

N d ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DEL'ENSEIGNEMENT ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAAMERI DE TIZI-OUZOU

Faculté des sciences
Département de chimie



Domaine : **Science de la matière**
Filière : **chimie**
Spécialité : **chimie pharmaceutique**

Mémoire de Master

Thème

**Synthèse, caractérisation et étude de l'effet du métal
sur l'activité biologique des complexes à base de
3-acétoacétylcoumarine**

Présenter par : **AFETTOUCHE Lyes** et **LAYOUNE Ouissame**

Soutenu publiquement, le 13 / 07 / 20, devant le Jury composé de :

HADDAD-AMAR	Anissa	MCA	UMMTO	Présidente
TALBI-BELKHIR	Drifa	MCB	USTHB	Encadreur
MAKHOULFI-CHEBLI	Malika	MCA	UMMTO	Co-encadreur
HIKEM-OUKACHA	Djamila	MCA	UMMTO	Examinatrice



Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation et pouvoir réaliser ce travail de recherche.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Cinétique de la faculté des sciences et au Laboratoire de Physique et Chimie des Matériaux (LPCM) (équipe synthèse organique) de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

Nos vifs remerciements vont :

A notre encadreur Madame BELKHIR-TALBI Drifa et Co-encadreur Madame MAKHLOUFI-CHEBLI Malika, que nous remercions chaleureusement d'avoir encadré ce travail, avec beaucoup de compétences, d'enthousiasme et de disponibilité. Les efforts que vous nous avez fournis, le temps que vous nous avez consacré, le sourire et les moments de joie dont on a travaillé, on ne pourrait jamais assez-vous remercier à la hauteur de ce que vous nous avez donné. Merci Mes dames pour vos précieux conseils, votre optimisme, votre aide et la confiance que vous nous avez accordés qui ont abouti à l'élaboration de ce mémoire. Vous êtes vraiment au-delà de tout éloges et on espère avoir été à la hauteur de votre attente. Nous avons été heureux de travailler avec vous et nous tenons à vous en remercier sincèrement.

A notre Présidente du jury Madame AMAR Anissa :

Nous vous remercions de nous faire l'honneur de présider le jury de ce travail, Soyez assuré de notre profonde reconnaissance.

A notre Examinatrice Madame HIKEM Djamila :

Nous vous remercions d'avoir accepté d'examiner ce travail et pour l'honneur que vous nous avez fait en participant au jury.

Au membres du Laboratoire de Physique et Chimie des Matériaux (LPCM) de l'UMMTO, en particulier **Mr MERZOUK, Mr BOUDINAR** de nous avoir aidé à réaliser l'étude électrochimique. Merci pour votre motivation et gentillesse, vos conseils et votre humour tout au long de notre présence au laboratoire.

A Madame HELLAL Zohra,OUHOCINE.D, ingénieurs et étudiants (es) du laboratoire de microbiologie de l'UMMTO, qui nous ont permis de réaliser l'activité antibactérienne. Merci pour votre précieuse aide et votre gentillesse.

Aux ingénieurs du laboratoire de cinétique et d'organique de l'UMMTO, que nous remercions vivement pour leurs services et gentillesses, c'était vraiment un plaisir de travailler avec vous.

Enfin, on adresse nos remerciements à nos enseignants (es) et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicace



A mes très chers parents ;

Aussi je dédie ce travail à ma sœur et mes frères ;

A mes oncles et tantes ;

A mes amis (es) ;

A ma binôme Ouissame ;

*Et à tous ceux qui ont contribué de loin ou de prêt à la réalisation
de ce mémoire.*

Lyes



Dédicace

Quissame
A mes chers parents ;

A toute ma famille ;

A mes amis (es) ;

A mon binôme Lyes ;

A tous ceux qui me sont chers ;

Pour leur présence de tous les instants,

Pour le soutien qu'ils m'ont apporté,

Avec toute mon affection et ma reconnaissance.

Quissame



Sommaire

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Chapitre I- Rappels bibliographiques

I-1- Les coumarines.....	3
I-1-1- Définition.....	4
I-1-2-Diversité structurale des coumarines.....	5
II-1-2-a- Coumarines Simples.....	5
II-1-2-b- Les coumarines complexes.....	5
I-1-2-b-1 -Les furocoumarines	5
I-1-2-b-2-Pyranocoumarine	6
I-1-3- Propriétés physico-chimique	6
I-1-4- activités biologiques et intérêts pharmacologiques des dérivés de la coumarine	7
I-1-5-Toxicité des coumarines et dérivés.....	7
I-1-6- Les β -dicétones à radicale coumarinique (La 3-acétoacétylacoumarine).....	8
I-1-7- Pouvoir complexant des ligands à base de β -dicétones et leurs application	9
I-2- Les complexes.....	9
I-2-1- Généralités sur les complexes de coordination	9
I-2-1-a- Historique :	9
I-2-1-b- Définition :	10
I-2-2- Les ligands.....	10
I-2-2-a- Définition des ligands.....	10
I-2-2-b- Types des ligands	10
I-3-Métaux de transition.....	11
I-3-1- Le cobalt.....	11
I-3-2 - Le nickel.....	12
I-3-3- Le zinc	12
I-3-4 – Le manganèse.....	12

Chapitre II : Partie expérimentale

II-1- Réactifs et solvants utilisés	14
II-2- Synthèse du ligand et de leurs complexes	14

II-2-a- Synthèse de la 3-acétoacétylcoumarine (HL).....	14
II-2-b- Synthèse des complexes	14
II-3- Méthodes de caractérisation	15
II-3-a- Chromatographie sur couche mince (CCM)	15
II-3-b- Le point de fusion	15
II-3-c- Analyse conductimétrique	15
II-3-d- Méthodes spectroscopiques	16
❖ Spectrométrie infrarouge (IR)	16
❖ Spectrophotométrie UV – Visible	17
II-4 - l'activité antibactérienne	17
II-4-1-Identification des souches utilisées	17
II-4-2-Realisation de l'antibiogramme (méthode de diffusion).....	18
❖ Préparation des suspensions bactériennes	18
❖ Ensemencement et dépôt des disques.....	18

Chapitre III : Partie discussions des résultats

III-1- Synthèse, analyse et caractérisation du ligand HL et de ses complexes de métaux de transition.....	20
III-1-a-Mecanisme reactionnel de la synthese du ligand.....	20
III-1-b-Chromatographie sur couche mince (CCM).....	21
III-1-c- Propriétés physico-chimique du ligand et de ses complexes.....	21
III-1-d- Caractérisation du ligand et de ses complexes par méthodes spectroscopiques	23
Spectrométrie Infrarouge (IR).....	23
Spectrophotométrie UV-Visible.....	27
III-2- Schémas structuraux proposés.....	31
III-3- Activité antibactérienne	32
Conclusion generale.....	36

Liste des abréviations

TAL	La triacétique lactone
HL	Ligand 3-acétoacétylcoumarine
°C	Degré celsius
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine sida
SARS-CoV-2	Pandémie de coronavirus
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
%	Pourcentage
RMN	La résonance magnétique nucléaire
CCM	Chromatographie sur couche mince
Co	Cobalt
Mn	Manganèse
Ni	Nickel
Zn	Zinc
T_f	Le point de fusion
DMSO	Le diméthyl sulfoxide
δ	La conductivité spécifique
Ω_M	La conductivité molaire
IR	Spectrométrie infrarouge
UV-visible	Ultraviolet-visible
λ	Longueur d'onde
ε	Coefficient d'extinction molaire
l	La longueur du trajet parcouru
C	Concentration
ECS	Une électrode au calomel saturée
μl	Microlitres
mg	Milligramme
ml	Millilitre
mm	Mille grammes

Liste des figures

Figure I.1: Structure de base d'une coumarine.....	4
Figure 1.2 : Arbre Tonka.....	4
Figure I. 3 : Structure de la 3-acétoacétylcoumarine.	9
Figure II.1: Protocole expérimental de la synthèse et la filtration.....	15
Figure II.2: Protocole de la méthode de diffusion.....	19
Figure III.1 : Spectres IR des complexes ce la 3-acétoacétylcoumarine.....	25
Figure III.2 : Spectres d'absorption électroniques des complexes ML dans le DMSO : a : $C = 10^{-4}$ M et b : $C = 5.10^{-4}$ M.....	28
Figure III.3 : Structures proposées des complexes isolés à l'état solide.....	31
Figure III.4 : Effet du ligand HL et de ses complexes sur les souches testées.....	33
Figure III.5 : Diamètres des zones d'inhibition du ligand et de ses complexes.....	34

Liste des tableaux

Tableau I. 1 : Structure générale des génines et des hétérosides.....	5
Tableau I.2 : Type de ligands.....	11
Tableau II.1 : Liste des réactifs et solvants utilisés.....	14
Tableau III.1: Propriétés physico-chimiques du ligand HL et de ses complexes.....	22
Tableau III.2 : Principales bandes IR du ligand et de ses complexes (en cm^{-1}).....	24
Tableau III.3 : Spectroscopie électronique des complexes ML.....	29
Tableau III. 4: Paramètres de champ de ligand pour les complexes de NiL et CoL.....	30
Tableau III.5 : Diamètre de zone d'inhibition en mm du ligand HL et de ses complexes ainsi que l'antibiotique de référence.....	32

Liste des schémas

Schéma II.1: Synthèse de la 3-acétoacétylcoumarine (HL).....	15
Schéma III.1: Mécanisme réactionnel de la synthèse du ligand HL.....	21



INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

La chimie de coordination est une discipline qui associe le plus souvent la chimie inorganique et la chimie organique : les molécules organiques (comme ligands) et un ion inorganique comme élément central [1-2]. Au cours des dernières décennies, l'importance des complexes métalliques s'est développée du fait de la diversification de leurs utilisations notamment dans la synthèse organique, la catalyse, l'industrie pharmaceutique et la conception de nouveaux matériaux [3]. Les complexes les plus étudiés sont choisis pour leurs domaines d'applications biologiques potentiels, utilisés comme agents anticancéreux [4], anti-infectieux [5] et antidiabétiques [6].

Il est bien connu que les complexes métalliques des ligands O,N-donneurs jouent un rôle important dans chimie de coordination. De nombreuses recherches ont été menées sur la synthèse et structure des complexes métalliques avec les ligands O, N-donneurs [7,8]. Ceci peut être réalisé en utilisant les composés organiques synthétiques porteurs de groupes fonctionnels O,N-donneurs. Les meilleurs ligands adaptés connus sont les composés hétérocycliques. En tant que groupe important des composés organiques d'hétérocycliques, la coumarine (2H-1-benzopyran-2-one) et ses dérivés, ont été largement utilisés dans les domaines biologique, chimique et physique. Les dérivés coumariniques ont trouvé de nombreuses applications en médecine et en biologie et ils sont également connus pour leur tendance à donner des composés de coordination avec différents ions de métaux de transition. Le comportement de complexation des ions de métaux de transition avec des ligands donneurs O,N- a suscité l'intérêt de nombreux chimistes [9].

Les coumarines présentent plusieurs effets pharmacologiques, notamment anticoagulant, antimicrobien, anti-inflammatoire, neuroprotecteur, antidiabétique, anticonvulsivant et antiprolifératif [10].

L'activité biologique de certains ions de métaux de transition dans les systèmes biologiques a été rapportée. Ils sont souvent appelés métalloprotéines car ils ont des sites d'activité de la plupart des enzymes et déterminent également la structure des sites les plus actifs. Parmi les métaux actuellement connus pour être essentiels aux fonctions biologiques normales chez l'homme et les micro-organismes, on trouve le cobalt (Co), un bioélément important qui a révélé une fonction physiologique grâce à la vitamine B12 et le zinc (Zn), un bio-métal abondant impliqué dans le centre actif de plus de 200 protéines fonctionnelles [11-12]. Ces ions métalliques sont présents dans plusieurs produits pharmaceutiques inorganiques utilisés comme médicaments contre une variété de maladies, allant des applications antibactériennes et antifongiques aux applications anticancéreuses [13-14]. Un autre fait pour cibler ces ions métalliques particuliers est leur nature moins toxique qui peut être encore réduite lorsqu'ils sont liés aux ligands.


Introduction générale

Vu l'importance des diverses activités biologiques des dérivés de la coumarine et de leurs composés de coordination avec les métaux de transition 3d, Il nous a paru intéressant d'étudier les propriétés de liaison de 3-acétoacétylcoumarine avec quatre métaux de transition (Co (II), Mn (II), Ni (II), Zn (II)), et donc tester leurs activités biologiques ; dont le principal but est de tester leurs activités antibactériennes.

Nous avons procédé dans un premier temps à la synthèse du ligand hétérocyclique bi-dentates dérivé de la coumarine à partir de la triacétique lactone (TAL) et du salicyaldéhyde (2-hydroxybenzaldéhyde) par réaction de condensation de KNOEVENAGEL. Le ligand obtenu possède des oxygènes comme atomes donneurs et présente une cavité pour accueillir des ions métalliques. Des études par spectrophotométrie UV-Visible et IR-TF et bactériologie du ligand et de ses complexes sont réalisés.

En plus de l'introduction et de la conclusion générale, ce travail est présenté en trois chapitres :

- ✚ Le premier chapitre est consacré à la synthèse bibliographique sur les hétérocycles particulièrement les coumarines et les complexes métalliques.
- ✚ Le deuxième chapitre décrit les différentes techniques expérimentales et les modes opératoires utilisées pour la synthèse et la caractérisation de notre ligand et ses complexes.
- ✚ Le troisième chapitre développe l'analyse, la caractérisation du ligand (HL) ainsi que les complexes synthétisés par les méthodes spectroscopiques et les résultats de l'étude de l'activité antibactérienne.



CHAPITRE I
RAPPELS
BIBLIOGRAPHIQUES

La chimie des hétérocycles est un élément central de la chimie organique et de la biochimie, qui repose sur un ensemble de structures spécifiques : des composés organiques de structure cyclique contenant au moins un hétéroatome (le plus souvent l'azote, l'oxygène ou le soufre) [15]. D'un point de vue chimique, la plupart des composés hétérocycliques comportent un système conjugué ou aromatique qui est l'origine de leurs stabilités.

La synthèse de ces composés chimiques est devenue très intéressante dans les recherches scientifiques en raison de leurs potentialités d'application, en particulier dans le domaine pharmacologique [16].

Parmi les entités hétérocycliques oxygénées naturels et synthétiques on trouve les pyrones, qui contiennent un atome d'oxygène et un groupement fonctionnel cétone. Les 2-pyrones ou encore α -pyrones sont présentes dans de nombreux produits naturels aux activités biologiques intéressantes et variées. La fusion d'un cycle 2-pyrone avec un cycle benzène donne naissance à une classe de composés hétérocycliques benzo- α -pyrones, appelées coumarines.

I-1- Les coumarines

Les coumarines comprennent une très grande classe de composés présents dans tout le règne végétal. Ces substances jouent un rôle important à la fois dans les systèmes naturels comme les plantes et aussi dans les applications médicales synthétiques en tant que molécules médicamenteuses. De nombreux composés de coumarine structurellement différents se sont avérés présenter une grande variété de similitudes avec les cibles moléculaires vitales pour leur action pharmacologique et de petites modifications dans leurs structures ont entraîné des changements significatifs dans leurs activités biologiques [17].

La coumarine et ses dérivés ont été largement étudiés en série hydrocarbonée en raison de leur intérêt dans de nombreux domaines : produits naturels du métabolisme végétal, ils ont trouvé de multiples applications en neurochimie (sédatifs, narcotiques, hypnotiques), en dermatologie (absorbants U.-V.), en hématologie (anticoagulants), en pharmacologie (expectorants), en toxicologie (phytocides), en biochimie (marqueurs fluorescents), voire même en parfumerie (base neutre des parfums) [18].

De nos jours, de nombreuses études rapportent des complexes de dérivés de la coumarine avec des métaux de transitions, qui possèdent des activités importantes en chimie médicinale.

I-1-1- Définition

Les coumarines ou 2*H*-1-benzopyran-2-ones sont des substances naturelles organiques aromatiques largement étudiés. Ce système hétérocyclique est également connu sous le nom de 1,2-benzopyrone, 2*H*-chromen-2-one, 2-oxo-1,2-benzopyran ou lactone de l'acide *o*-hydroxycinnamique qui consistent tous en un cycle benzénique relié à un noyau lactone (benzo- α -pyrone) formant alors un noyau coumarine simple (**Fig.1.2**) [19].

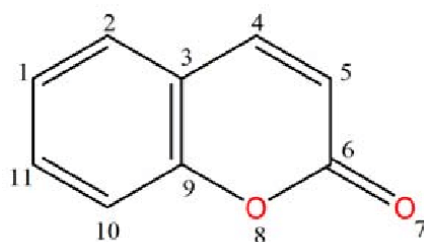


Figure I.1: Structure de base d'une coumarine.

L'histoire des coumarines remonte à 1820, lorsque H. A. Vogel a isolé pour la première fois le membre le plus simple de cette famille, la coumarine elle-même. Cette dernière tire son nom de (coumarou) nom vernaculaire de la *fève tonka* (Willd., Fabaceae) d'où fut isolée. Plus tard, ce composé a été synthétisé pour la première fois par W.M. Perkin en 1868 [19] à partir de l'aldéhyde salicylique et d'un anhydride d'acide, à haute température en présence d'une base faible (CH_3COONa) [20].



Figure 1.2 : Arbre Tonka.

Les coumarines possèdent une ou plusieurs fonction phénolique. Les hydroxyles de ces molécules peuvent être libres étherifiées ou engagés dans la liaison hétérosidique. Plus d'un millier de coumarines naturelles ont été décrites. Elles sont très largement distribuées dans le règne végétal.

I-1-2-Diversité structurale des coumarines

La coumarine est le point de départ d'une famille des composés, qui se forment par une substitution sur un cycle aromatique. De ce fait et d'après la nature des substitutions on peut les classer en deux types : coumarines simples et coumarines complexes [21].

I-1-2-a- Coumarines Simples

Ce sont les coumarines les plus répandues dans le règne végétal. Elles possèdent de substitutions (OH ou OCH₃) en 6 et 7, on trouve les génines et les hétérosides [22].

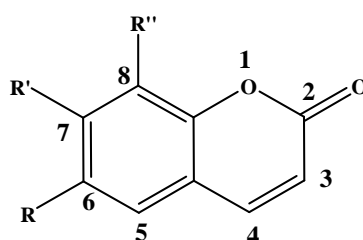


Tableau I. 1 : Structure générale des génines et des hétérosides

	R	R'	R''
Coumarine	H	H	H
Ombélliférone	H	OH	H
Esculétol	OH	OH	H
Esculine=Esculoside	O-Glc	OH	H
Scopolétol	OCH ₃	OCH ₃ O-	H
Scopoline=Scopoloside	OCH ₃	Glc	H
Fraxétol	OCH ₃	OH	OH
Fraxoside	OCH ₃	O-Glc	OH

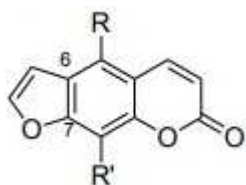
I-1-2-b- Les coumarines complexes

Elles se constituent d'un noyau furane ou pyrane associé au noyau benzo- α -pyrone. La prénylation est à l'origine des coumarines polycycliques.

I-1-2-b-1 -Les furanocoumarines (furocoumarines)

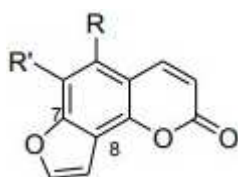
Elles sont composées d'un hétérocycle furane lié au noyau benzo- α -pyrone, et se trouvent principalement chez les Rutacées et les Apiacées [23]. Ils peuvent être regroupées en types linéaires et angulaires.

✚ **6,7-furocoumarines** : C'est la forme linéaire



Génine	R	R'
Psoralène	H	H
Bergaptène	OCH ₃	H
Xanthotoxine	H	OCH ₃

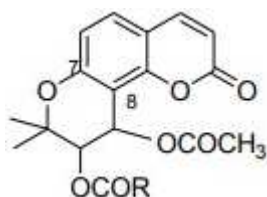
✚ **7,8-furocoumarines** : C'est la forme angulaire



Génine	R	R'
Angélicine	H	H
Pimpinelline	OCH ₃	OCH ₃

I-1-2-b-2-Pyranocoumarine

Composés d'un hétérocycle pyrane lié au noyau benzo- α -pyrone.



Génine	R
Samidine	-CH=C(CH ₃)-CH ₃
Visnadine	-CH(CH ₃)-CH ₂ -CH ₃

I-1-3- Propriétés physico-chimiques [24]

- Les coumarines sont des solides cristallisés blancs ou jaunâtres.
- Saveur généralement amère, l'odeur est pareille à celle du foin fraîchement coupé.
- Certaines coumarines sont sublimables et entraînaibles à la vapeur d'eau.
- Les génines sont solubles dans l'alcool et les solvants organiques (éther, solvants chlorés) avec lesquels on peut les extraire.
- Les hétérosides coumariniques sont plus ou moins solubles dans l'eau.
- Les coumarines hydroxylées possèdent une intense fluorescence bleue en lumière UV.
- Les propriétés chimiques sont dues principalement à l'anneau lactonique, notamment l'ouverture de ce dernier en milieu alcalin.
- Avec les sels de plomb, on obtient des combinaisons insolubles.

- Les coumarines se caractérisent par un point de fusion élevé (se situe vers 68-70°C), vu leur structure importante. Et son point d'ébullition est de 303°C.

I-1-4- activités biologiques et intérêts pharmacologiques des dérivés de la coumarine

Les coumarines ont de nombreuses propriétés biochimiques et pharmacologiques, leur activité dépend de la structure et de la nature des substituants [25,26].

Ces molécules contenant de l'oxygène représentaient des significations biologiques remarquables. Le noyau aromatique oxygéné-hétérocyclique fusionné est capable de modifier sa densité électronique, modifiant ainsi les propriétés chimiques, physiques et biologiques respectivement en raison de ses multiples modes de liaison avec les récepteurs, qui jouent un rôle crucial dans le dépistage pharmacologique des médicaments. Dans les coumarines, le cycle benzénique est fusionné avec le noyau pyrone qui assure la stabilité du noyau. Ces substances ont montré un large éventail d'activités pharmacologiques telles que l'activité anti-tumorale, anti-coagulante, anti-inflammatoire, anti-oxydante, antivirale, antipaludique, anti-VIH et antimicrobienne ...etc [18].

Les composés de coumarine naturellement existants agissent contre le SARS-CoV-2 en empêchant la réplication virale par le ciblage sur le site actif contre la protéine cible Mpro [18].

D'autre part, il a été rapporté que l'incorporation d'un ion métallique dans les dérivés de la coumarine peut augmenter l'activité de tels complexes par rapport aux ligands à base de coumarine. En conséquence, certains d'entre eux se sont avérés présenter des activités antioxydantes, anti-tumorales ou antibactériennes prometteuses.

I-1-5-Toxicité des coumarines et dérivés

La coumarine n'est pas toxique en soi, elle peut être convertie par les champignons, en une toxine le dicoumarol qui est typiquement présent dans le foin moisi, chez le bétail, le dicoumarol provoque des hémorragies fatales en inhibant la vitamine K qui est un facteur de coagulation du sang [27, 28]. Les dérivés coumariniques ayant des propriétés anticoagulantes, sont toxiques par ingestion et contact.

Les coumarines complexes sont surtout responsables d'accidents photosensibilisants lorsqu'ils sont accompagnés d'une exposition à la lumière solaire, Cela se présente parfois par une hyperpigmentation de la peau. [29].

Les furanocoumarines linéaires peuvent être le support de cycloaddition avec les bases pyrimidiques de l'ADN ou de l'ARN, la duplication des brins est alors bloquée ainsi que la traduction des ARN. Cette propriété est souvent invoquée pour expliquer les caractères mutagènes et cancérigènes de ces molécules [29].

La coumarine n'est pas cancérigène aux doses habituelles dans la nourriture (0,25%) [30]. Ces composés renferment un noyau oxygéné dans leur structure, les espèces réactives de l'oxygène comme l'anion superoxyde, le radical hydroxyle et le peroxyde d'hydrogène sont un type de molécule instable qui contient de l'oxygène, qui réagit avec d'autres molécules dans la cellule pendant le processus de métabolisme, mais il peut produire une cytotoxicité lorsque les espèces réactives de l'oxygène augmentent en nombre, par les dommages des macromolécules biologiques. Le radical hydroxyle (OH), est un agent oxydant puissant et il est responsable de la cytotoxicité par l'oxygène dans différentes plantes, animaux et autres microbes [18].

I-1-6- Les β -dicétones à radicaux coumariniques (La 3-acétoacétylcoumarine)

➤ Les β -dicétones

Les composés 1,3-dicarbonylés sont des composés importants en synthèse organique ainsi que dans les industries pharmaceutiques [31-32]. Les β -dicétones (1,3-dicétones) ont une structure qui comporte deux groupes carbonyle séparés avec un atome de carbone. Cela leur confère des propriétés très intéressantes et spécifiques. En effet, leur caractéristique essentielle est le tautomérisme céto-énolique.

Ces molécules se présentent sous forme d'un équilibre entre une forme dicéto et une forme énol en équilibre. Ce dernier est affecté par d'autres facteurs, le plus important étant la polarité des solvants et la capacité à former des complexes stables avec la plupart des métaux. Ils se sont révélés être d'excellents intermédiaires dans la synthèse organique, ainsi que des réactifs dans les réactions de formation de la liaison (C-C), y compris la condensation de Knoevenagel [33].

➤ La 3-acétoacétylcoumarine

La 3-acétoacétylcoumarine représentée dans la figure I.3, est une molécule hétérocyclique de formule brute $C_{13}H_{10}O_4$, composée de deux fractions, une fraction coumarinique sur laquelle vient se fixer une fraction dicéto en position 3.

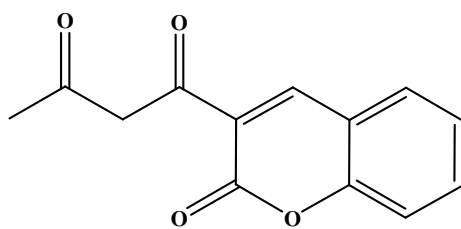


Figure I. 3 : Structure de la 3-acétoacétylcoumarine.

I-1-7-Pouvoir complexant des ligands à base de β -dicétones (la 3-acétoacétylcoumarine) et leurs applications

Les β -dicétones comptent parmi les ligands les plus largement utilisés dans la chimie de coordination [34]. Ces composés peuvent exister en solution sous forme de tautomères céto et énol. Comme l'hydrogène énolique est labile, il peut être remplacé par un cation métallique pour former un cycle chélate à six chaînons. Les complexes β -dicétonates ainsi formés ont fait l'objet de centaines d'articles et de revues, la recherche étant stimulée par la polyvalence de ces composés en tant que réactifs de décalage RMN [35], chélates de laser [36], agents d'extraction [37], stabilisants thermiques pour polymères, médicaments [38], produits chimiques et photochimiques [39], ainsi que leur utilisation dans la fabrication de supraconducteurs [40] et la chromatographie en phase gazeuse [41]. Quelques articles ont également paru dans lesquels il a été démontré que les β -dicétones agissent comme des ligands neutres en établissant une interaction de coordination avec le cation métallique [42].

Il a été démontré que les complexes à base de β -dicétones ont une capacité très forte pour inhiber la croissance de la lignée cellulaire de la leucémie myéloïde chronique (inhibe la croissance des cellules K562) [43].

II-2- Les complexes

II-2-1- Généralités sur les complexes de coordination

II-2-1-a- Historique

En 1597 le chimiste allemand Andreas Libavius a découvert et décrit le premier composé de coordination $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ d'une couleur bleu. Au 19^{ème} siècle, lorsque de nouveaux complexes ont été découverts, un certain nombre de théories ont été proposées pour expliquer leur composition et leurs propriétés. La plus réussie et la plus largement acceptée de ces théories était la théorie des

chaînes (1869) du chimiste suédois Christian Wilhelm Blomstrand, puis modifiée et développée par le chimiste danois Sophus Mads Jørgensen. Les préparations extensives de Jørgensen de nombreux complexes ont fourni la base expérimentale non seulement pour la théorie des chaînes de Blomstrand-Jørgensen, mais aussi pour la théorie de la coordination du chimiste suisse d'origine alsacienne Alfred Werner (1893). Ce dernier est nommé le fondateur non seulement de la chimie de coordination, mais également de la chimie structurale inorganique. Werner a expliqué le type de liaison entre le ligand et le métal central, dont il a proposé que le premier type se produise en dehors de la sphère de coordination et le second à l'intérieur, et il a créé également la configuration des complexes [44].

II-2-1-b- Définition

Un complexe métallique ou un composé de coordination est un assemblage polyatomiques formé d'un atome central, généralement métallique, sur lequel viennent se fixer un certain nombre de molécules ou d'ions appelés ligands.

Le complexe de coordination se forme par des réactions de complexation entre un ion métallique (acide de Lewis) et le ligand (base de Lewis), Ces réactions se traduisent souvent par des changements de couleur démontrant que les propriétés électroniques des complexes sont différentes de celles des réactifs de départ [45-46].

I-2-2- Les ligands

I-2-2-a-Définition

Le terme ligand (coordinat) est le plus souvent utilisé en chimie de coordination et en chimie inorganique. Le coordinat est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques qui lui permet de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux [47].

I-2-2-b-Type de ligands

Parmi les ligands plus courants on trouve les molécules d'eau H_2O ou l'ammoniac NH_3 ou des anions comme les chlorures Cl^- , les cyanures CN^- , les hydroxydes OH^- .

En chimie inorganique on trouve deux types de ligand, les ligands monodentés et de ligands polydentés la différence entre ces deux est dû à leur denticète autrement dit est le nombre d'atomes d'un ligand pouvant se lier à des atomes centraux généralement ces derniers sont des métaux ou des metalloïdes, le ligand est dit monodenté dans le cas où sa denticète égale à un, par contre la denticète

de la liaison des ligands polydentés est supérieure à un [47]. Les ligands polydentés sont classés en plusieurs catégories selon le tableau I.2.

Tableau I.2 : Type de ligands

Différentes catégories de ligand	Nombre de liaisons avec le centre métallique
Les ligands bidentés	Deux
Les ligands tridentés	Trois
Les ligands tétradentés	Quatre
Les ligands pentadentés	Cinq
Les ligands hexadentés	Six
Les ligands polydentés	Plus de six liaisons

II-3- Les métaux de transition

Les métaux de transition sont des éléments qui forment un ou plusieurs ions stables avec des orbitales d incomplètes, généralement ils sont des bons conducteurs de chaleur et de l'électricité, ils ont une forte densité et une température de fusion fréquemment très élevée.

Parmi les métaux de transition les plus abondants et les plus actifs dans le corps humain on peut citer le cobalt, le nickel et le cuivre [48-49].

II-3- 1- Le cobalt

Le cobalt métallique a été isolé dès 1735 par Georg Brandt, appartient à la quatrième ligne et à la septième colonne du bloc 'D' ainsi que sa configuration électronique s'écrit comme la suivante : $[\text{Ar}] 4s^2 3d^7$, Il est présent sous deux états d'oxydation Co^{+2} et Co^{+3} .

Le cobalt est un élément indispensable aux mammifères sous forme de cobalamine (Vitamine B12) qui joue un rôle très important dans le bon fonctionnement de notre organisme.

Auparavant, l'étude de très nombreux complexes hexacoordinés du cobalt (III) avait joué un rôle très important dans l'élaboration des théories d'Alfred Werner. Mais également les ions cobalt (II) peuvent présenter un danger sur la santé humain et animale car ils sont génotoxiques et

cancérogènes (cancer du poumon). Lors d'une exposition par inhalation, le système respiratoire est le principal organe cible du cobalt chez l'homme [50].

II-3-2-Le nickel

L'atome de nickel fut isolé en 1751 par le chimiste danois Axel Frederik Cronstedt. Il se manifeste sous la forme d'un solide gris-blanc, il possède une bonne résistance à l'oxydation, la corrosion et ferromagnétique.

Il appartient au groupe VIII B du tableau périodique qui suit le fer et le cobalt, d'une configuration électronique $[\text{Ar}] 4s^2 3d^8$. Bien que l'ion nickel est un métal redox qui peut exister dans plusieurs états d'oxydation - I, 0, + II, + III, + IV, son état d'oxydation le plus fréquent est le nickel (+II) dans les conditions environnementales normales.

Le nickel est un élément dont l'intérêt biologique ne cesse d'accroître. Divers complexes à base de nickel ont été utilisés comme agent antiépileptiques, anticonvulsifs. D'autres complexes de Ni (II) présentent une activité antibactérienne, antimicrobienne et anticancéreuse [51].

I-3-3-Le zinc

Le zinc est connu depuis l'Antiquité, en 1742 le suédois Anton von Swab a isolé le zinc pour la première fois. Le Zinc désigne un élément métallique de numéro atomique $Z=30$, il appartient à la quatrième ligne et à la douzième colonne de la classification périodique, soit la première ligne des éléments de transition et la dixième colonne du bloc D, sa configuration électronique à l'état fondamentale est : $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^2$. À l'état pur se présente sous la forme d'un métal bleu-gris. Il est capable de se combiner avec l'oxygène et autres non métaux [52].

Le zinc est un oligo-élément joue un rôle important dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides. Il est connu pour son action sur la peau, les ongles et les cheveux, et pour ses propriétés anti-inflammatoires et cicatrisantes, il permet de lutter contre les problèmes de peau comme l'acné, le psoriasis ou la dermatite, et en tant qu'antioxydant [53].

II-3-4- Le manganèse

Gahn a isolé le manganèse en 1774. Le manganèse se trouve dans la nature sous forme solide dans le sol et sous forme de petites particules dans l'eau [54].

Le Manganèse est un élément chimique métallique, il est situé dans la quatrième période et la septième colonne du tableau périodique, sa configuration électronique est la suivante : $[\text{Ar}] 4s^2 3d^5$.

Le manganèse est un métal important pour la santé humaine, étant absolument nécessaire à la croissance, au développement et au maintien de la santé, il joue un rôle essentiel dans la régulation de l'énergie cellulaire, la croissance des os, du tissu conjonctif et la coagulation du sang. Le Mn est un cofacteur important pour une variété d'enzymes, y compris celles impliquées dans la synthèse et le métabolisme des neurotransmetteurs [55]. En outre, plusieurs maladies humaines ont été associées à de faibles concentrations sanguines de Mn, notamment l'épilepsie, la maladie de Mseleni, le syndrome de Down, l'ostéoporose et la maladie de Perthest [56].



CHAPITRE II
PARTIE
EXPERIMENTALE

II-1- Réactifs et solvants utilisés

Tous les produits chimiques (réactifs et solvants) utilisés pour la synthèse de la 3-acétoacétylcoumarine et de ses complexes de métaux de transition, sont de qualité analytique et ont été utilisés sans purification préalable. Il s'agit des molécules suivantes :

Tableau II.1 : Liste des réactifs et solvants utilisés

Produit	Formule chimique	M (g/mol)	Marque
Salicyaldéhyde	C ₇ H ₆ O ₂	122,12	Sigma-Aldrich
2-hydroxynaphtaldéhyde	C ₁₁ H ₈ O ₂	172,18	Sigma-Aldrich
Nickel(II) chloride hexahydraté	NiCl ₂ · 6H ₂ O	237,69	Merck
Cobalt(II) chloride hexahydrate	CoCl ₂ · 6H ₂ O	237,93	Merck
Zinc (II) chloride	ZnCl ₂	136,28	Merck
Chlorure de manganèse (II) tétrahydraté	MnCl ₂ ·4 H ₂ O	197,91	Merck
Triéthylamine	C ₆ H ₁₅ N	101,19	Honeywell Fluka
hydroxyde d'ammonium	NH ₄ OH	35,05	Honeywell Fluka
Diéthyléther	C ₄ H ₁₀ O	74,12	Carlo Erba
Diméthyle sulfoxide	C ₂ H ₆ OS	78,13	Sigma-Aldrich
Ethanol	C ₂ H ₅ O	46,07	Biochem
Chloroforme	CHCl ₃	119,38	Carlo Erba

II-2- Synthèse du ligand et de leurs complexes

II-2-a- Synthèse de la 3-acétoacétylcoumarine (HL)

La synthèse de la 3-acétoacétylcoumarine a été réalisée selon le mode opératoire décrit dans la littérature [57].

Dans un ballon de 250 ml, on a introduit 2,5 g (0,020 mole) de Triacétique actone (TAL) et 50 ml de toluène puis on a additionne 0,02 mole de salicyaldéhyde et 0,5 ml de triéthylamine. A froid la TAL est partiellement soluble et à chaud elle se dissout complètement. Le mélange réactionnel est porté au reflux et sous agitation magnétique constante pendant une heure et trente

minutes. Un précipité jaune orangé se forme à froid, filtré, lavé et recristallise avec du méthanol chaud puis séchés sous vide. La pureté a été contrôlée par la chromatographie sur couche mince.

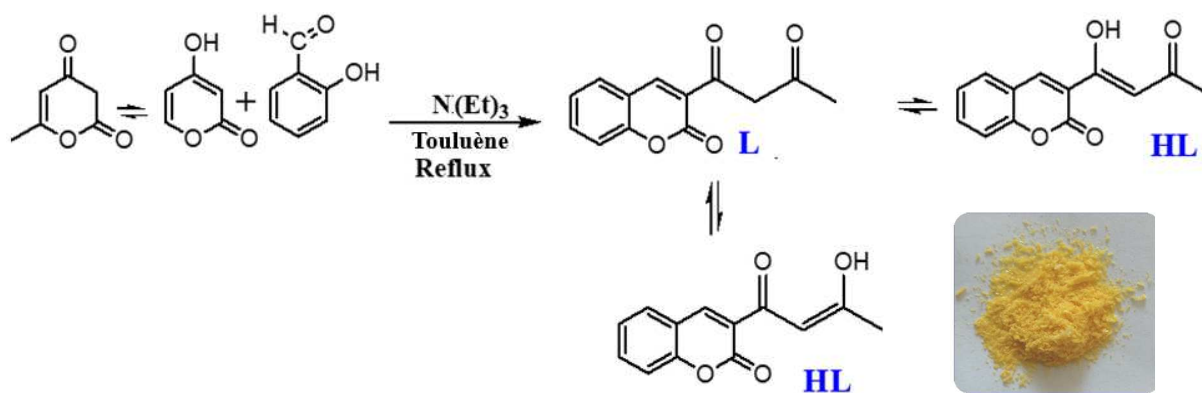


Schéma II.1: Synthèse de la 3-acétoacétylcoumarine (HL)

II-2-b- Synthèse des complexes

Dans un ballon à bicol, muni d'un réfrigérant et d'un agitateur magnétique, on a introduit 1 mmol (0,23 g) du ligand HL dissous dans un mélange de solvant d'éthanol - chloroforme (10ml/10ml). Une quantité équimolaire de chlorure métallique ($MCl_2 \cdot xH_2O$ avec $M = Mn(II), Co(II), Ni(II)$ ou $Zn(II)$), elle-même dissoute dans 5 mL d'éthanol est alors ajoutée au mélange sous agitation magnétique. Une solution basique de NH_4OH diluée dans l'éthanol est ensuite additionnée, jusqu'à pH soit entre 7-8. Le mélange final est maintenu au reflux et sous agitation magnétique pendant environ cinq heures. Le contenu du ballon est alors refroidis, filtré, lavé avec le solvant de synthèse chaud puis avec le diéthylique, enfin séchés dans l'étuve à $50^\circ C$.



Figure II.1: Protocole expérimental de la synthèse et la filtration.

II-3- Méthodes de caractérisation

II-3-a- Chromatographie sur couche mince (CCM)

La pureté du ligand synthétisé a été contrôlée par chromatographie sur couche mince en utilisant des plaques prêtes à l'emploi en gel de silice de type 60 F₂₅₄ à support en aluminium. La poudre est dissoute dans le chloroforme et l'éluant utilisé est un mélange de solvants chloroforme/méthanol (2ml/7 gouttes). La révélation des produits a été effectuée en utilisant l'iode sublimé.

II-3-b- Le point de fusion

Le point de fusion (T_f) est la température à laquelle une substance passe de l'état solide à l'état liquide. Il s'agit d'une propriété physique caractéristique de la matière. Chaque substance pure solide fond et devient liquide à une température précise.

Les points de fusion de nos composés de synthèse ont été mesurés à l'aide d'un appareil digital de type melting point Apparatus SMP30 au laboratoire pédagogique de chimie pharmaceutique, département de chimie de l'UMMTO.

II-3-c- Analyse conductimétrique

L'analyse conductimétrique nous renseigne sur la nature électrolytique des complexes synthétisés. Comme tous les complexes sont solubles dans le diméthyl sulfoxyde (DMSO), les mesures ont été prises pour des solutions de concentration égale à 10^{-3} M dans ce solvant à l'aide d'un conductimètre de type Consort C3030 à température du laboratoire.

Le passage de la conductivité spécifique (δ) (mesure affichée sur le conductimètre) exprimée en $\Omega^{-1} \text{ cm}^{-1}$ à la conductivité molaire (Ω_M) exprimée en $\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$ a été réalisé au moyen de la formule suivant $\Omega_M = \delta / C_M = \delta / 10^{-6}$.

II-3-d- Méthodes spectroscopiques

❖ Spectrométrie infrarouge (IR)

La spectrométrie infrarouge est une technique d'analyse très puissante qui permet d'étudier les liaisons et la symétrie des molécules en phase gazeuse, liquide et solide.

L'absorption d'une radiation infrarouge a pour effet de faire vibrer l'assemblage d'atomes en modifiant les distances interatomiques (**élongation**) ou les angles normaux des liaisons (**déformation angulaire**).

Les spectres infrarouges des ligands et ceux des complexes correspondants ont été enregistrés à l'état solide à l'aide d'un spectromètre IR à transformée de fourrier modèle IRAffinity-1S de marque SHIMADZU au laboratoire pédagogique de chimie et ce, dans la gamme spectrale 4000 - 400 cm^{-1} .

❖ Spectrophotométrie UV – Visible

Une transition UV-visible correspond à un saut d'un électron d'une orbitale moléculaire fondamentale occupée à une orbitale moléculaire excitée vacante. La matière absorbe alors un photon dont l'énergie correspond à la différence d'énergie entre le niveau fondamental et le niveau excité. Mais toutes les transitions énergétiquement possibles ne sont pas permises.

Le spectre enregistré représente l'absorbance en fonction de la longueur d'onde. La bande d'absorption est caractérisée par sa position en longueur d'onde λ_{max} donnée en nm (ou en nombre d'onde en cm^{-1}) et par son intensité reliée au coefficient d'extinction molaire ϵ_{max} par la loi de Beer-Lambert ($A = \epsilon l C$). La position du maximum d'absorption correspond à la longueur d'onde de la radiation qui provoque la transition électronique.

Les spectres UV-Visible ont été enregistrés en solution dans le DMSO à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible de type thermo Scientifique EVOLUTION 220 relié à un ordinateur, au laboratoire LPCM de l'UMMTO.

II-4- Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne vise à vérifier le spectre d'activité d'une substance ou d'un extrait, c'est l'antibiogramme. Ce dernier a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'UMMTO en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide (méthode des disques), avec la Gentamicine comme antibiotiques de référence.

II-4-1-Identification des souches utilisées

Trois souches bactériennes de collection sont choisies pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des produits synthétisés (ligand et ses complexes). Ces souches sont :

- ✓ **Escherichia coli ATCC 25922** : Autrement appelé colibacille ou E.coli ; c'est une bactérie intestinale à Gram négatif, E. coli représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires [58].

- ✓ **Staphylococcus aureus (S.aureus) ATCC 25923:** Ce sont des cocci Gram positif, qui tendent à se grouper en amas ayant la forme de grappes de raisin . Ces bactéries sont habituellement non capsulées, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives. S. aureus est responsable de nombreuses infections communotaires et nosocomiales résistantes aux antibiotiques dans le monde [59].

- ✓ **Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa) ATCC 27853 :** Ce sont des bacilles Gram négatif, de forme non sporulée, elles sont aérobies, mobiles grâce à la présence de flagelles, il s'agit de bactéries résistantes à de nombreux antibiotiques [58]. P.aeruginosa est responsable de plusieurs maladies infectieuses humaines (pneumonie nosocomiale, infections urinaires et infections suites aux blessures chirurgicales) [60].

II-4-2- Réalisation de l'antibiogramme (méthode de diffusion)

La méthode de diffusion est un criblage préalable qui vise à mettre en évidence une éventuelle activité antibactérienne sans pour autant la quantifier.

❖ Préparation des suspensions bactériennes

Les souches bactériennes sontensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 18 h, afin d'obtenir une culture jeune de bactéries. On racle quelques colonies isolées de chacune des souches bactériennes à tester qu'on inocule dans de l'eau physiologique stérile à 0.9 % de sel (NaCl).

La standardisation de la suspension à 10⁶ UFC/ml, est réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 625 nm. On admet une densité Optique (DO) de 0.08 à 0.10 à une concentration de 10⁷ à 10⁸ germes/ml.

❖ Ensemencement et dépôt des disques

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes de pétri préalablement préparées en ajoutant de la gélose Muller-Hinton, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées en tournant la boîte à chaque fois de 60°. Tout en travaillant dans une zone d'asepsie au tour du bec benzène.

Le matériel et les produits utilisés (les tubes, les disques en papier Wattman, les embouts...) ont été stérilisés à l'autoclave.

- ✓ Les échantillons à tester ont été dissout dans le DMSO.
- ✓ Les disques sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile, puis sur chaque disque on met 20µl de l'échantillon à tester.
- ✓ Le témoin négatif : représente le solvant utilisé pour la préparation des échantillons, soit le DMSO.
- ✓ Le témoin positif : représente l'antibiotique utilisé (Gentamicine 31mm).
- ✓ Incubation : Les boîtes de pétri sont ensuite fermées et mise à l'étuve à 37°C pendant 24h.

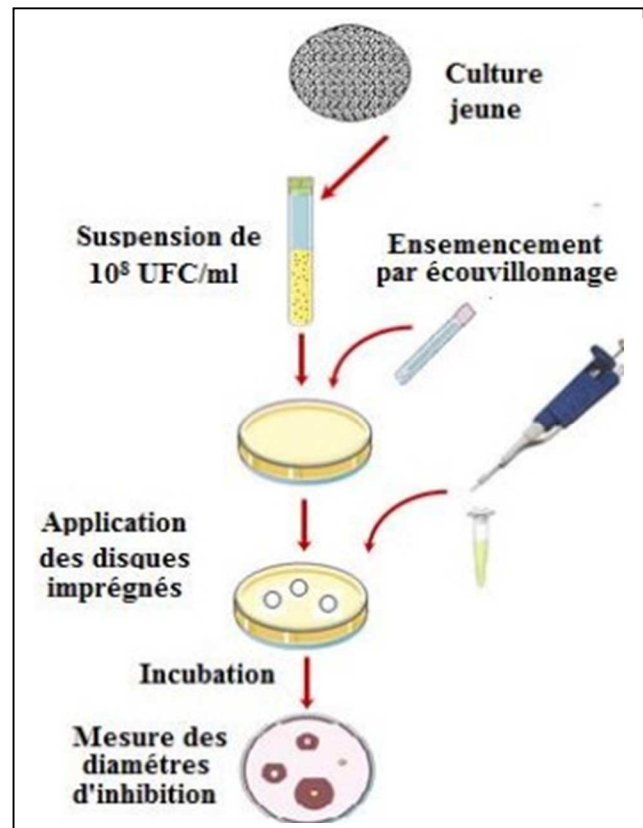


Figure II.2 : Protocole de la méthode de diffusion.

Les activités ont été estimées en terme de diamètres de la zone d'inhibition (mm). L'activité antibactérienne des complexes a été comparée à celle du ligand seul, afin de déterminer l'effet de la complexation sur l'éventuelle activité des ligands.



**CHAPITRE III
RESULTATS
ET
DISCUSSIONS**

Ces dernières années, le nombre de personnes souffrant d'infections bactériennes a fortement augmenté, laissant l'humanité sans autre choix que de rechercher de nouveaux agents actifs pour traiter ces maladies.

La combinaison de deux médicaments actifs ou plus dans une seule molécule hybride est une tendance croissante dans la conception de nouveaux agents thérapeutiques. Les nouveaux dérivés hybrides peuvent montrer des activités biologiques plus élevées que les précurseurs correspondants avec une toxicité beaucoup plus faible et moins d'effets secondaires. Cette tendance récente dans la conception de médicaments devient particulièrement visible dans le domaine de la chimie de la coumarine [61-62], avec un nombre croissant de nouveaux hybrides dérivés de la coumarine rapportés avec un fort accent sur les activités inhibitrices de différentes enzymes [63-64].

Récemment, l'équipe de la chimie organique appliquée du laboratoire LPCM, dirigée par Mme MAKHLOUFI, a publié plusieurs travaux de synthèse des molécules hybrides à partir des dérivées de la 3-acétoacétylcoumarine et des testées d'activités biologiques ont été réalisées [57].

Loin de la chimie organique et dans le but de synthétiser des nouvelles molécules à activité biologique meilleure, nous nous sommes intéressés à la synthèse de nouveaux complexes de métaux de transition (3d) avec la 3-acétoacétylcoumarine.

Dans notre travail, nous rapportons l'isolement et l'élucidation structurale par méthodes spectroscopiques de la 3-acétoacétylcoumarine et de ses complexes de cobalt (II), manganèse (II), nickel (II) et zinc (II). Leur activité antibactérienne du ligand et de ses complexes résultants a été déterminée à l'aide de la méthode des puits contre trois souches bactériennes différentes.

III-1- Synthèse, analyse et caractérisation du ligand HL et de ses complexes de métaux de transition

La condensation aldolique est l'une des réactions les plus importantes en chimie organique, parmi ces condensations on peut citer la condensation de Knoevenagel dans laquelle un aldéhyde ou une cétone réagit avec un composé à méthylène actif, en présence d'une base faible comme catalyseur. Pour former un composé carbonyle α, β -insaturé après déshydratation [65].

III-1-a- Mécanisme réactionnel de la synthèse du ligand

La condensation directe du salicylaldéhyde sur la TAL, en présence de la triéthylamine comme catalyseur conduit à la formation de 3-acétoacétylcoumarines (Schéma III.1). Ce dernier est obtenu avec un bon rendement. Sa pureté est confirmée par CCM et sa structure est identifiée par différentes techniques d'analyses, spectrophotométrie UV-visible, spectroscopies IR.

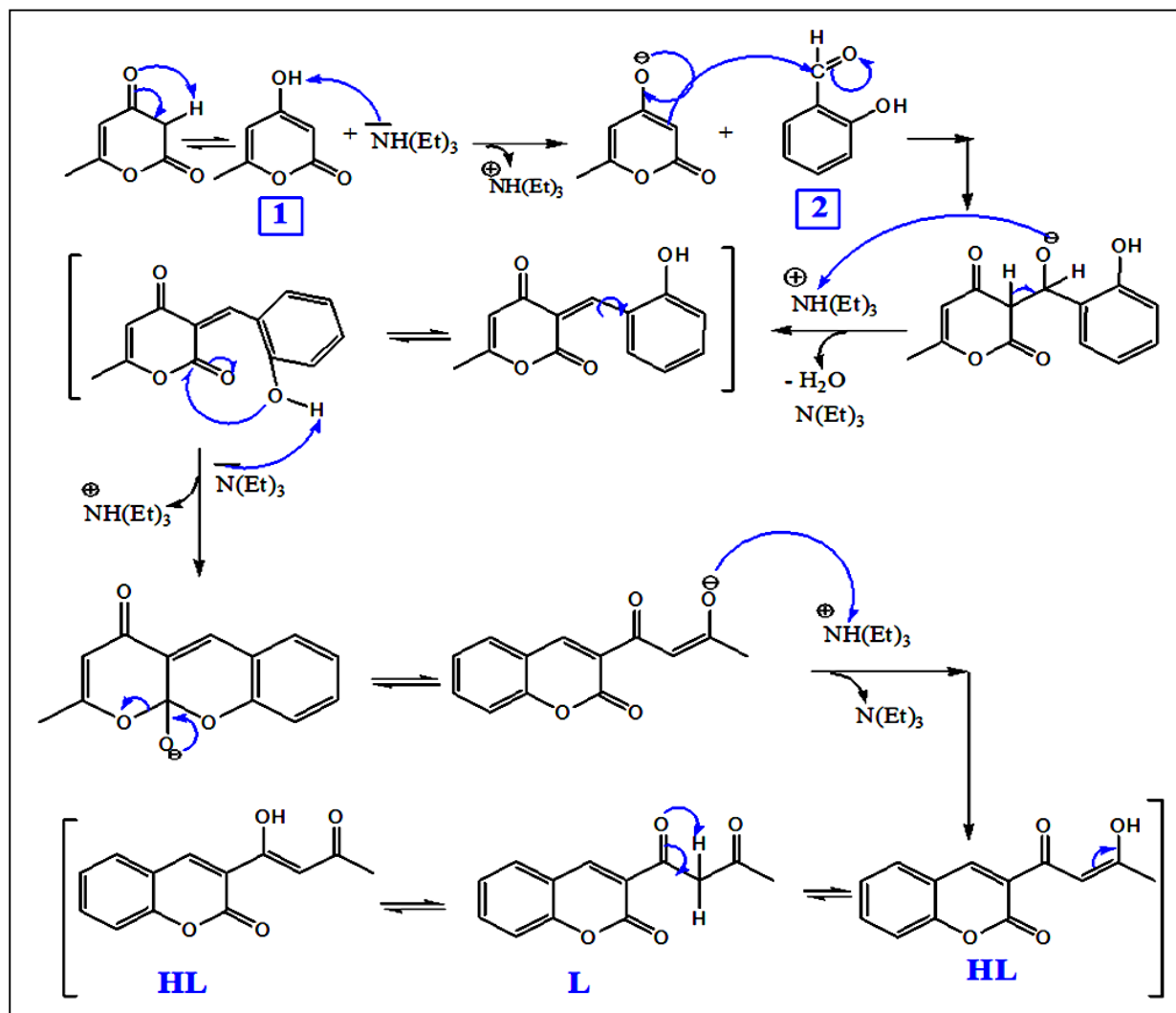


Schéma III.1: Mécanisme réactionnel de la synthèse du ligand HL

III-1-b-Chromatographie sur couche mince (CCM)

La pureté du ligand synthétisé a été contrôlée par chromatographie sur couche mince en utilisant des plaques prêtes à l'emploi en gel de silice de type 60 F₂₅₄ à support en aluminium. La poudre est dissoute dans le chloroforme et l'éluant utilisé est un mélange de solvants chloroforme/méthanol (2ml/7 gouttes). Nous avons obtenu une seule tache différente de celle des produits de départ. Avec un rapport frontal (Rf) = 0.66.






III-1-c- Propriétés physico-chimique du ligand et de ses complexes

La 3-acétoacétylcoumarine isolée à l'état solide est une poudre de couleur jaune orangé, insoluble dans l'eau, et soluble dans les solvants organiques très polaires et aprotiques tels que le DMSO, l'éthanol, le méthanol et le chloroforme.

Tous les complexes synthétisés sont solides et d'une remarquable stabilité à l'air libre et à température ambiante. Des tests de solubilité réalisés sur l'ensemble des complexes révèlent qu'ils sont peu solubles dans l'eau, le méthanol et l'éthanol mais ils sont solubles dans la DMF et le DMSO.

Les propriétés physiques (couleur, température de fusion, conductivité) et le calcul des pourcentages en élément C, H, O, N et M des complexes sont regroupées dans le tableau III.1.

Tableau III.1: Propriétés physico-chimiques du ligand HL et de ses complexes

Composé	Aspect et couleur	Formule chimique (M mol/l)					P _f (°C)	Ω_M $\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mole}^{-1}$
		%C	%H	%O	%N	%M		
HL		C₁₃H₁₀O₄ (230)					148	---
		67.82	4.38	27.80	---	---		
CoL		C₂₆H₂₃O₉NC_o (552.07)					203	30.4
		56.53	4.20	26.07	2.54	10.67		
ZnL		C₂₆H₂₃O₉NZn (557.07)					265	2.7
		55.88	4.15	25.77	2.51	11.70		
NiL		C₂₆H₂₃O₉NNi (551.07)					220	29.5
		56.56	4.20	26.08	2.54	10.63		
MnL		C₂₆H₂₃O₉NMn (548.08)					185	7.4
		56.94	4.23	26.26	2.55	10.02		

Les mesures de la conductivité ont été réalisées en solution à une concentration de 10^{-3} M pour chaque complexe dans le DMSO à température du laboratoire. Les résultats ont indiqué que ces complexes sont des non électrolytes [66-67].

III-1-d- Caractérisation du ligand et de ses complexes par méthodes spectroscopiques**❖ Spectrométrie Infrarouge (IR)**

La spectrométrie IR est une méthode très utilisée pour l'identification des ligands et de leurs complexes. La comparaison des spectres infrarouges des ligands avec ceux des complexes correspondants nous permet d'identifier les sites de coordination.

Une table de corrélation de spectroscopie infrarouge présente dans la littérature scientifique est utilisée pour déterminer les bandes caractéristiques [68].

Les spectres IR ont été tracés dans le domaine 400-4000 cm^{-1} (Fig. III.1). Les fréquences des principales bandes de vibration caractéristiques du ligand et de ses complexes de Ni(II), Mn(II), Co(II) et Zn(II) sont regroupées dans le tableau III.2.

Les bandes caractéristiques du ligand libre obtenues après l'analyse de son spectre infrarouge sont comme suit : ν (cm^{-1}) : 3364 (OH); 1717 (C=O pyrane); 1606 (C=O acétolacétyl); 1300 (C-OH); 1106 (C-O-C coumarine); 1576 (C=C aromatique).

Afin de confirmer la formation des complexes, les spectres infra-rouge de ces derniers sont comparés à celui du ligand HL libre. En effet, selon la littérature la formation d'un complexe est confirmée par un déplacement de certaines bandes du ligand et apparition de nouvelles bandes, indiquant que la coordination du ligand s'est effectuée avec le métal central à travers l'atome porté par cette liaison [69].

La bande large attribuée à la vibration d'élongation de la liaison O-H énole située à 3364 cm^{-1} sur le spectre du ligand devient plus large dans les complexes, ceci peut être expliqué par la formation du complexe via l'atome d'oxygène de OH enolique et/ou l'existence de molécules d'eau de coordination.

Le pic fin attribué à la bande de vibration d'élongation du carbonyle de la fonction pyronique qui était à 1717 cm^{-1} [70] reste pratiquement inchangé sur le spectre des complexes, cela montre que le groupement C=O n'a pas participé à la formation des complexes.

Le déplacement vers les grands nombres d'onde de la bande de vibration d'élongation de la liaison C=O de l'acétoacétyle et vers les faibles valeurs pour la liaison C-OH nous amènent à déduire l'implication des deux atomes d'oxygène dans la complexation.

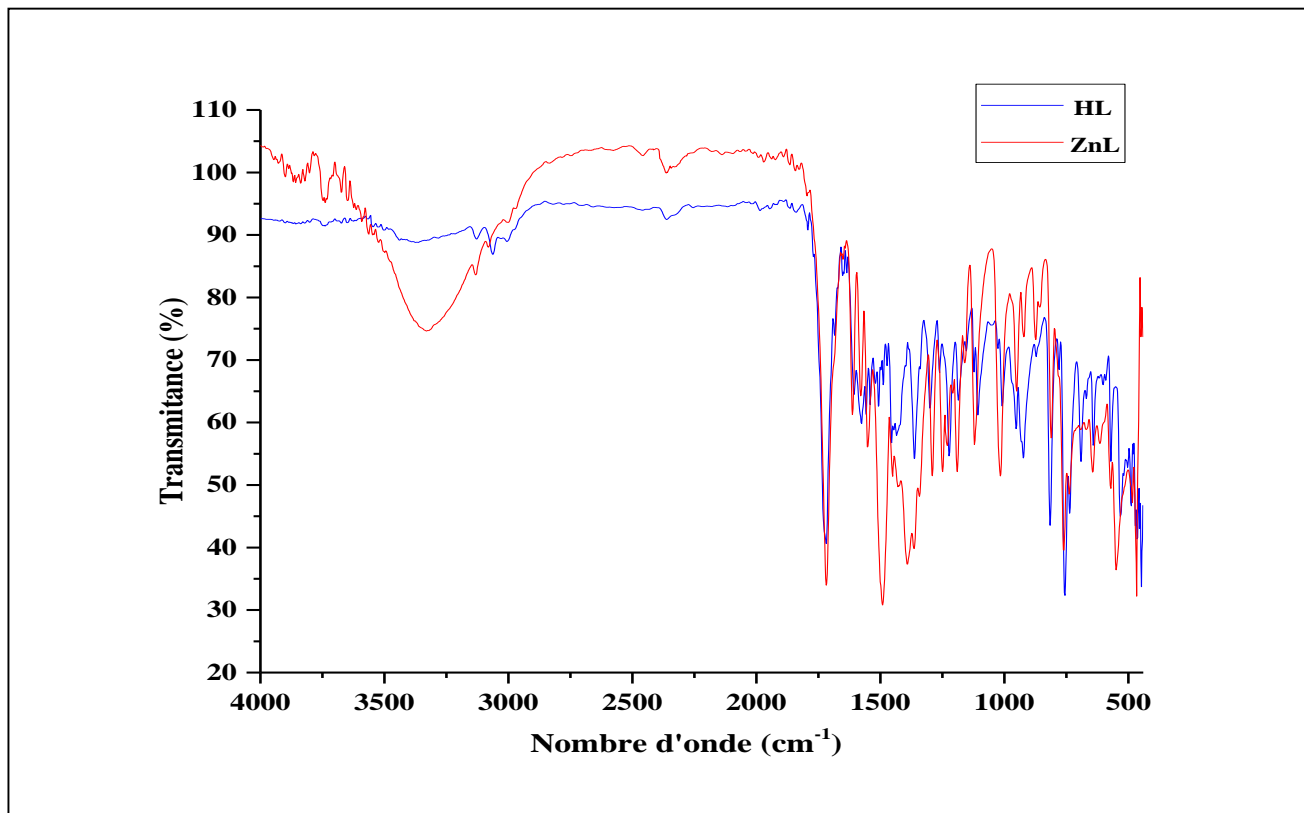
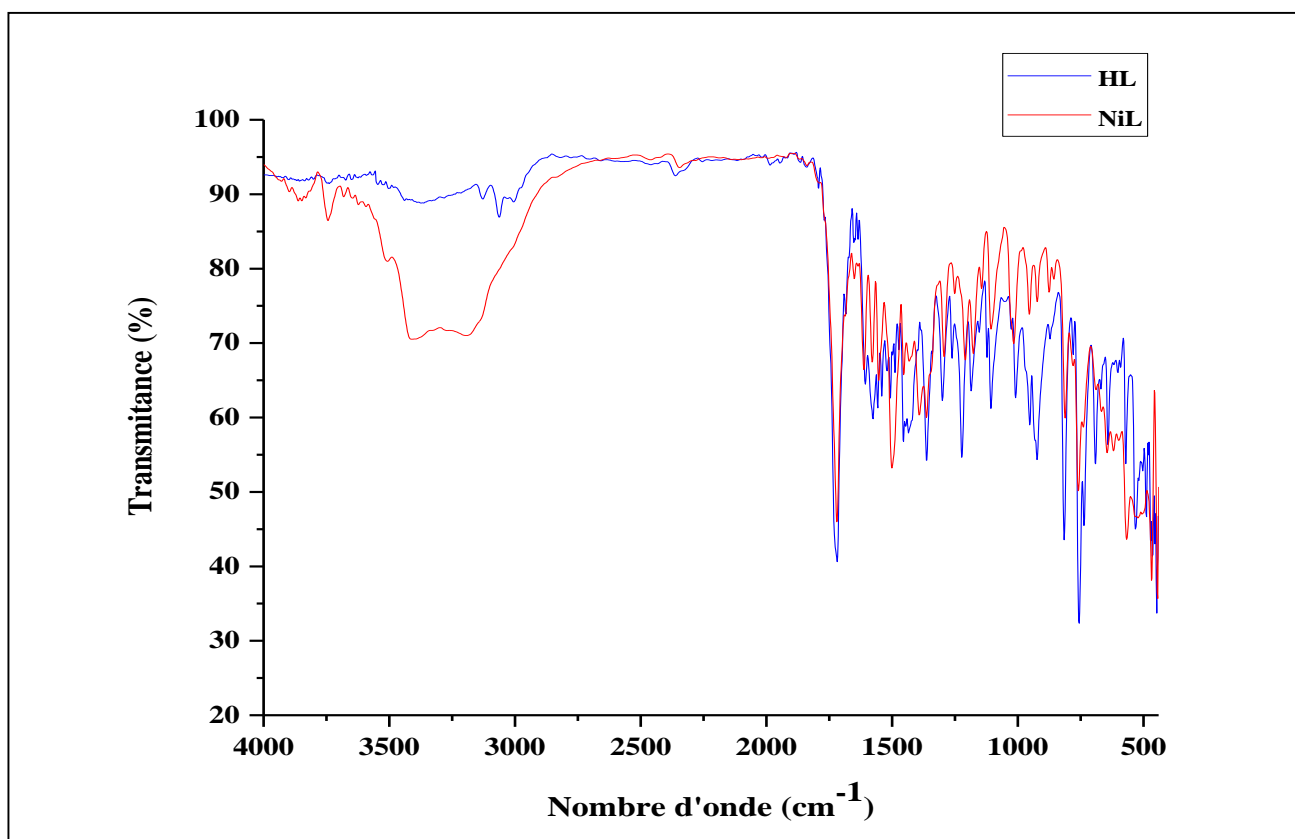
Tous les complexes présentent de larges bandes dans la région 3450-3300 cm^{-1} attribuées à la vibration $\bar{\nu}(\text{NH}_3)$ et de H_2O de coordination. La coordination de NH_3 aux ions métalliques est confirmé par l'apparition d'autres nouvelles bandes entre 1220-1245 cm^{-1} et 830-843 cm^{-1} sur les spectres des complexes attribuée à $\delta(\text{N-H})$ et $\rho(\text{N-H})$ respectivement [71].

La coordination du ligand aux métaux a fait apparaître de nouvelles bandes M-O et M-N de faible intensité entre 468-616 cm^{-1} [72].

Les autres bandes correspondantes au ligand HL sont restées dans la région que celle de leurs complexes correspondants.

Tableau III.2 : Principales bandes IR du ligand et de ses complexes (en cm^{-1}).

	HL	NiL	ZnL	MnL	CoL
$\bar{\nu}$ (O-H) _{H₂O}	---	3418	3334	3440	3445
$\bar{\nu}$ (N-H) _{NH₃}	---	3275	3291	3329	3319
$\bar{\nu}$ (O-H) _{énol}	3364	---	---	---	---
$\bar{\nu}$ (C=O) pyrone	1717	1719	1718	1719	1717
$\bar{\nu}$ (C=O) acétoacétyl	1606	1612	1612	1613	1612
$\bar{\nu}$ (C=C)	1576	1291	1290	1291	1289
$\bar{\nu}$ (C-O-C)	1106	1108	1115	1117	1115
$\bar{\nu}$ (C-OH) _{énol}	1300	1578	1579	1577	1576
δ (N-H)	---	1207	1210	1216	1204
ρ (N-H) / (H ₂ O)	---	856	854	852	857
$\bar{\nu}$ (M-O)	---	566	596	616	597
$\bar{\nu}$ (M-N)	---	468	545	497	544



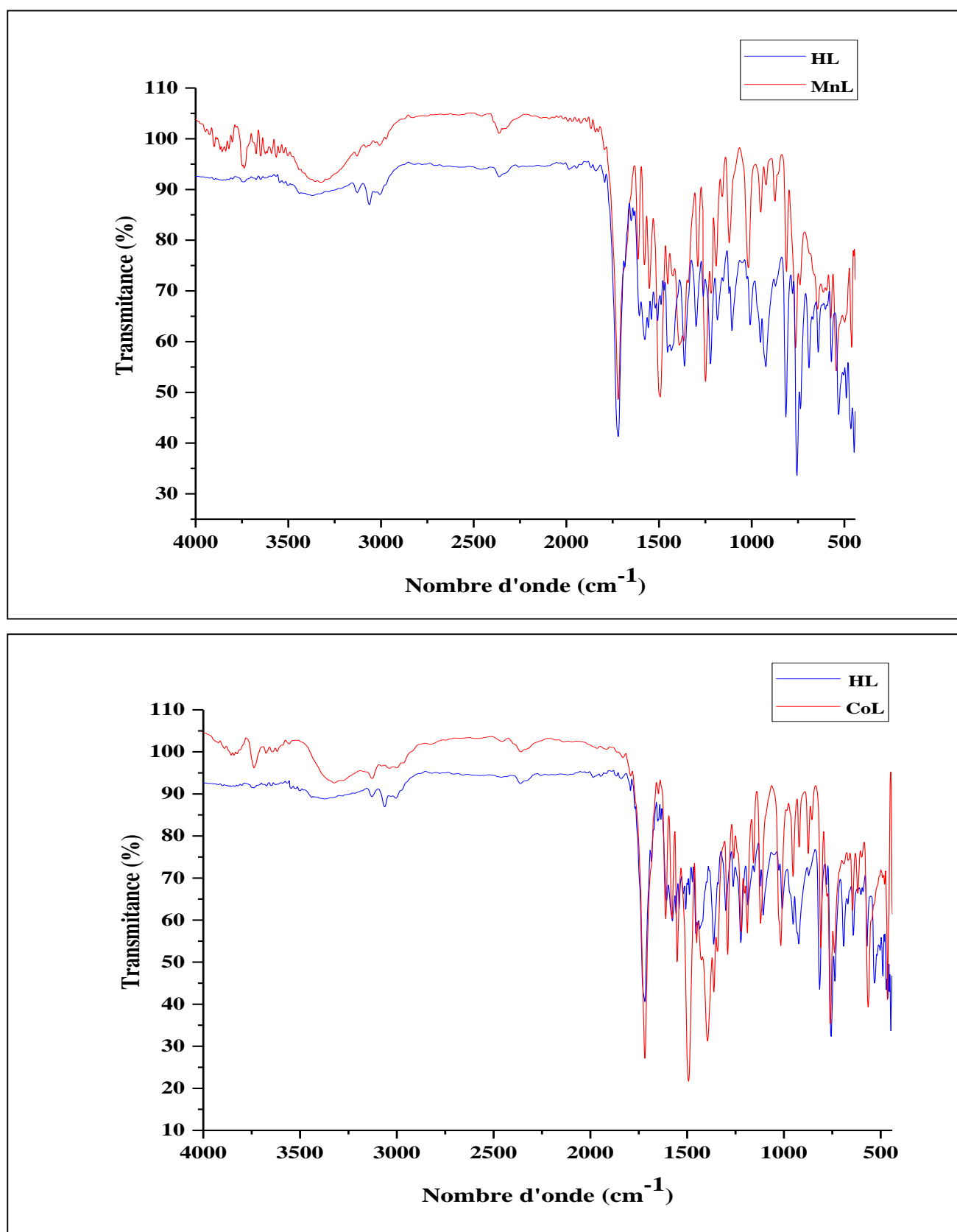


Figure III.1 : Spectres IR des complexes ce la 3-acétoacétylcoumarine.

❖ Spectrophotométrie UV-Visible

L'étude par spectrophotométrie UV-visible des complexes nous renseigne sur la géométrie autour de l'ion central et d'avoir des informations sur la nature des liaisons M-L.

Les spectres d'absorption électronique (Fig. III.2) du ligand HL et de ses complexes de Ni(II), Zn(II), Mn(II) et Co(II) dans le DMSO ont été enregistrés à température du laboratoire, à des concentrations de l'ordre de $5 \cdot 10^{-4} \text{M}$ (domaine du visible) et 10^{-4}M (domaine ultra-violet). Le tableau III.3 énumère les valeurs des longueurs d'ondes d'absorption, les coefficients d'extinction molaire, ainsi que les transitions électroniques pour toutes les bandes d'absorption clairement identifiables.

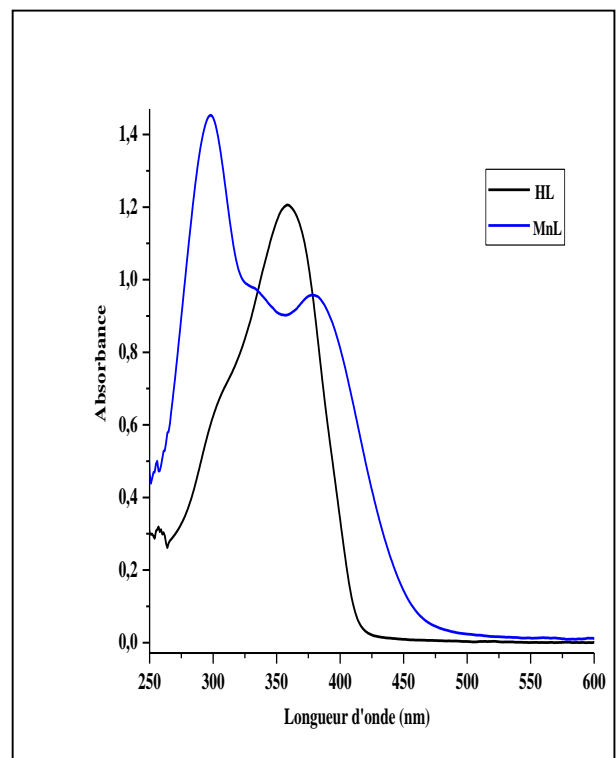
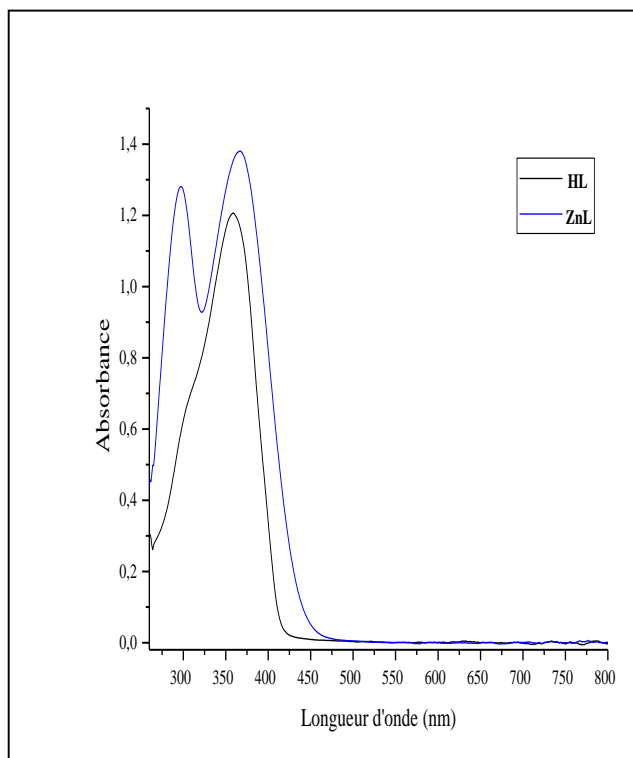
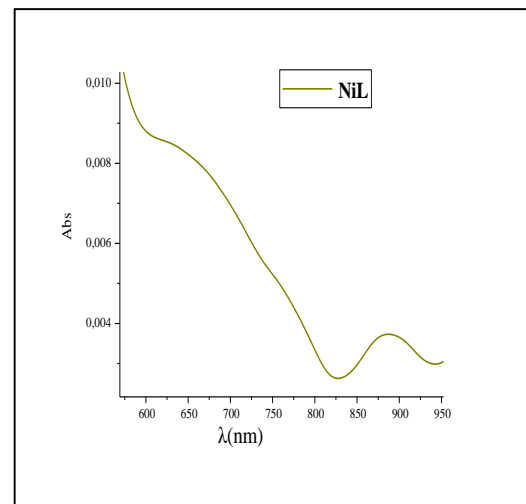
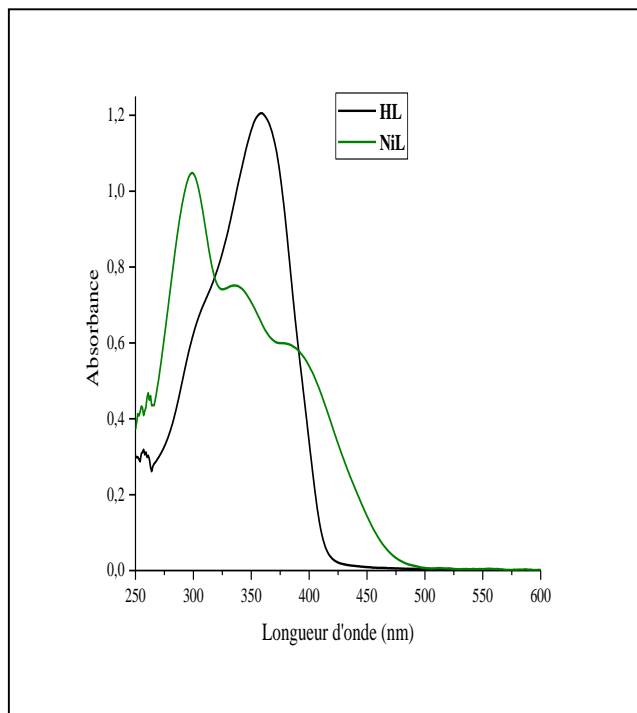
Le spectre UV-visible du ligand présente deux bandes d'absorption. La première bande est sous forme d'un épaulement située à 32573 cm^{-1} (307 nm) attribuée à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ du groupement énol, et la deuxième bande intense à 27855 cm^{-1} (359 nm) attribuée à la transition $n \rightarrow \pi^*$ du groupe C=O [73]. Ces bandes sont observées sur tous les spectres des complexes avec un déplacement vers les faibles longueurs d'onde, ceci indique la présence du ligand autour du métal central.

Le spectre du complexe de nickel montre trois bandes d'absorption en plus de celles du ligand, située à 25445 cm^{-1} (393 nm), 15773 cm^{-1} (634 nm) et 11287 cm^{-1} (886 nm) qui sont attribuées respectivement aux transitions ${}^3\text{A}_{2g}(\text{F}) \rightarrow {}^3\text{T}_{1g}(\text{P})$ (ν_3), ${}^3\text{A}_{2g}(\text{F}) \rightarrow {}^3\text{T}_{1g}(\text{F})$ (ν_2) et ${}^3\text{A}_{2g}(\text{F}) \rightarrow {}^3\text{T}_{2g}(\text{F})$ (ν_1), ces observations favorisent la géométrie octaédrique du complexe Ni (II) [74, 75].

Le spectre électronique du complexe du zinc (II) affiche des absorptions maximales similaires à celles du ligand libre, à l'exception d'un petit décalage des maxima en raison de leur coordination à l'ion métallique Zn^{2+} . Les complexes ne présentent aucune absorption appréciable dans la région du visible, ceci est en accord avec la configuration électronique d^{10} de l'ion Zn (II), une géométrie octaédrique a été proposée pour ce complexes [76].

Le spectre électronique du complexe de Mn (II) a montré une transition de transfert de charge métal - ligand à λ_{max} égale à 26247 cm^{-1} (381 nm). Le spectre ne présente aucune bande dans le visible dues aux transitions d-d du métal en raison de sa configuration d^5 (sous couche d à moitié remplié) qui est stable et les transitions d-d ne sont pas permises [77].

Quant au spectre électronique du complexe de cobalt (II), montre trois bandes d'absorption de faible intensité dans le visible à 19157 cm^{-1} (522 nm), 15873 cm^{-1} (630 nm) et 13572 cm^{-1} (739 nm) sont affectées aux excitations ${}^4\text{T}_{1g}(\text{F}) \rightarrow {}^4\text{T}_{2g}(\text{P})$, ${}^4\text{T}_{1g}(\text{F}) \rightarrow {}^4\text{A}_{2g}(\text{F})$ et ${}^4\text{T}_{1g}(\text{F}) \rightarrow {}^4\text{T}_{2g}(\text{F})$, tous les trois résultant des transitions d-d caractéristiques des complexes du cobalt (II) dans une géométrie octaédrique [78].



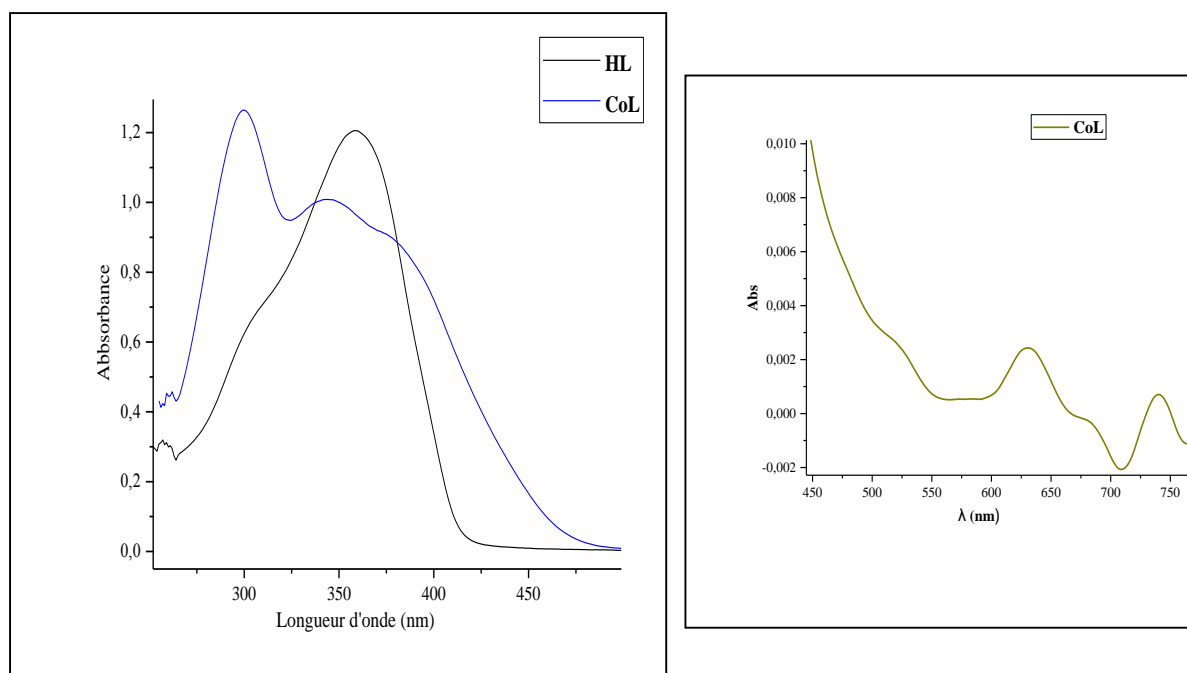


Figure III.2 : Spectres d'absorption électronique des complexes ML dans le DMSO :
 a : $C = 10^{-4} M$ et b : $C = 5.10^{-4} M$

Tableau III.3 : Spectroscopie électronique des complexes ML

Complexes	Longueur d'onde λ (nm)	Nombre d'ondes $\bar{\nu}$ (cm^{-1})	Coefficient d'absorption molaire ($\epsilon : L. mole^{-1}.cm^{-1}$)	Transitions électroniques
HL	307	32573	6860	$\pi \rightarrow \pi^*$
	359	27855	12075	$n \rightarrow \pi^*$
NiL	298	33557	10516	$\pi \rightarrow \pi^*$
	337	29673	7534	$n \rightarrow \pi^*$
	393	25445	5779	${}^3A_{2g}(F) \rightarrow {}^3T_{1g}(P) (v_3)$
	634	15773	420	${}^3A_{2g}(F) \rightarrow {}^3T_{1g}(F) (v_2)$
	886	11286	185	${}^3A_{2g}(F) \rightarrow {}^3T_{2g}(F) (v_1)$
ZnL	297	33670	12804	$\pi \rightarrow \pi^*$
	366	27322	13811	$n \rightarrow \pi^*$
MnL	297	33670	14505	$\pi \rightarrow \pi^*$
	336	29762	9703	$n \rightarrow \pi^*$
	381	26247	9623	TC
CoL	299	33445	12632	$\pi \rightarrow \pi^*$
	343	29154	10138	$n \rightarrow \pi^*$
	383	26109	8676	TC
	520	19231	133	${}^4T_{1g}(F) \rightarrow {}^4T_{2g}(P) (v_3)$
	630	15873	122	${}^4T_{1g}(F) \rightarrow {}^4A_{2g}(F) (v_2)$
	740	13513	36	${}^4T_{1g}(F) \rightarrow {}^4T_{2g}(F) (v_1)$

La géométrie proposée des complexes de nickel et cobalt a été confirmée par les valeurs calculées des paramètres de champ de ligand tels que le paramètre néphélauxétique (β), le paramètre de répulsion inter-électronique de Racah (B'), le paramètre du champ cristallin ($10 Dq$) et l'énergie de stabilisation du champ de ligand (LFSE) [79].

Tableau III. 4: Paramètres de champ de ligand pour les complexes de NiL et CoL.

Paramètres	NiL	CoL
10Dq	$10 Dq = v_1$ 10 Dq = 11286	$Dq = [(85 v_3^2 - 4(v_3 - 2 v_2)^2)^{1/2} - 9(v_3 - 2 v_2)]/340$ 10 Dq = 8470
B_{complexe}	$(2v_1^2 + v_2^2 - 3 v_1 v_2) / (15 v_2 - 27 v_1)$ $B_{\text{complexe}} = 448$	$(v_3 - 2 v_2 + 30Dq) / 15$ $B_{\text{complexe}} = 860$
β	$B_{\text{complexe}} / B_{Ni^{2+}}$ $\beta = 0.41$	$B_{\text{complexe}} / B_{Co^{2+}}$ $\beta = 0.88$
β°	$(1 - \beta) * 100$ $\beta^\circ = 59\%$	$(1 - \beta) * 100$ $\beta^\circ = 12\%$
LFSE (kcal.mol ⁻¹)	$12 Dq / 350$ LFSE = 38,69	$6Dq / 350$ LFSE = 14.52

$$B (Ni^{2+}) = 1080 \text{ cm}^{-1} \text{ et } B (Co^{2+}) = 971 \text{ cm}^{-1}$$

Les valeurs calculées du paramètre B des complexes sont inférieures aux valeurs des ions libres, ce qui est dû au chevauchement orbital et à la délocalisation des orbitales d. La faible valeur du B du complexe de NiL (448 cm⁻¹) est due à la forte interaction entre le ligand et l'ion central Ni²⁺.

Les valeurs de β sont importantes pour déterminer la covalence de la liaison métal-ligand et elles se sont avérées être inférieures à l'unité, suggérant que la liaison entre le métal et le ligand était partiellement covalente dans les complexes. La valeur β du complexe de nickel était inférieure à celle du complexe de cobalt, indiquant la plus grande covalence de la liaison métal-ligand.

La géométrie octaédrique des complexes Ni (II) est en outre soutenue par la valeur du rapport v_2/v_1 égale à 1,40 [80].

Les valeurs calculées de l'énergie de stabilisation du champ de ligand (LFSE) indiquent que le complexe est plus stable par rapport au complexe de cobalt.

III-2- Schémas structuraux proposés

L'ensemble des données analytiques et les résultats spectrométriques révèlent que tous les complexes synthétisés ont une géométrie octaédrique dont le rapport métal/ligand égal à 1/2. Les ligands se sont liés de manière bidentée à travers les atomes d'oxygènes du groupement acétoacétyle, la sphère de coordination est complétée par une molécule d'eau d'hydratation et une molécule de NH_3 .

La figure III.3 illustre les structures proposées des quatre complexes synthétisés.

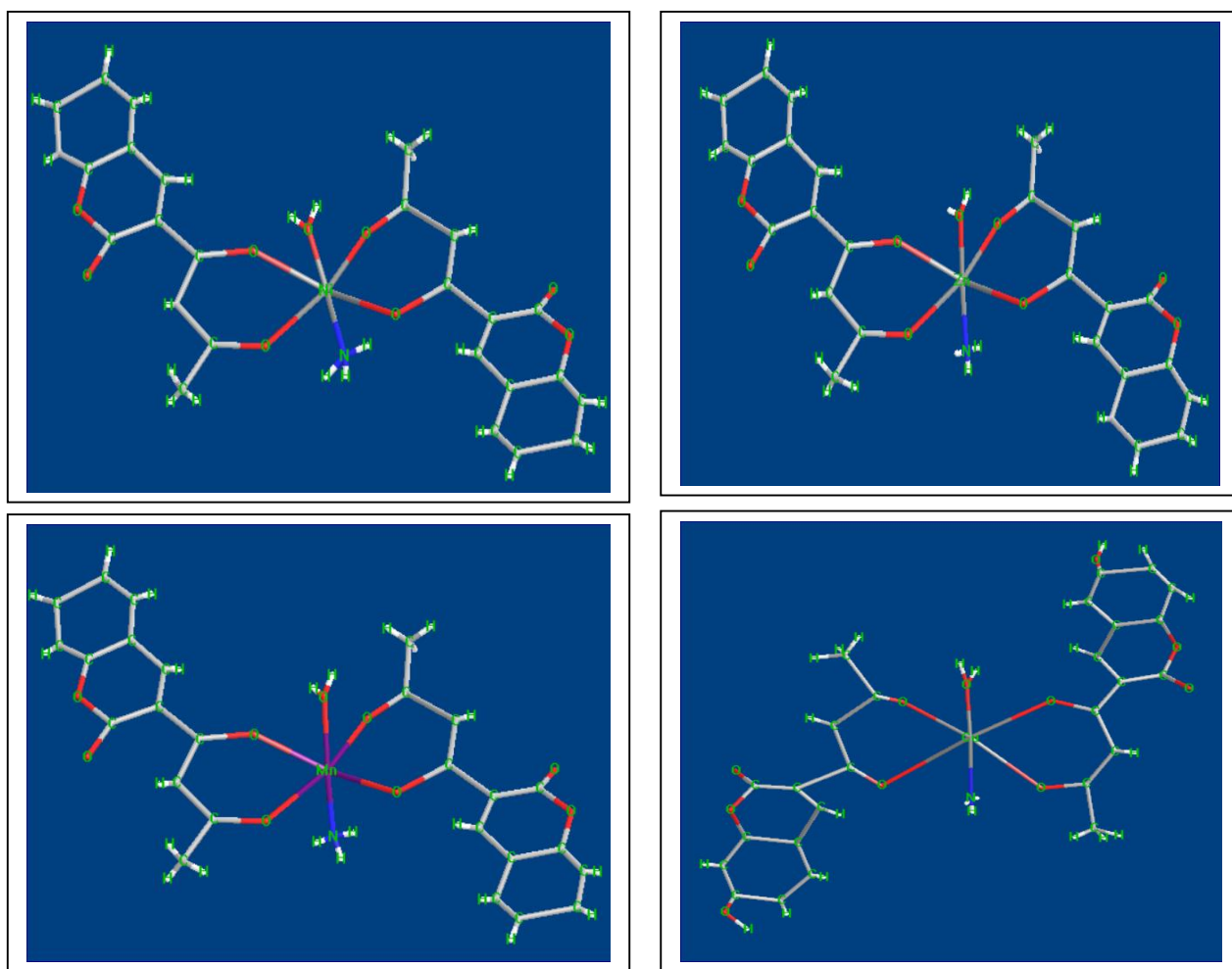


Figure III.3 : Structures proposées des complexes isolés à l'état solide.

III-3- Activité antibactérienne

L'activité biologique se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour du disque (de diamètre 6 mm) contenant le produit. La lecture s'effectue par la mesure du diamètre d'inhibition observé à l'aide d'une règle en mm.

Le pouvoir antibactérien du ligand et de ses complexes métalliques, ainsi que celle du solvant DMSO seul, a été évaluée contre une bactérie à Gram-positive et deux bactéries à Gram-négatives selon la méthode de diffusion des disques. La sensibilité aux différents produits est classée comme suit :

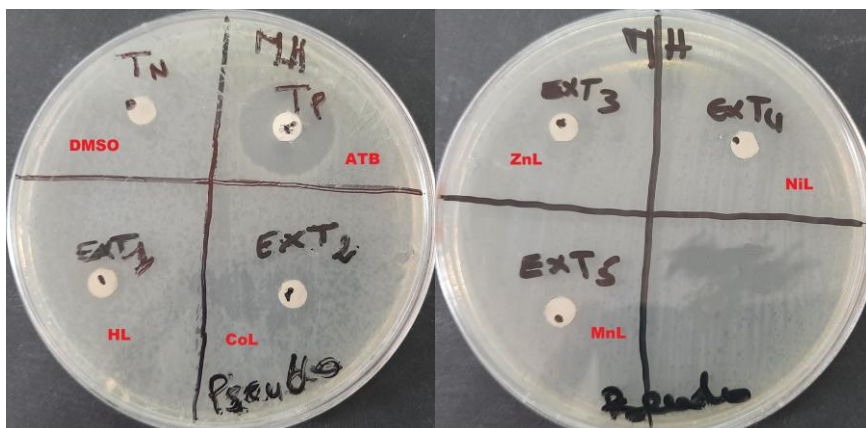
- ✓ Non sensible (-) pour le diamètre moins de 8 mm.
- ✓ Sensible (+) pour un diamètre entre 9 à 14 mm.
- ✓ Très sensible (+ +) pour un diamètre entre 15 à 19 mm.
- ✓ Extrêmement sensible (+++) pour le diamètre supérieur à 20 mm.

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau III.5, la figure III.4 ainsi que la figure III. 5

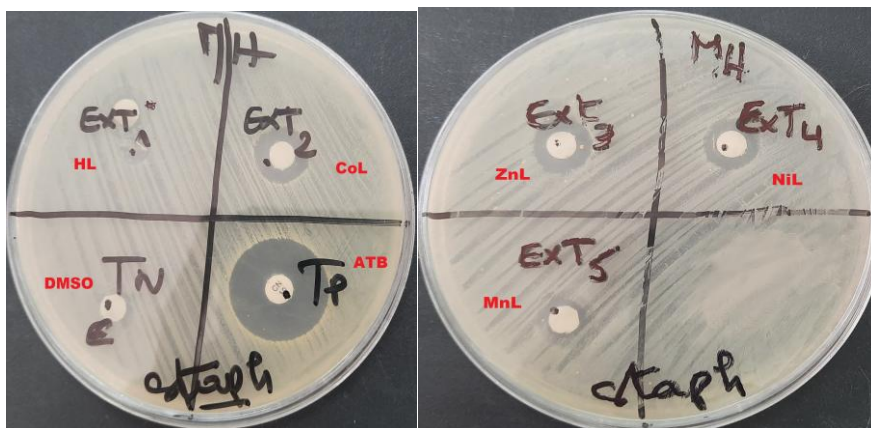
Tableau III.5. Diamètre de zone d'inhibition en mm du ligand HL et de ses complexes ainsi que l'antibiotique de référence.

Souche bacterinne	Diamètre de zone d'inhibition (mm)					
	HL	MnL	CoL	NiL	ZnL	ATB
<i>S. Aureus</i>	-	9	18	11	12	23
<i>E. Coli</i>	-	9	9	-	11	26
<i>P. Aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	21

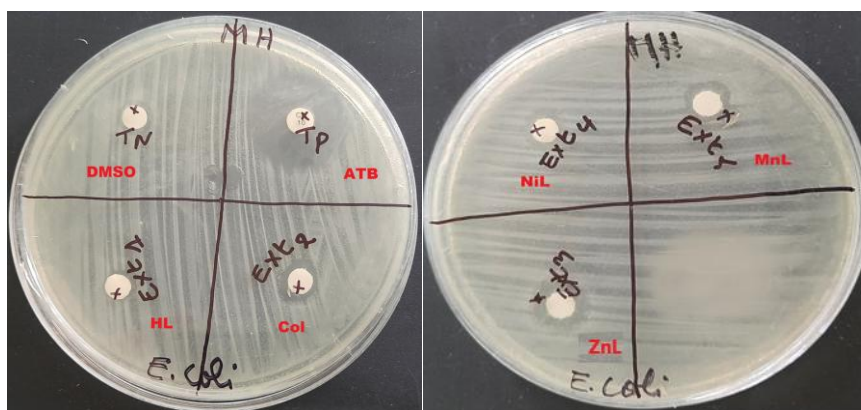
(-) pas d'inhibition



Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853



Staphylococcus aureus ATCC 25923



Escherichia coli ATCC 25922

Figure III.4 : Effet du ligand HL et de ses complexes sur les souches testées.

Il est à noter qu'aucune zone d'inhibition n'a été observée pour le solvant DMSO seul. Ce qui laisse considérer qu'il n'est pas impliqué dans l'activité antibactérienne des ligands, ni celle des complexes. En effet, le DMSO est considéré comme étant un solvant stérile, ne favorisant pas la prolifération bactérienne.

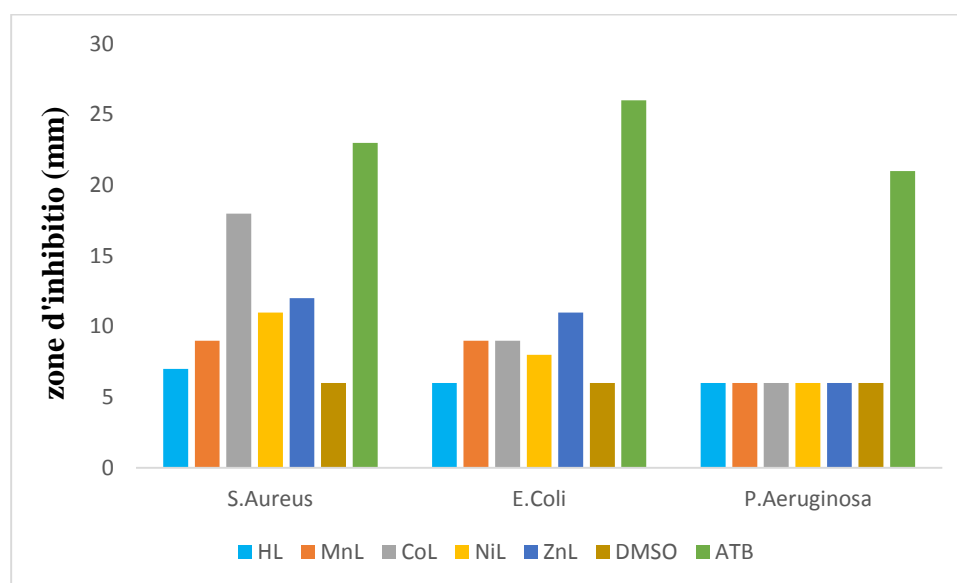


Figure III.5 : Diamètres des zones d'inhibition du ligand et de ses complexes.

D'après les résultats de l'étude (in-vitro) obtenus, les souches bactériennes se comportent différemment vis-à-vis des produits testés :


- La bactérie à gram négatif *P. Aeruginosa* se révèle résistante et ne présente aucune sensibilité aux produits testés. Cela est peut-être due au fait qu'elle est enfermée dans une capsule protectrice imperméable. En effet, il a été démontré que les bacilles à Gram négatif sont naturellement résistants aux antibiotiques hydrophobes car ces molécules ont des difficultés à passer la membrane externe de leur paroi.
- ✓ La souche *E. coli* qui est également à gram négatif présente une sensibilité uniquement envers les complexes ZnL, CoL, et MnL contrairement à la souche *P. Aeruginosa*. Cela peut être attribué à sa paroi cellulaire qui est moins complexe, ou aux propriétés physico-chimiques des complexes utilisés vis-à-vis de cette paroi. Notons que pour cette souche sa sensibilité envers le complexe ZnL est plus importante avec un diamètre d'inhibitions de 11 mm par rapport aux autres complexes.

- ✓ la bactérie à Gram positif *Staphylococcus aureus* présente une sensibilité envers les complexes utilisés. Cela est peut-être due au fait qu'elle ne possède pas une couche externe protectrice, ce qui permet aux molécules étrangères de pénétrer dans la cellule sans difficulté. Il a été observé que cette souche est très sensible vis-à-vis de CoL qui inhibent de façon considérable la croissance de la bactérie avec des diamètres d'inhibition de 18 mm, mais nous avons constaté que l'activité antibactérienne a diminué pour les complexes de ZnL, NiL et MnL avec des diamètres d'inhibition de 12 mm, 11mm et 9 mm respectivement.

Le ligand HL n'a montré aucune activité antibactérienne, il est considéré comme étant non sensible vis-à-vis des trois souches testées. Cela peut s'expliquer par le fait qu'il se présente sous forme d'un équilibre céto énolique, à ça faible concentration en solution, ou à cause de ça lente diffusion dans la gélose.

De plus, l'activité antibactérienne des complexes utilisés est plus élevée que celle du ligand libre, ce qui indique que la coordination du ligand HL au métal augmente son activité. Il a été suggéré que la complexation réduit la polarité de l'ion métallique principalement en raison du partage partiel de sa charge positive avec des groupements donneurs dans le système de cycle de chélate entier. Ainsi, le processus de chélation augmente la nature lipophile de l'atome central qui, à son tour, favorise sa pénétration à travers la couche lipidique de la membrane bactérienne, permettant ainsi au complexe métallique de traverser la membrane plus facilement [81,82].

D'autres facteurs, peuvent avoir une influence sur l'activité antimicrobienne, tels que, la solubilité et la conductivité [83].



CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Au cours de cette étude nous avons synthétisé la 3-acétoacétylcoumarine comme ligand, par la réaction de condensation direct de l'aldéhyde salicylique vis-à-vis de TAL dans le toluène en présence de la base triéthylamine.

La 3-acétoacétylcoumarine est une poudre orange cristallisée, sa pureté est confirmée par la CCM. Les résultats des analyses spectroscopique IR et Uv-Visible comparés à ceux trouvés dans la littérature confirme la structure attendue du ligand.

La réaction de coordination de la 3-acétoacétylcoumarine obtenue avec des sels métalliques appropriés Nickel(II), Zinc(II), Manganèse(II) et Cobalt (II), donne la naissance à de nouveaux complexes métalliques avec la formule générale $ML_2(NH_3)(H_2O)$.

Tous les complexes isolés à l'état solide sont des poudres très stables à l'air libre et à température ambiante, leurs points de fusion sont supérieurs à 185°C.

Les mesures de la conductivité molaire indiquent que ces complexes se comportent comme des non électrolytes.

L'étude par spectrométrie infrarouge, a révélé le mode de coordination du ligand. Cette étude s'est faite en comparant les spectres des complexes à celui du ligand. Pour tous les complexes, le ligand est lié sous forme déprotonée au métal central par les atomes d'oxygènes du groupement acétoacétyle. L'étude a montré aussi l'existence des molécules d'eau de coordination et de NH_3 liés aux ions métalliques.

L'interprétation des bandes d'absorption Uv-Visible attribuées aux différentes transitions électroniques affichée sur les spectres des complexes montre l'existence du ligand autour du métal central. Cette analyse nous a permis de conclure que dans tous les complexes l'ion central adopte une géométrie octaédrique dont le ligand s'est lié aux ions métalliques de manière bidentate, les molécules H_2O et NH_3 complètent la sphère de coordination. Les valeurs des paramètres de champ cristallin ($10 \Delta q, B$ et β) calculés pour les complexes de cobalt et de nickel indiquent un caractère covalent pour les liaisons métal-ligand .

L'activité antibactérienne du ligand et de ses complexes a été évaluée contre une bactérie à Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) et deux bactéries à Gram-négatives (*Pseudomonas Aeruginosase* et *Escherichia coli*), par la méthodes de diffusion sur disque. Les résultats de cette étude montrent que le ligand HL ne montre aucune activité antibactérienne contrairement aux complexes qui inhibent les bactéries *S.aureus* et *E.coli* . Cette augmentation de l'activité lors de la complexation est

Conclusion générale

due à la charge du métal qui est partagée avec les atomes donneurs présents sur le ligand. Ceci, à son tour, augmente les couches lipidiques des membranes bactériennes. Tous les complexes métalliques ont inhibé la bactérie à Gram-positif testées à des vitesses différents et l'activité a été déterminée dans l'ordre suivant : $\text{Co} > \text{Zn} > \text{Ni} > \text{Mn}$. Chez les bactéries à Gram-négatives, *P. Aeruginosa* se révèle résistante et ne présente aucune sensibilité aux produits testés. Cela est dû à la nature de ses parois cellulaires.

Les composés de synthèse ouvrent la voie à un important domaine de recherche que nous espérons pouvoir développer dans l'avenir :

➤ Il serait intéressant de mener une étude plus approfondie avec d'autres techniques d'analyse physicochimique afin de confirmer les structures proposées notamment les mesures magnétiques, la Résonance paramagnétique électronique (RPE), la Résonance paramagnétique nucléaire (RMN), de ^1H et ^{13}C , l'analyse élémentaire et l'analyse gravimétrique.

➤ Synthétiser de nouveaux complexes avec d'autres éléments métalliques comme le palladium, le platine pour tester leurs effets biologiques. Afin d'élargir le domaine d'application, il serait aussi intéressant d'évaluer *in vitro* et *in vivo* l'activité de nos complexes sur d'autres bactéries, des champignons et d'étudier leurs pouvoirs anticancéreux.

Références

- [1] P. Chellan and P.J. Sadler, *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, (2015), 373, 20140182.
- [2] J. Spencer and B. Walden, *Future Medicinal Chemistry*, (2018), 10(6), 607-609.
- [3] S. Parma, S Chandra., & Y. Kumar, *Russian Journal of Coordination Chemistry*, (2009), 35, 330.
- [4] F. Kratz; M. T. SCHÜTTE; *The Cancer journal*, (1998), 11(4), 176-182.
- [5] M. Navarro, W. Castro, M. Madamet, R. Amalvict, N. Benoit and B. Pradines, *Malaria Journal*, (2014), 13, 471.
- [6] A. Éva Enyedy, L. Horváth, A. Hetényi, T. Tuccinardi, C. G. Hartinger, B. K. Keppler, T. Kiss, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, (2011), 19, 14, 4202–4210.
- [7] M. Bayrakci et al., *Acta Chim. Slov.*, (2008), 55, 120-124.
- [8] V.K. Revankar et al., *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2008), 43, 2338-2346.
- [9] A. Emandi et al., *Analele Universităţii din Bucureşti – Chimie*, Anul XIII (serie nouă), Vol. I-II, 161-166.
- [10] D. Srikrishna, C. Godugu and P.K. Dubey, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, (2018), 18(2), 113-141.
- [11] M. Tasior, D. Kim, S. Singha, M. Krzeszewski, K.H. Ahn and D.T. Gryko, *Royal Society of Chemistry*, (2014), 3, 1421-1446.
- [12] B.L. Vallee and D.S. Auld, *Biochemistry*, (1993), 32(26), 6493-6500.
- [13] A.A. Holder, *Annual Reports on the Progress of Chemistry, Section A : Inorganic Chemistry*, (2012), 108, 350-368.
- [14] M. Selvaganapathy and N. Raman, *Journal of Chemical Biology and Therapeutics*, (2016), 1, 108.
- [15] A. J. John, M. Keith, *Chimie hétérocyclique: 2e édition*, (2013).
- [16] P. ARNAUD, B. JAMART, J. BODIGUEL, N. BROSSE, *Chim. Org, Cours. 17^{ème} ed*, (2004).
- [17] S. Shweta , S. Kuldeep, V. Akash, M. H. Syed, M. Samar ,« Therapeutic Journey and Recent Advances in the Synthesis of Coumarin Derivatives », *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, (2021) , vol 22.
- [18] V. Bayer, R. Pastor, et A. Cambon, « Synthèse et étude spectrale de F-alkyl-4 coumarines », *Journal of Fluorine Chemistry*, (1982), 20 (2) , 187–202.
- [19] L. Balewski, S. Szulta, A. Jalińska, A. Anita, « A Mini-Review: Recent Advances in Coumarin-Metal Complexes With Biological Properties », *Frontiers in Chemistry*, (2021), vol 9.

- [20] L. Wu, X. Wang, W. Xu, F. Farzaneh and R. Xu, *Current Medicinal Chemistry*, (2009), 16, 4236-4260.
- [21] R.D. Murray, The naturally occurring coumarins. *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe/Progress in the Chemistry of Organic Natural Products: Springer*; (2002), 1-619.
- [22] F. Bourgaud, A. Hehn, R. Larbat, S. Doerper, E. Gontier, S. Kellner, et al. Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochemistry Reviews*. (2006), 5(2-3), 293-308.
- [23] KHELIL Amira. Synthèse par réaction de Biginelli d'hybrides de coumarines et du Donepezil potentiellement actifs contre la maladie. Mémoire de Master: Chimie pharmaceutique: Université Mouloud Mammeri (Tizi-ouzou), (2017).
- [24] J. Bruneton, Lavoisier, Paris, 4ème Edition. (2009), p. 307-324.
- [25] K. Fylaktakidou, D. J. CHadjipavlou-Litina, K. E. Litinas, and D.N. Nicolaide. Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/antioxidant activities. *PubMed*, (2004), 10(30), 3813-33.
- [26] P.C. Min Mao, J. F. Mouscadet, H. Leh, C. Auclair, L. Yih Hsui. Chemical Modification of Coumarin Dimer and HIV-1 Integrase Inhibitory Activity, *Chemical and pharmaceutical*. (2004), 50, 1634-1637
- [27] H. BENAZZOUZ, A. KHEBIZA. Relation structure activité : Étude qualitative et quantitative et développement de recherche sur les coumarines. Thèse de doctorat: Université Abou Bekr Belkaïd (Tlemcen), (2018).
- [28] H. J. Bohm, G. Klebe, H. Kubinyi, *Wirkstoffdesign. Spektrum-Akademischer Vlg* ed, (1996).
- [29] J. Bruneton, *Pharmacognosie, Phytochimie et Plantes médicinales*, 3ème Edition, Tec et Doc, Paris (1999).
- [30] L. Wu, X. Wang, W. Xu, F. Farzaneh, R. Xu, The structure and pharmacological functions of coumarins and their derivatives *Curr. Med. Chem.*, (2009), 16, 4236–4260.
- [31] W. Urbaniak, K. Jurek, K. Witt, A. Goraczko, B. Staniszewski and A. Mickiewicz, *Chemik*, (2011), 65, 273 .
- [32] D. Bonne, Y. Coquerel, T. Constantieux and J. Rodriguez, *Tetrahedron Asymm*, (2010), 21, 1085.
- [33] W. Urbaniak, K. Jurek, K. Witt, A. Goraczko, B. Staniszewski, A. Mickiewicz, *Chemik* , (2011), 65, 273.
- [34] A. R. Siedle, in *Comprehensive Coordination Chemistry*, ed. G. Wilkinson, Pergamon Press, Oxford, (1987), vol. 2, ch. 15.4, pp.365-412.

- [35] (a) T. J. Wenzel, T. C. Bettles, J. E. Sadlowski and R. E. Sievers, *J. Am. Chem. Soc.*, (1980), 102, 5903; (b) T. J. Wenzel and J. Zaia, *J. Org. Chem.*, (1985), 50, 1322.
- [36] C. Brecher, A. Lempicki and H. Samelson, *J. Chem. Phys.*, (1965), 42, 1081.
- [37] A. Ikehata and T. Shimizu, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, (1965), 38, 1385.
- [38] B. K. Keppler, C. Friesen, H. G. Moritz, H. Vongerichten and E. Vogel, *Struct. Bonding* (Berlin), (1991), 78, 97.
- [39] B. Marciniak and G. E. Buono-Core, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, (1990), 52, 1.
- [40] R. E. Sievers, S. B. Turnipseed, L. Huang and A. F. Lagalante, *Coord. Chem. Rev.*, (1993), 128, 285.
- [41] K. Robards, E. Patsalides and S. Dilli, *J. Chromatogr.*, (1987), 411, 1.
- [42] C. A. Blanco and M. J. Hynes, *Can. J. Chem.*, (1992), 70, 2285.
- [43] J. do Couto Almeida, D. A. Paixão, I. M. Marzano, J. Ellena, M. Pivatto, N. P. Lopes, A. M. D. C. Ferreira, E. C. Pereira-Maia, S. Guilardi, W. Guerra, *Polyhedron*, (2015), 89, 1-8.
- [44] G. Wulfsberg, « Inorganic Chemistry », university science books pub, 1st Edition, (2000).
- [45] L. ABANE. Synthèse et caractérisation de complexes de Fer(III) avec la diméthylglyoxime, des acides aminés et des bases puriques. Thèse de doctorat es-science : Chimie appliquée: Université Mouloud Mammeri (Tizi-ouzou), (2019).
- [46] F. Fares. Synthèse et caractérisation de nouvelles molécules à effet thérapeutique contenant des ligands (base de schiff). Mémoire de Magister: génie pharmaceutique : Université Ferhat Abbas (Sétif), (2009).
- [47] H. BOUKERMA. Synthèse et caractérisation structurale de phosphates métalliques à charpente organique. Mémoire de Magister: Cristalochimie : Université Mentouri (Constantine), (2011).
- [48] A. J. Alabdali, F. M. Ibrahim, Synthesis and Thermal Study of Co(II), Ni(II), Cu (II) Mixed Ligand Complexes Using Histidine As Tridentate Ligand. *IOSR Journal of Applied Chemistry*. (2014). 6, 6, 60-63.
- [49] Lewis F.A., the Palladium-Hydrogen System Academic Press, London, (1967).
- [50] <https://www.universalis.fr/encyclopedie/cobalt/>
- [51] F. DAR KEBIRA. Synthèses, caractérisations et étude structurale des complexes de nickel et de cuivre. Mémoire de Magister: Chimie inorganique et environnement : Université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen), (2013).
- [52] <https://www.futura-sciences.com/sciences/definitions/chimie-zinc-14800/>.
- [53] <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-nutrition/2615495-zinc-role-bienfaits-dosage-aliments/#zinc-definition> .
- [54] <https://www.lenntech.fr/periodique/elements/mn.htm>.

- [55] KM Erikson, M. Aschner, *Neurochem. Int.* (2003)., 43, 475-480.
- [56] Pennington JA, Schoen SA, *Int. J. Vitam. Nutr. Rés.* (1996), 66, 350-362.
- [57] A. Benazzouz -Touami. Synthèse de nouvelles séries hétérocycliques d'intérêts thérapeutiques, valorisation en UV-visible et fluorescence. Thèse de doctorat : Chimie des matériaux et de l'environnement : Université Mouloud Mammeri (Tizi-ouzou), (2016).
- [58] S.L. Percival., *Microbiology of waterborne diseases*. Ed., *Elsevier Academic Press*, Amsterdam; Boston, (2004), page 480.
- [59] M. BOUDJOUREF. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire de Magister: Biochimie appliquée: Université Ferhat Abbas (Sétif) , (2011).
- [60] C. Van Delden and B. H. Iglewski, *Cell-to-cell signaling and Pseudomonas aeruginosa infections*. *Emerg. Infect. Dis.*, (1998), 4, 551.
- [61] A. Carneiro, M.J. Matos, E. Uriarte, L. Santana, « Trending Topics on Coumarin and Its Derivatives in 2020 », *Molecules*, (2021), 26(2), 501.
- [62] F. Ioannis, H-L. Dimitra, « Hybrids of Coumarin Derivatives as Potent and Multifunctional Bioactive Agents : A Review », *Med. Chem.*, (2020), 16, 272-306.
- [63] P.O. Patil, S.B. Bari, S.D. Firke, P.K. Deshmukh, S.T. Donda, D.A. Patil, « A comprehensive review on synthesis and designing aspects of coumarin derivatives as monoamine oxidase inhibitors for depression and Alzheimer's disease », *Bioorg. Med. Chem.* (2013), 21, 2434-2450.
- [64] S.K. Yusufzai, M.S. Khan, O. Sulaiman, H. Osman, D.N. Lamjin, « Molecular docking studies of coumarin hybrids as potential acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, monoamine oxidase A/B and β -amyloid inhibitors for Alzheimer's disease », *Chem. Cent. J.* (2018), 12, 1-57.
- [65] A. H. H. Fadia, M. Jomaa, *Studying of Pechmann Condensation Products of Ethyl Acetoacetate with 2,7-Dihydroxynaphthalene*. *Chemistry and Materials Research*, (2016), 8, 86-92.
- [66] K. Siddappa and K. A. Ganure, « Synthesis, Characterization Biological Activities of Some Transition metal complexes with Coumarin Schiff base », *International Journal of Ethics in Engineering & Management Education*, (2014), 5(1), ISSN: 2348-4748.
- [67] R. A. Shiekh, I. Ab Rahman, M. A. Malik, S. M. Masudi, N. Luddin, « Synthesis, Spectral, Electrochemical and Biological Studies of Nitrogen Donor Macrocyclic Ligand and its Transition Metal Complexes », *Int. J. Electrochem. Sci.*, (2012), 7, 12829 – 12845.
- [68] S. Giri and A. K. Mishra, *J. Agric. Food Chem.*, (1984), 32(4), 759- 762.

- [69] M. Semaoui, M. Balahouane. Synthèse, caractérisation et activités biologiques de complexes ternaires de Cu(II) et de Pd(II) avec le métronidazole et un acide aminé. Mémoire de Master : chimie des médicaments : Université des Sciences et de la Technologie (Houari Boumediene), (2016).
- [70] J. Svetlik, N. Pronatova, and V. Hanus, « A novel and direct synthetic route to substituted 1,5-dihydro-4H-[1]benzopyrano[4,3-b]pyridine-4,5-diones », *J. Heterocyclic Chem.* (2000), 37, 395.
- [71] G. Alzuet, J. Casanova, J. A. Ramirez, J. Borrás, and O. Carugo, « Metal Complexes of the Carbonic Anhydrase Inhibitor Methazolamide (Hmacm). Crystal Structure of the $Zn(macm)_2(NH_3)_2$. Anticonvulsant Properties of the $Cu(macm)_2(NH_3)_3(H_2O)$ », *J. Inorg. Biochem.*, (1995), 57, 219-234.
- [72] T. Yu , G. Lu , L. Yan and R. Yang, « Synthesis, Characterization, and Fluorescence Studies of a Novel Schiff Base Ligand and Its Zn(II), Ni(II), Co(II), Cu(II) Complexes », *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, (2003), 33(9), 1623-1633.
- [73] I. Ketata, L. Mechi, T. Ben Ayed, M. Dusek, V. Petricek, R. Ben Hassen, « Synthesis, characterization, spectroscopic and crystallographic investigation of Cobalt(III) schiff base complex with two perpendicular diamine coumarin ligands », *Open Journal of Inorganic Chemistry*, (2012), 2, 33-39.
- [74] N.G. Yernale, M.B. Hire Mathada, «Preparation of octahedral Cu(II), Co(II), Ni(II) and Zn(II) complexes derived from 8-formyl-7-hydroxy-4-methylcoumarin: Synthesis, characterization and biological study », *Journal of Molecular Structure* (2020),
- [75] M. Sivasankaran Nair, D. Arish, J. Johnson, « Synthesis, characterization and biological studies on some metal complexes with Schiff base ligand containing pyrazolone moiety », *Journal of Saudi Chemical Society*, (2013).
- [76] M. Bouhdada , M. EL. Amane , H. EL. Hamdani, « Synthesis, characterization, antimicrobial activity, DFT and molecular docking studies of the N-salicylidene-glycinato and their metal mixed ligand complexes with caffeine », *Journal of Molecular Structure*, (2020),1-30.
- [77] C. H. Kane, D.Tinguiano, F.B. Tamboura, I. E. Thiam, A. H. Barry, M. Gaye and P Retailleau, « Synthesis and characterization of novel M(II) (M = Mn(II), Ni(II), Cu(II) or Zn(II)) complexes with tridentate N₂O- donor ligand (E)-2-amino-N'-[1-(pyridin-2-yl)ethylidene]benzohydrazide », *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* (2016), 30(1), 101-110.
- [78] D. Belkhir-Talbia, N . Ghemmit-Doulache, S. Terrachet-Bouazizb, M .Makhloufi Cheblia, A. Rabahi, L .Ismaili,A.M.S.Silva, « Transition-metal complexes of N, N'-di(4-bromophenyl) -

4-hydroxycoumarin-3-carboximidamide :synthesis ,characterization,biological activities,ADMET and drug-likenessanalysis»,*Inorganic Chemistry Communications*, (2022), 127, 108509.

[79] Mme BELKHIR - TALBI Drifa. Synthèse de complexes à ligands hétérocycliques. Activité biologique et étude électrochimique. Thèse de doctorat : Chimie Appliquée :Université M M'Hamed Bougara (Boumerdes), (2021).

[80] A.K. Sharma, and S. Chandra, *Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, (2011), 78(1), 337–342.

[81] Z.H.A. Wahab, M.M. Mashaly, A.A. Salman, B.A. El-Shetary, and A.A. Faheim, *Spectrochimica Acta Part A*, (2004), 60, 2861-2873.

[82] P. Singh, V. Grover, K. Kumar, and K. Jain, *Journal of the Serbian Chemical Society*, (2011), 76(3), 385-393.

Résumé

L'objectif de notre étude est la synthèse, la caractérisation de la 3-acétoacétylcoumarine en tant que ligand et ses complexes de métaux de transition.

L'ensemble des produits synthétisés ont été caractérisés par la chromatographie sur couche mince, points de fusion et les techniques spectroscopiques UV-vis et I.R. l'activité antibactérienne a été réalisée.

Les résultats obtenus ont clairement montré que la complexation avait lieu entre le ligand et les ions métalliques. L'activité antibactérienne a été renforcée par la complexation.

Mots clés : 3-acétoacétylcoumarine, les complexes de coordination, Spectroscopie IR, Spectroscopie UV-Visible, activité antibactérienne.

Abstract

The objective of our study is the synthesis, the characterization of 3-acetoacetyl coumarin as a ligand and its transition metal complexes.

All of the synthesized products were characterized by thin layer chromatography, melting points, and UV-vis and I.R spectroscopic techniques. The antibacterial activity was performed.

The results obtained clearly showed that the complexation took place between the ligand and the metal ions. Antibacterial activity was enhanced by complexation.

Keywords : 3-acetoacetyl coumarin, coordination complexes, IR spectroscopy, UV-Vis spectroscopy, antibacterial activity.