

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**



**Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la**  
**Terre et de l'Univers**  
**Département de Biologie**

Laboratoire :

**Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique**

Mémoire

Présenté par

**M<sup>elle</sup> MAZARI Wissame**

En vue de l'obtention du diplôme de

**Master**

Filière : Biologie

Option : Biochimie appliquée

Thème

**Évaluation de l'activité antibactérienne de quelques pyridones de  
synthèse**

Soutenu le 10/07/2011

Devant le jury :

Présidente	M <sup>me</sup> Boucherit-Atmani Zahia	Maître de conférences (A), Université Tlemcen
Promoteur	M <sup>f</sup> Boucherit Kebir	Maître de conférences (A), Université Tlemcen
Examineur	M <sup>f</sup> Choukchou-Braham Nouredine	Professeur, Université Tlemcen
Invité	M <sup>f</sup> Rahmoun Mohammed Nadjib	Doctorant, Université Tlemcen

Année universitaire : 2010-2011

## Remerciements

Avant de se lancer dans le travail de recherche proprement dit, je tiens tout d'abord à remercier quelques personnes qui m'ont permises de réaliser ce mémoire :

Je tiens particulièrement à remercier mon encadreur, Monsieur BOUCHERIT Kebir, maître de conférences « A » à l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, pour m'avoir fait l'honneur d'encadrer ce travail et pour son dynamisme pour la recherche scientifique, qui a été pour moi une source de motivation. Je le remercie pour tous le savoir qui m'a transmis, pour ses conseils et ses commentaires qui ont enrichis mon travail expérimental et ma rédaction. Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.

J'adresse mes sincères remerciements à Madame BOUCHERIT-ATMANI Zahia, maître de conférences « A » à l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, directrice du laboratoire de recherche : Antibiotique, antifongiques, physico-chimie, synthèse et activités biologiques, pour l'honneur qu'elle me fait en président ce jury de mémoire. Je tiens à présenter tous ma gratitude, ma reconnaissance, mes respects et ma grande estime à vous madame. J'ai toujours admiré vos qualités humaines et professionnelles ainsi votre modestie qui reste exemplaires. Je vous remercie aussi pour toutes les remarques et les suggestions que vous m'avez fait pour compléter et faire aboutir ce travail. Je vous remercie pour votre grande disponibilité, votre écoute et votre implication. Madame, vous êtes pour moi un être humain exceptionnel et un modèle scientifique.

Ma gratitude va également à celui qui m'a fait l'honneur de juger ce travail, Monsieur le professeur CHOUKCHOU-BRAHAM Nouredine, à l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, pour consacrer une partie de son temps pour l'analyse de ce mémoire. Veuillez accepter, monsieur, l'assurance de mon estime et mon profond respect.

Je tiens à remercier Monsieur RAHMOUN Nadjib Mohammed, doctorant en Biochimie à l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, pour son énorme aide pour réaliser ce travail, pour son dynamisme pour la recherche, pour le partage de ses

expériences et de ses compétences scientifiques, pour ces conseils et son suivi, pour sa disponibilité et pour sa gentillesse. Qu'il trouve ici mes profonds remerciements.

J'adresse également mes remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à l'aboutissement de ce mémoire :

Je tiens, en premier lieu, à remercier Madame BELHADJ Zahira née KIBOU, doctorante en Chimie à l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, pour l'aide qu'elle m'a apportée pour fournir les produits de synthèse pour cette étude. Qu'elle soit assurée de mes profonds remerciements.

J'exprime aussi ma reconnaissance à Monsieur BENABDALLAH Mohammed, maître assistant à l'Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, pour son aide, suggestions et conseils pour la réalisation de ce travail.

À Monsieur EL-HACI Imad Abdelhamid, doctorant en Biochimie à l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, pour son aide et ses précieux conseils. Je le remercie pour les discussions et les suggestions enrichissantes. Je vous souhaite une bonne continuation.

Je remercie tous les étudiants en poste graduation pour leurs conseils et leur aide précieuse toute la durée de cette partie, aussi bien par les discussions que j'ai eu avec eux, leurs suggestions ou contributions: BELMIR Sara, BELHACHEMI Mohamed Habib, BENBEKHTI Zineddine, MEHYAOUI Samir, BENJALLOUL Meriem, MEZERAI Rabiha, BENMANSOUR Wafaâ, ADIDA Houria et BENTABET Nesrine.

Un grand merci pour tous les membres du laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique ainsi que pour tous les professeurs qui ont contribué à mon évolution scientifique.

Finalement, toute ma gratitude va à mes parents qui n'ont jamais douté de moi et qui m'ont aidé et encouragé tout au long de mes études, à mon frère et mes sœurs.

# ABBREVIATIONS

ATCC	American Type Culture Collection
AVC	Accident Vasculaire Cérébral
BHIB	Beef Heart Infusion Broth
CAS	Chemical Abstracts Service
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CTP	La Camptothécine
EUCAST	European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing
NAD	Nicotinamide Adenine Dinucléotide
NAD (P)	Nicotinamide Adenine Dinucléotide Phosphate
NAMN	Acide nicotinique mononucléotide
NCCLS	National Clinical Comity Laboratory Standard
NMN	Nicotinamide mononucléotide
UFC	Unités Formant Colonie

# SOMMAIRE

<b>Introduction</b> .....	01
<b>Première partie : Synthèse bibliographique</b> .....	04
1. Les pyridones .....	05
1.1. Caractéristiques des pyridones .....	05
1.2. Propriétés biologiques .....	07
1.3. Origine et biosynthèse des pyridones .....	10
1.4. Toxicité .....	13
2. Synthèse organique .....	14
3. Objectif .....	14
<b>Deuxième partie : Matériel et méthodes</b> .....	15
1. Matériel biologique .....	16
1.1. Souches bactériennes .....	16
1.2. Repiquage, revivification et conservation des souches .....	17
2. Synthèse des 2-pyridones .....	17
3. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	19
3.1. Milieux de culture .....	19
3.2. Inoculum .....	19
3.3. Méthode de diffusion des disques sur milieu solide .....	19
3.4. Méthode de dilution en milieu liquide .....	20
4. Détermination de l'activité antibactérienne des 2-pyridones associées aux autres dérivés de synthèse .....	21
<b>Troisième partie : Résultats et discussion</b> .....	23
1. Charge du disque .....	24
2. Evaluation de l'activité antibactérienne des 2-pyridones de synthèse par la méthode de diffusion des disques .....	24
3. Détermination de la CMI des dérivés des 2-pyridones .....	28
4. Evaluation de l'activité antibactérienne des 2-pyridones associées aux autres dérivés de synthèse .....	32
4.1. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques	32
4.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'association des produits de synthèse .....	39

**Quatrième partie : Conclusion générale ..... 42**  
**Cinquième partie : Références bibliographiques ..... 44**  
**Annexes**

# **INTRODUCTION**

L'homme vit de façon habituellement harmonieuse et pacifique avec une immense population de bactéries. L'intestin héberge des milliards de bactéries de tous genres, ces dernières exercent un rôle de protection (flore dite de barrière) vis-à-vis des bactéries « envahissantes ». Il y a plus de bactéries dans la flore de l'homme que de cellules humaines. Il s'agit donc d'une véritable cohabitation. Le séjour hospitalier, les maladies graves, l'immunodépression et surtout les antibiotiques modifient totalement cet équilibre; ils changent le type de bactéries portées par le malade, et augmentent le risque d'infections nosocomiales **(Ducel et coll., 2008)**.

Ces dernières sont connues dans le monde entier et touchent aussi bien les pays développés que les pays en développement. Ces infections contractées en milieu médical figurent parmi les causes majeures de mortalité et de morbidité accrues parmi les malades. Elles représentent une charge importante pour le patient comme pour la santé publique **(Naqvi et Pulcini, 2010)**.

Après la découverte et le début rapide des sulfamides et de la pénicilline vers le milieu du vingtième siècle, les années 1950 à 1970 ont connu un véritable « âge d'or » de la découverte des médicaments anti-infectieux (Tableau N°1 voir annexe I). De nombreuses infections jusque-là graves et potentiellement mortelles pouvaient désormais être traitées. Cependant, ces succès ont encouragé l'usage excessif et inapproprié des antibiotiques. Actuellement, de nombreux micro-organismes sont devenus résistants à différents antimicrobiens, et parfois à presque tous. Les bactéries résistantes peuvent conduire à une augmentation de la morbidité et des décès, surtout chez les patients immunodéprimés ou atteints de maladies sous-jacentes graves. La résistance aux antimicrobiens pose des problèmes aussi bien dans la communauté que dans les établissements de santé. Dans les hôpitaux, la transmission des bactéries est amplifiée du fait de la population hautement vulnérable que constituent les patients **(Guery, 2010)**.

Il n'est guère douteux que le développement implacable de la résistance bactérienne parmi les microbes pathogènes a créé chez l'être humain une demande importante de nouveaux agents antibactériens qui n'a pas été satisfaite par l'application clinique de nouveaux agents efficaces dans la décennie passée **[(Spellberg et coll., 2008) ; (Theuretzbacher, 2009)]**. Cependant, certaines approches sont actuellement étudiées aux laboratoires de recherches et aux compagnies de développement d'antibiotiques dans le monde entier afin d'essayer de fournir de nouveaux agents antimicrobiens pour les prochaines décennies. Ces nouvelles approches

passionnantes, conçues récemment, n'ont pas mené à la découverte de remarquables nouveaux agents **[(Payne et coll., 2007) ; (Robert et Moellering, 2011)]**. En revanche, la synthèse chimique de nouvelles molécules continue à produire les files potentielles de nouveaux agents antimicrobiens **(Saravolatz et coll., 2009)**. Dans ce contexte les chimistes cherchent toujours à optimiser la structure de ces molécules bioactives en effectuant de nombreuses modifications (appelées des analogues) pour tenter de maximiser les effets souhaités. Parmi les molécules qui ont été explorés, les composés ayant la structure pyridone ont attiré l'attention de nombreux chimistes organiciens en raison de leur large éventail d'activités biologiques en tant qu'agents anticancéreux, antibactériens, antifongiques, anti-inflammatoires...etc **[(Hamdya et Gamal-Eldeen, 2009) ; (Tony et coll., 2010)]**, et ont été témoins des articles récents traitant leurs synthèses **[(Dragovich et coll., 2003) ; (Yu et coll., 2004) ; (Tremmel et Geyer., 2005)]**.

Partant de ces données, nous avons entrepris cette étude qui consiste à évaluer l'activité antibactérienne de quelques nouveaux dérivés des pyridones dans le laboratoire de Catalyse et synthèse en chimie organique à l'université de Tlemcen.

# **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1. Les pyridones

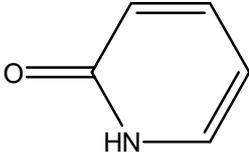
Les travaux sur les hétérocycles font apparaître un intérêt particulier d'un système chimique simple. Les pyridones constituent une classe importante de composés hétérocycliques azotés, issue de plusieurs composés naturels (**Stafford et coll., 1972**). Ce composé chimique, diversement substituée, constitue le noyau de base de nombreuses substances végétales et thérapeutiques (**Amr et Abdulla, 2006**).

Plusieurs méthodes de synthèse de cette classe de molécules ont été rapportées dans la littérature pour diverses applications biologiques et chimiques.

### 1.1. Caractéristiques des pyridones

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

**Tableau N°2** : Caractéristiques des pyridones (IUPAC\*)

Nom	2-Pyridone
Structure générale	
Synonymes	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
Numéro de CAS	142-08-5
Formule générale	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> NO
Poids moléculaire	95.0993 g.mol <sup>-1</sup>
Densité	1.39 g.cm <sup>3</sup>
Point de fusion	107.8 °C
Point d'ébullition	280 °C
Solubilité	Soluble dans l'eau, chloroforme, méthanol, acétone
pKa	11.65
λ maximum	293 nm
Risque	Irritation
Point d'inflammabilité	210 °C
Composés relatifs	Pyridine, thymine, cytosine, uracile, benzène

\*IUPAC : Union internationale de la nomenclature pure et appliquée de chimie.

## 1.2. Propriétés biologiques

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 pharmacologiques et biologiques. Elles sont considérées comme des dérivés de pyridines douées de plusieurs activités biologiques [(Ko et coll., 2001) ; (Suksrichavalit et coll., 2009)].

Elles ont été intensivement employées comme ligands dans la formation des composés de coordination en tant qu'agents médicinaux [(Bodor et Offermanns, 2008) ; (Brown et Zhao, 2008)]. Elles possèdent une activité hépato-protectrice (Kurakane et Igarashi, 2006), sont employées également comme médicament pour l'angine de poitrine (David, 1968), comme agents antioxydants (Sayed et coll., 2010) et sont utilisées pour le traitement de l'accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique (Zhang et coll., 2008). Les triazolethiones, les thiazolotriazoles, les imidazolotriazoles, et les pyrazoles sont des dérivés de pyridones utilisées comme médicaments dans les maladies du déficit de la mémoire (Finke et coll., 2007). De plus, les thiazolotriazoles ont des activités antibactériennes, antifongiques [(Kulkarnatak, et coll., 1981) ; (Wujec et coll., 2004)], anti-HIV (Sayed et Ali, 2008) et anthelminthiques (Kamal et coll., 2008).

D'autres dérivés pyridones peuvent servir comme des peptidomimétiques qui empêchent l'assemblage des pili chez *Escherichia coli* uropathogènes [(Aberg et coll., 2006) ; (Pemberton et coll., 2008)], comme agents antimicrobiens et antiviraux (Dollé et coll., 1995), agents cardiotoniques tels que : l'amrinone et milrinone (Osadchii, 2007), psychotropes, nootropiques, antiépileptiques (Rodriguez-Franco et coll., 2006), bronchodilatateurs, anti-inflammatoires (Boschelli et coll., 1993), anticancéreux (Cocco et coll., 2000), et des colorants oxydants les cheveux (Martin et coll., 2002).

L'intérêt élevé de ces dérivés est lié à la présence du noyau 2-Pyridone ainsi qu'à la nature et la position du substituant sur l'hétérocycle.

Le noyau 2-pyridone est présent dans de nombreux composés naturels présentant des activités biologiques diverses et intéressantes. Les plus connus sont :

**La Camptothécine (CTP)** (figure N°1a) est un alcaloïde qui possède une activité anticancéreuse contre la leucémie et d'autres séries de tumeurs (Peters et coll., 2006).

L'**Huperzine A (HA)**(figure N°1b) est un agent psychothérapeutique prometteur pour le traitement des patients qui sont atteints de la maladie d'Alzheimer (**Kozikowski et coll., 1996**).

La **Pyridoxatine (1-hydroxy-2-pyridone)** (figure N°1c) a été isolée à partir d'*Acremonium sp.* Elle a été démontrée qu'elle est approximativement 20 fois plus active que la vitamine E (**Balogh et coll., 1989**).

La **Frédéricamycine A** (figure N°1d) est également utilisé en chimiothérapie (**Teshima et coll., 1991**).

L'**Iromycine** (figure N°1e) une nouvelle famille de métabolites récemment découverte combinant une nouvelle structure pyridone d'origine microbienne de *Streptomyces sp* qui possèdent des propriétés antimicrobiennes avec une activité biologique intéressante, ce sont des inhibiteurs de la chaîne respiratoire mitochondriale qui bloquent l'oxydation du NADH oxydoréductase-ubiquinone [(**Heydar et coll., 2007**) ; (**Frank et coll., 2008**)].

L'**isothiazolopyridone** (figure N°1f) une nouvelle classe d'agents antibactériens contenant un noyau hétérocyclique 2-pyridone composé d'une isothiazolone fusionné en C-2 et C-3 de la quinolizin-4-one, Les dérivés préparés des fluoro-isothiazolopyridones sont exposées à une activité antibactérienne vis-à-vis les bactéries Gram (-) et Gram (+), et une action inhibitrice vis-à-vis de l'ADN gyrase et la topoisomérase IV (**Jason et coll., 2006**).

**ABT-719** (figure N°1g) est un inhibiteur de l'ADN gyrase bactérienne qui possède un large spectre d'activité vis-à-vis d'une grande sélection de bactéries Gram (+) et Gram (-) y compris *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, et *P. aeruginosa*, bactéries pathogènes fréquemment impliquées dans les infections urinaires (**Flamm et coll., 1995**).

La **Cerpégine** (figure N°1h) (1, 1, 5-triméthylfuro [3,4- c]pyridine-3,4(1H, 5H)-dione) est un alcaloïde de pyridone naturel extrait d'une plante médicinale *Ceropegia juncea* (**Adibatti et coll., 1991**). Toute la fraction d'alcaloïde a montré des propriétés tranquillisantes, anti-inflammatoires, analgésiques, antiulcéreuses, hépatoprotectrices et antipyrétiques (**Nikam et Savant, 2009**).

**BAL30072** (figure N°1i) est un nouvel antibiotique monocyclique de la classe des  $\beta$ -lactamines (monobactames) qui appartient aux sulfactames. Il possède une activité significative vis-à-vis des bacilles à Gram (-) multi-résistantes (**Page et coll., 2010**).

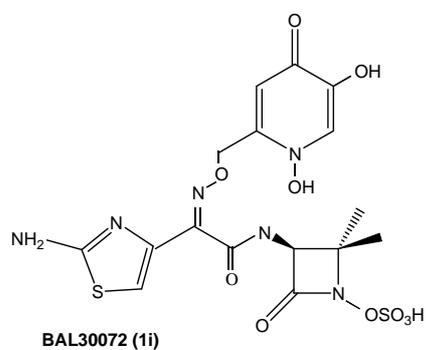
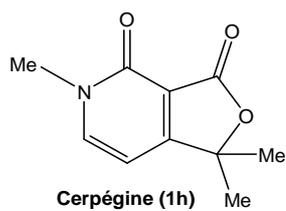
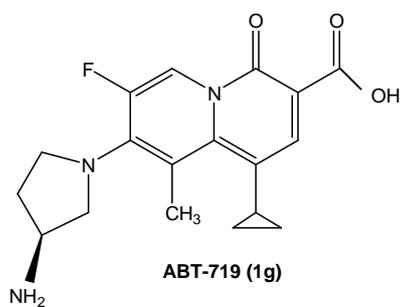
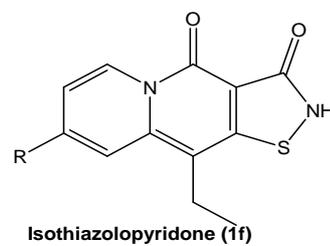
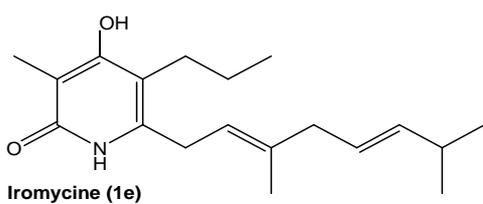
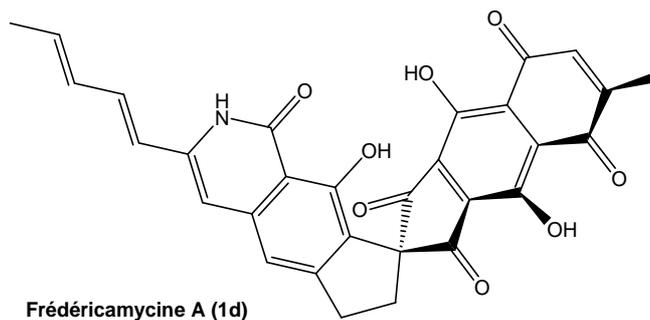
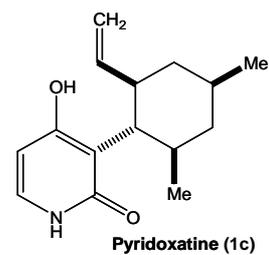
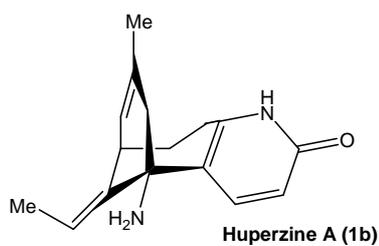
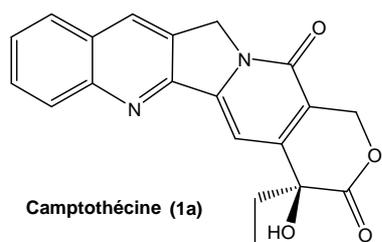


Figure N°1 : Structures chimiques de quelques pyrid ones

### 1.3. Origine et biosynthèse des pyridones

Les 2-pyridones constituent une classe importante de composés hétérocycliques azotés, issue de plusieurs composés naturels. La Camptothécine est un alcaloïde, pentacyclique qui contient un noyau 2-pyridone, isolé à partir d'une plante chinoise *Camptotheca acuminata* pour la première fois en 1966 [(Wall et coll., 1966) ; (Wall, 1998)].

*Trewia nudiflora*, plante originaire de l'Inde, contenant l'alcaloïde nudiflorine, N-méthyl-5-cyano-2-pyridone (II) dont la structure a été mise en évidence par Mukherjee et Chatterjee en 1966 et le ricinidine, N-méthyl-3-cyano-2-pyridone (III) dont la structure a été établie par Ganguli en 1970. N-méthyl-5-carboxamide-2-pyridone (I) est le composant principal de la fraction méthanolique de la plante a été isolé et identifié de la plante *Trewia nudiflora* (figure N°2). Ce composé est un métabolite dérivé d'acide nicotique dans les mammifères et n'a pas été précédemment identifié chez les plantes. La biosynthèse de N-méthyl-5-carboxamide-2-pyridone à partir de l'acide nicotinique et nicotinamide a été établie (Sastry et Waller, 1972).

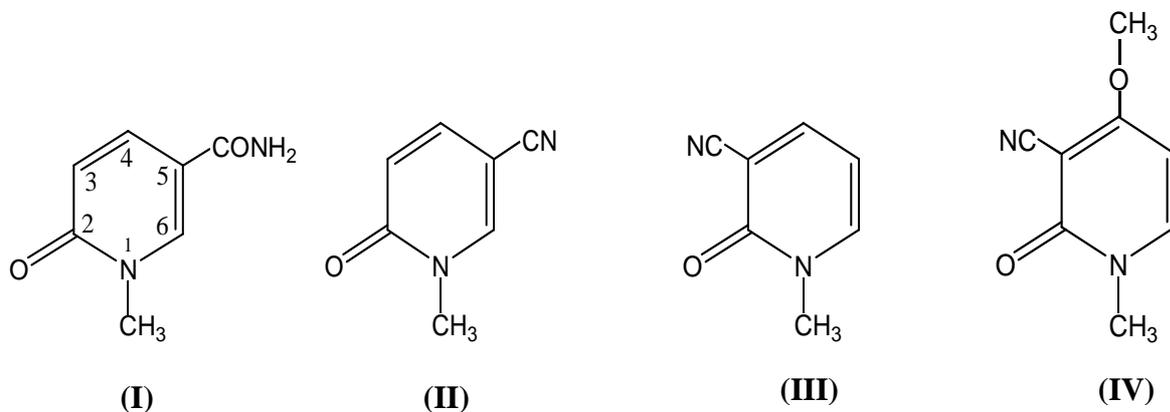
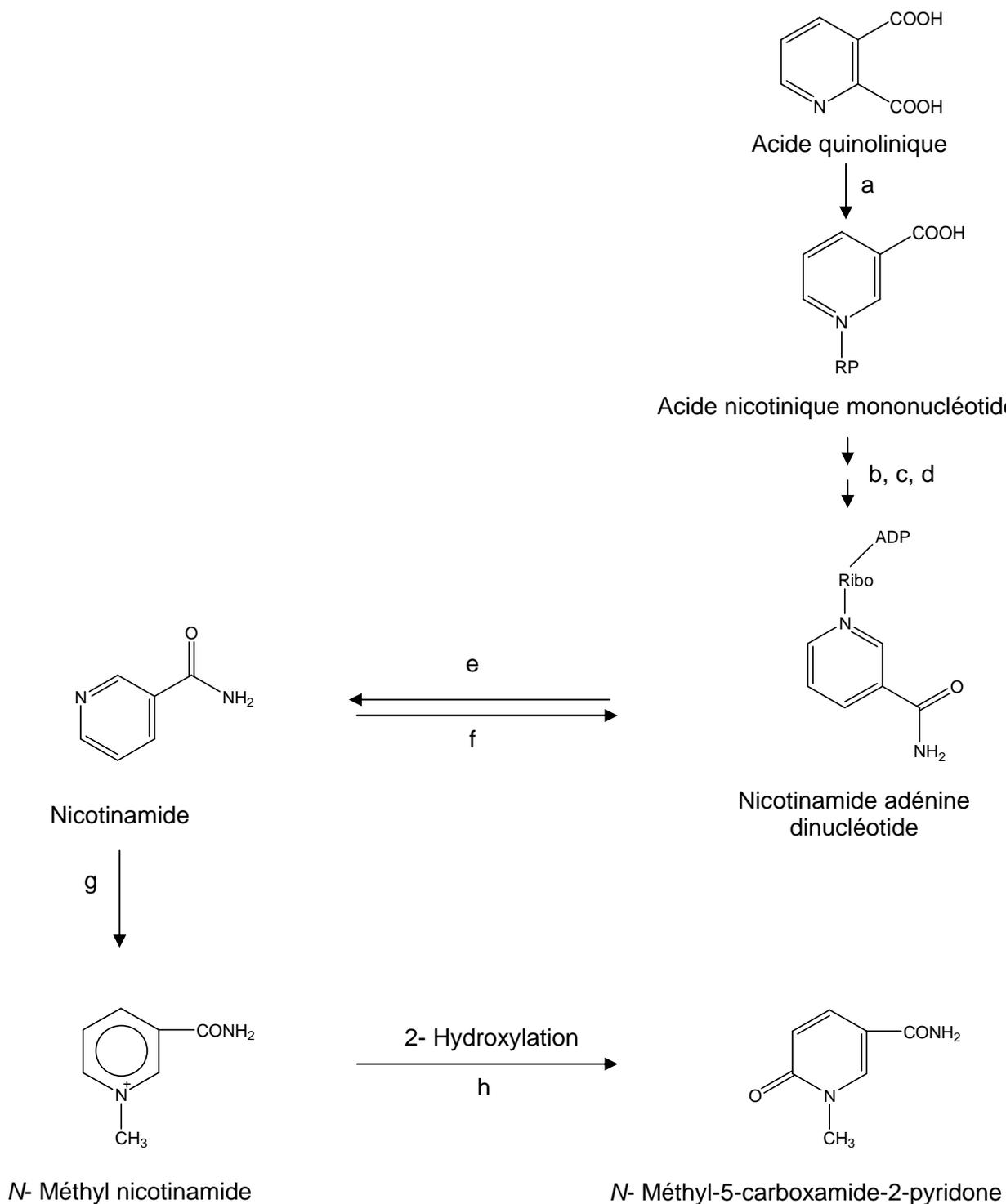


Figure N°2 : Structure de différents alcaloïdes pyridones de *Trewia nudiflora*

Dans des travaux antérieurs ont proposé une voie métabolique de biosynthèse semblable à celle de l'acide nicotique et du nicotinamide chez *T. nudiflora*.

Un arrangement biogénétique éventuel pour la formation de N-méthyl-5-carboxamide-2-pyridone est montré dans la figure N°3. L'acide quinolinique est catalysée 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. Le carbone 2 du N-méthyl- nicotinamide subit une oxydation pour donner N-méthyl-5-carboxamide-2-pyridone.

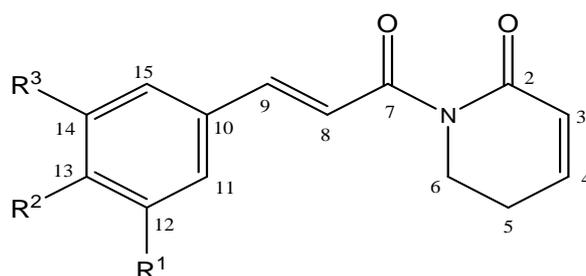


a : Quinolinic phosphoribosyl transférase, b : NAMN adényl transférase, c : NMN adényl transférase, d : NAD synthétase, e : NAD(P) nucléosidase, f : Nicotinamide phosphoribosyl transférase, g : Nicotinamide méthyl transférase, h : Aldéhyde oxydase.

**Figure N°3 : Biosynthèse de N-méthyl-5-carboxamide- 2-pyridone chez *Trewia nudiflora***

### 1.4. Toxicité

L'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité biologique de l'extrait chloroformique des tiges de la plante *Piper aborescens* a conduit à l'isolement et à la caractérisation de trois alcaloïdes pyridones cytotoxiques (figure N°4), N-(3, 4-diméthoxycinnamoyl)-A3-pyridin-2-one, N-(3-méthoxy-4,5-méthylendioxycinnamoyl)-A3-pyridin-2-one, et N-(3, 4,5-triméthoxycinnamoyl)- A3- pyridin- 2- one, qui ont montré une activité importante vis-à-vis d'une culture de cellules KB du système lymphocytaire de la leucémie dans des cultures cellulaires (**Chang-Yih et coll., 1990**).



- 1  $R^1 = R^2 = \text{OMe}, R^3 = \text{H}$
- 2  $R^1 = \text{OMe}, R^2 + R^3 = \text{OCH}_2\text{O}$
- 3  $R^1 = R^2 = R^3 = \text{OMe}$

**Figure N°4 : Structure d'alcaloïde pyridone cytotoxique**

La 3 hydroxy- 4 (1H)-pyridone (3,4- DHP) est un dérivé de pyridone qui provient du métabolisme de la mimosine, un acide aminé rarement rencontré, dans la matière sèche de la plante *Leucaena leucocephala* (**Hegarty et coll., 1976**). Ce métabolite s'est avéré toxique et provoque des pertes d'appétit, de poids, de poils avec ulcération œsophagienne, hyper-salivation, troubles thyroïdiens et diminution de la fertilité (**Jube et coll., 2009**).

## 2. Synthèse organique

La synthèse d'une nouvelle molécule est le fruit de l'imagination et de l'intuition, du savoir et de l'expérience. Quel que soit la complexité de la molécule, la synthèse fait appel en général à une séquence de réaction judicieusement choisie dans un souci de rentabilité et, si possible, d'originalité.

La chimie des composés azotés est la source privilégiée de différents sujets d'étude. L'atome d'azote est présent dans de nombreuses molécules naturelles d'intérêt pharmacologique. Plusieurs méthodes ont été mises au point pour accéder à ces composés azotés notamment les composés hétérocycliques **(Scozzafava et Supuran, 2000)** comme les Pyridones **[(Mont et coll., 2009) ; (Kibou et coll., 2011)]**.

Ces dernières, se retrouvent dans la structure de très nombreuses biomolécules et de nombreux produits naturels.

## 3. Objectif

L'émergence de la résistance des bactéries pose un problème sérieux pour la santé publique. Ces problèmes de résistance aux antibiotiques connus ont entraîné un besoin urgent pour développer de nouveaux agents antibactériens. Les 2-pyridones sont désormais utile pour le traitement de ces infections vis-à-vis de plusieurs souches bactériennes.

Ces dernières années, ces composés ont attiré beaucoup l'attention des chimistes organiciens, comme ont été témoins des articles récents traitant leurs synthèses **[(Frag et coll., 2004); (Yinghua et coll., 2008); (Tony et coll., 2010)]** et soulignant leurs propriétés pharmaceutiques et médicinales **(Amr et Abdulla, 2006)**.

Sur la base des différents travaux réalisés sur les pyridones, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antibactérienne de quelques dérivés de pyridones synthétisés au niveau du laboratoire Catalyse et synthèse en chimie organique à l'université de Tlemcen. Cette évaluation a été réalisée au sein du laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique par deux méthodes : la première qualitative suivit par une deuxième méthode quantitative dans le cas où il y a présence d'une activité (décelée par la première méthode).

# **MATERIEL ET METHODES**

## 1. Matériel biologique

### 1.1. Souches bactériennes

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des 2-pyridones, nous avons utilisé des souches bactériennes de référence.

Ces dernières sont disponibles dans le laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique.

Il s'agit de:

- Quatre (04) souches à Gram positifs :

<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 49452
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 15313
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876
- Huit (08) souches à Gram négatifs :

<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 19606
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 35659
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 13311
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047

Le choix de ces souches est basé sur leurs différences pariétales (Gram+ et Gram -), les problèmes qu'elles causent en clinique ainsi que le défi qu'elles posent à l'antibiothérapie moderne.

## 1.2. Repiquage, revivification et conservation des souches

Après l'obtention des souches, un repiquage mensuel a été pratiqué. La procédure de revivification est faite successivement sur bouillon nutritif et sur gélose nutritive. 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 vis-à-vis d'un antibiotique la Ciprofloxacin. Les résultats sont interprétés par mesure du diamètre en mm de la zone d'inhibition autour du disque et comparés aux limites acceptables selon la recommandation de NCCLS (2003).

Cette opération a deux buts, d'une part, elle nous permet de vérifier la sensibilité de nos souches vis-à-vis de l'antibiotique, et d'autre part, de comparer nos résultats à ceux des antibiotiques commerciaux.

## 2. Synthèse des 2-pyridones

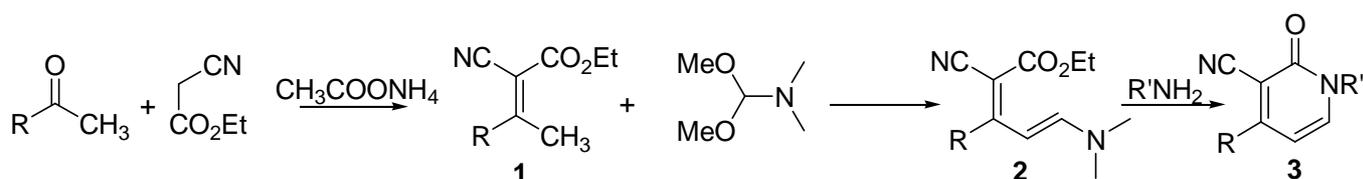
La synthèse des 2-pyridones a été réalisée au laboratoire de Catalyse et Synthèse en Chimie Organique (LCSCO) par M<sup>me</sup> Belhadj Zahira née Kibou (Université de Tlemcen).

La stratégie de synthèse des 2-pyridones implique trois étapes (figure N<sup>5</sup>)

Etape 1: Préparation d'alcène via la condensation de Knoevenagel ;

Etape2: Préparation d'énaminonitrile en utilisant le diméthylformamide diméthylacétal (DMFDMA);

Etape 3: Cyclisations en 2-pyridones à l'aide de différentes amines.



**Figure N<sup>5</sup> : Schéma réactionnel de la synthèse des 2-pyridones**

La figure N<sup>6</sup> représente les structures des 2-pyridones de synthèse, que nous avons utilisée pour évaluer leurs activités antibactériennes.

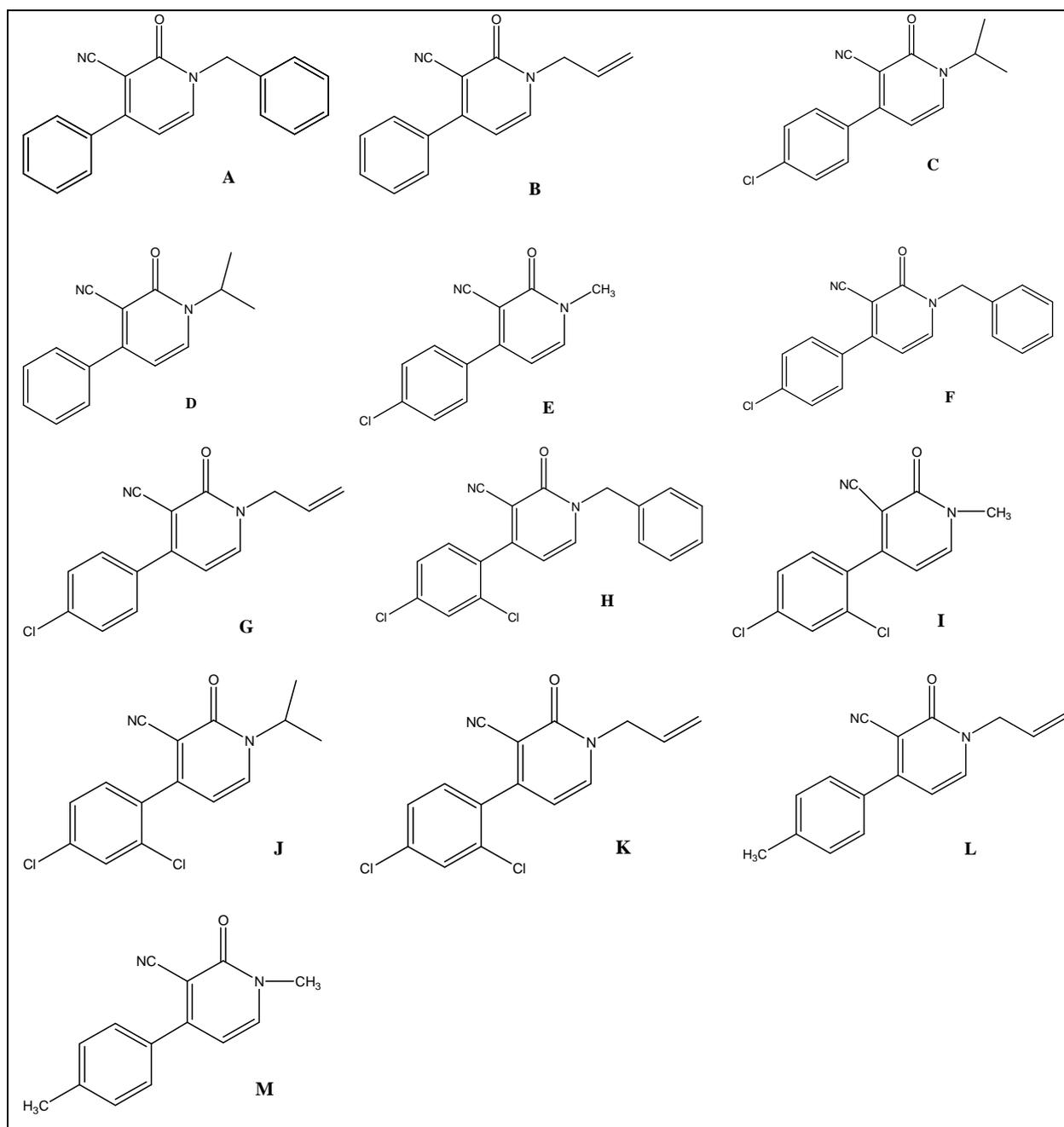


Figure N°6 : Structures des 2-pyridones de synthèse .

### 3. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des 2-pyridones de synthèse a été réalisée par deux techniques :

- Technique de diffusion des disques sur milieu solide
- Technique de dilution sur milieu liquide

#### 3.1. Milieux de culture

Les tests ont été réalisés sur milieu gélosé de Mueller-Hinton qui est considéré comme le milieu de référence pour les tests antimicrobiens selon les recommandations nationales et internationales [(EUCAST, 2003) ; (NCCLS, 2003)], du fait qu'il contient tout les éléments requis pour une bonne croissance des bactéries.

La préparation du milieu a été réalisée selon les instructions du fabricant (Fluka, 70191) (voir annexe V).

#### 3.2. Inoculum

La standardisation de l'inoculum est une étape importante pour la reproductibilité des résultats. L'inoculum est préparé à partir d'une culture de 18-24h sur milieu gélosé non sélectif. 4 à 5 colonies d'une culture pure sont suspendues sur un bouillon nutritif (ou eau physiologique 0,9% de NaCl), ensuite la suspension est ajustée au standard McFarland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, ce qui correspond à une densité optique (DO) entre 0,08 et 0,1 à une longueur d'onde de 625nm. Le 0,5 McFarland est équivalent à  $10^8$  UFC/ml (NCCLS, 2003).

L'inoculum ainsi préparé est utilisé dans la technique de diffusion des disques sur milieu solide. En ce qui concerne la méthode de dilution sur milieu liquide, l'inoculum est dilué au  $1/100^{\text{ème}}$  dans le bouillon, pour avoir une concentration cellulaire de départ de  $5 \cdot 10^5$  UFC/ml.

#### 3.3. Méthode de diffusion des disques sur milieu solide

Cette méthode est réalisée à partir du même principe de l'antibiogramme. Elle est basée sur la diffusion des substances à tester selon un gradient de concentration (Cos et coll., 2006).

Des disques en papier filtre type wattman N°3, de 6 mm de diamètre préparés et stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 20min, ont été imprégnés par 10 µl de solutions de produits à tester, puis placés sur la gélose préalablement ensemencée par les bactéries à tester. La dose finale sur le disque est de 0,512 mg/disque. Les disques témoins sont imprégnés par 10µl d'eau distillée ou 10µl de diméthylsulfoxyde (DMSO) (**Elgorashi et Van Staden., 2004**).

Les disques réservés à l'antibiotique de référence sont imprégnés par 0,005mg/disque de la Ciprofloxacine (**NCCLS, 2003**). La Ciprofloxacine est un antibiotique qui possède la structure de base, une pyridone (**Meulbroek et coll., 1996**).

L'ensemencement est réalisé aseptiquement par inondation. La concentration cellulaire de départ est fixée à 10<sup>8</sup> UFC/ml. À l'aide d'une pince, les disques chargés par les produits à tester sont transférés dans la boîte inoculée. Ils sont espacés de 24mm centre à centre. Les boîtes ainsi préparées sont placées dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

La lecture est effectuée par une mesure du diamètre d'inhibition à l'aide d'une règle graduée. Elle est réalisée en prenant la moyenne de trois mesures différentes de diamètre.

L'activité antibactérienne est considérée comme positive à partir d'un diamètre supérieur à 6 mm selon les recommandations de **Park et coll., 2006 et Nath et coll., 2008** :

Très Forte activité	: diamètre ≥30 mm
Forte activité	: diamètre entre 21-29 mm
Moyenne activité	: diamètre entre 16-20 mm
Faible activité	: diamètre entre 11-15 mm
Petite ou pas d'activité	: diamètre ≤10 mm.

### 3.4. Méthode de dilution en milieu liquide

À la différence de la méthode de diffusion, la méthode de dilution permet de tester les produits directement mélangés avec le milieu de culture. Elle donne des résultats rapides, reproductibles et économiques.

C'est une méthode quantitative qui nous a permis d'évaluer, dans le cas où il y a présence d'une activité (décelée par la méthode précédente), le seuil minimum de

cette activité appelée couramment la Concentration Minimale Inhibitrice ou CMI. Une série de concentrations allant de 0,004 à 0,512 mg/ml des produits testés est préparée directement dans une microplaque stérile. Les produits ont tous été préparés en extemporané.

Le produit à tester (0,1 ml) est mis en contact avec l'inoculum (0,1 ml) contenant  $10^6$  UFC/ml (le facteur de dilution  $\frac{1}{2}$  est pris en considération dans le calcul de concentrations finales des produits à tester). La concentration de l'inoculum finale est de  $5 \cdot 10^5$  UFC/ml. La microplaque est scellée et incubée à 37°C pendant 24h.

La lecture est effectuée à l'œil nu et la CMI est la plus faible concentration de la substance testée auquel aucun trouble visuel n'est observé.

#### **4. Détermination de l'activité antibactérienne des 2-pyridones associées aux autres dérivés de synthèse**

Dans notre travail, nous nous sommes intéressés également à l'étude de l'association de nos produits avec les dérivés 1,4 naphthoquinones (M2, M5 et Lawsons) et les dérivés aminopyridines (16, 17 et 25). Ces deux derniers ont fait l'objet de l'évaluation de l'activité antibactérienne au sein de notre équipe et ont montré des résultats intéressants [(Laslaa, 2011) ; (Nassour, 2011)].

Pour cela, nous avons effectué une association de nos produits avec les dérivés des 2-pyridones par le mélange de deux volumes identiques afin d'avoir une concentration finale de l'ordre de 0,512 mg/ml pour chaque produit. Ceci nous a permis de vérifier l'activité antibactérienne de l'effet combiné des deux dérivés vis-à-vis des bactéries testées.

Nous n'avons choisi que les molécules actives qui ont montré une activité antibactérienne vis-à-vis des souches bactériennes (figure N°7 et 8).

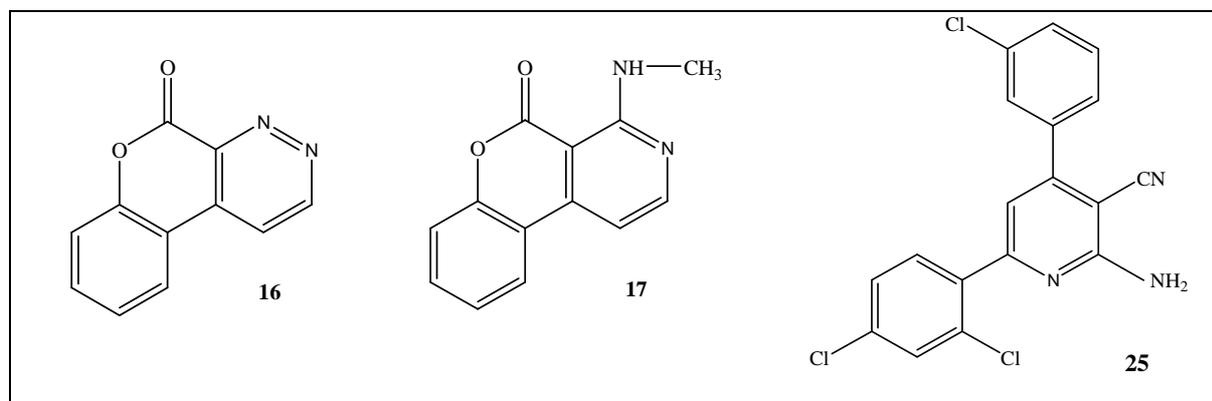


Figure N7 : Structures des aminopyridines

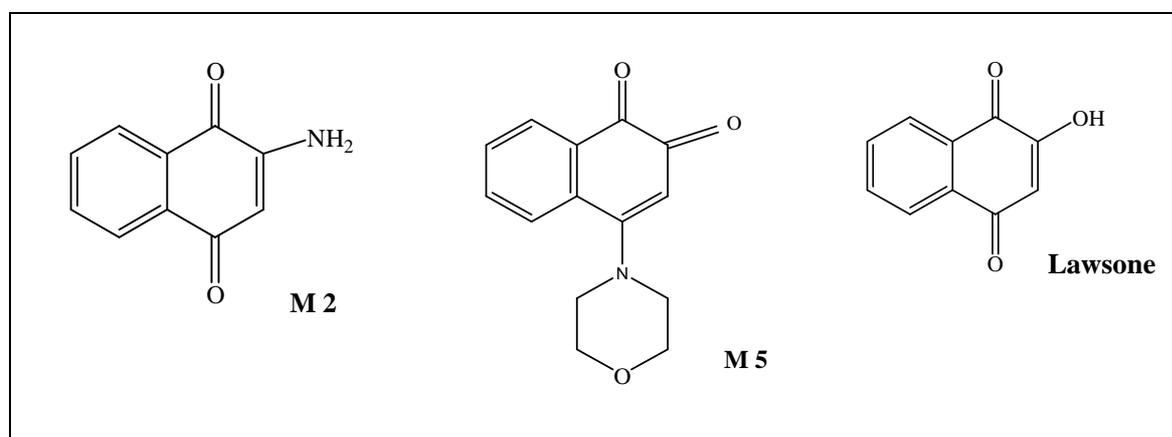


Figure N8 : Structures des dérivés de 1,4-naphtoquinone

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

---

Notre étude a porté sur une évaluation de l'activité antibactérienne des dérivés des 2-pyridones ainsi de leurs associations avec d'autres produits de synthèse.

### 1. Charge du disque

L'activité antimicrobienne des dérivés de synthèse peut être détectée en observant la réponse de croissance de divers micro-organismes aux échantillons qui sont mis en contact avec eux. Le choix de la charge du produit à tester est une étape essentielle pour la réalisation des criblages antimicrobiens, qu'il s'agisse de la méthode de diffusion des disques sur milieu solide ou de la méthode des dilutions **(Cos et coll., 2006)**.

Partant de l'objectif tracé pour cette étude qui est l'évaluation de l'activité antibactérienne des 2-pyridones, nous avons choisi la concentration de 0,512mg/disque pour la méthode de diffusion des disques sur milieu solide et qui est en accord avec des travaux récents qui ont utilisé les doses suivantes : 1,6mg/disque **(Luo et coll., 2008)**, 1,024mg/disque **(Özçelik et coll., 2007)** et 0,512 mg/disque **[(Brown-Elliott et coll., 2007) ; (Sah et coll., 2011)]**.

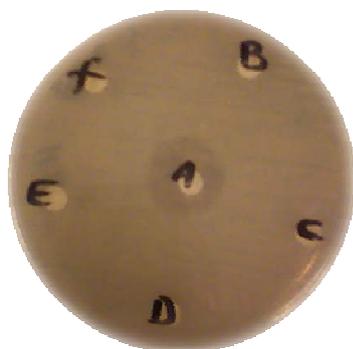
### 2. Evaluation de l'activité antibactérienne des 2-pyridones de synthèse par la méthode de diffusion des disques

Au cours de cette partie du travail, nous avons évalué l'activité antibactérienne de quelques dérivés de 2-pyridones synthétisés au niveau du laboratoire Catalyse et Synthèse en Chimie Organique à l'université de Tlemcen. Tous les produits synthétisés ont fait l'objet d'un criblage de l'évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis d'une série des bactéries à Gram (-) et des bactéries à Grams (+).

Les résultats obtenus de la détermination de l'activité antibactérienne des dérivés de 2-pyridones par la méthode de diffusion des disques sont regroupés sur le tableau N°3 et les photos N°1 et 2). Nous remarquons que la meilleure zone d'inhibition est obtenue avec les produits de synthèse A et K. Ces deux derniers sont actif vis-à-vis des deux bactéries à Gram (-) *Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli* respectivement et aucune activité n'est observée pour les onze produits qui restent: B, C, D, E, F, G, H, I, J, L et M (voir annexe N°I et III).

**Tableau N°3** : Diamètres d'inhibition (mm) des dérivés des 2-pyridones.

Produits de synthèse (0.512mg/disque)	<i>E. coli</i>	<i>E. cloacae</i>
A	06	20
K	28,5	06
Ciprofloxacine (0.005mg/disque)	39	34

**Photo N°1** : Zone d'inhibition du produit A vis-à-vis d'*Enterobacter cloacae***Photo N°2** : Zone d'inhibition du produit K vis-à-vis d'*Escherichia coli*

---

Pour évaluer l'intensité de l'inhibition de nos produits, nous avons classé les diamètres des zones d'inhibition selon les recommandations décrites par **Park et coll., 2006** et **Nath et coll., 2008**.

D'après les résultats des tests préliminaires, le produit K est classé parmi les produits à forte activité (vis-à-vis d'*E. coli*) avec un diamètre de 28,5mm, alors que le produit A montre une activité moyenne vis-à-vis d'*E. cloacae* avec un diamètre de 20mm.

L'antibiogramme a été réalisé avec la Ciprofloxacine (0,005mg/disque) pour le contrôle des souches tout en suivant les recommandations du **NCCLS, 2003**.

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 des produits de synthèse.

La comparaison entre l'activité antibactérienne des produits de synthèse: A et K par rapport à celle de la Ciprofloxacine montre que, malgré la forte et la moyenne activité qu'ils montrent vis-à-vis d'*E. cloacae* et *E. coli*, elle est toujours inférieure à celle de l'activité de la Ciprofloxacine qui présente une très forte activité vis-à-vis de ces deux dernières souches avec des diamètres de 34 mm et 39 mm à la concentration de 0.005mg/ml (figure N°9).

Le changement des substituants a été fait au niveau de l'atome d'azote et le carbone N°4 de 2-pyridone (figure N°10).

La comparaison de la molécule K, produit actif avec ses analogues B, G et L, qui ne sont pas actifs révèle que la présence de deux atomes de chlore participent à l'augmentation de son activité (figure N°11).

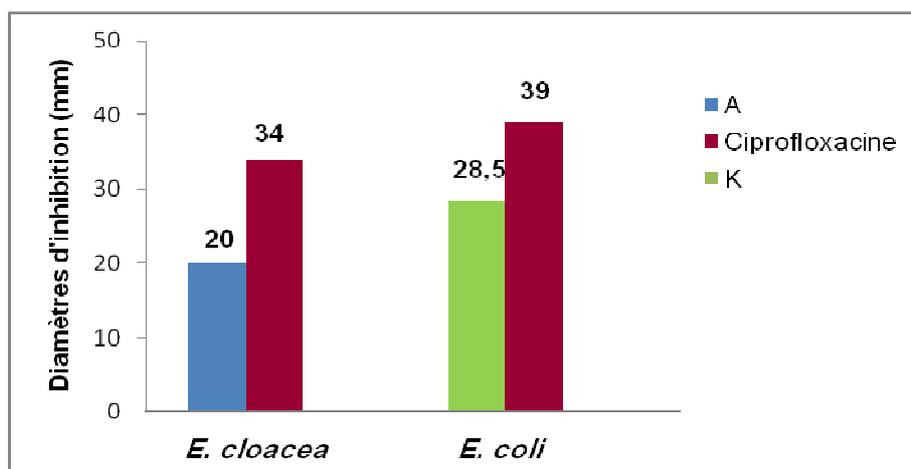


Figure N°9 : Diamètres des zones d'inhibition des p produits A et K vis-à-vis d'*E. cloacea* et *E. coli*

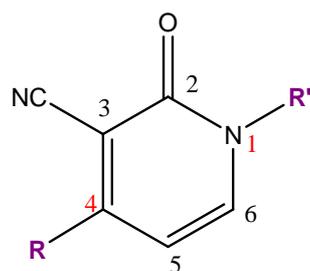


Figure N°10 : structure de 2-pyridone

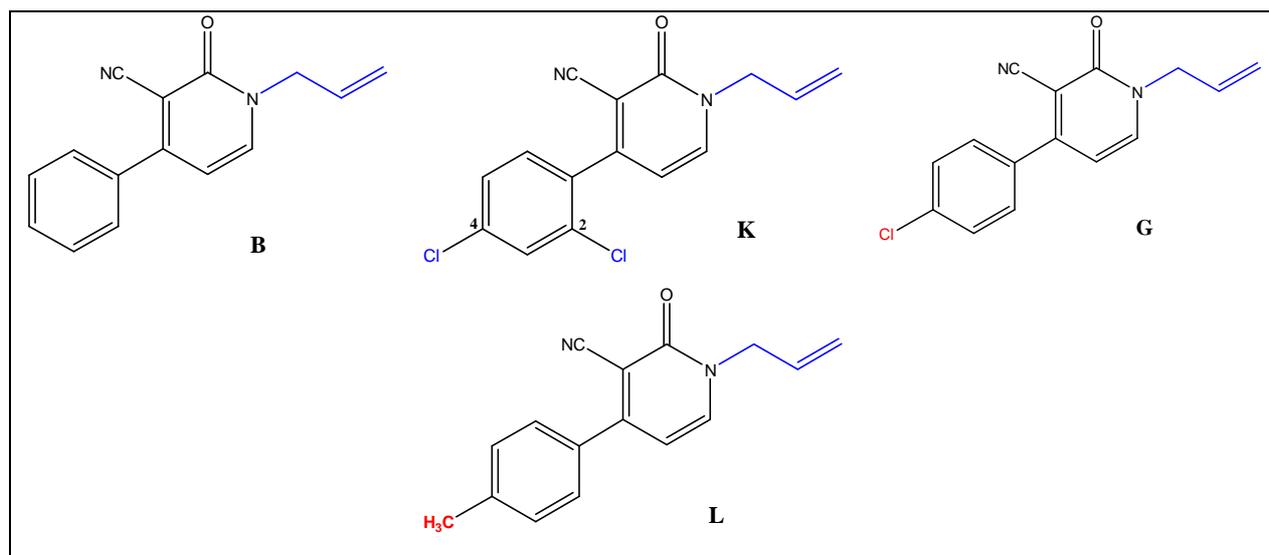


Figure N°11 : Structures des dérivés de synthèse B, K, G et L

La comparaison entre le produit K et le produit I et J montre, probablement, que la substitution du groupement méthyle ou bien le groupement isopropyle par le groupement allyle ( $R-CH_2-CH=CH_2$ ) améliore l'activité (figure N°12).

Nous pouvons dire que l'activité des produits de synthèse, particulièrement A et K peut être expliquée par la présence de deux groupements chlorés pour le produit K qui stabilise la molécule une fois lié au phényle en position 2 et 4 et d'un groupement benzyle pour le produit A avec la présence d'un groupement  $-CH_2-$  lié à l'atome d'azote dans les deux structures.

D'après les résultats que nous avons eu et en comparant les structures des produits actifs, nous constatons que le groupement méthylène  $-CH_2-$  qui est attaché au groupement allyle et la présence de deux atomes de chlore ont donné une forte activité pour le produit K. Par contre, l'existence du méthylène au niveau du groupement benzyle avec l'absence des deux atomes de chlore a diminué légèrement l'activité du produit A.

Nous pouvons conclure que le groupement phényle lié au  $CH_2$  au niveau de l'atome d'azote du produit A et le  $CH_2$  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 l'amélioration de l'activité antibactérienne.

### 3. Détermination de la CMI des dérivés des 2-pyridones

La CMI est un critère d'importance majeure, elle est jugée comme la plus faible concentration auquel on observe une réduction importante de la croissance bactérienne (aucun trouble visuel n'est observé).

Les composés jugés actifs avec la première technique (produit A et K) ont fait l'objet d'une évaluation de leur concentration minimale inhibitrice vis-à-vis des souches bactériennes.

L'étude de la CMI a été réalisée par la méthode de dilution en milieu liquide selon les recommandations de **NCCLS (2000)**.

Les résultats des CMI obtenues des produits A et K vis-à-vis d'*Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli* sont présentés dans le tableau N°4.

---

La CMI du produit A est de l'ordre de 0,512 mg/ml vis-à-vis d'*E. cloacae* et la CMI du produit K est de l'ordre de 0,512 mg/ml vis-à-vis d'*E. coli*.

Ces résultats sont relativement élevés et ne semblent pas être en corrélation avec ceux de la méthode de diffusion en milieu solide. Ainsi, la comparaison de ces concentrations inhibitrices avec celles de la Ciprofloxacine montre que les CMI de cette dernière sont plus importantes (Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau N°5).

Dans l'étude réalisée par **Page et coll., 2010**, différents composés qui disposent un noyau 2-pyridone ont fait l'objet d'un criblage de leur activité antibactérienne vis-à-vis de plusieurs souches bactériennes à Gram (-) multi-résistantes à savoir *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*. La BAL 30072, un composé parmi ces dérivés, a montré une activité impressionnante avec une CMI de  $10^{-3}$  mg/ml vis-à-vis d'*A. baumannii* et  $> 0,125 \cdot 10^{-3}$  mg/ml vis-à-vis de *P. aeruginosa*. Des études antérieures ont montré que l'activité antibactérienne attribuée aux dérivés des pyridones est due à la présence du noyau 2-pyridone [(**Ahmed et Ismail, 2008**) ; (**El-Mariaha et Nassar, 2010**)].

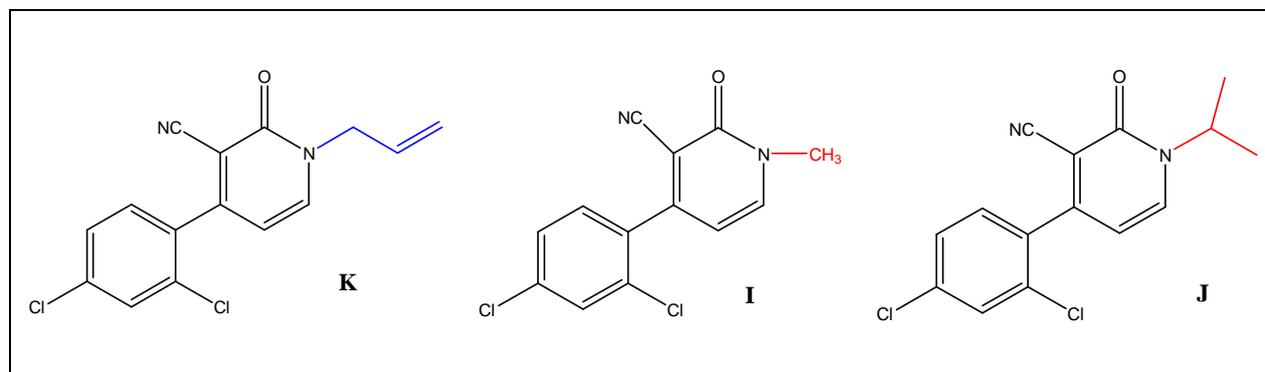


Figure N°12: Structures des dérivés de synthèse K, I et J.

Tableau N°4 : CMI (mg/ml) des produits A et K

Produits de synthèse	<i>E. coli</i>	<i>E. cloacae</i>
A	$\geq 0,512$	0,512
K	0,512	$\geq 0,512$
Ciprofloxacine	$2 \cdot 10^{-3}$	$0,5 \cdot 10^{-3}$

Tableau N°5 : CMI (mg/ml) de la Ciprofloxacine.

Souches bactériennes	CMI de la Ciprofloxacine (mg/ml)
<i>E. coli</i>	$2 \cdot 10^{-3}$
<i>E. cloacae</i>	$0,5 \cdot 10^{-3}$
<i>A. baumannii</i>	$2 \cdot 10^{-3}$
<i>S. aureus</i>	$0,125 \cdot 10^{-3}$
<i>B. cereus</i>	$0,5 \cdot 10^{-3}$
<i>S. typhimurium</i>	$0,5 \cdot 10^{-3}$
<i>C. freundii</i>	$0,125 \cdot 10^{-3}$
<i>P. aeruginosa</i>	$0,5 \cdot 10^{-3}$
<i>P. mirabilis</i>	$0,5 \cdot 10^{-3}$
<i>K. pneumoniae</i>	$0,125 \cdot 10^{-3}$
<i>L. monocytogenes</i>	$0,5 \cdot 10^{-3}$
<i>E. faecalis</i>	$0,5 \cdot 10^{-3}$

#### 4. Evaluation de l'activité antibactérienne des 2-pyridones associées aux autres dérivés de synthèse

L'association des dérivés des 2-pyridones avec les dérivés aminopyridines et les dérivés de 1,4-naphtoquinone (composés actifs testés avec les membres de notre équipe) peut améliorer leur activité vis-à-vis des autres souches bactériennes.

##### 4.1. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion des disques

La mesure qualitative de l'association des produits de synthèse est effectuée en utilisant la méthode de diffusion des disques. Cette méthodologie rapporte seulement des informations qualitatives sur la combinaison des agents antibactériens **[(Moody, 1992) ; (Eliopoulos et Eliopoulos, 1998)]**.

Les avantages de cette technique sont la facilité d'exécution dans un laboratoire et la reproductibilité des résultats. La même procédure d'évaluation de l'activité antibactérienne citée précédemment a été utilisée dans cette étude.

Les souches bactériennes utilisées sont les bactéries sensibles aux produits que nous avons choisi pour le test.

Les résultats de la détermination de l'activité antibactérienne de l'association des produits sont représentés dans le tableau N°4 (Voir annexe N°IV).

Nous remarquons que l'association des produits de synthèse (A, K, 16, 17 et 25) n'a pas montré de zones d'inhibition intéressantes vis-à-vis des souches testées, dont les valeurs se sont étendues entre 6 mm et 11mm. En revanche, elles semblent intéressantes avec les dérivés de 1,4-naphtoquinone.

Les résultats des tests préliminaires de l'activité antibactérienne des 2-pyridones actives (A et K) associées aux dérivés aminopyridines (16, 17 et 25) et les dérivés de 1,4-naphtoquinone [Lawson (L), M2 et M5], vis-à-vis des souches bactériennes de références sensibles testées par la méthode de diffusion des disques sont présentés sous forme d'histogrammes. Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois tests.

- 
- Le produit A et K ainsi que leur association, produisent des zones d'inhibition avec des diamètres respectifs de 20mm vis-à-vis d'*E. cloacae*, 28,5mm vis-à-vis d'*E. coli* et 11mm vis-à-vis d'*E. cloacae* et d'*E. coli* (figure N°13). Ceci peut être expliqué par la présence du groupement chlore dans la structure de la molécule K qui a inhibé l'activité du produit A.
  - L'association du dérivé aminopyridine (25) avec les dérivés de 2-pyridones (A et K) n'ont montré aucun changement d'activité, sauf une légère inhibition révélée par les produits (K+25) (figure N°14), due peut être à la substitution de deux atomes de chlore dans le produit K et trois atomes de chlore (les atomes de chlore stabilisent les molécules) ainsi qu'à la substitution d'un groupement amine (NH<sub>2</sub>), un groupement très réactif, sur le produit 25 (figure N°15).

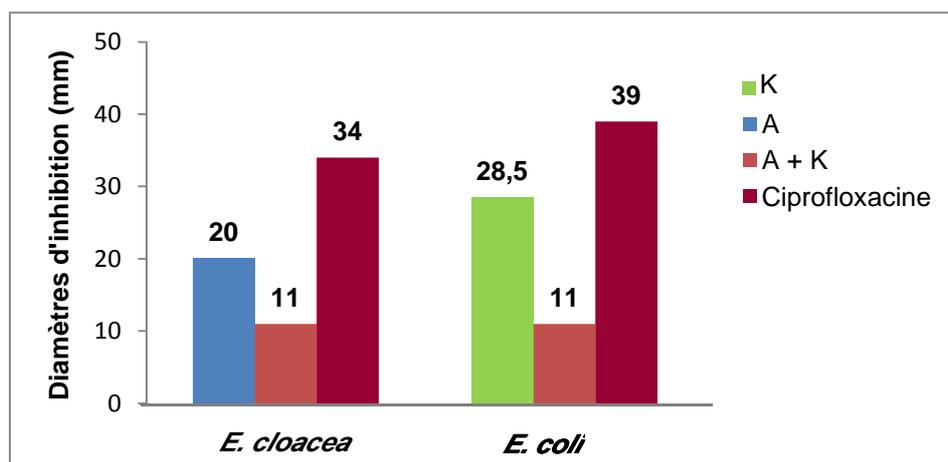


Figure N°13 : Diamètres des zones d'inhibition des produits A, K et A+K vis-à-vis d'*E. cloacea* et *E. coli*.

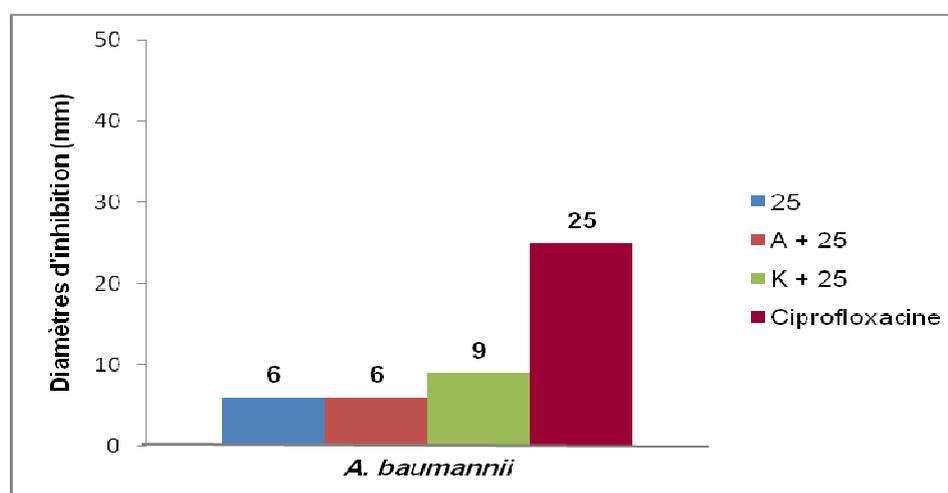


Figure N°14: Diamètres des zones d'inhibition des produits 25, A+25 et K+25 vis-à-vis d'*A. baumannii*.

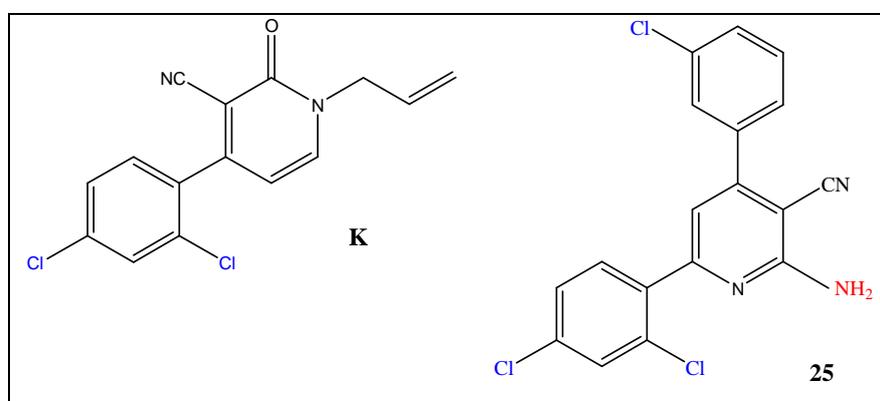


Figure N°15: Structures des dérivés de synthèse K et 25.

---

- Le dérivé M2 exerce une activité moyenne vis-à-vis d'*A. baumannii* (18mm) et l'association de ce dérivé avec les dérivés des pyridones (A et K) a montré une augmentation de l'activité antibactérienne dont l'inhibition maximum a été observée avec la combinaison du produit A avec le produit M2 vis-à-vis d'*A. baumannii* (27mm) et la combinaison du produit K avec M2 (26mm) tandis que, la Ciprofloxacine a un diamètre d'inhibition de 25 mm. Les résultats sont rassemblés sur la figure N°16. L'augmentation de l'activité antibactérienne par l'association des molécules (A+M2) et (K+M2) peut être expliquée par la présence du groupement amine (NH<sub>2</sub>) (figure N°17) qui induit une trans-amidification avec la fonction amide, du produit A ou K, en contact avec la bactérie.

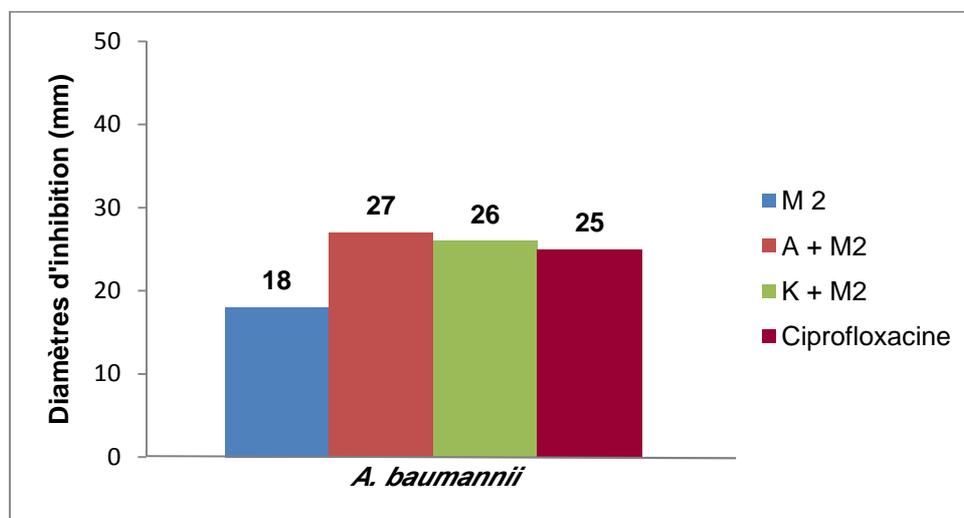


Figure N°16: Diamètres des zones d'inhibition des produits M2, A+M2 et K+M2 vis-à-vis d'*A. baumannii*.

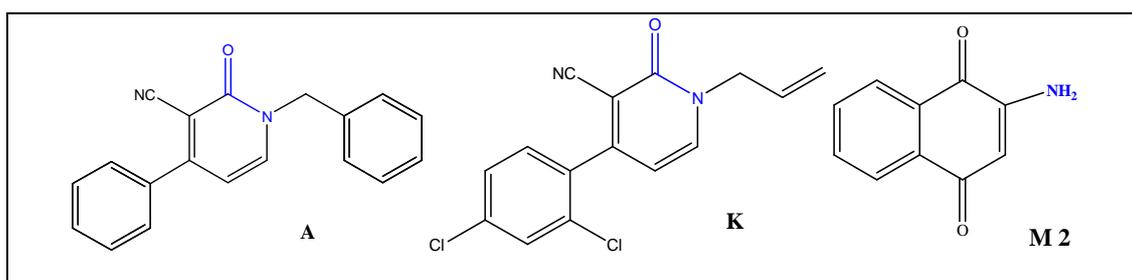


Figure N°17: Structures des dérivés de synthèse A, K et M2.

---

- Les résultats relatifs à la détermination de l'activité antibactérienne des molécules M5, (A+M5) et (K+M5) sont représentés dans la figure N°18.

Nous constatons que l'association du produit M5 avec A ou bien avec K donne des zones d'inhibition avec des diamètres respectifs de 16mm et 18,5mm par rapport à M5 qui est de 12mm. Cette légère augmentation de l'activité antibactérienne vis-à-vis de *S. aureus* peut être expliquée par la substitution des atomes de chlore au niveau du produit K qui vont augmenter probablement l'action inhibitrice des molécules associées vis-à-vis de la bactérie testée. Le diamètre d'inhibition de la Ciprofloxacin (24mm) est deux fois plus élevé que celui du produit M5 (12mm).

- D'après les résultats obtenus (figure N°19) par la détermination de l'activité antibactérienne de l'association des dérivés A et K avec la lawsone (L) vis-à-vis de *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli*, nous remarquons que la meilleure activité est montrée par l'association des produits K et L avec un diamètre de 19mm vis-à-vis de *B. cereus* due éventuellement à la présence des groupements de chlore dans le produit K et le groupement hydroxyle dans la lawsone (figure N°20) qui peut réagir avec la fonction amide du produit K impliquant une trans-estérification et par conséquent, un changement de configuration de la molécule ce qui induit une augmentation de l'activité antibactérienne. Pour les deux autres souches, la combinaison des produits A et L montre une activité moyenne vis-à-vis de *S. typhimurium* avec un diamètre d'inhibition de 17mm et une faible activité vis-à-vis d' *E. coli* avec une zone d'inhibition de 12mm sachant qu'il n'y avait pas une activité décelée par la lawsone vis-à-vis d'*E. coli* préalablement. Nous pensons que le même phénomène de trans-estérification s'est produit entre la lawsone et le dérivé A.

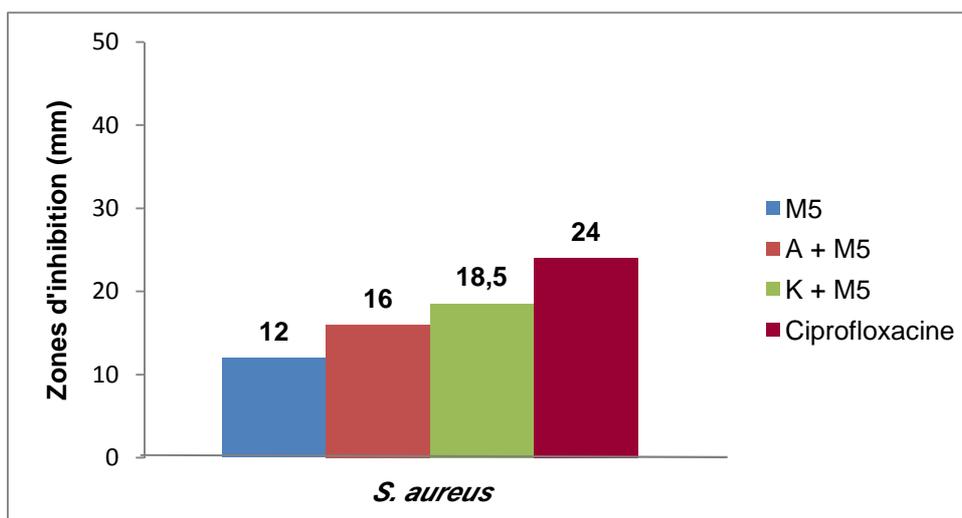


Figure N°18: Diamètres des zones d'inhibition des produits M5, A+M5 et K+M5 vis-à-vis de *S. aureus*.

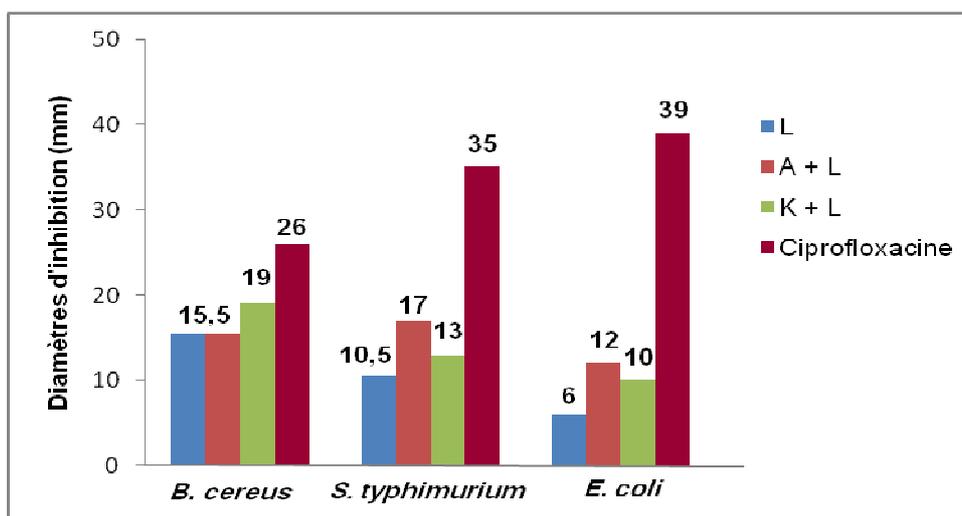


Figure N°19: Diamètres des zones d'inhibition des produits L, A+L et K+L vis-à-vis de *B. cereus*, *S. typhimurium* et *E. coli*.

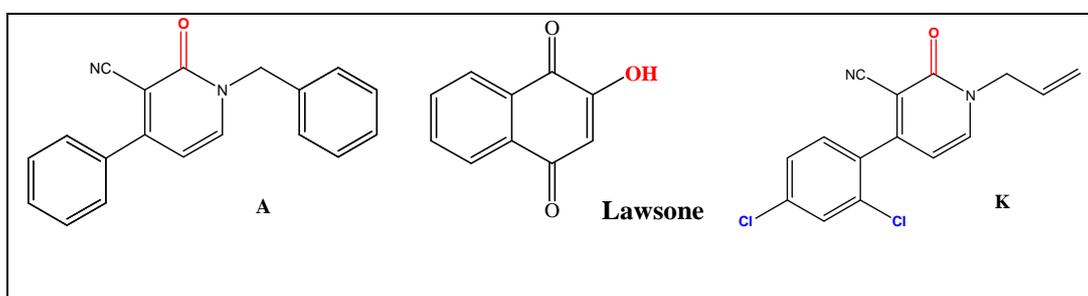


Figure N°20: Structures des dérivés de synthèse A, K et Lawsone.

Les résultats obtenus avec l'association des dérivés 1,4-naphtoquinones (Lawsone, M2, M5) avec les dérivés des 2-pyridones (A et K) ont montré une activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries testées, probablement due à la présence du groupe amine et à la fonction hydroxyle qui sont des groupements fonctionnels et réactifs, et qui peuvent réagir avec d'autres groupements. Ces données soutiennent l'étude réalisée par **Rahmoun et coll., 2010** et **Mostefa-Kara et coll., 2010** concernant la détermination de l'activité antibactérienne de la lawsone et d'autres dérivés 1,4-naphtoquinones.

#### **4.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'association des produits de synthèse**

L'étude de la CMI a été réalisée par la méthode des dilutions en milieu liquide selon les recommandations de **NCCLS (2000)**.

Les résultats des valeurs des CMI des produits de synthèse et de leur association vis-à-vis des souches testées sont présentés dans le tableau N°6.

Tableau N°6 : CMI (mg/ml) des produits de synthèse et de leur association.

Produits de synthèse (1,024mg/ml)	<i>E. coli</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. typhimurium</i>
<b>A</b>	0,512	0,512				
<b>K</b>	0,512	0,512				
<b>A+K</b>	>0,512	>0,512				
<b>16</b>	> 0,512	> 0,512				
<b>A+16</b>	0,512	0,512				
<b>17</b>	0,256		> 0,512			
<b>A+17</b>	0,256					
<b>K+17</b>			0,512			
<b>25</b>			> 0,512			
<b>K+25</b>			0,512			
<b>M 2</b>			0,512			
<b>A+M2</b>			0,064			
<b>K+M2</b>			0,128			
<b>M 5</b>				0,064		
<b>A+M5</b>				0,064		
<b>K+M5</b>				0,064		
<b>Lawson</b>	> 0,512				0,256	0,512
<b>A+Lawson</b>	0,256					0,256
<b>K+Lawson</b>	0,256				0,512	0,512
<b>Ciprofloxacin</b>	$2 \cdot 10^{-3}$	$0,5 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$0,125 \cdot 10^{-3}$	$0,5 \cdot 10^{-3}$	$0,5 \cdot 10^{-3}$

Les résultats obtenus ne semblent pas être en corrélation avec ceux de la méthode de diffusion en milieu solide sauf que pour le produit M2, dont l'activité a été accentuée une fois associé avec les dérivés des 2-pyridones. Les résultats montrent une forte activité avec le produit A ( $\Phi=27\text{mm}$ ) et le produit K ( $\Phi=26\text{mm}$ ) vis-à-vis d'*Acinetobacter baumannii*, avec des CMI de 0,064mg/ml et 0,128mg/ml respectivement.

# **CONCLUSION GENERALE**

---

Ce travail a porté sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de treize dérivés des 2-pyridones synthétisés au niveau du laboratoire de catalyse et synthèse en chimie organique. L'activité antibactérienne a été évaluée sur une gamme de quatre (04) souches bactériennes à Gram positifs et huit (08) souches à Gram négatifs.

Il ressort de cette étude que :

- Les résultats relatifs à l'évaluation de l'activité antibactérienne des 2-pyridones de synthèse montrent que les fortes activités sont dévoilées par les composés A et K vis-à-vis d'*E. cloacae* et *E. coli* respectivement avec des diamètres respectifs de 28,5mm et 20mm et les CMI sont de l'ordre de 0,512 mg/ml.
- Une étude sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'association des produits de synthèse jugés actifs (A et K) avec les dérivés des aminopyridines et les dérivés 1,4-naphtoquinones.
- La combinaison des produits A et K avec les dérivés 1,4-naphtoquinone a montré les résultats les plus intéressants.
- L'augmentation ou l'inhibition de l'activité est due aux effets combinés des deux dérivés de synthèse associés.
- Le rapport structure activité prouve qu'un groupement méthylène de la fonction allyle et les deux atomes de chlore substitués sur le noyau phénylique de l'hétérocycle du produit K ainsi le groupement benzyle du produit A et le groupement hydroxyle de la lawsone et la fonction amine du composé M2 ont augmenté l'activité.

Pour compléter ce travail, il serait intéressant d' :

- Elargir cette étude à d'autres souches de bactéries et de levures;
- Optimiser la structure de ces dérivés de synthèse dans le but d'élargir leurs spectres d'action;
- 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*

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. Aberg V., Sellstedt M., Hedenstrom M., Pinkner J.S., Hultgren S.J. and Almqvist F., (2006) Design, synthesis and evaluation of peptidomimetics based on substituted bicyclic 2-pyridones-Targeting virulence of uropathogenic *E. coli*. *Bioorgan. Med. Chem.*, 14, 7563-7581.
2. Adibatti N.A., Thirugnanasambantham P. and Kulothungan C., (1991) A pyridine alkaloid from *Ceropegia juncea*. *Phytochem.*, 30, 2449-2450.
3. Ahmed S. and Ismail D., (2008) Synthesis and biological activity of 8-hydroxyquinoline and 2-hydroxypyridine quaternary ammonium salts. *J. Surfactants. Detergent.*, 11, 231–235.
4. Amr A.B.E. and Abdulla M.M., (2006) Anti-inflammatory profile of some synthesized heterocyclic pyridone and pyridine derivatives fused with steroidal structure. *Bioorg. Med. Chem.*, 14, 4341-4352.
5. Balogh M., Hermeicz I., Simon K., PusztayL., (1989) Studies on naphthyridines. Part 2. Synthesis of 4-substituted and 6-substituted 1,6-naphthyridin-5(6H)-ones. *J. Heterocyclic. Chem.*, 26, 1755-1769.
6. Bodor E.T. and Offermanns S., (2008) Nicotinic acid: an old drug with a promising future. *Br. J. Pharmacol.*, 153 (S1), S68-S75.
7. Boschelli D.H., Connor D.T., Bornemeier D.A., Dyer R.D., Kennedy J.A., Kuipers P.J., Okonkwo G.C., Schrier D.J. and Wright, C.D., (1993) 1,3,4-Oxadiazole, 1,3,4-thiadiazole, and 1,2,4-triazole analogs of the fenamates: *In vitro* inhibition of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase activities. *J. Med. Chem.*, 36, 1802-1810.
8. Brown B.G. and Zhao X.Q., (2008) Nicotinic acid, alone and in combinations, for reduction of cardiovascular risk. *Am. J. Cardiol.*, 101 (8), S58–S62.
9. Brown-Elliott B.A., Cohen S. and Wallace R.J., (2007) Susceptibility testing of mycobacteria, in antimicrobial susceptibility testing protocols, Edition Taylor and Francis, New York, 243-270.
10. Chang-Yih D.H., Yang-Chang W.V. and Shang-Kwei W., (1990) Cytotoxic pyridone alkaloids from *Piper aborescens*. *Phytochem.*, 29 (8), 2689-2691.
11. Cocco C.C., Maria T. and Valentina O., (2000) Synthesis and antitumour activity of 4-hydroxy-2-pyridone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 35, 545-552.
12. Cos P., Arnold J. V., Dirk V.B. and Louis M., (2006) Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger *in vitro* 'proof-of-concept'. *J. Ethnopharmacol.*, 106, 290-302.

13. David T.N., (1968) A study of the effects of pyridinolcarbamate (P-23) on angina pectoris. *J. Clin. Pharm.*, 8, 259-267.
14. Dollé V., Fan E., Nguyen C.H., Aubertin A., Kirn A., Andreola M.L., Jamieson G., Tarrago-Litvak L. and Bisagni E., (1995) A new series of pyridinone derivatives as potent non-nucleoside human immunodeficiency virus type 1 specific reverse transcriptase inhibitors. *J. Med. Chem.*, 38, 4679-4686.
15. Dragovich P.S., Prins T.J., Zhou R., Johnson T.O., Hua Y., Luu H.T. and Sakata S.K., (2003) Structure-based design, synthesis and biological evaluation of irreversible human rhinovirus 3C protease inhibitor. 8. Pharmacological optimization of orally bioavailable 2-pyridone-containing peptidomimetics. *J. Med. Chem.*, 46, 4572-4585.
16. Duce G., Fabry J. and Nicolle L., (2008) Prévention des infections nosocomiales : Guide pratique, 2<sup>ed</sup>, Organisation mondiale de la santé, Suisse, 61-64.
17. Elgorashi E.E. and Van Staden J., (2004) Pharmacological screening of six Amaryllidaceae species. *J. Ethnopharmacol.*, 90, 27–32.
18. Eliopoulos G.M. and Eliopoulos C.T., (1998) Antibiotic combinations: Should they be tested? *Clin. Microbiol. Rev.*, 1, 139–156.
19. El-Mariaha F. and Nassara E., (2010) Synthesis and antimicrobial of some novel-5-carbomethoxy-2-pyridone derivatives containing sulfonamide moiety, phosphorus, sulfur, and silicon and the related. *Elements.*, 183 (12), 3145 – 3155
20. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (Eucmid), 2003.
21. Farag A.M., Dawood K.M. and Elmenoufy H.A., (2004) A convenient route to pyridones, pyrazolo[2,3-a]pyrimidines and pyrazolo[5,1-c]triazines incorporating antipyrine moiety. *Heteroatom. Chem.*, 15, 7.
22. Finke P.E., Meurer L.C., Debenham J.S. Toupençe R.B. and Walsh T.F., (2007) Cannabinoid CB1 receptor antagonists' therapeutic and structural perspectives. *US. Patent.*, 90-153.
23. Flamm R.K., Vojtko C., Chu D.T., Li Q., Beyer J. and Hensey, D., (1995) *In vitro* evaluation of ABT-719, a novel DNA gyrase inhibitor. *Antimicrob. Agents. Ch.*, 39, 964-70.

24. Frank S., Heydar S., Paultheo V.Z., Brigitte K. and Stephanie G., (2008) Iromycins from *Streptomyces* sp. and from synthesis: New inhibitors of the mitochondrial electron transport chain. *Bioorgan. Med. Chem.*, 16, 1738-1746.
25. Ganguli S.N., (1970) Biosynthesis of N-methyl-5 carboxamide-2-pyridone from *Trewia nudiflora*. *Phytochem.*, 9, 16-67.
26. Guery B., (2010) Infections à bactéries Gram positif : quoi de plus en 2010? compte-rendu de congrès. *Med. Maladies. Infect.*, 40, 724-729.
27. Hamdya N.A. and Gamal-Eldeen A.M., (2009) Newpyridone, thioxopyridine, pyrazolopyridine and pyridine derivatives that modulate inflammatory mediators in stimulated RAW 264.7 murine macrophage. *Eur. J. Med. Chem.*, 44, 4547-4556.
28. Hegarty M.P., Court R.D., Christie G.S. and Lee C.P., (1976) Mimosine in *Leucaena leucocephala* is metabolised to a goitrogen in ruminants. *Aust. Vet. J.*, 52, 490.
29. Heydar S., Zhen L.B. and Paultheo V.Z., (2007) Iromycins : A new family of pyridone metabolites from *Streptomyces* sp. II. Convergent total synthesis. *J. Org. Chem.*, 72 (14), 5091-5097.
30. Jason A.W., Akihiro H., Jane A.T., Jijun C., Christopher D., Milind D., Michael J.P. and Barton J.B., (2006) Isothiazolopyridones: synthesis, structure, and biological activity of a new class of antibacterial agents. *J. Med. Chem.*, 49 (1), 39-42.
31. Jube S., Awaya J. and Borthakur D., (2009) Expression of *rhizobium pydA-pydB* fusion gene in *nicotiana tabacum* confers resistance to the toxic aromatic compound 3-hydroxy-4-pyridone. *Biologia. plantarum.*, 53 (2), 355-359.
32. Kamal A., Shankaraiah N., Devaiah V., Reddy K.L., Juvekar A., Sen S., Kurian N. and Zingde S., (2008) Synthesis of 1,2,3-triazole-linked pyrrobenzo-diazepine conjugates employing "click" chemistry: DNA-binding affinity and anticancer activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 18, 1468-1473.
33. Kibou Z., Cheikh N., Choukchou-Braham N., Mostefa-kara B., Benabdellah M. and Villemin D., (2011) New methodology for the synthesis of 2-pyridones using basic  $Al_2O_3$  as catalyst. *J. Mater. Environ. Sci.*, 2 (3), 293-298.
34. Ko Y.K., Lee S.C., Koo D.W., Jung M. and Kim D.W., (2001) A new and facile synthesis of 2-Pyridones. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 22 (2), 234-236.
35. Kozikowski A.P., Campiani G., Sun L.Q., Wang S., Saxena A. and Doctor B.P., (1996) Identification of a more potent analogue of the naturally occurring alkaloid

- Huperzine A. Predictive molecular modeling of its interaction with AChE. *J. Am. Chem. Soc.*, 118 (46), 11357-11362.
36. Kulkarnatak M.V., Patil V.D., Biradar V.N. and Nanjappa S., (1981) Synthesis and biological properties of some 3-heterocyclic substituted coumarins. *Arch. Pharm. Chem. Life. Sci.*, 314, 435-439.
37. Kurakane S. and Igarashi K., (2006) A radical scavenging compound, 3-pyridinol, in instant coffee and its hepatoprotective activity. *Food. Sci. Tech.*, 12, 148-151.
38. Laslaa M.A., (2011) Evaluation de l'activité antibactérienne antifongique de quelques dérivés de 1,4-naphtoquinone, Mémoire de master, université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, p50.
39. Luo W., Meng X., Xiang J., Duan Y., Cheng G. and Ji Z., (2008) Synthesis, characterization and bioactivity of four novel trinuclear copper (II) and nickel (II) complexes with pentadentate ligands derived from N-acylsalicylhydrazide. *Inorganica. Chimica. Acta.*, 361, 2667–2676.
40. Martin C., Goggel R., Dal-Piaz V., Vergelli C., Giovannoni P., Ernst M. and Uhlig S., (2002) Airway relaxant and anti-inflammatory properties of a PDE4 inhibitor with low affinity for the high-affinity rolipram binding site. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 365(4), 284-289.
41. Meulbroek J. A., Oleksijew A., Tanaka S. K. and Alder D. J., (1996) Efficacy of ABT-719, a 2-pyridone antimicrobial, against enterococci, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* in experimental murine Pyelonephritis. *J. Antimicrob. Chemoth.*, 38, 641-653
42. Mont N., Teixido J. and Borrell J.I., (2009) A diversity oriented, microwave assisted synthesis of N-substituted 2-hydro-4-amino-pyrido [2, 3-d] pyrimidin-7(8H)-ones. *Mol. Divers.*, 13 (1), 39-45.
43. Moody J.A., (1992) Synergism testing: Broth microdilution checkerboard and broth macrodilution methods, in *Clinical Procedures Handbook*, Isenberg. H.D., Ed., ASM Press, Washington DC, 5 (18), 1-5.
44. Mostefa-Kara B., Ziani-Cherif C., Benabdallah M., Rahmoun N. M., Villemin D., Choukchou-Braham N. and Boucherit K., (2010) New chemical tools for the assessment of hemolytic anemia induced by Naphtoquinones. *Der. Pharma. Chemica.*, 2(1), 14-21.

45. Mukherjee R. and Chatterjee A., (1966) Structure and synthesis of nudiflorine: A new pyridone alkaloid. *Tetrahedron.*, 22 (4), 1461-1466.
46. Naqvi A. and Pulcini C., (2010) Résistance bactérienne et prescription antibiotique perceptions, attitudes et connaissances des médecins hospitaliers. *Med. Maladies. Infect.*, 40 (11), 625-631.
47. Nassour A., (2011) Evaluation de l'activité antibactérienne antifongique de nouvelles aminopyridines de synthèse, Mémoire de master, université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, p52.
48. Nath M., Song X., Eng G. and Kumar A., (2008) Synthesis and spectral studies of organotin (IV) 4-amino-3-alkyl-1,2,4-triazole-5-thionates: *In vitro* antimicrobial activity. *Spectrochim. Acta A.*, 70, 766-774.
49. National Clinical Committee Laboratory Standards (NCCLS)., (2003) Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. *Approved Standard-Eight Edition.*, 23, M2-A8.
50. National Committee for Clinical Laboratory Standards., (2000) National Committee for Clinical Laboratory Standard Wayne Pa, 5<sup>th</sup>ed vol. 17. Approved standards-M7 A4. NCCLS document M7-A4.
51. Nikam T.D. and Savant R.S., (2009) Multiple shoot regeneration and alkaloid cerpegin accumulation in callus culture of *Ceropegia juncea* Roxb. *Physiol. Mol. Biol. Plants.*, 15 (1), 71-77.
52. Osadchii O.E., (2007) Pyridazinone derivatives: Design, synthesis, and *in vitro* vasorelaxant activity. *Cardiovasc. Drugs. Ther.*, 21, 171.
53. Özçelik B., Gürbüz I., Karaoglu T. and Yeşilad E., (2009) Antiviral and antimicrobial activities of three sesquiterpene lactones from *Centaureasolstitialis* L. ssp. *Microbiol. Res.*, 164 (5), 545-52.
54. Page M.G.P., Dantier C. and Desarbre E., (2010) *In vitro* properties of BAL30072, a novel siderophore sulfactam with activity against multiresistant Gram-negative bacilli. *Antimicrob. Agents. Ch.*, 54, 302-2291.
55. Park B.S., Lee H.K., Lee S.E., Piao X.L., Takeoka G.R., Wong R. Y., Ahn Y.J. and Kim J.H., (2006) Antibacterial activity of *Tabebuia impetiginosa* martius ex DC (Taheebo) against *Helicobacter pylori*. *J. Ethnopharmacol.*, 105, 255–262.

- 
56. Payne D.J., Gwynn M.N., Holmes D.J. and Pompliano D.L., (2007) Drugs for bad bugs: confronting the challenges of antibacterial discovery. *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 6, 29-40.
57. Pemberton N., Pinkner J.S., Edvinsson S., Hultgren S.J. and Almqvist F., (2008) Synthesis and evaluation of dihydroimidazolo and dihydrooxazolo ring fused 2-pyridones-targeting pilus biogenesis in uropathogenic bacteria. *Tetrahedron.*, 64, 9368-9376.
58. Peters R., Althaus M. and Nagy A.L., (2006) Practical formal total synthesis of (*rac*) - and (*S*) - camptothecine. *Org. Biomol. Chem.*, 4, 498-506.
59. Rahmoun M.N., Benabdallah M., Villemin D., Boucherit K., Mostefa-Kara B., Ziani-Cherif C. and Choukchou-Braham N., (2010) Antimicrobial screening of the Algerian *Lawsoniainermis* (henna). *Der. Pharma. Chemica.*, 2(6), 320-326.
60. Rodriguez-Franco M.I., Fernandez-Bachiller M.I., Perez, C., Hernandez-Ledezma B. and Bartolome B., (2006) Novel tacrine–melatonin hybrids as dual-acting drugs for Alzheimer disease, with improved acetylcholine esterase inhibitory and antioxidant properties. *J. Med. Chem.*, 49, 459-462.
61. Sah P., Saraswat N. and Seth M., (2011) Synthesis of phthalyl substituted imidazolones and schiff bases as antimicrobial agents. *E-Journal of Chemistry.*, 8 (1), 427-434.
62. Saravolatz L.D., Stein G.E. and Johnson L.B. (2009) Telavancin: a novel lipoglycopeptide. *Clin. Infect. Dis.*, 49, 14-1908.
63. Sastry S.D. and Waller G.R., (1972) Biosynthesis of N-methyl-5 carboxamide-zpyridone from *Trewia nudiflora*. *Phytochem.*, 11, 2241- 2245.
64. Sayed H.H. and Ali M.A., (2008) Synthesis of 3-[(4-chloro-phenyl) oxiranyl] thiophen-2-yl-propanone and their reactions with some nucleophilles for antiviral evaluations. Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. *Elem.*, 183, 156-167.
65. Sayed H.H., Morsy E.M.H. and Fiefel E.M., (2010) Synthesis and reactions of some novel nicotinonitrile, thiazolotriazole, and imidazolotriazole derivatives for antioxidant evaluation. *Synthetic. Commun.*, 40 (9), 1360-1370.
66. Scozzafava A. and Supuran C.T., (2000) Carbonic Anhydrase and matrix metalloproteinase inhibitors: sulfonlated amino acid hydroxamates with MMP inhibitory properties act as efficient inhibitors of CA Isozymes I, II, and IV, and *N*-

- hydroxysulfonamides inhibit both these zinc enzymes. *J. Med. Chem.*, 43, 3677-3687.
67. Spellberg B., Guidos R. and Gilbert D., (2008) The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.*, 46, 155-164.
68. Stafford A.E., Black D.R., Haddon W.F. and Waiss A.C., (1972) Analysis and improved synthesis of parasorbic acid. *J. Sci. Food. Agric.*, 23 (6), 771-776.
69. Suksrichavalit T., Prachayasittikul S., Nantasenamat C., Isarankura-Na-Ayudhya C. and Prachayasittikul V., (2009) Copper complexes of pyridine derivatives with superoxide scavenging and antimicrobial activities. *Eur. J. Med. Chem.*, 44, 3259-3265.
70. Teshima Y., Shin-ya K., Shimazu A., Furihata K., Chul H.S., Hayakawa Y., Nagai K. and Seto H., (1991) Isolation and structural elucidation of pyridoxatin, a free radical scavenger of microbial origin. *J. Antibiot.*, 44 (6), 685-687.
71. Theuretzbacher U., (2009) Future antibiotics scenarios: is the tide starting to turn? *Int. J. Antimicrob. Ag.*, 34, 15-20.
72. Tony S., Ekaterina S.K., Joon J., Craig R., Anjili M., Altman M.D., Grace C. and Lin X., (2010) The discovery of tricyclic pyridone JAK2 inhibitors. Part 1: Hit to lead. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 20, 7421-7425.
73. Tremmel P. and Geyer A., (2005) Pyridone Dipeptides - Synthesis of a Novel Peptide Chromophore. *Eur. J. Org. Chem.*, (16), 3475-3481.
74. Wall M.E., (1998) [Camptothecin and taxol: discovery to clinic](#). *Med. Res. Rev.*, 18, 299-314.
75. Wall M.E., Wani M.C., Cook C.E., Palmer K.H., McPhail A.T. and Sim G.A., (1966) Plant antitumor agents. I. The isolation and structure of Camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata*. *J. Am. Chem. Soc.*, 88, 3888.
76. Wujec M., Pitucha M., Dobosz M., Kosikowska U. and Malm A., (2004) Synthesis and potential antimycotic activity of 4-substituted-3-(thiophene-2-yl-methyl)-delta<sup>2</sup>-1,2,4-triazoline-5- thiones. *Acta. Pharm.*, 54, 251-260.
77. Yinghua Y., Lianli S., Shengyi D., Xiaoyu W., Leixiang Y.X.W., Hua B. and Yu Z., (2008) Synthesis of the pyridone analogues of territrem B. *Mendeleev. Commun.*, 18, 186-187.

78. Yu N., Behrooz G. and Belaj F., (2004) Rapid microwave-assisted solution phase synthesis of substituted 2-pyridone libraries. *Tetrahedron.*,60, 8633-8644.
79. Zhang Y., Fan X., Chakaravarty D., Xiang B. and Hech S.R., (2008) 1-Hydroxy-2 pyridinone based MMP inhibitors: Synthesis; and biological evaluation for the treatment of ischemic stroke. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 18, 409-413.

# **ANNEXES**

## Annexe I

Tableau N°1 : Anti-infectieux d'usage courant, par catégories (Ducel et coll., 2008).

Classe	Antibiotique
Aminosides	Streptomycine, kanamycine, tobramycine, gentamicine, néomycine, amikacine
Bêta-lactamines	
• Pénicillines	Benzylpénicilline (pénicilline G), benzylpénicilline procaïne, benzathine-benzylpénicilline, phénoxyéthylpénicilline (pénicilline V), ampicilline, amoxicilline, méticilline, cloxacilline
• Pénicilline/ inhibiteurs de la bêta-lactamase	Amoxicilline/acide clavulanique, pipéracilline/tazobactam
• Céphalosporines	1 <sup>ère</sup> génération : céfalexine, céfalotine 2 <sup>ème</sup> génération : céfuroxime, céfoxitine, céfclor 3 <sup>ème</sup> génération : céfotaxime, ceftriaxone, Ceftazidime
Autres bêta-lactamines	Aztréonam
• Carbapénèmes	Imipénème, méropénème
• Glycopeptides	Vancomycine, téicoplanine
• Macrolides/azolides	Erythromycine, oléandomycine, spiramycine, clarithromycine, azithromycine
• Tétracyclines	Tétracycline, chlortétracycline, minocycline, doxycycline, Oxytétracycline
• Quinolones	Acide nalidixique, ciprofloxacine, norfloxacine, péfloxacine, sparfloxacine, fléroxacine, ofloxacine, lévofloxacine, gatifloxacine, moxifloxacine
• Oxazolidinone	Linézolide
• Streptogramines	Quinupristine/dalfopristine
• Autres	Bacitracine, cyclosérine, novobiocine, spectinomycine, clindamycine, nitrofurantoïne
Sulfamides et Triméthopri	Triméthopri/triméthopri sulfaméthoxazole

## Annexe II: Milieux de culture

### **Bouillon Nutritif (BN, Fluka, BioChemika) Formule (en g/l)**

Extrait de viande	3,0
Peptone	5,0
Chlorure de sodium	5,0
Eau Distillée	qsp 1L

pH= 7,2 ( $\pm 0,2$ ) à 37°C

Suspendre 13g de la poudre dans un litre d'eau distillée, en suite stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15min.

### **Gélose Nutritive (GN, Fluka, BioChemika, 70148)**

#### Formule (en g/l)

Extrait de viande de bœuf	1,0
Extrait de levure	2,0
Peptone	5,0
Chlorure de sodium	5,0
Agar	15,0
Eau Distillée	qsp 1L

pH = 7,2 ( $\pm 0,2$ ) à 37°C

Suspendre 28g de la poudre dans un litre d'eau distillée ensuite chauffer sous agitation jusqu'à ébullition pour la dissolution totale du milieu et stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15min

### **Gélose Mueller Hinton (FlukaBioChemika, 70191)**

#### Formule (en g/l)

Infusion de viande de bœuf	4,0
Hydrolysate de caseine	17,5
Amidon	1,5
Agar	15,0
Eau Distillée	qsp 1L

pH= 7,4 ( $\pm 0,2$ ) à 37°C.

Suspendre 38g de la poudre dans un litre d'eau distillée ensuite chauffer sous agitation jusqu'à ébullition pour la dissolution totale du milieu et stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15min.

### **Bouillon au cœur cerveau (BHIB, INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE)**

#### Formule (en g/l)

Extrait de cerveau	7,8
Extrait de cœur	9,7
Peptone	10,0
NaCl	5,0
di-sodium Phosphate	2,5
Dextrose	2,0
Eau Distillée	qsp 1L

pH= 7,4 ( $\pm 0,2$ ) à 37°C.

Suspendre 37g de la poudre dans un litre d'eau distillée, chauffer si c'est nécessaire pour la dissolution totale du milieu et stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15min.

## Résumé

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouveaux agents antibactériens de quelques dérivés des 2-pyridones de synthèse. Deux méthodes ont fait l'objet de cette étude, la méthode de diffusion des disques et la méthode des dilutions et ce vis-à-vis de quatre bactéries à Gram positives *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 49452, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Bacillus cereus* ATCC 10876 et huit bactéries à Gram négatives *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Proteus mirabilis* ATCC 35659, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 et *Enterobacter cloacae* ATCC 13047. Les résultats relatifs à l'évaluation de l'activité antibactérienne, montrent qu'une forte activité a été révélée pour le composé A vis-à-vis d'*E. cloacae* et une activité moyenne pour le composé K vis-à-vis d'*E. coli* avec des diamètres des zones d'inhibitions respectifs 28,5mm et 20mm et des CMI de l'ordre de 0,512mg/ml. En parallèle une autre étude comparative qui porte sur l'association de nos produits de synthèse jugés actifs (A et K) avec les dérivés aminopyridines et les dérivés 1,4-naphtoquinones, a été réalisée. Les résultats révèlent que l'association du dérivé 1,4-naphtoquinone nommé M2 avec le produit A ou K améliore l'activité vis-à-vis d'*A. baumannii* avec des CMI de 0,064mg/ml et de 0,128mg/ml respectivement.

**Mots clés** : 2-pyridone, synthèse, activité antibactérienne, association

## Abstract

Our work is a part of the search for new antibacterial agents of some synthesis 2-pyridones derivatives. Two methods were the subject of this study, the diffusion disk and the dilution method against four Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 49452, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Bacillus cereus* ATCC 10876 and eight Gram-negative bacteria *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Proteus mirabilis* ATCC 35659, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 and *Enterobacter cloacae* ATCC 13047. Results of antibacterial activity evaluation, showed a strong activity for compound A against *E. Cloacae* and medium activity for compound K against *E. coli* with inhibition zones diameters of 28.5mm and 20mm respectively and MIC value of 0,512mg/ml. At the same time, another comparative association study of our active synthetic products (A and K) with aminopyridines and 1,4-naphthoquinone derivatives, was performed. The results showed that the combination of 1,4-naphthoquinone derivative called M2 with product A or K increases the activity against *A. baumannii* with MICs value of 0.064 mg/ml and 0.128 mg/ml respectively.

**Key words**: 2-pyridone, synthesis, antibacterial activity, association

## ملخص

يُدرج عملنا هذا في إطار البحث عن مضادات حيوية جديدة من نوع 2-بيريدون. تم استعمال طريقتين في هذه الدراسة: طريقة الإنتشار القرصي و طريقة التخفيف، و ذلك ضد أربعة أنواع من البكتيريا إيجابية الجرام : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، *Enterococcus faecalis* ATCC 49452، *Listeria monocytogenes* ATCC 15313، *Bacillus cereus* ATCC 10876، و ثمانية أنواع من البكتيريا سلبية الجرام : *Escherichia coli* ATCC 25922، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853، *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603، *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606، *Citrobacter freundii* ATCC 8090، *Proteus mirabilis* ATCC 35659، *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 و *Enterobacter cloacae* ATCC 13047. أظهرت النتائج المتحصل عليها فيما يخص تقييم النشاط المضاد للبكتيريا نشاطا كبيرا للمركب A ضد *E. cloacae*، و نشاطا متوسطا بالنسبة للمركب K ضد *E. coli* بأقطار مناطق التثبيط متراوحة بين 28.5 مم و 20 مم، و قد قدر التركيز الأدنى للتثبيط بـ 0.512 مل/مغ. بالمقابل، قمنا بدراسة تداؤب المركبات التي أظهرت نشاطا معتبرا (A و K) مع مشتقات الأمينوبيريدين و 1،4-نافتوكينون. أظهرت النتائج أن دمج المركب M2 (مشتق 1،4-نافتوكينون) مع المركبين A و K قد حسن من النشاط المضاد للبكتيريا ضد *A. baumannii* بتركيز أدنى للتثبيط مقدر بـ 0.064 مل/مغ بالنسبة للمركب A+M2 و 0.128 مل/مغ بالنسبة للمركب K+M2.

**الكلمات المفتاحية** : 2-بيريدون، التركيب، النشاط المضاد للبكتيريا، التداؤب.