

4.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de ces composés synthétisés a été déterminées *in vitro* en utilisant la méthode de disque sur papier wattman contre diverses bactéries pathogènes telles que les bactéries du Gram (+) : *Staphylococcus aureus* ATCC 65 38, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12 228, *Bacillus subtilis* ATCC 93 72 *Bacillus cereus* ATCC 10 876, *Enterococcus faecalis* ATCC 20 35, *Micrococcus luteus* ATCC 533 et le Gram (-): *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 43 52

D'après les résultats obtenus, les séries de produits testés semblent être doués d'une activité inhibitrice sur certaines classes de micro-organismes testées. Le diamètre d'inhibition est compris entre 7 et 30 mm (Tableau 6 et 7).

L'activité antibactérienne de tous les composés est effectuée dans le DMSO contre les bactéries, mentionnées dans les Tableaux suivants:

Tableau 6: Résultats de l'activité antibactérienne en mm des différents ligand base de schiff (20 mg/ml).

Les souches	Les produits 20 mg/ml								
	a ₁	b ₁	a ₂	b ₂	a ₃	b ₃	c ₂	c ₃	c ₁
<i>S. aureus</i>	8.1	–	–	–	–	–	–	–	13.55
<i>S. epidermidis</i>	8	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>B. subtilis</i>	9	–	–	–	–	–	8	–	12.80
<i>B. cereus</i>	10	–	–	–	–	–	7	–	8.80
<i>E. faecalis</i>	10	–	–	–	–	–	–	–	8.46
<i>M. luteus</i>	7	–	–	–	–	–	10	–	17.30
<i>E. coli</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>K. pneumoniae</i>	12	–	–	–	–	–	–	–	–

Tableau 7: Résultats de l'activité antibactérienne en mm des différents ligands base de Schiff (40 mg/ml).

Les souches	Les produits 40 mg/ml		
	c ₁	a ₁	c ₂
<i>S.aureus</i>	26	–	24.33
<i>S.epidermidis</i>	20	9.91	Inhibition totale
<i>B.subtilis</i>	24.33	–	23.33
<i>B.cereus</i>	16.33	–	20
<i>E. Faecalis</i>	15	6.77	19
<i>M. Luteus</i>	25.33	–	34
<i>E.coli</i>	7	–	10
<i>K.Pneumoniae</i>	7	9.37	-

Tableau 8: Les résultats de l'activité antibactérienne en mm de l'antibiotique (AMC 30) dans différentes concentrations (20 et 40 mg/ml).

les souches	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>E.coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
ATB	19	14	18	-	-	33	-	-

4.1.1. Coefficient d'activité antibactérienne

Afin de comparer l'activité antimicrobienne de différents ligands base de Schiff avec celle des antibiotiques utilisés, nous avons vérifié la relation de proportionnalité entre l'activité

(la surface d'inhibition z') et la quantité d'agent antimicrobien (q). Le coefficient d'activité A pour chaque souche bactérienne est estimé (Pibiri, 2006).

$$A = \frac{z'}{q}$$

Avec;

$$z' = \pi (z^2 / 4)$$

z' : la surface d'inhibition

q : la quantité d'agent antimicrobien (en μg)

z : le diamètre d'inhibition (cm), diamètre du disque imbibé inclus.


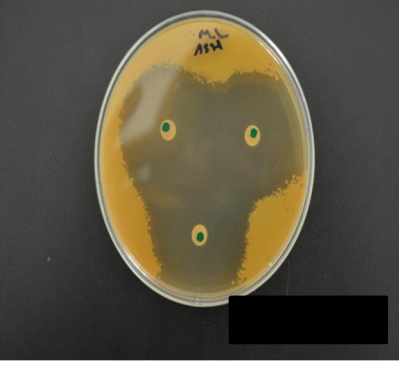

Tableau 9: Coefficient de l'activité A de différents ligands base de Schiff.

les souches	composés 1000 $\mu\text{g}/\text{disque}$		
	a1	c1	c2
<i>S. aureus</i>	-	0.0053092	0.0046491
<i>S. epidermidis</i>	0.0007713	0.0031415	Inhibition total
<i>B. subtilis</i>	-	0.0046491	0.0042748
<i>B. cereus</i>	-	0.0012825	0.0031415
<i>E. faecalis</i>	0.0003599	0.0017671	0.0028352
<i>M. luteus</i>	-	0.0050405	0.0090792
<i>E. coli</i>	-	0.0003848	0.0021642
<i>K. pneumoniae</i>	0.0006895	0.0003848	-

Tableau 10: Coefficient de l'activité A de l'antibiotique (AMC 30).

Souches	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
A	0.0945	0.0513	0.0848	-	-	0.2850	-	-

Tableau 11: Les zones d'inhibition des ligands base de Schiff c₂, c₁.

La zone d'inhibition de ligand base de Schiff c ₂ contre <i>S. epidermidis</i>	La zone d'inhibition de ligand base de Schiff c ₂ contre <i>M. luteus</i>	La zone d'inhibition de ligand base de Schiff c ₁ contre <i>S. aureus</i>
		

L'activité antibactérienne des ligands base de Schiff synthésisés est déterminée contre deux (02) souches bactériennes Gram (-) (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352) et de six (06) souches Gram (+) (*Staphylococcus aureus* ATCC 65 38, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12 228, *Bacillus subtilis* ATCC 93 72, *Bacillus cereus* ATCC 10 876, *Enterococcus faecalis* ATCC 20 35 et *Micrococcus luteus* ATCC 533) . Les ligands base de Schiff synthésisés exposés des effets d'inhibition nulles ou de degrés variés (faible et fort) sur la croissance de différentes souches bactérienne testées (tableau 5).

D'après les résultats obtenues, on remarque que:

Les composés a₁, c₂, c₁ sont avérés actifs vis-à-vis les bactéries Gram (+) et Gram (-). Par contre, les composés b_{1,a2}, b₂, a₃, b₃ sont inactifs contre les bactéries Gram (+) et Gram (-).

On peut dire que les différentes d'activités des composés synthésisés surgissent en raison des différents groupes présents. Les Composés c₁,c₂ et c₃ contiennent le groupement thiosemicarbazide (-C=SNH-N=C-Ar), le groupement 1,3,4-thiadiazole thiol (-SH) et le groupement semicarbazide (-C=ONH-N=C-Ar), ainsi que les composés a₁, a₂, a₃, b₁, b₂, b₃ contiennent (-OH).

Pour la concentration 20 mg/ml on a choisi les meilleurs résultats de la concentration 20 mg/ml et pour les tester avec la concentration 40 mg/ml.

- *S.aureus*: les deux composés c₁ et c₂ exhibent une activité forte avec une zone d'inhibition de 26 ± 0 mm et 24.33 ± 0.333 mm respectivement. Ces deux composés

contiennent le groupe thiosemicarbazide et 1,3,4-thiadiazole thiol respectivement, qui sont avérés efficaces contre *S.aureus*. Les autres composés n'ont montré aucun effet.

- *B.subtilis*: les deux composés c_1 et c_2 montrent une forte activité avec une zone d'inhibition de 24.33 ± 0.3333 mm et 23.33 ± 0.3333 mm respectivement.
- *B.cereus*: encore les deux composés c_1 et c_2 exhibent une activité avec une zone d'inhibition de 16.33 ± 0.3333 mm et 20 ± 0 mm, ces deux composés contiennent le groupe C=S et SH respectivement. tandis que l'antibiotique (AMC 30) et les autres composés n'ont montré aucun effet.
- *E. faecalis*: les trois composés c_1 , a_1 et c_2 montrent une activité avec une zone d'inhibition de 15 ± 0 , 6.77 ± 0 et 19 ± 0 mm respectivement.
- *M. luteus*: les deux composés c_1 et c_2 donnent les meilleures zones d'inhibition de 25.33 ± 0 et 34 ± 0 mm respectivement.
- *E.coli*: les deux composés c_1 et c_2 montrent une activité avec une zone d'inhibition de 7 ± 0 et 10.66 ± 0.3333 mm, ces deux composés contiennent les groupes C=S et SH respectivement. Tandis que l'antibiotique (AMC 30) et les autres composés n'ont montré aucun effet.
- *K. pneumoniae*: cette souche semble être plus résistante, car, d'après la littérature sa capsule de polysaccharides ; Elle confère à *Klebsiella pneumoniae* un fort pouvoir invasif. C'est cette capsule volumineuse de nature polysaccharidique explique l'aspect gluant (Struve et Krogfelt, 2003). Seul les composés c_1 et a_1 qui donnent des zones d'inhibition de 7 ± 0 et 9.37 ± 0 mm, ces deux composés contiennent les groupes C=S et OH respectivement. L'antibiotique (AMC 30) et les autres composés n'ont montré aucun effet.
- Pour *S.epidermidis*: c_1 et c_2 étaient nettement plus efficaces (9.91 ± 0 mm et 20 ± 0 mm), le composé c_2 est semblable le meilleur inhibiteur grâce à son inhibition presque totale. tandis que les autres composés ne présentent aucune activité.

En comparant l'effet des composés de la série I et II, on note que le motif 1,3,4-thiadiazole thiol apporte à la molécule une activité antimicrobienne supérieure à celle de noyau semicarbazide. Cette activité peut être due au caractère lipophile des composés de la série III qui franchissent la paroi bactérienne.

Le plus puissant antibactérien exposé par le composé c_1 pourrait être due à la présence du substituant attracteur d'électrons fort deux groupements amine sur le côté de la benzylidèneamino 1,3,4-thiadiazole. Alors que d'autres composés, bien qu'ils contiennent des

groupes attracteurs d'électrons faibles comme le brome, le chlore et électron dans un groupe comme hydroxy faible activité antimicrobienne.

Selon le concept de d'Overtone (Hunoor *et al.*, 2010) de la perméabilité de la cellule, la membrane lipidique qui entoure la cellule favorise le passage des matières lipidiques solubles en raison de laquelle la liposolubilité est un facteur important qui contrôle l'activité antibactérienne. De plus, l'augmentation de la délocalisation des électrons dans le noyau benzenique améliore le caractère lipophile. La croissance de la lipophilicité à son tour augmente la possibilité aux composés de pénétrer dans les membranes lipidiques et bloque les sites actifs des liaisons métalliques sur l'enzyme de microorganisme.

Ainsi, les substituants et les fonctions existantes dans les différents composés synthétisés ont différents effets contre différentes bactéries. Les résultats ci-dessus montre que les fonctions thiol (SH), semicarbazide(C=S) et hydroxyl (OH) dans le composé c₂, c₁ et a₁ respectivement étaient efficaces contre la pluparts des souches bactériennes étudiées.

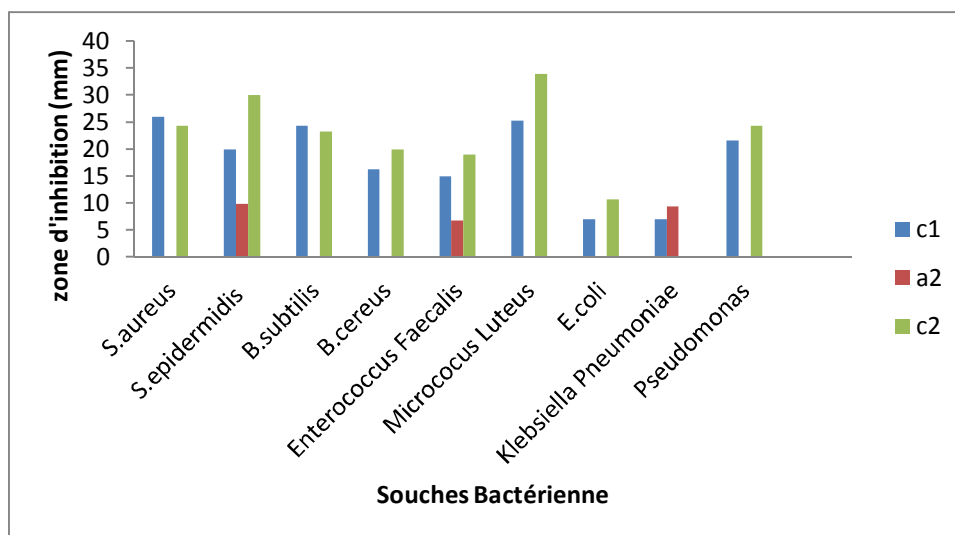


Figure 22: Les zones d'inhibition des produits c₁, c₂ et a₂ vis-à-vis les différentes souches bactériennes.

A partir des résultats de coefficient d'activité A, on note que le coefficient d'activité de l'antibiotique est plus grand que le coefficient d'activité A de nos ligands base de Schiff.

À partir des travaux de Youssef et ses collaborateurs (2011), Le composé 1,2,4,5-tétra-[5-(4-nitrobenzylideneamino)-1,3,4 thiadiazole-2yl] benzène a été trouvé à exposer la plus activité antimicrobienne contre *S. aureus* ATCC-9144, *S. epidermis* ATCC-155, *M. luteus* ATCC-4698, *B. cereus* ATCC-11778, *E. coli* ATCC-25922.

Malladi et ses collaborateurs (2013), Une nouvelle série de bases de Schiff à base de pyrazole, 4 - [(3-substitué-1H-pyrazole-3-yl)-méthylèneamino]-5-substitué-4H-1,2,4-triazole-3-thiols, a été synthétisées et criblées pour la taille une activité antibactérienne contre souches microbiennes *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *E. coli*. À partir des résultats de Malladi et ses collaborateurs (2013), les composés s'avèrent également aussi actif contre *B. subtilis*, *E. Coli* et plus active contre *S. aureus*.

4.2. Activité antioxydante

A la recherche d'une potentielle classe de composés de piégeage de radical libre DPPH[•], les composés a₁, a₂, a₃, b₁, b₂, b₃, c₁, c₂, c₃ ont été sélectionnés pour mesurer l'activité de piégeage de ce radical libres *in vitro*. Ces composés ont montré des degrés variés de l'activité de piégeage de radical DPPH[•] et leurs valeurs d'IC₅₀ entre 6 variables 1.458 et 2.228 (µg/ml) comme il est montré dans le tableau suivant:

Tableau 12: Les valeurs de l'IC₅₀ ± SEM de différents ligands bases de Schiff synthétisés.

Les bases de Schiff	IC ₅₀ (µg/ml)
a ₁	1,458 ± 0.00023
c ₂	1,485 ± 0.00078
b ₁	1,87 ± 0.00052
a ₃	1,979 ± 0.00020
c ₁	2,036 ± 0.000033
b ₃	2.228 ± 0.00018
Acide Ascorbique	1.126 ± 0.19
BHT	3.204 ± 3.541

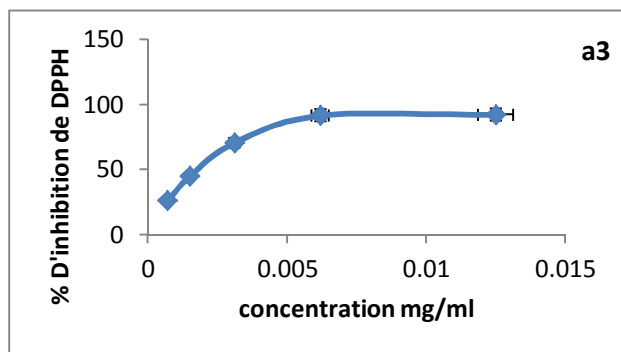


Figure 23: Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de (a_3)

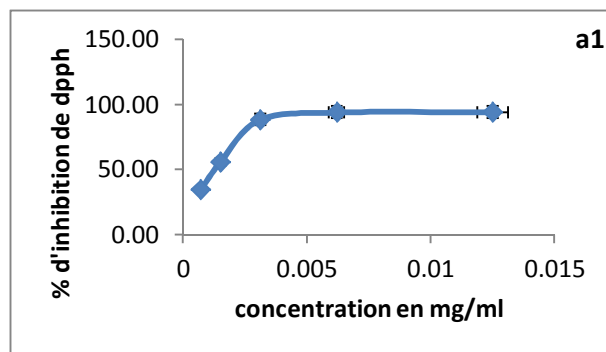


Figure 24: Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de a_1

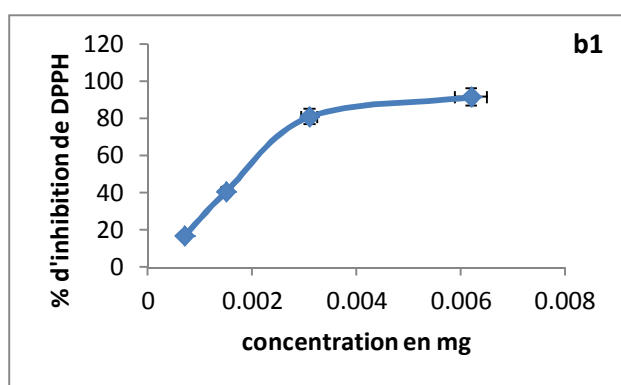


Figure 25: Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de (b_1)

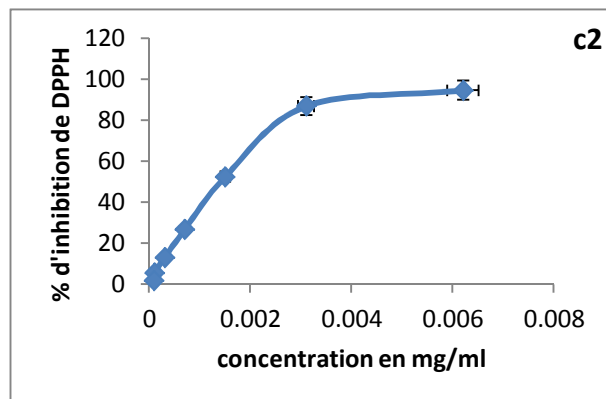


Figure 26: Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de c_2

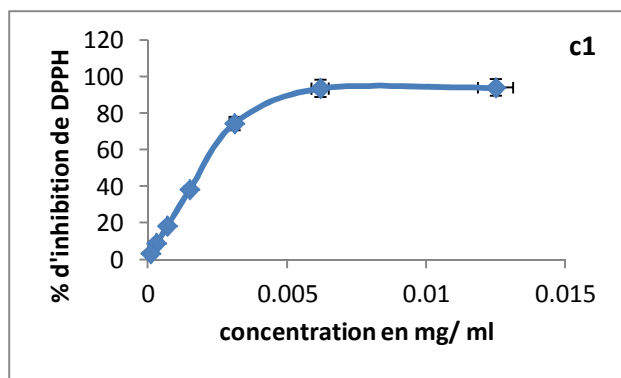


Figure 27: Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de (c_1)

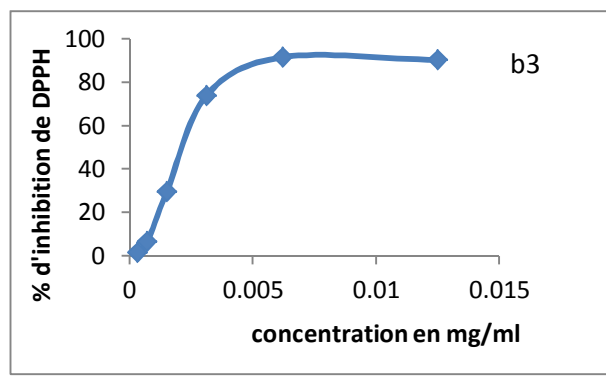


Figure 28: Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de différentes concentrations de b_3

D'après les résultats obtenus , on remarque que:

- Les composés qui possèdent une activité antioxydante plus élevées sont: a₁ (1.458 µg/ml); c₂ (1.485 µg/ ml) et b₁ (1.87 µg/ ml).
- Les composés qui ayant une activité antioxydante modérée sont: a₃ (1.779 µg/ml), b₃ (2.228 µg/ml) et c₁(2.228 µg/ml).
- Les composés a₁ (IC₅₀ = 1.458µg/ml), c₂ (IC₅₀ = 1.485µg/ml), b₁ (IC₅₀ =1.87 µg/ml), et a₃ (IC₅₀ = 1.979 µg/ml), ont montré des valeurs d'IC₅₀ beaucoup mieux que l'antioxydant de référence BHT (IC₅₀ = 3.204 µg/mL) et plus proche que celle de l'acide ascorbique (IC₅₀ = 1.126 ± 0.19µg/mL) en terme de concentration massique. Les composés C1 (IC₅₀ = 2.036 µg/ml) et b₃ (IC₅₀ = 2.228 µg/ml) montrent des valeurs d'IC₅₀ modérées par rapport à la valeur standard. Les composés b₂, a₂ et c₃ révèlent des pourcentage d'inhibitions moins de 50% .

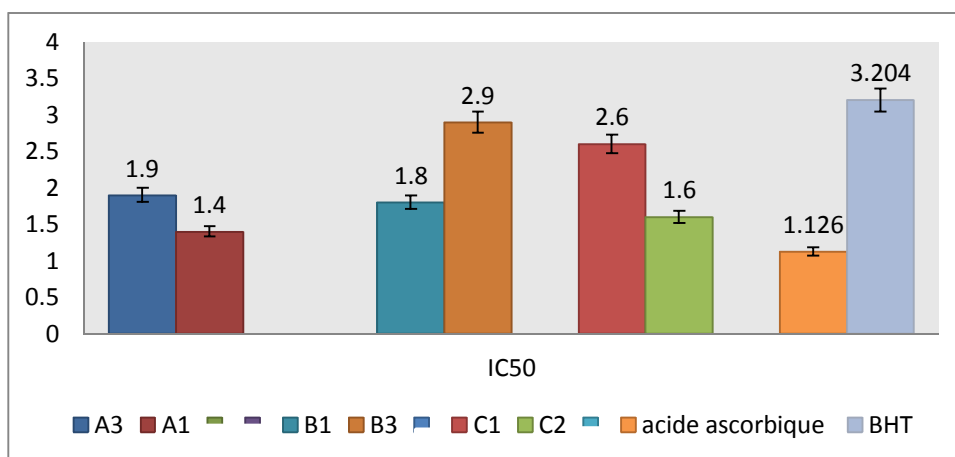


Figure 29: Histogramme des valeurs de l'IC₅₀ des différentes bases de Schiff avec le BHT et l'acide ascorbique en µg/ml.

Les composés a₁, a₃ et b₁ montrent des activités plus élevées que celles des autres composés, ceci est probablement dû à la présence de deux groupements hydroxyle qui jouent un rôle stabilisant des radicaux d'ions phénoxyde.

D'autre part, le composé b₃ possède une activité faible par rapport à leurs analogues dihydroxy hydrazone qui sont probablement en raison de leur faible stabilisation des radicaux d'ions phénolate.

-Enfin, les composés b₂ et a₂ sont les composés les moins actifs ceci peut être dû à l'effet donneur d'électrons du groupement OH.

Comparaison par Série:

La série I le composé a1 a une meilleure activité antioxydante par rapport au composé a₃.

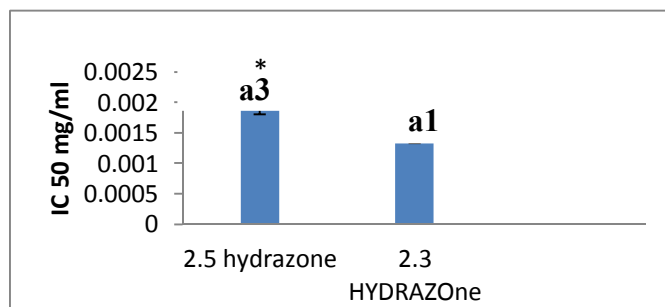


Figure 30: Comparaison des valeurs de l'IC₅₀ de la serie I (a₃, a₁).

Il ya une différence significative entre le composé a₃ et a₁ avec $p < 0.05$

- Dans la série II le composé b1 a une meilleure activité antioxydante par rapport au composé b₃

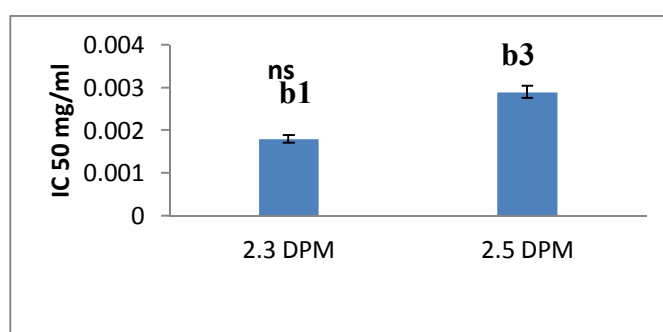


Figure 31: Comparaison des valeurs de l'IC₅₀ de la serie II (b₃, b₁).

Il n'ya aucun différence significative entre le composé b₃ et b₁ avec $p < 0.05$.

- Dans La série III le composé c2 a une meilleure activité antioxydante par rapport à c₁.

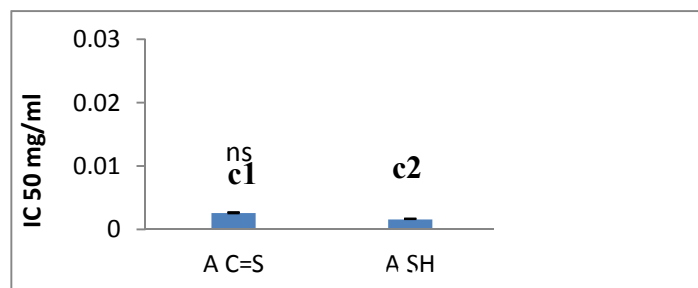


Figure 32: Comparaison des valeurs de l'IC₅₀ de la serie III (c₁ et c₂).

Il n'ya aucune difference significative entre le composé c₁ et c₂ avec $p > 0.05$.

Selon les travaux de Bala et ces collaborateurs (2012), l'activité antioxydante de l'ensemble des composés synthétisés confirme que le groupe 4-hydroxy ne possède pas une telle activité.