

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS-SÉTIF-1
FACULTÉ DE TECHNOLOGIE

THESE

Présentée au Département de Génie des Procédés

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière : GÉNIE DES PROCÉDÉS

Option : GÉNIE DES PROCÉDÉS PHARMACEUTIQUES

Par

MESBAH Mounira

THEME

**Synthèse, Caractérisation et Application Biologique
de Nouveaux Ligands Bases de Schiff et Leurs
Complexes métalliques.**

Soutenue le : / / Devant le Jury :

Merbah Elkolli Meriem	Professeur	U. F. ABBAS. Sétif 1	Présidente
Douadi Tahar	Professeur	U. F. ABBAS. Sétif 1	Directeur de thèse
Sahli farida	Professeur	U. F. ABBAS. Sétif 1	Co-directeur
Djedouani Amel	Professeur	ENS ,Constantine	Examinatrice
Mouas Toma Nardjes	MCA	Université Constantine 1	Examinatrice
Diafat Abdelouahab	MCA	Université BBA	Examineur

الملخص:

تم تحضير ثلاث مركبات جديدة من قواعد شيف (L1, L2, L3) عن طريق تفاعل التكثيف بنسبة 1:2 من 4,4-ديامينودينفيلسولفيد و بيرول / ثيوفين / فوران-2-كاربوكسالدهيد في الإيثانول. بنية المركبات المتحصل عليها تم التأكد منها بمساعدة تحليل العناصر ثم طرق التحاليل الطيفية المتعددة، الأشعة فوق البنفسجية، الأشعة تحت الحمراء طيف الرنين النووي للهيدروجين.

تم استخدام قواعد شيف المحضرة كسندات رباعية المخالب لتحضير معقدات المعادن Cu(II) و Co(II) أحادية و ثنائية النواة وفقا للنسب التالي معدن/ سائدة 1:1 و 2:1 تم التعرف على المعقدات (1، 2 و 3) من خلال تحليل العناصر و بواسطة طرق التحاليل الطيفية المتعددة، الأشعة تحت الحمراء، الأشعة فوق البنفسجية من ناحية أخرى تم دراسة الأنشطة المضادة للبكتيريا والمضادة للفطريات في المختبر لمركبات قاعدة شيف المحضرة باستخدام طريقة نشر القرص. أظهرت قواعد شيف المحضرة درجات متفاوتة من التأثيرات المثبطة على نمو الأنواع الميكروبية التي تم اختبارها.

وبالإضافة إلى ذلك، فإن المركبات الجديدة، $\text{PhN}=\text{N}-\text{C}(\text{COCH}_3)=\text{NC}_6\text{H}_4\text{R}$ {R= Cl(A), Br(B), CH₃(C), OCH₃(D) و R= H(E)}, تم اختبارها في المختبر لأنشطتها المضادة للبكتيريا باستخدام طريقة نشر القرص ضد الجرام إيجابية والسالبة الجرام البكتيريا. استنتج أن النشاط المضاد للبكتيريا يختلف تبعاً لهيكل المركب وحساسية السلالة.

الكلمات المفتاحية: قواعد شيف، ألدهيدات غير متجانسة، معدن، معقدات معدنية، الفعالية المضادة للبكتيريا، الفعالية المضادة للفطريات.

Abstract

Three new Schiff-bases compounds (I-III) were synthesized by a condensation reaction in 1:2 M ratios of 4,4-diaminodiphenylsulfide and pyrrol/thiophene/furan-2-carboxaldehyde in ethanol. The structural determinations of the Schiff-bases were identified with the help of elemental analysis then confirmed by UV-vis, FT-IR and ¹H NMR. The products were obtained in excellent yields. The prepared Schiff bases (I and III) were used as tétradentate ligands to coordinate Co^{II} and Cu^{II} acetate leading to complexes where the (metal-ligand) ratio was 1:1 and 2:1. The complexes (1, 2 and 3) were identified by elemental analyses, FT-IR and UV-vis. On the other hand, the in vitro antibacterial and antifungal activities of the synthesized compounds Schiff bases were investigated using disc diffusion method. Schiff bases synthesized exhibited varying degrees of inhibitory effects on the growth of the tested microbial species. In addition, new $\text{PhN}=\text{N}-\text{C}(\text{COCH}_3)=\text{NC}_6\text{H}_4\text{R}$ {R= Cl (A), Br (B), CH₃ (C), OCH₃ (D) and R= H (E)} Schiff bases compounds, were tested in vitro for their antibacterial activities using the disk diffusion method against Gram-positive and Gram-negative bacteria. It was concluded that the antibacterial activity varies according to the structure of the compound and the sensitivity of the strain.

Keywords: Schiff bases, heterocyclic aldehydes, metal, complexes, antibacterial activity, antifungal activity.

Résumé

Trois nouveaux composés bases de Schiff (I-III) ont été synthétisés par une réaction de condensation dans des rapports 1:2 de 4,4-diaminodiphénylsulfide et de pyrrol / thiophène / furan-2-carboxaldéhyde dans l'éthanol. Les déterminations structurelles des bases de Schiff ont été identifiées à l'aide d'une analyse élémentaire, puis confirmées par UV-vis, FT-IR et RMN ¹H. Les produits ont été obtenus avec d'excellents rendements. Les bases de Schiff préparées (I et III) ont été utilisées comme des ligands tétradentates pour coordonner les acetate de Co^{II} et Cu^{II} qui mènent aux complexes avec un rapport métal /ligand de 1:1 et 2:1. Les complexes ont été identifiés par analyse élémentaire, FT-IR et UV-vis. D'autre part, les activités antibactériennes et antifongiques in vitro des bases de Schiff synthétisées ont été étudiées en utilisant la méthode de diffusion de disque. Les bases de Schiff synthétisées présentaient divers degrés d'effets inhibiteurs sur la croissance des espèces microbiennes testées.

De plus, De nouveaux composés bases de Schiff de type $\text{PhN}=\text{N}-\text{C}(\text{COCH}_3)=\text{NC}_6\text{H}_4\text{R}$ {R= Cl(A), Br(B), CH₃(C), OCH₃(D) et R= H(E)}, ont été testés in vitro pour leur activités antibactériennes au moyen de la méthode de diffusion des disques contre des bactéries à Gram positifs et à Gram négatifs. Il nous a été permis de conclure que l'activité antibactérienne varie selon la structure du composé et selon la sensibilité de la souche.

Mots clés: Bases de Schiff, aldéhydes hétérocycliques, métal, complexes, activité antibactérienne, activité antifongique.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Électrochimie des Matériaux Moléculaire et des Complexes (LEMMC), Faculté de technologie, Département de Génie des Procédés de l'Université Ferhat ABBAS - SETIF-1 sous la direction de Monsieur le Professeur Tahar DOUADI.

Tout d'abord, j'adresse mes plus vifs remerciements à Monsieur le Professeur Tahar DOUADI, qui fut pour moi un directeur de thèse attentif et disponible malgré ses nombreuses charges. Sa compétence, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance m'ont beaucoup appris. Ils ont été et resteront des moteurs de mon travail de chercheur.

Je tiens tout particulièrement à remercier ma Co-directeur Modame Sahli Farida, Professeur à l'UFA Sétif 1, pour avoir su me guider avec attention et gentillesse pendant ces années. Ses qualités scientifiques et humaines, son encouragement et ses remarques ont largement contribué à l'aboutissement de cette thèse. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements à Monsieur le Professeur Salah CHAFAA le Directeur du laboratoire LEMMC, pour m'avoir permis de réaliser mes travaux dans les meilleures conditions possibles.

Je tiens également à adresser mes plus vifs remerciements à Madame Meriem MERBEH, Professeur à l'UFA Sétif 1, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

J'adresse mes sincères remerciements aux membres de jury, Madame Amel DJEDOUANI Professeur à l'Université de Constantine, Madame Nerdjas Mouas Toma, Docteur à l'Université Constantine 1, Et Monsieur Abdelouahab DIAFAT,

Docteur à l'Université de bordj pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de juger ce travail.

Je remercie infiniment ; Madame Dr. Hakima AIT YUCEF pour leur aide, leur disponibilité et leurs conseils à l'aboutissement de ce travail, tout au long de la réalisation de cette thèse.

Je remercie vivement Madame Pr. Djahida HAFFAR, Monsieur et Dr. S. ISSAADI pour son aide et ses précieux conseils qui m'ont beaucoup aidé à améliorer ce travail.

J'exprime bien entendu mes remerciements les plus sincères à Madame Souad RECHIDI et Madame Fouzia BOUDJEMAA, Ingénieurs au laboratoire LEMMC, pour leur aide et sa grande gentillesse.

Mes sincères remerciements vont aussi à tous les membres du laboratoire, Sara, Sonia, Mouna, Lamia, hanane, leila, Saida, Khalissa, Houria, Ilhem, Amel, Imene, Rahma, Djamel, Badis et Nadjib.

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes chers parents,

A mon époux,

A mes fils MOHAMED MAHDI et ABDELMOUIZ

A ma petite ange TASNIME

A mon frère et mes sœurs,

A toute ma famille,

A tous mes collègues et amis.

Table Des Matières

<i>Introduction générale</i>	1
<i><u>Chapitre I</u></i>	
<i>Etude Bibliographique</i>	
I.1. Introduction.....	5
I.2. Généralité sur les bases de Schiff et les complexes métalliques	5
I.2.1. Les bases de Schiff	5
I.2.2. Classification des ligands bases de Schiff.....	6
I.2.3. Complexes de coordination.....	8
I.2.4. Applications des complexes de bases de Schiff	9
I.2.5. Présentation des métaux de transition	9
I.2.6. Propriétés et applications des métaux de transition	10
I.3. Rappel sur les synthèses et les caractérisations des Ligands et complexes bases de Schiff.....	10
I.4. Généralité sur micro-organisme et les antimicrobiens	17
I.4.1. Introduction.....	17
I.4.2. Les Bactéries	18
I.4.2.1. Définition.....	18
I.4.2.2. Structure bactérienne	19
I.4.2.3. Les classifications bactériennes	20
I.4.2.4. Espèces bactériennes.....	22
I.4.3 . Les champignons.....	24
I.4.3.1. Les champignons pathogènes	25
I.4.3.1.1. Classification.....	25
I.4.4 Infection bactérienne	26
I.4.5. Infections Fongiques.....	27
I.4.6. Les Antibiotiques	28
I.4.6.1 Définition	28
I.4.6.2 Type des antibiotiques	29
I.4.6.3. Classification des antibiotiques.....	29

I.4.6.4. Mode d'action des antibiotiques.....	30
I.4.6.5. La résistance aux antibiotiques.....	32
I.4.6.6. Paramètre d'activité	33
I.4.7. Les Antifongiques.....	34
I.4.7.1. Cibles des antifongiques	34
I.4.7.2. Mécanisme de la résistance aux antifongique	35
I. 5. Rappel sur l'activité biologique des bases de Schiff et leurs complexes métalliques.....	36
I.6. Conclusion.....	41
Références bibliographiques.....	42

Chapitre II

Matériels et Méthodes

II.1. Matériels de synthèse.....	50
II.1. 1. Montage de synthèse.....	50
II.2. Méthode de caractérisation	50
II.2.1. Point de fusion.....	50
II.2.2. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	50
II.2.3. Microanalyse.....	51
II.2.4. Méthodes spectroscopiques.....	51
II.2.4.1. Spectrophotométrie UV-Visible.....	52
II.2.4.2. Spectroscopie infra-rouge (ATR).....	52
II.2.4.3. Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	53
II.3. Matériels biologiques	54
II.3.1. Instruments.....	54
II.3.2. Microorganismes testés.....	54
II.3.3. Milieu de culture utilisé.....	54
II.3.4. Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne.....	54
II.3.4.1. Méthode de diffusion	55
II.3.4.2. Méthode de dilution	55
Références bibliographiques.....	56

Chapitre III Synthèse, caractérisation de nouveaux ligands base de schiff, leurs complexes de Cu (II) et Co (II) et leurs études biologiques.

III.1 Introduction.....	57
III.2. Synthèse des ligands bases de schiff.....	58
III.2.1. Résultats et discussion.....	61
III. 2.1.1 Analyse élémentaire.....	61
III. 2.1.2 Caractérisations des ligands par les méthodes spectroscopiques.....	62
III. 2.1.2.1 Spectrométrie ultraviolet-visible (UV-Vis).....	62
III. 2.1.2.2 Spectrométrie infrarouge (IR).....	62
III. 2.1.2. 3 Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN ¹ H).....	63
III.3. Synthèse des complexes métalliques.....	67
III.3.1 Synthèse des complexes cuivriques.....	67
III.3.2 Synthèse de complexe de cobalt.....	68
III .3.3 Résultats et discussion.....	68
III. 3.3.1. Analyse élémentaire.....	69
III. 3.3 2. Caractérisation des complexes synthétisés par les méthodes spectroscopiques.....	69
III. 3.3.2. 1. Spectrométrie ultraviolet-visible (UV-Vis).....	69
III. 3.3.2. 2. Spectrométrie infrarouge (IR).....	70
III.4. Activité antimicrobienne des ligands base de Schiff synthétisées.....	71
III.4.1. L'activité antibactérienne.....	71
III.4.1.1. Méthode de diffusion sur gélose.....	71
III.4.1.2. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	72
III.4.1.3. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).....	74
III.4.2. Activité Antifongique par la méthode de diffusion sur gélose.....	78
III.4.2.1. Pour la levure.....	78
III.4.2.2. Pour le dermatophyte.....	78
III.4.3 Résultats et Discussion.....	79
III.4.3.1. L'activité antibactérienne.....	79
III.4.3.2. Activité antifongique.....	83
III.5. Conclusion.....	85
Références bibliographiques.....	87

Chapitre IV

Activité biologique des composés azométhines

IV. Etude de l'activité antibactérienne de certains composés azométhines	91
IV .1 Introduction	91
IV. 2 Activité antibactérienne	92
IV.2.1. Concentration minimale inhibitrice (CMI).....	93
IV.2.2. Concentration bactéricide minimale (CMB).....	94
IV.3 Résultats et discussion.....	94
IV.4. Conclusion.....	107
Références bibliographiques.....	108
<i>Conclusion générale</i>	111
Annexes	113

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1. Les trois différentes séries de métaux de transition.....	10
Tableau I.2. Principaux types d'infection fongique rencontrées chez l'homme.....	28
Tableau I.3. Principales familles d'antibiotiques en fonction de leur mécanisme d'action....	31
Tableau III.1. Propriétés analytiques et physiques des ligands L1, L2 et L3	61
Tableau III. 2. Valeurs des longueurs d'onde et les absorbances des ligands synthétisés.....	62
Tableau III. 3. Principales bandes IR (en cm^{-1}) des ligands (L1, L2 et L3).....	63
Tableau III.4. Propriétés physique et analytique des complexes (I-III).....	69
Tableau III.5. Valeurs des longueurs d'onde et les absorbances des complexes synthétisés.....	70
Tableau III.6. Principales bandes d'absorption IR (cm^{-1}) des complexes (I-III).....	71
Tableau III.7. Description du mode opératoire (technique de dilution en milieu liquide)	74
Tableau III.8. Activité antibactérienne des bases de Schiff synthétisées (L1-L3), contre les bactéries Gram-positif et Gram-négatif.....	80
Tableau III.9. CMI et CMB (mg/ml de différents bases de schiff synthétisés).....	83
Tableau III.10. Activité antifongique des bases de schiff synthétisées(L1-L3).....	84
Tableau IV.1. Description de la procédure (technique de dilution en milieu liquide).....	94
Tableau IV.2. Activité antibactérienne des azométhines (A-D), contre les bactéries Gram-positif et Gram-négatif [zone d'inhibition (mm)].....	95
Tableau IV. 3. Activité antibactérienne d'azométhine A	98
Tableau IV. 4. Activité antibactérienne de C	99
Tableau IV. 5. Activité antibactérienne de D	100
Tableau IV.6. Activité antibactérienne de E	102
Tableau IV.7. CMB (mg/mL) de différents azométhines (A, C, D, et E).....	106

LISTE DES FIGURES

Figure I.1. Image microscopiques des différents micro-organismes	18
Figure I.2. Structure générale d'une bactérie.....	19
Figure I.3. Différents formes de bactéries.....	20
Figure I.4. Structure de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif.	21
Figure I.5. Classification Simplifiée des Bactéries.....	21
Figure I.6. Structures de la paroi cellulaire et de la membrane cytoplasmique d'une cellule fongique.....	25
Figure I.7. levure	26
Figure I.8. Champignon filamenteux	26
Figure I.9. Diffèrent mycoses cutanées	27
Figure I.10. Classification des antibiotiques selon la cible.....	31
Figure I.11. Mécanismes de résistance.....	33
Figure I.12. Classification des antifongiques.....	34
Figure I.13. Sites d'action des antifongiques.....	35
Figure. III.1. Spectre RMN H ¹ de 4,4'- Bis (2-pyrrole carboxaldehyde) diphényldiiminosulfide(L1).....	64
Figure. III.2. Spectre RMN H ¹ de 4,4'- Bis (2-thiophene carboxaldehyde) diphényl diiminosulfide(L2).....	65
Figure. III.3. Spectre RMN H ¹ de 4,4'- Bis (2-furanecarboxaldehyde) diphényldiiminosulfide(L3).....	66
Figure. III.4. Protocole expérimentale de l'essai de l'activité antibactérienne et antifongique de chaque composé synthétisé (L1, L2 et L3).....	75
Figure. III.5. Détermination de la CMI et la CMB.....	77
Figure III. 6. Activité antibactérienne des bases de Schiff synthétisées contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.....	81
Figure III. 7. Activité antibactérienne de base de Schiff L1.....	81
Figure III. 8. Activité antibactérienne de base de Schiff L2.....	82
Figure III. 9. Activité antibactérienne de base de Schiff L3.....	82
Figure III.10. Activité antifongique des bases de Schiff synthétisées (L1, L2 et L3).....	84
Figure III.11. Activité antifongique de bases de Schiff sur <i>C. albicans</i>	85
Figure III.12. Activité antifongique de bases de Schiff sur <i>M. canis</i>	85

Figure IV.1. Activité antibactérienne des azométhines (A-D) (50 mg/ml) contre les 6 souches bactériennes.....	95
Figure IV.2. Activité antibactérienne des azométhine (A-D) contre <i>E. coli</i> à 50mg/ml	96
Figure IV.3. Activité antibactérienne des azométhine (A-D) contre <i>S. aureus</i> à 50 mg/ml...96	
Figure IV.4. Activité antibactérienne des azométhine (A-D) contre <i>P. aeruginosa</i> à 50 mg/ml.....	96
Figure IV.5. Activité antibactérienne des azométhine (A-D) contre <i>P. mirabilis</i> à 50mg/ml.....	97
Figure IV.6. Activité antibactérienne des azométhine (A-D) contre <i>S. marcescens</i> à 50 mg/ml.....	97
Figure IV.7. Activité antibactérienne des azométhine (A-D) contre <i>K. pneumoniae</i> à 50 mg/ml.....	97
Figure IV.8. Les diamètres d'inhibition des souches en fonction de la concentration de l'azométhine A.....	99
Figure IV.9. Les diamètres d'inhibition des souches bactériennes en fonction de la concentration du composé C.....	100
Figure IV.10. Les diamètres d'inhibition des souches en fonction de la concentration du produit D.....	101
Figure IV.11. Les diamètres d'inhibition des souches en fonction de la concentration du produit E.....	102
Figure IV.12. Activité antibactérienne des azométhines (A, C, D et E) contre la bactérie <i>E. coli</i>	103
Figure IV.13. Activité antibactérienne des azométhines (A, C, D et E) contre la bactérie <i>S. aureus</i>	104
Figure IV.14. Activité antibactérienne des azométhines (A, C, D et E) contre la bactérie <i>K.pneumoniae</i>	105
Figure IV.15. Activité antibactérienne des azométhines (A, C, D et E) contre la bactérie <i>P. mirabilis</i>	105
Figure IV.16. Activité antibactérienne des azométhines (A, C, D et E) contre la bactérie <i>S. marcescens</i>	106

LISTE DES SCHEMAS

Schéma I.1. Réaction générale de la formation d'une base de Schiff.....	5
Schéma I.2. Différents types de bases de Schiff.....	7
Schéma I.3. Exemple des complexes mononucléaires, binucléaires et trinucléaires.....	9
Schéma I.4. Structures des complexes de Co(II), Cu(II) et Cd (II).....	11
Schéma I.5. Structure chimique du ligand H ₂ L.....	12
Schéma I.6. Structure du ligand 4,4'-bis (Acétylacétone diphényle éther) diimine.....	13
Schéma I.7. Structure du ligand proposé par S. Benabid et coll.....	14
Schéma. I.8. Structure des ligands bases de Schiff.....	14
Schéma I.9. Structure du ligand bis-imidazolyl.....	15
Schéma I.10. Structure de la résine utilisée pour l'extraction des métaux.....	15
Schéma I.11. Structure du ligand (L).....	16
Schéma I.12. Structure du ligand.....	36
Schéma I.13. N,N-bis(furan-2ylmethylene)propane-1,3-diamine (1).....	37
Schéma I.14. Les structures du ligand et ses chelates métalliques qui sont présentes une activité anti-microbienne	38
Schéma I.15. Structure des complexes métalliques.....	39
Schéma I.16. Structure des complexes métalliques ; M= Mn(II), Co(II), Zn(II).....	40
Schéma I.17. Réaction de synthèse de dérivés bases de Schiff dans un milieu acide.....	40
Schéma I.18. Bases de Schiff élaborée par Gudasi et coll.....	40
Schéma I.19. Bases de Schiff décrit par L.W. Henri et coll à effet antibactérie.....	41
Schéma III.1. Schéma représentant les molécules synthétisées.....	57
Schéma III.2. Mécanisme réactionnel des ligands (L1, L2 et L3).....	59
Schéma III.3. Schéma réactionnel de la synthèse des ligands (L1, L2 et L3).....	60
Schéma III. 4. Schéma réactionnel de la synthèse du complexe (I).....	67
Schéma III. 5. Schéma réactionnel de la synthèse du complexe (II).....	67
Schéma III. 6. Schéma réactionnel de la synthèse du complexe (III).....	68
Schéma IV.1. Procédure générale pour la synthèse des azométhines (A-E).....	92

LISTE DES ABREVIATIONS

ATCC	American Type Culture Collection
CCM	Chromatographie sur couche mince
CDCL3	Chloroforme deutéré
CFU	Colony-forming unit
CH₂Cl₂	Chloroforme
CMB	Concentration minimale bactéricide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
°C	Degrés Celsius
DMSO	Diméthylsulfoxyde
Et OH	Ethanol
h	heure
IR	Spectroscopie Infrarouge
λ max	Longueur d'onde maximale d'absorption
mg	Milligramme
μl	Microlitre
ml	Millilitre
M-H	Muëller Hinton
nm	Nanomètre
ppm	Parties par million
Pf	Point de fusion
%	Pourcentage
Rdt	Rendement
RMN H¹	Résonance magnétique nucléaire du proton
SDA	Sabouraud dextrose agar
UV/VIS	Spectroscopie ultraviolet – visible

Introduction Générale

Introduction générale

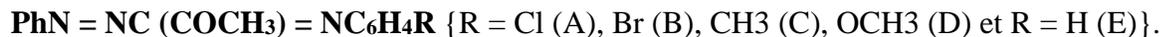
La chimie et la biologie font aujourd'hui partie de notre environnement quotidien, ces deux disciplines étant à la croisée de nombreuses industries et de nombreux secteurs. La chimie organique d'hier s'étend aujourd'hui aux molécules biologiques, aux molécules inorganiques et aux macromolécules. Elle crée des édifices plus ou moins complexes jusqu'à l'élaboration d'une chimie supramoléculaire fondée sur des interactions diverses entre molécules et explique leurs propriétés. Les composés organiques contenant le groupe (-HC=N-) sont connus comme imine ou azométhine mais en général ils sont connus en tant que "base de Schiff " en l'honneur de Schiff qui a synthétisé ce type de composés la première fois, ils sont plus largement utilisés dans la chimie et la biologie. Le grand intérêt accordé à ces composés est du principalement à leur procédé facile de préparation, réalisé en général en une seule étape, leur obtention avec de bons rendements, leur grande stabilité thermique et photonique ainsi que leur grand pouvoir de coordination.

Les bases de Schiff sont largement utilisées dans le domaine biologique à cause de leurs propriétés antibactériennes ; antifongiques ; anti-inflammatoires [1-6], antiprolifératives, anticancéreuses [7, 8], et en industrie dans la lutte contre la corrosion [9-12]. La chimie de coordination des complexes base de Schiff avec les métaux de transition ont fait l'objet de plusieurs recherches [13].

Les antibiotiques, ont permis de grandes avancées en thérapeutique depuis leur découverte au début du XXème siècle. Ils ont largement contribué à l'essor de la médecine moderne. Malheureusement, au cours de ces dernières années, les bactéries deviennent de plus en plus résistantes. Cette résistance est due à la prescription immodérée et souvent inappropriée des antibiotiques. Ce phénomène de résistance aux antibiotiques est général, et concerne toutes les espèces bactériennes. La découverte de nouveaux agents antibactériens, est devenue plus qu'indispensable. Vu la richesse des hétérocycles à cinq chaînons et la diversité de leurs applications dans le domaine biologique et médicinal comme antimicrobien, anti-histaminique, anti-inflammatoire, anti-cancéreux, nous nous sommes intéressés dans le présent travail à préparer des hétérocycles de type base de Schiff qui feront l'objet de tests biologiques.

Le présent travail est basé sur la synthèse, la caractérisation et l'étude biologique de nouveaux ligands bases de Schiff tétradentate et leurs complexes métalliques de cuivre (II) et de

cobalt (II), ainsi que l'étude de l'activité antibactérienne de nouveaux composés azométhines (bases de Schiff) de type



Cette thèse comporte quatre chapitres :

Le premier chapitre fait référence aux connaissances bibliographiques actuelles sur les bases de schiff et les complexes. Une étude bibliographique concernant les bactéries et les champignons, leur classification et leurs principales caractéristiques a été présentée ainsi qu'un rappel sur les travaux bibliographiques effectués sur les bases de Schiff et leurs activités biologiques.

Le deuxième chapitre est consacré à une description des produits et solvants utilisés pour réaliser les réactions de synthèse des ligands et des complexes étudiés ainsi que celles de l'étude biologique. Nous y décrivons également les différentes techniques d'analyses utilisées pour établir les structures des composés obtenus.

Dans le troisième chapitre nous décrivons la synthèse de trois nouveaux ligands bases de Schiff et leurs complexes métalliques vis-à-vis des métaux de transition Cu(II) et Co(II) à savoir : cuivre (II) pour le ligand **L1** et **L3**, cobalt (II) pour le ligand **L1**, nous détaillerons leur caractérisation structurale par l'analyse élémentaire et les méthodes spectroscopiques usuelles UV-vis, IR, RMN ¹H, ainsi que l'évaluation de l'activités biologiques (antibactérienne et antifongique) des bases de Schiff synthétisés, qui sera suivie d'une discussion de l'ensemble des résultats obtenus.

Le quatrième chapitre a pour objet d'étudier l'effet antibactérien des azométhines (bases de Schiff) déjà synthétisées auparavant.

En conclusion, nous ferons le bilan des résultats obtenus dans ce travail en soulignant les caractéristiques générales de ces composés ainsi que les perspectives que ce travail laisse envisager.

Une partie de ce travail a fait l'objet d'une publication internationale dans la revue : *Journal of Molecular Structure*, Vol 1151, P. 41-48, 2017.

References bibliographiques

- [1] M.A. Ashraf, K. Mahmood, A. Wajid, M.J. Maah, Synthesis, characterization and biological activity of Schiff bases, *IPCBEE*, 10 (2011) 1-7.
- [2] Z. Guo, R. Xing, S. Liu, Z. Zhong, X. Ji, L. Wang, P. Li, Antifungal properties of Schiff bases of chitosan, N-substituted chitosan and quaternized chitosan, *Carbohydrate research*, 342 (2007) 1329-1332.
- [3] Y. Zhou, M. Zhao, Y. Wu, C. Li, J. Wu, M. Zheng, L. Peng, S. Peng, A class of novel Schiff's bases: Synthesis, therapeutic action for chronic pain, anti-inflammation and 3D QSAR analysis, *Bioorganic & medicinal chemistry*, 18 (2010) 2165-2172.
- [4] S. Kumar, M. Niranjana, K. Chaluvvaraju, C. Jamakhandi, D. Kadadevar, Synthesis and antimicrobial study of some Schiff bases of sulfonamides, *J. Curr. Pharm. Res.*, 1 (2010) 39-42.
- [5] E. Yousif, E. Rentschler, N. Salih, J. Salimon, A. Hameed, M. Katan, Synthesis and antimicrobial screening of tetra Schiff bases of 1, 2, 4, 5-tetra (5-amino-1, 3, 4-thiadiazole-2-yl) benzene, *Journal of Saudi Chemical Society*, 18 (2014) 269-275.
- [6] T.M. Tallon, Synthesis of imidazole schiff base ligands, their silver (I) complexes and their activities against candida albicans, National University of Ireland Maynooth, 2010.
- [7] K. Sztanke, A. Maziarka, A. Osinka, M. Sztanke, An insight into synthetic Schiff bases revealing antiproliferative activities in vitro, *Bioorganic & medicinal chemistry*, 21 (2013) 3648-3666.
- [8] L.H. Abdel-Rahman, A.M. Abu-Dief, R.M. El-Khatib, S.M. Abdel-Fatah, Some new nano-sized Fe (II), Cd (II) and Zn (II) Schiff base complexes as precursor for metal oxides: Sonochemical synthesis, characterization, DNA interaction, in vitro antimicrobial and anticancer activities, *Bioorganic chemistry*, 69 (2016) 140-152.
- [9] N.K. Gupta, C. Verma, M. Quraishi, A. Mukherjee, Schiff's bases derived from l-lysine and aromatic aldehydes as green corrosion inhibitors for mild steel: experimental and theoretical studies, *Journal of Molecular Liquids*, 215 (2016) 47-57.

- [10] M.Q. Mohammed, Synthesis and characterization of new Schiff bases and evaluation as Corrosion inhibitors, *Journal of Basrah Researches*, 37 (2011) 116-130.
- [11] U. Naik, P. Jha, M. Lone, R. Shah, N. Shah, Electrochemical and theoretical investigation of the inhibitory effect of two Schiff bases of benzaldehyde for the corrosion of aluminium in hydrochloric acid, *Journal of Molecular Structure*, 1125 (2016) 63-72.
- [12] P. Singh, M. Quraishi, Corrosion inhibition of mild steel using Novel Bis Schiff's Bases as corrosion inhibitors: Electrochemical and Surface measurement, *Measurement*, 86 (2016) 114-124.
- [13] C. Ji, D.G. Peters, J.A. Karty, J.P. Reilly, M.S. Mubarak, Direct and cobalt (I) salen-catalyzed reduction of 2, 6-bis (chloromethyl) pyridine at carbon cathodes in acetonitrile, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 516 (2001) 50-58.

Chapitre (I)
Etude Bibliographique

I.1. Introduction

Les ligands bases de Schiff hétérocycliques présentent un rôle important dans différents domaines de la chimie. En effet, des efforts considérables ont été déployés pour développer les méthodes de synthèse de ces composés, qui ont suscité, pendant très longtemps une attention très particulière chez beaucoup de chercheurs en se basant sur leur importance dans le domaine biologique, médicinal, pharmaceutique ainsi que dans le domaine industriel. Par ailleurs, les complexes des bases de Schiff symétrique présentent des intérêts fondamentaux dans le domaine théorique et pratique, en particulier leur activité biologique : antioxydante, antibactérienne, anticancéreuse, antifongique et antivirale...

Ce chapitre est consacré dans un premier temps, à des généralités sur les bases de Schiff, les complexes métalliques ainsi que les travaux liés à la synthèse et à la caractérisation des ligands et des complexes bases de Schiff ; puis à une présentation générale relative aux agents antibactériens et antifongiques, suivi d'un bref rappel bibliographique sur la synthèse, la caractérisation des bases de Schiff et les différentes applications dans le domaine biologique.

I.2. Généralités sur les bases de Schiff et les complexes métalliques

I.2.1. Les bases de Schiff

Les bases de Schiff portent réellement le nom de leur inventeur Hugo Schiff (1834-1915) qui fut le premier chimiste à synthétiser ce type de composés en 1864 [1, 2]. On appelle base de Schiff tout produit comportant une double liaison C=N issue de la réaction entre un azote nucléophile et un composé carbonylé [3- 6].

La base de Schiff est formée par une réaction de condensation d'un aldéhyde ou d'une cétone sur l'amine primaire qu'elle soit aliphatique ou aromatique comme cela est illustré par le schéma suivante :



Schéma I.1. Réaction générale de la formation d'une base de Schiff. (R, R' et R'' = alkyle ou aryle)

Les bases de Schiff qui contiennent le groupe aryle comme substituant sont considérées comme les plus stables, compte tenu d'une plus large délocalisation électronique sur la surface de la molécule. Ces dernières sont faciles à synthétiser. Notons que les bases de Schiff issues de la

condensation des aldéhydes aliphatiques sont relativement moins stables et facilement polymérisables.

La formation des bases de Schiff à partir d'un aldéhyde ou une cétone est une réaction réversible et s'effectue généralement sous catalyse acide ou basique, ou par chauffage.

En général, la réversibilité de cette réaction impose souvent l'élimination de l'eau du milieu réactionnel en utilisant un alcool afin de déplacer l'équilibre vers la droite ou vers la formation de la base de Schiff. Ceci est réalisable par l'emploi d'un montage couramment appelé « Dean-stark ».

Généralement les aldéhydes réagissent plus vite que les cétones dans ces réactions de condensation puisque la base de Schiff résultante de l'aldéhyde présente moins de gênes stériques que celle d'une cétone. De plus, la densité électronique sur l'atome de carbone du groupe carbonyle est plus faible dans le cas de la cétone que dans le cas de l'aldéhyde faisant en sorte que l'efficacité de l'attaque nucléophile de l'amine soit régulée en tant que telle [7, 8].

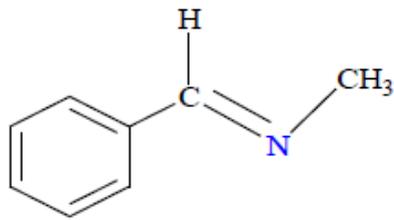
Les bases de Schiff sont généralement des solides qui précipitent au fur et à mesure de leur formation dans le milieu réactionnel facilitant ainsi leur éventuelle séparation qui peut être aisément réalisée par filtration.

II.2.2. Classification des ligands bases de Schiff

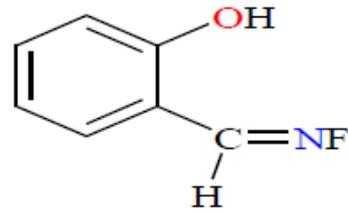
Les ligands bases de Schiff sont doués d'une aptitude à former des liaisons de coordination avec les métaux de transition selon les conditions de réactions utilisées.

La littérature a consacré beaucoup d'efforts à la chimie de coordination particulièrement au cours des deux dernières décennies où l'on a assisté à une production scientifique extrêmement fertile compte tenu d'une activité de recherche très intense, on note qu'ils sont focalisés essentiellement sur la complexation des ligands bases de Schiff avec les métaux de transition [1, 9]. Ces ligands sont en général des molécules organiques possédant des atomes donneurs d'électrons au sens de Lewis. Ces composés peuvent alors être classifiés comme monodentates, bidentates et polydentates basés sur le nombre de sites de coordination du ligand [10].

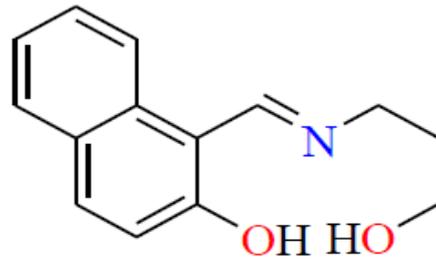
Les exemples dans la Schéma I.1 donnés ci-après montrent les différents types de structures de ces bases de Schiff.



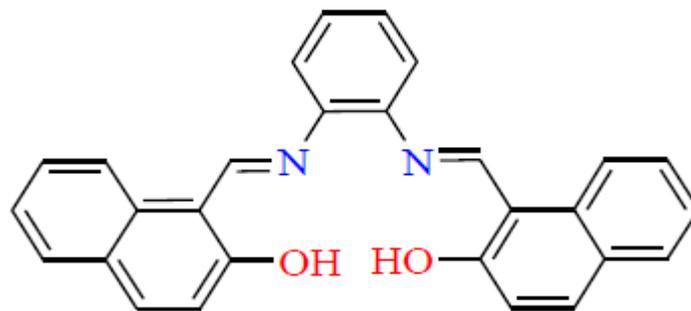
Monodentate



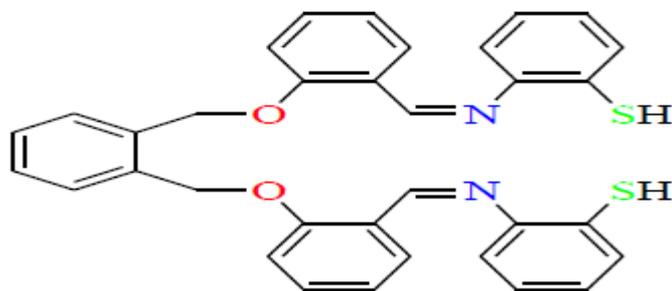
Bidentate



Tridentate



Tétradentate



Hexadentate

Schéma I.2. Différents types de bases de Schiff.

I.2.3. Complexes de coordination

On appelle composé de coordination toute espèce chimique contenant un ou plusieurs ions complexes. On appelle «ion complexe» toute espèce chimique contenant un ion métallique central lié par covalence dative à un ou plusieurs ions ou molécules.

La théorie des complexes fut établie par Alfred Werner, en 1893 ; d'après lui, un complexe comprend :

- Un centre coordinateur A, normalement un métal de transition.
- Un ensemble (de 2 à 9) d'autres atomes, ions ou petites molécules appelés ligands (L) ou coordinats.
- Les liaisons centre - ligand sont covalentes datives.
- Le nombre de ligands unis au centre coordinateur est appelé indice de coordination ou coordinence.
- L'atome du ligand directement uni à l'atome central est l'atome coordinateur : Il doit posséder des paires d'électrons libres [11,12] ;

Donc, il propose trois postulats qui sont :

Les métaux possèdent deux types de valence, la valence primaire qui correspond à la formation de l'ion et la valence secondaire, qui correspond au nombre de groupements fixés sur l'ion métallique.

Il y a deux types de complexes :

- Un complexe est dit labile si une réaction de substitution de ligand est facile ;
- Un complexe est dit inerte si une réaction de substitution de ligand est difficile [13, 14].

Les complexes sont classés selon le nombre d'ions (ou d'atomes) centraux qu'ils comportent. Les complexes dont les formules sont représentées ci-dessous (Schéma I.2), ce sont des complexes désignés par les termes monométalliques (mononucléaires), bimétalliques (binucléaires), trimétalliques (trinucléaires) ou polymétalliques (polynucléaires), selon l'entité du complexe (comporte deux ou plusieurs ions métalliques) [15].

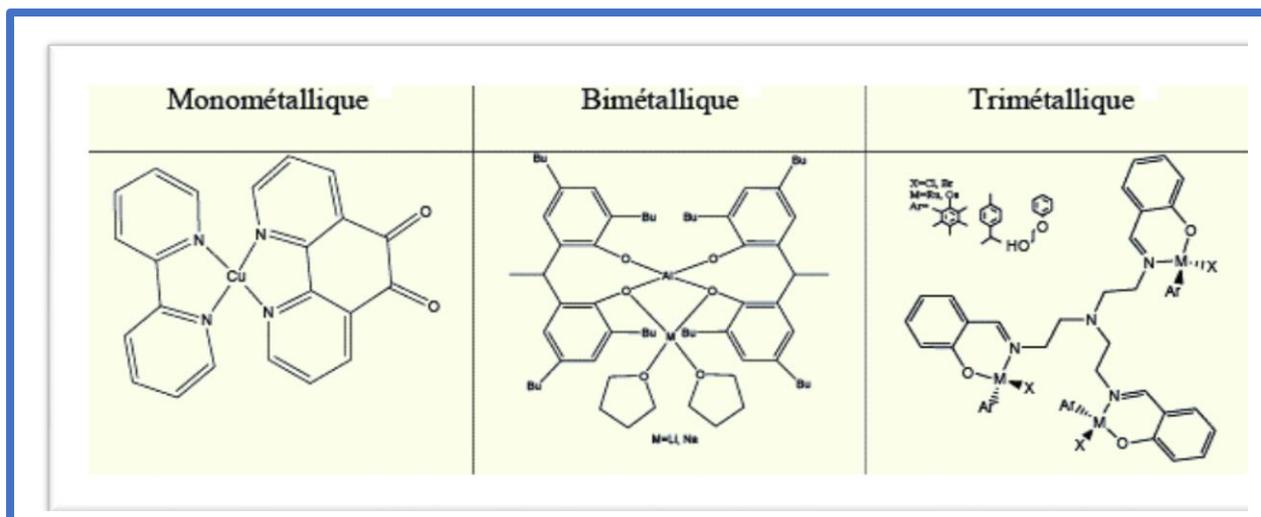


Schéma I.3. Exemple des complexes mononucléaires, binucléaires et trinucléaires.

I.2.4. Applications des complexes de bases de Schiff

Grâce à leur importance dans la vie humaine, les complexes sont exploités dans divers domaines, parmi lesquels on cite à titre d'exemples :

- Utilisation thérapeutique :
 - Le traitement de quelques maladies (accumulation du cuivre dans le foie, le cerveau et les reins ou certaines formes de cancer, exemple d'activité anticancéreuse: Des complexes de platine sont utilisés dans le traitement de certains cancers (cisplatine, carboplatine, oxaliplatine...);
 - Activité antiacide ;
 - Activité antibactérienne [15].
- Dans le domaine de la chimie analytique (titration, précipitation et séparation des métaux dans les mélanges) [16].
- Solubiliser un métal contenu dans un minerai (exemple : l'Or solubilisé comme un complexe cyanuré)
- Caractériser la présence d'une espèce chimique par la formation d'un complexe coloré [17].

I.2.5. Présentation des métaux de transition

Les métaux de transition sont des éléments chimiques couvrant les groupes allant des colonnes III_B à II_B (ou colonnes 3 à 12) dans la classification périodique qui représentent dans leur structure une sous-couche 'd' partiellement remplie (insaturée).

Il existe trois différentes séries de métaux de transition (Figure I.3). La première série contient les métaux les plus utilisés [18].

Tableau I.1. Les trois différentes séries de métaux de transition.

Série 1	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn
Série 2	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd
Série 3	57 La	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg

I.2.6. Propriétés et applications des métaux de transition

Les métaux de transition possèdent des propriétés intéressantes pour l'industrie, la construction et la vie quotidienne. Les quatre caractéristiques communes des métaux de transitions sont :

- Ils forment des composés colorés ;
- Ils possèdent de nombreux états d'oxydation ;
- Ils sont de bons catalyseurs ;
- Ils peuvent former des complexes ;
- Environnement.

Contrairement aux composés organiques, les métaux ne sont pas biodégradables par les micro-organismes. Cette caractéristique engendre certains problèmes de gestion de la contamination métallique. En effet, le sort des métaux dans l'environnement pose de grands défis analytiques; les métaux se retrouvent sous plusieurs formes dans le sol et dans l'eau (complexe avec matière organique du sol, minéraux, précipitation et ions libres, ...etc.) [17].

I.3. Rappel sur les synthèses et les caractérisations des Ligands et complexes bases de Schiff :

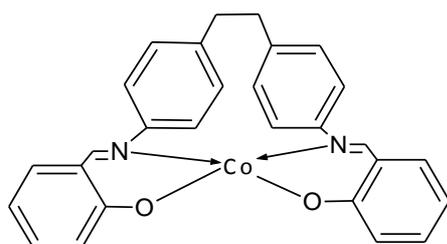
Au cours de ces dernières années, les chercheurs ont donné une grande importance à la synthèse chimique et à la caractérisation des ligands bases de Schiff et de leurs complexes avec les métaux de transition à cause de leur vaste application dans différents domaines. Parmi les travaux consacrés à la synthèse chimique on peut citer :

La synthèse d'un ligand base de Schiff macrocyclique et de son complexe de Ni (II) a été réalisée par **Andrewl et collaborateur** [19] par une réaction de condensation de : 2, 6-dicarbonylpyridine avec une quantité de diamino éther et les sels de Ni (II) hydratés, pour former une diimine et tétraimine. Les résultats d'analyse de cette synthèse par les techniques d'analyse (IR, RMN 1H, UV-vis) montrent que le cation métallique Ni (II) s'attache avec deux

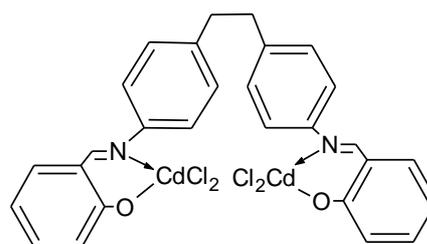
sites d'oxygène 2(O) et trois sites d'azote (3N) formant ainsi une structure mononucléaire.

Il est important de présenter les travaux effectués dans notre laboratoire par **D. Haffar et collaborateur [20]** concernant la préparation d'une nouvelle série de complexes de métaux de transition avec le 4,4'-bis (salicylidene imino)- diphenyléthane ($C_{28}H_{24}N_2O_2$) (Schéma I.4) caractérisés par analyse élémentaire, résonance magnétique nucléaire du proton, spectroscopie infrarouge, spectroscopie ultraviolette- visible et par voltampérométrie cyclique.

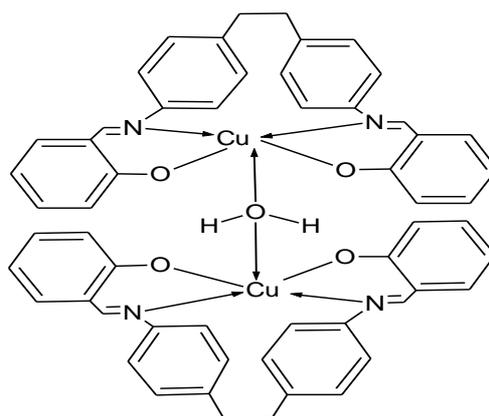
Les données spectroscopiques IR confirment l'attachement du cation aux groupes donneurs O et N du ligand. L'étude électrochimique montre que la réduction du complexe du cuivre $[Cu_2(C_{28}H_{22}N_2O_2)_2]$ s'effectue en deux étapes successives $[C^{II}_2(C_{28}H_{22}N_2O_2)_2] / [Cu^I_2(C_{28}H_{22}N_2O_2)_2]$ et $[Cu^I_2(C_{28}H_{22}N_2O_2)_2] / [Cu^0_2(C_{28}H_{22}N_2O_2)_2]$. En revanche la réduction des complexes du Co et du Cd se fait en deux étapes dont la première est la réduction du métal M (II)/M (I) et la deuxième est attribuée à la réduction du ligand dans le complexe. Les résultats ainsi obtenus confirment une structure binucléaire pour le complexe de cuivre, mononucléaire pour le complexe de cobalt et formation d'un dimère pour le complexe de cadmium.



Complexe de Co(II)



Complexe de Cd(II)



Complexe de Cu(II)

Schéma 1.4. Structures des complexes de Co(II), Cu(II) et Cd (II).

En plus les travaux de **S. Issaadi et collaborateur [21]**, qui ont synthétisé un nouveau ligand base de Schiff pentadentate mais qui agit comme un ligand tétradentate : le 4,4'-bis (salicyleneimino) diphenyle éther (Schéma I.5). Les complexes de Co (II), Cu (II), Zn (II) et de Cd (II) de ce dernier ont été caractérisés aussi bien par les méthodes spectroscopiques que par la DSC et la voltampérométrie cyclique. Dans ces composés, la coordination se réalise à travers le groupement phénolique OH partiellement déprotoné et l'atome d'azote de l'imine.

Ces nouveaux complexes ont pour structures $[\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{L})]\cdot\text{H}_2\text{O}$, $[(\text{CoCl}_2)_2(\text{H}_2\text{L})(\text{H}_2\text{O})_4]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Zn}_2\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{L})]$ et $[\text{Cd}(\text{H}_2\text{L})]\cdot\text{Cl}_2$ respectivement. Les complexes de Cu (II) et de Cd (II) sont mononucléaires alors que les complexes de Co (II) et de Zn (II) semblent être binucléaires. L'oxydation anodique des complexes de Co(II), de Zn(II) et de Cd (II) montre seulement un pic attribué à l'oxydation du OH phénolique du ligand. En revanche, le complexe de Cu(II) s'oxyde en deux étapes à +0.68 et +0.965V/ECS correspondant respectivement aux couples redox Cu (II)/ Cu (III) et Cu (I)/ Cu(II).

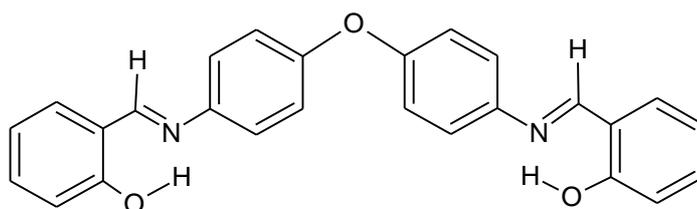


Schéma I.5. Structure chimique du ligand H_2L .

Notons aussi les travaux de **A. Ghames et collaborateur [22]** concernant la détermination de la structure cristalline d'une nouvelle base de Schiff : 4,4' - bis (acétylacétone) diphenyle éthanediiimine (H_2L). Les complexes de Co (II), Ni (II), Cu (II) et Cd (II) de ce ligand ont été caractérisés par les méthodes spectroscopiques telles que l'analyse élémentaire, IR, UV-vis, ^1H RMN et Rayons X ainsi que par la voltampérométrie cyclique. Ces complexes ont pour formules $[\text{CoL}](\text{H}_2\text{O})_3$, $[(\text{NiCl}_2)_2(\text{H}_2\text{L})]$, $[\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{L})]$ et le $[(\text{CdCl}_2(\text{H}_2\text{L}))]$ respectivement. la coordination se produit à travers le système N_2O_2 , en utilisant plusieurs tautomères. Le complexe de Ni(II) est binucléaire par contre les complexes de Cu(II), Co(II) et Cd(II) sont mononucléaires.

On peut citer aussi le travail de **I. Kaabi et collaborateur [23]**, qui ont synthétisé et caractérisé un nouveau composé organique base de Schiff tétradenté: le 4,4'-bis (acétylacétone diphenyle éther) diimine et ses complexes de Cu (II), Co (II), Cd (II) et de Ni (II) (Schéma I.6),

suivie d'une étude de leur comportement électrochimique. Ces composés, ont été identifiés à l'aide des méthodes physico chimiques d'analyse: IR, UV-Vis, ^1H RMN, la DSC, l'analyse élémentaire, les rayons X et la voltamétrie cyclique en milieu organique (DMF- Bu_4NPF_6 0.1 M) sur électrode de platine. Le complexe de Cu(II) de formule $[\text{Cu}(\text{ligand})\text{Cl}_2]$ est mononucléaire tandis que les complexes de Co (II) $[\text{Co}(\text{ligand})(\text{CoCl}_2)]\text{Cl}_2$, Cd (II) $[\text{Cd}(\text{ligand})(\text{H}_2\text{O})(\text{CdCl}_2)]$ et de Ni (II) $[\text{NiCl}_2(\text{ligand})\text{NiCl}_2]$ forment un dimère.

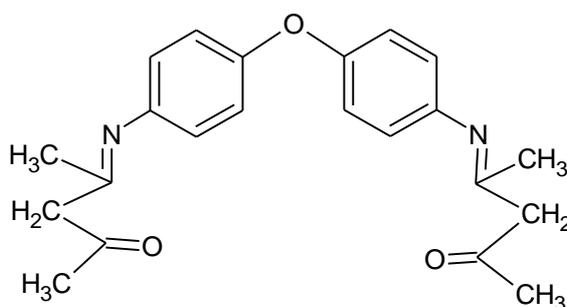


Schéma I.6. Structure du ligand 4,4'-bis (Acétylacétone diphenyle éther) diimine

L. Sibous et collaborateur ont synthétisé de nouveaux ligands bases de Schiff par condensation de 2-hydroxybenzaldehyde ou de 2,4-dihydroxy- benzaldéhyde [24] et de 2,4- pentanedione [25] avec le 4,4'-diaminodiphényl dans l'éthanol absolu dans un rapport molaire 2: 1 en donnant des ligands de forme H_2L tétradentés pour se coordonner avec les chlorure de Co(II), Ni(II) et Cd(II), conduisant à des complexes métalliques où le rapport métal : ligand est de 2 : 1. Tous les composés ont été caractérisés par analyse élémentaire, infrarouge, UV- visible, spectroscopie de masse, ^1H -RMN et DSC. Les voltamogrammes cycliques de ces ligands et de leurs complexes dans le DMF ont été aussi discutés.

La synthèse d'un nouveau ligand base de Schiff tétradenté : le 4,4'-bis [(4-diéthyl amino salicylaldehyde) diphenyl méthane] diimine (H_2L), obtenu par condensation de 4,4'-diaminodiphénylméthane avec 4-diéthylaminosalicylaldehyde, et de ses complexes de Cu (II), Co (II) et de Cd (II) a été décrite par **S. Benabid et collaborateur** [26] (Schéma I.7). Les complexes métalliques ont été caractérisés par analyse élémentaire, UV-visible, infrarouge, EPR, Voltamétrie cyclique et par analyse thermique (DTA-TG). La coordination des ions métalliques avec le ligand se produit à travers le système N_2O_2 . De plus, l'analyse thermique indique que le ligand est plus stable que ses complexes métalliques.

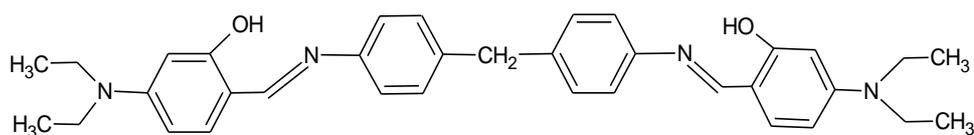


Schéma I.7. Structure du ligand proposé par S. Benabid et coll.

G. G. Mohamed et collaborateur [27]. ont synthétisé et caractérisé par des méthodes spectroscopiques deux ligands bases de Schiff dérivés du 2-furancarboxaldehyde et de l'o-phénylène-diamine (L^1), 2-thiophenecarboxaldehyde et de 2-aminothiophenol (L^2) (Schéma I.8), et leurs complexes de Co(II), Ni(II), Cu(II), et Zn(II).

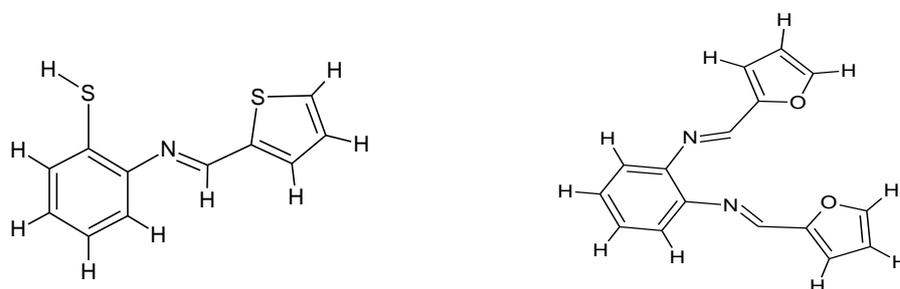


Schéma. I.8. Structure des ligands bases de Schiff.

L'analyse spectroscopique ultraviolette et visible a confirmé l'attachement des ions au centre métallique avec les sites d'oxygène (O) et d'azote (N) du ligand ($L1$) et les sites de thiophène (S) et d'azote (N) du ligand ($L2$).

Un ligand base de Schiff tétradentate bis-imidazolyl, H_2L , a été préparé à partir de la condensation d'imidazole-2-carbaldehyde et de 1,3-diamine-2-propanol par **J.M.Dominguez-Vera et collaborateur [28]** (Schéma I.9). L'étude spectroscopique a établi l'asymétrie du ligand et l'existence d'un atome de carbone asymétrique. Le ligand réagit avec le perchlorate de cuivre(II) dans le milieu neutre pour donner un complexe mononucléaire $Cu(H_2L) (H_2O) (ClO_4)_2$.

L'étude par diffraction des rayons X confirme que l'ion de cuivre(II) occupe l'emplacement intérieur N_4 du ligand non-déprotoné. Dans le milieu basique le complexe $[Cu(H_2L) (H_2O) (ClO_4)_2]$ donne le polymère suivant $[Cu(L)]_n$. Ce processus est réversible et, en milieu acide, la structure du polymère se dissocie en donnant les unités mononucléaires. En milieu basique et en présence d'un excès de nickel(II) bis hexafluoracetylacetonate, $[Ni (hfa)_2]$, il se forme un

complexe avec deux sites de coordination, il est possible d'éviter la réaction de polymérisation et d'obtenir un système hétérobimétallique de cuivre(II)-nickel(II) par la coordination d'un des groupes d'imidazolate à l'ion de nickel(II).

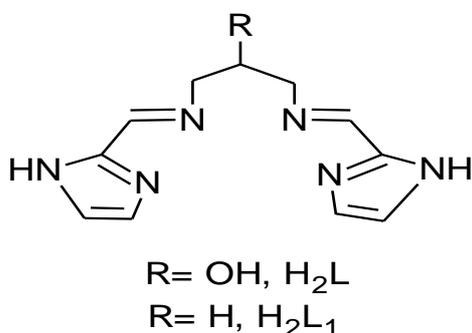


Schéma I.9. Structure du ligand bis-imidazolyl.

S. Samal et collaborateur [29]. Ont synthétisé deux nouvelles résines chélatantes par une réaction de condensation de l'*o*-hydroxyacétophénone -4,4'-diaminodiphényléther avec le formaldéhyde et le furfuraldéhyde respectivement (Schéma I.10).

Ces résines ont été utilisées pour la séparation des ions de Cu (II) dans le mélange de Cu (II) et Ni (II) dans une solution aqueuse. Ils ont étudié l'effet de la concentration de ces ions métalliques sur la coordination du Cu (II) dans les sites des résines par un phénomène d'adsorption. Les résultats d'analyse montrent que ces résines présentent une grande capacité à extraire les ions de Cu (II) dans le mélange par une réaction de complexation.

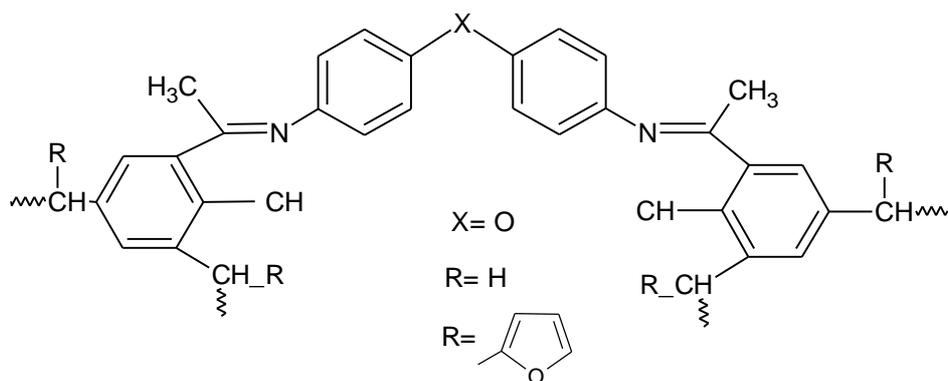


Schéma. I.10. Structure de la résine utilisée pour l'extraction des métaux.

Les complexes de Mn(II), Fe(II), Ni(II), Cu(II) et Zn(II) d'une base de schiff potentiellement tridentée formée par condensation de 2-amino -3-carboxuethyl -4,5-dimethyl thiophène et le salicylaldéhyde ont été synthétisés et caractérisés par **Varughese P. Daniel et collaborateur [30]**. La RPE du complexe de Cu(II) montre que le complexe métal-ligand a un caractère covalent considérable, le Ni(II) subit une réaction de transestérification facile quand on le

chauffe à reflux dans le méthanol pour une longue période. Des études de diffraction des rayons X du complexe de Cu (II) ont montré que le complexe dispose d'un réseau cristallin orthorhombique.

Les complexes de thorium(IV) avec la base de Schiff furan-2-carboxaldehyde-4-phenyl-3-thiosemicarbazone (L), ont été synthétisés par **Gangadharan Rajendran et collaborateur** (Schéma I.11) [31].

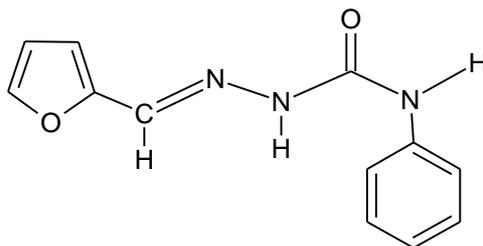


Schéma 1.11. Structure du ligand (L).

La composition et la structure des complexes métalliques ont été proposées à partir de l'analyse élémentaire, les mesures de conductivité molaire, FTIR, RMN ^1H . La base de Schiff se comporte comme un ligand de coordination bidentate par l'azométhine (N) et les atomes thiocétone (S). Les complexes ont une formule générale $[\text{THL}_2\text{X}_4]$ et $[\text{THL}_2\text{Y}_2]$ où X représente NO_3^- , NCS^- , CH_3COO^- , $\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-$, ClO_4^- et Y SO_4^{2-} et $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$. Le comportement thermique des complexes de nitrate et oxalate a été étudié.

I.4. Généralités sur les micro-organismes et les antimicrobiens

I.4.1. Introduction

La lutte contre les bactéries nuisibles pour l'homme, les animaux, les végétaux et les nombreuses substances alimentaires, pouvant être détruites ou altérées sous l'effet de leurs multiplications, constitue une nécessité pour protéger l'état de santé de l'humanité. Les premiers signes d'une thérapie antimicrobienne réussie, datent des temps les plus anciens. Dans les civilisations égyptienne, grecque, chinoise et arabe, on rapporta l'utilisation des extraits de plantes à cette fin. Sans comprendre le mécanisme par lequel ces remèdes naturels agissaient, bon nombre d'entre eux ont gardé leur application jusqu'à nos jours. Avec la découverte fortuite de la pénicilline en 1929 par Fleming, puis d'autres antibiotiques, tels que la Streptomycine, le Chloramphénicol, l'Erythromycine par Waksman en 1949, le progrès dans le développement d'antimicrobiens a connu un grand essor [32]. Les maladies infectieuses, provoquées par les virus, les bactéries et les eucaryotes parasites, constituent un problème de santé publique qui se présente, depuis ces dernières décennies, avec une ampleur et des caractéristiques nouvelles. L'hygiène et les antibiotiques ont constitué des armes d'une remarquable efficacité dans la maîtrise de ces maladies infectieuses [33]. L'augmentation du taux de mortalité associé à des maladies infectieuses est directement liée à plusieurs microbes présentant une résistance aux médicaments antimicrobiens. Le manque de traitements efficaces est la principale cause de ce problème [34, 35]. Les produits de synthèse se montrent d'excellents agents antimicrobiens. Depuis quelques années, on assiste à travers la littérature scientifique à un intérêt concernant les bases de Schiff qui présentent des activités biologiques spécifiques en général reliées à la présence de ce groupement fonctionnel.

La microbiologie a souvent été définie comme l'étude des microorganismes ou organismes trop petits pour être vus à l'œil nu : les virus, les bactéries, les algues, des mycètes et les protozoaires. Il existe deux types d'organisation des cellules selon les micro-organismes :

- **Les cellules procaryotes** (du grec pro, avant, et karyon, amande, organisme à noyau primitif) sont celles des bactéries. Elles ont une morphologie plus simple et sont dépourvues de noyau. Elles se répliquent rapidement par division cellulaire ou scissiparité. La plupart vivent à l'état isolé mais certaines bactéries s'associent et vivent en chaînettes. Elles contiennent un compartiment unique, le cytoplasme, contenant un chromosome ou molécule d'ADN unique, qui est le plus souvent circulaire (nucléoïde). Le procaryote le plus fréquemment étudié est *Escherichia coli*, une bactérie habitant dans la flore intestinale humaine grâce à une paroi cellulaire rigide [36].

Selon le scientifique Steven Jay Gould, nous vivons l'âge des bactéries, elles furent les premiers organismes vivants sur notre planète, elles s'installent partout où la vie est possible, sont plus nombreuses que n'importe quel autre type d'organisme.

- **Les cellules eucaryotes** (du grec eu, vrai, karyon, amande) ont un noyau entouré d'une enveloppe, leur morphologie est plus complexe et elles sont habituellement plus grandes que les cellules procaryotes. Ces cellules sont celles des algues microscopiques (végétaux unicellulaires), des mycètes (levure et moisissures), des protozoaires (animaux unicellulaires).

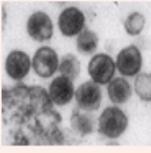
microorganisme	bactérie	virus	protozoaire	champignon
Photo				
Taille	1µm	0,01 µm	10 à 100 µm	10 µm
Organisation	1 cellule sans noyau	Une capsule Matériel génétique	1 cellule à noyau	1 cellule à noyau et paroi épaisse

Figure I.1. Images microscopiques des différents micro-organismes [37].

I.4.2. Les Bactéries

I.4.2.1. Définition

Les bactéries sont des cellules procaryotes, leur ADN n'étant pas localisé dans un noyau. Beaucoup contiennent des structures circulaires d'ADN extra-chromosomique appelées plasmides. Il n'y a pas d'autre organelle dans le cytoplasme que les ribosomes, qui sont de plus petite taille que ceux des cellules eucaryotes. [38].

I.4.2.2. Structure bactérienne

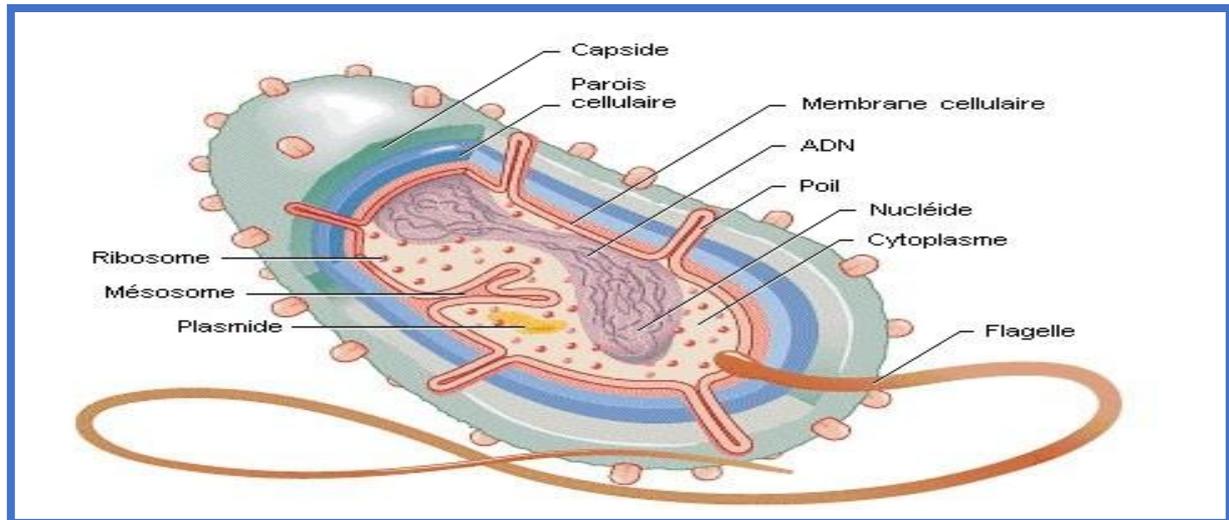


Figure I.2. Structure générale d'une bactérie [37].

a- Cytoplasme

Le cytoplasme des bactéries contient de nombreux ribosomes et un chromosome fait d'ADN à double brin, en général unique et circulaire.

b- Membrane Cytoplasmique

Entoure le cytoplasme et fait barrière avec le milieu extérieur. Elle permet le maintien d'un milieu interne dans un état constant. Elle est composée de protéines et de lipides. Elle sert de barrière perméable et sélective comme elle contrôle les échanges de la cellule avec le milieu extérieur.

c- La paroi cellulaire

Elle donne la forme à la bactérie et la protège de la lyse osmotique. Elle présente des constituants qui contribuent aux pouvoirs pathogènes. Elles protègent contre les substances toxiques, c'est le site d'action des antibiotiques. La structure de la paroi varie selon les bactéries et conditionne leur aspect après la coloration de Gram.

d- La capsule

Couche supplémentaire à l'extérieur de la paroi composée de polysaccharides.

e- Appendices

Certaines bactéries peuvent se déplacer dans un milieu liquide grâce à des flagelles de nature protéique. Certaines bactéries possèdent également des pili, qui sont des éléments rigides plus courts que les flagelles, de nature protéique. Ils peuvent intervenir dans les interactions avec d'autres bactéries ou avec des cellules eucaryotes.

I.4.2.3. Les classifications bactériennes

Il existe différents types de classifications des bactéries.

La classification de **Linné** permet de distinguer différents niveaux : le règne, l'embranchement, la famille, le genre et l'espèce. En pratique, ce sont les noms d'espèces et de genres qui sont utilisés pour les désigner

La forme de la cellule bactérienne varie beaucoup d'une espèce bactérienne à l'autre. Les plus courantes sont :

- bactéries de forme arrondies « **coques** ou **cocci** », isolées, en chaînette, en amas (nombre variable de cellules) : **Staphylocoques**, **Streptocoques** ...
- bactéries de forme allongées « **bâtonnets** ou **bacilles** », isolés, en chaînette ou amas, de longueur et diamètre variables : *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Bacillus* etc... Les bacilles également n'ont pas exactement la même forme, Certains bacilles sont fusiformes ou s'incurvent « **vibrions** » et « **spiralée** », comme *Treponema*. (Figure I.3)
- un groupe particulier de bactéries de **forme filamenteuse** se rapprochant des moisissures : les **Actinomycètes**.

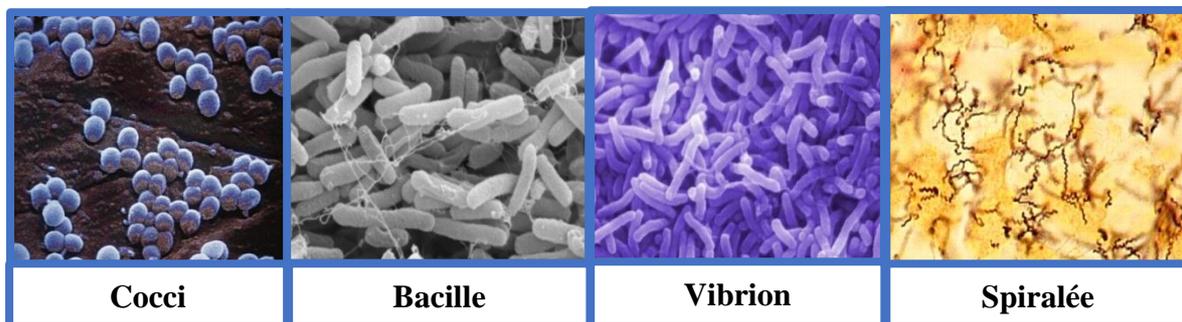


Figure I.3. Différentes formes de bactéries.

La plupart prennent la coloration de Gram, Après la coloration on distingue deux types de bactéries : bactéries à Gram positif en bleu-violet, et bactéries à Gram négatif en rosé [39]. La différence entre ces deux types se trouve au niveau de leur paroi et membrane (Figure I.4), chez les Gram-Positives a une paroi cellulaire épaisse et continue (20 à 80 nm), qui est composée en grande partie de peptidoglycane qui est lié de manière covalente à d'autres polymères de paroi cellulaire tels que les acides téchoïques, les polysaccharides et Phospholipides. Les Gram négatives ont une couche mince de peptidoglycane (5 nm à 10 nm) et une autre structure de membrane externe à l'extérieur de la couche.

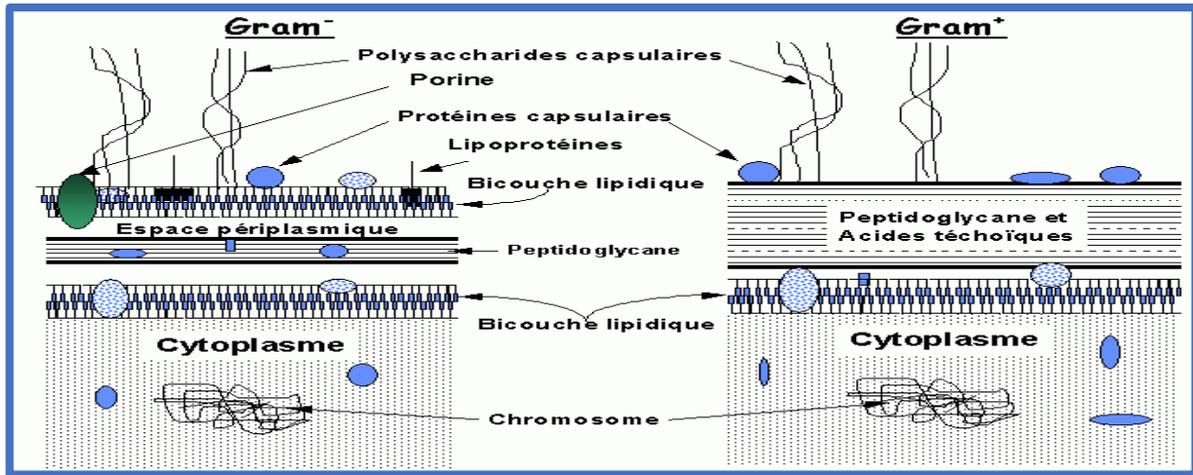


Figure I.4. Structure de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif.

Une classification Simplifiée des Bactéries montrée dans La figure I.5

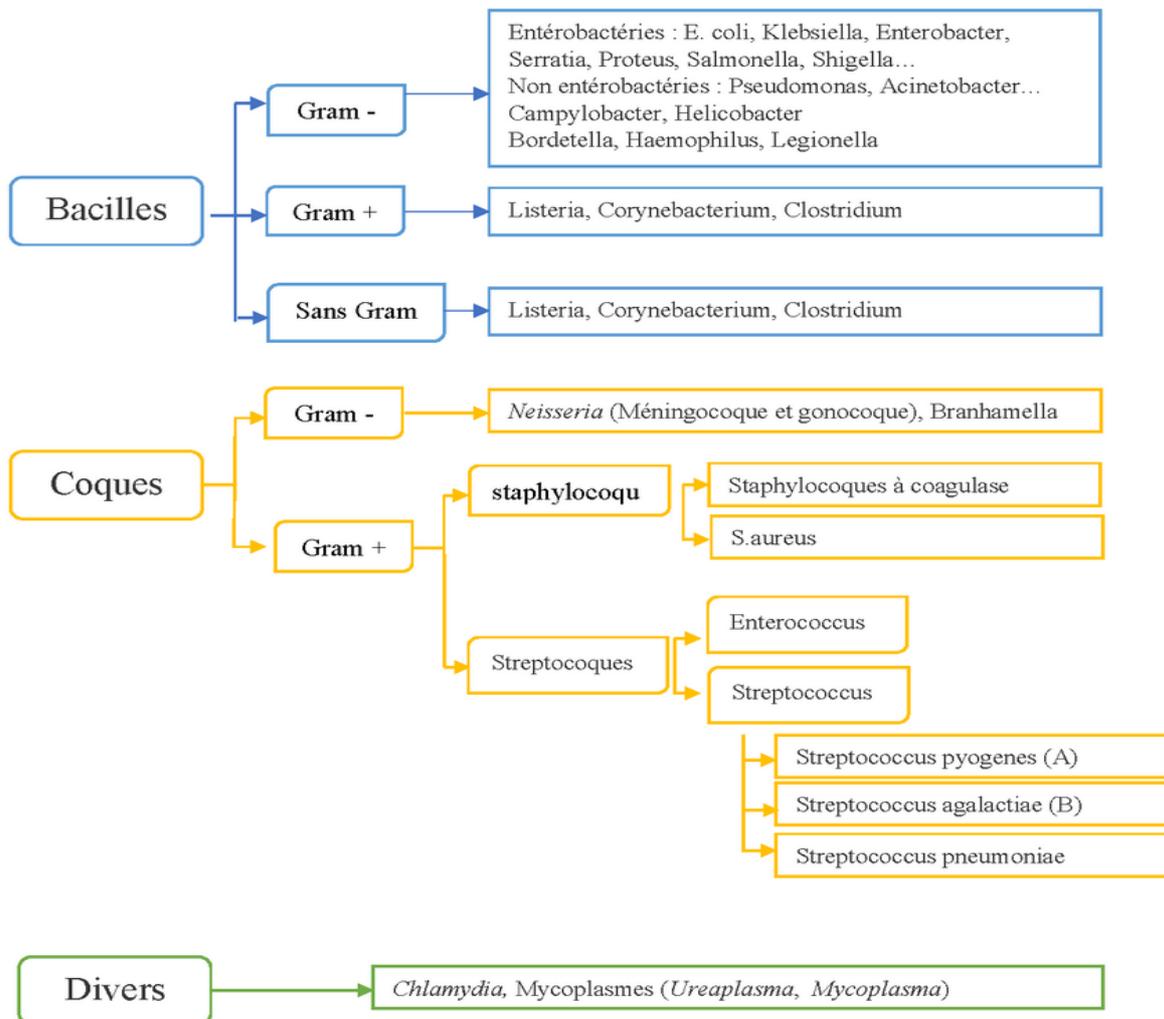


Figure I.5. Classification Simplifiée des Bactéries.

Elles peuvent être classées en fonction de leur **besoin d'oxygène** pour survivre en bactéries aérobies ou en bactéries anaérobies.

La bactérie **aérobie** vit en présence d'air ou en milieu qui contient de l'air. L'aérobiose caractérise des conditions de vie en présence d'air.

À l'inverse, la bactérie **anaérobie** vit ou fonctionne en absence d'air ou en milieu dépourvu d'air. L'anaérobiose caractérise des conditions de vie en absence d'air. Lorsque leur environnement est favorable, en termes de nutriments, température, pH, oxygène..... les bactéries pourront alors survivre et se multiplier. Dans certaines circonstances, les bactéries peuvent avoir un pouvoir pathogène important et être responsables de maladies bénignes ou graves [39].

I.4.2.4. Espèces bactériennes

Les espèces pathogènes fréquemment rencontrées dans les infections nosocomiales sont : *Escherichia coli*

C'est un germe de la famille des *Enterobacteriaceae* de Gram-négatif, il se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux géloses en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers. Il a un pouvoir pathogène sur les infections intestinales (diarrhées) et les infections extra-intestinales (infections urinaires, méningites) [40].

Pseudomonas aeruginosa

Ce sont des bâtonnets à gram-négatif, de la famille des *pseudomonadeceae*. Ils se cultivent facilement sur les milieux ordinaires à la température de 30°C en colonies larges. Il a un pouvoir pathogène sur les infections de la peau chez les brûlés et se développe dans les poumons des individus atteints de mucoviscidose. Il peut aussi provoquer des infections urinaires et des infections des bronches. [41].

Staphylococcus aureus

Ce sont des coques à Gram positif (environ 1µm de diamètre) de la famille des *Micrococcaceae*. Cette souche croît abondamment sur milieu gélose (colonies de 1 à 2 mm de diamètre). La culture est obtenue en 18 à 24 heures à 37 °C. L'espèce *S. aureus* est considérée le plus fréquemment comme pathogène pour l'homme, ils sont commensaux de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Il s'agit le plus souvent d'abcès cutanés et muqueux et qui peuvent être superficiels ou profonds. Leur toxine cause des pneumonies nécrosantes responsables de toxi-infections alimentaires [42].

Proteus mirabilis

C'est une souche incluant les familles ; *Enterobacteriaceae*. *P. mirabilis* qui pousse bien sur milieux ordinaires (c'est une Entérobactérie) à 37°C. Colonies grosses, non hémolytiques, à un pouvoir pathogène sur les voies respiratoires. Elle provoque aussi des infections localisées

surtout cutanées et des infections urinaires [43].

Acinetobacter lwoffii

C'est une souche incluant les familles ; *Moraxellaceae*. La croissance est facilement obtenue sur les milieux ordinaires. La température d'incubation doit être comprise en 30 et 35 °C, elle cause des infections nosocomiales et des infections diverses : respiratoires, méningites post- neurochirurgicales et bactériémies [44,45].

Morganella morganii

Bacille à Gram-négatif de famille d'*Enterobacteriaceae*, mobile, aéro-anaérobie facultatif. Cette bactérie est commensale du tractus digestif de divers animaux. En effet, *Morganella morganii* a été isolée de l'intestin des mammifères (notamment de l'homme et du chien). Elle est aussi responsable d'infections extra intestinales beaucoup plus que les infections urinaires. Elle est très répandue dans divers environnements tels que : les sols et les eaux d'égout [46].

Enterococcus faecalis

C'est une bactérie à Gram-positif de la famille des *Streptococcaceae*, sous forme de cellule ovoïde, se cultive bien sur milieux ordinaires, les colonies sont assez larges, légèrement bombées, blanches ou gris-blanc. Les *Enterococcus faecalis* sont retrouvés partout dans l'environnement et signent une contamination fécale et au niveau des téguments et des muqueuses de l'homme et des animaux où ils vivent à l'état commensal (bouche et intestin), responsable d'infections du tractus urinaire, d'endocardites et d'infections intra-abdominales [47].

Klebsiella pneumoniae

L'espèce *Klebsiella pneumoniae* est un bacille à Gram négatif, immobile, non sporulé, anaérobie facultatif et qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* La croissance est obtenue sur les milieux non sélectifs et des milieux sélectifs lactosés ; ceci après 24 heures d'incubation à 37°C. Isolée des eaux de surface, des eaux usées, des effluents industriels, du sol, du bois, de végétaux divers et des aliments, la *Klebsiella* provoque des infections urinaires et des surinfections des bronches chez les bronchitiques chroniques, voir des abcès du poumon [44].

Staphylococcus coagulas-négative

Les *staphylocoques* sont des cocci à Gram positif classiquement disposés en amas, immobiles, non sporulés. Actuellement on distingue 44 espèces. L'espèce *Staphylococcus*, se distingue généralement des autres staphylocoques appelés *staphylocoques à coagulase négative* (SCN) par la présence d'une coagulase. Les *staphylocoques* se développent bien sur gélose au

sang ordinaire en donnant des colonies distinctes, isolées. La majorité des *staphylocoques à coagulase négative* sont des bactéries opportunistes essentiellement responsables d'infections nosocomiales

I.4.3. Les champignons

Les champignons, ou les mycètes, sont des organismes eucaryotes uni- ou pluricellulaires, incluant des espèces macroscopiques (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes) d'aspect filamenteux ou lévuriforme. Ces derniers peuvent devenir visibles lorsque leur développement est important. Ces champignons sont appelés couramment « moisissures », véritables agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères capables de coloniser des substrats très divers (végétaux, papier, cuir, murs...). Il s'agit d'organismes hétérotrophes (nécessitant une source de carbone et d'azote pour leur développement).

Certains champignons sont unicellulaires (les levures) ou pluricellulaire dans le cas des champignons filamenteux. Ils forment des hyphes, sortes de tuyaux plus ou moins larges contenant le cytoplasme. Les hyphes se développent par croissance de leurs extrémités. Elles se ramifient et forment ainsi une sorte de toile colonisant le substrat où elle dit: le **mycélium**. Les champignons se multiplient en général avec des spores. Ces spores sont de deux types: les spores asexuées, servant la plupart du temps à la prolifération en masse du champignon, et des spores sexuées, souvent spores de résistance permettant au champignon de survivre des périodes désavantageuses [48].

L'enveloppe de la cellule fongique est constituée d'une paroi et d'une membrane, tout comme la cellule végétale ; la paroi fongique (figure I.6) est composée à **80%** de polysaccharides antigéniques et est formée de **3** couches :

- 1** : La couche interne, constituée de chitine, assure le maintien et la rigidité de la paroi.
- 2** : La couche intermédiaire, constituée de **β -(1,3)-glucane**, qui confère une certaine élasticité, à la paroi, est aussi le lieu d'ancrage des manoprotéines.
- 3** : La couche externe, constituée de manoprotéines [49].

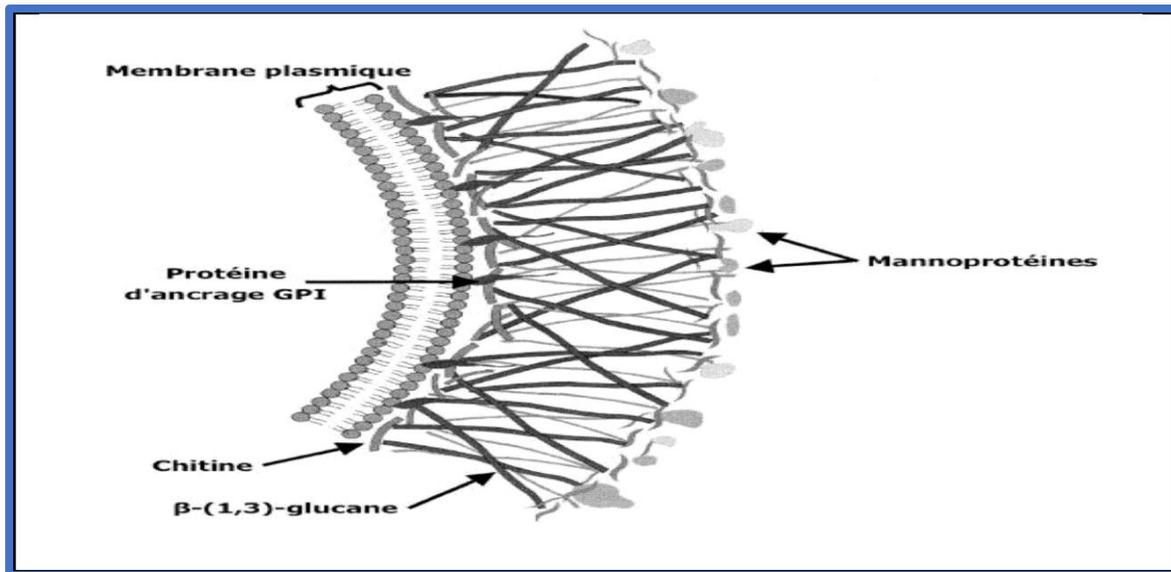


Figure I.6. Structure de la paroi cellulaire et de la membrane cytoplasmique d'une cellule fongique [50].

Les champignons se divisent en deux groupes essentiels ; pathogènes et phytopathogènes.

I.4.3.1. Les champignons pathogènes

Une mycose est une infection provoquée par des champignons ou des levures parasites ou des saprophytes. De très nombreuses espèces de champignons ou levures microscopiques peuvent se révéler pathogènes pour l'homme dans certaines conditions. Les principales mycoses sont : Les candidoses et les dermatophytoses [51].

I.4.3.1.1. Classification

En mycologie médicale, il est pratique de distinguer plusieurs catégories de champignons potentiellement pathogènes pour l'homme, en fonction de leur morphologie :

a. Les levures

Ce sont des organismes microscopiques, unicellulaires, à multiplication asexuée par bourgeonnement (blastospores), qui produisent parfois du mycélium et du pseudo-mycélium (Figure I.7). Il s'agit d'organismes hétérotrophes ; qui ne peuvent se développer qu'en présence de matières organiques [52]. Elles sont représentées essentiellement par *Candida*, mais il y a aussi *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Malassezia* et *Saccharomyces* [53].



Figure I.7. Levure.

b. Les champignons filamenteux

Ces organismes ont un système de filaments : des hyphes. Ils sont à multiplication asexuée par production de spore et fragmentation des hyphes (Figure I.8) [54].

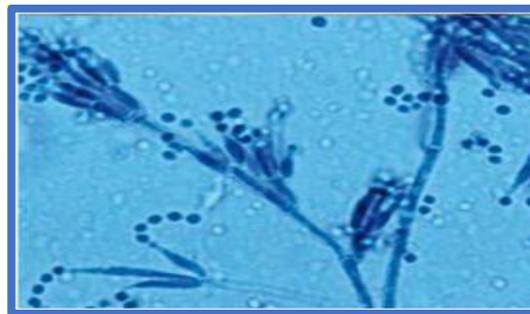


Figure I.8. Champignons filamenteux.

On en distingue deux types :

b.1. Les champignons à filaments septés :

- ✓ *Aspergillus, Fusarium, Histoplasma capsulatum, Penicilliumetc.*
- ✓ Les dermatophytes : qui sont des champignons kératinophiles, représentés par trois (03) genres : *Trichophyton, Microsporum* et *Epidermophyton* [55].

b.2. Les champignons à filaments aseptés

Ils sont représentés par la classe des zygomycètes (*Rhizopus, Mucor, Absidia...etc*) responsables des mucormycoses. [53].

I.4.4. Infections bactériennes

Les infections bactériennes sont responsables de maladies allant de l'angine bénigne aux épidémies de choléra et de peste. Les bactéries sont des micro-organismes remarquablement adaptables, à l'origine de maladies graves ou de simple colonisation de la peau. Elles sont capables de survivre et de multiplier dans l'environnement et certaines forment des spores qui

survivent pendant des décennies. Un grand nombre d'entre elles parasite les animaux, et n'infecte l'homme que par hasard. D'autres ne peuvent survivre qu'au contact intime de leur hôte humain. Alors que la plupart des bactéries se répliquent en quelques heures ou jours, d'autres ont une croissance beaucoup plus lente, entraînant des infections chroniques difficiles à traiter.

En plus d'une grande diversité d'habitat, les bactéries ont un important potentiel d'adaptation génétique. Elles contiennent souvent de l'ADN plasmidique, capable de transférer du matériel génétique au sein de l'espèce ou vers des espèces différentes. Cette adaptabilité génétique peut accroître à la fois leur pouvoir pathogène et leur résistance aux antibiotiques [56].

I.4.5. Infections Fongiques

La plupart des mycètes sont saprophytes, excepté les champignons parasites responsables de certaines maladies et qui peuvent infecter les plantes et les animaux. Toutefois les agents des teignes, les dermatophytes, sont pour leur grande majorité des champignons strictement parasites. Le développement d'une pathologie fongique chez l'humain et l'animal dépend souvent de facteurs prédisposants comme l'existence de pathologies concomitantes (SIDA), d'évènements associés (chirurgie, traitement antibiotique,...) ou de facteurs environnementaux (conditions d'élevages favorisant les contacts rapprochés,...) [57]. Les infections à levures ont vu leur incidence augmenter et leur localisation se diversifier. Parmi le genre *Candida*, le *Candida albicans* reste l'espèce la plus fréquemment rencontrée. En pathologie, *Candida albicans* est la cause, de 70 à 80 % des cas de candidoses humaines. C'est l'agent des mycoses cutanées (Figure I.9) (impétigo) et unguéales (intertrigos), des mycoses digestives (muguet et buccal), intestinales, biliaires et génitales, des mycoses broncho-pulmonaires, viscérales (abcès cérébraux) [58]. Les mycoses, situées au premier rang des infections cutanées, représentent une pathologie fréquemment évoquée en pratique dermatologique [59].



Figure I.9. Mycoses cutanées

Dans la pathologie fongique ou mycosique, trois types de mycoses humaines sont fréquentes et universelles : les dermatophytoses, le Pityriasis versicolor et les candidoses cutanéomuqueuses. D'autres sont plus rares mais profondes et sévères [45] (Tableau I.2).

Tableau I.2. Principaux types d'infections fongiques rencontrées chez l'homme [60].

Type d'infection	Agent responsable	Site d'infection
Cryptococcoses	<i>Cryptococcus neoformans.</i>	Poumon, cerveau (méninges et liquide céphalorachidien)
Candidoses	<i>C. albicans, C. glabrata, C. parapsilosis, C. krusei.</i>	Peau et muqueuses, tractus gastro-intestinal et sang
Dermatophytoses	<i>Trychophyton, Microsporum et Epidermophyton.</i>	Cuir chevelu, peau, ongles
Blastomycoses	<i>Blastomyces dermatitidis.</i>	Visage, mains et pieds
Sporotrichoses	<i>Sporothrix schenckii.</i>	Peau

Les infections fongiques restent les plus graves et leur fréquence a augmenté de façon considérable au cours des dernières années en raison principalement du nombre accru de patients immunodéprimés et d'interventions médicochirurgicales invasives [61].

I.4.6. Les antibiotiques

L'antibiothérapie est l'un des plus grands succès médicaux du siècle passé. À la suite de la découverte de la pénicilline par Alexander Fleming en 1928 et de son utilisation à partir de la Seconde Guerre mondiale, de nombreuses familles d'antibiotiques ont été découvertes, permettant de faire considérablement reculer la mortalité par maladie infectieuse au cours du XXe siècle. Combinés à certains vaccins antibactériens, les antibiotiques se sont révélés efficaces pour lutter contre les grandes maladies épidémiques : tuberculose, lèpre, peste, etc. [62]

I.4.6.1. Définition

Les antibiotiques sont des agents antimicrobiens non ou relativement peu toxiques pour l'organisme humain ou animal. Ce qui caractérise l'ensemble de ces agents antimicrobiens, c'est leur mécanisme d'action qui est le support de leur toxicité sélective. Sans aucun doute, les

antibiotiques représentent actuellement l'un des groupes de médicaments les plus employés en médecine.

Leur utilisation clinique, dès la fin de la première moitié du 20^{ème} siècle, a radicalement modifié le pronostic des maladies infectieuses d'origine bactérienne. Cependant, la recherche de nouvelles molécules s'avère nécessaire car, dès le début de l'ère de l'antibiothérapie, ces substances ont montré un certain nombre d'inconvénients et de limites d'utilisation résumés comme suit [63, 64, 65] :

- Effets secondaires et toxicité des molécules antimicrobiennes pour l'organisme traité.
- Tolérance et résistance croissante des germes infectieux aux antibiotiques.
- Difficultés rencontrées dans le traitement des maladies exigeant la destruction des germes pathogènes indépendamment des facultés de défense du malade (patients immunodéprimés) [66].

I.4.6.2. Types d'antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être soit bactéricides qui arrêtent le développement des micro-organismes par mort cellulaire avec ou sans lyse et à dose plus élevée, soit bactériostatiques qui arrêtent le développement des micro-organismes par inhibition partielle ou totale de leur croissance et à faible dose.

I.4.6.3. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont très nombreux et peuvent être classés selon plusieurs critères [54] :

a. En fonction de leur origine

- **Les antibiotiques naturels ou produits par les micro-organismes :**

Champignons (Pénicilline, Céphalosporine) ou bactéries (streptomycine, chloramphénicol, polypeptides).

- **Les antibiotiques synthétiques ou produits obtenus entièrement par voie chimique :**

Sulfamides. Acides nalidixiques

- **Les antibiotiques semi-synthétiques :**

Ces antibiotiques sont obtenus à partir d'une fraction moléculaire naturelle sur laquelle a été greffé un radical chimique.

b. En fonction de leur spectre d'activité :

- **Large spectre :** Actif sur la majorité des bactéries à Gram positif ou négatif.

- **Spectre limité** : Actif sur les bactéries à Gram positif et quelques Gram négatif.
- **Spectre étroit** : Actif uniquement sur certains germes à Gram positif ou sur certains Gram négatif.

c. En fonction de leur mode d'action :

En fonction des cibles bactérienne : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse d'acide nucléique.

d. En fonction de leur structure chimique :

Les nombreux antibiotiques peuvent être groupés en familles. Une famille d'antibiotique comprend des composés ayant des analogies de structure, des mécanismes d'action comparable. Par exemple :

- Les β -lactamines (Pénicillines, Céphalosporines, Pénèmes.....)
- Les quinolones (L'acide nalidixique, L'acide oxolinique, L'acide pipémidique)
- Les sulfamides (Sulfafurazol, Sulfanilamide, Sulfacétamide.....)
- Les polypeptides (Colistine, Colistiméthate). [68-74]

I.4.6.4. Mode d'action des antibiotiques

Il existe quelques grandes familles de mode d'action pour les antibiotiques (Figure I.10, Tableau I.3) [67,75]

- **Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne :**

Certaines bactéries sont protégées de l'environnement extérieur par une paroi. Il existe une machinerie de synthèse qui fabrique les composants de cette paroi et qui est composée du peptidoglycane, d'enzymes et de systèmes de transport acheminant les composants à la surface cellulaire. Il existe un ensemble d'antibiotiques qui bloquent différentes étapes de cette machinerie ; exemple en inhibant la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane.

- **Action sur la membrane cellulaire :**

Un pore (un trou) dans la membrane qui va permettre la fuite des composés cellulaires. Il a existé certains antibiotiques qui agissent comme des détergents qui désorganisent les lipides. Ce qui produit de graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur.

- **Inhibition de la synthèse protéique :**

La synthèse des protéines est un processus essentiel des cellules vivantes, dans ce cas les molécules antibiotiques sont capables de bloquer l'action des facteurs de traduction associés au ribosome. Ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines anormales.

• **Inhibition de la synthèse de l'acide nucléique :**

La synthèse des acides nucléiques, ADN et ARN sont absolument vitaux pour les cellules, sans eux, la division cellulaire et la fabrication des protéines est impossible [76].

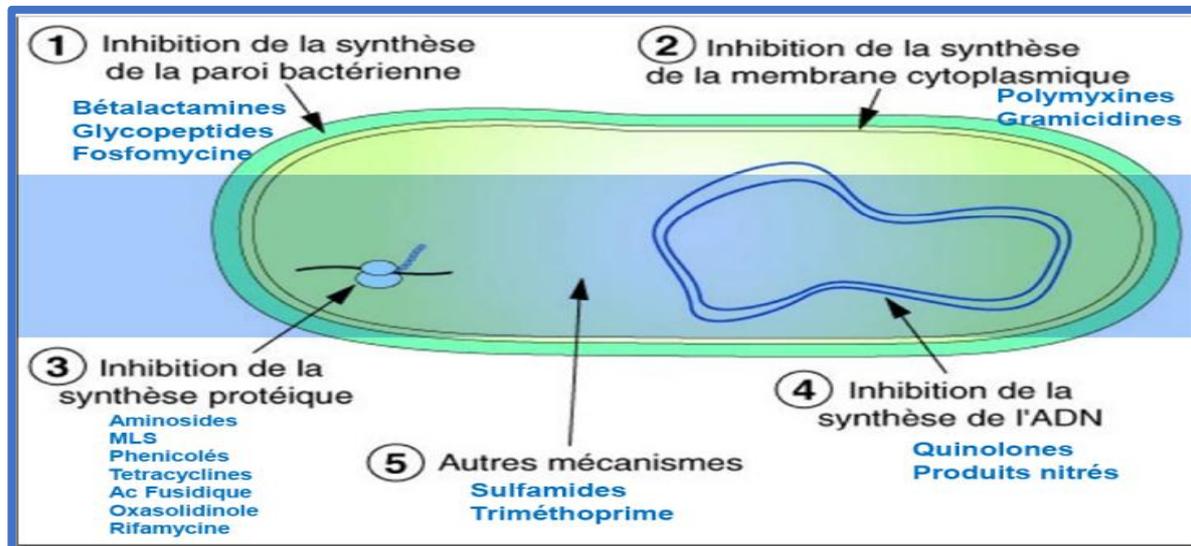


Figure I.10. Classification des antibiotiques selon la cible.

Tableau I.3. Principales familles d'antibiotiques en fonction de leur mécanisme d'action.

Mécanisme d'action	Famille d'antibiotiques
Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire	Penicillines, Cephalosporines, Carbapénèmes, daptomycines, monobactames, glycopeptides
Inhibition de la synthèse protéique	Tétracyclines, aminoglycosides, Oxazolidinones, Streptogramines, Kétolides,
Inhibition de la synthèse de l'ADN	Fluoroquinolones
Inhibition compétitive de la synthèse de l'acide folique (folates)	Sulfonamides, Triméthoprim
Inhibition de la synthèse de l'ADN	Rifampine

I.4.6.5. La résistance aux antibiotiques

I.4.6.5.1. La résistance naturelle

On parle de résistance naturelle lorsque toutes les souches d'une même espèce sont résistantes à un antibiotique. L'expression d'un caractère inné, partagé par l'ensemble de la communauté bactérienne, rend inappropriée l'utilisation de certains antibiotiques. Des particularités structurales de la paroi cellulaire, empêchant les antibiotiques d'accéder à leur cible, ou l'absence de cible sont autant de facteurs, qui conditionnent la résistance naturelle.

I.4.6.5.2. La résistance acquise

La résistance acquise survient lorsque, seules, quelques souches d'une même espèce, normalement sensibles à un antibiotique, deviennent résistantes. Cette résistance peut être acquise par mutation ou par transfert de gènes.

La résistance acquise par mutation est aussi qualifiée de résistance chromosomique. Le phénomène de mutation est conditionné par l'utilisation des antibiotiques. Ces derniers ne sont pas des agents mutagènes mais ils contribuent à sélectionner, de manière spontanée, des mutants résistants au sein d'une population bactérienne. En éliminant les bactéries sensibles, les antibiotiques permettent aux mutants résistants de se multiplier plus facilement. La cause principale de l'évolution et de l'extension des résistances aux antibiotiques est leur prescription à grande échelle en thérapeutique humaine. [77] Ces prescriptions sont souvent mal ciblées, comme dans les cas d'infections virales, ou incorrectement dosées [78].

Plusieurs mécanismes sont souvent impliqués dans la résistance aux antibiotiques, il est très nécessaire de les classer en quatre critères (Figure I.11) :

- l'inhibition enzymatique aussi appelée hydrolyse enzymatique ;
- la réduction de la perméabilité cellulaire aussi appelée imperméabilité ;
- l'altération des sites de liaison ciblées par l'antibiotique aussi appelées modification de la cible ;
- La pompe à efflux qui peut aussi se nommer l'hyperexpression \ efflux actif.

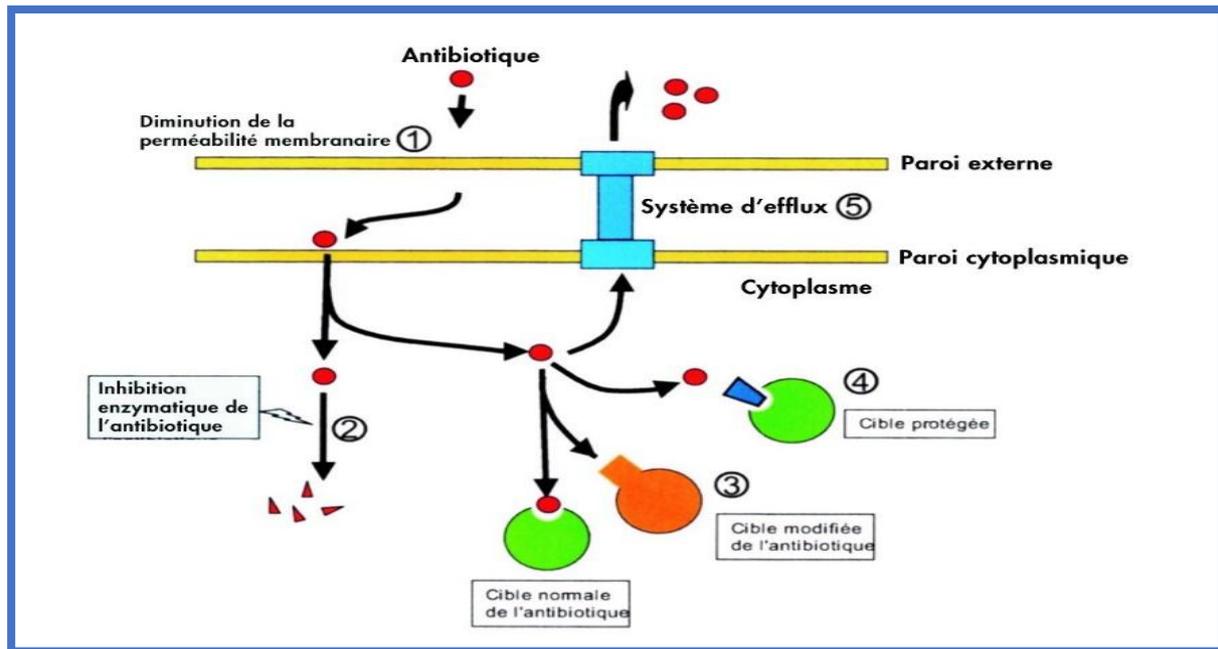


Figure I.11. Mécanismes de résistance.

I.4.6.6. Paramètres d'activité

L'analyse de l'activité d'un antibiotique donné sur une bactérie a conduit à définir un certain nombre de paramètres qualitatifs et quantitatifs, pour chaque antibiotique on mesure le diamètre d'inhibition en mm et on déduit la sensibilité ou la résistance. On définit deux concentrations critiques d'antibiotique [79] :

CMI : la concentration minimale inhibitrice. Dans la pratique, on définit la CMI comme la concentration minimale d'antibiotique permettant d'inhiber (bactériostase) totalement la multiplication bactérienne, après 18 à 24 heures à 37 °C.

CMB : la concentration minimale bactéricide, qui est la plus faible concentration permettant de détruire ou de tuer (bactéricidie) 99,99 % des bactéries après 18 à 24 heures de contact avec l'antibiotique. L'analyse de la concentration minimale bactéricide et de la concentration minimale inhibitrice (CMB/CMI) permet de caractériser l'effet de l'antibiotique étudié sur une souche bactérienne donnée :

- Lorsque le rapport $CMB / CMI = 1$, l'antibiotique est dit « bactéricide absolu »
- S'il est proche de 1, l'antibiotique est dit « bactéricide »
- S'il est supérieur à 2, l'antibiotique est dit simplement « bactériostatique ».

I.4.7. Les antifongiques

Les antifongiques sont des molécules capables de détruire spécifiquement les différents champignons impliqués en mycologie médicale (fongicide), ou au moins de réduire leur prolifération (fongistatique) [80]. Ils sont classés en fonction de plusieurs données [81, 82] (Figure I.12) :

- Selon localisation mycose (typiques et systémiques) ;
- Selon cibles sur champignon (Paroi, Membrane, Noyau (ADN et ARN)) ;
- Selon nature chimique :
 - Les polyènes (L'amphotéricine B, La nystatine) ;
 - Les azolés (Le miconazole, Le fluconazole...) ;
 - Les dérivés pyrimidiques (Le 5-fluorocytosine) ;
 - Les échinocandines.

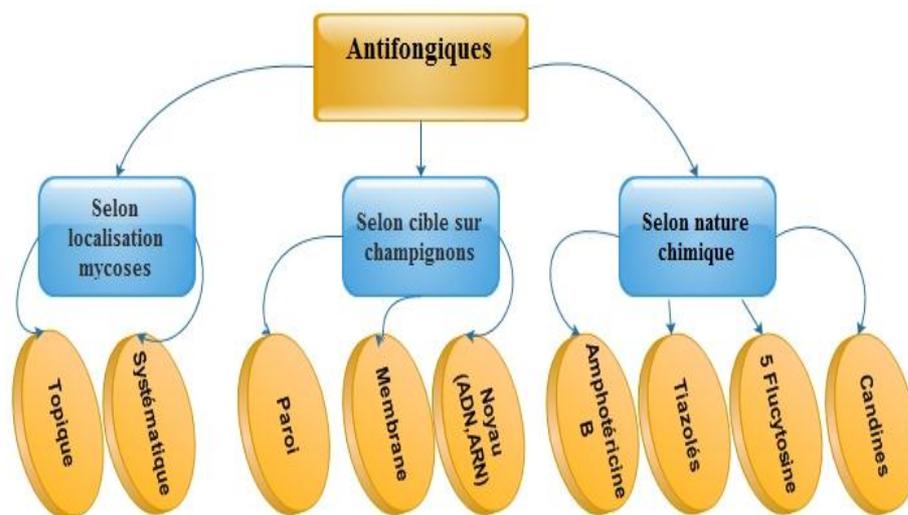


Figure I.12. Classification des antifongiques.

I.4.7.1. Cibles des antifongiques

- **L'ergostérol membranaire**

La membrane plasmique de la levure est constituée d'une bicouche lipidique incrustée de protéines. Cette membrane joue le rôle de barrière entre le microorganisme et l'extérieur, tout en permettant les échanges.

L'ergostérol est un constituant essentiel nécessaire au maintien de la structure.

L'activité fongique des dérivés azolés repose sur l'inhibition de la synthèse de l'ergostérol, empêchant la constitution d'une membrane plasmique fonctionnelle.

Les polyènes, tel que l'amphotéricine B (AMB), quant à eux, interagissent directement avec ce constituant membranaire. Cette interaction forme des pores perméables dans la membrane de la levure (Figure I.13).

- **La paroi cellulaire fongique**

C'est la cible privilégiée des échinocandines. Elles inhibent la biosynthèse de glucane de la paroi par l'inhibition de la β -1,3- glucane synthétase. Cela entraîne l'arrêt de la synthèse de la paroi cellulaire (effet fongicide).

- **Le métabolisme pyrimidique**

Certain antifongiques tels que les dérivés pyrimidiques peuvent inhiber la biosynthèse d'ADN ou encore interférer avec la traduction des ARN en protéines fongiques [83].

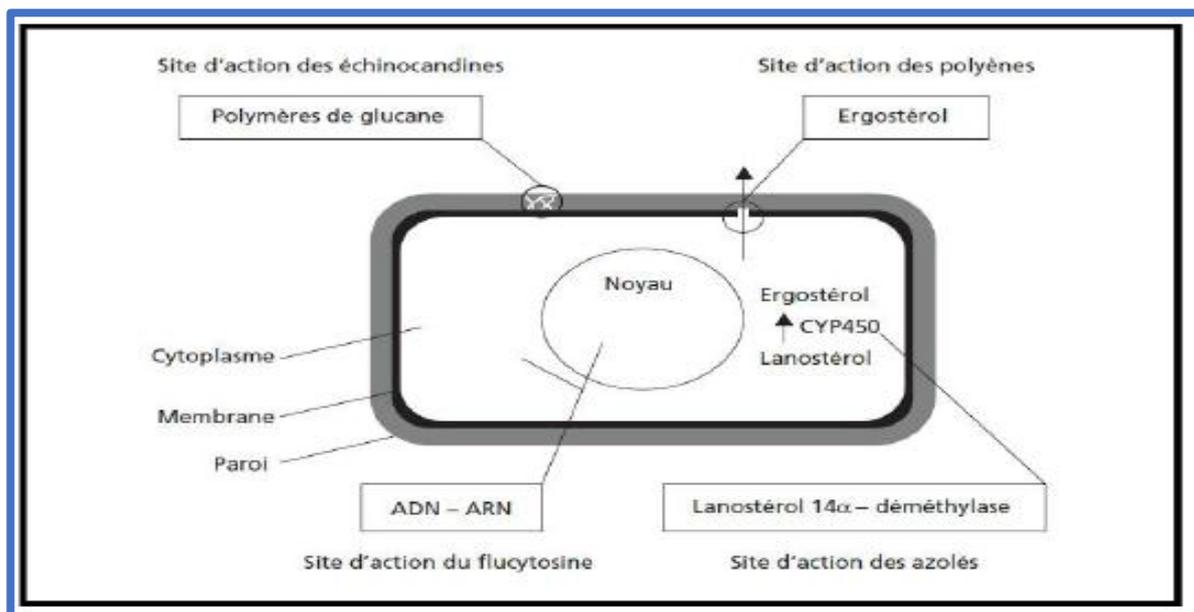


Figure I.13. Sites d'action des antifongiques.

I.4.7.2. Mécanismes de la résistance aux antifongiques

Tout comme chez les bactéries, il existe deux types de résistances chez les champignons :

a. la résistance intrinsèque : naturellement présente chez toutes les souches d'une même espèce ou d'un même genre.

b. la résistance acquise : induite par un processus de sélection génétique sous l'effet de l'application répétée d'un antifongique.

La résistance intrinsèque peut être due à une absence de concentration de l'antifongique dans la cellule ou à une faible affinité de l'antifongique pour sa cible.

La résistance acquise est un processus dynamique qui peut potentiellement être observé chez n'importe quelle espèce fongique et vis-à-vis de n'importe quelle molécule antifongique.

Les mécanismes moléculaires qui rendent compte de ce mode de résistance incluent :

- la modification de la cible de l'antifongique (liée à une ou plusieurs mutations du gène codant pour la cible).
- la surexpression de la cible de l'antifongique (par exemple liée à une modification du promoteur du gène)
- la surexpression de pompes membranaires d'efflux (qui réduisent rapidement la concentration d'antifongiques dans la cellule fongique) [84].

I.5. Rappel sur l'activité biologique des bases de Schiff et leurs complexes métalliques

Au cours de ces dernières années, les chercheurs ont donné une grande importance à l'effet biologique des bases de Schiff. Parmi les travaux consacrés à cet effet on peut citer :

Afin d'établir le rôle biologique des métaux, **C. Spinu et collaborateur [85]**. Ont synthétisé une nouvelle base de Schiff bidentate dérivée du 2-thiophenecarboxaldehyde, et de ses complexes de Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), et Cd(II) (Schéma (I.12)). L'analyse élémentaire, l'infrarouge et la RMN des complexes ont confirmé la coordination de l'atome central au métal par l'azote du groupe azométhine (- HC=N -) et de l'atome de soufre de l'anneau de thiophène.

L'activité antibactérienne de la base de Schiff et de ses complexes contre (*E. coli*, *S. aureus*, et *P. aeruginosa*) a été étudiée. Cette étude a montré des degrés variables d'effet inhibiteur selon la séquence suivante : Co(II) = Fe(II) > Ni(II) = Zn(II) = Cu(II) > Cd(II). L'importance de ces résultats se situe dans le fait que ces complexes pourraient raisonnablement être employés pour le traitement de quelques maladies.

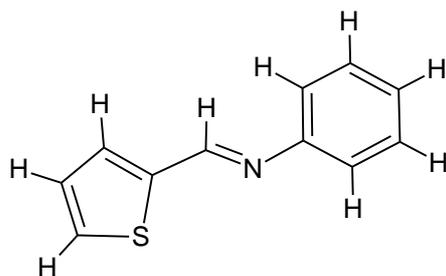


Schéma I.12. Structure du ligand.

Z. H. Chohan et collaborateur [86]. Ont synthétisé et caractérisé par méthode spectroscopique des bases de Schiff tridentates par une réaction de condensation de 2-aminothiazole avec le furane, le thiophène et le pyrrole 2-carboxaldehyde. Ces bases de schiff tridentates forment des complexes de type $[M(L_2)] X_2$ [M Co (II), Cu(II), Ni(II) ou Zn(II)], $L=N$ -(2-furanylmethylene)-2-aminothiazole (L^1), N -(2-thiophenylmethylene)-2-aminothiazole (L^2), N -(2-pyrrolylmethylene)-2-aminothiazole (L^3) et $X=Cl$. Ces composés possèdent une activité antibactérienne contre les bactéries pathogènes par exemple : les organismes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les chélates métalliques se sont révélés posséder une activité antibactérienne plus grande que les bases de schiff non complexées.

Plus récemment, **G.G. Mohamed et collaborateur [87].** ont rapporté en 2015 la synthèse et l'activité antibactérienne de $[N1, N3$ -bis(furan-2-ylmethylene)propane-1,3-diamine] (**I**) (Schéma I.13) contre des bactéries de Gram négatives (*Escherichia coli* et *Proteus vulgaris*) et Gram positif (*Bacillus vulgaris* et *Staphylococcus pyogenes*). Les auteurs ont montré que le ligand de base de Schiff s'est révélé avoir une activité modérée contre toutes les souches bactériennes testées avec une concentration minimale inhibitrice de 25mg/ml.

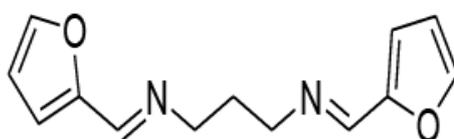


Schéma I.13. N,N-bis(furan-2-ylmethylene)propane-1,3-diamine (**1**).

Z.H. Chohan et collaborateur [88] ont synthétisé quelques complexes du Co(II), du Ni(II) et du Zn (II) avec une série de ligands bases de Schiff dérivés pyrazine biologiquement actifs issus de la condensation de 2- aminopyrazine avec salfcylaldhyde et acetamidobenzalaldehyde. L'évaluation biologique du ligand par rapport à leurs complexes ont été déterminées à une concentration de 30 μ g / 0,01 ml de solution dans le DMF par la méthode de diffusion sur disque contre les contraintes bactériennes notamment *Escherichia coli*, le *staphylocoque aureus* et le *Pseudomonas aeruginosa*. Les composés ont été testés.

Quatre nouveaux complexes qui sont produits par un ligand bidentate avec des ions du chrome (III), du cobalt (II), du nickel (II) et du cuivre (II) ont été synthétisés par **Rathoreet collaborateur [89]** (Schéma I.14). Ces composées ont été évalués pour leur activité antimicrobienne contre les deux bactéries *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et deux champignons,

Aspergillus niger et *Fusarium oxysporum*. Ces auteurs utilisent la méthode des disques de papier pour l'activité antibactérienne à des concentrations de 500 à 1000 ppm de chaque composé qui sont préparés dans le DMSO et la technique des plaques d'agar pour l'activité antifongique à des concentrations de 100 et 200 ppm de chaque composé qui est préparé dans le DMSO. L'activité antimicrobienne a montré que les complexes sont plus actifs que le ligand libre.

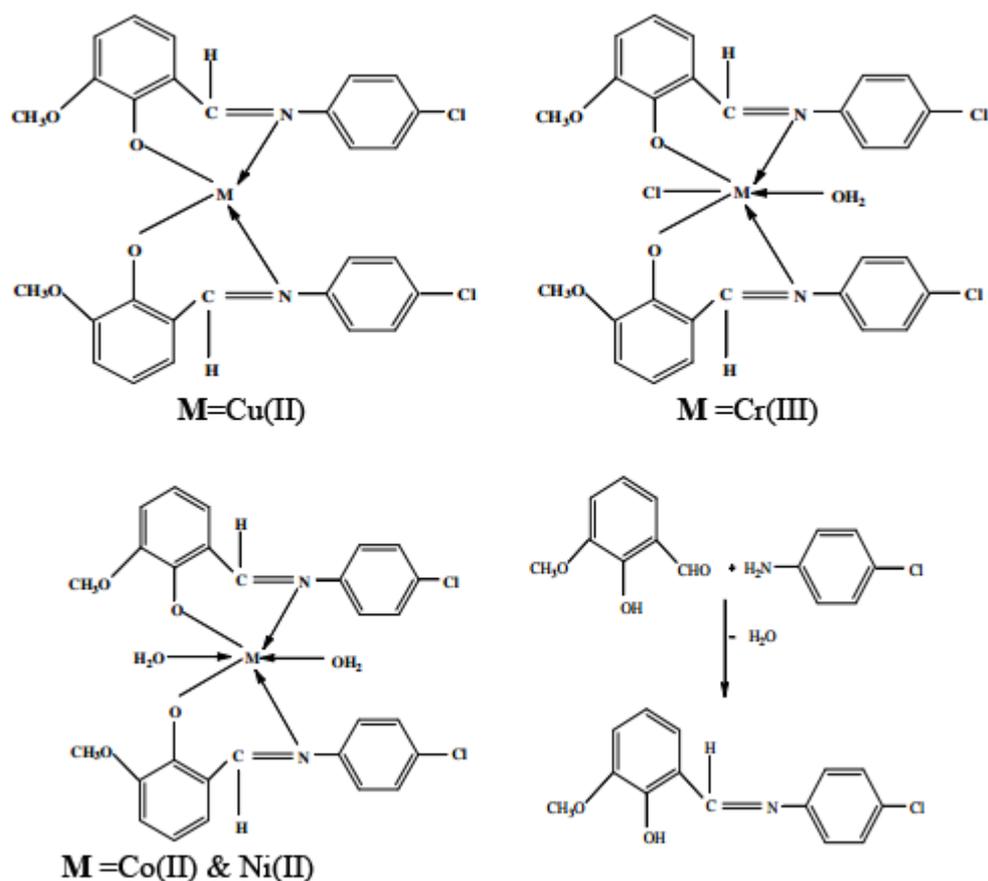


Schéma I.14. Les structures du ligand et ses chélates métalliques qui sont présentes une Activité antimicrobienne.

Par ailleurs, **Jeewoth et collaborateur [90]** ont décrit la préparation et la caractérisation par les analyses élémentaires, les mesures magnétiques, les spectres IR, RNM du ^1H et ^{13}C des complexes du cuivre(II), zinc(II) et nickel(II) des dérivés bases de Schiff de 2,3-diaminopyridine avec le salicylaldehyde, le 4-hydroxybenzaldehyde et le 4-nitrobenzaldehyde (Schéma I.15). Ces composés possèdent une bonne propriété antibactérienne *in vitro* contre des souches pathogènes bactériennes telles que *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* et *Staphylococcus aureus* d'une part et dont les complexes métalliques sont des bactéricides plus puissants que leurs précurseurs, bases de Schiff d'autre part.

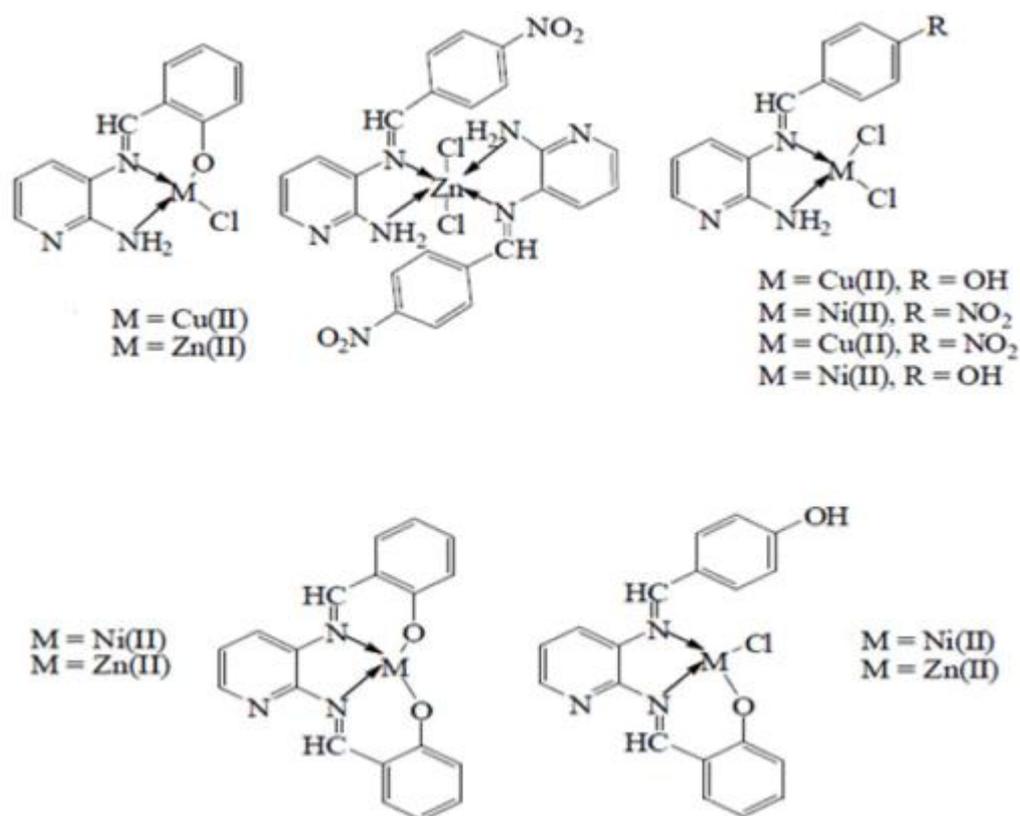


Schéma I.15. Structures des complexes métalliques.

Des complexes de Co(II), Ni(II) et Cu(II) de deux bases de Schiff dérivés de la 5-bromosalicylidène- 3,4-diméthylaniline (BSMA) et 5-bromosalicylidène-3,4-dichloroaniline (BSCA) ont été préparés par **Jain et collaborateur [91]** et caractérisés par analyse élémentaire, FT-IR, conductance molaire, spectres électroniques, RMN¹H, la conductivité électrique et l'analyse thermique. Les données analytiques ont révélé que tous les complexes présentaient le rapport 1:2 (métal : ligand) avec le nombre de coordination 4 ou 6. Les bases de Schiff et leurs complexes métalliques montrent une bonne activité contre les bactéries à Gram-positives; *Staphylococcus aureus* et les bactéries à Gram-négatives; *Escherichia coli* et les champignons *Aspergillus niger* et *Candida albicans*.

La Synthèse d'une base de Schiff dérivée d'aniline et de l'aldéhyde salicylique et ses complexes du Co (II), Mn (II) et Zn (II) a été rapportée par **Rehmana et collaborateur [92]** (Schéma I.16) et caractérisée par analyse élémentaire, des techniques spectroscopiques (FT-IR et RMN). Les résultats obtenus par FT-IR et RMN ont montré que les complexes de métaux de transition ont une géométrie octaédrique. L'application biologique a révélé que la base de Schiff

et ses complexes métalliques possèdent une activité significative contre tous les micro-organismes pathogènes (souches bactériennes : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi* ; souches fongiques : *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, and *Aspergillus flavus*).

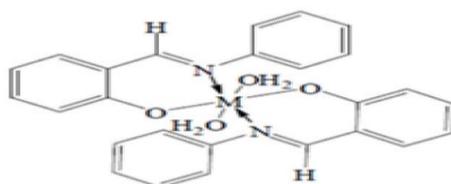
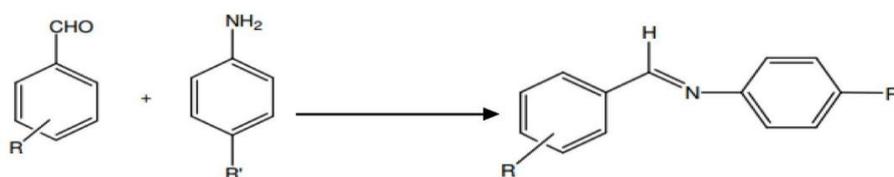


Schéma I.16. Structure des complexes métalliques ; M= Mn(II), Co(II), Zn(II).

Amanullah et collaborateur [93] élargissent l'échelle des enquêtes sur les bases de Schiff synthétisées qui sont obtenues à l'aide de la réaction des aldéhydes aromatiques avec des amines aromatiques dans un milieu éthanolique dans des conditions acides (Schéma I.17) par une activité antibactérienne *in vitro* de ces bases de Schiff contre divers microorganismes tels que *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*. Le résultat obtenu a montré que les bases de Schiff synthétisées ont une activité significative, mais inférieure à celle du médicament standard.



R = 4-CH₃; R= 3-OCH₃, 4-OCH₃, 5-OCH₃, 4-OH, 4-F, 4-Cl, 4-Br, 4-I.

Schéma I. 17. Réaction de synthèse de dérivés bases de Schiff dans un milieu acide.

Gudasi et collaborateur [94] ont rapporté la synthèse, la caractérisation et les études biologiques des complexes de dioxouranium (II) et le thorium (IV), issus de la base de Schiff dérivée de la pyridine et de 2-amino acétophénone (Schéma I.18).

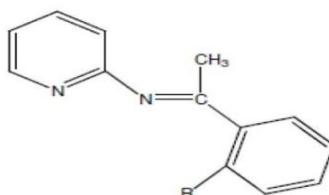


Schéma I.18. Bases de Schiff élaborée par Gudasi et coll.

L'activité antibactérienne de deux nouvelles bases de Schiff dérivées de 2, 3-diaminopyridine (DAPY) et ortho-vanilline (Schéma I.19) et leurs complexes de Cu(II), Ni(II), Zn(II), Fe(III) et Ru(II) a été décrite par **L.W. Henri et collaborateur [95]**.

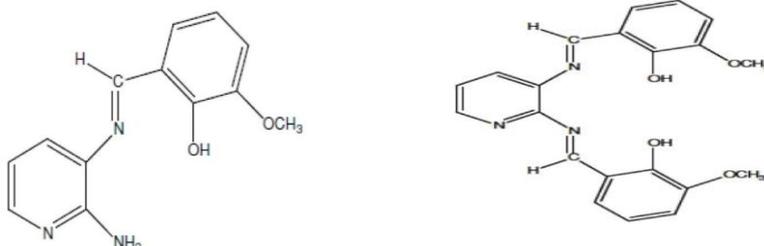


Schéma I.19. Bases de Schiff décrites par L.W. Henri et coll. à effet antibactérien.

Les résultats du criblage antibactérien de deux bases de Schiff et leurs complexes métalliques à une concentration de 5000 $\mu\text{g/ml}$ contre les deux bactéries ; à savoir *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi* montrent que les bases de Schiff possèdent des propriétés antibactériennes contre les deux bactéries, cependant tous les complexes métalliques étaient moins bactéricides par rapport à leurs précurseurs bases de Schiff.

I.6. Conclusion

Au cours de cette étude bibliographique nous avons mis en évidence l'importance et l'activité des bases de Schiff et leurs complexes en biologie, ce qui montre que leur synthèse ne cesse de s'accroître. Toutefois, l'activité biologique des composés bases de Schiff mérite une étude plus approfondie. Bien que la recherche sur ce sujet soit à son début, un certain nombre de rapports qui tentent de divulguer les effets des bases de Schiff sur les agents pathogènes d'intérêt clinique ont été récemment augmentés. Les bases de Schiff se sont révélées être des pistes prometteuses pour la conception d'agents antimicrobiens plus efficace. Les progrès dans ce domaine, nécessitent une analyse des relations structure-activité des bases de Schiff, ainsi que le mécanisme d'action de ces composés.

Références bibliographiques

- [1] H. Schiff, Mittheilungen aus dem Universitätslaboratorium in Pisa: eine neue Reihe organischer Basen, *European Journal of Organic Chemistry*, 131 (1864) 118-119.
- [2] A. Strecker, Ueber die künstliche Bildung der Milchsäure und einen neuen, dem Glycocoll homologen Körper, *European Journal of Organic Chemistry*, 75 (1850) 27-45.
- [3] R. Holm, M. O'connor, The stereochemistry of bis-chelate metal (II) complexes, *Progress in Inorganic Chemistry*, Volume 14, (1971) 241-401.
- [4] F.Z. Chiboub Fellah, Synthèse et détermination structurale de complexes de métaux de transition et d'entités 3d-4f, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2008.
- [5] L. Mugerli, Microarrays fonctionnels de gouttes : de la synthèse chimique combinatoire au criblage de molécules bioactives, Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 2006.
- [6] K. OUARI, Synthèse de ligands bases de Schiff tétradentates non symétriques et obtention de complexes de métaux de transition.-propriétés électro catalytiques appliquées au modèle cytochrome p 450, 2014.
- [7] W. DERAFA, Synthèse de nouveaux complexes de base de Schiff de métaux de transition non symétriques (manganèse ou fer) contenant un résidu moléculaire électopolymérisable, 2014.
- [8] R. Abdul, Synthesis and biological studies of some Schiff base compounds and their transition metal complexes, Bahauddin Zakariya University Multan, 2005.
- [9] F. Basolo, R.C. Johnson, Coordination chemistry: the chemistry of metal complexes, W. A. Benjamin 1964.
- [10] A. HENNI, Synthèses et Caractérisations des Ligands, Complexes de Zinc et Complexes de Zinc-Alcalino-terreux, 2014.
- [11] A.F. Cotton, G. Wilkinson, M. Bochmann, C.A. Murillo, *Advanced inorganic chemistry*, Wiley 1999.
- [12] C. Ouahès, *Chimie organique: sciences biomédicales et sciences de la nature*, Office des publications universitaires 1988.
- [13] S.F.A. Kettle, C. Michaut, *Physico-chimie inorganique: Une approche basée sur la chimie de coordination*, De Boeck Supérieur 1999.
- [14] D.F. Shriver, M.P.W. Atkins, *Chimie inorganique*, De Boeck Supérieur 2001.
- [15] T.D. Thangadurai, K. Natarajan, Antibacterial activity of ruthenium (II) carbonyl complexes containing tetradentate Schiff bases, *Transition metal chemistry*, 27 (2002) 485-489.

- [16] M. Orlandi, B. Rindone, G. Molteni, P. Rummakko, G. Brunow, Asymmetric biomimetic oxidations of phenols: the mechanism of the diastereo- and enantioselective synthesis of dehydrodiconiferylferulate (DDF) and dehydrodiconiferyl alcohol (DDA), *Tetrahedron*, 57 (2001) 371-378.
- [17] Microsoft Encarta 2009. 1993-2008 Microsoft Corporation.
- [18] W. Lau, *Infrared characterization for microelectronics*, World scientific 1999.
- [19] A.L. Vance, N.W. Alcock, D.H. Busch, J.A. Heppert, Copper (II) template synthesis of a 20-membered [1+ 1] Schiff base macrocycle and Nickel (II) template synthesis of a 40-membered [2+ 2] Schiff base macrocycle from 2, 6-pyridinedicarboxaldehyde and 1, 13-diamino-4, 7, 10-trioxatridecane, *Inorganic Chemistry*, 36 (1997) 5132-5134.
- [20] D. Haffar, T. Douadi, S. Chafaa, M.A. Khan, G. Bouet, Synthesis, characterisation and electrochemical study of 4, 4'-bis (salicylideneimino) diphenylethane and its complexes with cobalt (II), copper (II) and cadmium (II), *Transition metal chemistry*, 29 (2004) 245-250.
- [21] S. Issaadi, D. Haffar, T. Douadi, S. Chafaa, D. Séraphin, M. Khan, G. Bouet, Synthesis, Characterization, and Electrochemical Study of Complexes with 4, 4'-Bis (Salicylideneimino) Diphenylether and Cobalt (II), Copper (II), Zinc (II), and Cadmium (II), *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, 35 (2005) 875-882.
- [22] A. Ghames, T. Douadi, D. Haffar, S. Chafaa, M. Allain, M.A. Khan, G.M. Bouet, Structural and electrochemical studies of Co (II), Ni (II), Cu (II) and Cd (II) complexes with a new symmetrical N₂O₂ Schiff base: crystal structure of the ligand 1, 2-di [4-(2-imino 4-oxo pentane) phenyl] ethane, *Polyhedron*, 25 (2006) 3201-3208.
- [23] I. Kaabi, T. Douadi, D. Haffar, S. Chafaa, M. Allain, M.A. Khan, G.M. Bouet, Crystal structure of a new pentadentate symmetrical: di [4-(phenylimino) pentan-2-one] ether. Structural and electrochemical studies of its Co II, Ni II, Cu II and Cd II complexes, *Transition Metal Chemistry*, 32 (2007) 666-673.
- [24] L. Sibous, E. Bentouhami, A. Maïza, G.M. Bouet, M.A. Khan, Synthesis, characterization and electrochemical behavior of Co II, Ni II and Cd II complexes with N₂O₂ donor ligands derived from 4, 4'-diaminobiphenyl and 2-hydroxybenzaldehyde or 2, 4-dihydroxybenzaldehyde, *Journal of solution chemistry*, 39 (2010) 511-521.
- [25] L. Sibous, E. Bentouhami, M.A. Khan, Synthesis, Characterization, and Electrochemical Behaviour of Cobalt (II) and Nickel (II) Complexes with Chelating Ligand 4, 4'-(Biphenyl-4, 4'-diyldinitrilo) dipentan-2-one, *Journal of Inorganic Chemistry*, 2013 (2013).

-
- [26] S. Benabid, T. Douadi, H. Debab, M. De Backer, F.-X. Sauvage, Synthesis, Spectroscopic, and Electrochemical Characterization of a Schiff Base: 4, 4'-bis [(4-diethylaminosalicylaldehyde) diphenyl methane] diimine and Its complexes with Copper (II), Cobalt (II), and Cadmium (II), *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, 42 (2012) 1-8.
- [27] G.G. MOHAMED, M.M. Omar, A.M. Hindy, Metal complexes of Schiff bases: preparation, characterization, and biological activity, *Turkish Journal of Chemistry*, 30 (2006) 361-382.
- [28] J.M. Dominguez-Vera, F. Camara, J.M. Moreno, J. Isac-Garcia, E. Colacio, A pro-chiral bis-imidazolyl-containing copper (II) complex as precursor of a self-assembled polymer and a heterodinuclear copper (II)–nickel (II) complex, *Inorganica Chimica Acta*, 306 (2000) 137-141.
- [29] S. Samal, S. Acharya, R. Dey, A. Ray, Synthesis and metal ion uptake studies of chelating resins derived from formaldehyde–furfuraldehyde condensed phenolic Schiff bases of 4, 4'-diaminodiphenylether and o-hydroxyacetophenone, *Talanta*, 57 (2002) 1075-1083.
- [30] V.P. Daniel, B. Murukan, B.S. Kumari, K. Mohanan, Synthesis, spectroscopic characterization, electrochemical behaviour, reactivity and antibacterial activity of some transition metal complexes with 2-(N-salicylideneamino)-3-carboxyethyl-4, 5-dimethylthiophene, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 70 (2008) 403-410.
- [31] G. Rajendran, C.S. Amritha, R.J. Anto, V.T. Cheriyan, Synthesis, thermal and antitumour studies of Th (IV) complexes with furan-2-aldehyde-N-phenyl thiosemicarbazone, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75 (2010) 749-761.
- [32] H.C. Neu, Aztreonam: the first monobactam, *The Medical clinics of North America*, 72 (1988) 555-566.
- [33] Académie des sciences, la maitrise des maladies infectieuses. Un défi de santé publique, une ambition médico-scientifique, sous la direction de Gérard Orth et Philippe Sansonetti, (2006).
- [34] F. Baquero, Gram-positive resistance: challenge for the development of new antibiotics, *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 39 (1997) 1-6.
- [35] M.N. Alekshun, S.B. Levy, Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance, *Cell*, 128 (2007) 1037-1050.
- [36] E.D.P. De Robertis, E.M.F. De Robertis, A. Lemonde, C. Delisle, *Biologie cellulaire et moléculaire*, Presses de l'Université Laval 1983.
- [37] Tony Hart and Paul Shears, *Atlas de poche de microbiologie*, 1er édition, MEDECINE SCIENCES- Flammarion, Paris, (1997).

-
- [38] H.Lüllmann, K. Mohr, A. Ziegler Atlas de poche de pharmacologie 2eme édition. Médecine-Sciences Flammarion Paris (1998).
- [39] JP. Flandrois. Bactériologie Médicale. Collection Azay. Puf. 2000.
- [40] J.L. Avril, H. Daberbat, F. Denis, H. Montiel. Bactériologie clinique. 2ème édition, ellipses, Paris (1992). P375.
- [41] Jean-Pierre Dedet. La microbiologie de ses origines aux maladies émergentes 2ème édition Dunod, Paris, 2007. P.20, 201.
- [42] V. K. Singh, S. Utaida, L. S. Jackson, R. K. Jayaswal, B. J. Wilkinson and N. R. Chamberlain, *Microbiology*, 153, 3162, (2007).
- [43] J.N. Schaffer, M.M. Pearson, *Proteus mirabilis* and urinary tract infections, *Microbiology spectrum*, 3 (2015).
- [44] E.D. Candan, N. Aksöz, *Klebsiella pneumoniae*: characteristics of carbapenem resistance and virulence factors, *Acta Biochimica Polonica*, 62 (2015).
- [45] M. Perilli, A. Felici, A. Oratore, G. Cornaglia, G. Bonfiglio, G.M. Rossolini, G. Amico-sante, Characterization of the chromosomal cephalosporinases produced by *Acinetobacter lwoffii* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 40 (1996) 715-719.
- [46] J.L. Geste, F. W. Goldstein, J. F. Acar, Atlas de bactériologie Examens directs par colorations usuelles, Editeur : Bayer Pharma 1991.
- [47] Alice de Chalvet de rochemonteix. thèse doctorat vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'alfort -france (2009).
- [48] C.Tabuc.Thèse de Doctorat flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines l'institut national polytechnique de Toulouse P16-18, 24-25, 38-43. (2007).
- [49] C.P. Selitrennikoff, Antifungal proteins, *Applied and environmental microbiology*, 67 (2001) 2883-2894.
- [50] C. Basset, Recherche de composés antifongiques issus de bois durables amazoniens, Recherche de composés antifongiques issus de bois durables amazoniens, Université des Antilles et de la Guyane (2011), (2011).
- [51] P. Dufresne and G. St-Germain. Identification des champignons d'importance médicale. Institut national de santé publique Québec (2014), P 3.
- [52] J. Bouchara, M. Pihet, L. De Gentile, B. Cimon, D. Chabasse, Les levures et levuroses, *Cahier de Formation Biologie Médicale*, 44 (2010) 76-167
- [53] J. Chevrant-Breton, S. Chevrier, 37 Infections fongiques systémiques, (2008).

-
- [54] E. Denes, Les infections fongiques systémiques, Actualités pharmaceutiques hospitalières, 1 (2005) 12-14.
- [55] Chabasse D., Martin D., Guiguen C et Richard-Lenoble. (2007). Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales Edition Anofel Elsevier Masson. 321 pages
- [56] Hart T, Shears P - Atlas de poche de microbiologie Médecine-Sciences- Flammarion 4, rue, Casinir-Delarigne, 75006 paris ISBN : 2-257-10125-1. 1997.
- [57] J. Hamoir, M. Goret, B. Mignon, P. Gustin, News on antifungal drugs registered in Belgium for the treatment of dermatophytosis in domestic carnivores, Annales de MédecineVétérinaire, Université de Liège, 2001, pp. 226-232.
- [58] D. Ouraïni, A. Agoumi, M. Ismaili-Alaoui, K. Alaoui, Y. Cherrah, M. Alaoui, M. Belabbas, Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Menthapulegium* L., comparée aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques, Phytothérapie, 5 (2007) 6-14.
- [59] E. Alcamo, Fundamentals of microbiology (5ème édition), The fungi, (1997) 429-461
- [60] A. Hulin, A. Deguillaume, S. Bretagne, Y. Bézie, Bon usage des antifongiques dans le traitement des candidoses et aspergilloses invasives, Journal de Pharmacie Clinique, 24 (2005) 125-138.
- [61] Examen mycologique en dermatologie- Ann Dermatol Venereol; Vol.132; (2005)8S89-104.
- [62] Les bactéries résistantes aux antibiotiques, note d'analyse n°299, Novembre, Centre d'analyse stratégique, France, (2012).
- [63] M. Archambaud. Cours Méthodes d'évaluation de l'activité des antibiotiques in vitro. Laboratoire Bactériologie-Hygiène CHU Rangueil Toulouse (2009).
- [64] A. Bryskier, Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques, Ellipses1999.
- [65] C. Nauciel, J. Vildé, Bactériologie médicale, 2 ème édition, (2005).
- [66] W. Siegenthaler, R. Lüthy, Current Chemotherapy: Proceedings of the 10th International Congress of Chemotherapy, Zurich/Switzerland, 18-23 September 1977, American Society for Microbiology 1978.
- [67] Mevius, D.J., Rutter, J.M, Hart, C.A., Imberechts, H., Kempf, G., Lafont, J.P., Luthman, J., Moreno, M.A, Pantosti, A., Pohl, P., Willadsen, C.M., Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines. Report and qualitative risk assessmentby the committee for veterinary medicinal products, Editions Le point vétérinaire. (1999). p 1-57.

-
- [68] D. Yala, A. Merad, D. Mohamedi, M. OuarKorich, Classification et mode d'action des antibiotiques, *Médecine du Maghreb*, 91 (2001).
- [69] H.P. Kuemmerle, *Clinical Chemotherapy: Fundamentals*, Thieme-Stratton 1983.
- [70] S.J. Schrag, B. Beall, S.F. Dowell, Limiting the spread of resistant pneumococci: biological and epidemiologic evidence for the effectiveness of alternative interventions, *Clinical microbiology reviews*, 13 (2000) 588-601.
- [71] J. Nicklin, Graem-Cook .K, *L'essentiel en microbiologie*, Berti Edition paris, (2000).
- [72] J.-L. Avril, H. Dabernat, F. Denis, H. Monteil, *Bactériologie clinique*, Ed. Ellipses-Marketing 1992.
- [73] A. Ferron, *Bactériologie médicale: à l'usage des étudiants en médecine*, Crouan & Roques 1979.
- [74] P. Berche, J.-L. Gaillard, M. Simonet, *Bactériologie: bactéries des infections humaines*, Flammarion médecine-sciences 1988.
- [75] P. Berche, J. Gaillard, M. Simonet, *Bactériologie*, Paris: Flammarion, (1988) 267-275
- [76] F.V. Bambeke and P. Tulkens. *Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse Antibiotiques/Antifongiques*. Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire Université catholique de Louvain Bruxelles 2009-2010.
- [77] E. Cambau, T. Guillard, Antimicrobials that affect the synthesis and conformation of nucleic acids, *Revue Scientifique et Technique-OIE*, 31 (2012) 77.
- [78] N. Kambouche, D. El-Abed, Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague from Oran (Algeria), *Journal of Essential Oil Research*, 15 (2003) 39-40.
- [79] M. Benziane, B. Kambouche, S. Bellahouel, B. Merah, Z. Fortas, R. Soulimani, S. Saidi, A. Derdour, Antimicrobial activity of the alkaloids and saponin extracts of *Anabasis articulata*, E3, *Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research*, 3 (2012) 54-57.
- [80] Djamal Abdoul Akhad NDAW. Thèse de doctorat en pharmacie *Activité bactéricide in vitro de différentes molécules d'antibiotiques sur des souches bactériennes d'origine hospitalière* Université Cheikh Anta Diop De Dakar, (1998), P 2-5.
- [81] A. Galès, *Rôle central des Monocytes/macrophages dans la défense anti-infectieuse ; implication de la polarisation M2 et des marqueurs associés Dectine-1, récepteur mannose et interleukine-10*, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2009.
- [82] C. Lacroix, M. Dubach, M. Feuilhade, Les échinocandines: une nouvelle classe d'antifongiques, *Médecine et maladies infectieuses*, 33 (2003) 183-191.

-
- [83] A. Zagnoli, B. Chevalier, B. Sassolas, Dermatophyties et dermatophytes, *EMC-Pédiatrie*, 2 (2005) 96-115.
- [84] M. Cuenca-Estrella, Antifungal drug resistance mechanisms in pathogenic fungi: from bench to bedside, *Clinical Microbiology and Infection*, 20 (2014) 54-59.
- [85] C. Spinu, M. Pleniceanu, C. Tigae, Biologically active transition metal chelates with a 2-thiophenecarboxaldehyde-derived Schiff base: synthesis, characterization, and antibacterial properties, *Turkish Journal of Chemistry*, 32 (2008) 487-493.
- [86] Z.H. Chohan, S. Kausar, Synthesis, characterization and biological properties of tridentate NNO, NNS and NNN donor thiazole-derived furanyl, thiophenyl and pyrrolyl Schiff bases and their Co (II), Cu (II), Ni (II) and Zn (II) metal chelates, *Metal-Based Drugs*, 7 (2000) 17-22.
- [87] G.G. Mohamed, E.M. Zayed, A.M. Hindy, Coordination behavior of new bis Schiff base ligand derived from 2-furan carboxaldehyde and propane-1, 3-diamine. Spectroscopic, thermal, anticancer and antibacterial activity studies, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 145 (2015) 76-84.
- [88] Z.H. Chohan, S. Mushtaq, Antibacterial cobalt (II) and zinc (II) complexes of pyrazine-derived NNO and NNN donor Schiff-bases, *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 13 (2000) 21-27.
- [89] K. Rathore, R.K. Singh, H. Singh, Structural, spectroscopic and biological aspects of O, N-donor Schiff base ligand and its Cr (III), Co (II), Ni (II) and Cu (II) complexes synthesized through green chemical approach, *Journal of Chemistry*, 7 (2010) S566-S572.
- [90] T. Jeewoth, M.G. Bhowon, H.L.K. Wah, Synthesis, characterization and antibacterial properties of Schiff bases and Schiff base metal complexes derived from 2, 3-diamino-pyridine, *Transition Metal Chemistry*, 24 (1999) 445-448.
- [91] R. Jain, A. Mishra, Microwave synthesis, spectral, thermal, and antimicrobial activities of some transition metal complexes involving 5-bromosalicylaldehyde moiety, *Current Chemistry Letters*, 1 (2012) 163-174.
- [92] W. Rehman, F. Saman, I. Ahmad, Synthesis, characterization, and biological study of some biologically potent schiff base transition metal complexes, *Russian Journal of Coordination Chemistry*, 34 (2008) 678-682.
- [93] M. Amanullah, S.K. Sadozai, W. Rehman, Z. Hassan, A. Rauf, M. Iqbal, Cytotoxic, antibacterial activity and physico-chemical properties of some acid catalyzed Schiff bases, *African Journal of Biotechnology*, 10 (2011) 209-213.

- [94] K. Gudasi, G. Nadagouda, T. Goudar, Synthesis, characterization and biological studies of dioxouranium (II) and thorium (IV) complexes of Schiff bases derived from 2-aminopyridine and acetophenones, *Journal of the Indian Chemical Society*, 83 (2006) 376-378.
- [95] L.K.W. Henri, J. Tagenine, B.M. Gupta, Synthetic and antibacterial studies of Schiff base complexes derived from 2, 3-diaminopyridine and o-vanillin, (2001).

Chapitre (II)
Matériels et Méthodes

Dans ce chapitre nous présenterons les produits, les dispositifs de synthèse et les méthodes de caractérisation utilisés qui nous ont permis de caractériser au mieux nos échantillons. Ainsi que le matériel et les techniques utilisées pour l'étude biologique.

II.1. Matériels de synthèse

II.1.1. Montage de synthèse

Les éléments essentiels utilisés pour le montage expérimental sont :

- Un chauffe ballon avec agitation magnétique ;
- Un réfrigérant qui sert à condenser le solvant pendant la réaction ;
- Un ballon bi-col avec un barreau magnétique.

II.2. Méthode de caractérisation

II.2.1. Point de fusion

Ce terme désigne le changement d'état d'un matériau quand celui-ci passe d'un état solide à un état liquide. Le point de fusion est la température exacte nécessaire à cette transformation et sa détermination est très importante puisqu'elle est hautement dépendante de la pureté du matériel testé. Cette technique est donc utilisée pour définir la qualité d'une substance [1, 2].

Les points de fusion ont été déterminés sur un appareil numérique banc chauffant de Banc Kofler. Il s'agit d'une plaque chauffante présentant un gradient de température, la température varie de 40°C à 250°C, sur laquelle on déplace un échantillon. La détermination du point de fusion est une donnée physique importante pour une substance.

II.2.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie est une technique physique de séparation d'espèces chimiques qui permet l'identification et le dosage des différents composés d'un mélange. Son principal intérêt est l'identification rapide des composés d'un mélange.

L'échantillon contenant une ou plusieurs espèces, est entraîné par un courant de phase mobile (liquide, gaz ou fluide supercritique) le long d'une phase stationnaire (papier, gélatine, silice, polymère, silice greffée etc.) ; chaque espèce se déplace à une vitesse propre, dépendant de ses caractéristiques, de celles des deux phases et les différences d'affinité entre elles. Cette technique d'analyse chimique peut être couplée à un détecteur en vue d'une analyse qualitative ou quantitative du milieu. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants

entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et de leurs désorptions successives sur la phase stationnaire, soit de leur solubilité différente dans chaque phase.

Phase stationnaire : phase fixe soit sur la surface intérieure d'une colonne soit sur une surface plane. Souvent, l'échantillon est analysé par comparaison avec des substances déjà connues dans l'échantillon ou par comparaison avec les résultats de l'analyse d'une solution-étalon (solution commerciale contenant des substances connues, à des concentrations bien connues). Ces substances servent de références et permettent d'identifier ou de doser chaque espèce par comparaison des vitesses de séparation (et éventuellement d'autres renseignements donnés par la détection). Il s'agit de chromatographie analytique.

Le suivi des réactions et le contrôle de la pureté des produits ont été effectués par chromatographie en phase liquide sur couche mince (CCM) [3,4]. Ces analyses chromatographiques ont été réalisées sur des plaques de gel de silice E Merck de 0,25 mm (60F-254) et la révélation a été réalisée sous lampe ultra-violet (longueur d'onde 254 nm).

II.2.3. Microanalyse

L'analyse élémentaire dénommée microanalyse est l'identification chimique et l'analyse quantitative de petites quantités de matière, elle se propose de déterminer la composition chimique centésimale des éléments d'une structure donnée et elle permet de déterminer la formule brute globale d'un composé organique. La plupart des éléments entrant dans la composition des molécules organiques se prête à ce type d'analyse. Elle fournit des résultats précis à environ ± 0.3 %, sauf pour le fluor (± 3 %). Le résultat de la microanalyse est une suite de pourcentages massiques pour les éléments dosés, l'oxygène n'étant généralement pas dosé son pourcentage est, plus souvent pris égale au complément à 100.

En tant que méthode de détermination des formules brutes, l'analyse élémentaire est probablement un outil désuet. Par contre, elle demeure un outil de vérification de la pureté chimique d'un échantillon dont la composition est présumée connue. Les analyses élémentaires ont été effectuées sur un analyseur Elementar Parkin Elmer 240.

II.2.4. Méthodes spectroscopiques

La caractérisation des produits réactionnels est basée essentiellement sur les méthodes spectroscopiques. En effet, lorsqu'une molécule est soumise à une radiation électromagnétique elle absorbe une certaine quantité d'énergie ce qui entraîne des modifications atomiques ou moléculaires. On obtient plusieurs types d'excitation suivant le rayonnement de la radiation. Les

méthodes utilisées dans ce travail sont :

- Spectroscopie Ultraviolet-visible (UV-vis) (excitation électronique).
- Spectroscopie Infrarouge (IR) (déformation des liaisons).
- Résonance Magnétique Nucléaire du proton (^1H RMN) (excitation spins électronique).

II.2.4.1. Spectrophotométrie UV-Visible

La spectroscopie UV-Visible permet d'accéder qualitativement à des renseignements quant à la nature des liaisons présentes au sein de l'échantillon mais également de déterminer quantitativement la concentration d'espèces absorbant dans ce domaine spectral. Cette spectroscopie est largement répandue en travaux pratiques de chimie ainsi qu'en analyse chimique ou biochimique, son principe est basé sur l'interaction électromagnétique qui est l'une des interactions concernées par ce modèle unifié. Elle rend compte de l'interaction entre une onde électromagnétique et une particule chargée. L'interaction matière-rayonnement en est une illustration parfaite. A l'échelle atomique, la matière n'étant pas continue mais constituée d'assemblage de particules élémentaires, l'énergie ne l'est pas non plus et ne peut prendre que des valeurs discrètes [5].

Les spectres électroniques d'absorption des différents ligands et complexes synthétisés ont été enregistrés en solution dans le DMSO entre 200 et 800 nm en utilisant un spectrophotomètre JASCO V-650 avec des cuves en quartz de trajet optique $l = 1\text{cm}$.

II.2.4.2. Spectroscopie infrarouge (ATR)

La spectroscopie infrarouge est une méthode d'analyse quantitative qui permet de déterminer la présence ou l'absence des groupes fonctionnels dans une molécule organique par la bande de vibration ou de rotation des liaisons. Elle exprime l'interaction des radiations électromagnétiques avec les différentes parties de la molécule. La spectroscopie IR est une technique efficace pour le suivi des changements chimiques et le contrôle de la réaction, est une méthode adéquate d'investigation structurale des matériaux solides, elle permet comme étant une étape préliminaire, de caractériser le composé étudié et vérifier la nature des espèces insérées. Cette technique s'avère nécessaire pour analyser la nature des ions existants dans un solide et pour l'évaluation des environnements immédiats des groupements moléculaires. La détermination de certaines caractéristiques structurales ouvre la voie à une importante application des spectres infrarouges, en effet l'étude des spectres indique la présence ou non des bandes caractéristiques de

groupements donnés dans des molécules et conduit à la structure partielle ou totale de l'échantillon analysé. Cette méthode est très utilisée pour contrôler les synthèses chimiques [6].

Les spectres IR des ligands et les complexes synthétisés dans ce travail ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier Perkin Elmer FTIR dans la gamme 4000-600 cm^{-1} avec une résolution spectrale de 4 cm^{-1} en utilisant la technique de réflexion totale atténuée (Attenuated Total Reflexion) (ATR), les enregistrements ont été effectués en transmission à température ambiante. Il s'agit d'une technique particulièrement adaptée à l'analyse d'échantillons solides, de films ou de liquides fortement absorbants. Dans ce cas l'échantillon est pressé contre la surface d'un prisme en matériau d'indice élevé donc favorise les réflexions internes (Germanium, diamant, ...). Généralement la profondeur analysée est de l'ordre du micro. Dans notre cas, le mode ATR utilisé est équipé d'un module constitué d'un cristal de diamant.

II.2.4.3. Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La Résonance Magnétique Nucléaire en milieu liquide ou RMN s'avère un outil efficace pour mettre en évidence les changements d'environnement chimique d'un noyau particulier, elle est une technique spectroscopique couramment utilisée pour l'analyse des structures de nombreuses molécules chimiques. Elle sert principalement à la détermination structurale des composés organiques, de suivre l'évolution des réactions chimiques et étudier l'effet stérique de groupements substitués ainsi que la pureté d'un échantillon. En mesurant la fréquence de résonance des spins nucléaires de certains noyaux atomiques lorsqu'ils sont placés dans un champ magnétique intense, on peut étudier l'environnement chimique de ces atomes. Ces informations permettent d'identifier les molécules, de déterminer leur structure. Il existe aujourd'hui une grande variété d'expériences RMN qui permettent de déterminer ou de corrélérer quantité de paramètres structuraux ou dynamiques, aussi bien en phase liquide qu'en phase solide. La méthode repose sur le magnétisme nucléaire, les noyaux de certains atomes ^1H , ^{13}C , ... possèdent un moment magnétique nucléaire, c'est à dire qu'ils se comportent comme des aimants microscopiques caractérisés par une grandeur quantique : le spin [7].

La caractérisation par RMN de proton a été effectuée sur spectromètre RMN liquide à transformée de Fourier Bruker Avance III HD 400 à température ambiante. Les spectres de RMN ^1H des ligands obtenus en solution dans le chloroforme deutéré et les déplacements chimiques sont indiqués en partie par million (ppm) par rapport au tétraméthylsilane (TMS) utilisé comme référence interne.

II.3. Matériels biologiques

II.3.1. Instruments

Les moyens utilisés pour les essais biologiques sont: étuve, autoclave, densitomètre, un réfrigérateur, micropipette, bain marie, bec bunsen, tubes, flacons, boîte de Pétri, disques à papier buvard, disque antibiotique (Gentamycine), écouvillon, anse de platine, éprouvettes.

II.3.2. Microorganismes testés

- Trois souches bactériennes référentielles utilisées sont des souches de l'American type culture collection (ATCC), et constituent d'excellents modèles pour la recherche des effets antibactériens des différentes substances, il s'agit de ;
 - ✓ *Escherichia coli* ATCC 25922 G (-) ;
 - ✓ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 G (-) ;
 - ✓ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 G (+).
- Trois souches cliniques à savoir :
 - ✓ *Klebsiella pneumoniae* G (-) ;
 - ✓ *Proteus mirabilis* G (-) ;
 - ✓ *Serratiamarcescens* G (-).
- Deux souches fongiques :
 - ✓ *Microsporium canis* ;
 - ✓ *Candida albicans*.

Ces microorganismes sont pathogènes, responsables de certaines maladies infectieuses graves, elles proviennent du laboratoire de microbiologie du CHU de Sétif.

II.3.3. Milieu de culture utilisé

Les milieux de culture utilisés pour l'étude de l'activité antimicrobienne de nos produits sont :

- Gélose Muller Hinton (MHA) pour les bactéries
- Muller Hinton Liquide (MHL) pour les bactéries
- Gélose Sabouraud Dextrose (SDA) pour les Champignons

II.3.4. Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne

Parmi les méthodes utilisées pour déterminer l'activité antimicrobienne, deux techniques sont utilisées :

II.3.4.1. Méthode de diffusion

La méthode de diffusion ou encore antibiogramme est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des différentes souches aux antimicrobiens et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Elle permet une variété dans le choix des antimicrobiens et ne requiert aucun matériel particulier [08].

Des disques à papier buvard, imprégnés de l'antibiotiques à tester à une certaine concentration sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de croissance. Chaque zone peut être mesurée selon divers moyens en mm. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique, plus il est petit, plus la souche est résistante. Les diamètres des zones d'inhibition permettent d'apprécier la sensibilité des germes.

II.3.4.2. Méthode de dilution

La méthode de dilution est effectuée en milieu liquide, le principe de la méthode est la préparation d'une série de tubes d'une gamme de concentrations d'antibiotique à tester, puis addition au milieu de culture liquide et de germes. Après incubation, on détermine la plus faible concentration d'antibiotique inhibant la croissance bactérienne (CMI) visible à l'œil nu.

Références bibliographiques

- [1] J. Mesplède, J. Randon, 100 manipulations de chimie générale et analytique, Editions Bréal 2004.
- [2] W.B. Jensen, The Oesper Collections In The History Of Chemistry, Papers Of The American Chemical Society, (2002)
- [3] R.J. Gritter, J.M. Bobbit, A.E. Schwarting, Pengantar kromatografi, Penerbit ITB, Bandung, 6 (1991) 107.
- [4] K. Randerath, Chromatographie sur couches minces: trad. de l'allemand par nguyen-dang-tam. 2e ed. rev. et augm, Gauthier-villars1971.
- [5] A.S. Bernard, S. Clède, M. Emond, H. Monin-Soyer, J. Quérard, Techniques expérimentales en Chimie: Réussir les TP aux concours, Dunod 2012.
- [6] Silverstein - Basler - Morill. Identification Spectrométrique de composés organiques. DeBoeck Université. 1998.
- [7] J. McMurry, C. Darcel, Chimie organique : les grands principes: cours et exercices corrigés, Dunod 2000.
- [8] Comité de l'antibiogramme de la société française, Membres : Richard Bonnet, Jean-Pierre Bru, François Caron..., coordonnateur : François Jehl, *Hôpitaux universitaires de Strasbourg*, (2015).

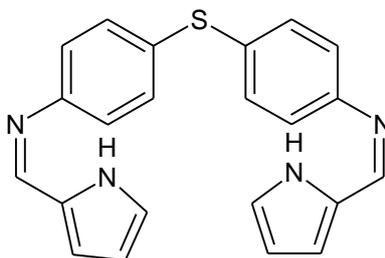
Chapitre (III)

*Synthèse, Caractérisation de Nouveaux Ligands
base de Schiff, leurs Complexes De Cu (II) et Co
(II) et Leurs études biologiques.*

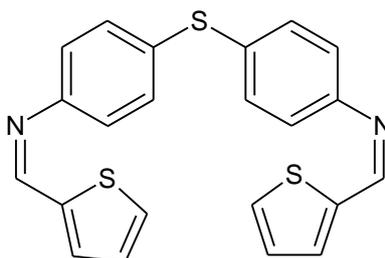
III.1. Introduction

Dans ce chapitre nous décrivons la synthèse des trois nouveaux ligands symétriques bases de Schiff, résultants de la condensation d'une amine primaire et un aldéhyde, leur caractérisation structurale par l'analyse élémentaire et les techniques spectroscopiques (UV-Vis, IR et RMN ^1H). Nous avons choisi la méthode décrite dans la littérature [1-3] pour synthétiser ces ligands et nous avons obtenu trois nouveaux composés bases de Schiff hétéro cycliques (Schéma III.1):

-4,4'- Bis (2-pyrrole carboxaldehyde) diphenyldiiminosulfide (**L1**)



-4,4'- Bis (2-thiophène carboxaldehyde) diphenyldiiminosulfide(**L2**)



-4,4'- Bis (2-furane carboxaldehyde) diphenyldiiminosulfide(**L3**)

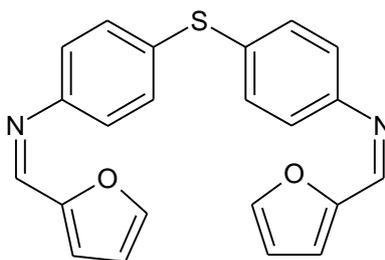


Schéma III.1. Schéma représentant les molécules synthétisées.

À partir de la réaction de condensation du 4,4'-diaminodiphényl sulfide avec trois différents aldéhydes 2-thiophène carboxaldehyde, 2-furane carboxaldehyde et 2-pyrrole carboxaldehyde dans l'éthanol ainsi que la synthèse des complexes de cuivre (II) et de cobalt (II) de ligands synthétisés selon la procédure décrite dans la littérature [4,5], leur caractérisation physicochimique et leur détermination structurale. La formation de ces

complexes à partir des bases de Schiff est assez aisée [6-8]. De plus nous présentons l'activité antimicrobienne de trois composés bases de Schiff hétérocycliques synthétisés dans cette étude. Cette activité a été évaluée sur des bactéries et des champignons isolés dans le laboratoire de microbiologie du CHU Sétif.

Les infections microbiennes restent des affections graves et leur fréquence a augmenté de façon considérable au cours des dernières années en raison de l'usage extensif des agents antibactériens et antifongiques dans la médication humaine ainsi que dans les élevages animaux qui conduit à la sélection de souches microbiennes résistantes. D'un autre côté, les bases de Schiff ont une activité importante comme agent antimicrobiens.

III.2. Synthèse des ligands bases de Schiff

a. Ligand L1

Dans un ballon bicol de 100 ml, on dissout (0.216 g ; 1 mmol) de 4,4'-diaminodiphényl sulfide dans 10 ml d'éthanol à chaud et sous agitation magnétique, après une bonne homogénéisation, on n'ajoute goutte à goutte (2mmoles, 0.19 g) de pyrrole-2-carboxaldehyde dissout dans 20 ml d'éthanol, la couleur de la solution vire au jaune ensuite le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 3h. La solution obtenue a été laissée pendant une nuit à température ambiante. Il s'est formé alors un précipité jaune qui a été récupéré par filtration, lavé deux fois avec de l'éthanol et finalement le 4,4'- Bis (2-pyrrole carboxaldehyde) diphényldiiminosulfide (**L1**) obtenu est séché à l'air libre.

b. Ligand L2

Le 4,4'-bis (2-thiophène carboxaldehyde) diphényldiiminosulfide (**L2**) a été synthétisé par la même méthode précédente mais en utilisant un autre aldéhyde qui est le thiophène-2-carboxaldehyde (2 mmol, 0.18 ml) dilué dans 5 ml d'éthanol, un précipité jaune a été récupéré après 3 heures.

c. Ligand L3

Le furane-2-carboxaldehyde (2 mmol, 0.165 ml) a été dilué dans 5 ml d'éthanol et ajouté par goutte à goutte à une solution chaude de 4,4'-diaminodiphénylsulfide dans 20 ml d'éthanol absolu. Le mélange réactionnel a été chauffé à reflux sous agitation magnétique pendant 3 h sous azote. Le précipité de couleur rouge brique formé après 3 jours de refroidissement à température ambiante a été isolé par filtration et ensuite lavé avec de l'éthanol plusieurs fois, et le produit 4,4'-bis (2-furane carboxaldehyde) diphényldiiminosulfide (**L3**) a été récupéré.

L'avancement des réactions et la pureté des produits ont été suivis par CCM en utilisant le mélange dichlorométhane : éthanol (8:2) comme éluant. Les rendements et les points de fusion des produits obtenus ont été déterminés. Les trois ligands obtenus ont été caractérisés par spectrométrie infrarouge pour confirmer la disparition de la fonction aldéhyde et le groupement amine primaire et par résonance magnétique nucléaire du proton pour mieux établir leurs structures. Le procédé de condensation du 4,4'-diaminodiphényl sulfide avec trois différents aldéhydes 2-thiophene carboxaldehyde, 2-furane carboxaldehyde et 2-pyrrololecarboxaldehyde a lieu selon le mécanisme réactionnel décrit dans le schéma III.2.

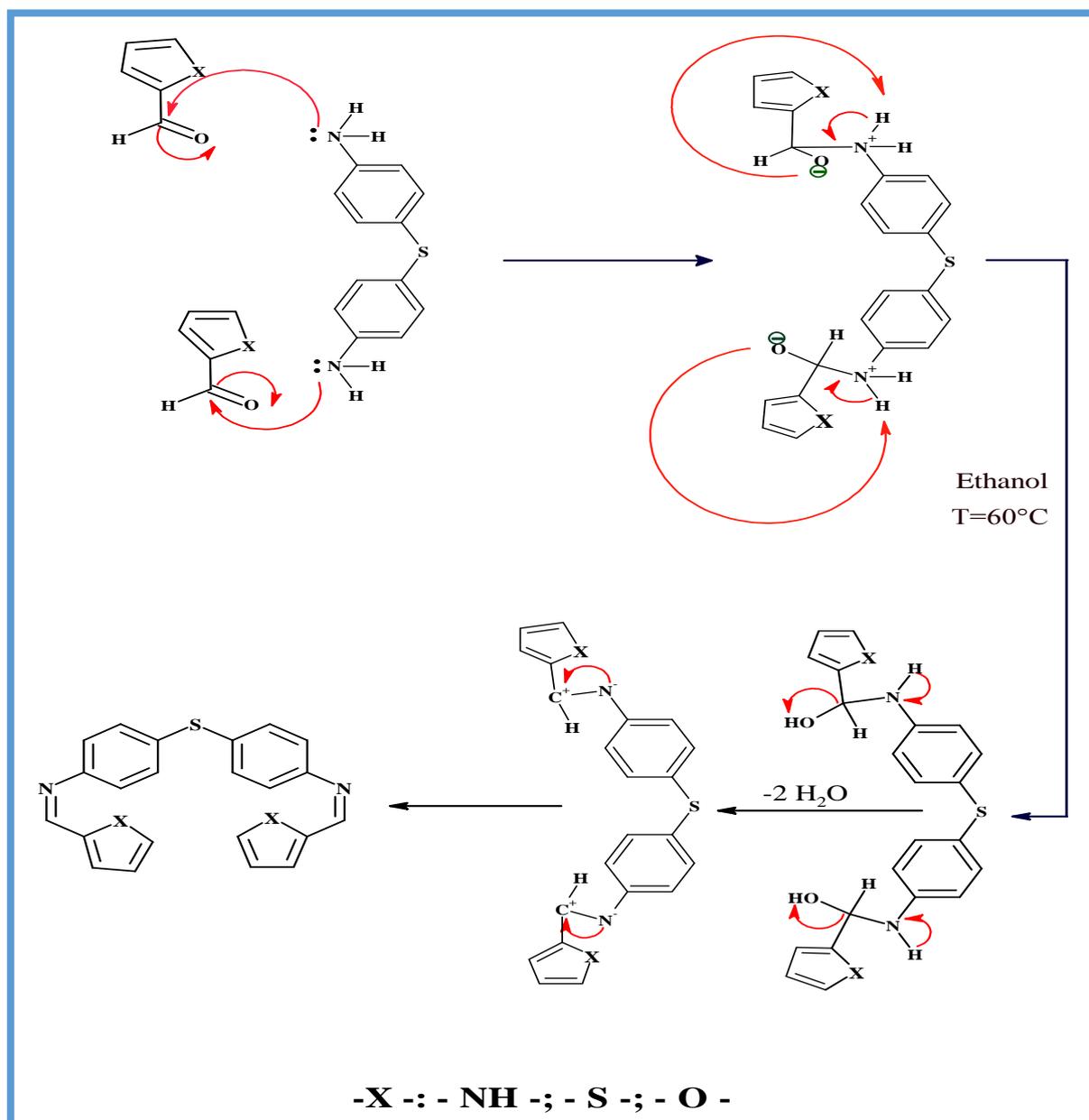


Schéma III.2. Mécanisme réactionnel des ligands (L1, L2 et L3).

Le schéma réactionnel représenté ci-dessous met en évidence la synthèse des ligands bases de Schiff.

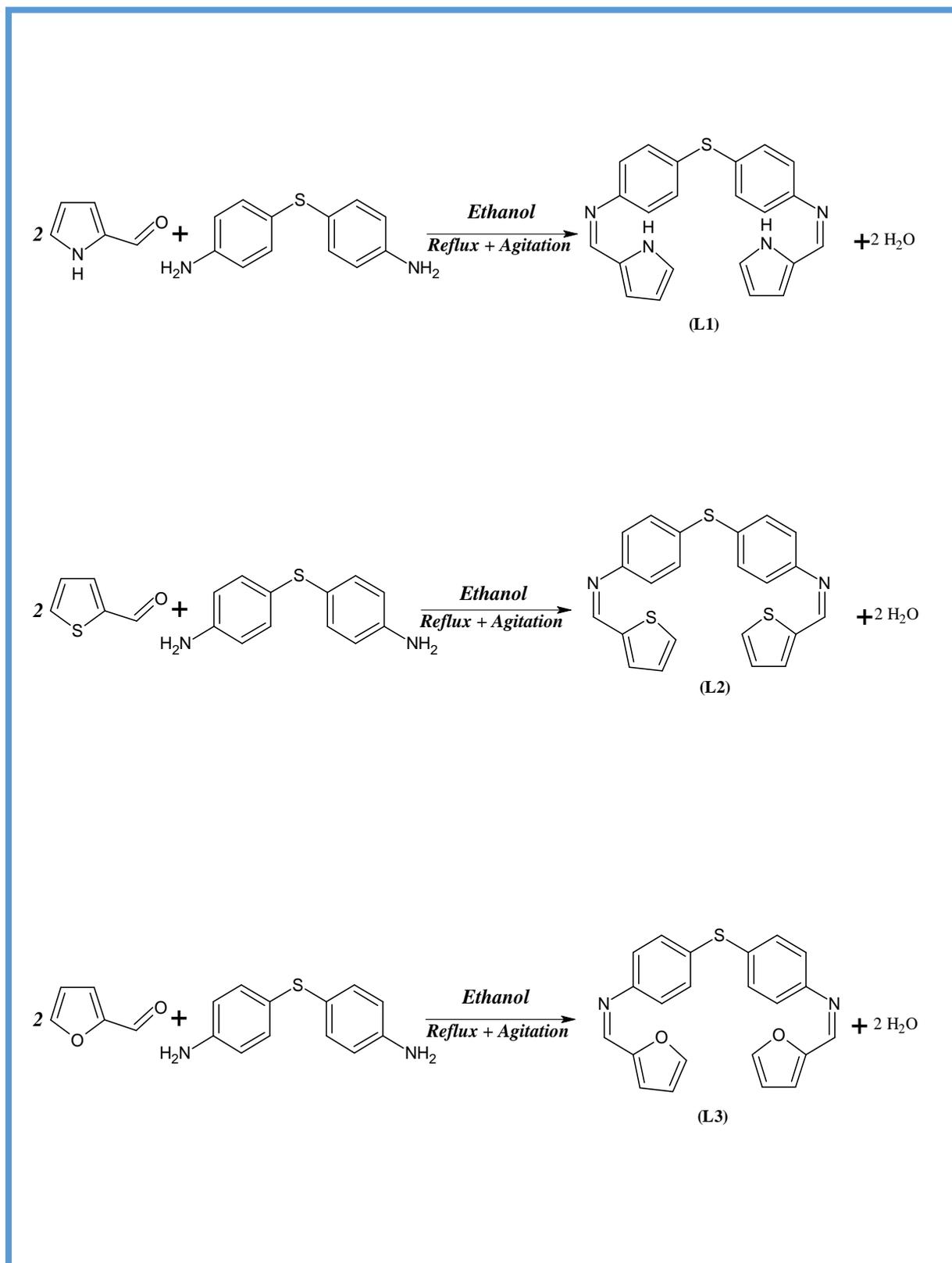


Schéma III.3. Schéma réactionnel de la synthèse des ligands (L1, L2 et L3).

III.2.1. Résultats et discussion

Les bases de Schiff synthétisées (**L1**, **L2** et **L3**) sont des solides colorés et non hygroscopiques. Ils sont stables à l'air et à température ambiante, et leurs points de fusion sont aigus indiquant la pureté de ces derniers. Des tests de solubilité sur ces ligands révèlent qu'ils sont insolubles dans l'eau, partiellement solubles dans l'éthanol mais solubles dans le DMF, le DMSO et le CHCl_3 . Leurs structures ont été établies à partir de l'analyse élémentaire et les données spectroscopiques (UV-Vis, IR et RMN ^1H). Les propriétés analytiques et physiques de ces bases de Schiff sont regroupées dans le tableau III-1.

III.2.1.1. Analyse élémentaire

La formule chimique de chacune de ces bases de Schiff (**L1**, **L2** et **L3**) synthétisées a été confirmée par leurs analyses élémentaires qui ont été obtenues en estimant les teneurs en carbone, hydrogène, azote et soufre de leurs structures. Les résultats des pourcentages C, H, N et S (Tableau III-1) sont en accord avec la composition suggérée pour les composés synthétisés.

Les données analytiques s'accordent bien avec les formules chimiques des produits obtenus et ils sont confirmés par les spectres UV-Vis, IR et RMN ^1H .

Tableau III. 1. Propriétés analytiques et physiques des ligands **L1**, **L2** et **L3**

Composés	formule moléculaire	Couleur	Rdt (%)	P.f. (°C)	Analyse élémentaire expérimentale (calculée) (%)				
					C	H	N	S	O
L1	$\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{S}$	jaune	83.12	192	71.34 (71.31)	4.75 (4.91)	15.34 (15.1)	8.35 (8.65)	-
L2	$\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{S}_3$	jaune	83.14	164	65.45 (65.30)	4.08 (3.99)	7.19 (7.52)	23.36 (23.77)	-
L3	$\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$	rouge brique	87.25	142	70.77 (70.94)	4.46 (4.34)	8.12 (7.52)	7.95 (8.61)	- (8.59)

III. 2.1.2. Caractérisations des ligands par les méthodes spectroscopiques

III.2.1.2. 1. Spectrométrie ultraviolet-visible (UV-Vis)

Les spectres UV-Vis des bases de Schiff (**L1**, **L2** et **L3**) synthétisées sont présentés sur les figures 1, 2 et 3 respectivement (**voir Annexe**). Les valeurs des longueurs d'onde et les absorbances des ligands sont regroupées dans le tableau III. 2.

Le spectre d'absorption du composé synthétisé **L1** montre deux bandes dans le domaine ultraviolet, la première à 229 nm est attribuée aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ des cycles aromatiques et la deuxième à 349 nm correspond à la transition $n \rightarrow \pi^*$ due au groupement azométhine [9-11]. De même, des bandes observées à 229 nm, 356 nm pour le ligand **L2** et à 228, 347 nm pour **L3**. Les deux bandes d'absorption à 268 et 300 nm sont observées dans les spectres de la base de Schiff **L2**, qui sont assignés à $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$ respectivement. Alors que le composé **L3** présente une bande à 275 nm, qui peut être attribuée à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$. Les composés (**L1**, **L2** et **L3**) absorbent faiblement dans la région visible à de faibles concentrations.

Tableau III. 2. Valeurs des longueurs d'onde et les absorbances des ligands synthétisés.

Composés	A(D.O)	λ_{\max} (nm)	Transitions
L1	0.576	229	$\pi \rightarrow \pi^*$
	1.704	349	$n \rightarrow \pi^*$
L2	0.862	229	$\pi \rightarrow \pi^*$
	1.335	268	$\pi \rightarrow \pi^*$
	1.393	300	$n \rightarrow \pi^*$
	1.712	356	$n \rightarrow \pi^*$
L3	0.760	228	$\pi \rightarrow \pi^*$
	1.401	275	$\pi \rightarrow \pi^*$
	0.712	347	$n \rightarrow \pi^*$

III. 2. 1.2. 2. Spectrométrie infrarouge (IR)

Les spectres IR des ligands (**L1**, **L2** et **L3**) sont présentés sur les figures 4, 5 et 6 respectivement (**Annexe**). Leurs bandes vibrationnelles significatives et leurs attributions sont regroupées dans le tableau III. 3.

Le spectre IR de **L1** montre une bande de forte intensité à 1612 cm^{-1} attribuée à la vibration d'élongation azométhine ($\text{HC} = \text{N}$) ce qui indique la formation de la base de Schiff. De même, les bandes à 1615 cm^{-1} et 1619 cm^{-1} dans **L2** et **L3** respectivement [12-16]. Les bandes de

faible intensité observées dans la région 3120-3040 cm^{-1} sont assignées aux vibrations d'élongation des (C-H) aromatiques, les vibrations d'élongation symétriques de (C-H) aliphatiques apparaissent entre 2960 et 2810 cm^{-1} dans les trois ligands. La bande observée à 3429 cm^{-1} dans le ligand **L1** est due à la vibration d'élongation de ν (-NH) du cycle aromatique du pyrrole et la bande de vibration caractéristique du ν (C-N-C) est située à 1079 cm^{-1} [19]. Le spectre IR de **L2** présente une bande à 847 cm^{-1} qui est attribuée à la vibration d'élongation (C-S-C) du cycle de thiophène [17,18], tandis que la bande observée à 1022 cm^{-1} dans le composé **L3** correspond à la vibration d'élongation (C- O-C) du cycle furane [19]. Les différentes bandes d'absorption dans l'intervalle 1500-1580 cm^{-1} assignées aux vibrations d'élongation (CH = CH) des cycles aromatiques, de plus les bandes observées dans la région 740-690 cm^{-1} dans les trois bases de Schiff (**L1**, **L2** et **L3**) proviennent de l'élongation ν (C-S).

Tableau III. 3. Principales bandes IR (en cm^{-1}) des ligands (**L1**, **L2** et **L3**).

Ligands	ν (N-H)	ν (-CH=N-)	δ (N-H)	ν (C=C)	ν (C-N-C)	ν (C-S-C)	ν (C-O-C)	ν (S-C)
L1	3429	1612	1565	1551	1079	-	-	730
L2	-	1615	-	1571	-	847	-	699
L3	-	1619	-	1504	-	-	1222	747

III. 2.1. 2. 3. Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN ^1H)

L'analyse par résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^1H) de nouveaux ligands bases de Schiff synthétisés confirme leurs structures. Les spectres RMN ^1H de ces ligands (**L1**, **L2** et **L3**) illustrés sur les figures III. 1, 2 et 3 respectivement montrent les protons d'azométhine (-HC = N) à 8,68 ppm, 9,68 ppm et 8,39 ppm respectivement sous forme de singulets [19,20] et les multiplets attribués aux protons aromatiques à 6,42-7,89 ppm [21]. Le proton pyrrole-NH apparaît sous forme d'un singulet à 10,06 ppm pour le composé **L1** [12]. Les signaux de tous les protons des bases de Schiff **L1-L3** se sont révélés dans leur domaine attendu.

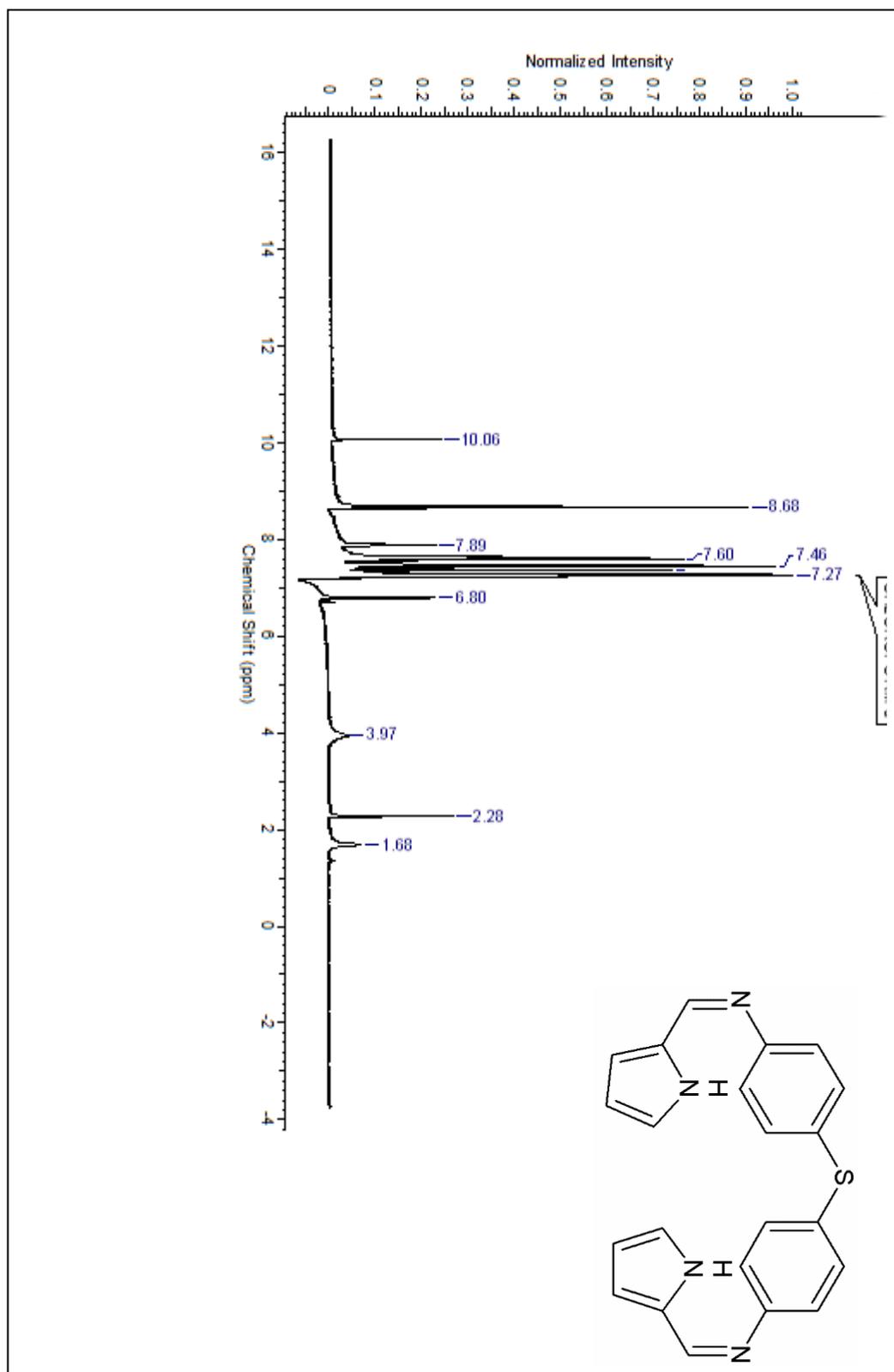
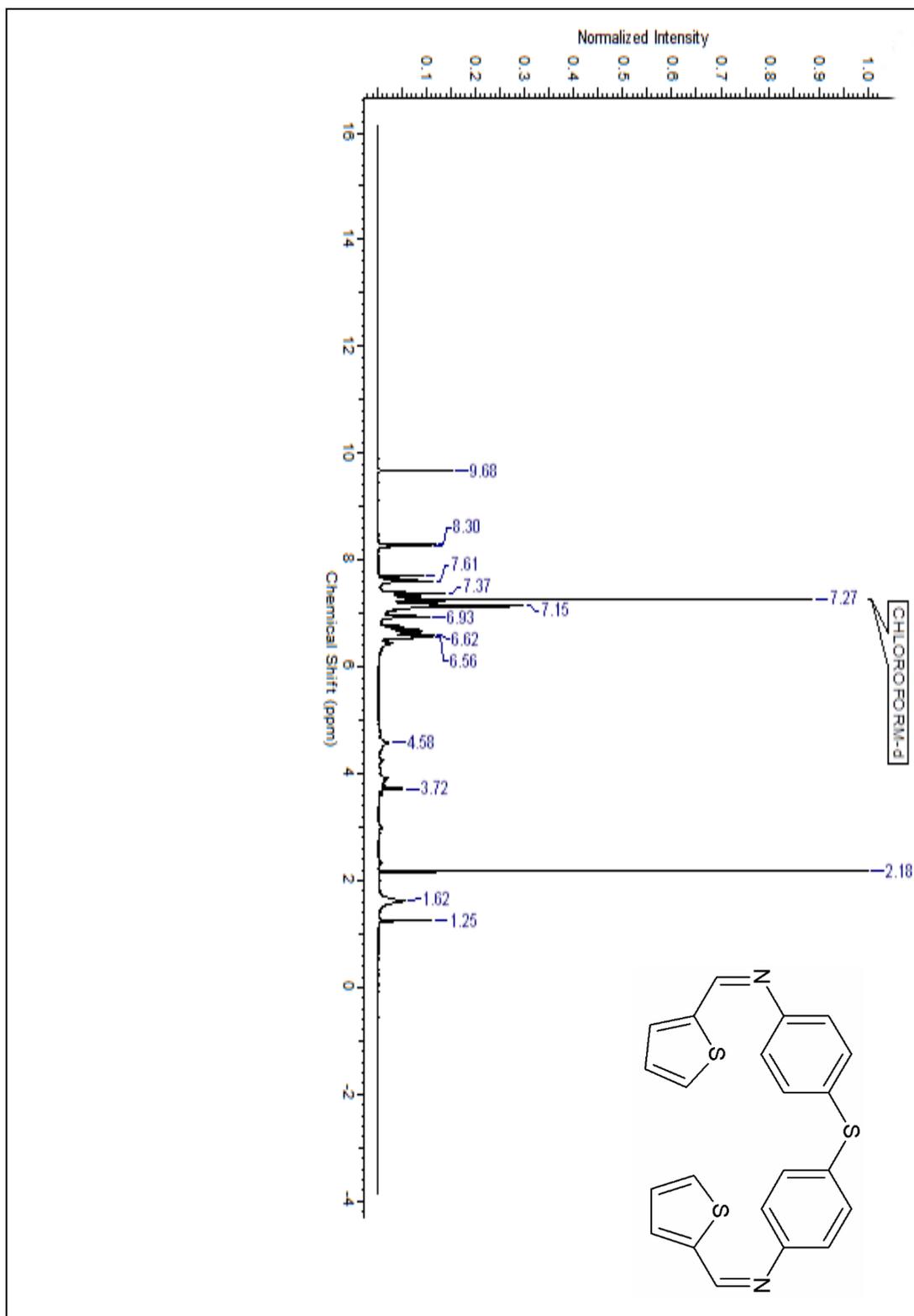
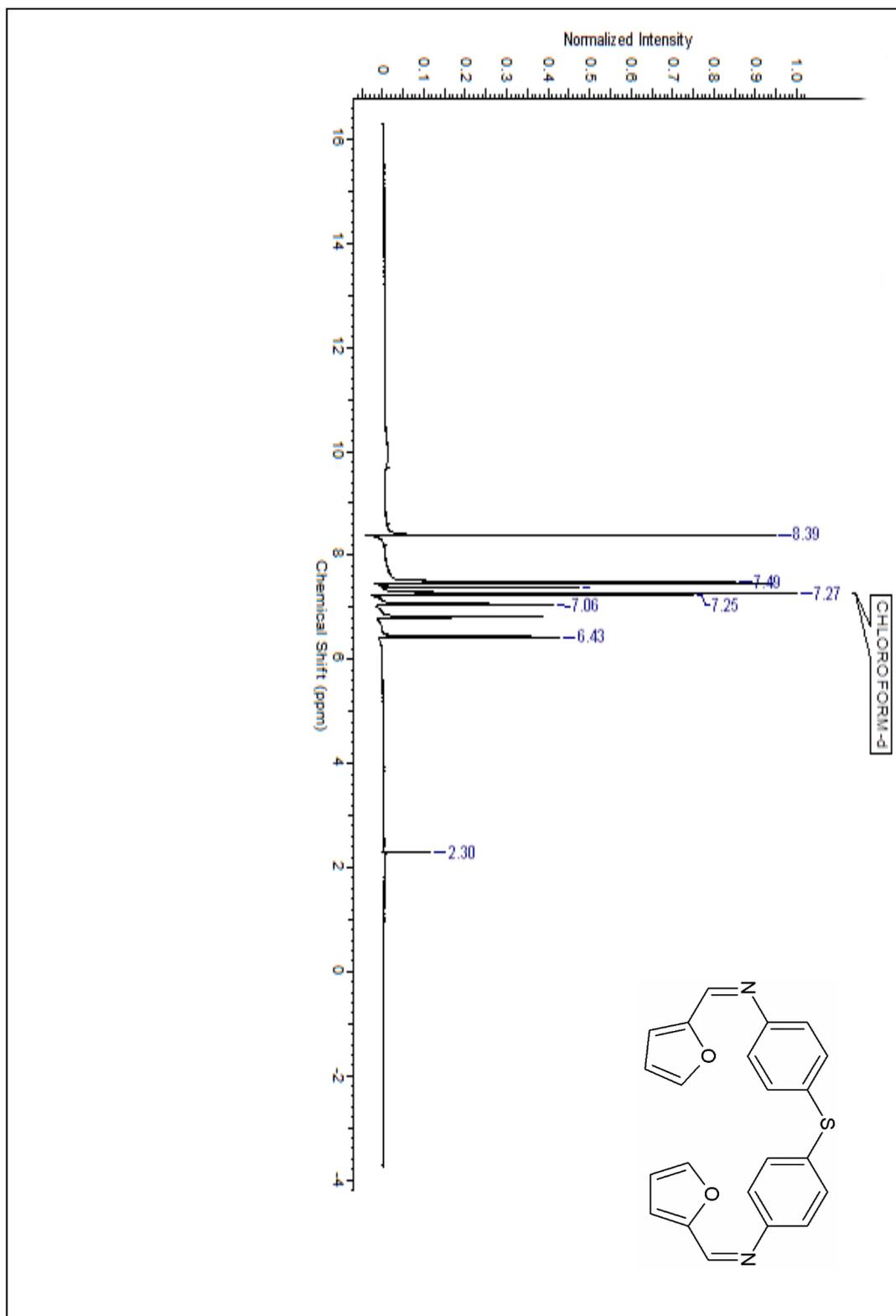


Figure III.1. Spectre RMN H¹ de 4,4'- Bis (2-pyrrole carboxaldehyde) diphenyliditinosulfide (L1)





III.3. Synthèse des complexes métalliques

III. 3. 1. Synthèse des complexes cuivriques

- **Complexe Cu (L1) (I)**

Ce complexe a été préparé (Schéma III. 4) à reflux et sous agitation magnétique durant 8h en versant goutte à goutte une mmole (0.199 g) d'acétate de cuivre hydraté $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dissoute dans 5 ml d'éthanol à une solution de ligand **L1** (1mmole ,0.354g) dans le dichlorométhane (10 ml), dans un rapport molaire 1:1. Le mélange réactionnel est ensuite laissé refroidir à la température ambiante pendant une nuit, un précipité s'est formé. Le produit est filtré et lavé plusieurs fois avec de l'éthanol puis le dichlorométhane puis séché à l'air.

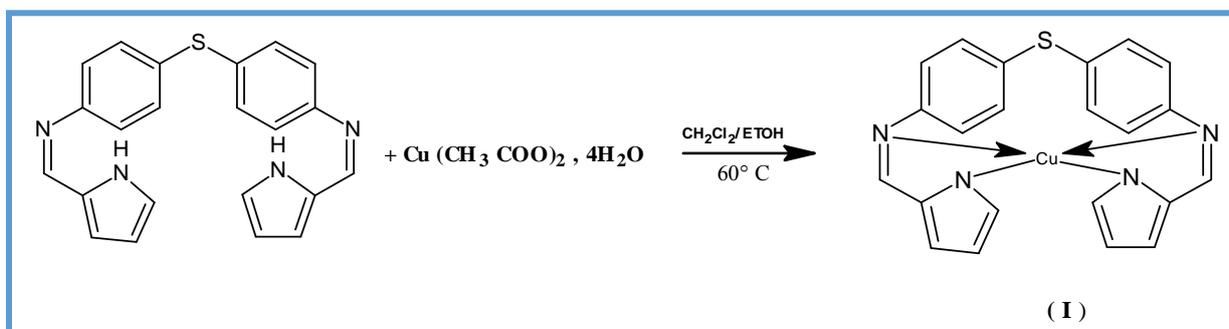


Schéma III. 4. Schéma réactionnel de la synthèse du complexe (I).

- **Complexe Cu (L3)(CH₃COO)₂ (II)**

Le complexe (II) a été obtenu d'après la même procédure précédente, mais seulement la réaction du **L3** (1mmole ; 0.372 g) et l'acétate de cuivre hydraté $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1mmole ; 0.199 g) a été faite sous azote, le précipité formé après 3 jours de refroidissement, selon le schéma réactionnel suivant:

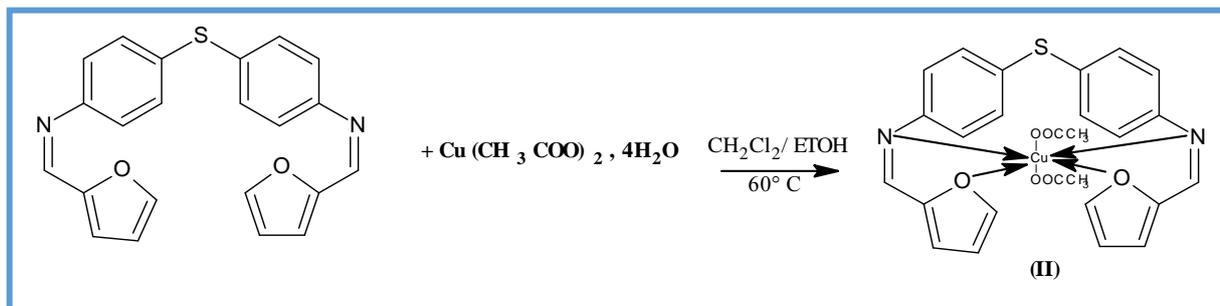


Schéma III. 5. Schéma réactionnel de la synthèse du complexe (II).

III. 3. 2. Synthèse du complexe de cobalt

- Complexe $[\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2]_2(\text{L1}).8\text{H}_2\text{O}$ (III)

Ce complexe a été préparé à partir de la réaction de **L1** (0.354 g ; 1 mmole) et l'acétate de cobalt hydraté $\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.249 g ; 1 mmole) en utilisant la même méthode de synthèse que pour le complexe (**I**) (Schéma III. 6).

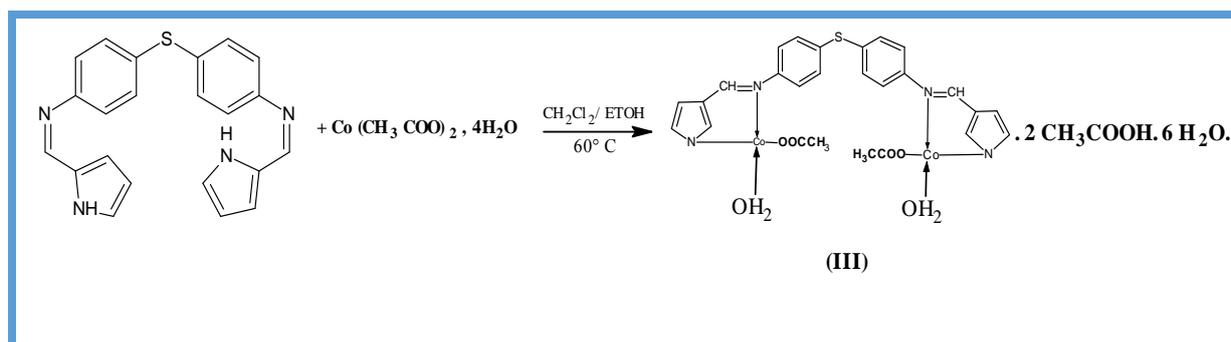


Schéma III. 6. Schéma réactionnel de la synthèse du complexe(III).

III.3.3. Résultats et discussion

Les structures des complexes sont proposées à partir des données d'analyse élémentaire et spectroscopiques.

Tous les complexes métalliques synthétisés sont des solides et se présentent sous forme de poudre colorée. Ils sont insolubles dans les solvants organiques comme l'éthanol, le méthanol et le dichlorométhane à température ambiante et à chaud. Par contre, ils sont peu solubles dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) et le diméthylformamide (DMF). Les rendements et les propriétés physique et analytique de chaque complexe synthétisé sont consignés dans le tableau III.4.

Tableau III.4. Propriétés physique et analytique des complexes (I-III)

Complexes	M (g/mole)	Couleur	Rdt (%)	Pf (°C)	Analyse élémentaire Calculée (trouvée) (%)			
					C	H	N	S
Cu (L1) (I)	434.04	Marron foncé	30	> 240	60.87 (60.98)	4.19 (4.36)	12.90 (13.22)	7.39 (7.16)
Cu (CH₃COO)₂(L3) (II)	554.10	Marron	60	> 240	56.36 (57.38)	3.71 (4.00)	6.43 (8.12)	7.35 (8.54)
[Co(CH₃COO)₂ (L1).8H₂O (III)	868.72	Marron	60	> 240	41.45 (39.82)	5.29 (4.25)	6.44 (5.83)	3.68 (3.50)

III. 3. 3. 1. Analyse élémentaire

Les résultats des pourcentages C, H, N et S (tableau III-4) trouvés pour chaque complexe synthétisé ont conduit aux structures proposées, ces dernières sont confirmées et complétées par les données spectroscopiques UV-Vis et IR.

III. 3. 3. 2. Caractérisation des complexes synthétisés par les méthodes spectroscopiques

III. 3. 3. 2. 1. Spectrométrie ultraviolet-visible (UV-Vis)

Les spectres électroniques d'absorption des complexes synthétisés (I, II et III) dans le domaine 200-800 nm sont illustrés sur les figures III. 7, 8 et 9 respectivement (**voir annexe**). Le spectre UV-Vis du complexe de cuivre (I) présente deux bandes d'absorption dans l'UV localisées à 261 et 353 nm caractéristiques des transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ des cycles aromatiques et $n \rightarrow \pi^*$ du groupement azométhine respectivement, elles sont déplacées vers de plus hautes longueurs d'onde ce qui confirme la présence du ligand L1 dans le complexe [22]. Une seule bande apparaît dans le visible autour de 450 nm sous forme d'un épaulement (transition d-d) [23].

Le spectre d'absorption du complexe de cuivre (II) affiche une seule bande d'absorption vers 275 nm attribuée aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ et la disparition des bandes observées dans le ligand. Dans le domaine ultraviolet le spectre d'absorption du complexe de cobalt (III) affiche deux bandes intenses localisées à 264 et 381 nm qui sont assignées à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$ respectivement. Dans le domaine du visible on observe un large épaulement de faible intensité situé entre 450 et 580 nm dû à la transition d-d. [23].

Les valeurs des longueurs d'onde et les absorbances des complexes métalliques sont regroupées dans le tableau III. 5.

Tableau III. 5. Valeurs des longueurs d'onde et les absorbances des complexes synthétisés.

Composés	A(D.O)	λ_{max} (nm)	Transitions
I	0.548	261	$\pi \rightarrow \pi^*$
	0.769	353	$n \rightarrow \pi^*$
	0.349	450	d-d
II	1.776	275	$\pi \rightarrow \pi^*$
III	0.224	264	$\pi \rightarrow \pi^*$
	1.060	381	$n \rightarrow \pi^*$
	0.331	450-580	d-d

III. 3. 3. 2. 2. Spectrométrie infrarouge (IR)

La spectroscopie d'absorption infrarouge a permis, comme étant une étape préliminaire, de caractériser les complexes obtenus et vérifier la nature des espèces insérées, en effet s'il y a une complexation on observe un déplacement de certaines bandes.

L'examen des spectres IR de ces complexes en comparaison avec ceux des ligands correspondants a montré qu'il y a la formation des complexes métalliques. Les principales bandes d'absorption IR (cm^{-1}) des complexes (**I**, **II** et **III**) synthétisés sont regroupées dans le tableau III.6.

Le spectre IR du complexe de cuivre (**I**) (figure 10 de l'**annexe**), montre la disparition de la bande de vibration d'élongation ainsi que celle de déformation du groupement NH ce qui indique que **L1** a formé une liaison covalente avec le cuivre et celle de la fonction imine $\text{N}=\text{C}$ est déplacée vers 1592cm^{-1} ce qui confirme que le ligand **L1** est coordonné au cuivre par le groupement imine $\text{N}=\text{C}$.

Le spectre IR du complexe (**II**) (figure 11 de l'**annexe**) révèle la présence de toutes les bandes d'absorption du ligand **L3** avec un léger déplacement vers des énergies plus basses. La coordination est confirmée par l'apparition d'une nouvelle bande large de faible intensité située entre 1436 et 1307cm^{-1} due aux vibrations de déformation des groupements CH_3 . Les bandes apparaissant dans l'intervalle 1583 - 1664cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation impliquant le groupement carboxylique COO^- [24,25]. Les nouvelles bandes localisées dans la région 720 - 600cm^{-1} indiquent qu'il y a formation d'une liaison Métal-ligand.

Le complexe de cobalt (**III**) affiche la disparition de la liaison NH indiquant la formation d'une liaison covalente N-métal, et l'apparition d'une nouvelle bande à 1739 cm^{-1} assignée à la vibration d'élongation C=O du groupement carboxylique COO^- [24,25]. La bande large de faible intensité caractéristique des molécules d'eau est observée 3467 cm^{-1} , et le déplacement du position des bandes caractéristiques du ligand **L1** dans le complexe (**III**) permet de conclure qu'il a eu formation d'un complexe.

Tableau III.6. Principales bandes d'absorption IR (cm^{-1}) des complexes (**I-III**)

Complexes	$\nu(\text{N-H})$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{CH=N})$	$\delta(\text{CH}_3)$	$\nu(\text{C=C})$	$\nu(\text{C-N-C})$	$\nu(\text{C-O-C})$	$\nu(\text{S-C})$
I	-	-	1592	-	1551	1079	-	730
II	-	1720	1586	1363	1571	-	1014	699
III	-	1739	1560	1383	1504	1039	-	747

III.4. Activité Antimicrobienne des Ligands Base de Schiff Synthétisées

III. 4. 1. L'activité Antibactérienne

L'évaluation de l'effet antibactérien des bases de Schiff est testée par la méthode de diffusion sur gélose, qui représente l'antibiogramme standard pour l'étude de l'activité antibactérienne, puis par détermination de la concentration minimale inhibitrice pour les ligands ayant montré une activité par l'antibiogramme standard. L'étude de l'activité bactéricide des composés a été testée par détermination de la concentration minimale bactéricide.

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée dans le DMSO qui représente un solvant stérile, ne favorisant pas la croissance des bactéries [26-28].

III. 4. 1. 1. Méthode de diffusion sur gélose

a- Milieu pour l'antibiogramme :

- Après stérilisation de la gélose Muller –Hinton dans l'autoclave. Elle a été coulée en boîte de Pétri sur une épaisseur de 4mm.

- La gélose a été séchée avant l'emploi.

b- Préparation de l'inoculum :

- A partir d'une culture pure de 24h sur milieu d'isolement approprié, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ont été raclées à l'aide d'un écouvillon.
- L'écouvillon a été bien déchargé dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %.
- La suspension bactérienne a été bien homogénéisée, son opacité a été ajustée à 0.5 MF (0.5×10^6 CFU mL⁻¹) à l'aide d'un densitomètre.

c- Ensemencement

- Un écouvillon stérile a été trempé dans l'inoculum puis essoré en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger le surplus.
- L'écouvillon a été frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées.
- L'opération a été répétée 2 fois, en tournant la boîte à 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. L'ensemencement était fini en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

d- Application des disques de produits

Les disques de papier buvard stérile mesurant 6 mm préalablement trempés dans une concentration de 25 mg/ml de composés d'essai ont été placés dans le milieu Muller-Hinton ensemencé.

- Un disque de gentamicine (charge 10µg) a été utilisé comme contrôle positif, tandis que le disque trempé dans le DMSO a été utilisé comme contrôle négatif

e- Condition d'incubation

- Les boîtes ont été inversées et incubées pendant 24 h à 37°C dans l'étuve.
- La sensibilité a été évaluée sur la base du diamètre de la zone d'inhibition contre les souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et comparés avec ceux du contrôle.

III. 4. 1. 2. Détermination de la concentration Minimale inhibitrice (CMI)

La CMI a été effectuée, pour l'ensemble des ligands ayant montré une activité par l'antibiogramme standard.

La CMI se définit comme étant la plus faible concentration d'antibiotique ou du produit à tester (bases de Schiff dans notre cas) capable d'inhiber la croissance bactérienne

après 24 h d'incubation à 37 °c dans un milieu de croissance adéquat. Elle a été déterminée par la méthode de micro dilution du produit à tester en milieu Mueller-Hinton liquide.

✚ Méthode de dilution en milieu liquide

a- milieu de culture

- Le milieu de culture utilisé est le milieu Muller-Hinton liquide.

b- gamme de dilution des composés à tester (base de schiff)

- 25 mg de poudre de base de Schiff a été dissoute dans 1ml de solvant DMSO, pour obtenir une solution mère à 25 mg/ml, le milieu MH a été réparti dans des tubes stériles à raison de 100µl par tube.
- Des dilutions semi-logarithmiques à raison de 2 ont été réalisées à partir de la solution mère, des concentrations intermédiaires allant de 12.5 mg/ml à 0.78 mg/ml ont été obtenues (tableau III.7).

c- préparation de l'inoculum bactérien

- A partir d'une culture pure de 24 heures, une suspension de la souche à tester a été préparée dans 10 ml d'eau physiologique stérile avec une densité équivalente à 0.5 MF (0.5×10^6 CFU mL⁻¹).

d- distribution de l'inoculum bactérien

- Elle doit se faire dans les 15 mn suivant la préparation de l'inoculum.
- Les tubes des composés testés ont été inoculés avec 20 µl de suspension bactérienne par tube.
- Pour chaque série, un témoin sans base de Schiff a été réalisé.
- Les dilutions de l'inoculum bactérien à une densité de 0.5 MF (1/10 ; 1/100 ; 1/1000 ; 1/10000) sont repiquées en strie sur gélose Muller-Hinton, pour servir comme témoin.

f- distribution du milieu MH

- 280 µl de MH a été réparti dans les tubes, la concentration de base de Schiff obtenue est alors de 3.125 mg/ml à 0.195 mg/ml.

f- Incubation

- Les tubes étaient bouchés et incubés à l'étuve pendant 24 h à 37°C.

g- Lecture

- La plus faible concentration inhibant la croissance bactérienne (absence de turbidité dans les tubes à essai après 24 h d'incubation) a été considérée comme la valeur de la CMI [29].

Tableau III.7. Description du mode opératoire (technique de dilution en milieu liquide).

N° tubes	Volume du ligand ajouté (base de schiff)	Concentration intermédiaire	Volume de MH ajouté	Inoculum	Concentration finale
1	100 µl de solution 25 mg/ml	12.5 mg/ml	280 µl	20 µl	3.125 mg/ml
2	100 µl de solution 12.5 mg/ml	6.25 mg/ml	280 µl	20 µl	1.562 mg/ml
3	100 µl de solution 6.25 mg/ml	3.125 mg/ml	280 µl	20 µl	0.781 mg/ml
4	100 µl de solution 3.125 mg/ml	1.56 mg/ml	280 µl	20 µl	0.39 mg/ml
5	100 µl de solution 1.56 mg/ml	0.78 mg/ml	280 µl	20 µl	0.195 mg/ml

III. 4. 1. 3. Détermination de la concentration Minimale Bactéricide (CMB)

La turbidité intrinsèque des composés en solution a nécessité l'application de la CMB, le test CMB a été utilisé comme troisième méthode pour l'étude de l'activité antibactérienne. Les tubes contenant les dilutions des composés à tester avec l'inoculum bactérien dans le milieu de Muller Hinton liquide (les tubes du test CMI) ont été repiqués en stries sur milieu gélosé coulé en boîtes de pétri. Ces boîtes gélosées ont été incubées à 37 ° C pendant 24 h. Pour chaque série, un témoin a été effectué sans base de Schiff. Les dilutions de l'inoculum bactérien à une densité de 0,5 MF (1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000) ont été repiquées en stries sur une boîte de gélose Muller-Hinton pour servir comme témoin [30].

La CMB a été définie comme la plus faible concentration de base de Schiff ne laissant survivre qu'un nombre de bactéries inférieur ou égal à 0,01 % de l'inoculum bactérien en comparant avec les dilutions bactériennes témoins.

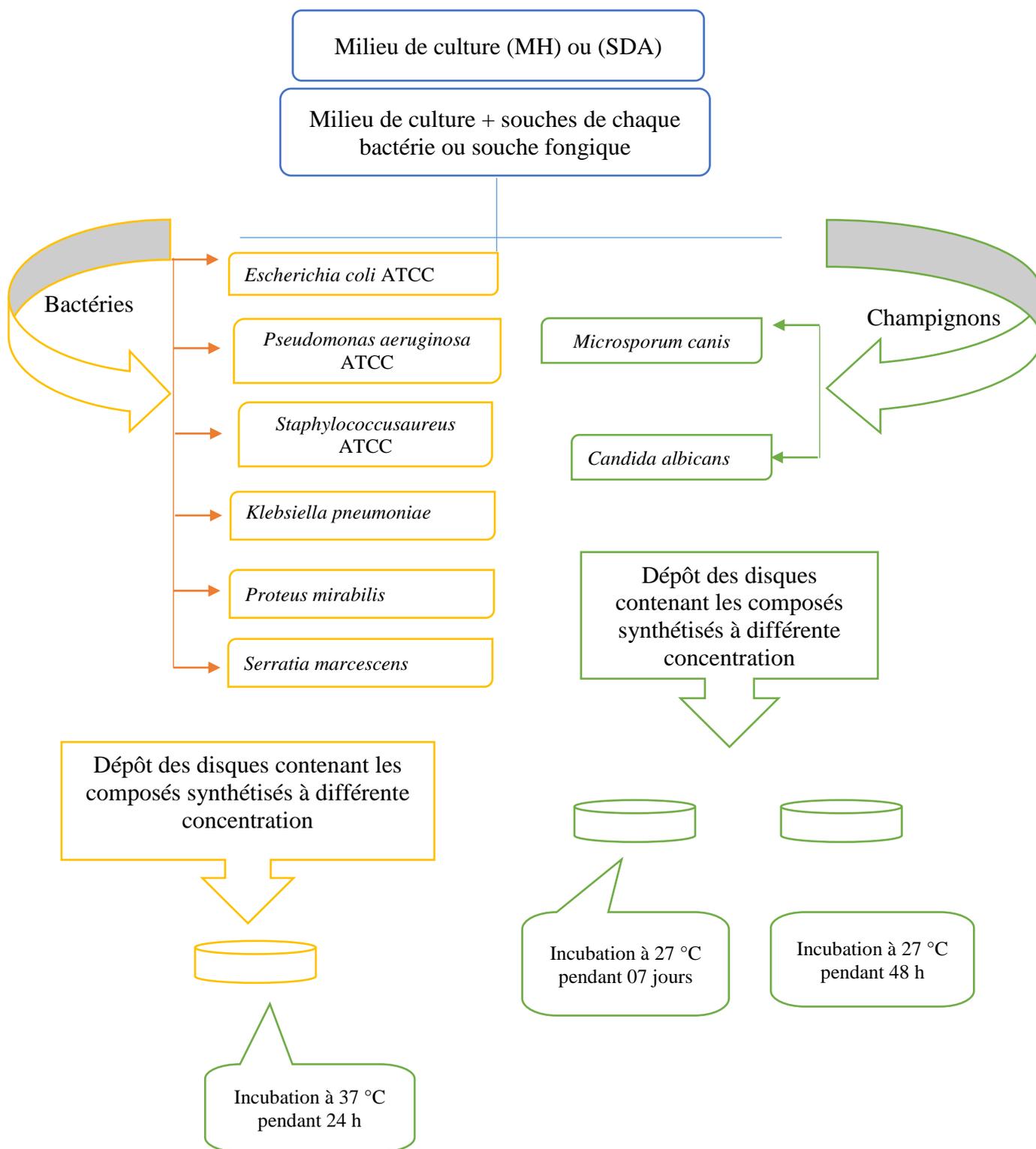
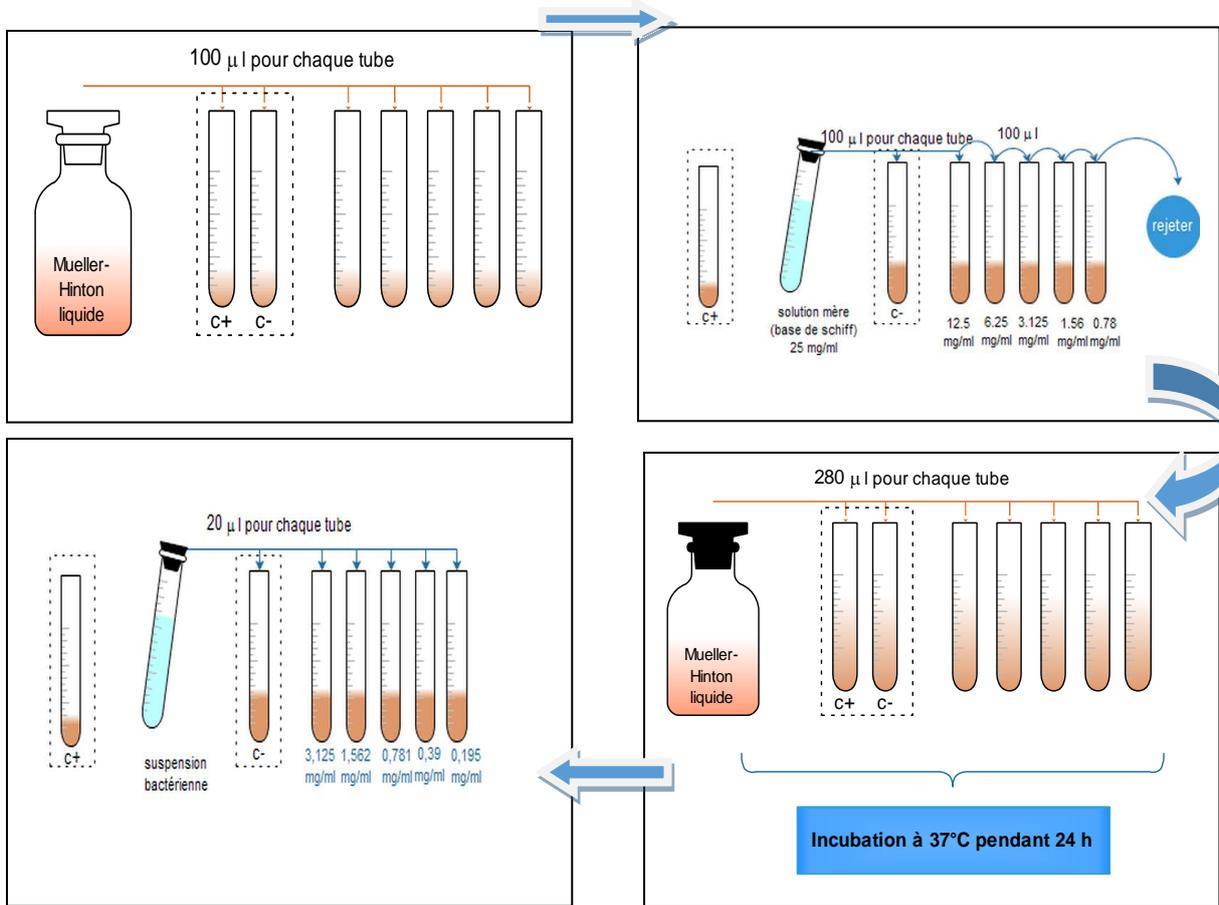


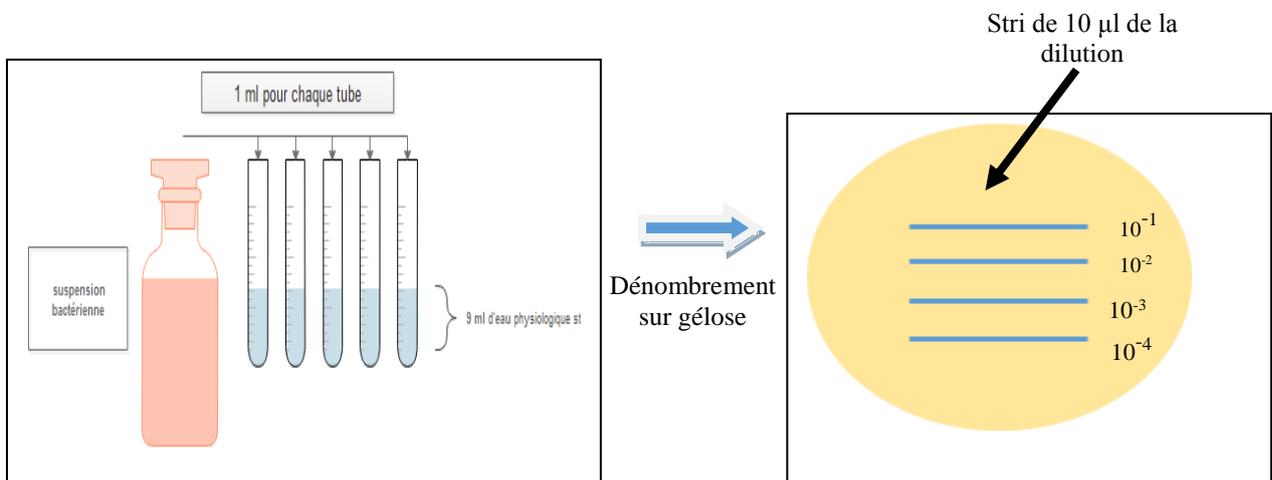
Figure III.4. Protocole expérimental de l'essai de l'activité antibactérienne et antifongique de chaque composé synthétisé (L1, L2 et L3).



Dilution de composés à testés (base de schiff)

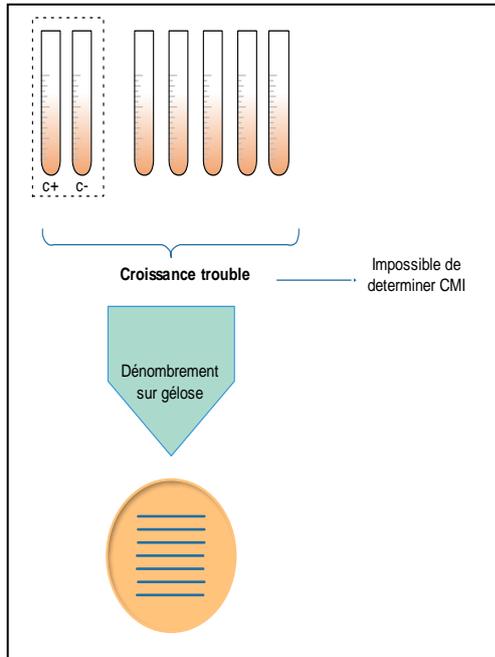


Réalisation des dilutions de l'inoculum (témoins)





Lecture de l'antibiogramme et détermination de la CMI.



Lecture après
24 h à 37°C

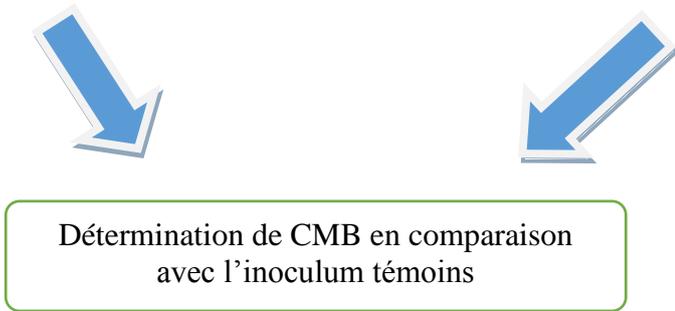
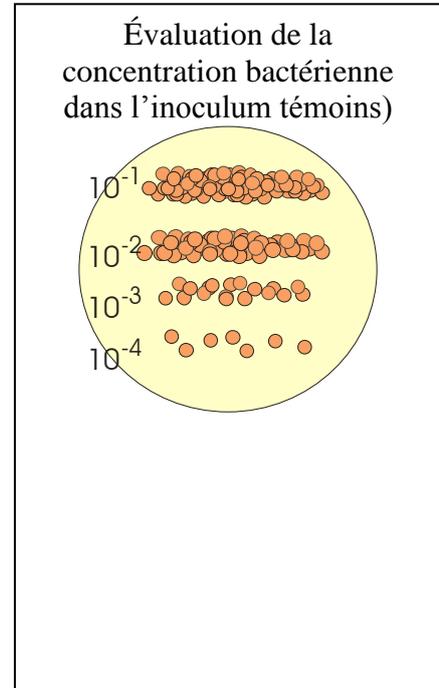


Figure III.5. Détermination de la CMI et la CMB

III. 4. 2. Activité Antifongique par la méthode de diffusion sur gélose

L'évaluation de l'effet antifongique des bases de Schiff a été testée par la même méthode de l'activité antibactérienne avec quelques modifications.

III.4.2.1. Pour la levure

L'évaluation de l'activité antifongique de nos produits, consiste à estimer l'inhibition de la croissance des levures en contact des différents produits, et ceci par la méthode de diffusion sur boîte de gélose (diffusion sur milieu gélosé) en utilisant des disques de papier buvard de 6mm de diamètre préalablement stérilisés par autoclavage et trempés dans les produits à tester.

a- Préparation de l'inoculum

La méthode de préparation de l'inoculum consiste à préparer, à partir d'une culture de 48h sur milieu gélosé, une suspension fongique en solution saline d'eau physiologique stérile (0.9% NaCl) à une concentration de $0,5 \times 10^6$ CFU mL⁻¹.

b- Diffusion sur milieu gélosé

La méthode de diffusion sur milieu gélosé a été réalisée sur le milieu Sabouraud dextrose (SDA). Le milieu a été fondu dans un bain marie à 95°C, puis a été versé simultanément et aseptiquement dans une boîte de Pétri à raison de 15 ml par boîte. Après refroidissement à température ambiante, la suspension de spore fongique a étéensemencée et le milieu a été laissé solidifier sur la paillasse. A l'aide d'une pince stérile, un disque de papier buvard de 6mm de diamètre préalablement stérilisé, a été imbibé de la base de Schiff à tester (25mg/ml), puis le disque a été déposé sur la surface gélosée sèche des boîtes de Pétri. Les boîtes ont été laissées durant 20 minutes à température ambiante pour permettre la diffusion du produit. Elles ont été ensuite incubées à l'étuve à 27°C pendant 48 heures.

III.4.2.2. Pour le dermatophyte

L'évaluation de l'activité antifongique des bases de Schiff, consiste à estimer l'inhibition de la croissance du dermatophyte soumis au contact de nos produits, et ceci par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

a- Préparation de l'inoculum

L'inoculum a été préparé à partir d'une culture de sept jours sur milieu de Sabouraud Dextrose (SDA). Les conidies ont été récupérées après un raclage 2 fois dans 10 ml d'eau distillée stérile. L'ensemble a été centrifugé pendant 5 minutes à 3500 tours par minute et le surnageant de culture obtenu a été ensuite ajusté à une valeur d'absorbance comprise entre 0,06 et 0,1 à 630 nm.

b- Diffusion sur milieu gélosé

La méthode de diffusion sur milieu gélosé a été réalisée sur le milieu Sabouraud dextrose agar (SDA). Ce milieu a été fondu dans un bain-marie à 95°C, puis a été distribué aseptiquement dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre. Après refroidissement à température ambiante, la suspension fongique a étéensemencée. A l'aide d'une pince stérile, un disque de papier buvard de 6mm de diamètre préalablement stérilisé et imbibé de la base de Schiff à tester, a été déposé sur la surface gélosée sèche. Un disque imbibé avec le DMSO a été déposé dans les mêmes conditions et a servi de témoin. Après 7 jours d'incubation à 27°C, le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré [29].

III. 4. 3. Résultats et Discussion

Au cours de nos investigations, l'activité antimicrobienne a été évaluée vis-à-vis de six souches bactériennes de : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Serratia marcescens* à Gram négatif, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 à Gram positif, en utilisant la méthode de diffusion des disques sur milieu Mueller-Hinton gélosé (MHA) et deux souches fongiques : *Microsporium canis* et *Candida albicans*, également par la méthode de diffusion des disques sur milieu sabouraud dextrose (SDA).

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par **Barros et collaborateur** [31]. Ils ont classé les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne en 5 classes :

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 15 \text{ mm}$;
- Fortement inhibitrice : $12 \text{ mm} \leq D \leq 15 \text{ mm}$;
- Modérément inhibitrice : $10 \text{ mm} \leq D \leq 11.9 \text{ mm}$;
- Légèrement inhibitrice : $7 \text{ mm} \leq D \leq 9.9 \text{ mm}$;
- Non inhibitrice : $D < 7 \text{ mm}$.

III.4. 3. 1. Activité antibactérienne

Le test de sensibilité bactérienne à nos composés (**L1-L3**) est regroupé dans le Tableau III.8. Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures. L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné par les composés testés et leurs représentations graphiques sont montrées sur la Figure III.6.

Ces observations expérimentales indiquent que ces composés ont montré une activité antibactérienne non significative par rapport à la gentamycine (10 µg), le nouveau composé **L1** a montré une zone d'inhibition modérée avec *E. coli*, une faible activité avec *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* et *S. marcescens* et n'a montré aucune activité sur *P. aeruginosa* (Figure III. 7). Les composés de **L2** et **L3** ont eu une bonne activité contre *E. coli*, une faible activité contre *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* et *S. marcescens*, alors qu'ils n'ont montré aucune activité sur *P. aeruginosa* (Figure III.8 et III.9).

Le micro-organisme le plus sensible à ces composés a été *E. coli* ATCC 25922, dont le diamètre d'inhibition a été égal à 10, 13 et 13 mm pour **L1**, **L2** et **L3** respectivement. Il a été remarqué que *P. aeruginosa* a été non sensible à l'action de bases de schiff par rapport aux autres souches étudiées. Cette résistance de *P. aeruginosa* n'est pas surprenante, elle est due à la nature de sa membrane externe qui lui confère la résistance à la plupart des agents biocides [32].

Tableau III. 8. Activité antibactérienne des bases de Schiff synthétisées (**L1**, **L2** et **L3**), contre les bactéries à Gram positif et à Gram-négatif [zone d'inhibition (mm)].

Composés	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>k. pneumoniae</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>S. marcescens</i>
L1	10.00	0.00	8.00	7.00	7.00	7.00
L2	13.00	0.00	8.00	8.00	7.00	7.00
L3	13.00	0.00	8.00	7.00	7.00	7.00
GN	35.00	33.00	30.00	28.00	33.00	30.00
DMSO	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Toutes les données sont les moyennes des mesures en triple.

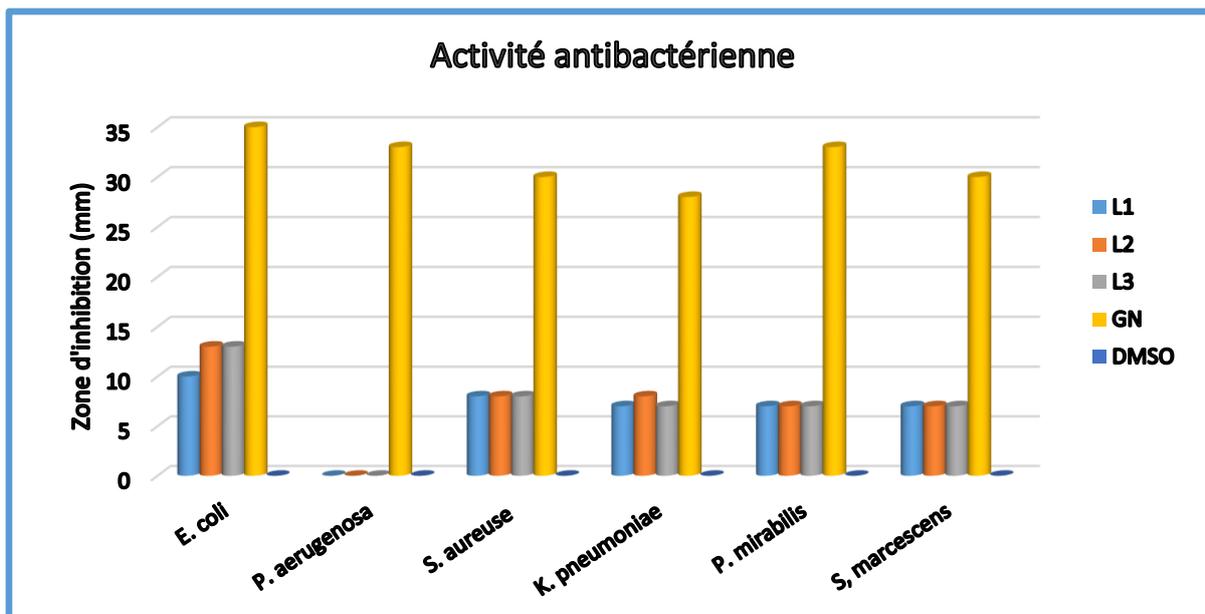


Figure III. 6. Activité antibactérienne des bases de Schiff synthétisées contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

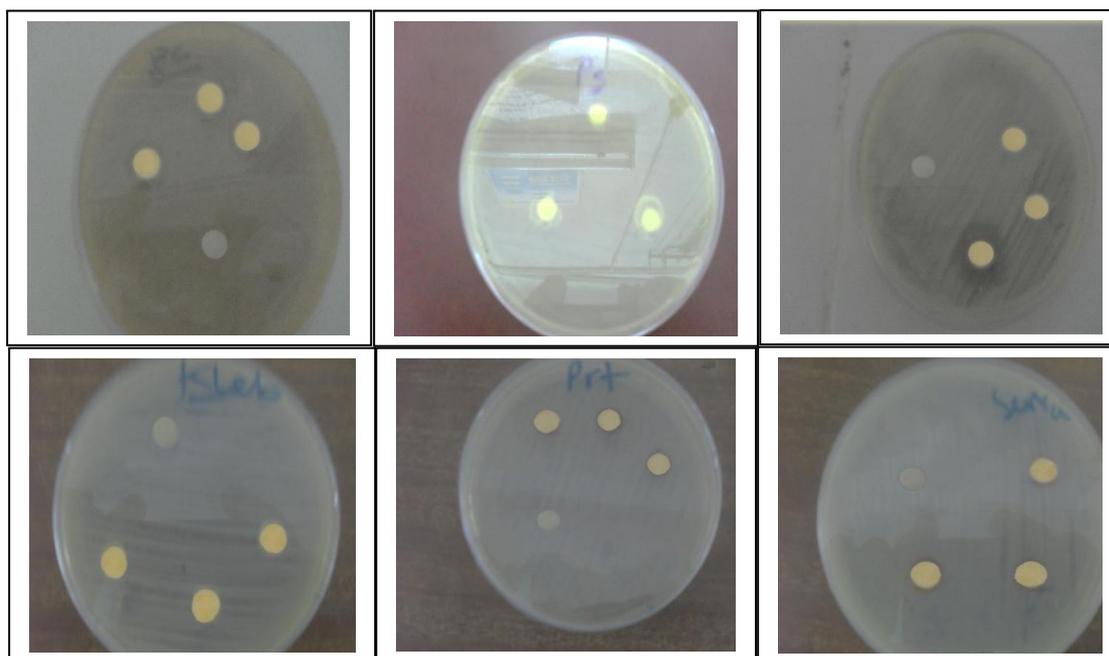


Figure III. 7. Activité antibactérienne de la base de Schiff L1 sur : a- *E. coli* ATCC, b- *P. aeruginosa* ATCC, c- *S. aureus* ATCC, d- *k. pneumoniae*, e- *P. mirabilis*, f- *S. marcescens*.

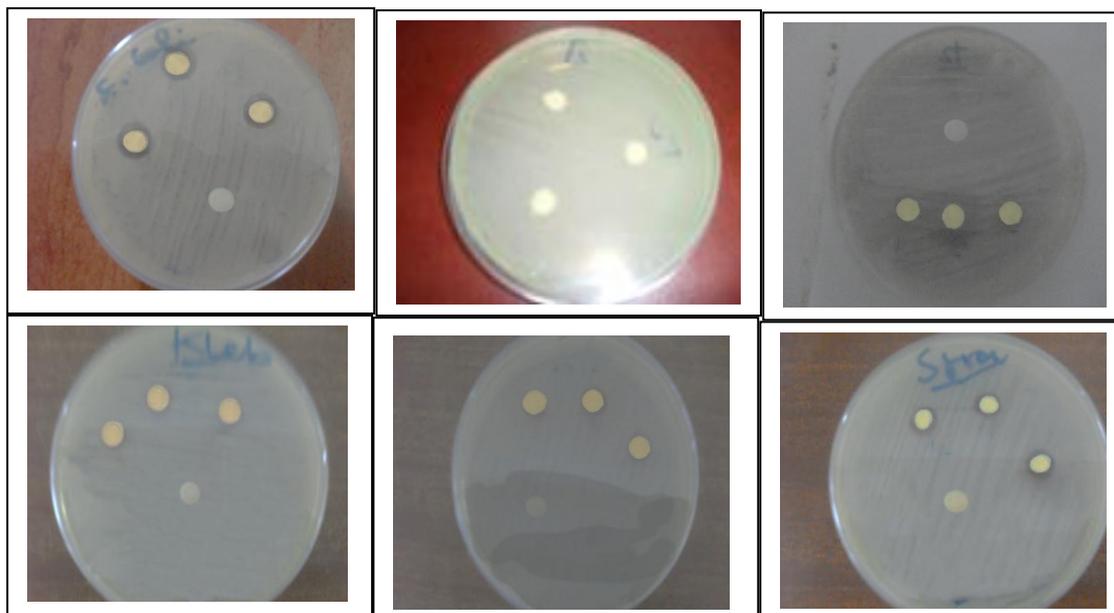


Figure III. 8. Activité antibactérienne de la base de Schiff L2 sur : a- *E. coli* ATCC, b- *P. aeruginosa* ATCC, c- *S. aureus* ATCC, d- *k. pneumoniae*, e- *P. mirabilis*, f- *S. marcescens*

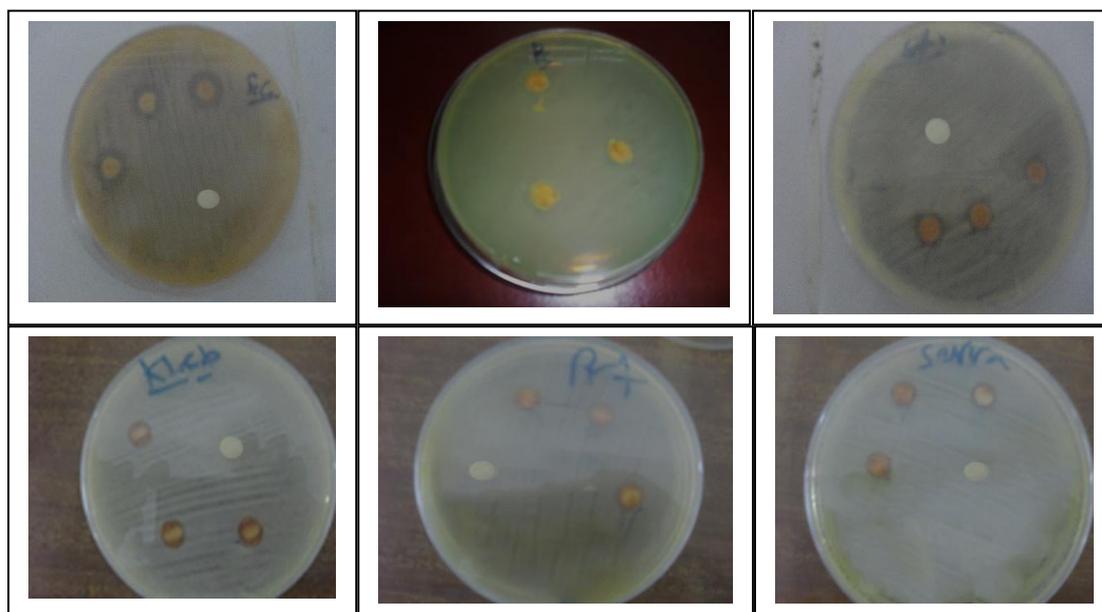


Figure III. 9. Activité antibactérienne de la base de Schiff L3 sur : a- *E. coli* ATCC, b- *P. aeruginosa* ATCC, c- *S. aureus* ATCC, d- *k. pneumoniae*, e- *P. mirabilis*, f- *S. marcescens*.

Les valeurs de CMB ont révélé que tous les composés synthétisés (**L1**, **L2** et **L3**) ont pratiquement le même effet bactéricide ($\leq 0,195$ mg ml⁻¹) sur *E. coli*, et n'ont pas d'effet bactéricide sur les souches qui ont une faible sensibilité par la méthode de diffusion des disques (Tableau III.9.).

Les concentrations minimales bactéricides sont étudiées dans les laboratoires de diagnostic afin de choisir les antibiotiques les plus bactéricides surtout dans les infections graves.

Tableau III.9. CMI et CMB (mg/mL) de différentes bases de Schiff synthétisés (**L1**, **L2** et **L3**).

Composés	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>P. mirabilis</i>		<i>S. marcescens</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
L1	N.D.	< 0.195	N.D.	No CMB	N.D.	No CMB	N.D.	No CMB	N.D.	No CMB
2	N.D.	< 0.195	N.D.	No CMB	N.D.	No CMB	N.D.	No CMB	N.D.	No CMB
L3	N.D.	< 0.195	N.D.	No CMB	N.D.	No CMB	N.D.	No CMB	N.D.	No CMB

N.D. impossible à détecter

À partir des valeurs des diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes étudiées, ainsi que les valeurs des concentrations minimales bactéricides correspondantes des produits testés, on peut dire que, les composés testés n'ont montré aucune activité significative contre les six souches bactériennes testées. Cela peut être attribué au faible caractère de lipophilie des composés, qui ne favorise pas leur pénétration à travers la couche lipidique des membranes bactériennes, donc **L1**, **L2** et **L3** ne peuvent pas inhiber les souches étudiées : *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* et *S. marcescens*.

III.4.3.2. Activité antifongique

L'activité antifongique des composés a été testée contre *C. albicans*, et *M. canis*. Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) sont regroupés dans le tableau III.10, et leurs représentations graphiques sont illustrées dans la figure III. 10. Le composé **L1** a empêché de manière significative la croissance de *M. canis* (15,33 mm de diamètre), la même activité a été montrée contre *C. albicans* mais a été plus faible sur *M. canis* (Fig. III.11 et III.12). Les composés **L2** et **L3** ont montré une bonne activité sur *C. albicans*. Contre *M. canis*, le

composé **L2** a montré un effet modéré, l'effet de **L3** a été faible (Fig. III.11 et III.12), ceci est probablement dû à la fonction (C-O-C) dans le cycle furanique qui n'a pas réagi vis-à-vis de la cellule fongique.

Tableau III.10. Activité antifongique des bases de Schiff synthétisées (**L1-L3**) [zone d'inhibition (mm)].

Composés	<i>C. albicans</i>	<i>M. canis</i>
L1	14.50	15.33
L2	13.50	11.00
L3	14.50	7.00
DMSO	0.00	0.00

Toutes les données sont les moyennes des mesures en triple.

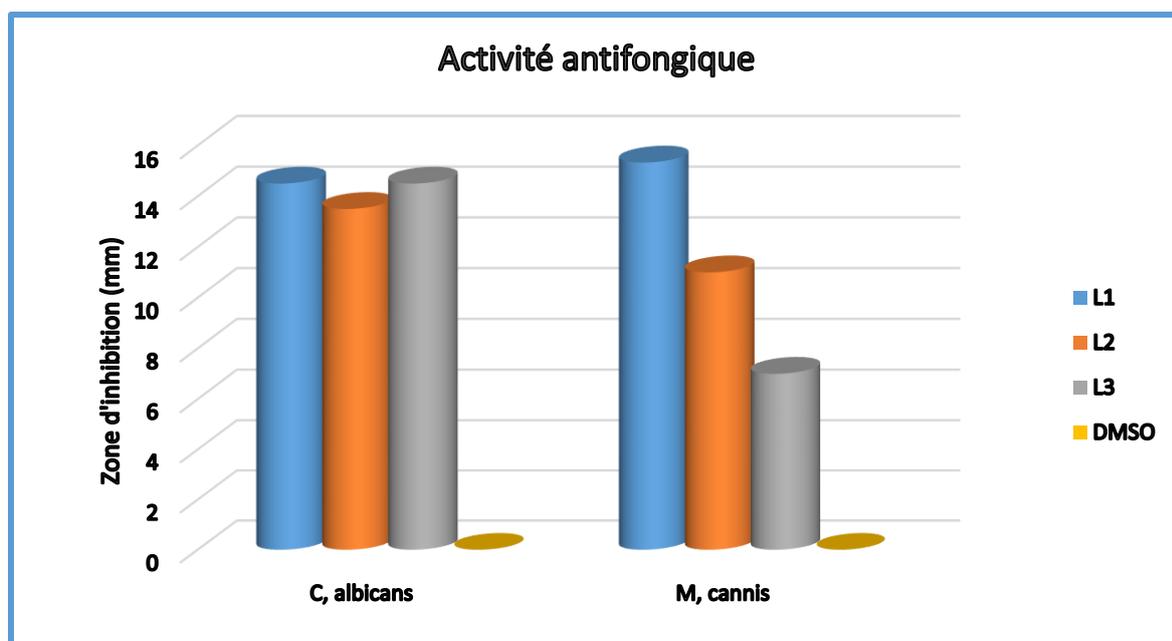


Figure III.10. Activité antifongique des bases de Schiff synthétisées (**L1, L2 et L3**).

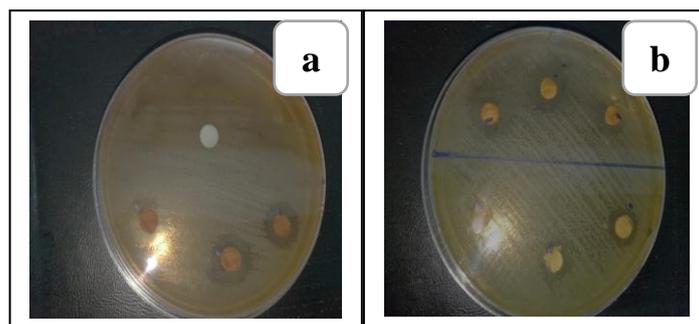


Figure III.11. Activité antifongique des bases de Schiff sur *C. albicans* : a- composé L1 ; b- composé L2 ; composé L3.

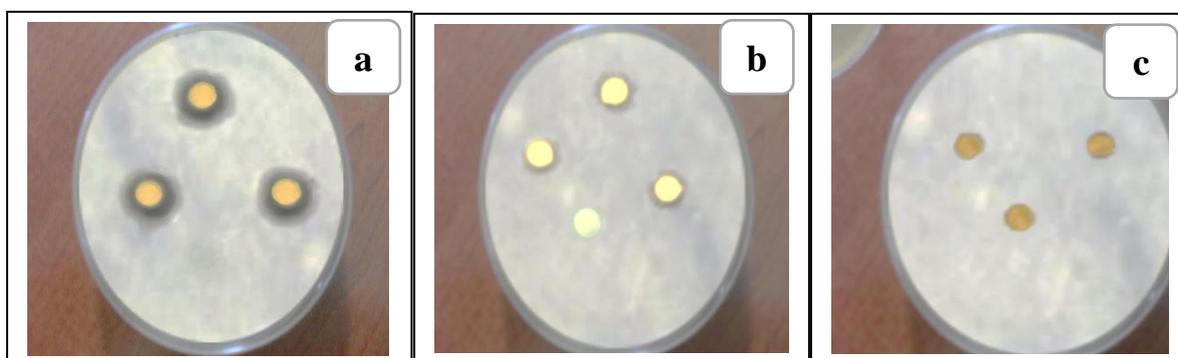


Figure III.12. Activité antifongique de bases de Schiff sur *M. cannis* : a- composé L1 ; b- composé L2 ; composé L3.

L'activité antimicrobienne des bases de Schiff peut être expliquée par leur aptitude à la formation de liaisons hydrogène par N et O atomes donneurs avec les constituants cellulaires. Les structures des bases de Schiff, ainsi que celle de la souche microbienne utilisée, sont strictement liées à l'activité [33].

III.5. Conclusion

Trois nouveaux ligands bases de Schiff symétriques ont été synthétisés dans ce chapitre à partir de la réaction de 4,4'-diaminodiphénylsulfure et trois différents aldéhydes dans l'éthanol avec des bons rendements. L'analyse élémentaire de ces ligands et leurs spectres UV-Vis IR et RMN ^1H ont permis d'identifier leurs structures. Les complexes I, II et III synthétisés ont été obtenus à partir de simples réactions dans le dichlorométhane avec des rendements acceptables à l'exception de celui du complexe I, et leurs points de fusion sont élevés. L'analyse élémentaire de ces complexes et l'étude spectrales UV-vis et IR ont montrés qu'une liaison covalente a formé avec le ligand L1 au niveau de l'atome d'azote

endocyclique, les complexes **I** et **II** de cuivre sont mononucléaire et le complexe **III** du cobalt est binucléaire. Nous avons étudié l'activité antibactérienne et antifongique de trois bases de schiff synthétisés par la méthode de diffusion sur disque, les composés ont également été testés pour leur CMI (concentration minimale inhibitrice) et CMB (concentration bactéricide minimale). L'activité et les valeurs de CMB ont révélé que le micro-organisme le plus sensible à ces composés bases de schiff était *Escherichia coli* ATCC 25922, bactérie à Gram négatif. Ces bases de Schiff ont montré une activité anti fongique meilleure que l'activité antibactérienne.

Références bibliographiques

- [1] Y.-P. Cai, C.-Y. Su, A.-w. Xu, B.-S. Kang, Y.-X. Tong, H.-Q. Liu, S. Jie, Syntheses and characterization of copper (II) complexes of bis (acetylacetonate) trimethylenediimine, *Polyhedron*, 20 (2001) 657-662.
- [2] F. Averseng, P.G. Lacroix, I. Malfant, N. Périssé, C. Lepetit, K. Nakatani, Enhanced second harmonic generation on passing from a mono- to a dicopper (II) bis (salicylaldiminato) Schiff base complex, *Inorganic chemistry*, 40 (2001) 3797-3804.
- [3] P.E. Aranha, J.M. Souza, S. Romera, L.A. Ramos, M.P. dos Santos, E.R. Dockal, E.T. Cavalheiro, Thermal behavior of vanadyl complexes with Schiff bases derived from trans-N, N'-bis (salicylidene)-1, 2-cyclohexanediamine (t-Salcn), *Thermochimica acta*, 453 (2007) 9-13.
- [4] A.A. Isse, A. Gennaro, E. Vianello, Electrochemical reduction of Schiff base ligands H₂salen and H₂salophen, *Electrochimica Acta*, 42 (1997) 2065-2071.
- [5] P.J. McCarthy, R.J. Hovey, K. Ueno, A. Martell, Inner Complex Chelates. I. Analogs of Bisacetylacetonate ethylenediimine and Its Metal Chelates 1, 2, *Journal of the American Chemical Society*, 77 (1955) 5820-5824.
- [6] J.-P. Costes, A. Dupuis, J.-P. Laurent, An original heterodinuclear VO²⁺, Gd³⁺ complex with a nonet ground state, *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (1998) 735-736.
- [7] R. Koner, G.H. Lee, Y. Wang, H.H. Wei, S. Mohanta, Two New Diphenoxo-Bridged Discrete Dinuclear Cu(II)Gd(III) Compounds with Cyclic Diimino Moieties: Syntheses, Structures, and Magnetic Properties, *European journal of inorganic chemistry*, 2005 (2005) 1500-1505.
- [8] W.-K. Lo, W.-K. Wong, W.-Y. Wong, J. Guo, K.-T. Yeung, Y.-K. Cheng, X. Yang, R.A. Jones, Heterobimetallic Zn (II)-Ln (III) phenylene-bridged Schiff base complexes, computational studies, and evidence for singlet energy transfer as the main pathway in the sensitization of near-infrared Nd³⁺ luminescence, *Inorganic chemistry*, 45 (2006) 9315-9325.
- [9] A.B. Gündüzalp, İ. Özsen, H. Alyar, S. Alyar, N. Özbek, Biologically active Schiff bases containing thiophene/furan ring and their copper (II) complexes: Synthesis, spectral, nonlinear optical and density functional studies, *Journal of Molecular Structure*, 1120 (2016) 259-266.

- [10] S. Sedaghat, S. Ghammamy, R. Hosseinzadeh, Z. Amini, M. Mirrahimi, Synthesis, characterization and antitumor activity of new transition metal and uranyl complexes, Proceedings of the 4th international conference on Energy & development, environment & biomedicine, World Scientific and Engineering Academy and Society (WSEAS), 2010, pp. 83-86.
- [11] M. Shakir, A. Abbasi, M. Azam, A.U. Khan, Synthesis, spectroscopic studies and crystal structure of the Schiff base ligand L derived from condensation of 2-thiophenecarboxaldehyde and 3, 3'-diaminobenzidine and its complexes with Co (II), Ni (II), Cu (II), Cd (II) and Hg (II): Comparative DNA binding studies of L and its Co (II), Ni (II) and Cu (II) complexes, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79 (2011) 1866-1875.
- [12] R.M. Silverstein, F.X. Webster, D.J. Kiemle, D.L. Bryce, *Spectrometric identification of organic compounds*, John Wiley & Sons 2014.
- [13] E. Pretsch, T. Clerc, J. Seibl, W. Simon, *Tables of spectral data for structure determination of organic compounds*, Springer Science & Business Media 2013.
- [14] A. Vogt, S. Wołowiec, R.L. Prasad, A. Gupta, J. Skarlewski, Synthesis and characterization of nickel (II), copper (II), manganese (III) and iron (III) complexes with new chiral salen-type ligand N, N'-bis (3, 5-di-tert-butylsalicylidene)-(1R, 3S)-1, 3-diamine-1, 2, 2-trimethylcyclopentane, *Polyhedron*, 17 (1998) 1231-1240.
- [15] R. Ramesh, S. Maheswaran, Synthesis, spectra, dioxygen affinity and antifungal activity of Ru (III) Schiff base complexes, *Journal of inorganic biochemistry*, 96 (2003) 457-462.
- [16] J.R. Zamian, E.R. Dockal, Tetradentate Schiff base oxovanadium (IV) complexes, *Transition metal chemistry*, 21 (1996) 370-376.
- [17] Y. Harinath, D.H.K. Reddy, B.N. Kumar, C. Apparao, K. Seshaiiah, Synthesis, spectral characterization and antioxidant activity studies of a bidentate Schiff base, 5-methyl thiophene-2-carboxaldehyde-carbohydrazone and its Cd (II), Cu (II), Ni (II) and Zn (II) complexes, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 101 (2013) 264-272.
- [18] S. Issaadi, T. Douadi, S. Chafaa, Adsorption and inhibitive properties of a new heterocyclic furan Schiff base on corrosion of copper in HCl 1 M: Experimental and theoretical investigation, *Applied Surface Science*, 316 (2014) 582-589.
- [19] E. Akila, M. Usharani, R. Rajavel, Metal (II) complexes of bioinorganic and medicinal relevance: antibacterial, antioxidant and dna cleavage studies of tetradentate complexes

- involving o, n-donor environment of 3, 3'-dihydroxybenzidine-based schiff bases, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5 (2013) 573-581.
- [20] A.A. Shanty, J.E. Philip, E.J. Sneha, M.R.P. Kurup, S. Balachandran, P.V. Mohanan, Synthesis, characterization and biological studies of Schiff bases derived from heterocyclic moiety, *Bioorganic chemistry*, 70 (2017) 67-73.
- [21] Ü. Ceylan, M.E. Hacıyusufoğlu, Ş.P. Yalçın, M. Sönmez, M. Aygün, Synthesis, molecular structure and spectroscopic characterization of (E)-1-((2-hydroxynaphthalen-1-yl)methyleneamino)-5-(4-methoxybenzoyl)-4-(4-methoxyphenyl) pyrimidine-2 (1H)-one with experimental techniques and theoretical calculations, *Journal of Molecular Structure*, 1109 (2016) 209-219.
- [22] A. Marcu, A. Stanila, O. Cozar, L. David, Structural investigations of some metallic complexes with threonine as ligand, *Journal of optoelectronics and advanced materials*, 10 (2008) 830-833.
- [23] M.S. Masoud, M.F. Amira, A.M. Ramadan, G.M. El-Ashry, Synthesis and characterization of some pyrimidine, purine, amino acid and mixed ligand complexes, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 69 (2008) 230-238.
- [24] L. Bellamy, *The Infrared Spectra of Complex Molecules*, Chapman L, Hall Ltd, London, (1975).
- [25] V.K. Saxena, M. Gupta, M. Srivastava, Synthesis and characterization of complexes of copper (II), nickel (II), cobalt (II) and zinc (II) with histidine and glycine or alanine, *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 26 (1996) 1661-1676.
- [26] R. Cruickshank, J. Duguid, B. Marmion, R. Swain, Tests for identification of bacteria, *Medical microbiology*, 2 (1975) 170-189.
- [27] C.H. Collins, P.M. Lyne, *Microbiological methods*, Microbiological methods., (1970).
- [28] C. Perez, M. Pauli, P. Bazerque, An antibiotic assay by the agar well diffusion method, *Acta Biol Med Exp*, 15 (1990) 113-115.
- [29] M.J. Hearn, M.H. Cynamon, Design and synthesis of antituberculars: preparation and evaluation against *Mycobacterium tuberculosis* of an isoniazid Schiff base, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53 (2004) 185-191.
- [30] Z.H. Chohan, S.H. Sumra, M.H. Youssoufi, T.B. Hadda, Metal based biologically active compounds: Design, synthesis, and antibacterial/antifungal/cytotoxic properties of triazole-derived Schiff bases and their oxovanadium (IV) complexes, *European journal of medicinal chemistry*, 45 (2010) 2739-2747.

- [31] L. Barros, M. J. Ferreira, B. Queiro's, I .C.F.R. Ferreira, P. Baptista, *Food Chemistry*. 103 (2007) 413–419.
- [32] S. Bouhdid, M. Idaomar, A. Zhiri, D. Baudoux, N. Skali, J. Abrini, Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities, Congrès international de biochimie, 324 (2006) 327.
- [33] M.Zaheer, A. Shah, Zareen Akhter, R. Qureshi, B. Mirza, M. Tauseef and M.Bolte, Synthesis, characterization, electrochemistry and evaluation of biological activities of some ferrocenyl Schiff bases, *Appl. Organometal. Chem.*, 25 : 61–69, (2011).

Chapitre (IV)

Activité biologique des composés Azométhines.

IV. Etude de l'activité antibactérienne de certains composés azométhines

IV.1. Introduction :

Le groupe azo est un groupe fonctionnel en chimie organique, de formule $R-N=N-R'$. C'est un excellent groupe partant. Il est de structure importante dans le domaine médical et pharmacologique [1]. Il a été suggéré que la liaison azoimine pourrait être responsable des activités biologiques présentées par certaines bases de Schiff [2, 3]. L'existence d'un fragment azo dans différents types de composés est responsable de l'activité antibactérienne et pesticide. De plus, les azoimines sont également connus pour avoir des activités biologiques telles que les activités antimicrobiennes [4-6], antifongiques [7], anti tumorales [8] et herbicides [9]. De plus, le groupe azo est photochromique, sensible au rédox, sensible au pH, utilisé comme indicateur d'ions métalliques dans la titration complexométrique [10-12]. Ils sont très colorés et possèdent d'excellentes propriétés thermiques et optiques et montrent des applications importantes telles que le stockage de données optiques, la photo-commutation et les matériaux optiques non-linéaires [13-17].

À la lumière de la variété intéressante des activités biologiques observées dans les composés base de Schiff contenant des différents groupements dans leurs structures, à savoir : l'hydroxyle (OH), méthoxy, les halogènes ainsi que certains hétéroatomes, tels que l'azote, l'oxygène et le soufre [18], et les bases de Schiff de la liaisons azoimine ($-N=N-C=N-$) [19], nous avons pensé qu'il serait intéressant d'examiner l'effet du substituant sur le cycle phényle des composés azoimines sur les activités biologiques contre différentes souches bactériennes.

Dans ce chapitre, nous avons étudié l'activité antibactérienne des composés azométhine base de Schiff) synthétisés précédemment de type général $PhN = NC(COCH_3) = NC_6H_4R$ {R = Cl (A), Br (B), CH_3 (C), OCH_3 (D) et R = H (E)} (Figure IV.1) contre trois souches référentielles, à savoir, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 à Gram négatif, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 à Gram positif, et trois souches cliniques à savoir *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Serratia marcescens* à Gram négatif, isolées dans le laboratoire de microbiologie du CHU Sétif.

Les composés utilisés dans cette étude ont été synthétisés par **M. Z. Al-Noaimi et coll.** [19], selon la procédure décrite sur la Schéma. IV. 1

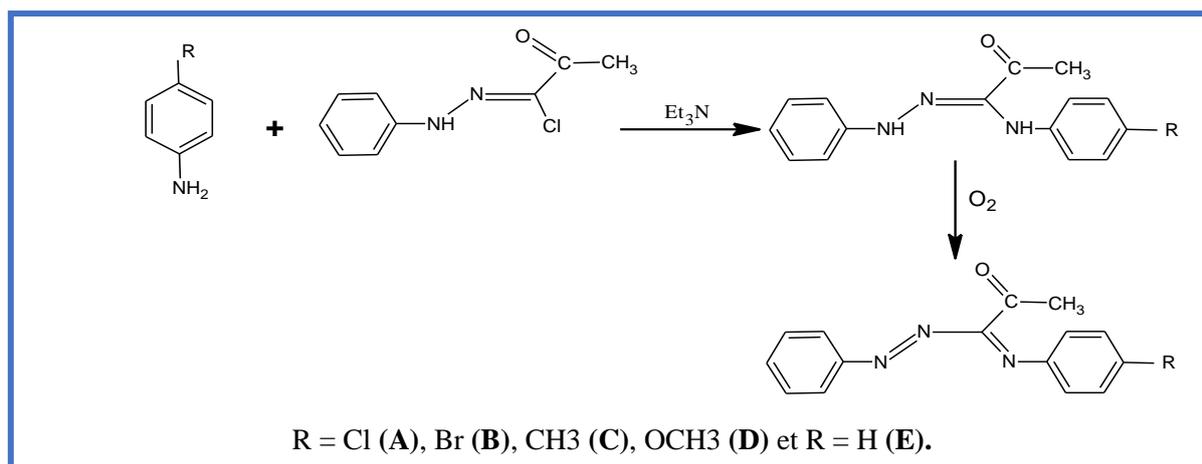


Schéma IV.1. Procédure générale pour la synthèse des azométhines (A)-(E).

Les composés azométhines étudiés :

1.1.1. 1-(4-chlorophenylimino)-1-(phenylhydrazono)-propan-2-one (A)

Tf = 128 °C. IR: ν (N=N) 1480 cm⁻¹, ν (C=N) 1599 cm⁻¹, ν (C=O) 1678 cm⁻¹

1.1.2. 1-(4-Bromophenylimino)-1-(phenylhydrazono)-propan-2-one (B)

Tf = 150 °C. IR: ν (N=N) 1480 cm⁻¹, ν (C=N) 1594 cm⁻¹, ν (C=O) 1673 cm⁻¹

1.1.3. 1-(4-Methylphenylimino)-1-(phenylhydrazono)-propan-2-one (C)

Tf = 120 °C. IR: ν (N=N) 1480 cm⁻¹, ν (C=N) 1595 cm⁻¹, ν (C=O) 1667 cm⁻¹

1.1.4. 1-(4-Methoxyphenylimino)-1-(phenylhydrazono)-propan-2-one (D)

Tf = 106 °C. IR: ν (N=N) 1514 cm⁻¹, ν (C=N) 1615 cm⁻¹, ν (C=O) 1656 cm⁻¹

1.1.5. 1-(Phenylimino)-1-(phenylhydrazono)-propan-2-one (E)

Tf = 110 °C. IR: ν (N=N) 1493 cm⁻¹, ν (C=N) 1601 cm⁻¹, ν (C=O) 1671 cm⁻¹.

IV.2. Activité antibactérienne :

Les souches bactériennes sont les mêmes testées avec les composés bases de Schiff synthétisés et évoqués dans le chapitre III, *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram négatif), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Gram négatif), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram positif), *Klebsiella pneumoniae* (Gram négatif), *Proteus mirabilis* (Gram négatif) et *Serratia marcescens* (Gram négatif). Le Muller-Hinton gélose (Difco) et liquide (Difco) ont été utilisés.

De la même manière, la technique que nous avons utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de nos produits azométhines (A, B, C, D et E) est la méthode de diffusion en milieu gélosé en utilisant des disques stériles de papier buvard [20, 21, 22]. L'étude a été menée dans le DMSO qui est un solvant stérile, ne favorisant pas la croissance des bactéries. Les

souches bactériennes à tester sont reprises dans un milieu nutritif agar non inhibiteur (Mueller–Hinton) afin d’obtenir des colonies isolées. Après incubation à 37°C pendant une nuit, 4 à 5 colonies bien isolées sont transférées dans une solution saline dans un tube à essai. La suspension bactérienne est ajustée en comparaison à un standard Mc Farland 0,5. Après l’ajustement, un écouvillonnage est réalisé et la surface de la gélose est laissé sécher. Des disques de 6 mm de diamètre imprégnés avec les composés d'essai sont placés sur le tapis bactérien à l’aide d’une pince stérile en appliquant une légère pression sur la gélose, Le contrôle positif utilisé est un antibiotique : la gentamicine (10 µg / disque) et du solvant (DMSO) comme témoin négatif pour toutes les souches. L’incubation est faite à 37°C pendant 24h. Le résultat est exprimé en diamètre d’inhibition, les zones d'inhibition claires autour des disques indiquent la présence d'une activité antibactérienne. Le test a été exécuté en triple. (Tableau IV.2, figure IV.1 et IV.2.), ces azométhines ont montré une activité antibactérienne modérée par rapport à la gentamycine (10 µg).

Nous avons effectué des dilutions à partir des solutions mères des composés pour les systèmes qui ont donné des réponses positives par rapport à au moins une souche bactérienne.

Les tests antibactériens ont été effectués pour toutes les dilutions préparées à partir de solutions mères dont la concentration est de 50 mg / ml. Les dilutions utilisées sont de 25, 12,5, 6,25, 3,125 et 1,562 mg / ml.

L'ensemble des résultats obtenus à travers les essais réalisés sont rassemblés dans les tableaux IV.3, IV.4, IV.5, IV.6 et IV.7.

Chaque expérience a été répétée trois (03) fois et la zone moyenne d'inhibition a ensuite été calculée.

IV.2.1. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les valeurs de CMI ont été déterminées comme pour le deuxième test applicable pour l'étude des propriétés antibactériennes des composés, par la méthode de micro dilution des composés à tester dans un milieu liquide Mueller-Hinton (MH).

Les mêmes dilutions préparées pour la méthode de diffusion en milieu gélosé sont ajoutées à raison de 0,5 mL dans des tubes contenant 280 µl du milieu Muller Hinton liquide (MHL) préalablement ensemencés avec 20 µl de la suspension bactérienne, La concentration en composés azométhines obtenue est alors de 6.25 mg / ml à 0,39 mg/ml (Tableau IV.1).

Après une durée d’incubation de 1 jour à 37°C, la lecture des résultats a permis de déterminer la CMI pour laquelle on n'observe pas de pousse visible à l’œil nu (trouble) [23]. (Tableau IV.8)

Tableau IV.1. Description de la procédure (technique de dilution en milieu liquide).

N° tubes	Volume d'azométhine ajouté	Concentration Intermédiaire	Volume de MH ajouté	Inoculum	Concentration finale
1	100 µl de solution de 50 mg/ml	25 mg/ml	280 µl	20 µl	6.250 mg/ml
2	100 µl de solution de 25 mg/ml	12.5 mg/ml	280 µl	20 µl	3.125 mg/ml
3	100µl de solution de 12.5 mg/ml	6.25 mg/ml	280 µl	20 µl	1.562 mg/ml
4	100µl de solution de 6.25 mg/ml	3.125 mg/ml	280 µl	20 µl	0.781 mg/ml
5	100µl de solution de 3.125 mg/ml	1.562 mg/ml	280 µl	20 µl	0.390 mg/ml

V.2.2. Concentration bactéricide minimale (CMB)

A cause de la turbidité des composés en solution, on a déterminé la CMB en utilisant la même méthode utilisée avec les bases de Schiff synthétisées [24]. Au 2ème jour après incubation, une goutte de chaque tube est réensemencée en strie sur une gélose de MH, la CMB a été définie comme étant la plus faible concentration de l'agent pour laquelle il y a destruction d'au moins 99,99 % de l'inoculum bactérien en comparaison avec les témoins, après 24H d'incubation à 37°C.

IV.3. Résultats et discussion

Les composés utilisés dans cette étude ont été préparés comme précédemment [19]. Les activités des composés azométhines (A-D) contre les micro-organismes utilisés sont représentées dans le tableau IV.2 et la Figure IV.2. Tous les composés ont réagi positivement sur au moins l'une des souches bactériennes testées, sauf le produit B qui s'est révélé totalement inactif vis-à-vis des 06 souches bactériennes étudiées. Aucune zone d'inhibition autour des disques n'a été observée par rapport à *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 Le composé D était très actif sur *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et actif

également sur *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Serratia marcescens*. Le composé A était actif sur *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et non actif sur *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Serratia marcescens*. Le composé C était actif sur *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, il n'a montré aucune activité sur *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Serratia marcescens*. Le composé E était actif sur *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, alors qu'il ne présentait aucune activité sur *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Serratia marcescens* (Figures IV.2, IV.3, IV.4, IV.5, IV.6 et IV.7).

Tableau IV.2. Activité antibactérienne des azométhines (A-D), contre les bactéries Gram positif et Gram négatif [zone d'inhibition (mm)].

Composés	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>S. marcescens</i>
A	14.00	13.5	0.00	10	9	8
B	0.00	00	0.00	0.00	0.00	0.00
C	12.33	12.33	0.00	0.00	0.00	0.00
D	15.66	20	0.00	13	14	13.66
E	10.83	12.83	0.00	0.00	0.00	0.00
GN	35.00	33.00	30.00	28.00	33.00	30.00
DMSO	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

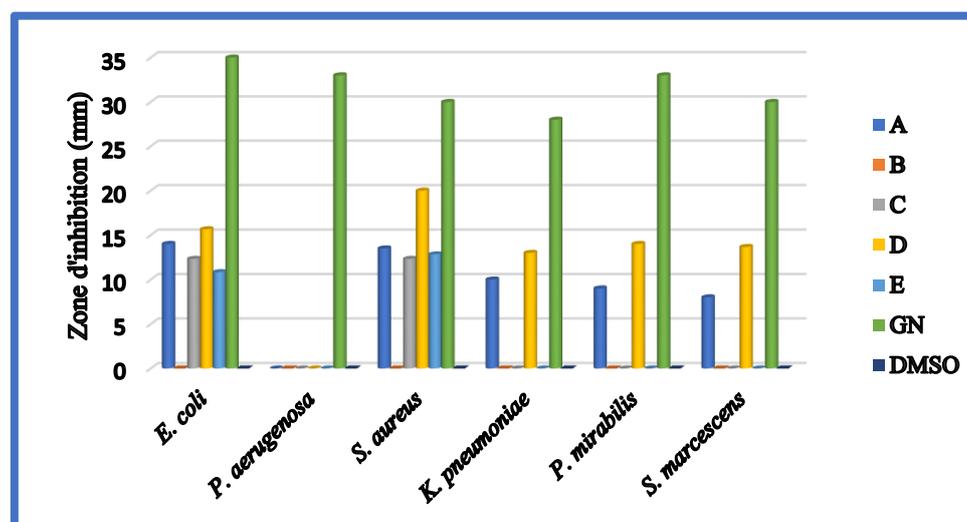


Figure IV.1. Activité antibactérienne des azométhines (A-D) (50 mg/ml) contre les 6 souches bactériennes.



Figure IV.2. Activité antibactérienne des azométhine (A-D) contre *E. coli* à 50 mg/ml.



Figure IV.3. Activité antibactérienne des azométhine (A-D) contre *S. aureus* à 50 mg/ml.



Figure IV.4. Activité antibactérienne des azométhine (A-D) contre *P. aeruginosa* à 50 mg/ml.



Figure IV.5. Activité antibactérienne des azométhine (A-D) contre *P. mirabilis* à 50 mg/ml.



Figure IV.6. Activité antibactérienne des azométhine (A-D) contre *S. marcescens* à 50 mg/ml.



Figure IV.7. Activité antibactérienne des azométhine (A-D) contre *K. pneumoniae* à 50 mg/ml.

A partir des résultats du test, on constate que l'activité antibactérienne est proportionnelle à la concentration des composés. Les résultats des tests de sensibilité bactérienne à différentes concentrations de nos composés azométhines sont regroupés dans les tableaux IV.3, IV.4, IV.5 et IV.6. Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures.

Tableau IV. 3. Activité antibactérienne d'azométhine A.

Concentration (mg/ml)	Diamètres d'inhibition (mm)				
	25	12.5	6.25	3.125	1.562
<i>E. coli</i> ATCC 25922	13.50	13.33	12.33	11.00	09.33
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	12.33	11.66	10.33	09.66	09.00
<i>K. pneumoniae</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>P. mirabilis</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>S. marcescens</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

(-) ; pas d'activité.

A partir des résultats, on constate clairement que le composé n'a présenté aucune activité sur *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Serratia marcescens* avec une concentration plus faible ou égale à 25 mg / ml.

L'azométhine A est jugée modérément active contre la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, les concentrations de 1.625 à 25 mg/ml ont donné des diamètres d'inhibition de 09,00 à 12.33 mm respectivement, et contre la souche *Escherichia coli* ATCC 25922, une concentration inférieure ou égale 3.125 mg/ml a donné un diamètre de 09.33 et 11.00 respectivement. Ce produit est jugé fortement actif sur *Escherichia coli* ATCC 25922 avec des diamètres d'inhibition de 12.33 et 13,50 mm à des concentrations de 1.562 et 25 mg/ml respectivement.

La figure IV.8 montre les diamètres d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'azométhine A.

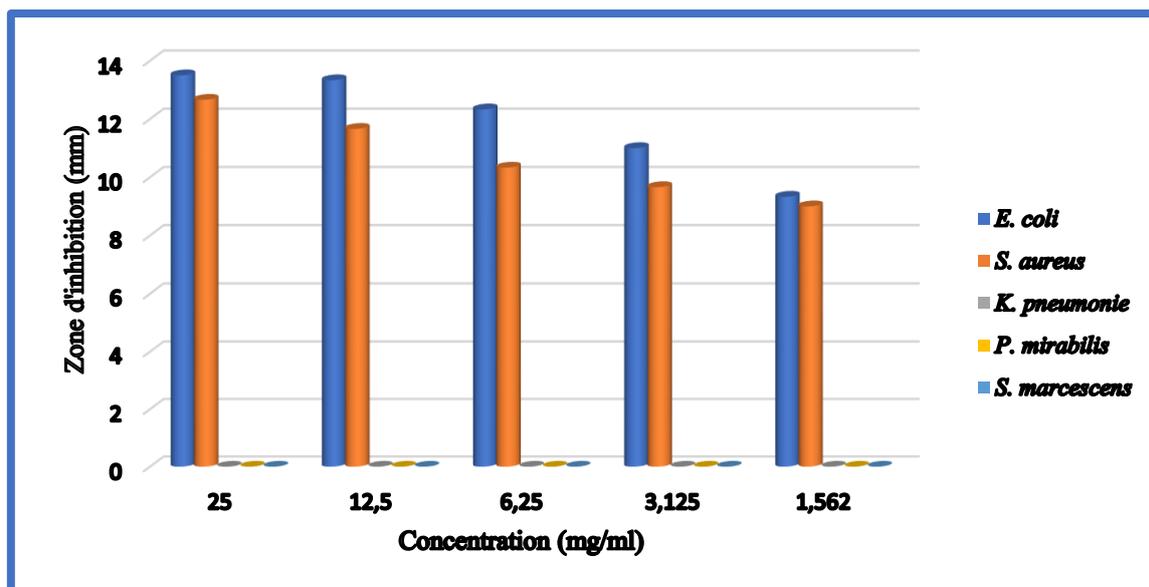


Figure IV.8. Les diamètres d'inhibition des souches en fonction de la concentration de l'azométhine

A.

Le composé C a révélé une faible activité antibactérienne sur l'ensemble des souches bactériennes testées (Tableau IV.4), avec des diamètres d'inhibition respectives de 09.33 à 10.66 mm pour *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et de 08.66 à 10.66 mm pour *Escherichia coli* ATCC 25922 avec des concentrations de 1.562 à 25 mg/ml respectivement (Figure IV.9).

Tableau IV. 4. Activité antibactérienne de C

Concentration (mg/ml)	Diamètres d'inhibition (mm)				
	25	12.5	6.25	3.125	1.562
<i>E. coli</i> ATCC 25922	10.66	10.33	09.33	09.00	08.66
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	10.66	10.33	10.00	09.66	09.33
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-
<i>P. mirabilis</i>	-	-	-	-	-
<i>S. marcescens</i>	-	-	-	-	-

(-) ; pas d'activité.

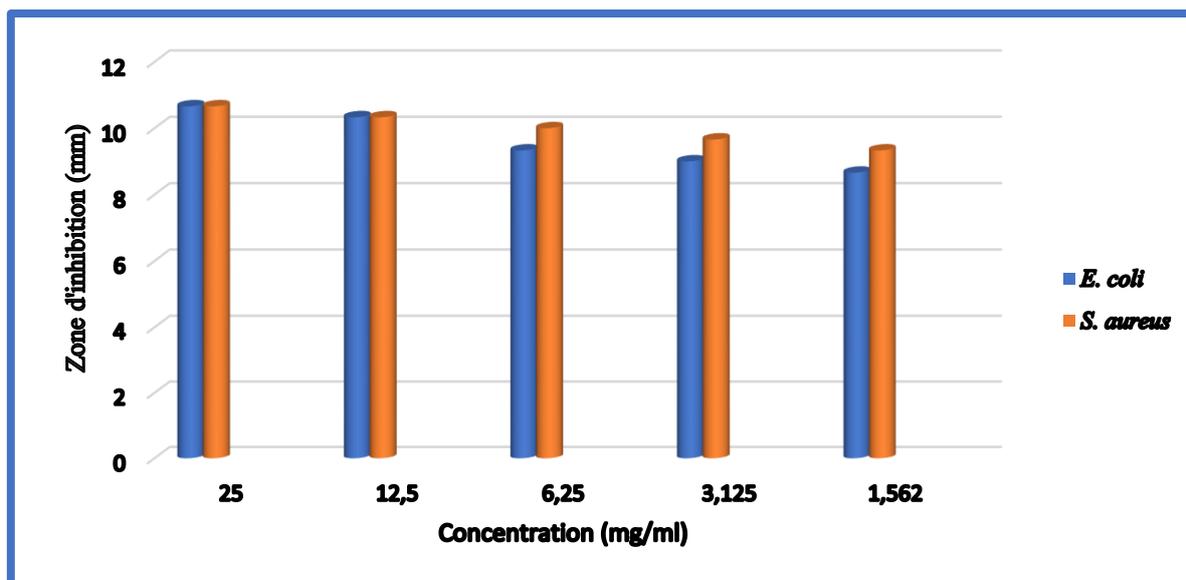


Figure IV.9. Les diamètres d'inhibition des souches bactériennes en fonction de la concentration du composé C.

Le composé **D** n'a montré aucune activité sur *Proteus mirabilis* avec une concentration inférieure ou égale à 6,25 mg / ml et sur *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia marcescens* à une concentration plus faible ou égale à 25 mg / ml (Tableau IV.5).

Tableau IV. 5. Activité antibactérienne de **D**.

Concentration (mg/ml)	Diamètres d'inhibition (mm)				
	25	12.5	6.25	3.125	1.562
<i>E. coli</i> ATCC 25922	14.33	13.83	13.00	12.33	11.33
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	19.66	18.33	15.66	14.66	12.66
<i>K. pneumoniae</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>P. mirabilis</i>	11.00	10.50	0.00	0.00	0.00
<i>S. marcescens</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

(-) ; pas d'activité

Le micro-organisme le plus sensibles à ce composé était *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dont le diamètre d'inhibition est égale à 19.66 et 18.33 mm pour des concentrations de 25 et 12.5 mg /ml respectivement.

La souche de *Proteus mirabilis* a été moins sensible vis-à-vis de l'azométhine **D**, avec des zones d'inhibition de 11.00 et 10,50 mm pour des concentrations de 25 et 12.5 mg/ml respectivement

Suite à ces résultats, l'azométhine **D** est jugée fortement active à des concentrations de 1.562 et 3.125 mg/ml avec des diamètres d'inhibition de 12,66 et 14,66 mm respectivement, et très fortement active à des concentrations de 6.25 à 25 mg/ml avec des diamètre de 15.66 et 19.66 respectivement contre les souches de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Son activité est modérée contre la souche d'*Escherichia coli* ATCC 25922 avec un diamètre d'inhibition de 11,33 mm à une concentration de 1.625 mg/ml, et elle est forte avec un diamètre de 12.33 et 14.33 mm à des concentrations de 3.125 à 25 mg/ml respectivement. (Figure IV. 10)

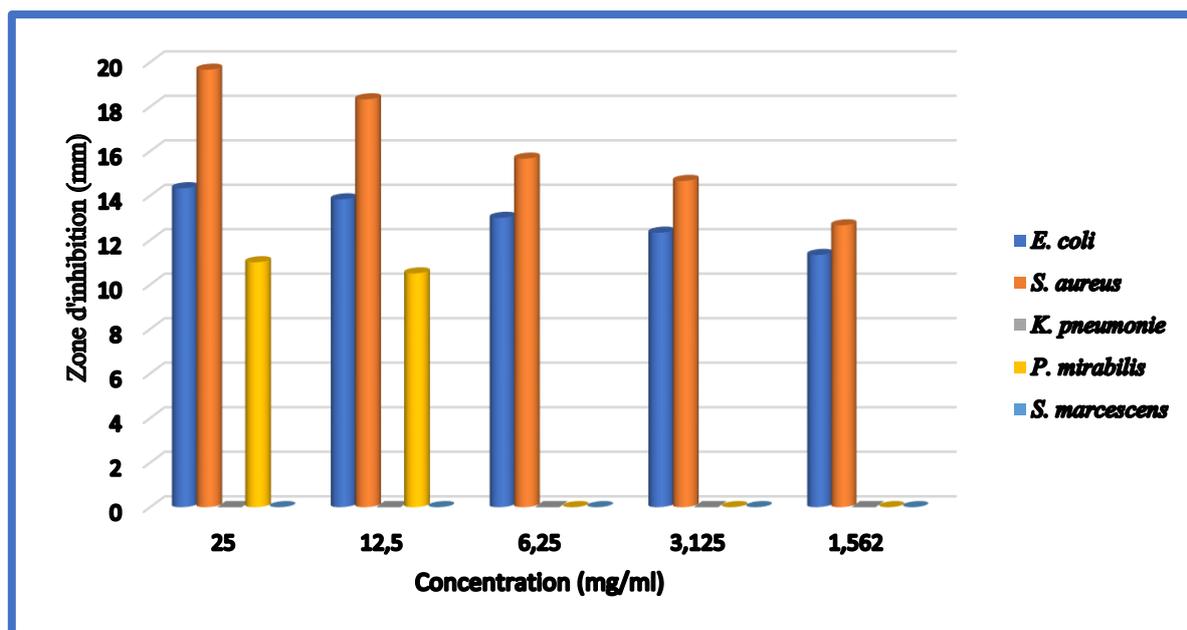


Figure IV.10. Les diamètres d'inhibition des souches en fonction de la concentration du produit **D**.

Enfin, l'azométhine **E** a présenté une faible activité inhibitrice sur les souches *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 à des concentrations de 1.562 à 25 mg/ml avec des diamètres de 07.33 à 09.00 mm pour *Escherichia coli* ATCC 25922 et de 06.66 à 08.66 mm pour *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 respectivement. (Tableau IV.6, Figure IV.11)

Tableau IV.6. Activité antibactérienne de E.

Concentration (mg/ml)	Diamètres d'inhibition (mm)				
	25	12.5	6.25	3.125	1.562
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	09.00	08.66	08.00	07.66	07.33
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	08.66	08.00	07.33	07.00	06.66
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	-	-	-	-	-

(-) ; pas d'activité

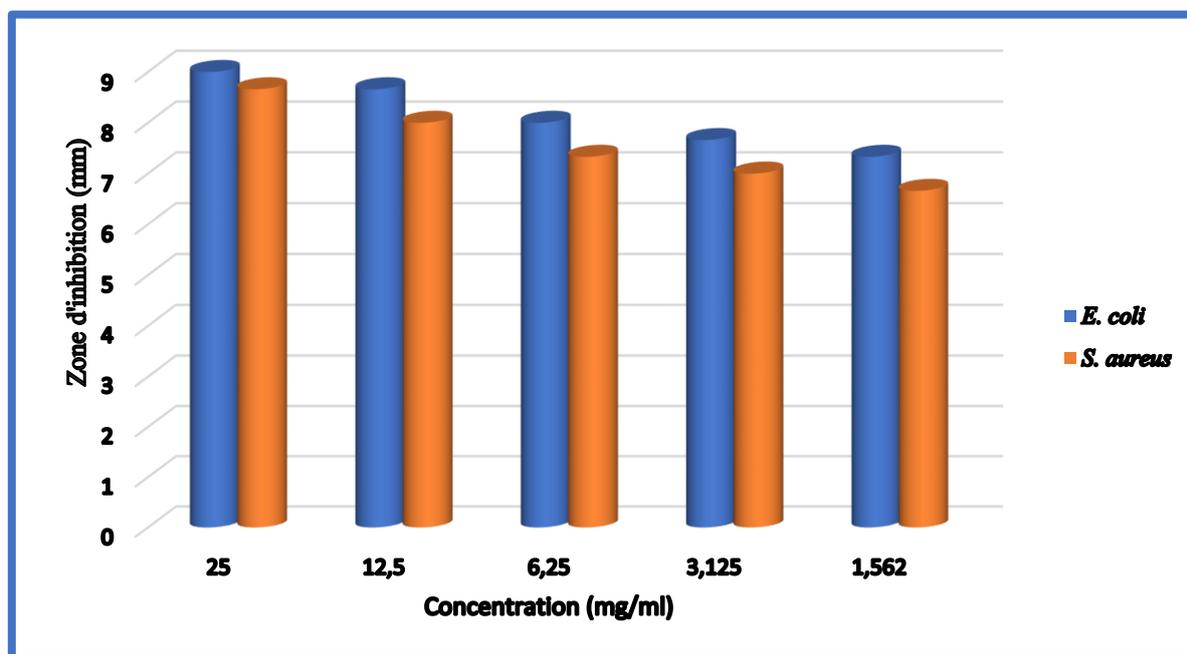


Figure IV.11. Les diamètres d'inhibition des souches en fonction de la concentration du produit E.

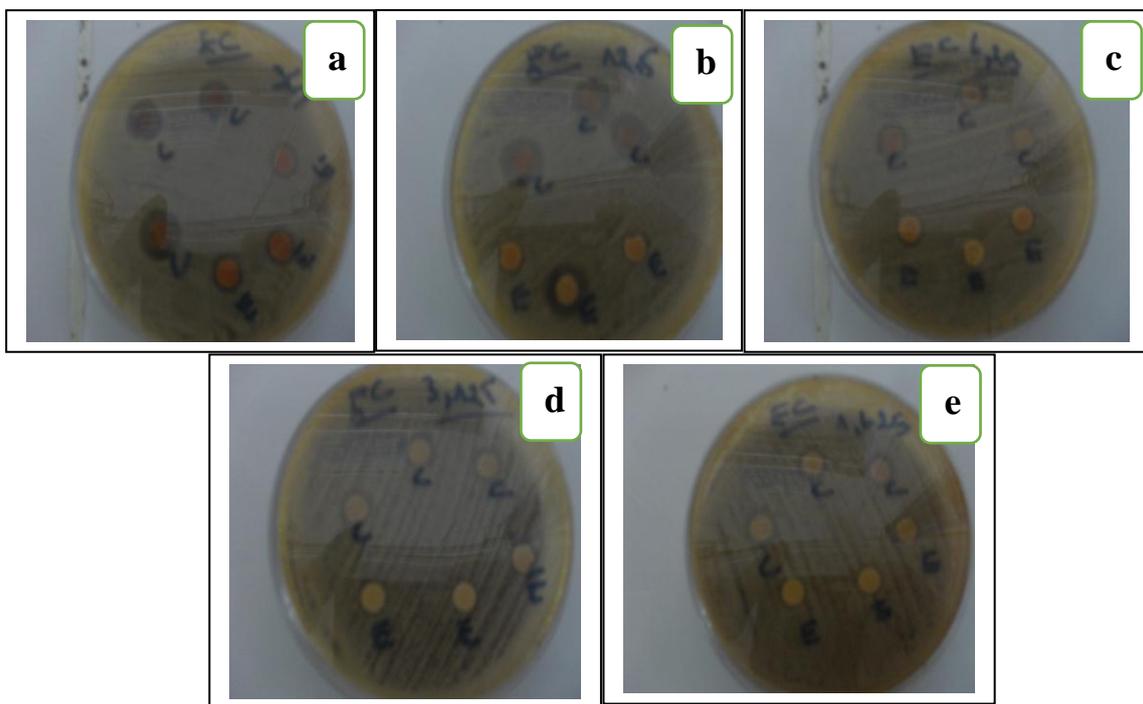
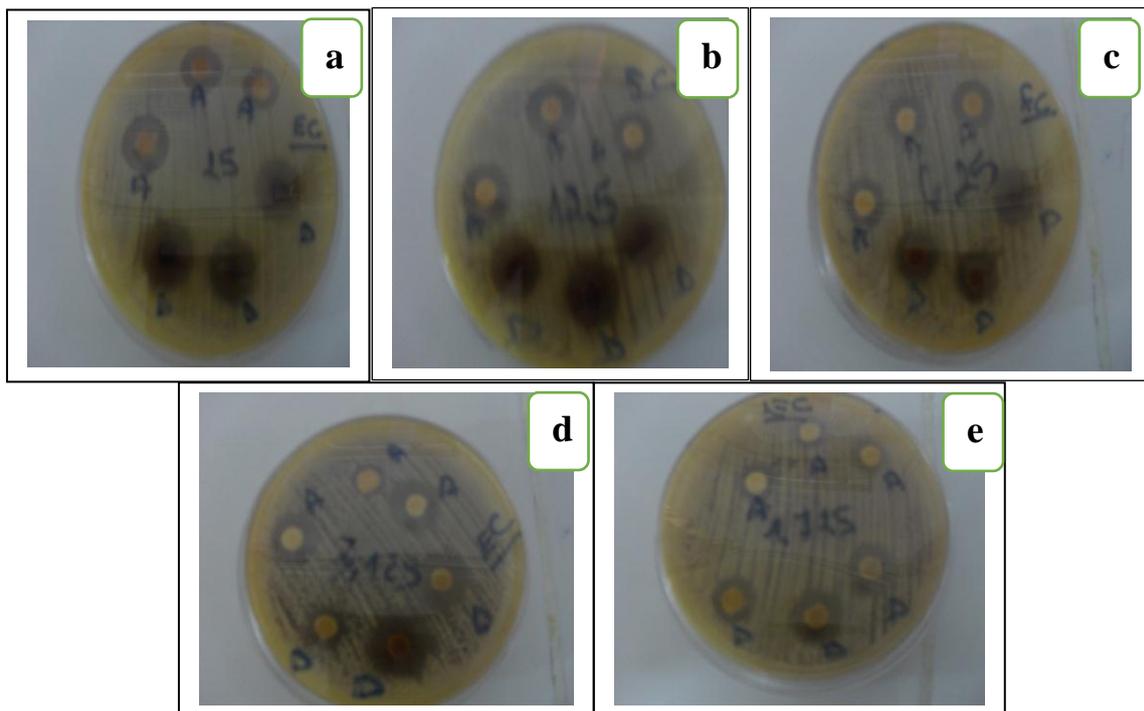


Figure IV.12. Activité antibactérienne des azométhines **A, C, D** et **E** contre la bactérie *E. coli* à : **a** ; 25 mg/ml, **b** ; 12.5 mg/ml, **c** ; 6.25 mg/ml, **d** ; 3.125mg/ml et **e** ; 1.562 mg/ml.

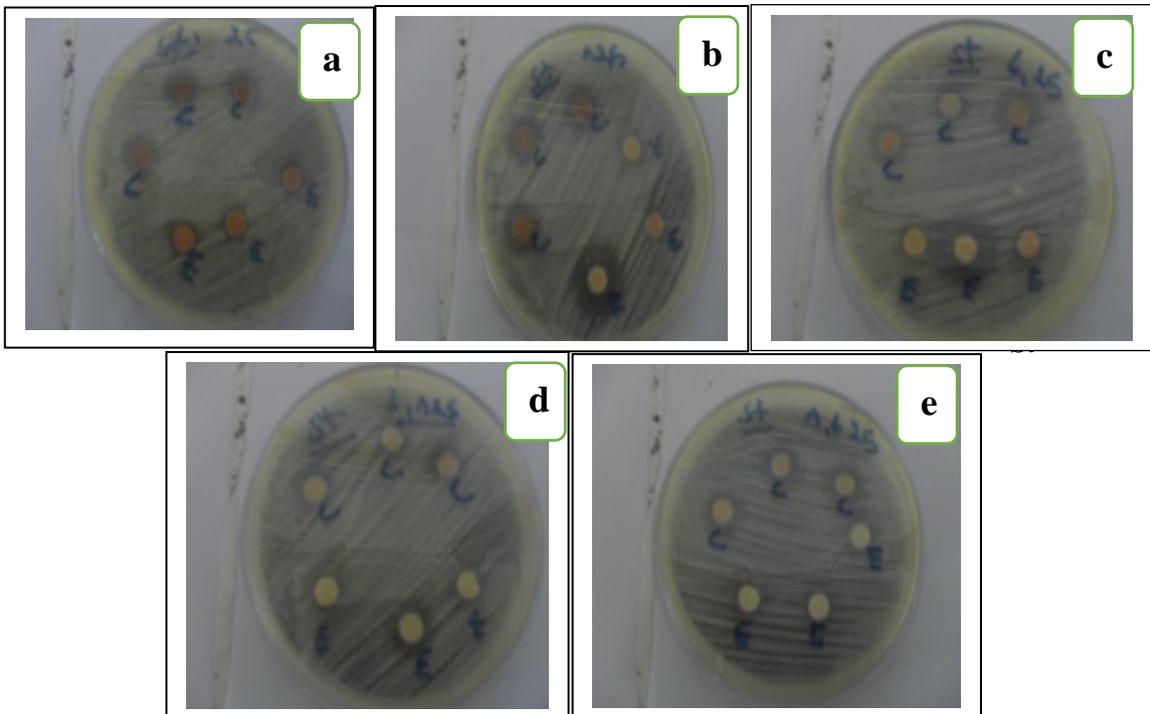
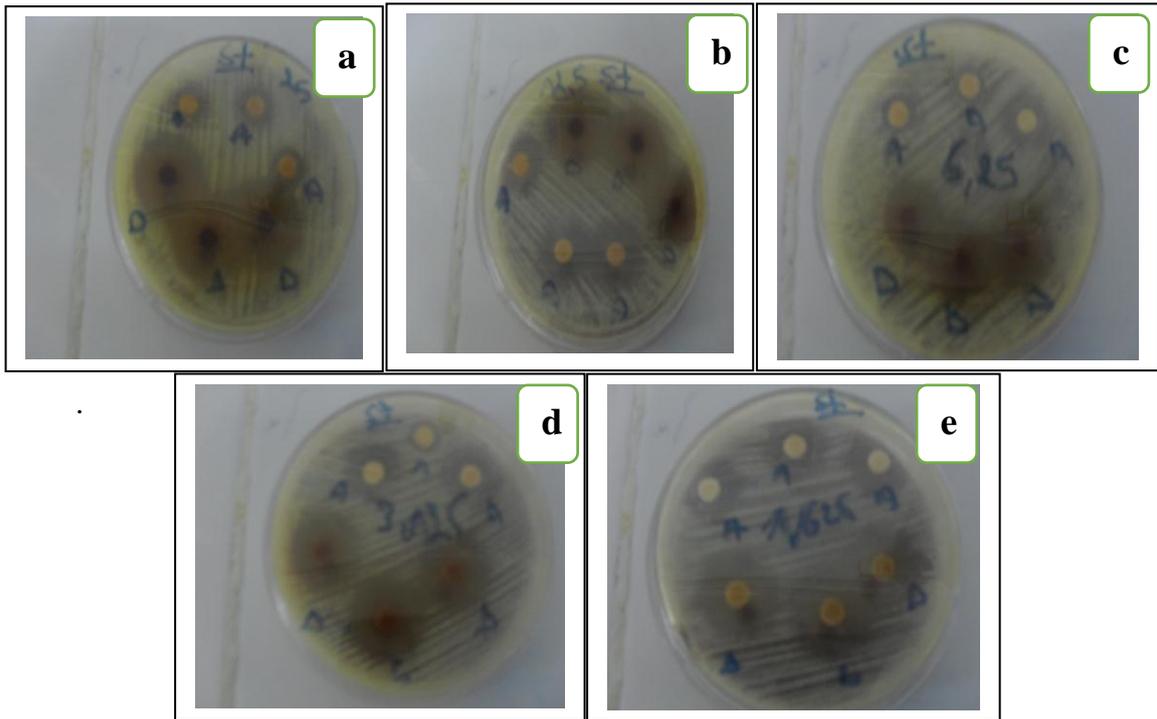


Figure IV.13. Activité antibactérienne des azométhines **A**, **C**, **D** et **E** contre la bactérie *S. aureus* à : **a** ; 25 mg/ml, **b** ; 12.5 mg/ml, **c** ; 6.25 mg/ml, **d** ; 3.125 mg/ml et **e** ; 1.562 mg/ml.

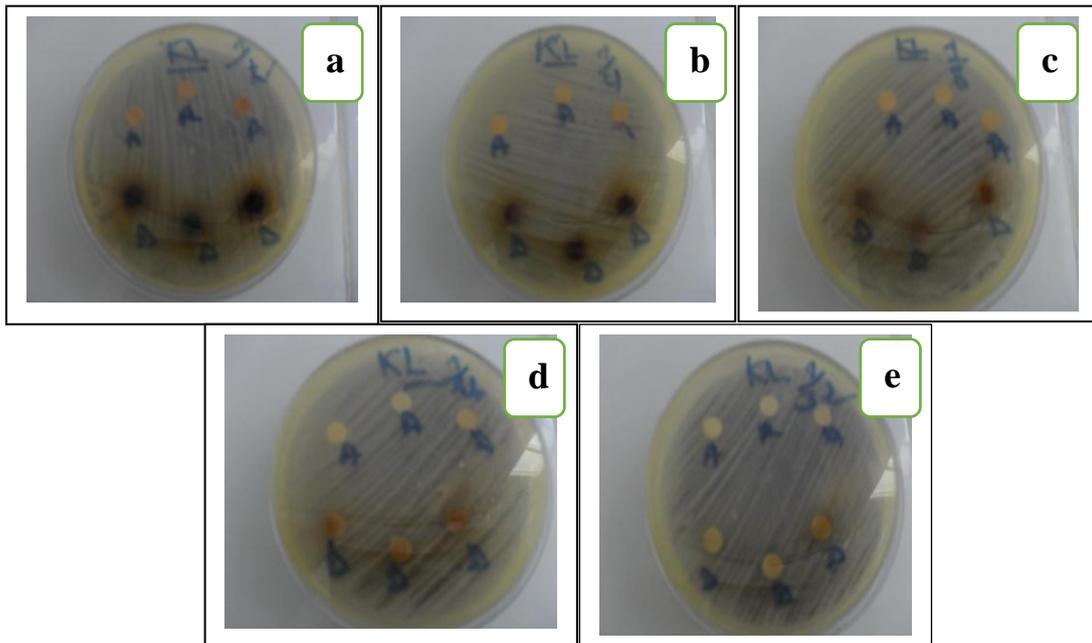


Figure IV.14. Activité antibactérienne des azométhines **A, C, D** et **E** contre la bactérie *K. pneumoniae* à : **a** ; 25 mg/ml, **b** ; 12.5 mg/ml, **c** ; 6.25 mg/ml, **d** ; 3.125mg/ml et **e** ; 1.562 mg/ml.

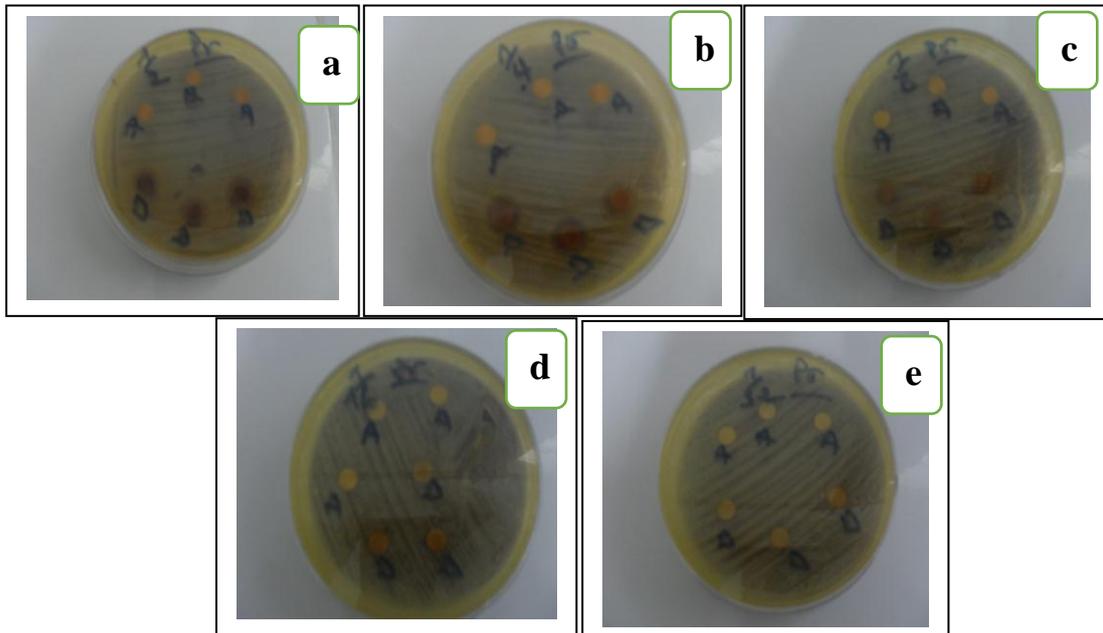


Figure IV.15. Activité antibactérienne des azométhines **A, C, D** et **E** contre la bactérie *P. mirabilis* à : **a** ; 25 mg/ml, **b** ; 12.5 mg/ml, **c** ; 6.25 mg/ml, **d** ; 3.125 mg/ml et **e** ; 1.562 mg/ml.

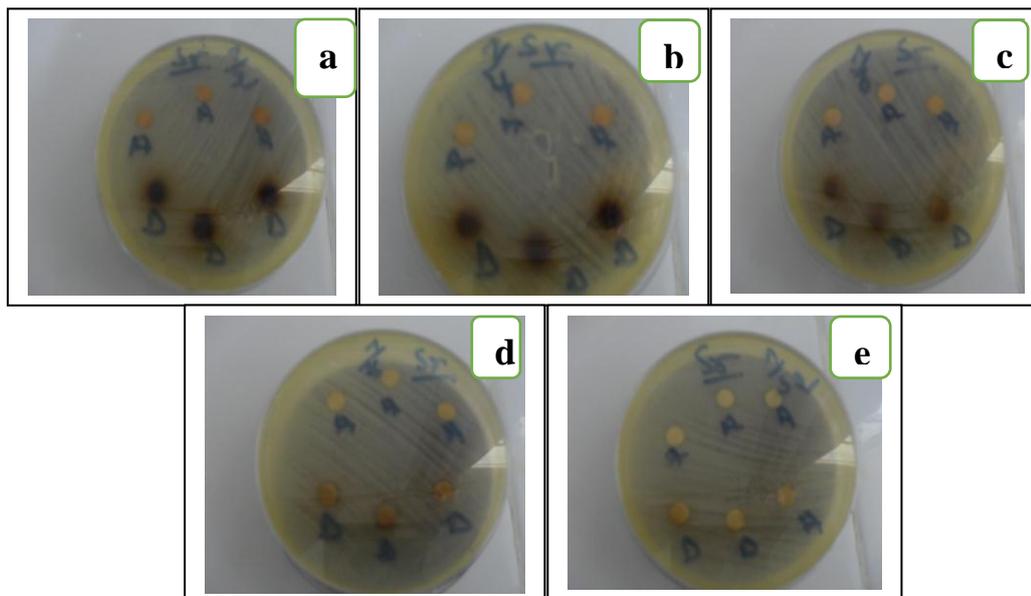


Figure IV.16. Activité antibactérienne des azométhines **A**, **C**, **D** et **E** contre la bactérie *S. marcescens* à : **a** ; 25 mg/ml, **b** ; 12.5 mg/ml, **c** ; 6.25 mg/ml, **d** ; 3.125mg/ml et **e** ; 1.562 mg/ml.

En raison de la turbidité des solutions de composés, la CMI dans tous les cas était indétectables, les CMB ont été utilisées pour les études antibactériennes.

L'étude des CMB (Tableau IV.7) a révélé que le composé **D** avait un effet bactéricide sur toutes les souches bactériennes, le composé **A** avait un effet bactéricide sur *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et n'avait pas d'effet bactéricide sur *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* et *Proteus mirabilis*. Les produits **C** et **E** ont eu un effet bactéricide sur les bactéries qui avaient une sensibilité importante par la méthode de diffusion du disque.

Tableau IV.7. CMB (mg/mL) de different azométhines (**A**, **C**, **D** et **E**).

Composés	<i>E. coli</i>		<i>P. aerugenosa</i>		<i>S. aureus</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>P. mirabilis</i>		<i>S. marcescens</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
A	N.D.	≤ 0.78	-	-	N.D.	≤ 0.78	N.D.	no CMB	N.D.	no CMB	N.D.	no CMB
C	N.D.	≤ 0.78	-	-	N.D.	≤ 0.78	-	-	-	-	-	-
D	N.D.	≤ 0.78	-	-	N.D.	≤ 0.78	N.D.	≤ 0.78	N.D.	≤ 0.78	N.D.	≤ 0.78
E	N.D.	≤ 0.78	-	-	N.D.	≤ 0.78	-	-	-	-	-	-

(-); Pas d'activité; (N.D); Pas possible de detecter.

Les activités antibactériennes des azométhines étudiées peuvent s'expliquer par leur aptitude à former de liaisons hydrogène à travers les atomes N et O donneurs avec les composants cellulaires. Les structures des composés azométhines sont strictement liées à l'activité [25]. Le plus actif parmi les échantillons testés était le composé **D**, sa structure avec le groupe méthoxy en position ortho du benzène semble être le facteur indépendant influençant l'activité biologique [26]. L'activité antibactérienne élevée pour le composé **D** est probablement due à la présence du substituant donneur (-OCH₃), tandis que le composé **A** qui contient un groupement attracteur tel que le groupe chloro, présente une activité moindre par rapport au produit **D**.

IV.4.Conclusion

Ce travail avait pour but l'étude de l'activité antibactérienne des composés azométhines suivants: **A**, **B**, **C**, **D** et **E**, contre certaines espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif.

Le résultat de l'activité antibactérienne des composés azométhines, a montré que:

- L'activité varie en fonction de la structure et la concentration des composés.
- L'activité varie en fonction de la structure et de la dose des composés.
- La sensibilité des souches testées est différente et dépend des souches. Il y avait des souches très sensibles, modérément, sensibles et moins sensibles,
- Le composé **D** était plus actif notamment sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, d'autre part, le composé **B** n'avait aucune activité contre les souches bactériennes testées.
- Le composé **D** était plus actif notamment sur *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, le composé **B** n'avait aucune activité contre les souches bactériennes testées,
- La souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 n'était sensible à aucun des composés,
- L'activité bactéricide est évaluée par la CMB, elle est importante pour certaines souches.

De nombreux facteurs tels que la présence de groupes donneurs d'électrons, l'électronégativité peuvent être des raisons possible pour une activité antibactérienne remarquable.

Références bibliographiques

- [1] A.H. El-Masry, H. Fahmy, S. Ali Abdelwahed, Synthesis and antimicrobial activity of some new benzimidazole derivatives, *Molecules*, 5 (2000) 1429-1438.
- [2] P. Pathak, V. Jolly, K. Sharma, Synthesis and biological activities of some new substituted arylazo Schiff bases, *Oriental Journal of Chemistry*, 16 (2000) 161-162.
- [3] S. Samadhiya, A. Halve, 1-(4-{[(E)-(4-Diethylamino-2-hydroxyphenyl) methylene] amino} phenyl) ethanone, *Orient. J. Chem*, 17 (2001) 119-122.
- [4] D. Das, A. Das, C. Sinha, A new resin containing benzimidazolylazo group and its use in the separation of heavy metals, *Talanta*, 48 (1999) 1013-1022.
- [5] P.K. Santra, D. Das, T.K. Misra, R. Roy, C. Sinha, S.-M. Peng, Chemistry of azopyrimidines: Synthesis, spectral characterization, electrochemistry and X-ray crystal structure of bis [2-(arylozo) pyrimidine] complexes of copper (I), *Polyhedron*, 18 (1999) 1909-1915.
- [6] P.K. Santra, T.K. Misra, D. Das, C. Sinha, A.M. Slawin, J.D. Woollins, Chemistry of azopyrimidines. Part II. Synthesis, spectra, electrochemistry and X-ray crystal structures of isomeric dichloro bis [2-(arylozo) pyrimidine] complexes of ruthenium (II), *Polyhedron*, 18 (1999) 2869-2878.
- [7] M. Omar, Spectroscopic, spectrophotometric and potentiometric studies on 3-(naphthylazo)-5-phenylpyrazole dye and its metal chelates, *Annali di chimica*, 92 (2002) 601-614.
- [8] B.K. Ghosh, A. Chakravorty, Electrochemical studies of ruthenium compounds part I. Ligand oxidation levels, *Coordination chemistry reviews*, 95 (1989) 239-294.
- [9] S. Wu, W. Qian, Z. Xia, Y. Zou, S. Wang, S. Shen, H. Xu, Investigation of third-order nonlinearity of an azo dye and its metal-substituted compounds, *Chemical Physics Letters*, 330 (2000) 535-540.
- [10] E.C. Constable, P.J. Steel, N, N'-Chelating biheteroaromatic ligands; a survey, *coordination chemistry reviews*, 93 (1989) 205-223.
- [11] F. Casalboni, Q.G. Mulazzani, C.D. Clark, M.Z. Hoffman, P.L. Orizondo, M.W. Perkovic, D.P. Rillema, Acid-Base and Electrochemical Properties of the MLCT Excited States and One-Electron-Reduced Forms of Ruthenium (II) Complexes Containing 2-(2'-Pyridyl) pyrimidine and 2, 2'-Bipyridine in Aqueous Solution, *Inorganic chemistry*, 36 (1997) 2252-2257.
- [12] T.K. Misra, D. Das, C. Sinha, P. Ghosh, C.K. Pal, Chemistry of azoimidazoles: Synthesis, spectral characterization, electrochemical studies, and X-ray crystal structures of isomeric

- dichloro bis [1-alkyl-2-(arylazo) imidazole] complexes of ruthenium (II), *Inorganic Chemistry*, 37 (1998) 1672-1678.
- [13] B.K. Santra, G.A. Thakur, P. Ghosh, A. Pramanik, G.K. Lahiri, A Novel Example of Metal-Mediated Aromatic Thiolation in a Ruthenium Complex. Crystal Structure of RuII (SC₆H₄N NC₆H₄N)₂, *Inorganic Chemistry*, 35 (1996) 3050-3052.
- [14] N. Bag, A. Pramanik, G.K. Lahiri, A. Chakravorty, Chemistry of the ruthenium [Ru (RQ)(tap)₂]_z family: authentic catecholates, reduction potentials, and spectra (RQ= quinone/semiquinone/catecholate; tap= 2-(m-tolylazo) pyridine; z= 0, +, -, +, -), *Inorganic Chemistry*, 31 (1992) 40-45.
- [15] G. Kumar, A. Chakravorty, Electrochemical studies of ruthenium compounds, *Coordination Chemistry Reviews*, 95 (1989) 239-294.
- [16] P.S. Patel, Studies on synthesis and dyeing performance of disperse azo dyes based on Schiff base of ninhydrin and 3-amino phenol, *Arch. Appl. Sci. Res.*, 4 (2012) 846-851.
- [17] H.N. Chopde, J.S. Meshram, R. Pagadala, A.J. Mungole, Synthesis, characterization and antibacterial activity of some novel azo-azoimine dyes of 6-bromo-2-naphthol, *Int. J. Chem. Tech. Res.*, 2 (2010) 1823-1830.
- [18] S. Kumar, D.N. Dhar, P. Saxena, Applications of metal complexes of Schiff bases-A review, (2009).
- [19] M.Z. Al-Noaimi, H. Saadeh, S.F. Haddad, M.I. El-Barghouthi, M. El-Khateeb, R.J. Crutchley, Syntheses, crystallography and spectroelectrochemical studies of ruthenium azomethine complexes, *Polyhedron*, 26 (2007) 3675-3685.
- [20] R. Cruickshank, J. Duguid, B. Marmion, R. Swain, Tests for identification of bacteria, *Medical microbiology*, 2 (1975) 170-189.
- [21] A. Collins, *Microbiological methods* (2) Butterworth, London, 1976.
- [22] M.J. Hearn, M.H. Cynamon, Design and synthesis of antituberculars: preparation and evaluation against *Mycobacterium tuberculosis* of an isoniazid Schiff base, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53 (2004) 185-191.
- [23] Z.H. Chohan, S.H. Sumrra, M.H. Youssoufi, T.B. Hadda, Metal based biologically active compounds: Design, synthesis, and antibacterial/antifungal/cytotoxic properties of triazole-derived Schiff bases and their oxovanadium (IV) complexes, *European journal of medicinal chemistry*, 45 (2010) 2739-2747.
- [24] P.J. Hay, W.R. Wadt, Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for the transition metal atoms Sc to Hg, *The Journal of chemical physics*, 82 (1985) 270-283.

- [25] J. Anacona, J.L. Rodriguez, J. Camus, Synthesis, characterization and antibacterial activity of a Schiff base derived from cephalixin and sulphathiazole and its transition metal complexes, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 129 (2014) 96-102.
- [26] T. Rosu, E. Pahontu, C. Maxim, R. Georgescu, N. Stanica, G.L. Almajan, A. Gulea, Synthesis, characterization and antibacterial activity of some new complexes of Cu (II), Ni (II), VO (II), Mn (II) with Schiff base derived from 4-amino-2, 3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one, *Polyhedron*, 29 (2010) 757-766.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

Dans ce travail trois nouveaux composés bases de Schiff hétérocycliques : 4,4'-bis (2-pyrrole carboxaldéhyde) diphényldiiminosulfide (**L1**), 4,4'-bis (2-thiophène carboxaldéhyde), diphényldiiminosulfide (**L2**) et 4,4'- bis (2-furane carboxaldéhyde) diphényldiiminosulfide (**L3**) ont été synthétisés par des méthodes simples avec de bons rendements et caractérisés par analyse élémentaire, les méthodes spectroscopiques usuelles UV-vis, IR et par RNM ¹H.

Les complexes des métaux de transition à savoir : le cuivre (II) pour le ligand **L1** et **L3**, et le cobalt(II) pour le ligand **L1**, ont été également synthétisés et caractérisés par analyse élémentaire, ainsi que par les méthodes spectroscopiques : IR et UV-Visible. Les complexes synthétisés sont solides et stables à l'air et à température ambiante ayant des points de fusion élevés.

Lors de la mise en œuvre de ces techniques d'analyse, nous avons pu mettre en évidence les structures des composés synthétisés.

Concernant l'application de ces bases de Schiff **L1**, **L2** et **L3** dans le domaine de la biologie, notre choix à été porté sur les activités antibactériennes et antifongiques.

Les trois composés présentent une activité antibactérienne contre *E. coli*, la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC n'est sensible à aucun des composés. Ils ont une bonne activité vis-à-vis de la souche *C. albicans*.

Globalement le pouvoir antifongique des bases de Schiff synthétisés s'est révélé plus important que le pouvoir antibactérien.

D'autre part on a étudié l'activité antibactérienne des composés azométhines ; **A**, **B**, **C**, **D** et **E** contre certaines espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif.

L'évaluation de l'effet antibactérien de composés azométhines montre une sensibilité bactérienne vis-à-vis de l'une des espèces bactériennes étudiées, sauf le produit **B** qui est totalement inactif vis-à-vis des cinq souches du Gram positif et négatif testés. L'effet antibactérien est proportionnel à la concentration des composés.

Parmi les composés azométhines testés, le composé **D** est plus actif surtout sur *Staphylococcus aureus* ATCC. L'action antibactérienne est potentiellement bactéricide, évaluée par l'étude de la CMB.

Comme perspectives, on envisage ce qui suit :

- ✓ Cette étude peut être utile aux chercheurs qui tentent de futurs travaux pour étudier les activités biologiques des complexes de bases de Schiff, car c'est probablement que les complexes présentent une activité plus élevée que leurs composés.
- ✓ D'étudier d'autres propriétés biologiques de ces composés, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antivirales et autres.

Annexes

Annexe

Produits et solvants de synthèse

Les produits utilisés comme précurseurs lors des différentes synthèses réalisées sont commerciaux et ils ont été utilisés sans traitement préalable

- 4,4'diamino diphénylsulfide (FLUKA).
- 2-pyrrole carboxaldehyde (FLUKA).
- -2-thiophène carboxaldehyde (FLUKA).
- 2-furane carboxaldehyde (FLUKA).
- Acétate de cuivre (II) hydraté ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2, 4 \text{H}_2\text{O}$).
- Acétate de cobalt (II) hydraté ($\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2, 4 \text{H}_2\text{O}$).
- Ethanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) (Prolabo).
- Dichlorométhane (CH_2Cl_2) (Prolabo).
- Diméthyl sulfoxyde (DMSO) (Prolabo).
- Azote (N_2).

Matériels biologiques

1. Solvants utilisés

Les solvants utilisés sont :

- Diméthyl sulfoxyde (DMSO) (Prolabo)
- Eau physiologique (0.9%)

2. Les compositions de milieu de culture utilisés

➤ Gélose Muller Hinton (MHA) pour les bactéries

❖ Composition

- Infusion de viande de boeuf..... 02,0g
- Hydrolysat acide de caséine.....17.5g
- Amidon..... 01.5g
- Agar10g
- Eau distillée1000 ml

➤ Muller Hinton Liquide (MHL) pour les bactéries

❖ Composition

- Infusion de viande de boeuf.....02,0g
- Hydrolysat acide de caséine.....17.5g
- Amidon.....01.5g

- Eau distillée 1000 ml
- Gélose Sabouraud Dextrose (SDA) pour les Champignons
 - ❖ Composition
 - Dextrose40,0g
 - Peptone from casein 10,0g
 - Agar.....15,0g
 - Eau distillée1000 ml

Annexes

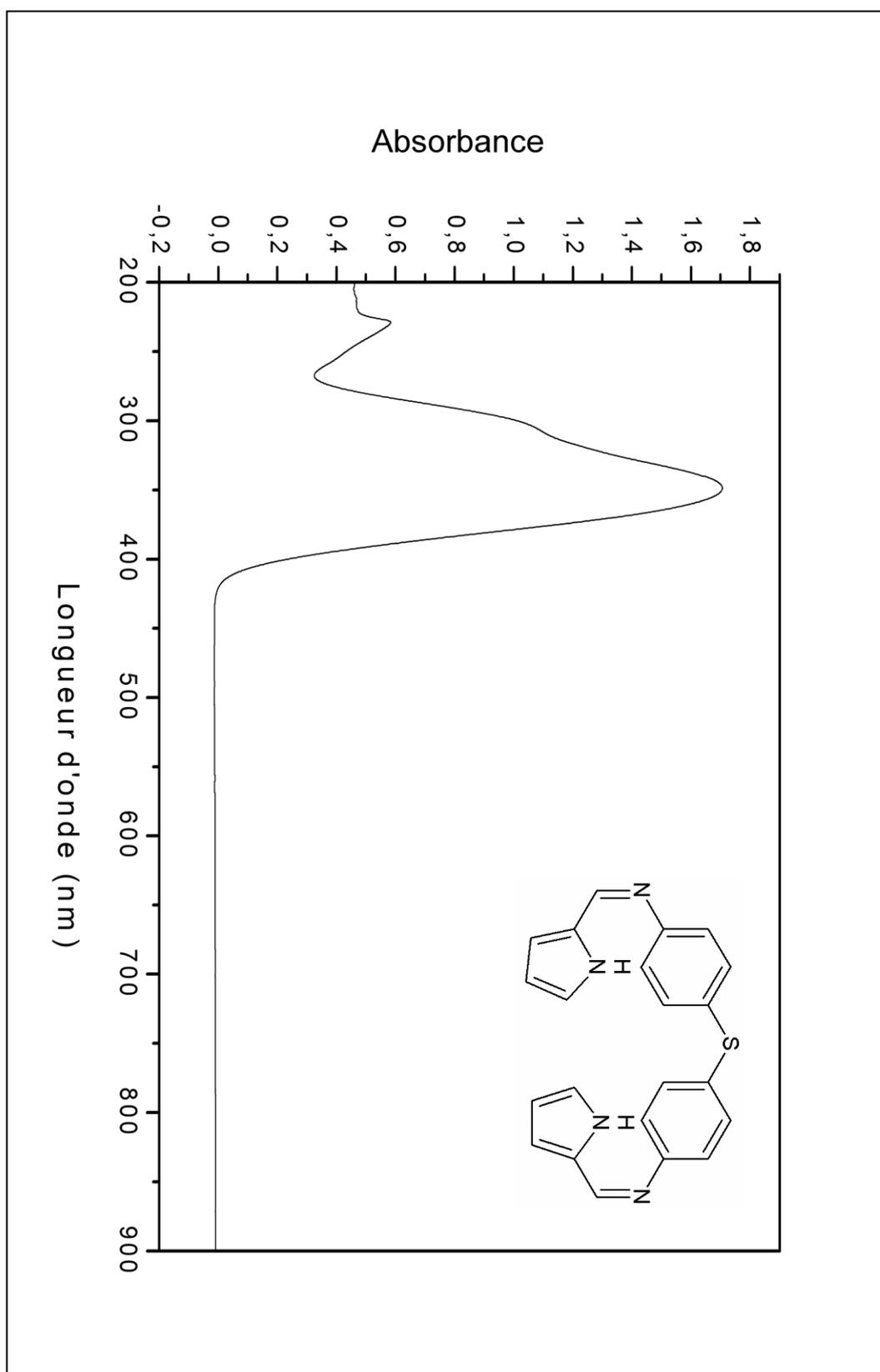


Figure 1. Spectre UV-Vis de 4,4'-Bis (2-pyrrole carboxaldehyde) diphenylidithiinosulfide (L1)

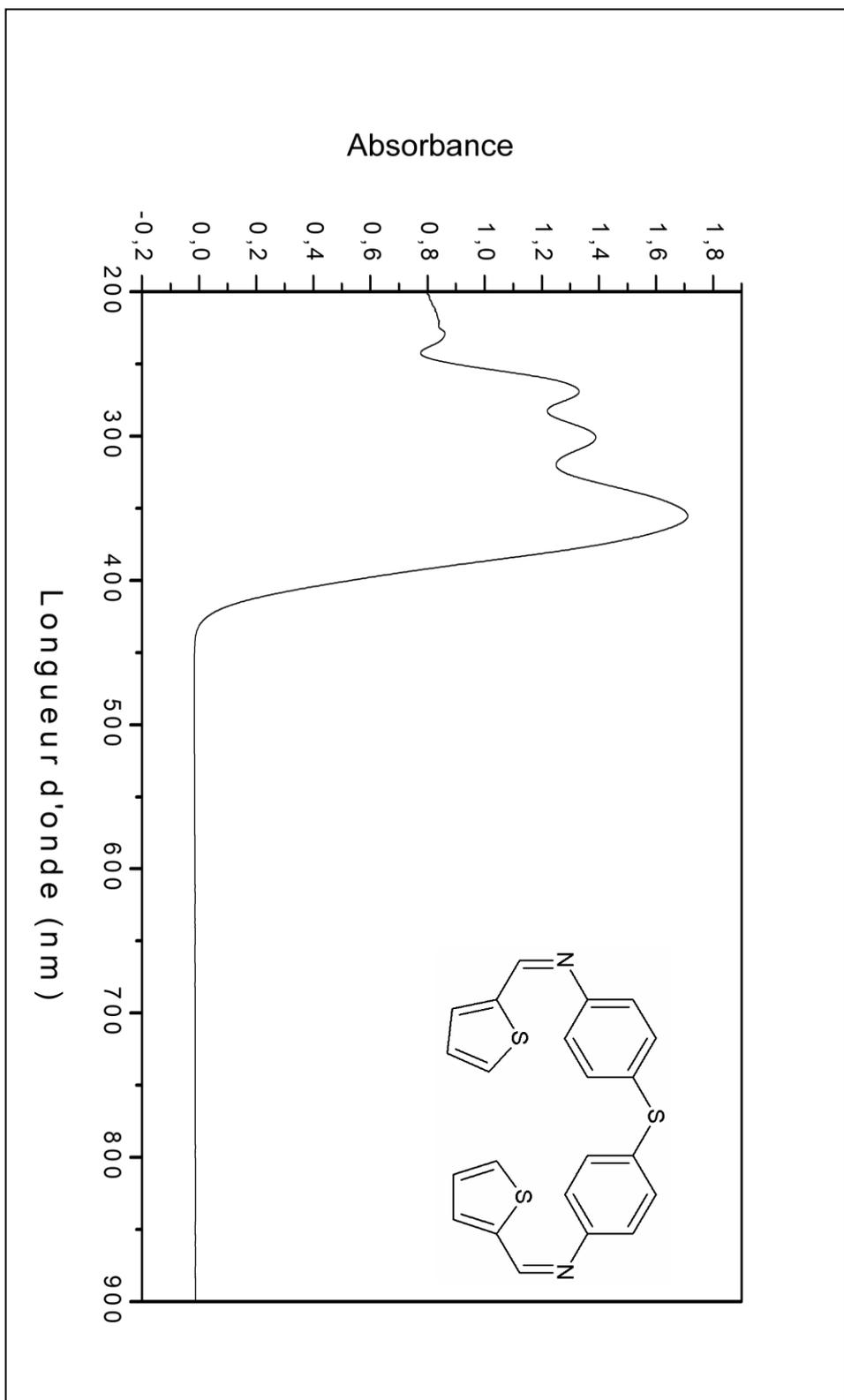


Figure 2. Spectre UV-Vis de 4,4' - Bis (2-thiophène carboxaldéhyde) diphenyldiiminosulfid (**L2**)

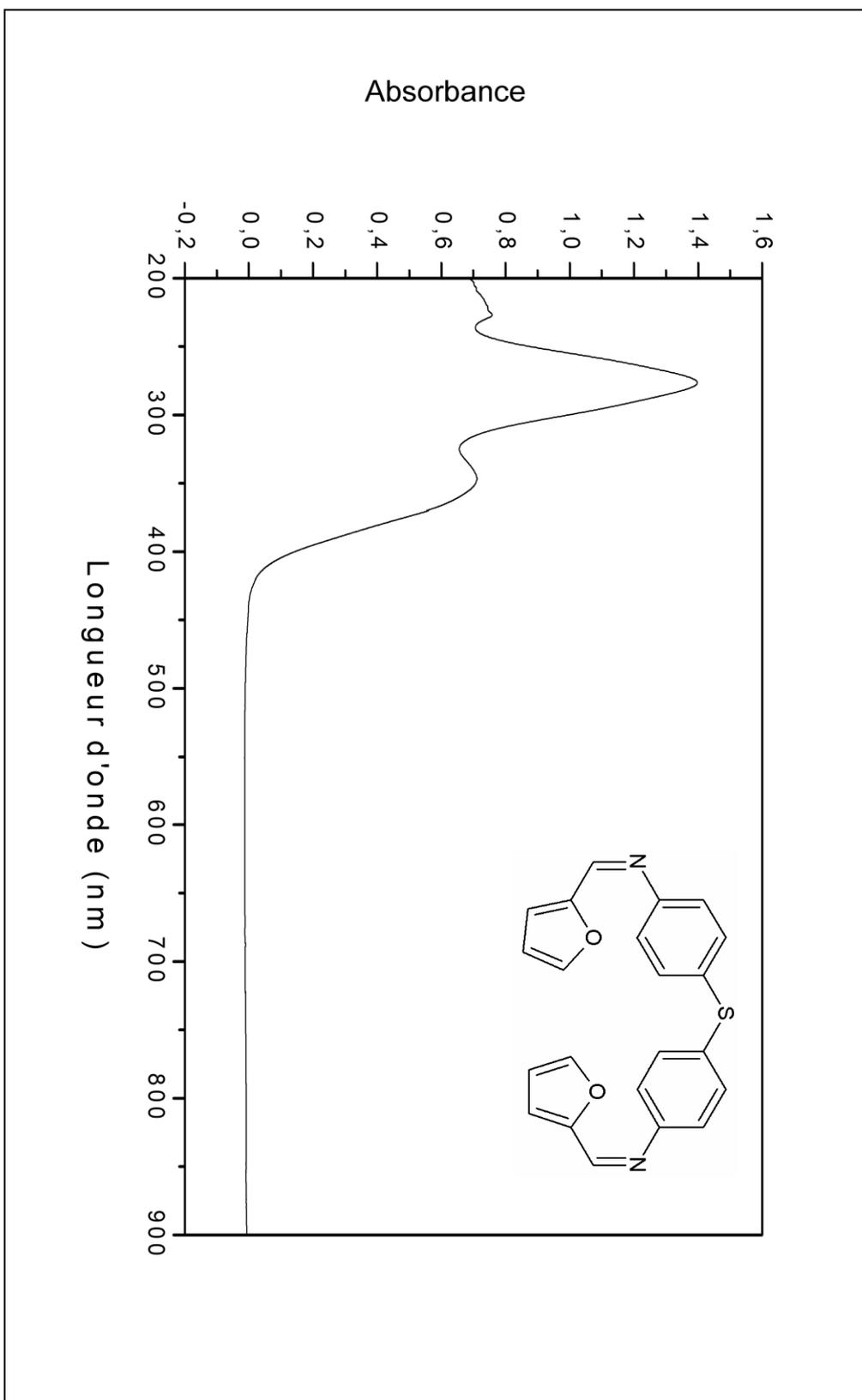


Figure 3. Spectre UV-Vis de 4,4'- Bis (2-furane carboxaldéhyde) diphényldiiminosulfide (**L3**).

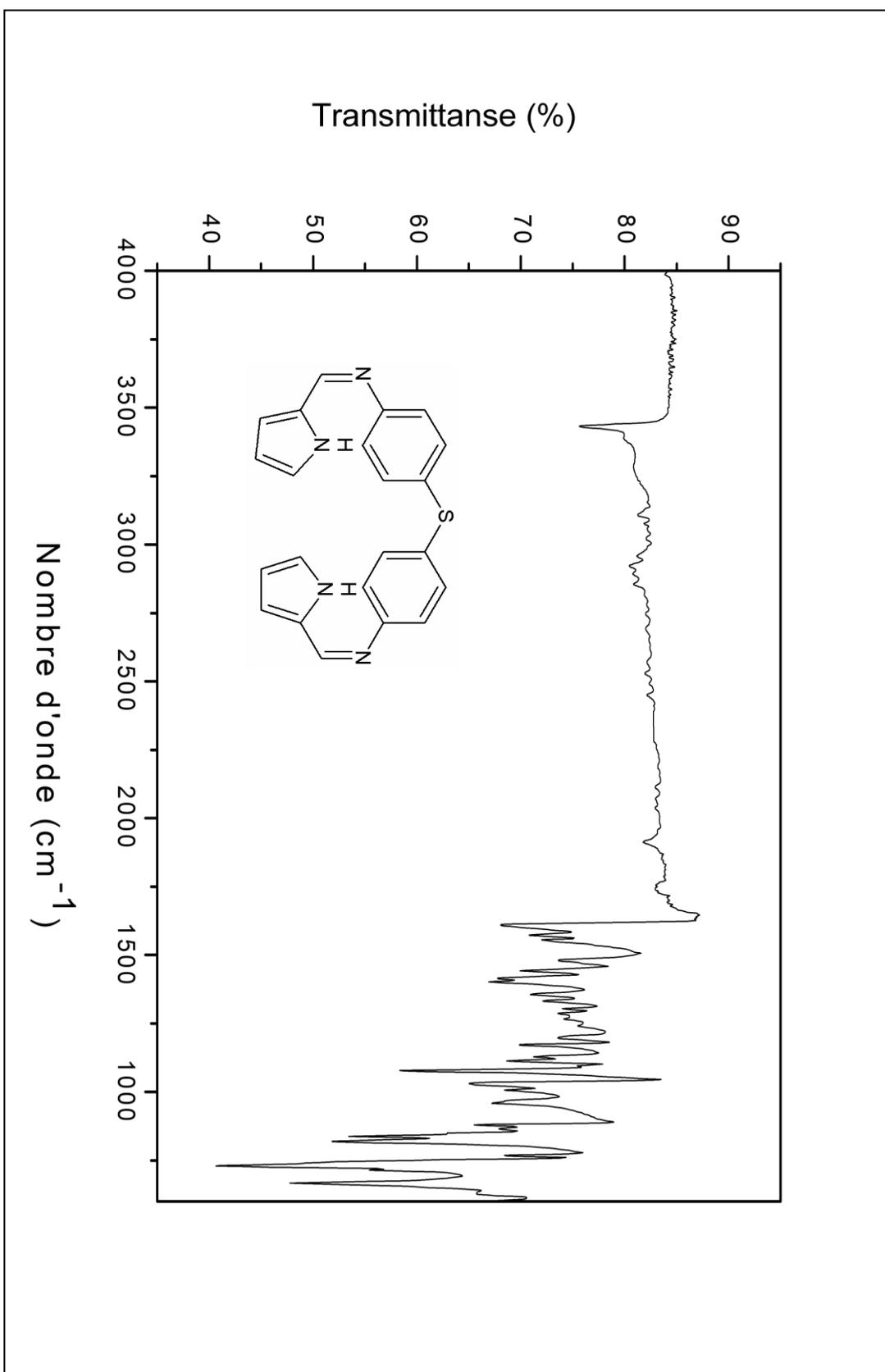


Figure 4. Spectre IR (ATR) du 4,4'-Bis (2-pyrrolo carboxaldehyde) diphenyldiminosulfide (**LI**)

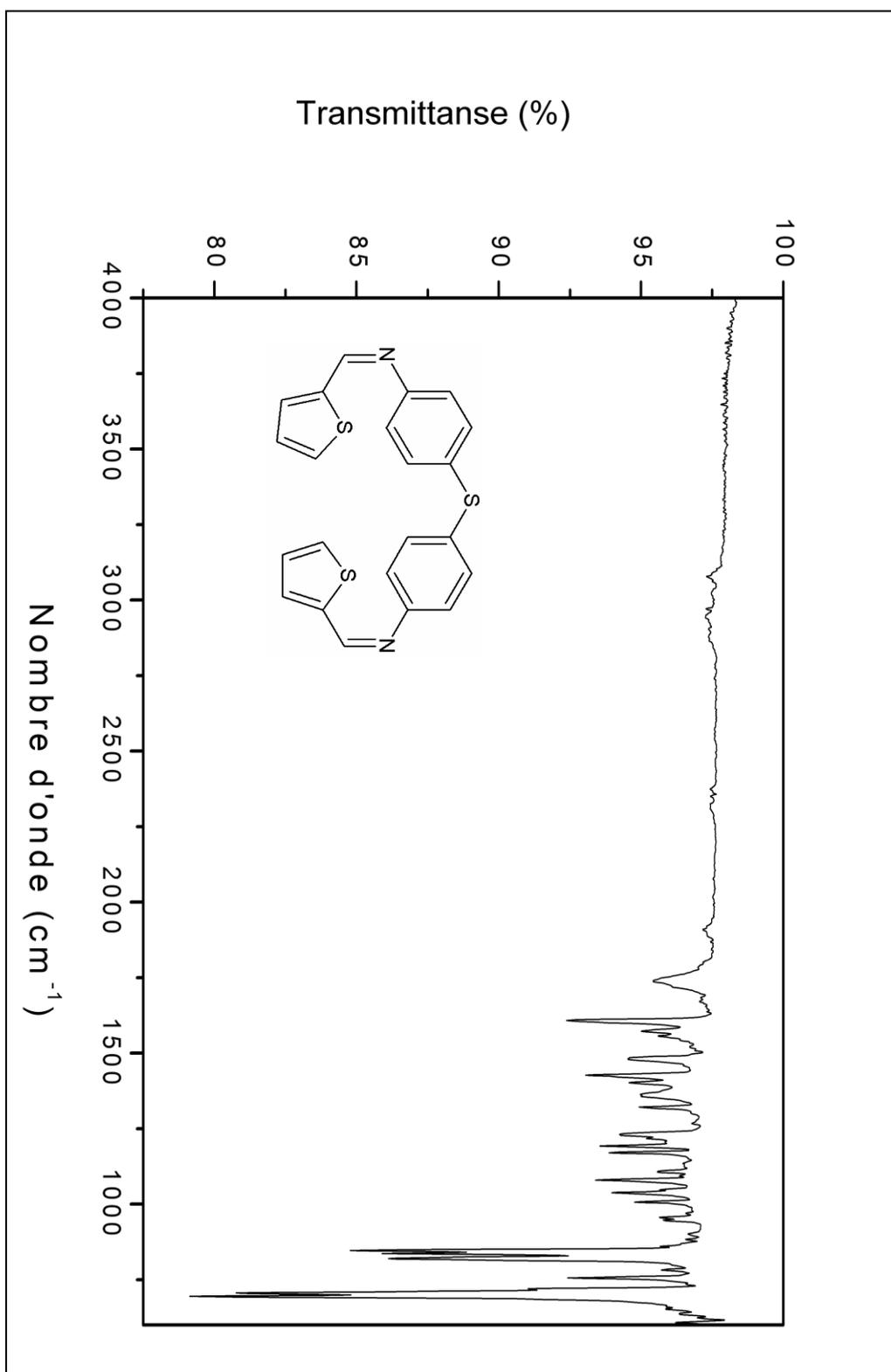


Figure 5. Spectre IR du 4,4'- Bis (2-thiophenecarboxaldéhyde) diphenyldiminosulfide (L2)

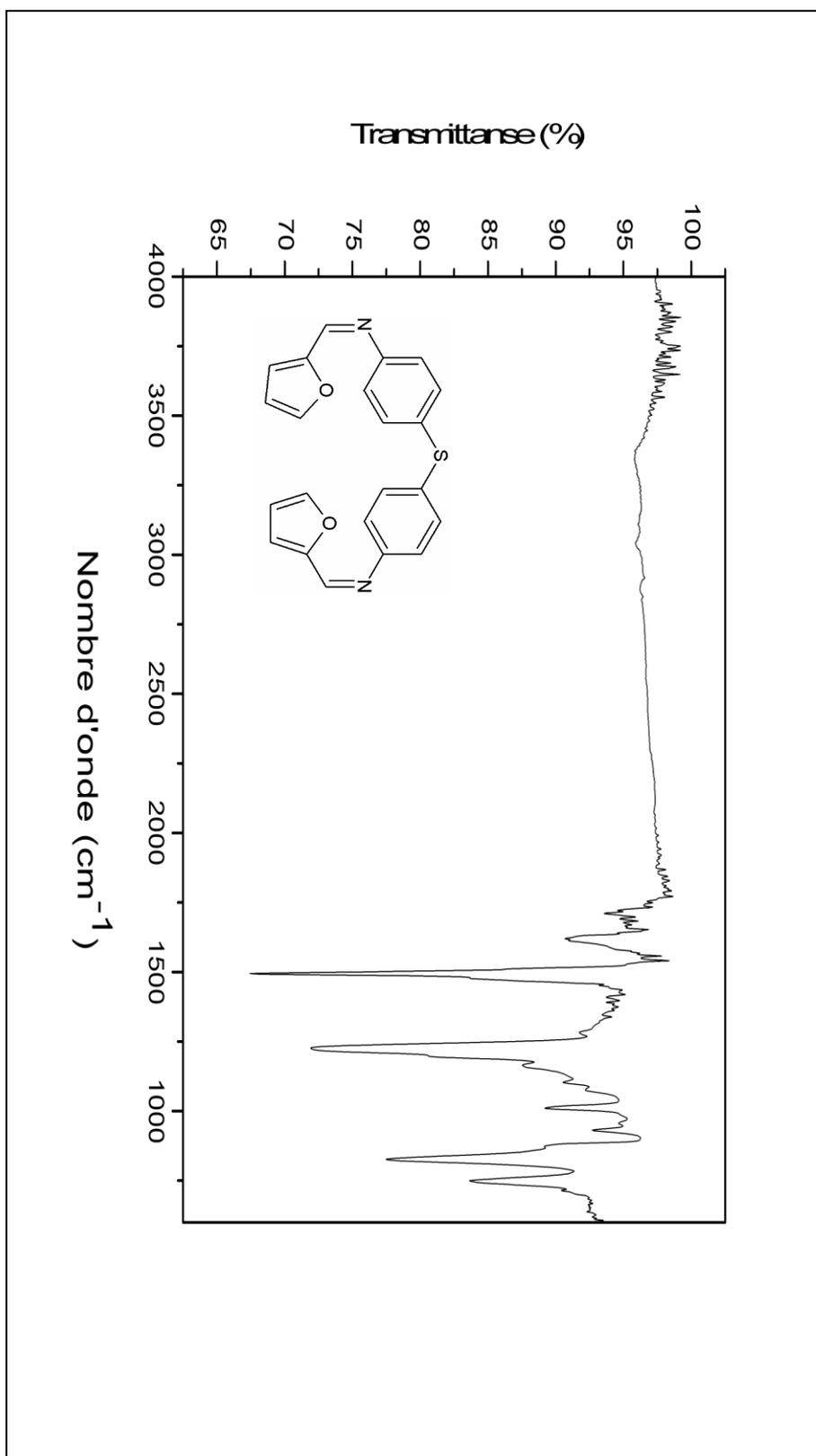


Figure 6. Spectre IR (ATR) du 4,4'- Bis(2-furanecarboxaldéhyde) diphenylthioéther (L3)

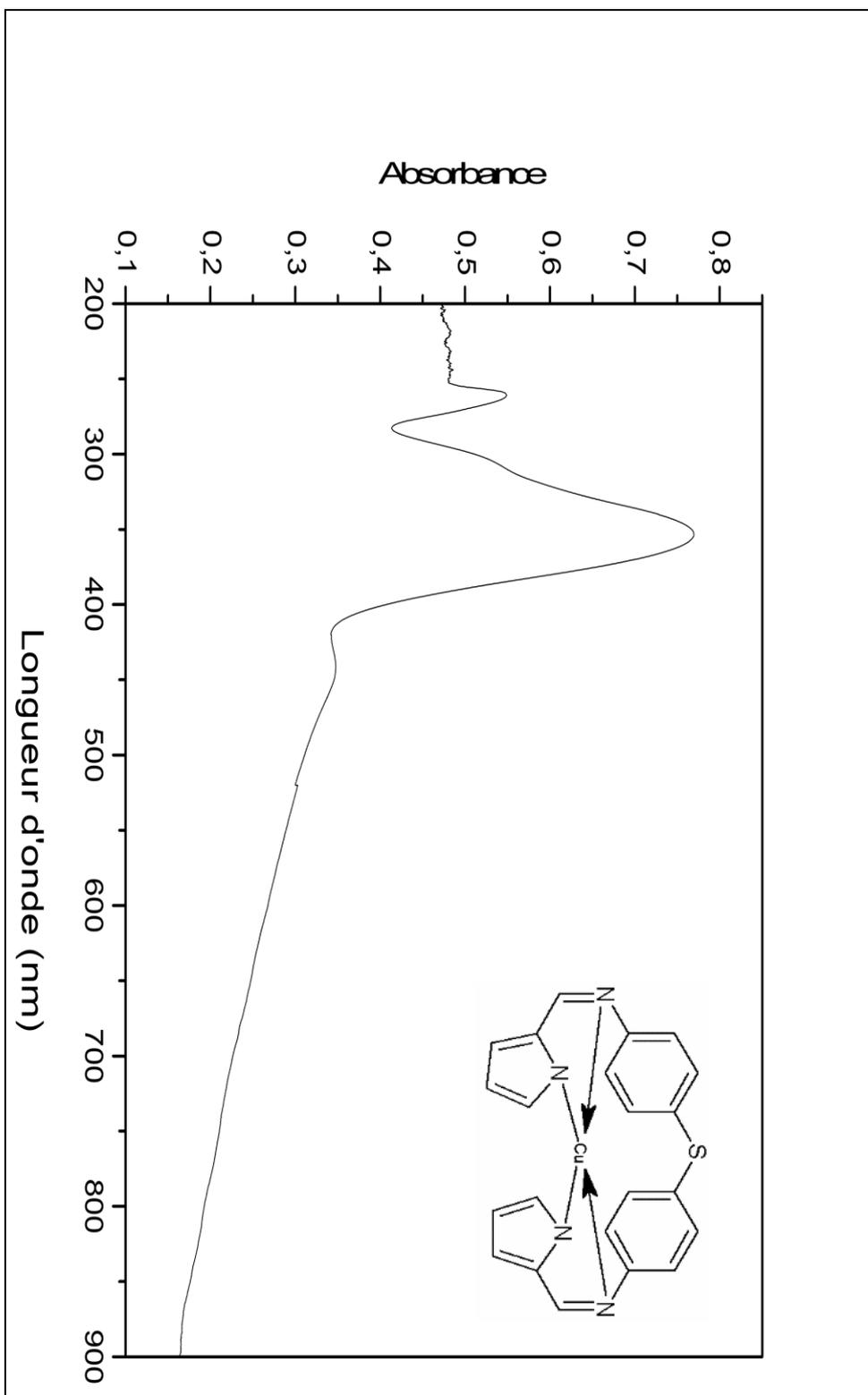


Figure 7. Spectre UV-Vis du complexe (I)

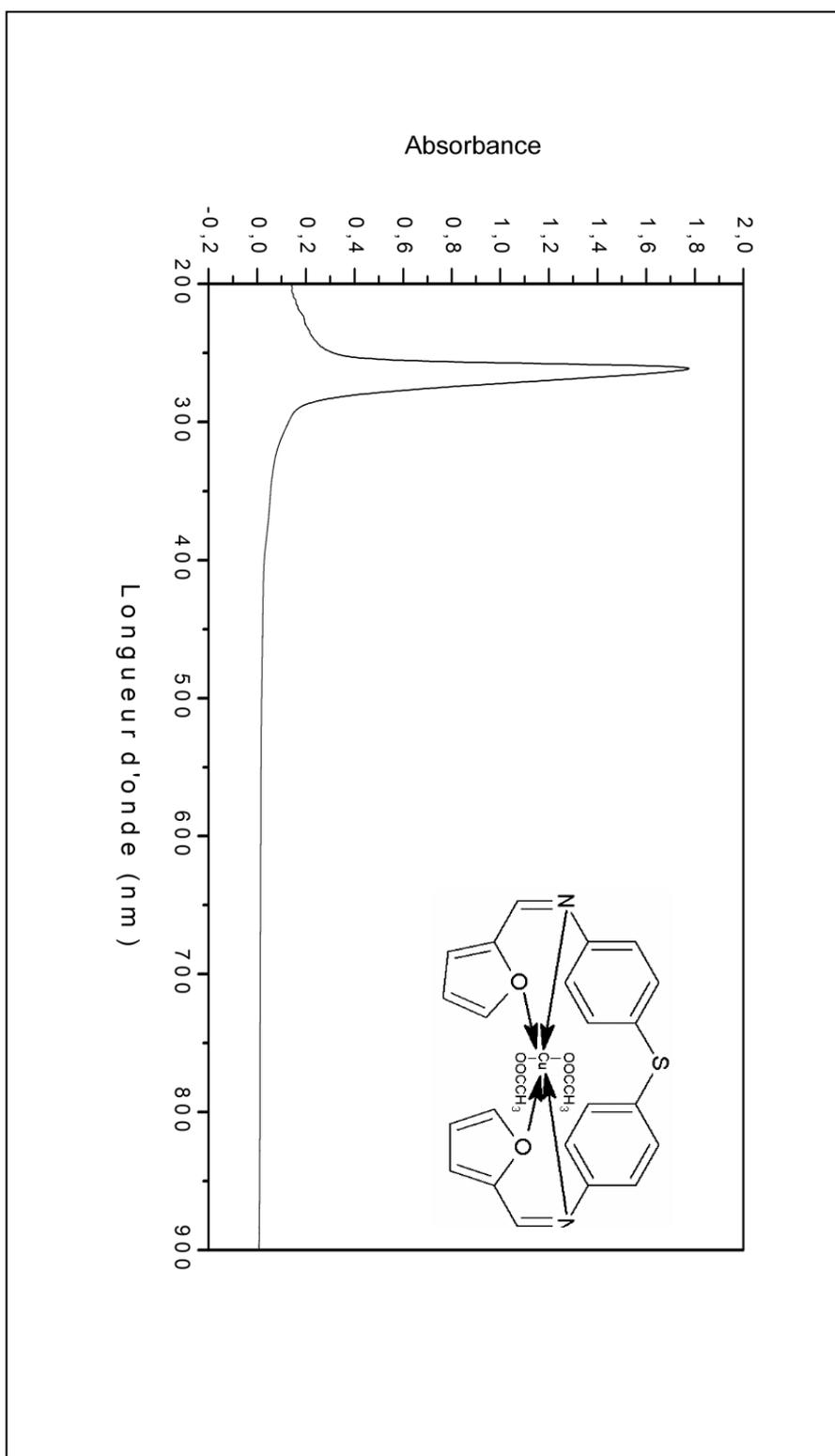


Figure 8. Spectre UV-Vis du complexe (II)

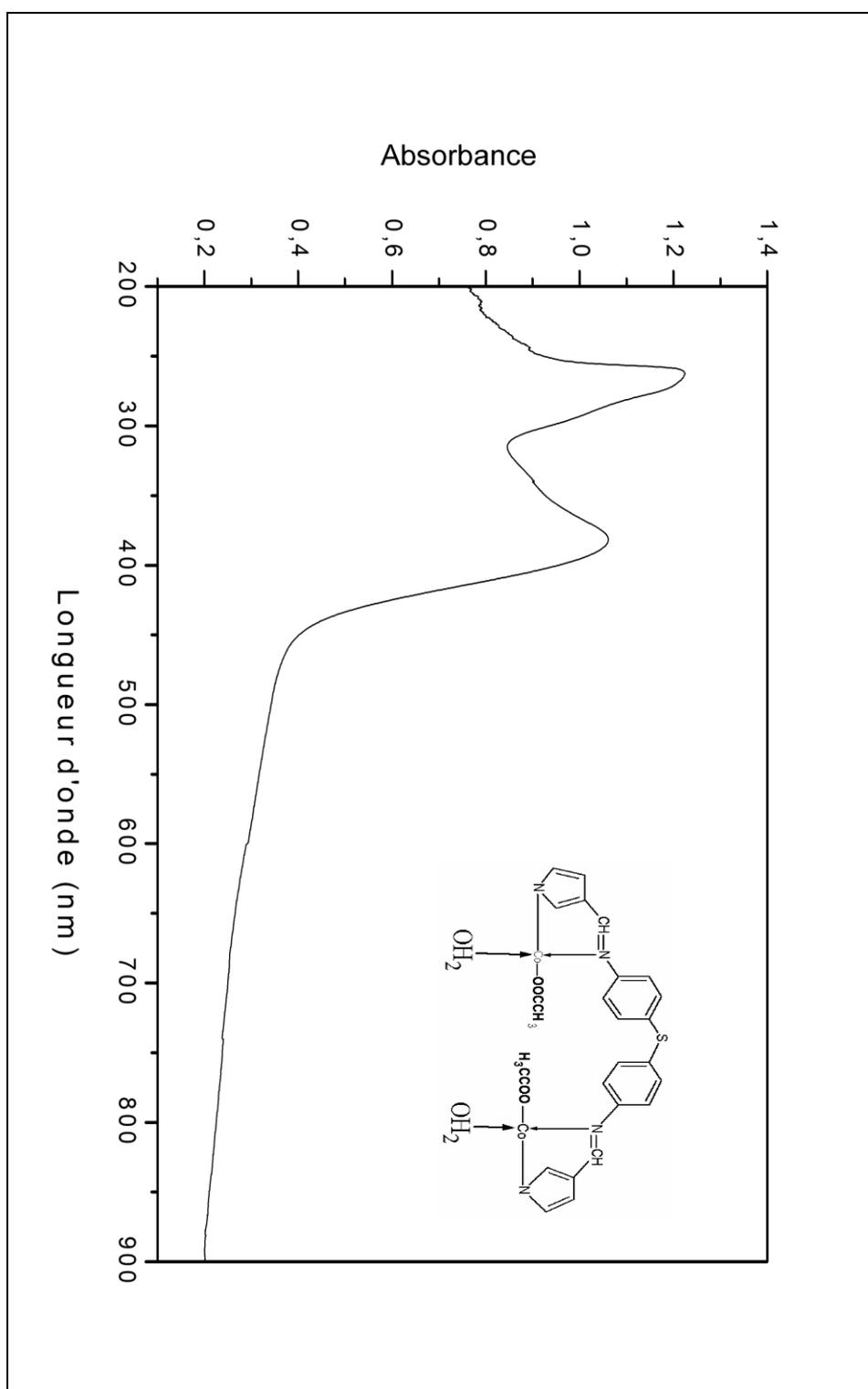


Figure 9. Spectre UV-Vis du complexe (III).

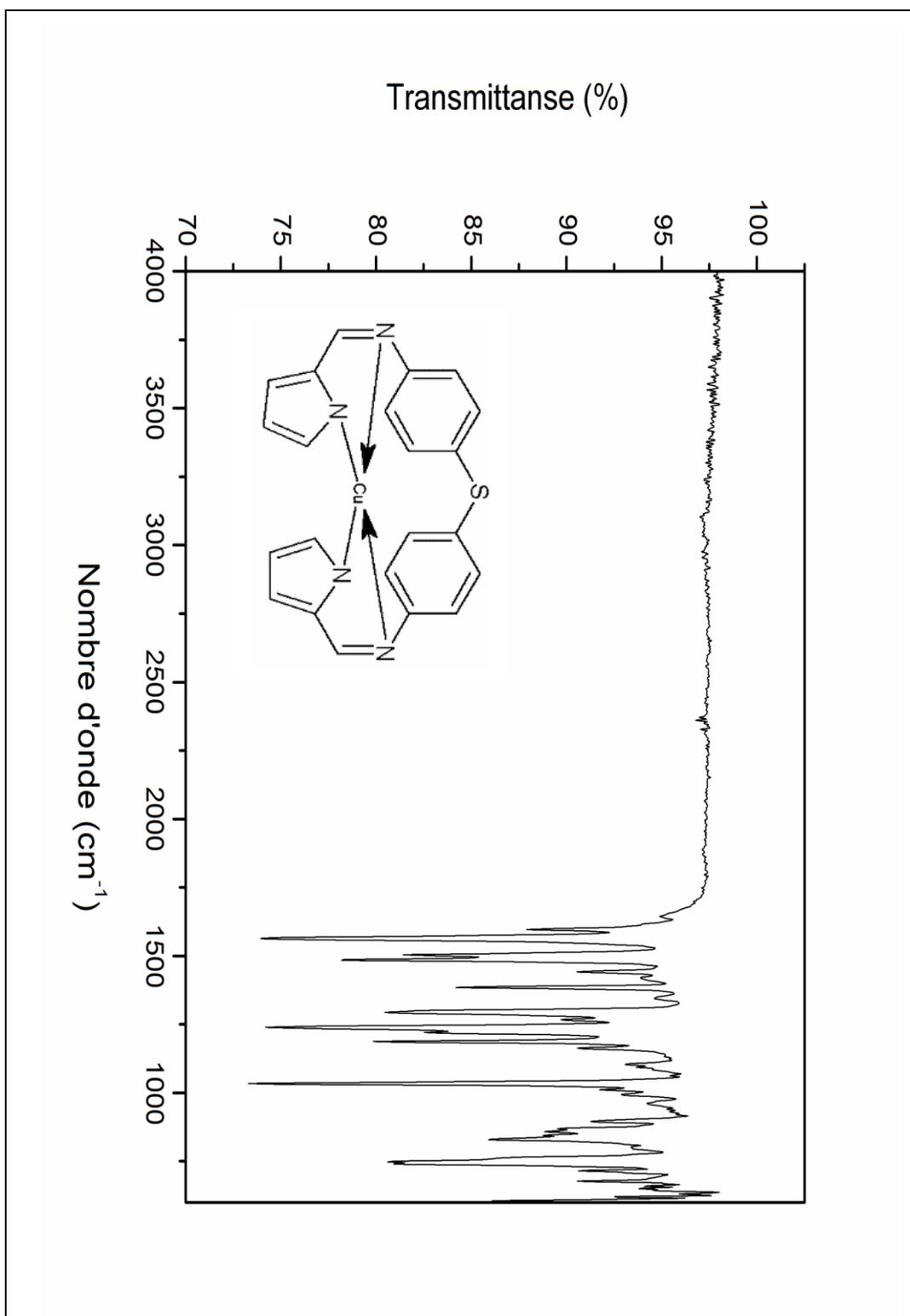


Figure 10. Spectre IR (ATR) du complexe (I)

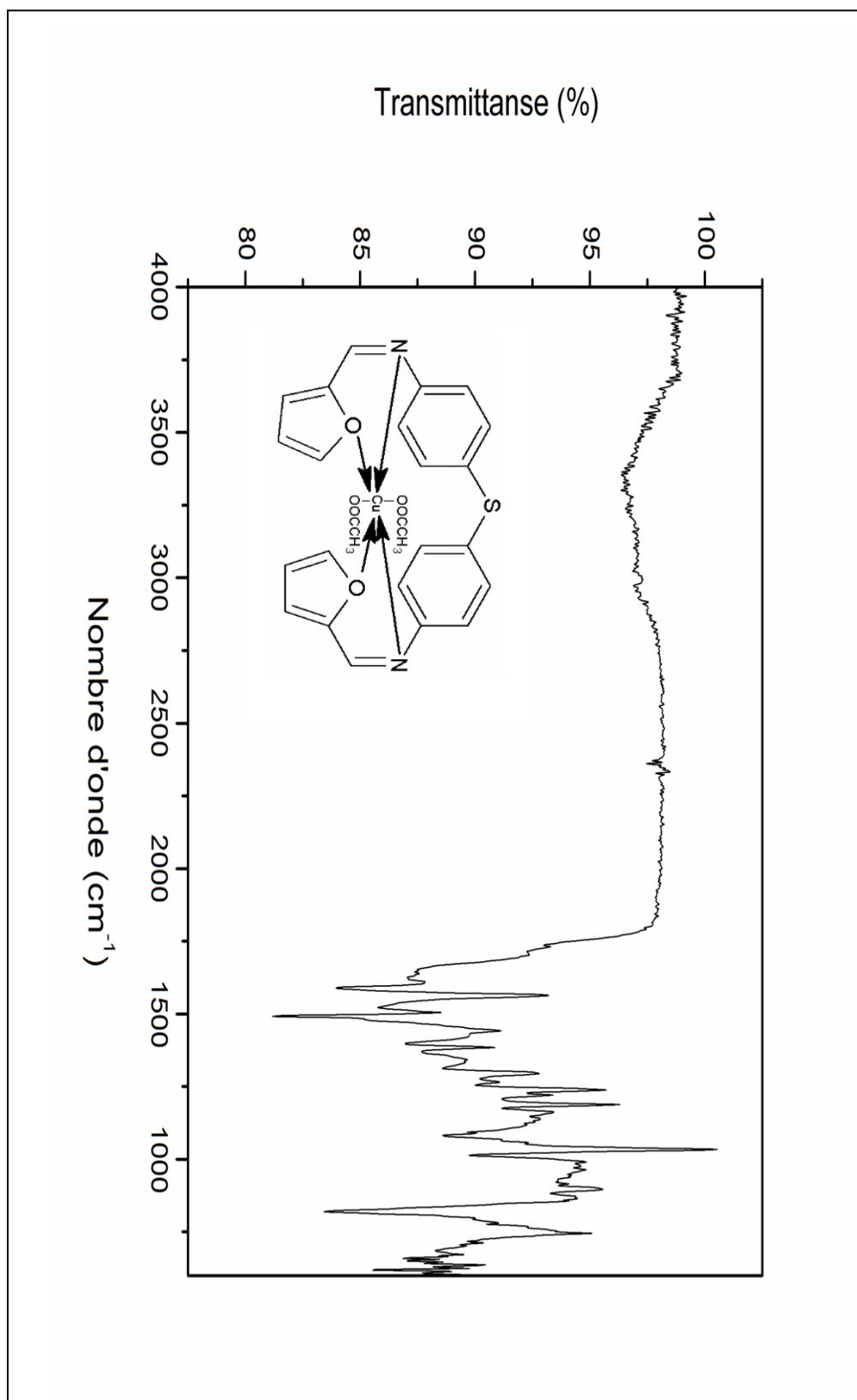


Figure 11. Spectre IR (ATR) du complexe (II).

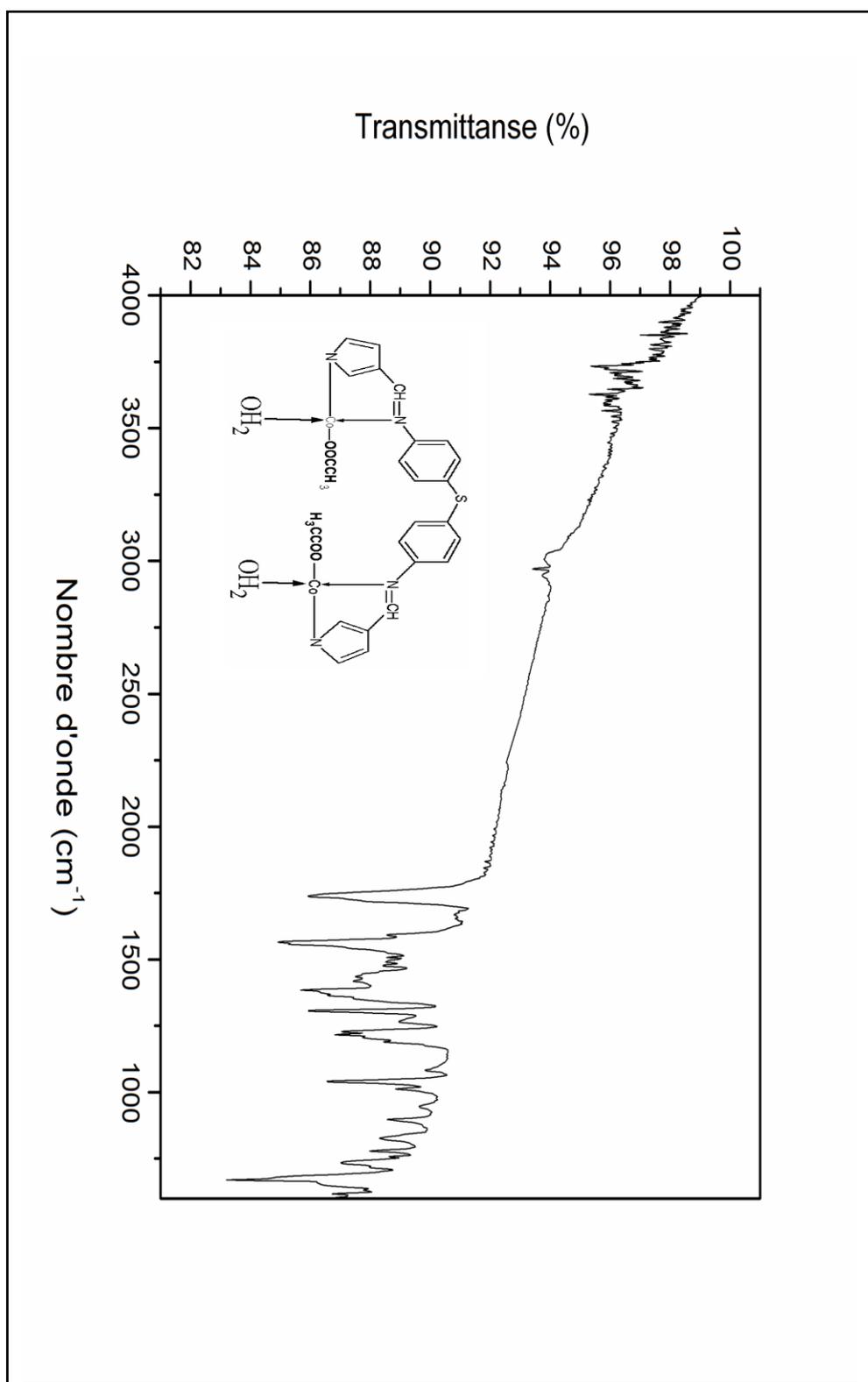


Figure 12. Spectre IR (ATR) du complexe (III).