

En dépit de l'utilisation intensive des antibiotiques et des programmes de vaccinations, les maladies infectieuses (particulièrement les infections bactériennes) restent toujours une cause majeure de mortalité dans le monde.

En effet, l'utilisation massive et souvent intempestive des antibiotiques, a fait que les bactéries pathogènes ont pu développer des mécanismes de résistance contre la plupart des familles d'antibiotiques disponibles actuellement. Cette évolution a été particulièrement spectaculaire depuis une vingtaine d'années. La transmission possible des gènes codant pour les mécanismes de résistance entre les différentes espèces bactériennes a provoqué l'émergence de bactéries multirésistantes qui posent des difficultés en thérapeutique courante. L'émergence récente et continue de souches résistantes aux antibiotiques classiquement utilisés en clinique est ainsi un grave problème de santé publique qui nécessite en urgence la découverte de nouveaux agents antibactériens **(Guery, 2010)**.

La science pharmaceutique a fait un progrès énorme dans l'isolation des principes actifs à potentiel antimicrobien à partir des plantes médicinales permettant ainsi la standardisation des doses administrées et le contrôle de leur activité. Plus tard, la découverte de leur formules chimiques a mené les chimistes à mettre au point des procédés pour la synthèse des substances les plus simples et les modifier, voire même les améliorer, par sémisynthèse.

La synthèse chimique de nouvelles molécules continue, à ce jour, à produire de nouveaux agents antimicrobiens qui peuvent contribuer à la lutte contre la crise des antibiotiques **(Saravolatz et al., 2009)**.

La chimie des composés azotés fait l'objet de différents sujets d'étude. L'atome d'azote est présent dans nombre de molécules naturelles d'intérêt pharmacologique. Parmi la grande variété d'hétérocycles qui ont été explorés pour développer des molécules pharmaceutiques, les pyridones ont attiré une attention considérable en raison de leur éventail d'activités biologique et thérapeutique. Les pyridones, considérées comme des dérivés de pyridine, se trouvent dans la structure de très nombreuses biomolécules et de nombreux produits naturels **(KO et al., 2001)**.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la quête qu'entreprend notre équipe et représente une continuation d'un travail de thèse de doctorat qui avait pour objectif la recherche de nouveaux agents antimicrobiens d'origine naturelle et de synthèse chimique. Nous nous intéressons dans cette étude à l'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne de six produits de synthèse chimique.

## 1. Généralité sur les pyridones

Les travaux réalisés sur les hétérocycles font apparaître un intérêt particulier du système chimique simple. La pyridone est une cétone hétérocyclique qui dérive de la pyridine.

La 2-pyridone est un composé organique qui contient 5 carbones, 5 hydrogènes, 1 azote et 1 oxygène [C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>NHO]. Elles constituent une classe importante de composés hétérocycliques azotés, issue de plusieurs composés naturels (**Stafford *et al.*, 1972**).

Ce composé chimique, diversement substitué, constitue le noyau de base de nombreuses substances végétales et thérapeutiques (**Amr et Abdulla., 2006**).

Selon l'union internationale de la nomenclature pure et appliquée de chimie (IUPAC), nous attribuons différents synonymes à la 2-pyridone :

2 (1H)-pyridinone

2(1H)-pyridone

1-H-pyridine-2-one

1,2 Dihydro-2-oxopyridine

1H-2-pyridone

2-Oxopyridone

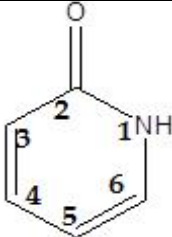
2- pyridinol

2-Hydroxypyridine

## 2. Caractéristiques physico-chimiques des pyridones

Les principales caractéristiques des 2-pyridones sont résumées dans le tableau N°1 :

**Tableau N°1 : Caractéristiques physico-chimiques des pyridones (IUPAC)**

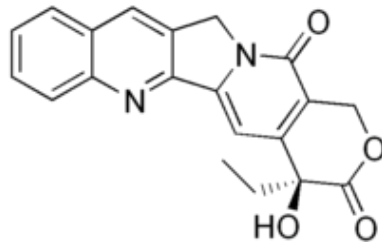
<b>NOM</b>	2-pyridone
<b>Nom chimique</b>	pyridine-2(1H)-one
<b>Numéro de CAS</b>	142-08-5
<b>Formule générale</b>	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> NH(O)
<b>Poids moléculaire</b>	95.10 g mole <sup>-1</sup>
<b>Densité</b>	1.39 g cm <sup>3</sup>
<b>Point de fusion</b>	107.8 °C
<b>Point d'ébullition</b>	280 °C
<b>Solubilité</b>	Soluble dans l'eau, chloroforme, méthanol, acétone
<b>Pka</b>	11.65
<b>λ maximum</b>	293 nm
<b>Point d'inflammabilité</b>	210 °C
<b>Composés relatifs</b>	Pyridine, thymine, cytosine, uracile, benzène
<b>Structure</b>	

### 3. Biosynthèse des pyridones

Dans la nature les pyridones se retrouvent massivement :

La camptothécine (CTP) est un alcaloïde pentacyclique isolé à partir de *Camptotheca acuminata*, un arbre très répandu en Chine (Wall *et al.* , 1966);(Wall, 1998).

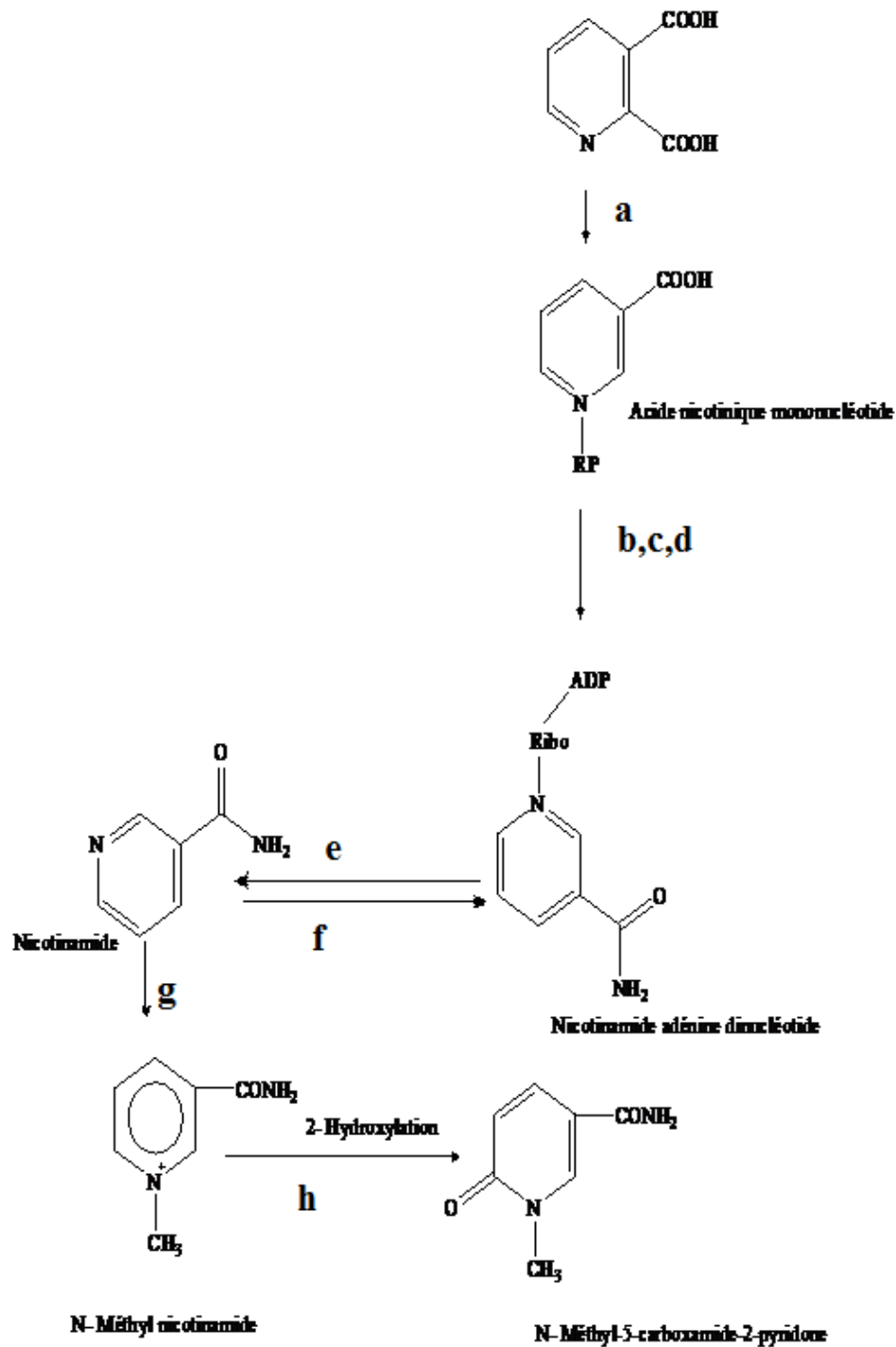
*Ricinus cominus* est une plante de la famille des Euphorbiacées. C'est la source de l'huile de ricin utilisée pour protéger les cheveux. La Ricinine a été retrouvée dans les différentes parties de cette plante (Roberts et Lord, 1981).



**Figure N°01** : structure de camptothécine

*Trewianu diflora*, originaire de l'Inde tropicale, est une plante riche en alcaloïdes comme la nudiflorine, N-méthyl-3-cyano-2-pyridone, N-méthyl-5-cyano-2-pyridone et le ricinidine. Le N-méthyl-5-carboxamide-2-pyridone est le composant principal de la fraction méthanolique de la plante qui a été isolé et identifié à partir de cette plante. Ce composé est un métabolite qui dérive de l'acide nicotique chez les mammifères.

Le modèle de biosynthèse de N-méthyl-5-carboxamide-2-pyridone à partir de l'acide nicotinique et nicotinamide a été établi (Sastry et Waller, 1972) (fig. 02). Certains travaux ont proposé une voie métabolique de biosynthèse semblable à celle de l'acide nicotinique et du nicotinamide chez *T. nudiflora*. Une voie biosynthétique éventuelle pour la formation du N-méthyl-5-carboxamide-2-pyridone est illustrée dans la figure N° 02. L'acide quinolinique est catalysé par l'enzyme transférase phosphorybosyl quinolinate pour former l'acide nicotinique mononucléotide, une fois formé, ce dernier est introduit dans la voie de synthèse de l'acide nicotinique adénine dinucléotide (NAD) dont il est, sous l'action du NAD(P) nucléosidase, transformé en nicotinamide. Le N-méthyl nicotinamide est formé à partir du nicotinamide par le nicotinamide méthyltransférase. Ensuite le carbone 2 du N-méthyl- nicotinamide subit l'oxydation pour donner N-méthyl-5-carboxamide-2-pyridone .



a : Quinolinate phosphoribosyl transférase, b : NAMN adényl transférase, c : NMN adényl transférase, d : NAD synthétase, e : NAD(P) nucléosidase, f : Nicotinamide phosphoribosyl transférase, g : Nicotinamide méthyl transférase, h : Aldéhyde oxydase.

Figure N°02. Biosynthèse du N-méthyl-5-carboxamide-2-pyridone chez *Trewianu diflora*



#### 4. Propriétés thérapeutiques

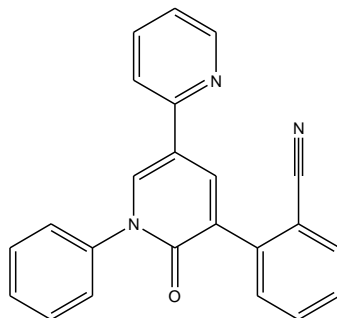
Parmi la grande variété d'hétérocycles qui ont été explorés pour développer des molécules pharmaceutiques, les pyridones sont au premier plan.

Les pyridones sont employées comme des ligands dans la formation des composés de coordination en tant qu'agents médicaux (**Bodor et al., 2008**);(**Brown et Zhao, 2008**).

A ce jour cette famille de composés montre différentes propriétés thérapeutiques :

##### 4.1. Propriété neurologique

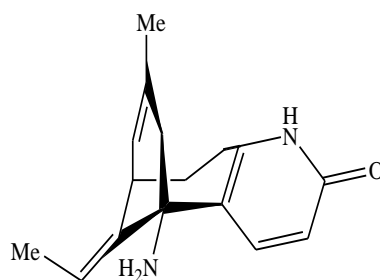
La parempanel (5'-(2-cyanophenyl)-1'-phenyl-2,3'-bipyridinyl-6'(1'H)-one) est une drogue qui est utilisée pour le traitement de maladie de parkinson (**Rascol et al., 1995**).



**Figure N°04** : Structure du parempanel

Selon **Finke et al., (2007)** les triazolethiones, les thiazolotriazoles, les imidazolotriazoles et les pyrazoles sont des dérivés de pyridones. Ils sont utilisés comme médicaments dans les maladies liées au déficit de la mémoire.

Le Huperzine A est agent utilisé en psychothérapie (**Kozikowski et al., 1996**).

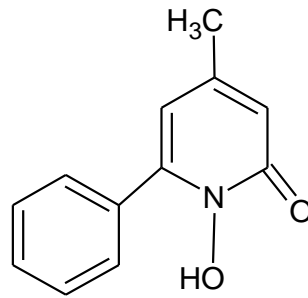


**Figure N°05** : Structure du Huperzine A

##### 4.2 . Propriété modulatrice des enzymes

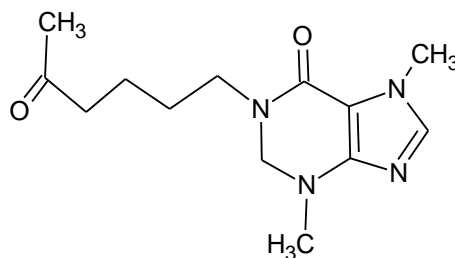
Certains pyridones présentent des activités de glucokinase, une enzyme qui phosphoryle le glucose en glucose 6 phosphate et diminue le taux du glucose dans le sang (**Hiromu et al., 2002**).

Le ciclopirox empêche la pénétration des ions métalliques (telle que les ions phosphate et potassium) dans la cellule. Il inhibe les peroxydes toxiques dans la cellule et agit donc sur la chaîne respiratoire de la cellule (**Christiane, 2006**).



**Figure N°6:** Structure du ciclospirox

**La pentoxifylline** (3,7-diméthyl-1-(5-oxohexyl)-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-dione) est un inhibiteur non sélectif des phosphodiesterases, des enzymes qui dégradent les nucléotides cycliques de type AMPc et GMPc et qui jouent des rôles importants comme seconds messagers intracellulaires (*lin et al., 2005*).



**Figure N°07 :** Structure de la pentoxifylline

Les agents cardiotoniques tels que l'amrinone et milrinone inhibent la phosphodiesterase III (une enzyme qui catalyse la transformation du 3'5'AMPcyclique (forme active) en 5'AMP (forme inactive) en hydrolysant la liaison phosphate présente en 3' sur l'AMPc) et augmente le flux de calcium intracellulaire sans modifier les échanges transmembranaires  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ . Ce sont des médicaments cardiotoniques (*Osadchii ., 2007*).

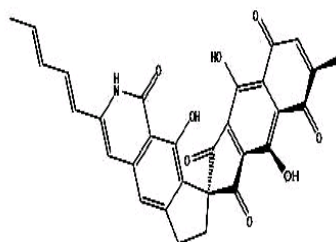
#### 4.3. Propriété cardiovasculaire

D'après certains auteurs, les pyridones sont employées comme médicament pour l'angine de poitrine (*David, 1968*) et dans le traitement de l'accident vasculaire cérébral ischémique (*Zhang et al., 2008*).



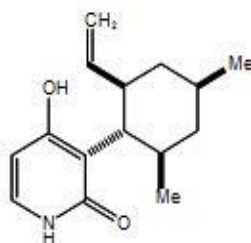
#### 4.4. Propriété anticancéreuse

Selon **Peters *et al.*, 2006**, la camptothécine (figure N°01) est utilisée comme médicament dans le traitement du cancer. Son action réside dans l'inhibition de la topoisomérase. La Frédéricamycine A est un agent qui est utilisé en chimiothérapie.



**Figure N°08 :** Structure de la Frédéricamycine A

D'après certains auteurs, les pyridones sont employées également comme antioxydant (**Sayed *et al.*, 2010**). Isolée à partir d'*Acremonium sp*, la Pyridoxatine a été démontrée à être 20 fois plus active que la vitamine E.



**Figure N°09:** Structure de la Pyridoxatine

#### 4.5. Propriétés antimicrobienne (tableau annexe)

Les thiazolotriazol ont montré non seulement des activités antibactériennes et antifongiques (**Kulkarnatak *et al.*, 1981 ; Wujec *et al.*, 2004**), mais aussi des activités anti-HIV (**Sayed *et al.*, 2008**), (par inhibition la transcriptase reverse de HIV) et contre le virus hépatite C (**Veronica *et al.*, 2006**).

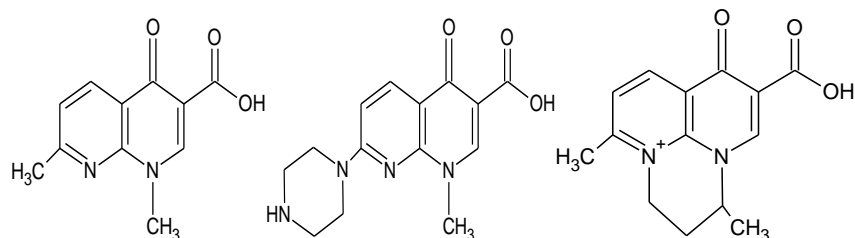
D'autres dérivés de 2-pyridone ont servi comme des peptidomimétiques qui empêchent l'assemblage des pilis chez *Escherichia coli* uropathogènes (**Aberg *et al.*, 2006**).

Des études ont indiqué que le dérivé de 4-pyridones contenant la partie sulfonamide possèdent une activité antimicrobienne élevée sur les bactéries par rapport aux mycètes, et une activité identique à celle des antibiotique standards (**Elmariah *et al.*, 2008**).

Les quinolones (acide nalidixique, Fluméquine, acide pipémidique) un groupe d'agents antibactériens utilisés généralement dans le traitement de nombreuses infections.

Les fluoroquinolones (Péfloxacine, Orfloxacine, Ciprofloxacine) ont une activité vis-à-vis des bactéries à Gram négatif. Ils pénètrent à travers les porines, d'autant plus qu'elles sont hydrophiles (Péfloxacine et ciprofloxacine) tandis que pour les molécules hydrophobes (orfloxacine) la pénétration peut se faire à travers la bicouche lipidique. Concernant les bactéries à Gram positif la pénétration est faite par diffusion passive à travers le peptidoglycane. Ces antibiotiques bloquent l'action de l'ADN gyrase bactérienne par son action sur l'enroulement de l'ADN la réplication et à la transcription. Leurs mode d'action est l'inhibition du fonctionnement des topoisomérases bactériennes (**Cambau et Guillard., 2012**).

### Quinolones

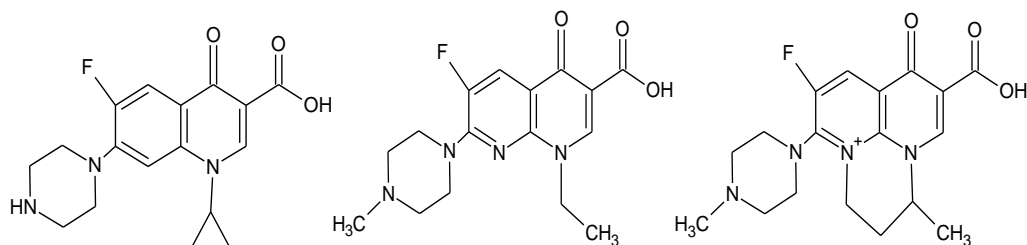


Acide nalidixique

Fluméquine

pipémidique

### Fluoroquinolone

Péfloxacine  
(méthylnorfloxacine)

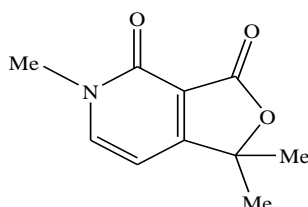
(Lev)-orfloxacine

Ciprofloxacine

**Figure N° 10:** Structure chimiques de quelques pyridones

#### 4.6. Autres activités

D'après certains auteurs, les pyridones possèdent une activité hépto-protectrice (**Kurakane et al., 2006**). La cerpégine est un composé connu pour ses propriétés tranquillisantes, anti-inflammatoires, analgésiques, hépto-protectrices et antipyrétiques (**Nikam et Savant, 2009**).



**Figure N° 11:** Structure la cerpégine

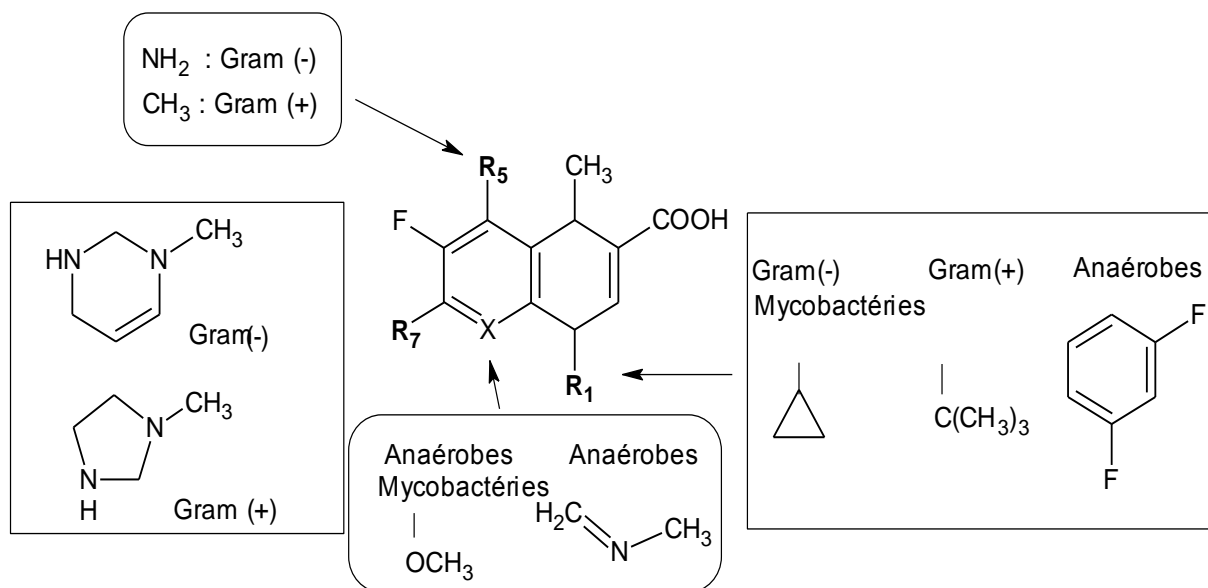
#### 5. La relation structure- activité antimicrobienne

La synthèse d'une nouvelle molécule est le fruit de l'imagination l'intuition, le savoir et l'expérience. Quel que soit la complexité de la molécule, la synthèse fait appel en général à une séquence de réactions judicieusement choisies dans un souci de rentabilité et d'originalité. Les études de dépendance structurelle avec l'activité antimicrobienne ont été principalement axées sur les effets de l'hydrophobicité à travers des essais de plusieurs séries d'échantillons homologues, par exemple, des alcools aliphatiques, dérivés du phénol alkylé et les composés ammonium quaternaires...etc (**Klarmann et al., 1933**) ; (**Suter et al., 1941**) ; (**Daoud et al., 1983**).

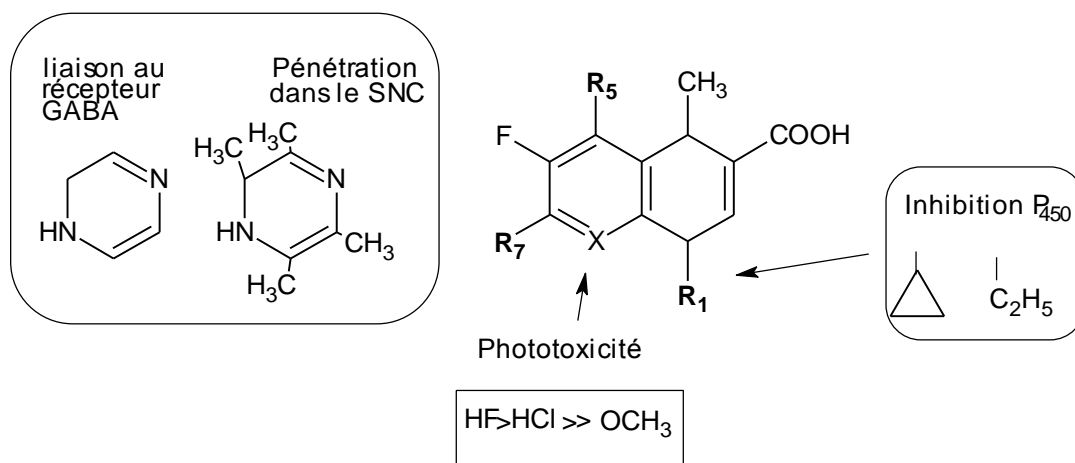
Si nous prenons le cas des quinolones comme exemple, une famille de composés très connue pour son pouvoir antibactérien, la substitution de N-1 semble être essentielle pour le contrôle de son pouvoir antibactérien, avec le groupe cyclopropyle elle semble être optimale. Un succès remarquable a été obtenu avec le substituant 2, 4-difluorophényl cas des tosufloxacin, trovafloxacin et témafloxacin, À la position C-2, l'hydrogène est optimale, les fragments carbonyle en C-3 et C-4 sont essentiels pour la liaison des gyrases. La position C-5 contrôle la puissance et la tendance générale en termes de puissance (CMI basses) est :  $\text{NH}_2 > \text{OH} > \text{CH}_3 > \text{H}$ . Cependant, ce site a été également impliqué dans la phototoxicité et de génotoxicité du composé. La position 6 contrôle la puissance. Il a été montré qu'un atome de fluor à cette position augmente l'efficacité, donnant lieu à des fluoroquinolones. Un des plus grands progrès dans l'amélioration de la puissance ainsi que la pharmacocinétique a été

l'introduction des substituants pipéridinyl et aminopyrrolidinyl à la position C-7. En général, le substituant pipéridinyl produit une plus puissante activité vis-à-vis des bactéries à Gram négative que l'activité de l'aminopyrrolidinyl. Ceci est illustré par les quinolones majeures mises actuellement sur le marché, elles contiennent toutes l'un de ces deux fragments **(Johnson et Li, 2007)**.

Chez les fluoroquinolones, la présence d'une fonction acide carboxylique en position 3 et un cycle pyridone dont la fonction aminée en position 1 est substituée par une chaîne aliphatique ou par un cycle sont indispensables à l'activité antibiotique, tandis que l'addition d'un fluor en 6 et d'un cycle diaminé en 7 accroît très significativement l'activité par rapport aux dérivés originaux (acide nalidixique). La nature des substituants en position 1, 5, 7 et 8 module le spectre d'activité, les effets secondaires et la pharmacocinétique des différentes molécules (figure 10). On distingue en particulier, les molécules de première génération portant en position 7 un cycle à 6 pièces, des molécules de seconde génération présentant dans la même position un cycle plus petit diversement substitué (moxifloxacin) **(Cambau et Guillard ., 2012)**.



### Relation Structure – Activité



### Relation Structure – Toxicité

Figure N°12 : Relation structure-activité et structure-toxicité des fluoroquinolones

# **Matériel et méthodes**

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique (LAPSAB), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen.

### 1. Matériel biologique

Douze souches bactériennes, disponibles dans notre laboratoire, ont été utilisées dans ce travail, il s'agit de :

- Cinq bactéries à Gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Citrobacter freundii* ATCC 8090.
- Cinq bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Enterococcus faecalis* ATCC 49452 et *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

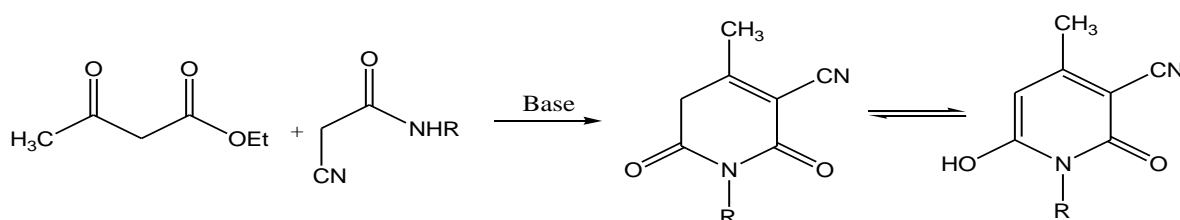
Les souches sont entretenues par des repiquages successifs puis conservées à 4°C sur gélose inclinée.

### 2. Les dérivés de synthèse

Dans cette étude, nous avons testé l'activité antimicrobienne de six produits de synthèse dérivés de pyridones. Ces dérivés ont été synthétisés par l'équipe du professeur Choukhou-Braham Noureddine, laboratoire de Catalyse et Synthèse en Chimie Organique (LCSCO), Faculté des Sciences Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen.

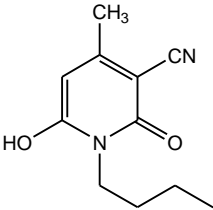
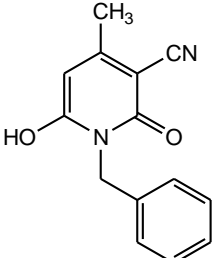
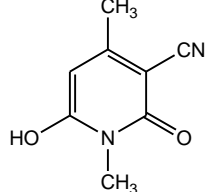
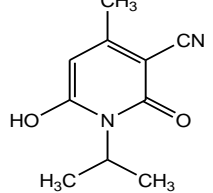
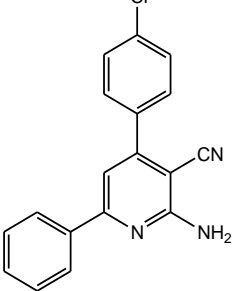
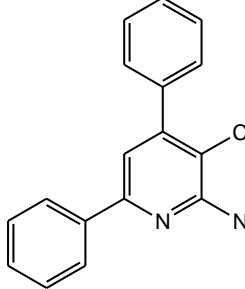
Les structures chimiques des dérivés testés sont regroupées sur le tableau N° 02. Ces dérivés ont été obtenus par la synthèse des 2-pyridones à partir des composés dicarboxylés.

Les 2-pyridones ont été obtenues par une condensation entre l'acétoacétate d'éthyle et les différents cyanoacétamides en présence de NaOH comme base et sous Microondes pendant 5 min (Kibou *et al.*, 2011).



**Figure N°13** : Schéma réactionnel de la synthèse des dérivés des 2-pyridones.

Tableau 02 : Structures chimiques des produits de synthèse testés

Structures	Noms systématiques	Codes
	1-butyl-6-hydroxy-4-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carbonitrile	<b>p1</b>
	1-benzyl-6-hydroxy-4-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carbonitrile	<b>p2</b>
	1-butyl-6-hydroxy-4-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carbonitrile	<b>p3</b>
	6-hydroxy-1-isopropyl-4-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carbonitrile	<b>p4</b>
	2-amino-4-(4-chlorophenyl)-6-p-tolylnicotinonitrile	<b>p5</b>
	2-amino-4,6-diphenylnicotinonitrile	<b>p6</b>



### 3. Méthodes

#### 3.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

Les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antibactérienne ont été inspirées à partir de celles décrites par les recommandations de l'Institut des Standards Cliniques et des Laboratoires (NCCLS, 2006; CLSI, 2009).

Deux techniques ont été utilisées :

- Technique de diffusion des disques sur milieu solide;
- Technique des dilutions sur milieu solide.

Dans un premier temps, les tests ont été réalisés vis-à-vis de toutes les souches. Ensuite, les produits ont fait l'objet d'une évaluation de leur activité par la méthode des dilutions pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI).

##### 3.1.1. Méthode de diffusion des disques sur milieu solide (NCCLS, 2006)

C'est une méthode qualitative réalisée à partir du même principe de l'antibiogramme me. Elle est basée sur la diffusion des substances à tester selon un gradient de concentration (Cos *et al*, 2006).

L'inoculum utilisé a été ajusté au standard 0,5 Mc Farland (par un spectrophotomètre) à une absorbance comprise entre 0,08 et 0,1, lue à 625 nm. Le 0,5 Mc Farland est équivalent à  $10^8$  UFC/ mL. L'ensemencement a été réalisé par inondation sur la gélose Mueller Hinton. Les disques, préalablement préparés et imprégnés par une dose de 512 µg/ disque des produits à tester, ont été ensuite transférés dans la boîte ensemencée. Les disques témoins ont été imprégnés successivement par 10 µL d'eau distillée et 10 µL de DMSO pur. La Ciprofloxacine (5µg/disque) et la Gentamycine (15µg/disque) ont été utilisées comme témoins positifs. Les boîtes ont été ensuite incubées pendant 24 h à 37 °C.

La lecture a été réalisée en prenant la moyenne de trois mesures des diamètres des zones d'inhibition.

L'activité antimicrobienne est considérée comme positive à partir d'un diamètre supérieur à 6 mm. Elle est évaluée dans ce travail comme suit (Park *et al.*, 2006 ; Nath *et al.*, 2008): **Très Forte activité** : diamètre  $\geq 20$  mm ; **bonne activité** : diamètre entre 16-20 mm ; **moyenne activité** : diamètre entre 11-15 mm ; **faible activité** : diamètre  $\leq 10$  mm.

### **3.1.2. Méthode des dilutions sur milieu solide**

Un volume de 1 mL de chaque dilution des produits à tester a été mélangé avec 19 mL du milieu Mueller Hinton, dans une boîte de pétrie stérile. Ces boîtes ont été maintenues jusqu'à solidification de la gélose. Les boîtes témoins ont été préparées en ajoutant respectivement 1 mL d'eau distillée et 1 mL de DMSO.

L'ensemencement a été réalisé par le dépôt d'un spot qui contient  $10^7$  UFC/mL. La boîte est ensuite séchée et incubée pendant 24 h à 37°C.

Cette méthode permet de tester toutes les souches bactériennes en même temps et sur la même boîte. Ceci a l'avantage d'étudier le comportement des substances vis-à-vis de toutes les souches dans des conditions expérimentales identiques.

La lecture se fait à l'œil nu et la CMI est la plus faible concentration à laquelle aucune croissance visuelle n'est décelée.

# Résultats et interprétations

## 1. Résultats et interprétations

Tous les produits synthétisés ont fait l'objet d'un criblage d'évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis de cinq bactéries à Gram négatif et cinq à Gram positif.

Le tableau N° 3 présente les diamètres des zones d'inhibition des produits de synthèse testés vis-à-vis des bactéries à Gram négatif.

Les deux produits p3 et p5 montrent une activité moyenne vis-à-vis d'*Escherichia coli* et *Citrobacter freundii* avec les diamètres des zones d'inhibition 12 et 13 mm respectivement. Une faible activité a été enregistrée pour les produits p1, p4 et p6 vis-à-vis d'*Acinetobacter Baumannii*, *Citrobacter freundii* et *E. coli*. Les diamètres des zones d'inhibition sont compris entre 9 et 10 mm. Cependant les autres résultats n'ont montré aucune zone d'inhibition intéressante.

Le tableau N° 4 présente les résultats de l'activité des produits de synthèse testés vis-à-vis des bactéries à Gram positif.

Le produit p5 montre une très forte activité vis-à-vis de *Bacillus subtilus* avec le diamètre de zone d'inhibition 23 mm et une bonne activité vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, avec le diamètre de zone d'inhibition 18 mm. Cependant, une moyenne activité a été enregistrée vis-à-vis des 3 souches *Bacillus subtilus*, *Bacillus cereus* et *Listeria monocytogenes* pour les produits p3, p5 et p6 avec des diamètres des zones d'inhibition compris entre 11 et 12,5 mm.

Les autres produits n'ont montré aucune zone d'inhibition vis-à-vis des autres souches à Gram positif et de ce fait aucune activité ne leur est attribuée.

La comparaison des résultats (tableau N°3 et N°4) des produits de synthèse avec l'antibiotique de référence la Ciprofloxacine (composé à noyau pyridone) montre que ce dernier est nettement plus actif que les dérivés synthétisés vis-à-vis de toutes les souches testées.

Pour s'assurer de la validité des résultats obtenus, un contrôle de qualité a été effectué par la réalisation d'un antibiogramme de nos souches de référence selon les recommandations du **NCCLS, 2006**.

L'antibiogramme a été réalisé avec la Ciprofloxacine et la Gentamycine. Les résultats obtenus (tableau N° 3 et tableau N°4) concordent avec les limites acceptables des diamètres d'inhibition (**NCCLS, 2006**). L'antibiogramme nous a permis, d'une part, de vérifier la

Conformité de nos souches de références, d'autre part la validité de nos manipulations et de la technique utilisée et enfin la comparaison des résultats obtenus avec ceux de nos dérivés.

**Tableau N° 03** : Diamètre des zones d'inhibition (mm) des produits de synthèse vis-à-vis des bactéries à Gram négatif

	<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P3</b>	<b>P4</b>	<b>P5</b>	<b>P6</b>	<b>Cip</b>	<b>Gent</b>	<b>DMSO</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	6	6	6	6	6	33	21,33	6
<i>Escherichia coli</i>	10	6	12	10	6	6	36	21,5	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	6	6	6	6	6	24	14	6
<i>Acinetobacter baumannii</i>	6	6	6	6	9	6	24,5	14,5	6
<i>Citrobacter freundii</i>	10	6	6	6	13	10	32,5	26	6

Cip-Ciprofloxacine (5µg/ disque) ; Gent-Gentamycine (15µg/ disque)

**Tableau N° 04** : Diamètre des zones d'inhibition (mm) des produits de synthèse vis-à-vis des bactéries à Gram positif

	<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P3</b>	<b>P4</b>	<b>P5</b>	<b>P6</b>	<b>Cip</b>	<b>Gent</b>	<b>DMSO</b>
<i>Bacillus cereus</i>	6	6	12	6	12,5	6	33,5	26	6
<i>Bacillus subtilis</i>	6	6	11	6	23	12	30	25	6
<i>Enterococcus faecalis</i>	6	6	6	6	6	6	33,5	26	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	6	6	6	18	6	30	21,33	6
<i>Listeria monocytogenes</i>	9	6	6	6	11	8	20	18	6

Cip-Ciprofloxacine (5µg/ disque) ; Gent-Gentamycine (15µg/ disque)

Le choix de ces deux antibiotiques était basé sur leur disponibilité dans le commerce ainsi que sur leur utilisation comme référence dans plusieurs travaux récents (Tiwari *et al*, 2006 ; Nath *et al*, 2008).

La comparaison quantitative des résultats des composés testés avec la Gentamycine est difficile, car la nature de l'activité et la composition des molécules ne sont pas tout à fait comparables ainsi que la vitesse et le mode de diffusion dans la gélose.

L'étude de la CMI a été réalisée ensuite par la méthode des dilutions en milieu solide vis-à-vis de toutes les souches.

Le tableau N°5 montre les résultats des CMI des produits de synthèse vis-à-vis des bactéries à Gram négatif. Aucune CMI intéressante n'a été enregistrée vis-à-vis de toutes les souches à Gram négatif.

Le tableau N°6 montre les résultats des CMI des produits de synthèse vis-à-vis des bactéries à Gram positif. Les plus basses CMI ont été obtenues par le produit p5 vis-à-vis des souches *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*. Les CMI sont respectivement 8, 16 et 32 µg/ mL. Le composé p3 a montré une CMI égale à 64 µg/ mL vis-à-vis de *Bacillus cereus*. Cependant les autres produits n'ont montré aucun résultat intéressant vis-à-vis des autres souches.

La comparaison entre les produits p 5 et p6 nous permet de repérer une nette amélioration de l'activité antimicrobienne. La CMI est supérieur à 512 µg/ mL pour le composé p6 alors qu'elle descend jusqu'à 8 µg/ mL vis-à-vis de *Bacillus cereus*.

**Tableau N°5 : CMI (µg/ mL) des produits de synthèse vis-à-vis des bactéries à Gram négatif**

	<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P3</b>	<b>P4</b>	<b>P5</b>	<b>P6</b>	<b>Cip</b>	<b>Gent</b>
<i>Bacillus cereus</i>	>512	>512	64	>512	8	>512	0,064	0,5
<i>Bacillus subtilis</i>	>512	>512	>512	>512	16	>512	0,128	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	>512	>512	>512	>512	>512	>512	0,25	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	>512	>512	>512	>512	32	>512	0,25	0,5
<i>Listeria monocytogenes</i>	>512	>512	>512	>512	>512	>512	0,25	8

Cip-Ciprofloxacine ; Gent-Gentamycine

**Tableau N°6 : CMI (µg/ mL) des produits de synthèse vis-à-vis des bactéries à Gram positif**

	<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P3</b>	<b>P4</b>	<b>P5</b>	<b>P6</b>	<b>Cip</b>	<b>Gent</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>512	>512	>512	>512	>512	>512	0,25	0,5
<i>Escherichia coli</i>	>512	>512	>512	>512	>512	>512	0,008	0,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>512	>512	>512	>512	>512	>512	0,25	8
<i>Acinetobacter baumannii</i>	>512	>512	>512	>512	>512	>512	0,5	8
<i>Citrobacter freundii</i>	>512	>512	>512	>512	>512	>512	0,016	0,5

Cip-Ciprofloxacine Gent-Gentamycine

# Discussion



Ce travail a porté sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de 6 dérivés de synthèse. L'activité antibactérienne a été évaluée vis-à-vis de cinq souches à Gram positifs et cinq à Gram négatifs. Ces bactéries sont connues pour être à l'origine de plusieurs maladies infectieuses telles que les maladies de la peau, respiratoire, digestive et urinaire.

Les meilleures activités ont été enregistrées par les produits p3 et p5 vis-à-vis des bactéries à Gram positif. Le composé p3 possède un groupement méthyle greffé sur l'atome d'azote. Alors que les produits p1, p2 et p4 possèdent soit une longue chaîne, soit une chaîne ramifiée ou un cycle. Ceci nous permet de dire que le greffage de petits groupement électrodonneur dans position N-1 permet d'améliorer l'activité antimicrobienne particulièrement vis-à-vis des bactéries à Gram positif.

De même pour le composé p5, l'ajout du chlore sur le phényle en position C-4 a amélioré l'activité antimicrobienne. Ceci peut être expliqué par l'effet électrotracteur qu'exerce le Chlore sur le noyau de base de nos molécules.

Nos suggestions peuvent être confirmés par les résultats obtenus par la Ciprofloxacine. Cet antibiotique qui a une structure similaire à nos produits a montré une très forte activité vis-à-vis de toutes les souches bactériennes. Cette activité a été expliquée par la présence du méthyle au niveau de l'atome d'azote ainsi qu'à l'atome de fluor.

Dans le travail réalisé par **Rahmoun en 2013** qui a porté sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de 22 dérivés pyridine (dont 14 composés dérivent du noyau pyridone) seules les composés nommés **A** (1-benzyl-2-oxo-4-phényl-1,2-dihydropyridine-3-carbonitrile) et **K** (1-allyl-4-(4-chlorophényl)-2-oxo-1,2-dihydropyridine-3-carbonitrile) (Figure N°14,annexe II) ont exhibés une activité vis-à-vis des souches à Gram négatif *E. cloacea* et *Escherichia coli* respectivement. Il a constaté que le groupement phényle lié au CH<sub>2</sub> au niveau de l'atome d'azote du produit A et le CH<sub>2</sub> du groupement allyle avec les deux groupements de chlore (cas du produit K) sont des dispositifs structuraux importants qui ont révélé une activité antibactérienne intéressante par rapport aux autres produits testés (leurs analogues). La modification de la structure des 2- pyridones à travers les produits A et K par rapport aux autres dérivés a permis éventuellement l'amélioration de l'activité antibactérienne.

Notre étude est en accord avec celle réalisée par **El-Mariah et Nassar, 2008**, qui a porté sur synthèse et l'évaluation de l'activité antimicrobienne d'une nouvelle série de 5-

carbomethoxy-2-pyridone où les composés synthétisés ont montré une forte activité vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*.

Un des mécanismes qui peuvent expliquer l'activité montrée peut être commenté par l'étude faite par **Gocke et al., 2003**. Dans cette étude le noyau pyridone a montré une propriété de photo-généotoxicité importante. Le mode d'action a été considéré comme générateur de radicaux libres et qui est très probablement causé par la génération de oxygène singulet  $^1\text{O}_2$ . Cette dernière est molécule d'une grande instabilité, ce qui signifie qu'elle aura la possibilité de réagir avec de nombreux composés dans des processus le plus souvent non spécifiques. Ce qui va provoquer des dégâts le plus souvent irréversibles au niveau des microorganismes.

Nous pensons que l'activité montrée par le produit p3, est due à la production de radicaux libres, particulièrement avec la présence d'un groupement hydroxyle en position

C-6.

Il est intéressant de remarquer qu'il y a davantage de molécules actives sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif. Cette différence peut être liée à la structure de la paroi de ces deux familles de bactéries. La paroi cellulaire des bactéries à Gram négatif est plus complexe que celle à Gram positif qui ne possède pas de paroi externe. C'est en particulier cette dernière qui leur confère la relative imperméabilité par rapport aux bactéries à Gram positif. Les molécules trop encombrées ou trop hydrophobes ne pourront pas passer à travers les porines de la membrane externe (**Ahmad et al., 2006**).

# Conclusion

Le présent travail a été réalisé au laboratoire Antibiotiques antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique. Il s'inscrit dans le cadre de la quête qu'entreprend notre équipe pour la recherche de nouveaux agents antimicrobiens capables d'être un appui dans la gestion de la « crise d'antimicrobiens ». Il a permis notamment d'étudier l'activité antimicrobienne de produits de synthèse appartenant aux familles 2-pyridones. L'évaluation a été réalisée *in vitro* vis-à-vis de dix souches de bactéries, cinq bactéries à Gram négatif et cinq à Gram positif.

Les résultats de l'évaluation l'activité antibactérienne de nos produits de synthèse indiquent la présence d'une bonne activité pour les produits p3 et p5 vis-à-vis de *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* respectivement avec des CMI comprises entre 8 et 64 µg /mL.

Le groupement méthyle greffé sur l'atome d'azote du produit p3 et l'atome de chlore substitué sur le phényle de l'hétérocycle du produit p5 améliorent l'activité antibactérienne de nos produits.

L'établissement d'une vraie relation structure-activité antimicrobienne n'as pas été possible. Cependant, ce modeste travail nous a permis confirmer le rôle de certains substituant (le chlore et le méthyle en position N-1) dans l'activité antimicrobienne.

Pour compléter ce travail, il serait intéressant d' :

- Elargir cette étude vis-à-vis d'autres souches de bactéries pathogènes et des levures;
- Etudier leurs effets synergiques avec d'autres antibiotiques ou antifongiques afin d'améliorer leurs index thérapeutiques;
- Etudier leurs mécanismes d'action en déterminant leurs cibles;
- Evaluer leurs toxicités *in vitro* et *in vivo*

**méthyle**

**Korolyov A.** (2011) Dérivés lipophiles de la Ciprofloxacine et de la Lévofloxacine: Synthèse et évaluation de leurs activités antibactérienne, antimycobactérienne et antiproliférative ., Université Toulouse III., *Chimie Biologie Santé*. 244.

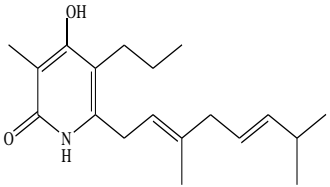
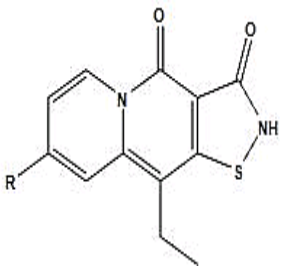
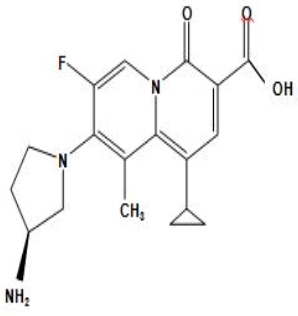
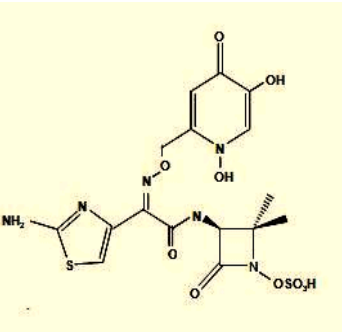
**Chlor**

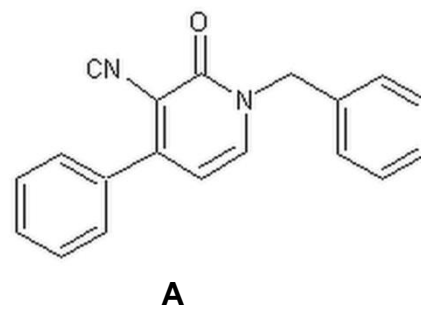
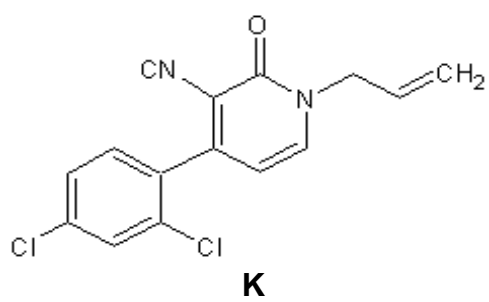
**Roussel P., Liu G., Milligan D ., Goldman S. and Heim J.(2012)** Synthesis and in *vitro* antibacterial activity of a new series of 2-pyridone based topoisomerase inhibitors., *CH-4153 Reinach Switzerland*.

**El-Mariah, Fatma; Nassar, Ekhllass (2008).** Synthesis and Antimicrobial of Some Novel-5-carbomethoxy-2-pyridone Derivatives Containing Sulfonamide Moiety *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 8(12), 3145-3155

# **Annexes**

Tableau N°2 : Structures de quelque pyridones et leurs propriétés antimicrobiennes.

Composés	Structures chimiques	Activités biologiques	Références
Iromycine		Antimicrobiennes et inhibitrices de la chaîne respiratoire mitochondriale <u>par</u> blocage de l'oxydation du NADH oxydoréductase-ubiquinone	(Shojaei <i>et al.</i> , 2007)
L'isothiazolopyridone		Sont exposées à une activité antibactérienne vis-à-vis les bactéries Gram (-) et Gram (+), et une action inhibitrice de l'ADN gyrase et la topoisomérase IV	(Jason <i>et al.</i> , 2006).
ABT-719		Inhibiteur de l'ADN gyrase bactérienne ( <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Escherichia coli</i> , et <i>P. aeruginosa</i> , bactéries pathogènes fréquemment impliquées dans les infections urinaires	(Flamm <i>et al.</i> , 1995).
BAL30072		Antibiotique monocyclique de la classe des $\beta$ -lactamines possède une activité significative vis-à-vis des bacilles à Gram (-) multi-résistants	(Page <i>et al.</i> , 2010).



**Figure N°14** : Structures des produits A et k