

SYNTHESE ET ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DE NOUVEAUX DERIVES PYRIDAZINIQUES N-ALKYLES

FADEL OUAHIBA¹, CHELFI TAREK¹, Said ABOURICHA¹, Zahra LAMZIRA²,
Nour-Eddine BENCHAT*¹ et Abdeslam ASEHRAOU²

¹ Laboratoire de Chimie Appliquée et Environnement (LCAE). Faculté des Sciences, Oujda, 60000, Maroc.

² Laboratoire de Biologie des Plantes et des Microorganismes, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Oujda, 60000, Maroc.

(*Correspondance : Email : n_Benchat@yahoo.fr

RESUME

De nouveaux dérivés de la pyridazin-3-ones et 3-thiones substitués en position 2 par des chaînes latérales alkyles ont été synthétisés et évalués pour leur activité antimicrobienne *in vitro*. Les structures de ces nouveaux dérivés pyridaziniques ont été confirmées par spectroscopie IR, RMN et par les analyses élémentaires. Certains de ces nouveaux produits ont montré d'intéressantes activités antibactériennes en particulier contre les souches à gram positif.

Mots clés : Pyridazin-3-ones, pyridazin-3-thiones, alkylation, activité antibactérienne.

ABSTRACTS

A series of pyridazin-3-ones and 3-thiones substituted in the 2-position by alkyl side chains was synthesized and evaluated for *in vitro* antimicrobial activity. The structures of these new pyridazine derivatives were confirmed by IR, NMR spectra and by elementary analysis. Some of these new products showed potent inhibitory action against Gram-positive bacteria.

Keywords: Pyridazin-3-ones, pyridazin-3-thiones, alkylation, antibacterial activity.

INTRODUCTION

Depuis longtemps les pyridazines font l'objet de plusieurs études chimiques et biologiques. Hakim et Bysouth (1972) ont étudié une série de composés qui ont révélé une activité antihypertensive. D'autres auteurs Coates et al. (1973) ont montré que ces composés ont une activité sur le système nerveux central.

La progression importante des infections microbiennes, les pertes économiques dues aux altérations des aliments d'origines microbiennes ne cessent d'augmenter au fil du temps. En plus les intoxications alimentaires ainsi que les épidémies qui en résultent posent de plus en plus de problèmes de santé publique à l'échelle mondiale. D'autant plus, la résistance des microorganismes aux agents antimicrobiens chimiques (antibiotiques, conservateurs des aliments...) ne cesse d'augmenter. Ainsi, la mise au point de nouvelles molécules bioactives s'avère indispensable, afin de lutter contre ce fléau de résistance. Les efforts ont été orientés principalement vers l'étude de la réactivité du carbone de la pyridazine, la fonctionnalisation et la synthèse des pyridazines bioactives à visées thérapeutiques ou phytosanitaires.

Dans cette optique nous nous sommes intéressés à la synthèse de nouveaux dérivés de la 5-arylméthyl-6-méthyl pyridazin-3-ones : **I** et de la 6-méthyl-4,5-dihydro-2H-pyridazi-3-one : **II** Schéma 1 en mettant à profit la grande réactivité de sa fonction lactame vis-à-vis des réactions d'alkylations et de sulfuration Taoufik et al. (1984), Delmasure et al. (1983).

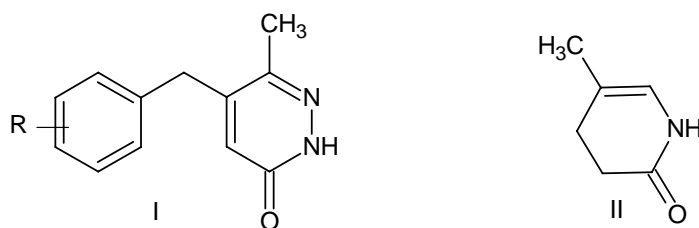


Schéma 1

MATERIEL ET METHODES

1- Méthodes de synthèse des dérivés pyridaziniques

1-1- Préparation du 6-méthyl-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-one **5a**.

Ce composé a été préparé selon la méthode décrite dans la littérature Lespagnol et al (1962) . A une solution d'acide lévulinique **1a** (0,086 moles, 10 g) dans l'éthanol (50 ml), nous avons ajouté 0,086 moles (4.3 g) d'hydrazine monohydraté. Le mélange est agité pendant 4 heures à reflux. Après refroidissement le précipité obtenu est filtré et lavé à l'éther de pétrole. On obtient le composé **5a**.

Rdt %: 65, Solide blanc

PF (°C) = 75–77.

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2.05 (m, 2H, CH₂), 2.12 (s, 3H, CH₃), 2.48(m, 2H, CH₂), 8.71(s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 22.9 (CH₃), 25.9(CH₂), 26.1 (CH₂), 152.9 (C-6), 167.2 (CO).

Analyse élémentaire pour C₅ H₈ N₂ O. Calc: %C: 53.56; %H: 7.19; %N: 24.98. Tr: %C: 53.48; %H: 7.22; %N: 24.94.

1-2- Préparation du 6-phényl-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-one **5b**.

Ce composé a été préparé selon la méthode décrite dans la littérature Lespagnol et al (1962). A une solution d'acide β-benzoylpropionique **1b** (0.039 moles, 7 g) dans l'éthanol (40 ml), nous avons ajouté 0,039 moles (1,95 g) d'hydrazine monohydraté. Le mélange est agité pendant 4 heures à reflux. Après refroidissement le précipité obtenu est filtré et lavé à l'éther de pétrole. On obtient le composé **5b**.

Rdt% = 90

PF (°C) = 140-142.

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2.61 (m, 2H, CH₂); 2.98 (m, 2H, CH₂); 7.68 (m, 3H); 7.73 (m, 2H); 9.3 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 22.6 (CH₂); 26.3 (CH₂); 125.9 (2CH); 128.7 (2CH), 129.9 (CH); 150.7 (C-6), 167.65 (C=O).

Analyse élémentaire pour C₁₀ H₁₀ N₂ O. Calc: %C: 68.96; %H: 5.74; %N: 16.09, %O : 9.19. Tr: %C: 68.95; %H: 5.79; %N: 16.08, %O : 9.18.

1-3 - Procédure générale pour la préparation de Thiopyridazines.

Les produits 4, 7a 7b ont été préparés in situ par catalyse de transfert de phase solide-liquide (C TP) Lespagnol et al, (1962) ; Benchat et al, (2007). Nous avons solubilisé 0.035 moles de pyridazine (composé 3, 5a ou 5b) dans un minimum de tétrahydrofurane (5 ml), ensuite on a ajouté 0,065 moles de pentasulfure de phosphore. Le mélange a été placé dans un tube de pyrex et introduit dans un réacteur micro-onde de type monomode (Maxidigest MX 350 Prolabo) équipé d'un système de rotation. À la fin de l'irradiation (10 minutes à 90 W de puissance), le mélange est refroidi et le précipité obtenu est recristallisé dans l'éthanol.

Composé 4

Rdt %: 85 (solide jaune)

PF (°C) = 160-165.

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2.38 (s, 3H, CH₃); 3.95 (2H, CH₂); 4.2 (t, 2H, CH₂); 4.4 (t, 2H, CH₂), 6.38 (s, 1H, H-4); 7.3 (1H, CH-Ph), 7.4 (1H, CH-Ph), 7.49 (1H, CH-Ph).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 19.4 (CH₃); 35.87 (CH₂); 54.6 (CH₂-N1); 61.59 (CH₂-OH); 127.6 (CH-3), 127.59, 129.18, 130.14, 131.28 (4CH-Ar), 133.9 (C-Cl), 134.55 (C-CH₂), 144.97 (C-4), 145.7 (Cq), 192.58 C=S).

Composé 7a

Rdt %: 80 (solide jaune)

PF (°C) = 127-129.

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2.10 (s, 3H, CH₃), 2.36 (m, 2H, CH₂), 2.90 (m, 2H, CH₂), 10.75 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 23.8 (CH₃), 24.3 (CH₂), 33.5 (CH₂), 158.7 (C-6), 193.4 (C=S).

Analyse élémentaire pour C₅ H₈ N₂ S. Calc: %C: 46.85; %H: 6.29; %N: 21.85. Tr: %C: 46.90; %H: 6.25; %N: 21.89.

Composé 7b

Rdt%: 80 (solide jaune)

PF (°C) = 156-158.

RMN ¹H (CDCl₃): 2.85 (m, 2H, CH₂), 3.06 (m, 2H, CH₂), 7.51(m,3H), 7.78(m,2H), 10.72 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃): 20.9 (CH₂), 33.8 (CH₂), 126.1(2CH), 128.8(2CH), 130.7(CH), 142.0©, 155.5 (C-6), 194.0 (C=S).

Analyse élémentaire pour C₁₀ H₁₀ N₂ S. Calc: %C: 63.13; %H: 5.30; %N: 14.72. Tr: %C: 63.19; %H: 5.26; %N: 14.68.

1-4- Préparation 5-(o-chlorobenzylidene)-6-méthylpyridazin-3-one 2.

A un mélange d'acide lévulinique (0,01 moles) et de o-chlorobenzaldehyde (0,01 moles) dans l'éthanol (30 ml) on barbote de l'acide chlorydrique pendant 24h à température ambiante. Le résidu obtenu est traité avec 50 ml d'eau et extrait avec du dichlorométhane et séché sur sulfate de sodium anhydre. Après évaporation du solvant sous vide on ajoute au résidu obtenu 0,01 moles l'hydrate d'hydrazine. Ce mélange est agité à reflux pendant 4 heures. Après refroidissement le précipité est filtré. On obtient le 5-(o-chlorobenzylidene)-6-méthylpyrisazin-3-one.

Rdt% = 83.

PF (°C) = 209-211

RMN ¹H (CDCl₃): δ 2.32 (s, 3H, CH₃); 3.7 (s, 2H, CH₂); 6.33 (s, 1H, H-4); 7.3 (m, 4H, Hph), 11.9 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (CDCl₃): δ 19.03 (CH₃); 36.08 (CH₂); 108.4 (Cq-Cl); 127.45 (CH-4), 127.59, 129.08, 130.08, 131.1(4CH-Ar), 133.7 (Cq), 145.65 (Cq-5), 146.04(Cq-6), 162.49 C=O).

IR (KBr) ν cm⁻¹ 3100 (NH), 1660 (C=O), 1600 (C=N).

Analyse élémentaire pour C₁₂ H₁₁Cl N₂ O. Calc: %C: 61.41; %H: 4.72; %Cl: 15.11, %N: 11.94, %O: 6.82. Tr: %C: 61.35; %H: 4.68; %Cl: 15.13, %N: 11.93, %O: 6.81.

1-5- Préparation des composés 6a et 6b :

A une solution dans le THF de 8,93 10⁻³ moles de 6-méthyl ou 6-phényl-4, 5dihydropyridazin-3(2H)-one (respectivement les composés 5a et 5b) on ajoute 8,93 10⁻³ moles de carbonate de potassium et 0,001 mole de bromure de tetrabutylammonium (BTBA). La solution ainsi obtenue est agitée pendant 1 heure à reflux. Après refroidissement on ajoute 0,01 moles d'iodure de méthyle et on continue l'agitation pendant six heures. Après filtration et évaporation du solvant le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant comme éluant le dichlorométhane.

2, 6-diméthyl-4,5-dihydro-2H- pyridazin-3-one 6a:**Rdt%**: 47, (solide blanc)**PF (°C)** = 66-70**RMN ¹H (CDCl₃)**: δ 1.94 (s, 3H, CH₃), 2.2 (m, 2H, CH₂), 2.4(m, 2H, CH₂), 3.4(s, 3H, CH₃).**RMN ¹³C (CDCl₃)**: δ 22.4 (CH₃), 25.3 (CH₂), 25.7 (CH₂), 36,2 (CH₃), 151.9 (C-6), 166.7 (CO).**Analyse élémentaire pour C₆ H₁₀ N₂ O**. Calc: %C: 53.56; %H: 7.19; %N: 24.98. Tr: %C: 57.12; %H: 7.99; %N: 22.20, %O: 12.68.**2-méthyl-6-phenyl-4,5-dihydro-2H- pyridazin-3-one 6b:****Rdt%** = 47.**PF (°C)** = 88-92**RMN ¹H (CDCl₃)**: δ 2.56 (m, 2H, CH₂); 2.95 (m, 2H, CH₂); 3.45 (s, 3H, CH₃) 7.42 (m, 3H); 7.73 (m, 2H).**RMN ¹³C (CDCl₃)**: δ 22.58 (CH₂); 26.35 (CH₂); 36.78 (CH₃) 125.8 (2CH); 128.63 (2CH), 129.4 (CH); 129.78 (C), 150.54 (C-6), 167.6 (C=O).**Analyse élémentaire pour C₁₀ H₁₀ N₂ O**. Calc: %C: 70.21; %H: 6.38; %N: 14.89, %O : 8.51. Tr: %C: 70.19; %H: 6.43; %N: 14.88, %O: 8.50.**1-6- Préparation of 5-(2-chlorobenzyl)-2-(2-hydroxyéthyl)-6-méthylpyridazin-3(2H)-one 3.**

La méthode de préparation du composé 3 est la même que celle effectuée pour les composés 6a, 6b. A une solution de 5-(o-chlorobenzylidene)-6-méthylpyridazin-3-one 2 (7g, 2.97 10⁻² moles) dans 60 ml de tétrahydrofurane (THF), on ajoute le carbonate de potassium (4.11g, 2.97 10⁻² moles) et 0.002 moles de bromure de tétrabutylammonium (BTBA). La solution ainsi obtenue est agitée pendant 1 heure à reflux. Après refroidissement on ajoute un petit excès de 2-Bromoethanol (3.75g, 3 10⁻³ moles) et le mélange porté à reflux pendant huit heures. Après filtration et évaporation du solvant le résidu est purifié par recristallisation dans l'éthanol.

Rdt% = 74.**PF (°C)** = 64-66.

RMN ^1H (CDCl_3): δ 2.35 (s, 3H, CH_3); 3.9 (2H, CH_2); 4(t, 2H, CH_2); 4.35 (t, 2H, CH_2), 6.35 (s, 1H, H-4); 7.2 (1H, CH-Ph), 7.3 (1H, CH-Ph), 7.45 (1H, CH-Ph).

RMN ^{13}C (CDCl_3): δ 19.2 (CH_3); 35.77 (CH_2); 54.5 ($\text{CH}_2\text{-N1}$); 61.53 ($\text{CH}_2\text{-OH}$); 127.5 (CH-3), 127.56, 129.17, 130.13, 131.26 (4CH-Ar), 133.84 (C-Cl), 134.5 (C- CH_2), 144.9 (C-4), 145.3 (Cq), 161.58 C=O).

Analyse élémentaire pour $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{Cl N}_2\text{O}_2$. Calc: %C: 60.33; %H: 5.42; %Cl: 12.72, %N: 10.05, %O: 11.48. Tr: %C: 60.27; %H: 5.38; %Cl: 12.73, %N: 10.04, %O: 11.48.

2- Mesure de l'activité antimicrobienne des composés synthétisés

2-1- Test de screening

La mise en évidence de l'activité antimicrobienne des composés synthétisés a été étudiée en premier lieu par le test de screening sur des souches microbiennes isolées de différents biotopes et présentant différents intérêts (Tableau I).

Ce test a été réalisé par la méthode des disques en boîtes de pétri. Il consiste à déposer des disques de papier filtre whatman de 0,6cm de diamètre, stériles et imprégnés des composés étudiés, sur le milieu de culture gélosé ensemencé auparavant par inondation par une culture microbienne jeune. Les composés étudiés sont ceux synthétisés auparavant.

Les milieux de culture utilisés sont le milieu Mueller Hinton pour les bactéries à Gram négatif et *Bacillus*, le milieu De Mane Rogosa et Sharpe (MRS) pour *Pediococcus* et le milieu Potato-Dextrose-Agar (PDA) pour les levures et les moisissures. L'incubation a été réalisée à 30°C pendant 48 heures pour les bactéries, 25°C pendant 3 à 4 jours pour les levures et 25°C pendant une semaine pour les moisissures.

La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de l'auréole d'inhibition développée autour des disques.

TABLEAU I : Souches microbiennes utilisées dans ces tests d'activité antimicrobienne

Souches microbiennes	Type	Origine
Groupe 1		
<i>E. col</i> S1	bactérie	Viande de Poulet
<i>Salmonella sp</i> S2	bactérie	Viande de Poulet
<i>Shigella sp</i> S3	bactérie	Viande de Poulet
<i>Klebsiella pneumoniae</i> S4	bactérie	Viande de Poulet
<i>Pseudomonas sp</i> S5	bactérie	Viande de Poulet
<i>Enterococcus sp</i> S6	bactérie	Viande de Poulet
<i>Staphylococcus aureus</i> S7	bactérie	Viande de Poulet
Groupe 2		
<i>Pediococcus sp</i> S1	bactérie	Olives fermentées
<i>Pichia anomala</i> S2	Levure	Olives fermentées
<i>Debaryomyces hansenii</i> S3	Levure	Olives fermentées
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S4	Levure	Olives fermentées
<i>Bacillus sp</i> S5	bactérie	Olives fermentées
Groupe 3		
<i>Bacillus citrulans</i> S1	bactérie	Oranges
<i>Bacillus megaterium</i> S2	bactérie	Oranges
Groupe 4		
<i>Fusarium oxysporum fsp albedinis</i> S1	moisissure	Palmier dattier
<i>Fusarium oxysporum fsp albedinis</i> S2	moisissure	Palmier dattier

2-2- Mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI a été mesurée pour les composés chimiques qui ont montré une activité antimicrobienne lors du test de screening. La méthode utilisée est celle des tubes utilisant un milieu de culture liquide.

La solution mère du composé, qui a été préparée en utilisant le DMSO comme émulsifiant, a été stérilisée par filtration sur membrane millipore 0,45µm. A partir de cette solution mère, des dilutions successives du composé ont été préparées dans le milieu de culture liquide correspondant, qui a été stérilisé à l'avance à 121°C/15

minutes. Ces dilutions successives sont ensuite ensemencées par des cultures jeunes (âgées de 18 heures) préparées auparavant sur le même milieu de culture du test de mesure de la CMI. Le volume final de la culture en tube est de 4 ml.

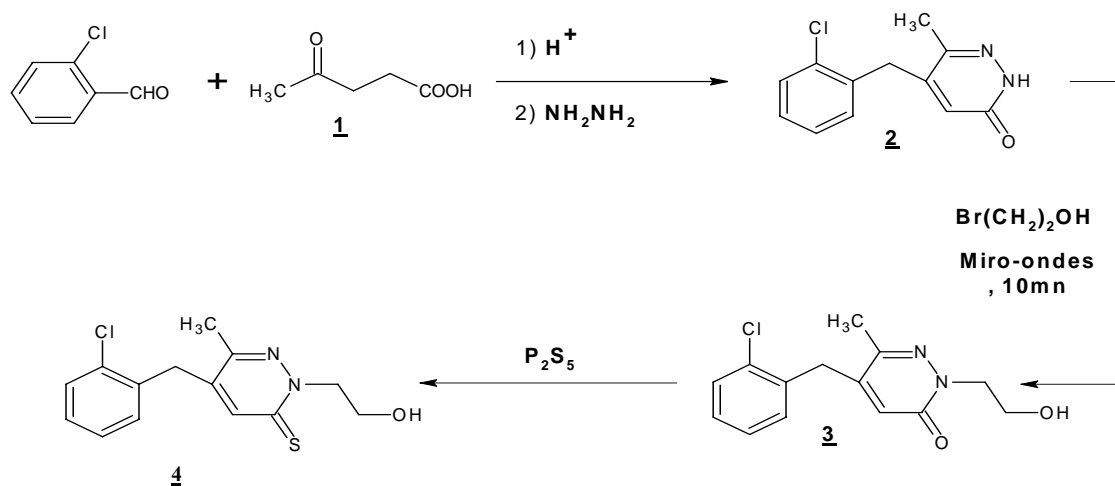
Les milieux de culture ainsi que les conditions d'incubation utilisés dans cette partie sont les mêmes que ceux utilisés lors du test de screening.

La lecture des résultats se fait par l'observation du développement du trouble microbien dans le milieu de culture. Un tube est considéré positif quand il développe un trouble microbien.

RESULTATS & DISCUSSION

1- Méthodes de synthèse des dérivés pyridaziniques

Les réactions de synthèse sont menées dans les conditions de la catalyse par transfert de phase (CTP). Nous avons opéré avec le tétrahydrofurane comme solvant en présence de carbonate de potassium et de bromure de tétra-n-butylammonium (BTBA) comme catalyseur. Les agents d'alkylation utilisés sont le sulfate de diméthyle (ou l'iodure de méthyle) ainsi que bromoéthanol. Dans tous les cas, seul l'atome d'azote de la fonction lactame est affecté, conduisant aux composés N-alkylés. Dans tous les cas, nous avons pu isoler les produits normalement attendus avec des rendements appréciables (50% - 70 %). Nous avons ainsi obtenu de nouveaux composés : le 6-méthyl-4,5-dihydro-2H-pyridazin-3-one : **2** ; le 5-(2-chlorobenzyl)-2-(2-hydroxyéthyl)-6-méthylpyridazin-3(2H)-one : **3** , schéma 2.



Poursuivant notre travail sur l'étude de la réactivité de dérivés pyridaziniques, il nous a semblé intéressant de les soumettre à l'action du pentasulfure de Phosphore Lespagnol et al, (1962) ; De la Hoz et al. (2005) ; Benchat et al, (2007). Nous avons ainsi utilisé la pyridine comme solvant (schéma 2). Dans tous les cas, nous avons pu isoler les produits normalement attendus avec des rendements appréciables (70-80 %). Nous avons ainsi obtenu de nouveaux composés : le 6-méthyl-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-thione : **7a** et le 6-phényl-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-thione **7b**, schéma 3.

La grande réactivité de la fonction lactame nous a donc permis de préparer de nouveaux dérivés de la pyridazin-3-one.

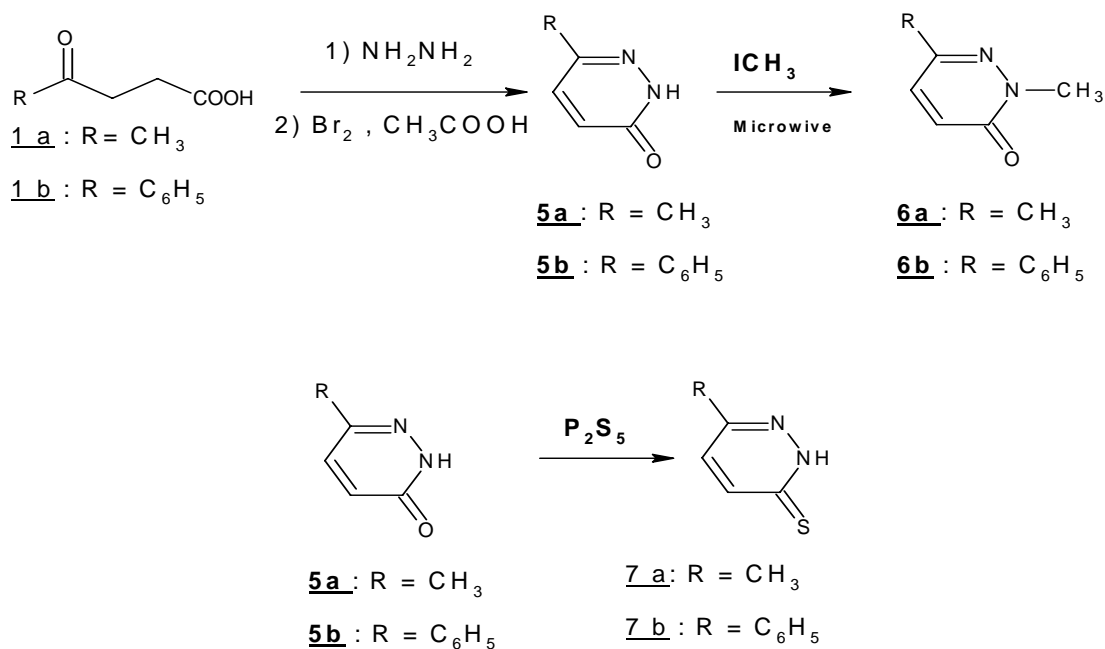


Schéma 3

Dans tous les cas les composés 3-7 sont obtenus avec des bons rendements. Les structures des pyridazinones sont identifiées par RMN ^1H (300 MHz) et RMN ^{13}C (75MHz).

Le spectre du composé 3 montre deux triplets vers 4.35 ppm et 4 ppm du substituant méthyle alcool.

L'alkylation des composés 5a ou 5b par le méthyle montre en RMN protonique la disparition du signal de l'amine et l'apparition d'un singulet du méthyl vers 3.4 ppm.

2- Activité antimicrobienne des dérivés pyridaziniques

2-1 test de screening

Le test de screening a permis de mettre en évidence l'activité antimicrobienne chez les composés 3, 5b et 7a (Tableau II). Les autres composés (5a, 6a et 6b) n'ont pas montré d'auréole d'inhibition des souches microbiennes testées et par conséquent pas d'activité antimicrobienne. Les souches de *Fusarium* ont montré une résistance à tous les composés étudiés.

Tableau II : Test de screening de l'activité antimicrobienne des composés pyridaziniques (Légende: les valeurs correspondent au diamètre (Cm) de l'auréole d'inhibition, 0 : pas d'auréole d'inhibition).

Souches microbiennes	Auréoles d'inhibitions (cm) des Composés chimiques					
	3	5b	6b	5a	6a	7a
Groupe 1						
<i>Escherichia coli</i> S1	0,8	0,8	0	0	0	1
<i>Salmonella sp</i> S2	0,9	0	0	0	0	1,2
<i>Shigella sp</i> S3	1	0	0	0	0	1,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> S4	1,1	0	0	0	0	1
<i>Pseudomonas sp</i> S5	0,8	0	0	0	0	1,4
<i>Enterococcus sp</i> S6	2	1,8	0,8	0,7	0,7	1,3
<i>Staphylococcus aureus</i> S7	0,8	0,7	0	0	0	1
Groupe 2						
<i>Pediococcus sp</i> S1	0,9	0,7	0	0	0	1,1
<i>Pichia anomala</i> S2	0,9	0,8	0	0	0	1,6
<i>Debaryomyces hansenii</i> S3	1	0,8	0	0	0	2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S4	1,3	1,5	0,7	0	0	2,4
<i>Bacillus sp</i> S5	1	0	0	0	0	1
Groupe 3						
<i>Bacillus citrulans</i> S1	1	0,9	0	0	0	0,8
<i>Bacillus megaterium</i> S2	0,8	0,8	0	0	0	0,8
Groupe 4						
<i>Fusarium oxysporum fsp albedinis</i> S1	0	0	0	0	0	0
<i>F.o. albedinis</i> S2	0	0	0	0	0	0

Le composé **7a** a montré de grandes auréoles d'inhibition que les deux autres composés actifs (**3** et **5b**).

Le composé de départ de notre synthèse, qui est le **5a**, n'a pas montré d'activité antimicrobienne. Le remplacement au C3 de l'oxygène par le soufre (composé **7a**) a permis de développer une grande activité antimicrobienne sur toutes les bactéries et les levures testées.

La méthylation du composé **5a** (composé **6a**) n'a pas permis de développer une activité antimicrobienne chez ce composé. D'autant plus qu'elle a entraîné une élimination de l'activité chez le composé **5b** (composé **6b**). Chez ces molécules pyridaziniques, la méthylation élimine et ne développe pas d'activité antimicrobienne.

L'ajout au C6, du composé **5a**, du radical phényle (composé **5b**) au lieu du méthyle a entraîné le développement d'une activité antimicrobienne surtout sur les levures et les bactéries à Gram positif.

Le composé **3**, présentant un groupement OH, a montré une grande activité antimicrobienne surtout sur les bactéries à Gram négatif en particulier *Salmonella*, *Shigella* et *Klebsiella*, qui présentent un risque pour la santé de l'Homme.

Si on suppose que la diffusion de ces composés est la même dans les milieux de culture (milieux aqueux), le composé **7a** s'est avéré plus actif que les deux autres (**3** et **5b**). En effet, les bactéries à Gram négatif (S2, S3, S4 et S5 du Groupe 1) sont plus sensibles à **7a** que **3**, alors qu'elles sont résistantes à **5b**. Pour les bactéries à Gram positif et les levures, les auréoles d'inhibition obtenues avec le **3** et **5b** sont comparables, alors que celles obtenues avec le composé **7a** sont nettement supérieures, surtout pour les levures (S2, S3 et S4 du groupe 2).

2-2 Mesure de la CMI

La mesure de la CMI a été faite pour les composés **3** et **7a** qui ont montré une grande activité antimicrobienne. Les résultats obtenus sont indiqués sur le tableau III.

Pour les bactéries pathogènes du groupe 1, en particulier *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* et *Klebsiella*, le composé **3** a montré une CMI plus faible que celle du composé **7a**. Cependant, pour le reste des souches microbiennes la CMI du composé **7a** est plus petite que celle du composé **3**.

Ainsi le composé **3** pourrait être utilisé à des fins thérapeutiques contre les bactéries à Gram négatif. Alors que le composé **7a** pourrait être utilisé dans le domaine médical contre les bactéries à Gram positif, ainsi que le domaine agricole et industriel contre les levures et les *Bacillus*, connus par leur implication dans l'altération des aliments.

Tableau III : Mesure de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI en µg/ml) des composés chimiques testés.

Souches microbiennes	CMI (µg/ml) des Composés chimiques	
	Composé 3	Composé 7a
Groupe 1		
<i>Escherichia. Coli</i> S1	2000	>2000
<i>Salmonella sp</i> S2	>2000	>2000
<i>Shigella sp</i> S3	1000	>2000
<i>Klebsiella pneumoniae</i> S4	2000	>2000
<i>Pseudomonas sp</i> S5	2000	500
<i>Enterococcus sp</i> S6	1000	250
<i>Staphylococcus aureus</i> S7	1000	500
Groupe 2		
<i>Pediococcus sp</i> S1	500	250
<i>Pichia anomala</i> S2	1000	250
<i>Debaryomyces hansenii</i> S3	500	250
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S4	1000	500
<i>Bacillus sp</i> S5	1000	250
Groupe 3		
<i>Bacillus citrulans</i> S1	1000	250
<i>Bacillus megaterium</i> S2	1000	500

CONCLUSION :

L'activité antimicrobienne de ces composés a été étudiée sur des souches microbiennes d'intérêts médical, alimentaire, industriel et agricole. Le test de screening,

réalisé par la méthode des disques sur six composés pyridaziniques, a permis de mettre en évidence une activité antimicrobienne des composés **3**, **5b** et **7a**. La mesure de la CMI des composés les plus actifs (**3** et **7a**) a montré leur grande efficacité, surtout pour le composé **7a**, sur les bactéries Gram positif (*Bacillus*, *Pediococcus*) et les levures, qui ont un intérêt alimentaire et industriel. Par contre pour les bactéries Gram négatifs, qui ont un intérêt hygiénique (*E. coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*), l'activité antimicrobienne mesurée est faible. Ceci ouvre la voie à une utilisation possible de ce composé **7a** comme conservateur des oranges contre les altérations dues à *Bacillus* et aux levures, qui se sont montrés les plus sensibles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Hakim M.A., Bysouth PT. Activité antihypertensive en série pyridazine (1972).**
Brevet allemand 2,207,512 .
- Coates W.J., Roe A.M., Slatrer R (1973).** A relation structure activité en série hydrazinopyridazinique . Brevet anglais 1,448,330 (Chem Abs 88 :152654W1978).
- Taoufik J., Couquelet J. D et Couquelet J. M synthèse en série pyridazinique. (1984),** *J. Heterocyclic chem*, 21, 305-310.
- Delmas N. et Lassere B. obtention des thiohétérocycles (1983),** *Eur. J. Med. Chem.* 18, 4,301.
- Benchat, N.; Anafloos, A.; Abouricha, S.; Ramdani, M.; El Bali, B. (2007).**
N-ALKYLATION DES DERIVES PYRIDAZINES MOLBANK., M 530.
- Lespagnol A.; Deprey J. (1962)** DERIVES HYDRAZINO DE QUELQUES SERIES HETEROCYCLIQUES. , *Bull.Soc.Chim.Fr.*, 1117
- Kappe, C.O. et Dallinger, D. (2006)** , application des micoondes en série hétérocycliques. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5, 515