie par résonance magnétique (IRM). [24].

En Chimie :

Les complexes en chimie des solutions ont des utilités multiples :

- Solubiliser un métal contenu dans un minerai (exemple : l'or solubilisé comme un complexe cyanuré) ;
- Caractériser la présence d'une espèce chimique par formation d'un complexe coloré. [25]

En Biologie :

La vie se présente sous tellement de formes et a des échelles si différentes que la biologie couvre un très large spectre.

On va suggérer quelques exemples. Les Azométhine dérivées d'amine condensée avec Salicylaldehyde ou Ortho vanilline et leurs complexes de nickel, zinc et de cobalt qui sont préparé par Hassan Keypour et Coll [26], ont montré une activité antibactérienne vis-à-vis des trois bactéries Gram⁺, trois autres de Gram⁻ et aussi contre deux levures : C. tropicalisé et C. albicans. Ils ont réalisé aussi le clivage de l'ADN qui a été examiné en utilisant des expériences d'électrophorèse sur le gel.

Les complexes du Fe(+II), Co(+II) et Ni(+II) qui sont préparés par Charef et coll [27], à partir d'un dérivé d'amine et salicylaldehyde, sont utilisés comme un antioxydant, antibactérien et aussi un antimicrobien vis-à-vis des bactéries Gram⁺ et Gram⁻. [18]

I-8. Conclusion :

Ce chapitre est basé à la recherche bibliographique sur les azométhines, et la diversité, de leurs classifications et leurs utilisations particulièrement en biologie, les types de complexe, et leurs applications des complexes des azométhines, ainsi, une section présente une généralité bibliographique sur éléments de transition dans la biologie (Cobalt, Fer et Nickel), mérite une étude plus approfondie.

Références



Références
Bibliographiques
Chapitre I

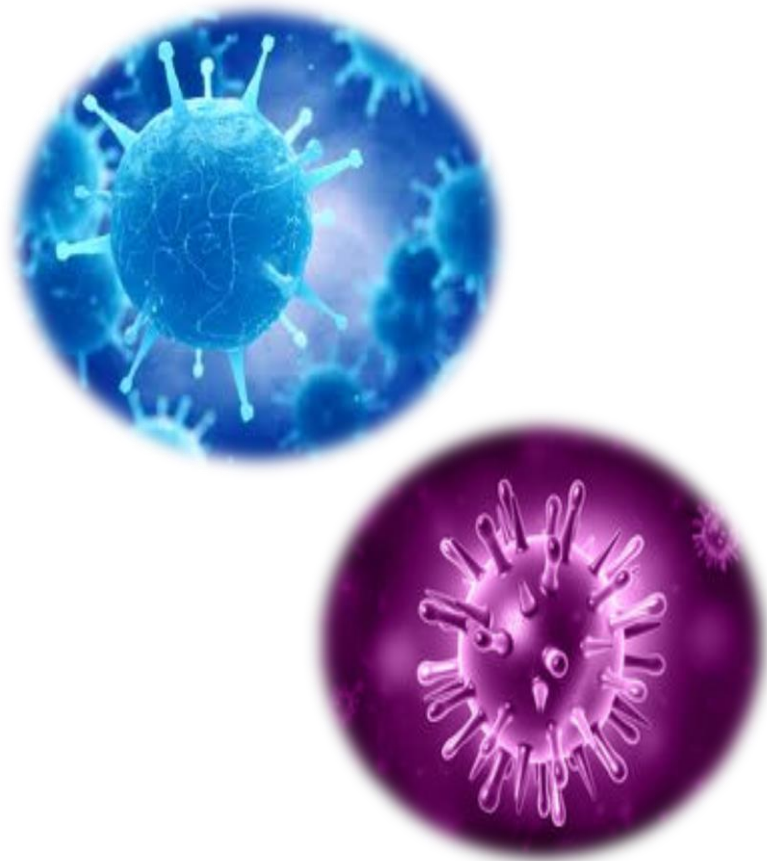
- [1] I. Raache ; Synthèse d'acétanilide et l'étude de son effet synergique avec le noyaude l'acide 6-Aminopénicillanique ; Mémoire de fin d'études, Université de Ouargla, (2012).
- [2] O. Bouchaala; Synthèse, Caractérisation et Activité biologique d'une base de Schiff, Mémoire de master, Université de Ouargla, (2013) .
- [3] T. Mahmud; Synthesis And Characterization Of The Amino Acid Schiff Bases And Their Complexes With Copper(II); University Of Manchester.UK , (2010) .
- [4] J. Bruneton ; Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales; La Voisier Tec Et Doc, Paris, 268-277, (1993).
- [5] A.Boulkroune ; Complexes de bases de Schiff avec Mn(II), Co(II), Ni(II) et Cu(II) , Synthèse, Caractérisation et Activité Antibactérienne . Mémoire de Master, Université de Béjaïa, (2013).
- [6] S. Messali ; Conception de nouveaux matériaux d'électrode à base de motifs électropolymérisable-application de ces électrodes modifiées en électrocatalyse, Mémoire de doctorat, université de sétif, (2015).
- [7] F. Kerma; Synthèse de quelques base de Schiff , Mémoire de Master, Université de djelfa, (2015) .
- [8] S. kumar, D. dath, P. V. Saxena, *Journal of scientific and industrial research*, 68, 187, (2009).
- [9] B. George; *Coordination Chemistry, A Century of Progress* Washington, DC:American Chemical Society, (1994) .
- [10] M. gerloch et c.constable ; *Transition metal chemistry*, Editions Vch., weinheim ,New York, 211, (2000) .
- [11] F.Fenanir; Synthèse et caractérisation de Nouvelle molécule a effet thérapeutique contenant des ligands (base de Schiff), Mémoire de Magister, Université de Sétif, (2009) .
- [12] B. Meunier et J. Bernadou; Active iron-oxo and iron-peroxo species in cytochromes P450 and peroxidases; oxo-hydroxo tautomerism with water-soluble metalloporphyrins. In *Metal-oxo and metal-peroxo species in catalytic oxidations*, Springer, Berlin, 1-35, (2000) .
- [13] C. Philippe; technique d'analyse des oligoéléments chez l'homme, *Technique et documentation*,Lavoisier, (1995) .
- [14] F .Touri ; Synthèse de nouveaux matériaux moléculaires par phosphorylation des dérivés aminés et étude de leurs propriétés électrochimiques et complexantes, Mémoire de Magister, Université de Sétif, (2012).
- [15] R. J. Lancashire; *Nickel Chemistry*, University of the West Indies, 1-7, (2006).

- [16] M. Fay, S. Wilbur, H. Abadin, L. Ingerman, S. G. Swarts, S. Research, Toxicological Profile for Nickel. Ed, U.S. 1-185(2005).
- [17] K. C. Skyrianou, V. Psycharis, C. P. Raptopoulou, D. P. Kessissoglou, G. Psomas, *J. Inorg. Biochem*, 105, 63–74, (2011).
- [18] S. F. A. Kettle ; Physico-chimie inorganique, une approche basée sur la chimie de coordination, Université Paris, (1999) .
- [19] P. H. Walton; Beginning Group Theory for Chemistry, Workbooks in Chemistry, Oxford University Press, Oxford, (1998).
- [20] I. Rabab; Complexes de cuivre avec des ligands de type salen, synthèse et caractérisation, Mémoire de Master, Université de Tlemcen, (2015).
- [21] E.Lamour, Routier ; S, *J. Am. Chem. Soc*, 121, (1999), (1862).
- [22] J.G.Muller; S.J.Paikof; *Journal of Inorganic Biochemistry*, 54, 3, (1994).
- [23] J. Charo; J. A Lindencrona,. *Journal of Virology*, 78, 20, (2004).
- [24] C-Ji, Shannon E. Day, William C. Silvers ; *J.Electroanal.chem*, 15-21, 622, (2008) .
- [25] Y. Haidye; Sylvestrene; coord chem.Rev,99, 253, (1990) .
- [26] H. Keypour; Shooshtari, A, *Polyhedron* , 29, (2015) .
- [27] N. Charef, F.Sebti; *Polyhedron*, 85, 450-56, (2015).

Chapitre. II



Chapitre .II . Généralité sur les Bactéries



II-1. La découverte du monde bactérien :

Anton Van Leeuwenhoek (1632-1723), drapier hollandais et grand amateur de loupes et instruments ^[1] d'optique, découvre et décrit entre 1674 et 1687 le monde microbien (Les animalcules). Mais celui-ci n'est véritablement reconnu qu'à partir du milieu du XIXe siècle à la suite des travaux de Louis PASTEUR et de ses élèves. En 1866, HAECKEL ^[2] crée le terme de **protistes** pour désigner, entre le monde animal et le monde végétal, les êtres unicellulaires et les êtres pluricellulaires sans tissus différenciés. Les protistes sont classés en deux catégories :

- Les protistes supérieurs ou **eucaryotes** qui possèdent un noyau entouré d'une membrane, des chromosomes, un appareil de mitose et une structure cellulaire complexe (mitochondries notamment).
- Les protistes inférieurs ou **procaryotes** qui ont un chromosome unique sans membrane nucléaire et sans appareil de mitose, et une structure cellulaire élémentaire (pas de mitochondries). Les bactéries font partie des protistes procaryotes.

En 1878, SEDILLOT ^[3] crée le terme de *microbes* parmi lesquels on distinguera ensuite les bactéries proprement dites et les virus. Le terme virus, qui au début désignait tout agent infectieux, est maintenant réservé à la catégorie bien particulière de microbes qui ne possèdent qu'un seul type d'acide nucléique et qui sont incapables d'assurer à eux-seuls la synthèse de leurs propres constituants. Seule l'expression « réservoir de virus » a gardé un sens général : elle signifie réservoir de germes (de microbes) sans préjuger de la nature exacte du germe (du microbe) en question. ^[4]

II-2. Historique :

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

En 1673, Antoni Van Leeuwenhoek (1632-1723) ^[5] fut le premier à observer les bactéries qu'il appela animalcules. En plus de la première description des globules rouges et des spermatozoïdes, ce drapier hollandais observa pour la première fois les bactéries et décrivit leurs différentes formes.

Ce n'est que deux siècles plus tard que le rôle des bactéries dans les processus de fermentation et dans la transmission des bactéries a été découvert et que leur étude a commencé. ^{[6][7]}

II-2-1. Définition :

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires qui ont une taille de quelque micromètres de long (entre 0,5 et 5 μm , habituellement) et des formes variées, sphériques, bâtonnets, spiralées.

Dans le corps humain, il y a environ dix fois plus de cellules bactériennes comme des cellules humaines, avec une grande quantité de bactéries dans la peau et le tractus Digestif. Bien que la protection de l'effet du système immunitaire système fait que la grande majorité de ces bactéries est inoffensives ou bénéfiques, certaines bactéries pathogènes peuvent entraîner des maladies infectieuses, y compris le choléra, la syphilis, la lèpre, typhus, diphtérie, fièvre écarlate. [8]

II-2-3. Anatomie des bactéries :

Les bactéries sont des êtres unicellulaires qui possèdent les éléments essentiels à la vie cellulaire.

Anatomie fonctionnelle des bactéries Leur taille varie de 1 à 10 microns (μm). Elles ne sont donc visibles qu'au microscope optique ($\times 10^3$) ou au microscope électronique ($\times 10^6$). Elles peuvent être désintégrées par divers procédés physiques et chimiques, ce qui permet d'étudier les constituants bactériens ainsi libérés.

Quelques chiffres concernant une bactérie-type, *Escherichia coli* :

- Poids d'une cellule : 10^{-12}g
- Eau : 70 %
- Poids sec d'une cellule : $3 \cdot 10^{-13}\text{g}$
- Proportion du poids sec : protéines 55 %, lipides 10 %, lipopolysaccharides (LPS) 3 %, peptidoglycane 3 %, ribosomes 40 %, ARN 20 %, ADN 3 %. [9]

II-2-4. Classification et identification des bactéries :

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

La classification des bactéries (taxonomie) a d'abord été fondée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques, puis de leurs caractères génotypiques. [6,7]

II-3. Antibiotiques

II.3.1. Introduction:

L'utilisation thérapeutique croissante d'antibiotiques a conduit à l'émergence rapide de souches bactériennes multi-résistantes. Les souches antibio-résistantes sont d'abord apparues en milieu hospitalier; récemment, leur rôle pathogénique dans certaines infections chez l'homme et l'animal et leur présence dans la flore digestive humaine ont été observés. De plus, des bactéries résistantes ont été isolées de l'environnement.

II-3-2. Définition :

Un antibiotique ^[9] (du grec *anti* : contre, et *bios* : la vie) est une substance naturelle ou synthétique qui détruit ou bloque la croissance des bactéries. Dans le premier cas, on parle d'antibiotique bactéricide et dans le second cas d'antibiotique bactériostatique. Lorsque la substance est utilisée de manière externe pour tuer la bactérie par contact, on ne parle pas d'antibiotique mais d'antiseptique. S'il s'agit non pas d'une substance mais d'un virus, on parle de bactériophage.

II-3-3. Définition de la résistance aux antibiotiques :

En 1961, un comité d'experts réunis par l'OMS avait donné deux définitions de la résistance bactérienne. ^[10] Un germe est dit résistant quand la concentration d'antibiotique qu'il est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration qu'il est possible d'atteindre *in vivo* ;

Une souche microbienne ou une bactérie sont aussi dites résistantes quand elles supportent une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce ou des individus de la même culture. Ces deux définitions bactériologiques de la résistance doivent être complétées par deux autres : une clinique et une génétique.

La définition clinique associe les notions de succès et d'échec clinique. En première approximation, une bactérie résistante est une bactérie qui échappe au traitement, ce qui peut se manifester par un échec clinique. La définition génétique correspond à la présence de gènes de résistance au sein de la bactérie, détectés par des techniques biophysiques et/ou génétique.

^[12]

II-3-4. Conclusion :

La consommation croissante d'antibiotiques reflète l'intérêt de ces molécules pour traiter et prévenir les infections humaines et animales. L'évolution lente, progressive et préoccupante de nombreuses espèces bactériennes vers la résistance influe sur la thérapeutique et nécessite la recherche de molécules nouvelles. La contamination de l'environnement par des bactéries résistantes traduit l'impact à plus long terme de ces phénomènes. Une telle évolution des bactéries résistantes est très liée aux bases moléculaires et aux mécanismes de résistance qui conditionnent l'épidémiologie de l'antibio-résistance.

Références



Références

Bibliographiques

Chapitre II

- [1] P. Hamou ; Exemple d'Antony Van Leeuwenhoek (1673-1723). *Revue du Nord* , 312, 775-798, (1995).
- [2] J. Godeaux ; perçu de la biologie marine, l'Université de Liège au cours de ces cent vingt dernières années , 13, (1989) .
- [3] N. Steinfeld, B. Toma ; Origines de la «Otion de Réservoir »en épidémiologie, *Bull.soc.fr.hist.méd.sci.vét*, 13 ,99-108, (2013).
- [4] Bactériologie - Niveau Dcm1e Université Pierre et Marie Curie, 9/122, (2002- 2003).
- [5] *Revista Argentina de Microbiología*, Van Leeuwenhoek, 42 : 311, (2010).
- [6] J. Claude burdin ; *Mille du vergne, les bactéries*, presses universitaires de France-Paris, (1973).
- [7] P. Singleton, Jean Dusart ; *Bactériologie*, Dunod, Paris, 3-455, (2005).
- [8] F. Bach,C. Barbarán ; Urresti, para optar proel titulo profesional de quimico farmacèutico ,de la région de loreto , Pérou, thèse de doctorat, national de la amazona peruana Iquitos-Perù ,25 , (2014) .
- [9] Bactériologie - Niveau Dcm1e Université Pierre et Marie Curie, 10-122, (2002 – 2003).
- [10] Y.A. Chabbert ; Sensibilité bactérienne aux antibiotiques. In *Bactériologie Médicale*, Flammarion Médecine Sciences, Paris, 204-212, (1982).
- [11] P. Vuillemin ; Antibiose et symbiose, Association française pour l'avancement des sciences, Notes et mémoires, 11, 525-543, (1890).
- [12] J.F. Guillot ; Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. *Annales de Recherches Vétérinaires*, (1989).

Partie
Expérimentale



Partie
Expérimentale

***Partie
Expérimental***



I-1 Introduction :

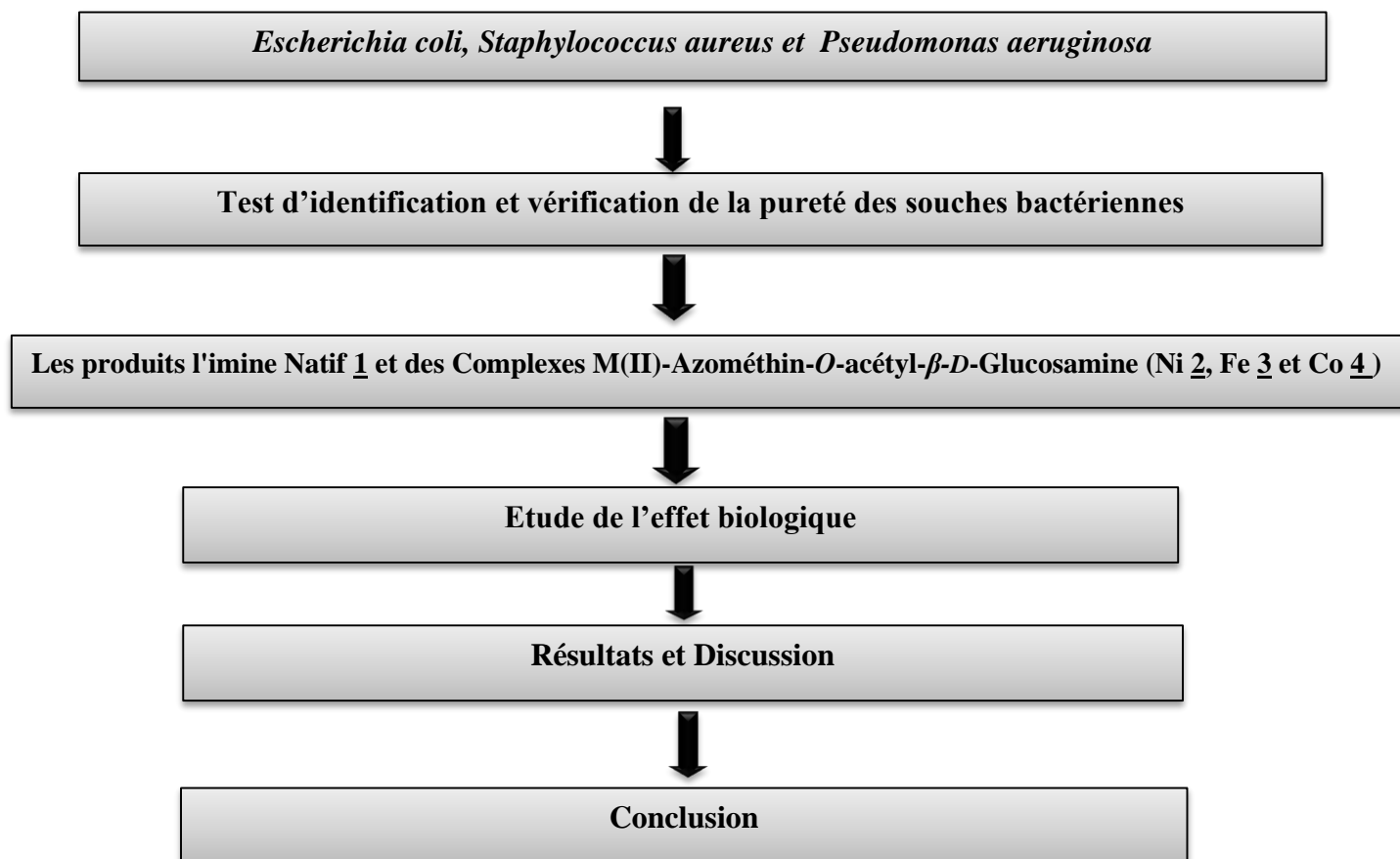
D'après les résultats obtenus ^[1], et une recherche bibliographique très poussées, nous nous sommes intéressées à l'activité biologique a ces produits, d'après ce travail, nous avons testé ce produit sur trois types des bactéries au niveau de Laboratoire d'Analyse Bactériologie de AL-ZAHRAOUI-M'sila pour déterminer leurs activités antibactériennes.

I-2 Objectif :

L'objectif principal de ce travail est l'étude de l'effet biologique d'une imine native à base β -D-glucosamine et les trois complexes sur des différentes bactéries.

I-3. Méthodologie de travail :

La vérification de la pureté et identification des souches bactériennes et évaluation de l'activité antibactérienne des produits. L'étude de la sensibilité des bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) vis-à-vis l'imine native et des complexes M(II)-Azométhin-O-acétyl- β -D-Glucosamine (Ni, Fe et Co).

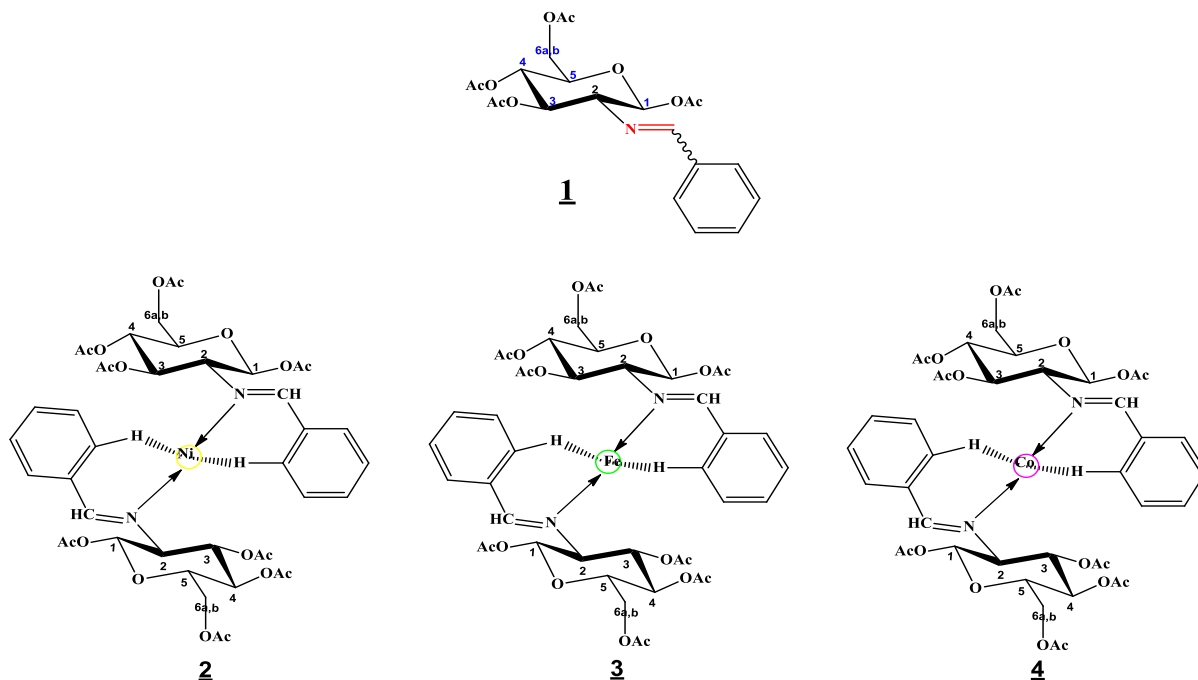


Shéma.1: Méthodologie de travail

Type d'étude	Lieu de travail	Durée de l'étude
Il s'agit d'une étude prospective	Nous avons réalisé notre travail au niveau de Laboratoire Bactériologique De AL-ZAHRAOUI- M' sila.	Notre stage a été effectué durant la période de Mars 2019 jusqu'à Mai 2019 .

I.4. Matériels et produits et réactifs:

I.4.a. Structure chimique des produits utilise et leurs caractérisations



Produit.1: Ligand 1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-déoxy-2-[benzyliden-(amino)]-β-D-glucosamine

Tableau.1 : Caractéristiques physico-chimiques de l'imine 1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-déoxy-2-[benzyliden-(amino)]-β-D-glucosamine 1

Formule brute :	C₂₁H₂₅NO₉
Point de fusion (°C) :	130-131 °C
Rendement massique (%) :	90
Masse molaire (g/mol) :	435
R_f* :	0,6 [EP/AcOEt 8 :2]
Couleur :	Blanche
Aspect :	Cristalline

Produit.2: Bis-1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-déoxy-2-[benzyliden-(amino)]-β-D-glucosamine-Ni^(II)

Tableau.2 : Caractéristiques physico-chimiques du complexe l'imine 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-déoxy-2-[benzyliden-(amino)]- β -*D*-glucosamine-Ni^(II) :

Formule brute :	C₄₃H₅₂N₂O₁₈Ni
Point de fusion (°C) :	149-150
Rendement massique (%) :	66
Masse molaire (g/mol) :	943
R_f[*] :	0.79 [EP/AcOEt 8 :2]
Couleur :	Jaune
Aspect :	Poudre

Produit.3: Bis-1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-déoxy-2-[benzyliden-(amino)]- β -*D*-glucosamin-Fe^(II)

Tableau.3 : Caractéristiques physico-chimiques du complexe 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-déoxy-2-[benzyliden-(amino)]- β -*D*-glucosamin-Fe^(II) :

Formule brute :	C₄₃H₅₂N₂O₁₈Fe
Point de fusion (°C) :	145-146
Rendement massique (%) :	55
Masse molaire (g/mol) :	940
R_f[*] :	0.46 [EP/AcOEt 8 :2]
Couleur :	Verte
Aspect :	Poudre

Produit.4: Bis-1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-déoxy-2-[benzyliden-(amino)]- β -*D*-glucosamin-Co^(II)

Tableau.4 : Caractéristiques physico-chimiques du complexe 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-déoxy-2-[benzyliden-(amino)]- β -*D*-glucosamin-Co^(II)

Formule brute :	C₄₃H₅₂N₂O₁₈Co
Point de fusion (°C) :	141-142
Rendement massique (%) :	52
Masse molaire (g/mol) :	943
R_f[*] :	0.18 [EP/AcOEt 8 :2]
Couleur :	Rose
Aspect :	Poudre

I.4.b. Souches bactériennes incluses :

Souches incluses sont : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. L'utilisation des souches de références permet de vérifier la conformité des résultats du test.

I.4.c. Appareillages et matériels:

- Microscope optique ;
- Bain marie ;
- Etuve d'incubation ;
- Portoir des tubes ;
- Lames ;
- Anse en platine ;
- Ecouvillon ;
- Bec Bensen ;
- Boîtes de pétri ;
- Papier absorbant ;
- Tubes à hémolyse ;
- Vortex ;
- Pipette Pasteur.

I.4.d. Milieux de cultures utilisés:

- Bouillon nutritif ;
- Gélose nutritif ;
- Gélose Baird Parker ;
- Gélose au Cétrimide ;
- Gélose VRBL ;
- Milieu mannitol-mobilité ;
- Milieu urée-indole ;
- Gélose Mueller Hinton ;
- Gélose Esculine ;
- Citrate de simmons.

I.4.e. Réactifs:

- Violet de Gentiane ;
- Lugol ;
- Fuschine ;
- Alcool ;
- Huile à immersion ;
- Réactif de Kovacs ;
- Eau distillé.

I.5. Préparation de milieu de culture :

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

I.6. Isolement et purification:

L'isolement a été réalisé par repiquage successif sur bouillon nutritif et sur les milieux sélectifs : gélose Baird Parker, gélose au cétrimide et gélose VRBL. Incubés 24 h à 37°C.

Un isolement est effectué à l'aide d'une pipette pasteur boutonné à usage unique ou d'une anse en platine (réutilisable).

Que ça soit l'anse ou la pipette pasteur le passage préalable dans la flamme est obligatoire pour éviter toute contamination de notre souche : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

I.7. Identification:

Toutes les souches ont été identifiées grâce aux méthodes bactériologiques classiques.

I.7.a Aspect macroscopique (colonies) :

Après incubation, le premier critère d'identification sur lequel on se base est celle de l'aspect macroscopique des colonies vu à l'œil nu, que ça soit taille, forme du relief (bombé, semi-bombée et plate), couleur, aspect (collant, filamenteux...etc.), odeur, transparence (opaque et translucide).

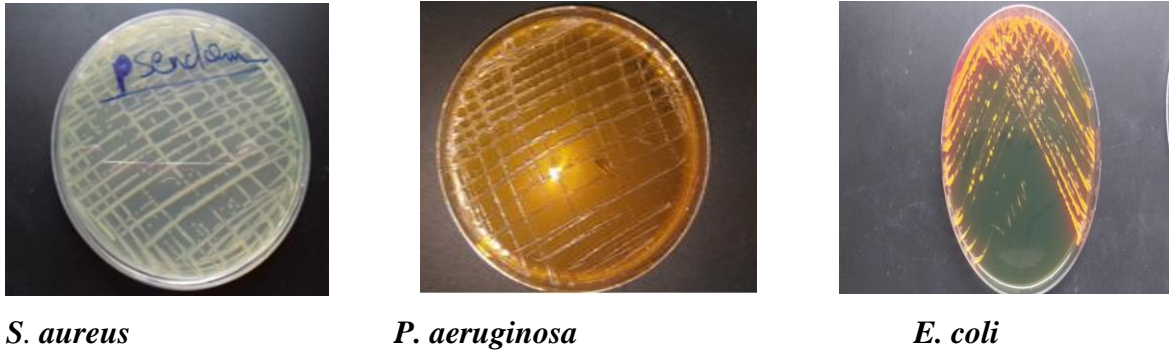


Fig.1: Aspect macroscopique des colonies vu à l'œil nu

I.7.b. Aspect microscopique (coloration de Gram):

La coloration de Gram est l'étape clé dans notre travail, cette étape de l'examen directe est essentielle pour apprécier la présence et la morphologie des germes et permet de classer les bactéries en deux grandes catégories :

- Les bactéries à Gram⁻ qui apparaissent roses.
- Les bactéries à Gram⁺ qui apparaissent violettes.

Cette différence de coloration est liée à des différences de nature de la paroi bactérienne. Elle permet de renseigner sur :

- Le type Gram⁺ ou Gram⁻.
- Forme des bactéries.
- Mode de regroupement.

I.7.c Technique de la coloration de Gram :

Réaliser un frottis et le fixer ;

- Plonger la lame dans le violet de gentiane pendant 1 minute ;
- Laver la lame à l'eau distillée ;
- Plonger la lame dans une solution de Lugol pendant 1 minute ;
- Laver à l'eau distiller;
- Décolorer 10 seconds à l'alcool;
- Rincer immédiatement à l'eau distillée;
- Plonger la lame dans la fuchsine pendant 1 minute ;
- Laver la lame à l'eau distillée ;
- sécher la lame en la tamponnant avec du papier absorbant ;
- Observer à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.

I.8. Tests bactériologiques:

Escherichia coli: Bacille, Gram⁻.

Staphylococcus aureus : Cocci, Gram⁺.

Pseudomonas aeruginosa: Bacill, Gram⁻.

I.9. Identification des espèces bactérienne:

Les résultats obtenus dans le tableau suivant pour (*Escherichia coli*):

Tableaux .5 : Caractères biochimiques et enzymatiques (*Escherichia Coli*).

TSI	C.S	V.P	T	Urée	Undole	LDC	ADH	ODC
+	-	-	-	-	+	+	+	-

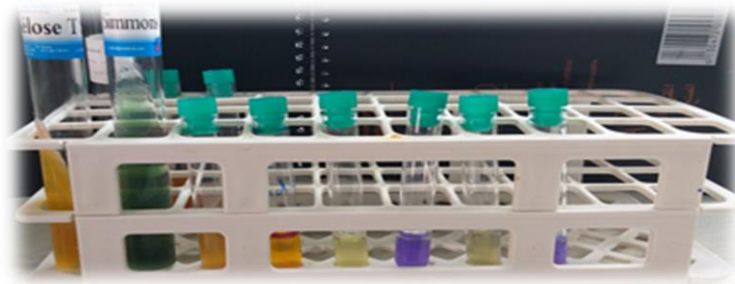


Fig.2: Galerie spécifique pour l'identification de la bactérie (*Escherichia Coli*)

Les résultats obtenus pour (*Staphylococcus aureus*):

Tableaux .6 : Caractères biochimiques et enzymatiques (*Staphylococcus aureus*):

G.M	B.N	C
+	+	+



Fig.3: Galeries spécifiques pour l'identification de la bactérie (*Staphylococcus aureus*).

Les résultats obtenus pour *Pseudomonas aeruginosa*:

Tableaux .7: Caractères biochimiques et enzymatiques (*pseudomonas aeruginosa*).

TSI	C.S	V.P	T	Urée	Indole	LDC	ADH	ODC
-	+	-	+	-	+	-	+	-

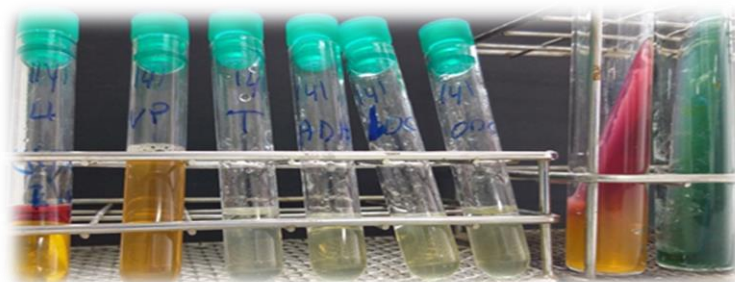


Fig.4: Galerie spécifique pour l'identification de la bactérie (*Pseudomonas aeruginosa*)

I.10. Conservation des souches bactériennes:

Les souches sont conservées dans des tubes de gélose nutritive inclinés à une température de 4°C (ces bactéries sont placées dans un état de vie ralentie ou momentanément suspendue donc dans des conditions peu favorables pour leur multiplication).

I.11. Les concentrations utilisées pour les produits testés :

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

On a fait un intervalle de dilution 20mg/mL jusqu'à 0,2mg/mL pour le produit synthétisé, ont préparé la solution mère de concentration 25mg/mL, dont on préparé autre solution mère de concentration 20mg/mL au but de diluer pour préparer les autres concentrations. Solution mère 0.3g dans 12mL chloroforme (25mg/mL) (25000µg/mL) (25g/l), tous les résultats sont regroupés dans le tableau suivant.

Tableaux .8 : Gamme de dilution l'imine Native et des complexes M (+II)-Azométhin-O-acétyl- β -D-Glucosamine (Ni, Fe et Co).

Solution mere $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Solution initiale (mL) a pris de la solution mère	Chloroforme distillée ajouté (mL)	Titre obtenu	
			mg.mL^{-1}	$\mu\text{g.mL}^{-1}$
25000	8	2	20	20000
20000	2.5	2.5	10	10000
	0.5	4.5	2	2000
	0.05	4.95	0.2	200

I.12. Préparation des disques de papier :

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

I.13. L'antibiogramme :

I.13.a. Principe:

Antibiogramme pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis de divers antibiotiques. La détermination de cette valeur est peu précise, mais elle est consacrée par l'usage et elle bénéficie d'une masse importante d'informations recueillies à son sujet.

I.13.b. Antibiogramme standard:

Les méthodes de diffusion ou antibiogrammes standard sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés des antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

L'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture.

Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe. ^[2]

I.13.c. Préparation de l'inoculum :

Etape .1 : Á partir d'une culture pure de 24 h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

Etape.2 : Décharger l'anse de platine dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile.

Etape.3 : Bien homogénéiser la suspension bactérienne.

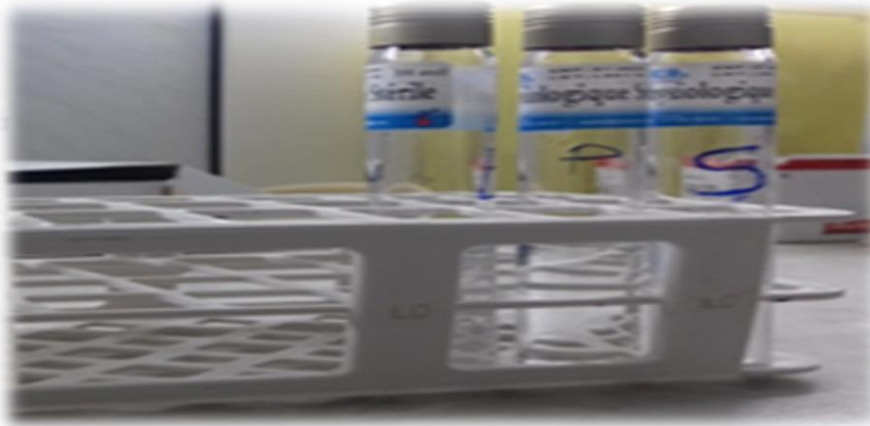


Fig.5: Suspension bactérienne (inoculum).

I.13.d. Préparation de la suspension microbienne :

On frotte à chaque fois à l'aide de pipettes pasteur les trois souches bactériennes et on les dépose dans des tubes à essai contenant un bouillon nutritif (10mL), en agitant bien .On disperse la suspension dans les boîtes de pétri, passé 3 fois sur la même zone afin de s'assurer qu'elles sont entièrement couverte puis ré aspirer l'excès minutieusement, et sécher les boites dans l'étuve à 37 °C durant 15 minutes.

I.14. Méthodes de travail et Application des disques :

La méthode utilisée pour la préparation est la méthode de VINCENT. ^[3] On prépare cinq tubes à essai pour chaque composé contient les dilutions qu'on a déjà préparées, les disques de papier filtre de 5mm de diamètre sont immergé dans les tubes et sont imprégnés d'une faible quantité de produit, puis à l'aide d'une pince ;

- On les dépose à la surface des boites pétris préalablementensemencées par la suspension microbienne ;
- Après l'incubation dans l'étuve pendant 24 heures à 37 °C ; on fait la lecture. des résultats par la mesure de diamètre d'inhibition en mm.

I.15 Résultats des tests bactériologiques:

I.15.1 Test préliminaire de solvant utilisé:

- ✓ Le signe positif (+) signifie que les bactéries sporulent; ce tableaux signifie qu'il n'y a aucune sporulation visible.
- ✓ D'après ces résultats satisfaisants du test préliminaire, on peut utiliser le chloroforme comme solvant de notre composé de test.

Tableaux .9: Test preliminaries.

Souche de test	Sporulation de la souche sans CHCl ₃	Sporulation avec CHCl ₃
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	–

I .15.2 Résultats de la détermination des diamètres d'inhibition de chaque souche par la méthode de diffusion :

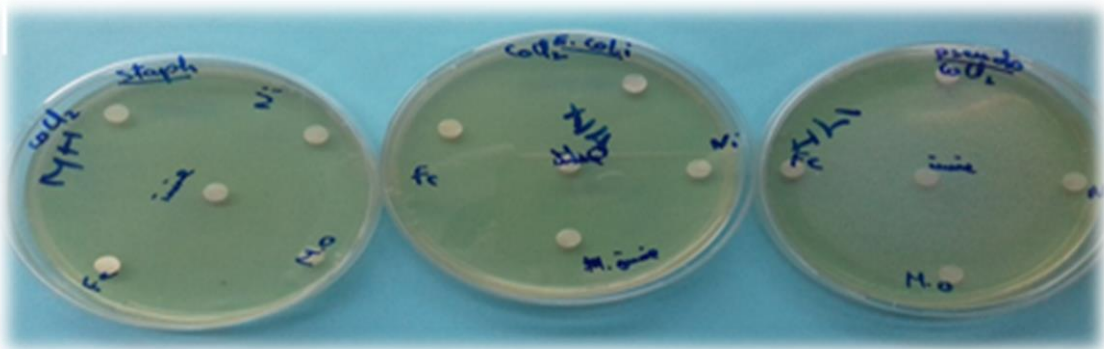


Fig.6: Antibiogramme des produits avant l'incubation de 24h.

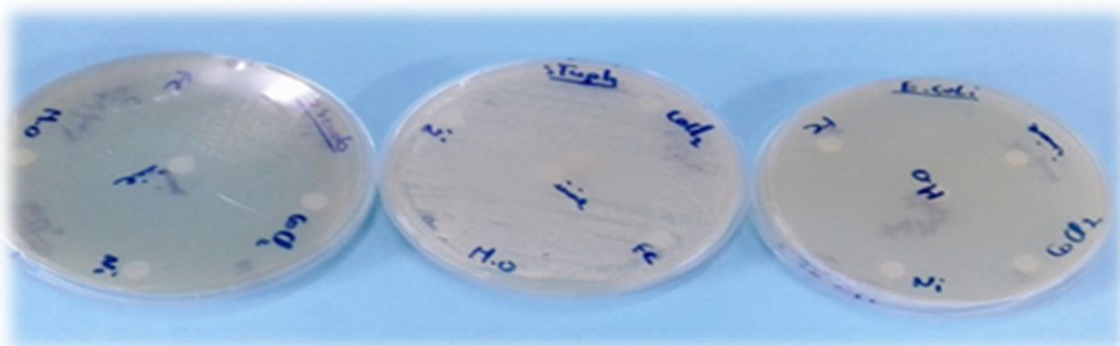


Fig.7: Antibiogramme des produits après l'incubation de 24h.

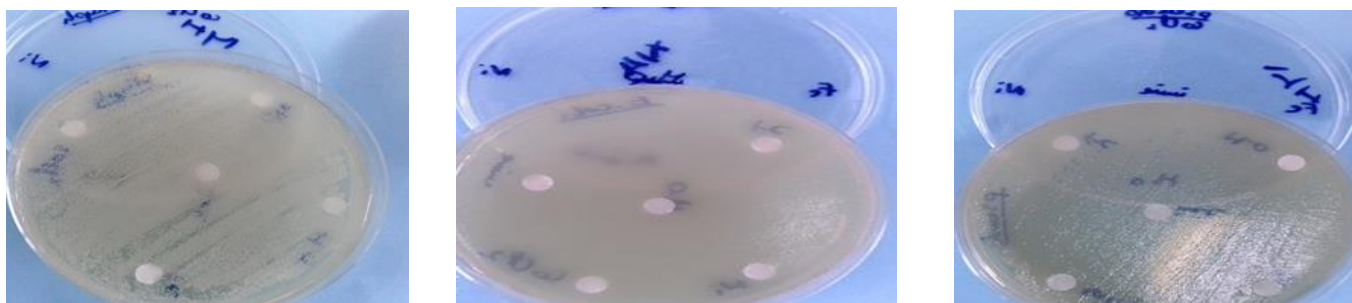


Fig.8: Effet des produits sur les trois souches bactériennes.

I.16. Discussions des résultats :

Dans notre travail on a réalisé l'évaluation de l'activité antibactérienne par l'antibiogramme standard (méthodes des disques) on utilisant le milieu de Mueller Hinton.

L'interprétation des résultats de l'antibiogramme consiste à déduire à partir de la mesure des diamètres des zones d'inhibition s'entourent les disques, le caractère sensible (S) et/ou résistant (R).

La détermination de la présence d'une activité antibactérienne ou non, réaliser par une solution mère du chacun des produits, c-à-d une solution concentrés.

Les trois souches bactérienne montre une résistivité à tous les produits testées traduire par une absence d'une zone stérile au tour de disque.

On conclut que les cinq produits synthétises, n'ont pas un effet sur les souches (*Escherichia Coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) donc, on peut dire que les trois souches résistants aux nous produits.

Tableaux .10 : Caractères des souches testées sur les quatre produits (Imine Native et les trois complexes M (+II)-Azométhin-*O*-acétyl- β -*D*-Glucosamine (Ni, Fe et Co).

Produits	Bactéries		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Produit <u>1</u>	R	R	R
Produit <u>2</u>	R	R	R

Produit 3	R	R	R
Produit 4	R	R	R

I.17. Conclusion

D'après chaque expérience, on a constaté que ces produits (Imine et les trois complexes) n'est pas d'influence sur les souches testé, même au différent effet pour chaque bactérie et pour chaque concentration .

Références



Références Bibliographiques *Partie II*

- [1] S. Boukhalat ; Synthèse et caractérisation d'une nouvelle série des complexes M (II) - Azométhine-*O*-acétyl-*B-D*-Glucozamine (Zn, Ni et Co), Mémoire de Master, Université de M'sila, (2018).
- [2] N. Burnichon . A .Texier ; l'antibiogramme la détermination des sensibilités aux antibiotiques, L'antibiogramme des bactéries, (2003).
- [3] M. Jacob J. Pellecier, R.Tomei ; Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique. *Rivista Italiana*. E.P.P.O.S, (1979).

Conclusion Générale

*Conclusion
Générale*



Conclusion générale

Ce travail de mémoire s'inscrit dans le cadre des travaux de fin d'étude pour l'obtention de diplôme en Chimie Pharmaceutique, notre travail consiste à l'étude de l'activité biologique de nouveaux complexes à la base de β -D-glucosamine modifiée déjà synthétisés, nous avons focalisés nos efforts sur l'existence de l'activité biologique, sur trois types des bactéries disponible au niveau de Laboratoire d'Analyse Bactériologie de AL-ZAHRAOUI-M'sila.

Les résultats obtenus montrent que les tests d'activités antibactériennes, il y a aucune influence sur les différentes bactéries.

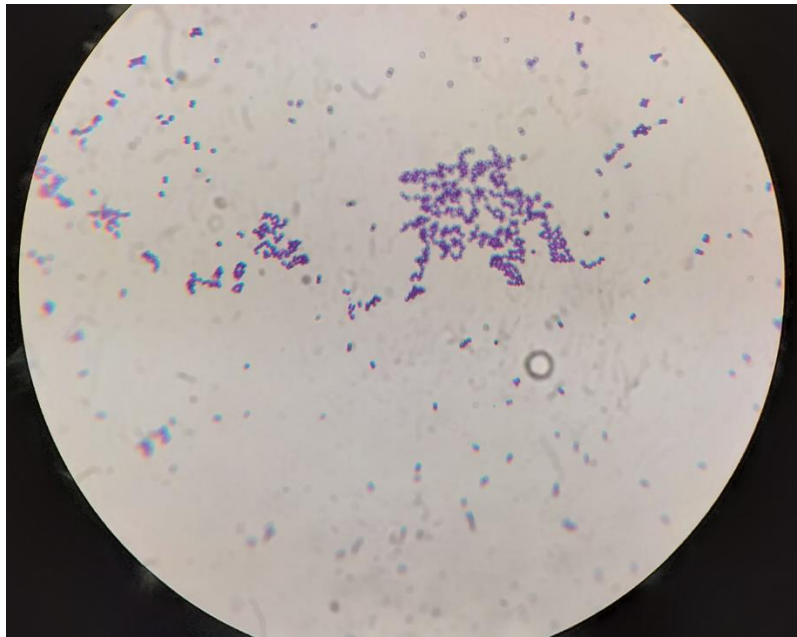
On conclut que les quater produits nous sont pas un effet bactérienne.

Perspective

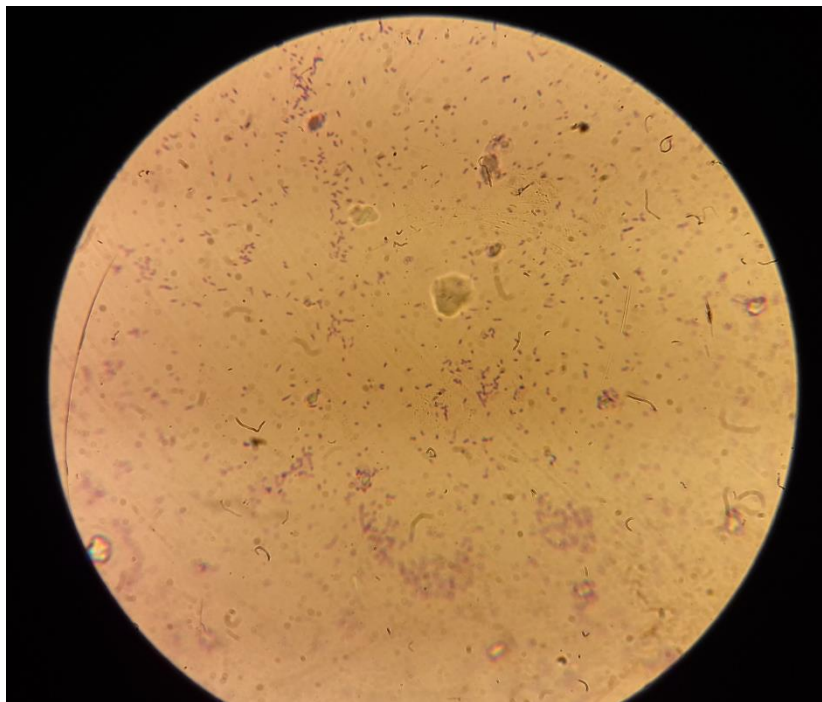
Nous résultats peuvent être utilisés dans un éventuel travail à savoir des souches bactériennes ou bien les déférentes concentrations, d'autre application sur les champignons ou levures.

ANNEXES

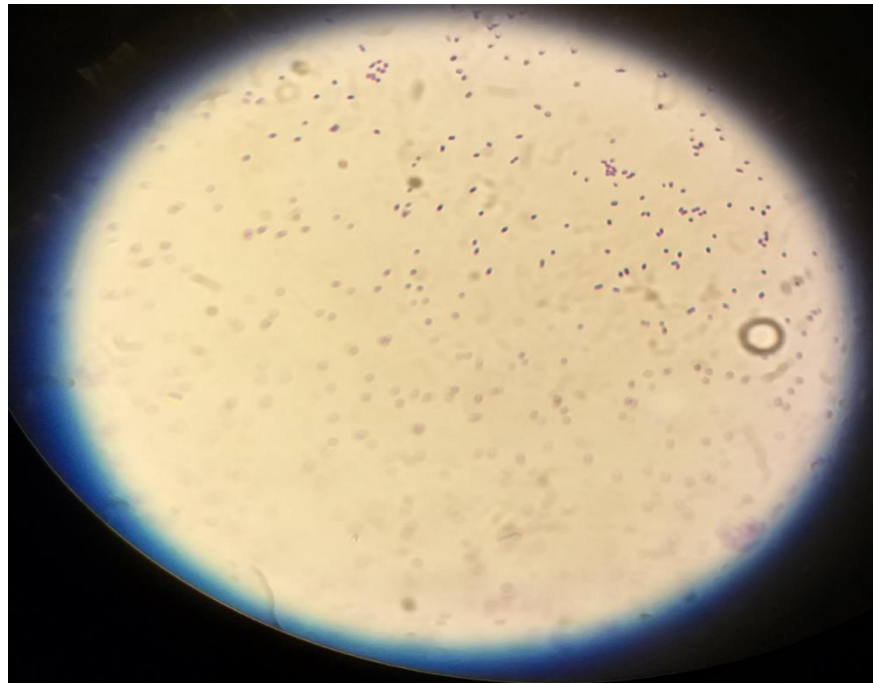




Aspect microscopique *Staphylococcus aureus*



Aspect microscopique *Pseudomonas aeruginosa*



Aspect microscopique *Escherichia coli*

RÉSUMÉ

L'intérêt grandissant porté pour les Azométhane (imine) à la base de dérives de β -D-glucosamine et leurs complexes. Dans la présente étude, nous avons testé l'efficacité biologique d'une imine native **1** et les trois complexes M (+II)-Azométhin-O-acétyl- β -D-Glucosamine (Ni **2**, Fe **3** et Co **4**) synthétisés et confirmés par l'analyse de la spectroscopie Y compris infrarouge et ultraviolet visible, L'activité a été appliquée sur trois types de bactéries lequel : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, afin de déterminer si ces composés sont antibactériens. À travers les résultats, nous avons trouvé que, les azométhines et ces complexes n'ont pas montré une efficacité contre ces types de bactéries.

Mots Clés: Azométhines, Bactéries, Complexes, β -D-glucosamine modifiées, Activité Biologique.

ملخص

نظرا للاهتمام المتزايد عن لأزوميثان (إيمين) بقاعدة β -D- الجلوكوزامين ومجمعاتها التعقيدية. في هذه الدراسة، قمنا باختبار فعالية الأمينات الأصلية **1** والمجمعات الثلاثة معدن (+II) لأزوميثان -O- استيل β -D- الجلوكوزامين (Ni **2**, Fe **3**, Co **4**) تصنيعها وتأكيدها بواسطة تحليل التحاليل المطيافية بما في ذلك الأشعة تحت الحمراء والأشعة فوق البنفسجية المرئية ، تم تطبيق النشاط على ثلاثة أنواع من البكتيريا بما في ذلك: الإشريكية القولونية، الزائفة الزنجارية، المكورات العنقودية الذهبية، لتحديد ما إذا كانت هذه المركبات مضادة للبكتيريا. من خلال النتائج، وجدنا أن، الأزوميثان وهذه المجمعات لم تظهر فعالية ضد هذه الأنواع من البكتيريا.

الكلمات المفتاحية: أزوميثان ، بكتيريا ، معقدة ، β -D- جلوكوزامين معدلة، نشاط بيولوجي

.ABSTRACT

The growing interest carried for Azomethane (imine) at the base of the drift of β -D-glucosamine and their complexes. In the present study, we tested the efficacy of a native imine **1** and the three complexes M (+II)-Azomethin-O-acetyl- β -D-Glucosamine (Ni **2**, Fe **3** and Co **4**) synthesized and confirmed by analysis of the spectroscopy Including infrared and ultraviolet visible, The activity was applied to three types of bacteria including: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, to determine if these compounds are antibacterial. Through the results, we found that, azomethanes and these complexes have not shown efficacy against these types of bacteria.

Keywords: Azomethines, Bacteria, Complex, Modified β -D-glucosamine, Biological Activity.