

IV.1. Synthèse et caractérisation des produits synthétisés

IV.1.1. Caractéristiques du produit de départ :

Notre produit de départ est l'acide 4-Hydroxybenzoïque (A) qui est caractérisé par :

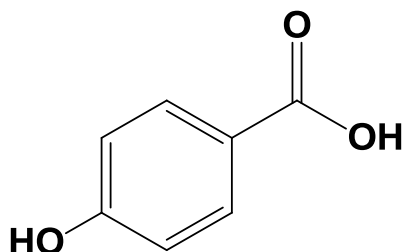


Figure.IV. 1. L'acide 4-Hydroxybenzoïque (A).

Nom IUPAC : Acide 4-chlorobenzoïque.

Formule brute : $C_7H_6O_3$.

Apparence : cristaux blancs.

Point de fusion : 213 - 216 °C.

Masse molaire : 138.12 g/mol.

CCM : éluant (chloroforme/éthanol 8 :2), RfB.1= 0,34.

IR: (cm-1): 1699, 94 cm-1 (C=O), 2884, 02 cm-1 (OH).

IV.1.2. Synthèse du 4-Hydroxybenzoate de méthyle (B) :

Nous avons, en premier lieu, préparé le 4-Hydroxybenzoate de méthyle (B) en faisant réagir l'acide 4-Hydroxybenzoïque avec le méthanol en présence de l'acide sulfurique comme catalyseur.

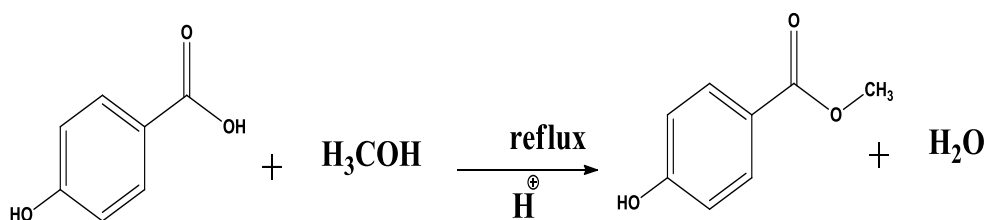


Schéma.IV. 1.4-Hydroxybenzoate de méthyle

Après 3 heures, le rendement du produit obtenu est de 71%. Nous avons repris la même synthèse, mais avec un excès de méthanol dans le but d'augmenter le rendement. Après 4 heures de reflux, tout en contrôlant la réaction par CCM, le rendement s'est amélioré à 95%. Le point de fusion du produit obtenu est de 21°C qui est en accord avec celui de la littérature [43].

IV.1.2.1. Spectre infrarouge

Le spectre infrarouge du 4-Hydroxybenzoate de méthyle (B) indique l'apparition de bandes intenses et aiguës, situées à 3073 cm^{-1} , caractéristique du groupement CH aromatique et d'une bande intense située à 1729,83 cm^{-1} , caractéristique du groupement carbonyle (C=O). Les résultats spectroscopiques sont en accord avec ceux de la littérature.

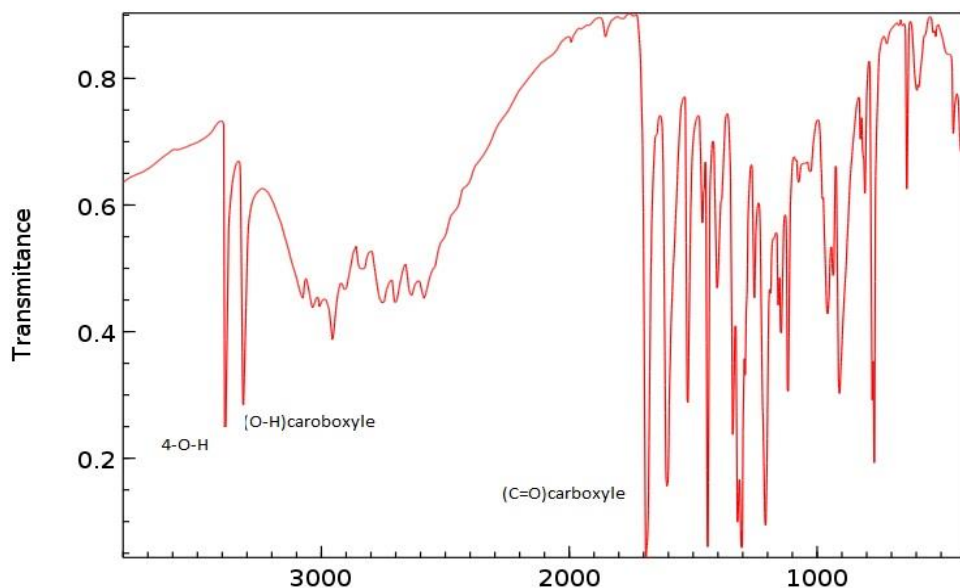


Figure.IV. 2.Spectre FT.IR du 2.-Hydroxybenzoate de méthyle (B).

IV.1.3. Synthèse de l'hydrazide de l'acide 4-Hydroxybenzoïque (c) :

Pour la synthèse de l'hydrazide de l'acide 4-Hydroxybenzoïque, on fait réagir le 4-hydroxybenzoate de méthyle (B) avec l'hydrazine hydraté (64%) dans l'éthanol. Après 6 heures de reflux, nous avons obtenu le produit avec un rendement de 62%.

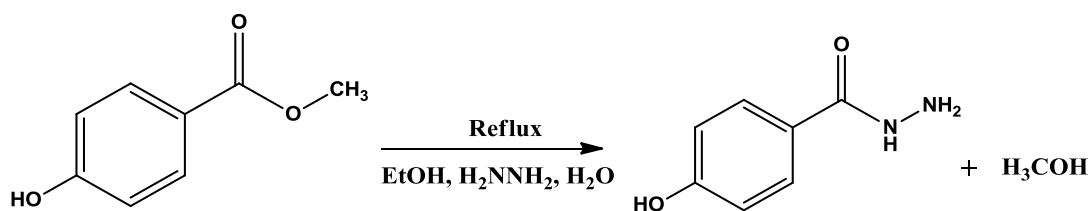


Schéma.IV. 2.Synthèse de l'hydrazide

IV.1.3.1. Chromatographie sur couche mince

L'analyse CCM révèle une seule tache avec un $R_{fB,3} = 0,55$. Le produit obtenu est sous forme de cristaux blancs, aspect coton avec un rendement de 91% et un point de fusion de 149,7-151°C. Il est à noter qu'aucune référence bibliographique n'évoque la préparation de ce produit.

IV.3.2. Spectroscopie Infrarouge

L'identification de la structure du composé a été établie, grâce aux données de spectrales d'Infrarouge.

Le spectre d'infrarouge Figure IV.2 indique l'apparition de deux bandes vibration situées à 3304,43 cm^{-1} et 3194,51 cm^{-1} , caractéristiques du groupement (NH, NH_2) et de bandes intenses et aiguës, caractéristiques du groupement carbonyle $\text{NC}=\text{O}$ et $\text{C}=\text{C}$ aromatique à 1665,23 cm^{-1} et 1617,98 cm^{-1} , respectivement.

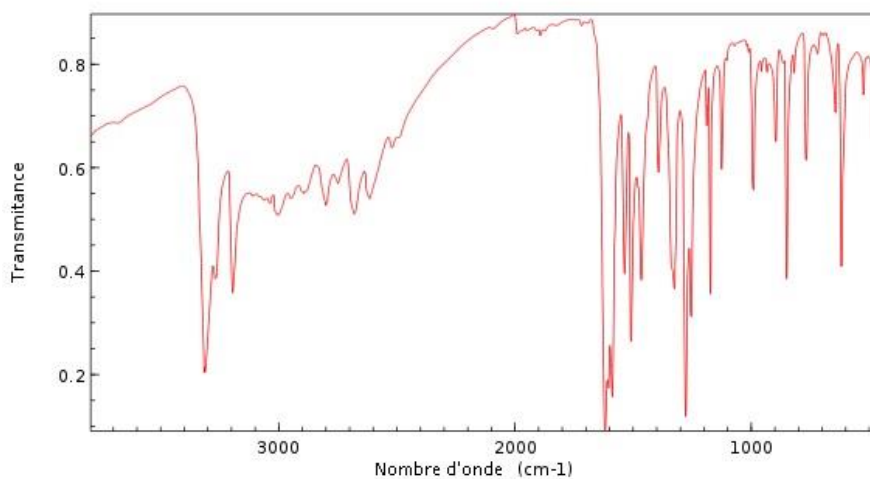


Figure.IV. 3. Spectre infrarouge en transformation de Fourier
Du composé 4-hydroxybenzohydrazine.

IV.1.4. Synthèse des dérivés 1,3,4-oxadiazole :

Un mélange d'hydrazide aromatique (1 mmol) et l'aldéhyde approprié (1 mmol) a été broyé avec l'iode (0,2 mmol) pendant (5 à 7 minutes) dans un mortier par un pilon. La fin de la réaction a été contrôlée par chromatographie sur couche mince (plaques CCM gel de silice en utilisant comme éluant le dichlorométhane / méthanol (9:1).

Une solution glacée de thiosulfate de sodium (10% ; 10 ml), préparé par le dissout de 1g de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ dans 10 ml d'eau distillée, a été ajouté au mélange réactionnel pour éliminer l'excès de l'iode présent.

Le solide qui s'est séparé a été filtré sous vide, lavé à l'eau et recristallisé dans de l'éthanol pour donner notre composé le 1,3,4-oxadiazole di substitué en 2,5.

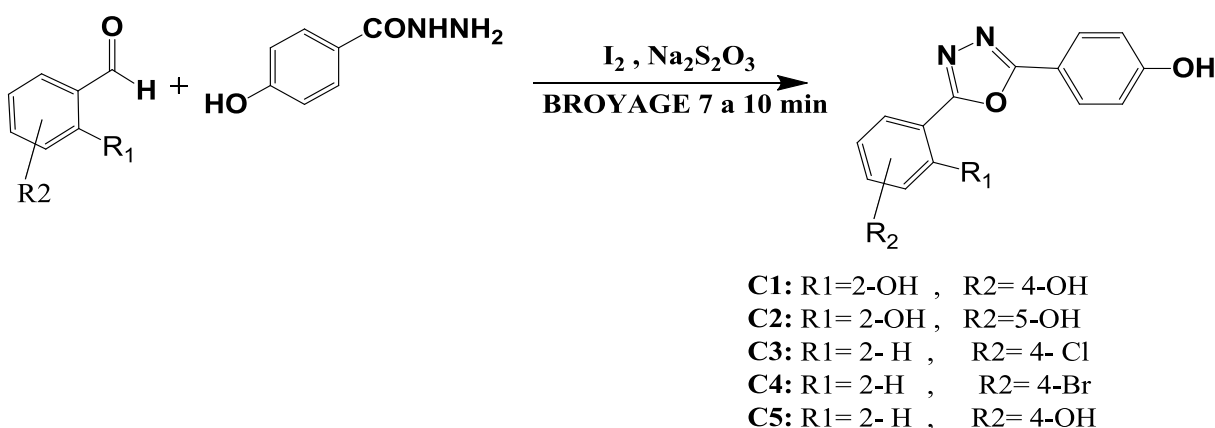
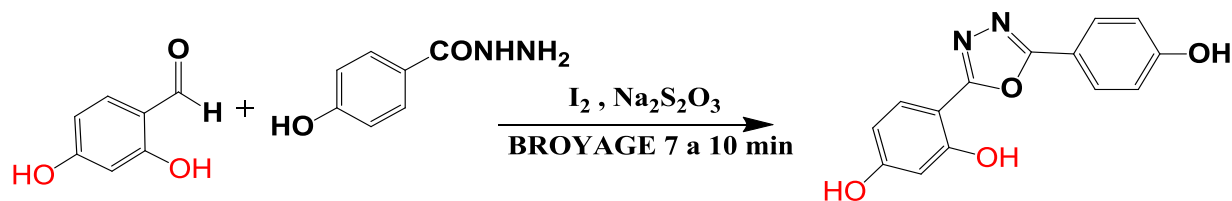


Schéma.IV. 3.Étapes pour la synthèse des dérivés 1,3,4-oxadiazole.

IV.1.4.1. Synthèse de 4-(5-(4-hydroxyphenyl) -1,3,4-oxadiazol-2-yl) benzene-1,3-diol :

Le 4-hydroxybenzohydrazone avec un aldéhyde qui est le 2,4-dihydroxybenzaldehyde sont mélangé et broyé pour donner le produit (**C1**).



produit C1: R1=2-OH , R2= 4-OH

Schéma. IV. 4.Synthèse du produit C1

IV.1.4.1. Spectre électronique :

Le spectre UV-visible du composé présente deux principales bandes d'absorption maximales, l'une vers $\lambda_{\max} = 329,5 \text{ nm}$ due à la transition $\pi-\pi^*$ et l'autre situé à $\lambda_{\max} = 400 \text{ nm}$, qui indique la transition $n-\pi^*$.

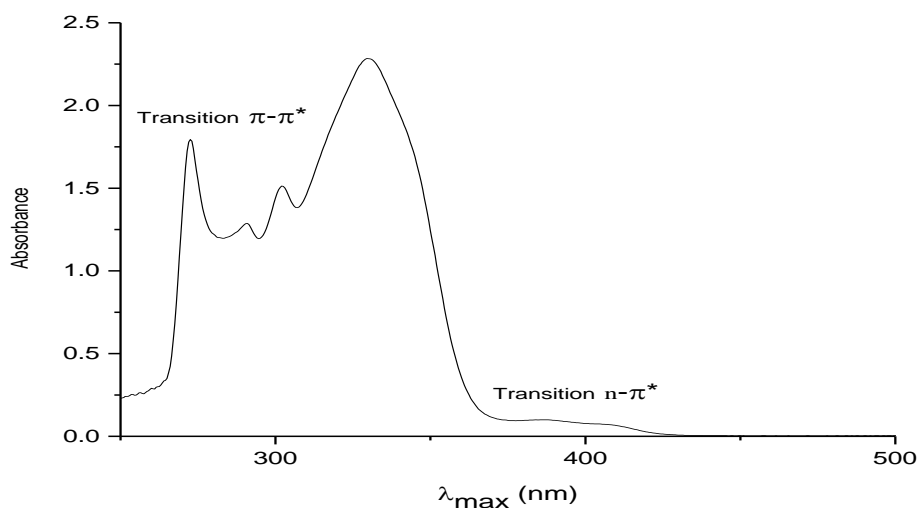


Figure.IV. 4.spectre UV du produit C1.

IV.1.4.2. Spectre infrarouge :

La structure du composé (C1) a été établie sur la base des données spectrales de spectroscopie infrarouge la figure III.4 présente les principales bandes de vibration du composé (C4), une large bande d'intensité moyenne vers 3333 cm^{-1} , désignant la vibration d'élongation du groupement (O-H), une bande intenses située à 1620 cm^{-1} , assignée aux vibration d'élongation de liaison C=N , ainsi qu'une bande aigüe à $1481,2 \text{ cm}^{-1}$ désignant la vibration d'élongation de la liaison (C=C).

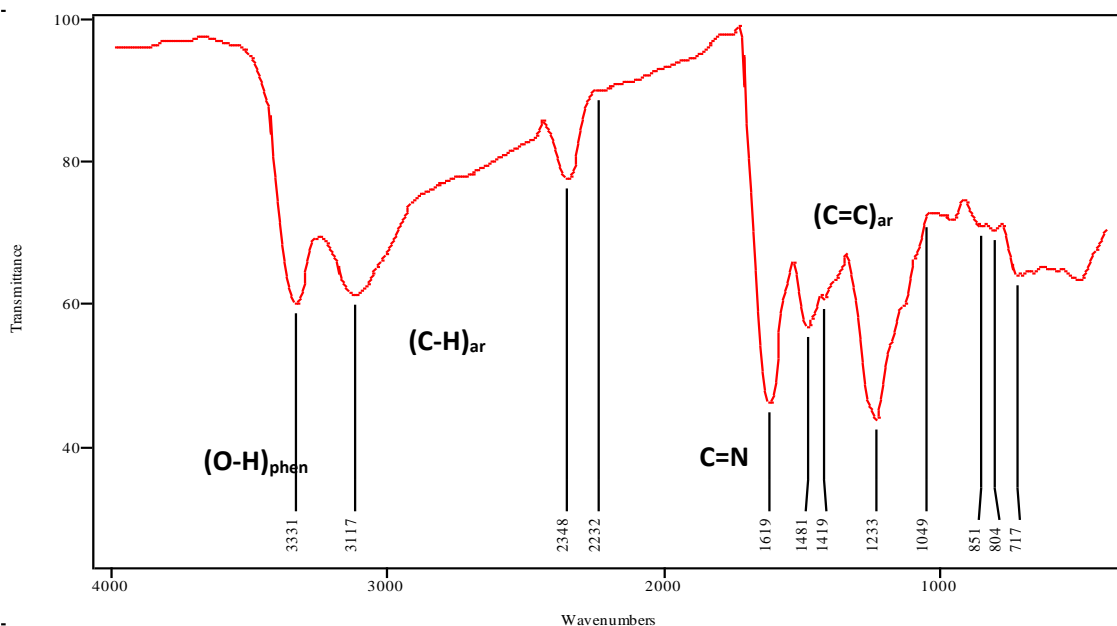
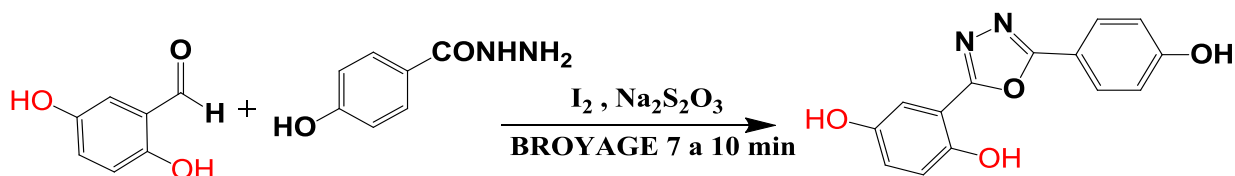


Figure.IV. 5.Spectre infra-rouge du composés (C1) dans KBr

IV.1.5. Synthèse de 2-(5-(4-hydroxyphenyl) -1,3,4-oxadiazol-2-yl) benzene-1,4-diol

Le 4-hydroxybenzohydrone avec un aldéhyde qui est 2,5-dihydroxybenzaldehyde 98% sont mélangé et broyé pour donner le produit (C2).



produit C2: R1=2-OH , R2= 5-OH

Schéma. IV. 5.synthèse de produit C2.

IV.1.5.1 Spectre électronique :

Le spectre UV-visible du composé présente deux principales bandes d'absorption maximales, l'une vers $\lambda_{\max} = 282$ nm due à la transition $\pi-\pi^*$ et l'autre situé à $\lambda_{\max} = 335$ nm, qui indique la transition $n-\pi^*$.

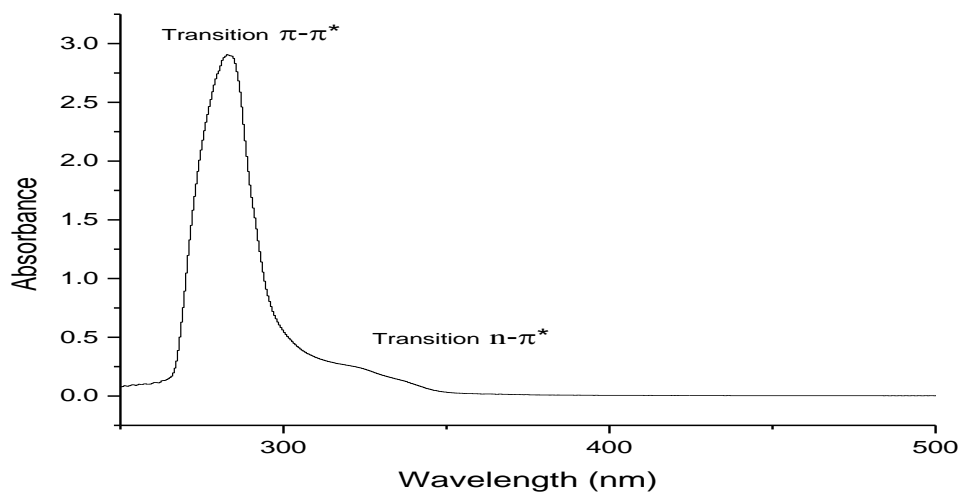


Figure.IV. 6.spectre UV du produit C2.

IV.1.5.2 Spectre infrarouge :

La structure du composé (C2) a été établie sur la base des données spectrales IR. Le spectre IR présente une bande large vers $3286,5\text{ cm}^{-1}$, désignant le groupement O-H, deux bandes intenses situées à 1599 cm^{-1} et 1461 cm^{-1} , assignées respectivement aux vibrations d'élongation des liaisons C=N et C=C.

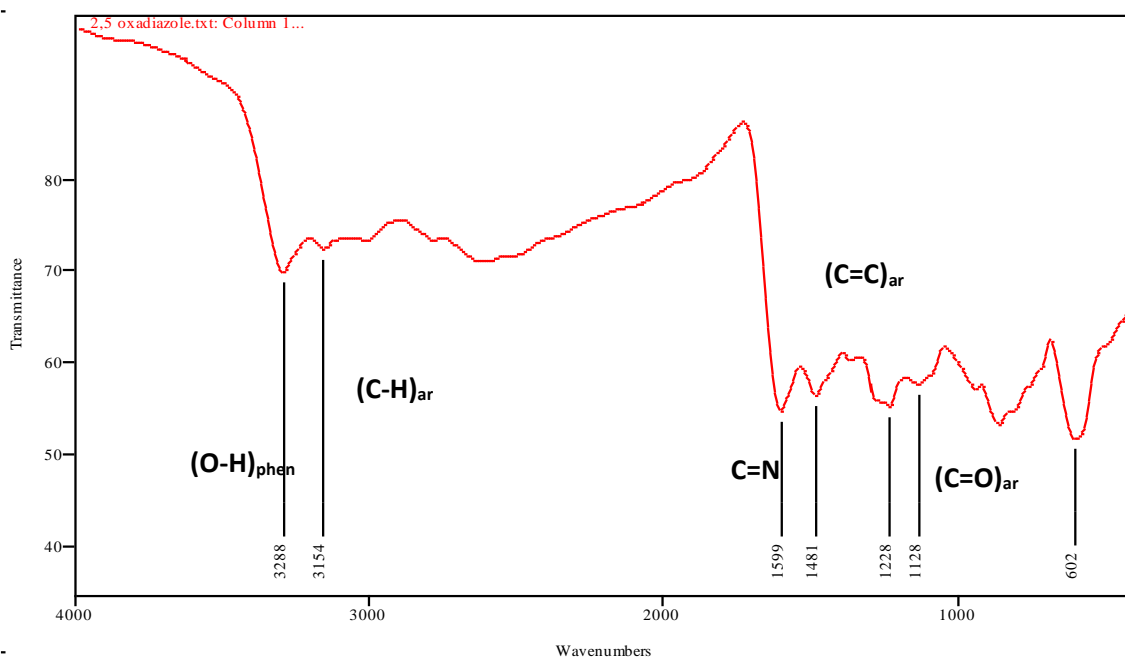
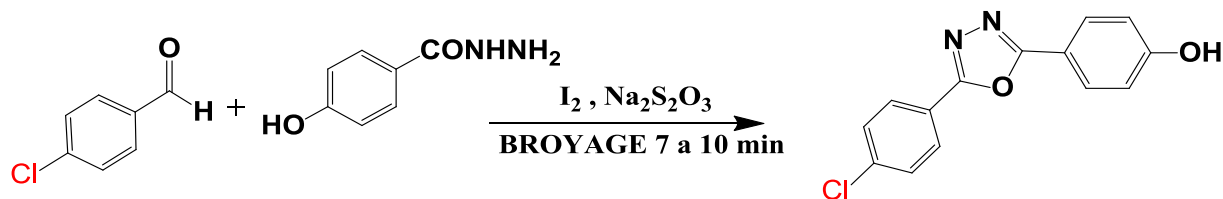


Figure.IV. 7.Spectre infra-rouge du composés (C2) dans KBr.

IV.1.6. Synthèse de 4-(5-(4-chlorophenyl) -1,3,4-oxadiazol-2-yl) phénol :

Le 4-hydroxybenzohydrone avec un aldéhyde qui est 4-chlorobenzaldehyde est mélangé et broyé pour donner le produit **(C3)**.



produit **C3**: R1= 2- H , R2= 4- Cl

Schéma.IV. 6.Synthèse de produit C3.

IV.1.6.1. Spectre électronique :

Le spectre UV-visible du composé présente deux principales bandes d'absorption maximales, l'une vers $\lambda_{\max} = 282$ nm due à la transition $\pi-\pi^*$ et l'autre situé à $\lambda_{\max} = 311$ nm, qui indique la transition $n-\pi^*$.

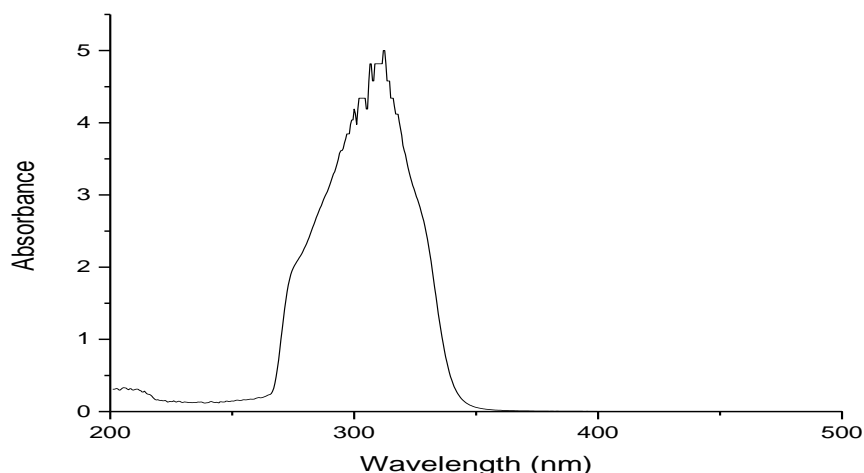


Figure.IV. 8.spectre UV du produit C3.

IV.1.6.2. Spectre infrarouge :

La structure du composé () a été établie sur la base des données spectrales IR. Le spectre IR présente une bande large vers $3031,9$ cm^{-1} , désignant le groupement NH, deux bandes intenses situées à $1596,9$ cm^{-1} et $1126,4$ cm^{-1} , assignées respectivement aux vibrations d'élongation des liaisons C=N et C=O-C, ainsi qu'une bande aigüe à $763,8$ cm^{-1} désignant le groupement C-Cl.

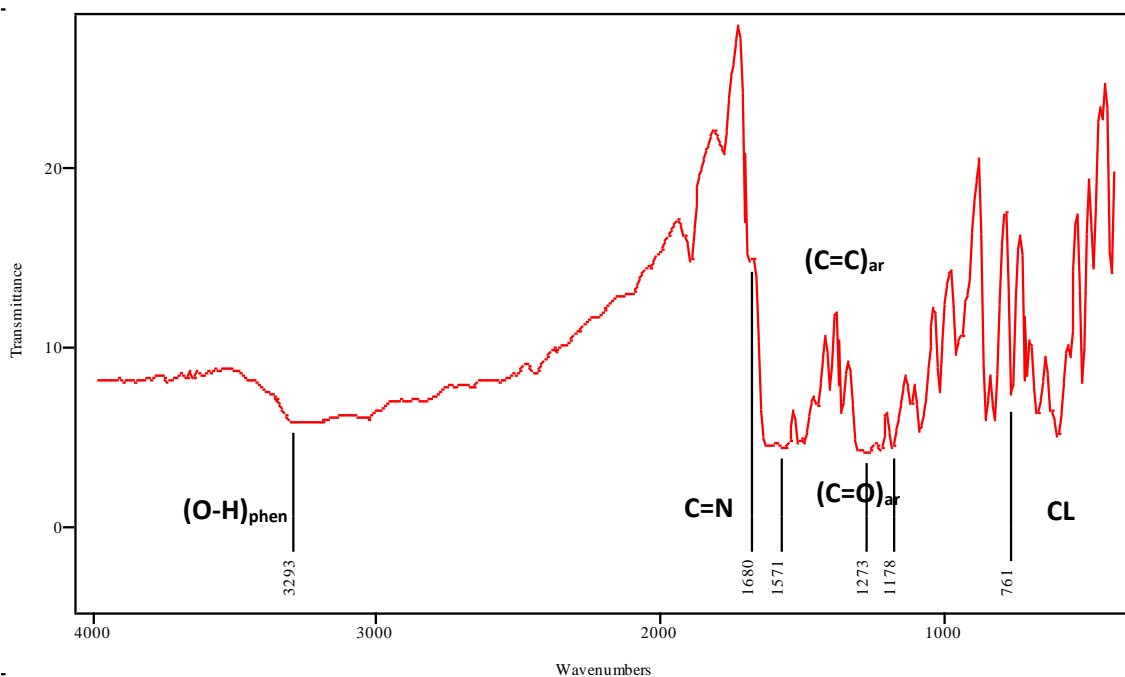


Figure.IV. 9.Spectre infra-rouge du composés (C2) dans KBr.

IV.1.7. Synthèse de 4-(5-(4-bromophenyl) -1,3,4-oxadiazol-2-yl) phénol :

Le 4-hydroxybenzohydrazone avec un aldéhyde qui est 4-Bromobenzaldehyde 98% sont mélangé et broyé pour donner le produit (C').

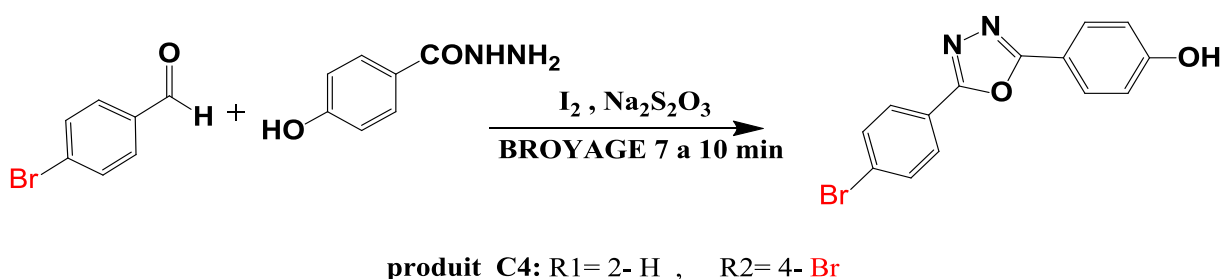


Schéma. IV. 7.synthèse de produit C4.

IV.1.7.1. Spectre électronique :

Le spectre UV-visible du composé présente deux principales bandes d'absorption maximales, l'une vers $\lambda_{\max} = 282$ nm due à la transition $\pi-\pi^*$ et l'autre situé à $\lambda_{\max} = 312,5$ nm, qui indique la transition $n-\pi^*$.

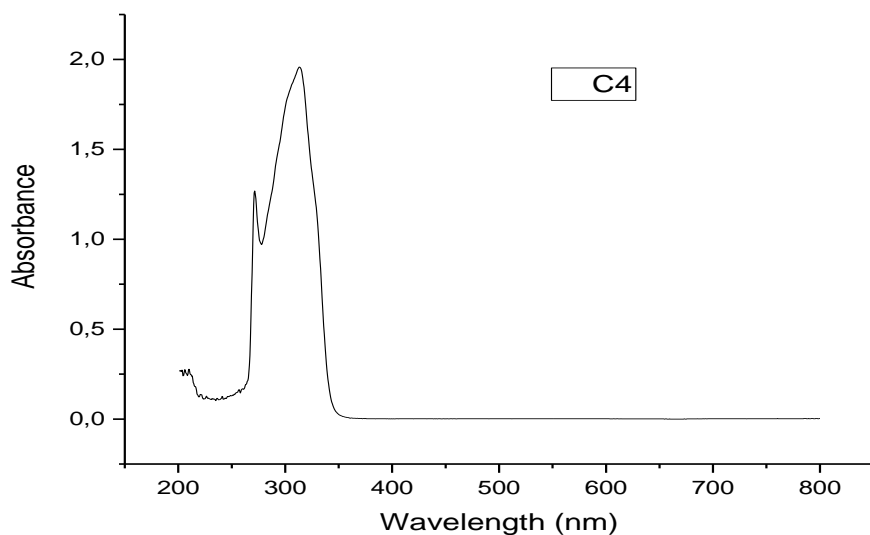


Figure.IV. 10.spectre UV du produit C4.

II.1.7.2. Spectre infrarouge :

La structure du composé (C4) a été établie sur la base des données spectrales IR. Le spectre IR présente une bande large vers $3031,9 \text{ cm}^{-1}$, désignant le groupement NH, deux bandes intenses situées à $1650,4 \text{ cm}^{-1}$ et $1180,4 \text{ cm}^{-1}$, assignées respectivement aux vibrations d'élongation des liaisons C=N et C=O-C, ainsi qu'une bande aigüe à $663,5 \text{ cm}^{-1}$ désignant le groupement C-Br ().

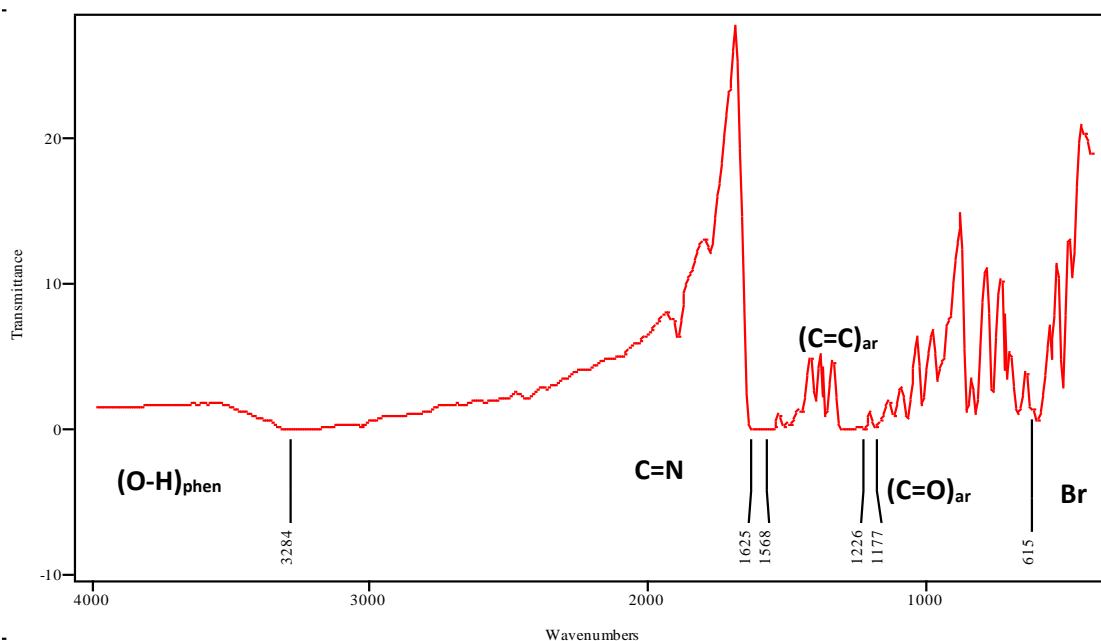
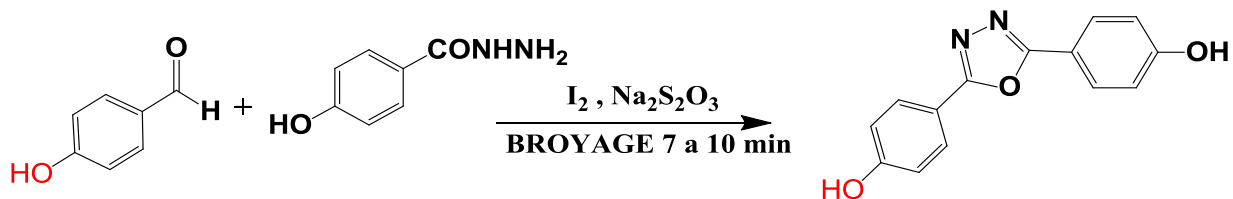


Figure.IV. 11.Spectre infra-rouge du composés (C4) dans KBr.

IV.1.8. Synthèse de 4,4'-(1,3,4-oxadiazole-2,5-diyl) diphénol :

Le 4-hydroxybenzohydrone avec un aldéhyde qui est 4-hydroxybenzaldehyde 98% sont mélangé et broyé pour donner le produit (C5).



produit C5: R1= 2- H , R2= 4- OH

Schéma.IV. 8.synthèse de produit C5.

IV.1.8.1. Spectre électronique :

Le spectre UV-visible du composé présente deux principales bandes d'absorption maximales, l'une vers $\lambda_{\max} = 282$ nm due à la transition $\pi-\pi^*$ et l'autre situé à $\lambda_{\max} = 285$ nm, qui indique la transition $n-\pi^*$.

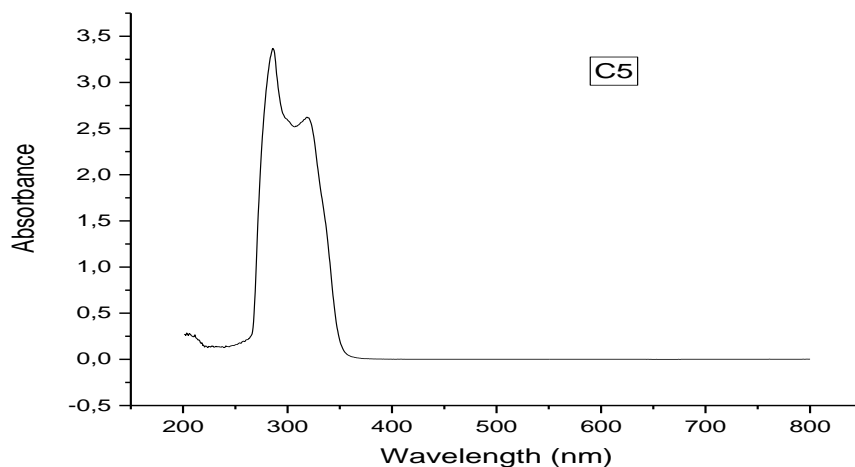


Figure.IV. 12.spectre UV du produit C5.

IV.1.8.2. Spectre infrarouge :

La structure du composé (C5) a été établie sur la base des données spectrales IR. Le spectre IR présente une bande large vers $3031,9$ cm^{-1} , désignant le groupement NH, deux bandes intenses situées à $1596,9$ cm^{-1} et $1126,4$ cm^{-1} , assignées respectivement aux vibrations d'élongation des liaisons C=N et C=O-C, ainsi qu'une bande aigüe à $3212,8$ cm^{-1} désignant le groupement C-OH.

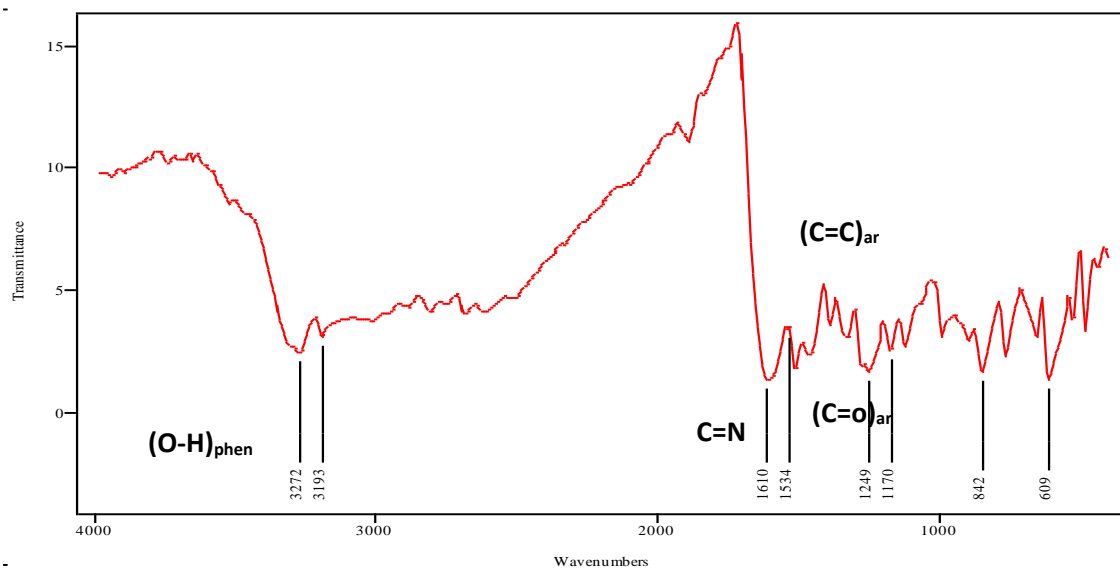


Figure.IV. 13.Spectre infra-rouge du composés (C5) dans KBr.

IV.1.9. Données spectrales du spectre FT-IR des composés synthétisés :

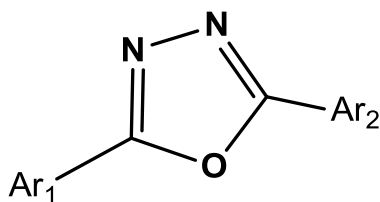
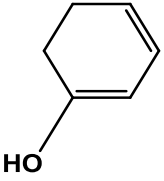
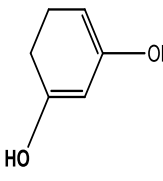
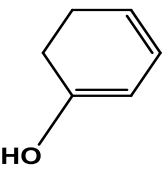
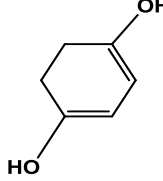
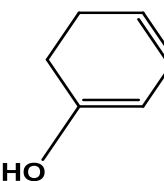
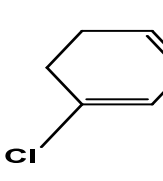
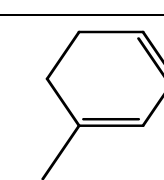
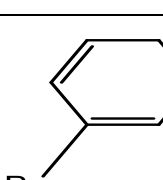
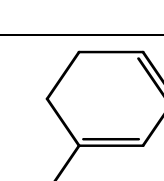
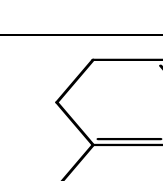


Figure.I. 2.Squelette générale des composés oxadiazoliques synthétisés.

Tableau.IV.1. Données spectrales infra-rouge des composés synthétisé.

Dérivé	Ar ₁	Ar ₂	IR(KBr)Cm-1				AUTRE
			C=N	C=C	C-O-C Asy	C-O-C sym	
C1			1619	1520	1233	1049	(OH): 3117:3331
C2			1599	1480	1228	1128	(OH) 3154:3288
C3			1680	1571	1273	1178	(Cl): 761 (OH): 3293
C4			1625	1568	1226	1177	(Br): 615 (OH) :3284
C5			1610	1534	1249	1170	(OH) 3272 (OH) 3193

IV.2. Caractérisations Physique Des Dérives Obtenues :

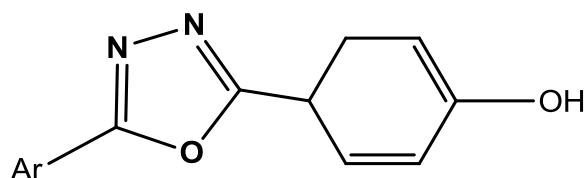


Figure.IV. 14.Structure générale des oxadiazole synthétisés.

Tableau. IV. 2.Données physiques sur le 1,3,4-oxadiazole phényle substitué par 2- (4-hydroxy phényle).

Dérivé	Ar	Couleur	MM (g/mole)	rendement %	mpC
C1		Orange Claire	271	69	259
C2		Crème	271	65	259
C3		Blanc	273,5	81	273
C4		Blanc	308	74	317
C5		Jaune Claire	255	66	254

Tableau. IV. 3. Diamètres des zones d'inhibition des dérivés oxadiazoliques (c) à différentes concentrations induit par la méthode de diffusion par puits sur gélose.

Dérivé	Bactéries Gram positif		Bactéries Gram négatif	
	Staphylococcus aureus	Bacillus cereus	Escherichia coli	Pseudomonas aeruginosa
C	15,5	13,33	14	14,33
C3	15,5	13,66	14	13,66
C4	20,33	13,33	12,33	18
C5	19	17	10,66	20,66

IV.3. Activité biologique

IV.3. 1. Activité Antibactérienne

Nous remarquons que toutes les bactéries testées (gram positifs et gram négatifs) aux différentes concentrations des dérivés oxadiazole. Les diamètres des zones d'inhibition varient entre 12,33 et 20,66 mm, à part *E. Coli* qui s'est montré résistante aux nos produits synthétisés. Le meilleur diamètre des zones d'inhibition est **20,66** mm du produit C5 vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*

➤ L'effet biologique du C4 :



Photo.IV. 1. La zone d'inhibition du produit C4 Contre *Staphylococcus aureus*.



Photo.IV. 2. La zone d'inhibition du produit C4 Contre pseudomonase

➤ L'effet biologique du C5 :

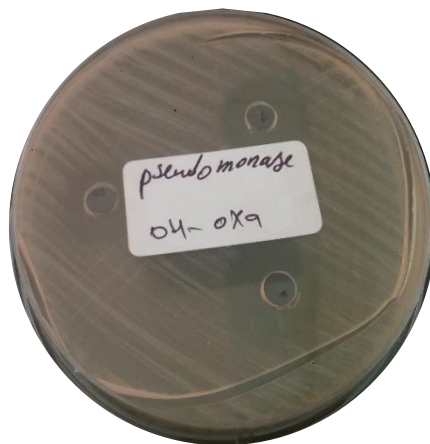


Photo.IV. 3. La zone d'inhibition du produit C5 Contre Staphylococcus aureus



Photo.IV. 4. La zone d'inhibition du produit C4 contre pseudomonase.

IV.3.2. Activité antioxydante.

A la recherche d'une potentielle classe de composés de piégeage de radical libre DPPH•, les composés, C, C1, C5 ont été sélectionnés pour mesurer l'activité de piégeage de ce radical libre in vitro. Ces composés ont montré des degrés variés de l'activité de piégeage de radical DPPH• et leurs valeurs d'IC50 entre 3 variables 0,853 et 1,440 (µg/ml) comme il est montré dans le tableau suivant :

Tableau. IV. 4. Les valeurs de l'IC50 ± SEM de différents dérivés de 1,3,4-oxadiazole synthétisés.

Les dérivés d'oxadiazole	IC 50 (µg/ml)
C	1,4403153
C1	0,85314
C5	1,12716
Acide Ascorbique	1.126 ± 0.19
BHT	3.204 ± 3.541

Et voilà une photo représente le changement du couleur au cours du test de piégeage des radicaux libre DPPH et les graphes du Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations des produits (C,C1,C5)



Photo.IV. 5. Test de piégeage des radicaux libre DPPH•

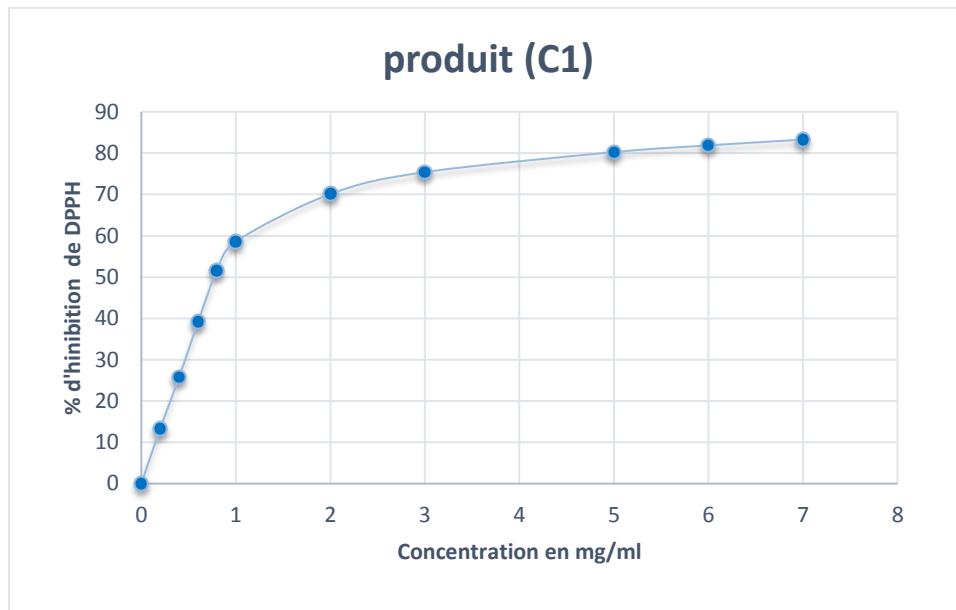


Figure.IV. 15.Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de (C1)

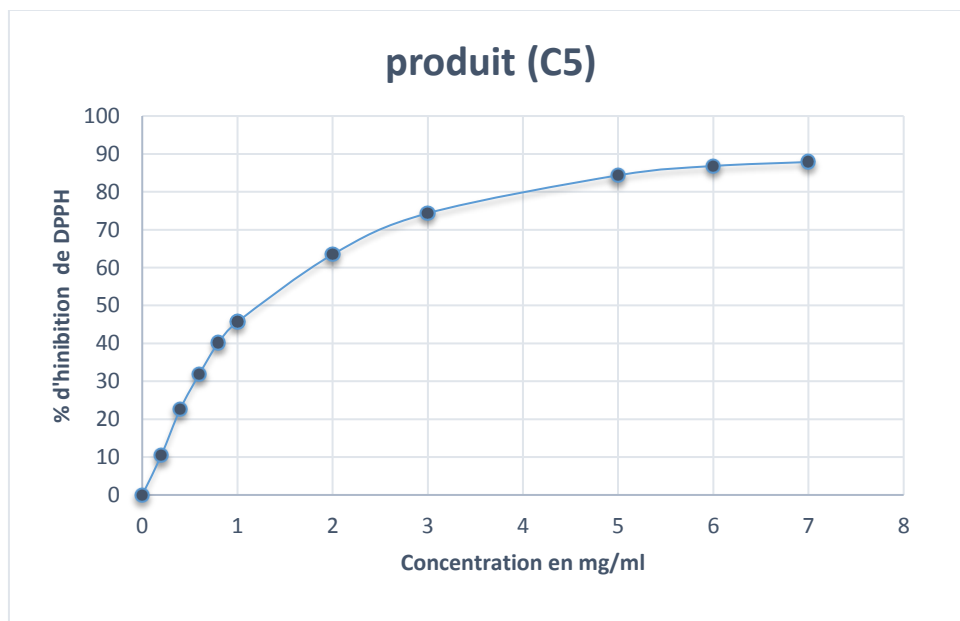


Figure.I. 16.Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de (C5)

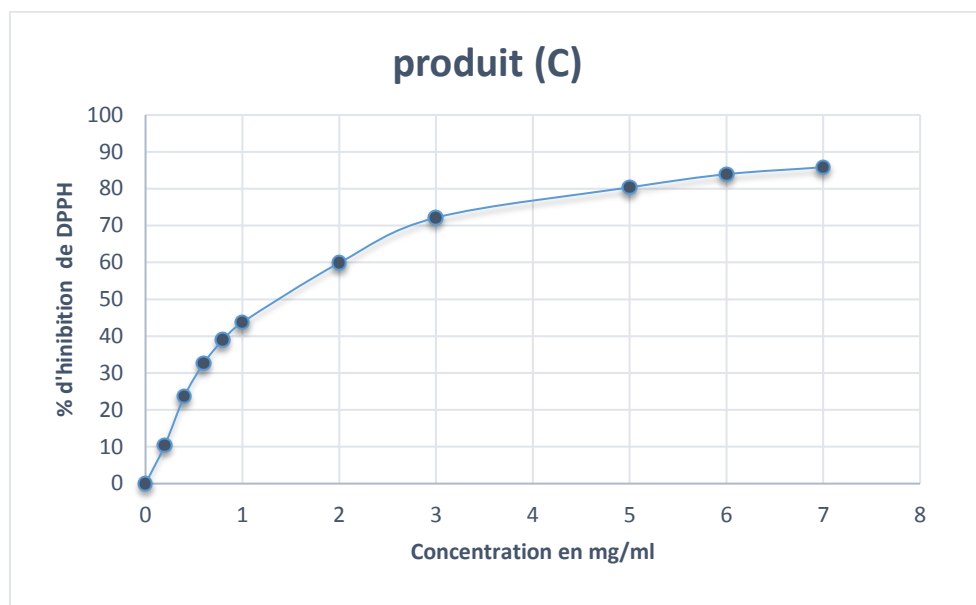


Figure.I. 17. Efficacité inhibitrice de (C) vis-à-vis le radical libre DPPH' En fonction de différentes concentrations.

D'après les résultats obtenus, on remarque que :

- Les composés qui possèdent une activité antioxydant plus élevés sont : C1 (0,85314 mg/ml) et C5 (1.1271 mg / ml) et montré des valeurs des IC_{50} qui étaient beaucoup mieux que le référence BHT ($IC_{50} = 3.204 \mu\text{g/ml}$) et plus proche que celle de l'acide ascorbique ($IC_{50} = 1.126 \pm 0.19 \mu\text{g/ml}$).
- Les composés C1, et C5 sont montrent des activités plus élevés que celles des autres composés, ceci est probablement causée par la présence de deux (02) groupement hydroxyle qui jouent un rôle stabilisant des radicaux d'ions phénoxyde .

D'autre part, les composé C3 et C4 possèdent une d'activité faible par rapport, qui sont probablement due aux présences des substituants chlore et brome qui exerce un effet mésomère désactivant.

CONCLUSION