

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE: SCIENCES DE LA MATIÈRE

FILIERE: CHIMIE

MÉMOIRE DE MASTER

SPECIALITE: CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THÈME

Synthèse, caractérisation et application biologique d'une série de complexes de métaux de transition à ligand bioactif

Présenté par : **HACENE Fatiha**

AMMAR Kahina

Soutenu publiquement, le 12/07/2023,

devant le Jury composé de :

M ^{me} IGHILHRIZ Karima	M.C.B	UMMTO	Présidente
M ^{me} BELKHIR- TALBI Drifa	M.C.B	USTHB	Encadreur
M ^{me} CHEBLI- MEKHLouFI Malika	Professeur	UMMTO	Co-encadreur
M ^{me} ABANE-MERZOUK Lamia	M.C.B	UMMTO	Examinatrice

Session 2022 / 2023.

Remerciements

*Nous tenons à remercier d'abord le bon **Dieu** tout-puissant de nous avoir accordé santé, patience, courage et volonté pour arriver à la fin de notre projet de fin d'études.*

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de Physique et Chimie des Matériaux (LPCM) de l'université Mouloud MAMMERRI de Tizi-Ouzou.

*Nous remercions chaleureusement **M^{me} BELKHIR-TALBI Drifa** et **M^{me} la professeure CHEBLI-MEKHLOUFI Malika** qui ont dirigées ce travail.*

Elles nous ont incitées à entreprendre ce travail de mémoire. Elles nous ont ensuite suivies avec rigueur, apportant leur soutien à ce travail.

Nos remerciements vont aussi :

- ❖ A Madame **IGHILAHIRIZ Karima** qui nous a honorée de sa présence en acceptant de présider le jury de cette soutenance.*
- ❖ A Madame **ABANE-MERZOUK** qui a acceptée d'examiner ce travail.*
- ❖ Nous remercions tous les membres de l'équipe du Laboratoire de Physique et Chimie des Matériaux (LPCM) de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.*
- ❖ Nous remercions également les membres du laboratoire microbiologie de l'UMMTO qui nous a ouvrir leurs portes pour réaliser notre travail.*

A nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes.

Dédicace

Tout d'abord, on tient à remercier DIEU

De nous avoir donné la force et le courage

De mener à bien ce modeste travail.

On tient à dédier ce humble travail à :

A nos tendres et chers parents.

A nos sœurs et frères.

A nos amis et amies.

Tout ceux qui nous aiment et on aime.

KAHINA ; FATIHA

Liste des abréviations Et symboles

Listes des abréviations et symboles

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

CO : cobalt

Cu : cuivre

CCM : chromatographie sur couche mince

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

DMSO : diméthylsulfoxyde

d : densité

E.Coli : escherichia coli

g : gramme

H : hydrogène

HTLV : human T Cell Leukemia /lymphoma Virus

IC₅₀ : concentration inhibitrice médiane

mg : milligramme

mm : millimètre

mL : millilitre

MTT : Multi Tables Tournaments

M : masse molaire

N : azote

Ni : nickel

Listes des abréviations et symboles

NF.κB : nuclear factor-kappa B

nm : nanomètre

O₂ : oxygène

ppm : partie par million

Pf : point de fusion

P_{eb} : point d'ébullition

Rdt : rendement

RMN¹H : Résonance Magnétique Nucléaire du proton

RMN¹C : Résonance Magnétique du carbone

S : soufre

TSC : thiosemicarbazone

TMS : tétraméthylsilane

UV : ultraviolet

VIH : Virus de l'Immunodéficience

v : nombre d'onde

Zn : zinc

μM : micromètre

μg : microgramme

°C : degré Celsius

δ : déplacement chimique

Listes des abréviations et symboles

Ω_M : ohm

% : pourcentage

μl : microlitre

μm : micromètre

Liste des figures

Figure I.1 : Formes tautomérie des thiosemicarbazones	3
Figure I.2 : Formes tautomères des thiosemicarbazones	4
Figure I.3 : Géométries des thiosemicarbazones	4
Figure I.4 : Les structures possibles des thiosemicarbazones	5
Figure II.1 : La plaque CCM	18
Figure II.2 : L'appareil de point de fusion	19
Figure III.1 : Spectre infrarouge du Ligand HL et de la 3-acétylcoumarine	26
Figure III.2 : Spectres d'absorption électroniques de Ligand et de la 3-acétylcoumarine dans le DMSO	27
Figure III.3 : Formes tautomère du ligand.....	27
Figure III.4 : Spectre RMN du ¹ H du ligand HL dans le DMSO deutéré	28
Figure III.5 : Spectre RMN du ¹³ C du Ligand HL dans le DMSO	29
Figure III.6 : Evolution des spectres d'absorption Uv-visible lors de la complexation du Ligand HL avec l'ion métallique Cu (II)	30
Figure III.7 : Méthode graphique de calcul du degré de dissociation α d'un complexe	31
Figure III.8 : Méthode de Job. Variation de l'absorbance du complexe [Cu-HL] dans l'éthanol en fonction de la fraction f_L du ligand	31
Figure III.9 : Spectre IR du ligand et de ses complexes	36
Figure III.10 : Spectres électroniques des complexes dans le DMSO	39
Figure III.11 : Structures proposées pour les complexes	40
Figure III.12 : Pourcentage d'inhibition du ligand HL et de ses complexes	41
Figure III.13 : Valeurs d'IC50 % des composés tétés et de l'acide ascorbique	42
Figure III.14 : Effet du ligand HL et de ses complexes sur les souches testés	43
Figure III.15 : Diamètres des zones d'inhibition du ligand et de ses complexes	44

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Modes de coordination des dérivés de thiosemicarbazone	6
Tableau I.2 : Quelques complexes des dérivés thiosemicarbazone et leurs activités biologiques	8
Tableau II.1 : Réactifs utilisés pour la synthèse du ligand et de ses complexes.....	15
Tableau II.2 : Solvants utilisés pour la synthèse du ligand et ses complexes	16
Tableau III.1 : Propriétés physico-chimiques du Ligand HL	25
Tableau III.2 : Valeurs d'EC, ED et α des complexes de Cu (II) avec HL, dans l'éthanol obtenus par la méthode des variations continues	32
Tableau III.3 : Propriétés physico-chimiques des complexes	33
Tableau III.4 : Principales bandes IR du ligand et de ses complexes (en cm^{-1})	35
Tableau III.5 : Spectroscopie électronique des complexes dans le DMSO	38
Tableau III.6 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) du ligand et de ses complexes	44
Tableau III.7 : Images des zones d'inhibition des composés testés	46
Tableau III.8 : Zones d'inhibition du ligand et ses complexes	47

Liste des schémas

Schéma I.1 : Synthèse des dérivés de thiosemicarbazones	5
Schéma II.1 : Synthèse de la 3-acétylcoumarine	17
Schéma II.2 : Synthèse de la base de Schiff (HL)	17
Schéma III.1 : Mécanisme réactionnel de la synthèse du Ligand HL	24

Sommaire

Index des abréviations et symboles**Index des figures****Index des tableaux****Index des schémas**

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

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Introduction	3
I.2. Dérivés des thiosemicarbazones	3
I.2.a. Historique	3
I.2.b. Présentation des thiosemicarbazones	3
I.2.c. Synthèse des thiosemicarbazones	5
I.2.d. Pouvoir complexant des dérivés de thiosemicarbazones	6
I.3. Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des dérivés de thiosemicarbazone et de leurs complexes de métaux de transition	7
I.4. Complexes de thiosemicarbazones coumarines et leurs applications	9
I.5. Les métaux de transition	12
I.5.a. Le cuivre	12
I.5.b. Le cobalt	13
I.5.c. Le nickel	13
I.5.d. Le zinc	14
I.6. Conclusion	14

Chapitre II : Partie expérimentale

II.1. Réactifs et solvants utilisés	15
II.1.a. Les réactifs	15
II.1.b. Les solvants	15
II.2. Synthèse du ligand et de ses complexes	16
II.2.a. Synthèse du ligand (3-acétylcoumarinethiosemicarbazone;HL)	16
II.2.b. Synthèse des complexes	17
II.3. Etude en solution de l'effet de la concentration du metal sur le ligand HL	18
II.4. Appareillages et méthodes d'analyses	18
II.4.a. Chromatographie sur couche mince (CCM)	18
II.4.b. Point de fusion	18

II.4.c. Analyse conductimétrique	19
II.4.d. Méthodes spectroscopiques	19
II.5. Etude de l'activité biologique	20
II.5.a. Activité antioxydante	20
II.5.b. Activité antibactérienne	21
II.5.c. Activité antifongique	22

Chapitre III : Interprétation des résultats

III.1. Synthèse , analyse et caractérisation de 3-acétylcoumarinethiosemicarbazone (HL)	24
III.1.a. Mécanisme réactionnel de la synthèse du ligand	24
III.1.b. Propriétés physico-chimique du ligand	25
III.1.c. Caractérisation du ligand par méthodes spectroscopiques	25
III.1.d. Etude en solution par spectrophotométrie UV-visible du comportement du ligand vis-vis du cuivre	29
III.2. Synthèse et caractérisation des complexes	32
III.2.a. Propriétés physico-chimiques des complexes synthétisés	32
III.2.b. Caractérisation des complexes par méthodes spectroscopiques	33
III.3. Schémas structuraux proposés	40
III.4. Activités biologiques du ligand et de ses complexes	40
III.4.a. Activité antioxydante	40
III.4.b. Activité antibactérienne	42
III.4.c. Activité antifongique	45
Conclusion générale	49
Références bibliographiques	51

INTRODUCTION GENERALE

La chimie pharmaceutique concerne la conception (conception de médicaments) et la synthèse de molécules biologiquement actives. L'objectif est d'acquérir de nouvelles molécules chimiques qui pourraient permettre la découverte de nouveaux produits pharmaceutiques ou d'optimiser des structures médicamenteuses déjà connues, élargissant ainsi la gamme de médicaments chimiques. Au début du 21^{ème} siècle, la chimie pharmaceutique a développé de nouvelles molécules aux valeurs médicinales importantes. Outre les petits ligands synthétiques et les produits naturels, les chimistes pharmaceutiques se concentrent sur le développement des peptides et des protéines modifiés, d'agents biologiques, des vaccins synthétiques et des complexes de métaux de transition à intérêt biologique.

Les complexes de métaux de transition peuvent agir en tant qu'agents médicaux à travers trois mécanismes principaux : interne, externe ou en tant qu'agents de contraste d'imagerie. Les molécules inorganiques peuvent aider à détecter, diagnostiquer et traiter certaines maladies. L'utilisation interne d'agents pharmaceutiques inorganiques couvre un large éventail d'états pathologiques.

Les chimistes bio-inorganiques ciblent les ligands hétérocycliques et leurs complexes métalliques pour étudier leur pharmacologie comme principale axe de recherche. Une large gamme d'activités biologiques telles que des activités antibactériennes, antifongiques, antitumorales et antivirales sont présentées par les composés organiques contenant de l'azote, de l'oxygène et du soufre et de leurs complexes métalliques.

Les thiosemicarbazides sont de puissants intermédiaires pour la synthèse de produits pharmaceutiques et bioactifs, par conséquent, ils sont largement utilisés dans le domaine de la chimie médicinale. De plus, les propriétés physicochimiques et les activités biologiques des thiosemicarbazides pourraient être améliorées en combinant ces molécules avec des composés carbonyle ayant une fraction hétérocyclique [1].

D'autre part, les composés hétérocycliques oxygénés spécialement les coumarines, ont fait l'objet de recherches approfondies visant à évaluer leurs effets bénéfiques sur la santé humaine [2]. Le squelette de la coumarine peut être envisagé comme un échafaudage privilégié pour la conception et la synthèse de composés pharmacologiquement actifs [3,4]. La condensation des dérivés de la coumarine avec les thiosemicarbazides donne naissance à des thiosemicarbazones.

Les thiosemicarbazones appelés aussi carbothioamides d'hydrazine font partie de la famille des bases de Schiff, leur synthèse est très simple, souple et propre, donnant généralement des rendements élevés. Ils sont largement utilisés comme des bons intermédiaires dans la synthèse des molécules hétérocycliques ayant une grande importance biologique, et sont donc couramment utilisés dans le domaine de la chimie médicinale. Les thiosemicarbazones ont également trouvé leur place dans toutes les branches de la chimie ; ils sont utilisés commercialement comme colorants, films photographiques, plastiques et textiles [5]. Au cours des dernières années, les dérivés de thiosemicarbazone ont montré

des propriétés pharmacologiques extrêmement diversifiées, telles que l'activité antifongique [6], antitumoral/cancer [7,8], antimicrobien, antioxydant [9] et antiviral [10]. Les thiosemicarbazones ont aussi attiré l'attention des chercheurs en raison de leur forte affinité pour les ions métalliques tels que le zinc, le cuivre, le cobalt...pour produire des complexes métalliques, qui sont également des cibles biologiques importantes.

Les métaux de transition appelés aussi oligo-éléments, jouent un rôle important dans les processus biologiques tels que la transduction du signal, l'adsorption de l'oxygène dans la circulation sanguine et en tant que cofacteurs pour les enzymes et contribuent à leurs processus catalytiques.

Notre attention se concentre principalement sur la recherche concernant quelques activités pharmacologiques des composés de coordination de métaux de transition de la première série tel que Co (II), Ni (II), Cu (II) et Zn(II) qui sont des éléments essentiels présents dans le milieu biologique intracellulaire des organismes vivants. Ces ions métalliques sont aujourd'hui présents dans plusieurs produits pharmaceutiques inorganiques.

Le présent travail consiste à élaborer une dérivée de la thiosemicarbazone par la condensation de la 3-acetylcoumarine avec le thiosemicarbazide suivie d'une étude de leur complexe de coordination vis-à-vis d'une série de métaux de transition en solution et à l'état solide.

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

- ✚ La première partie étant la partie théorique qui est une synthèse bibliographique donnant un aperçu sur les dérivés de la thiosemicarbazones particulièrement les thiosemicarbazones à base des coumarines, leurs complexes de métaux de transition ainsi que leurs diverses applications biologiques.
- ✚ La deuxième partie qui est la partie expérimentale développe la description des méthodes suivies pour la synthèse et la caractérisation des produits obtenus.
- ✚ La troisième partie de notre travail est consacrée à l'interprétation et la discussion des résultats.
- ✚ L'essentiel des résultats a été finalement, mis en lumière dans la conclusion générale.

CHAPITRE I
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I- 1- Introduction

Les complexes de métaux de transition se sont révélés bénéfiques dans le développement de la chimie pharmaceutique. De nombreuses recherches ont prouvé que les complexes métalliques présentent une large gamme de caractéristiques biologiques et chimiques. En raison du changement des propriétés géométriques de la liaison molécule organique-métal par rapport à la fraction organique elle-même, les propriétés structurales et électroniques des métaux de transition seraient par conséquent modifiées [11-13].

La chimie de coordination ainsi que la chimie pharmaceutique se sont développées avec le développement de ligands (molécules organiques), qui affectent de manière significative la réactivité et la stabilité des complexes métalliques dans la première sphère de coordination [14].

De plus, les thiosemicarbazones font partie des bases de Schiff présentant une large gamme de modes de coordination avec les métaux de transition ; le nombre et le type de substituants affectent le mode de coordination [15,16].

I-2- Dérivées des thiosemicarbazones

I-2-a- Historique

D'un point de vue historique, les scientifiques ont commencé à s'intéresser aux thiosemicarbazones dès le début du XXe siècle, mais les premiers rapports sur leurs applications médicales ont commencé à apparaître dans les années cinquante lorsque ces molécules faisaient partie des médicaments contre la tuberculose et lepre [17,18]. Ses propriétés antivirales ont été découvertes dans les années soixante, de nombreuses recherches ont eu lieu et ont conduit à la commercialisation de la méthisazone, Marboran®, pour le traitement de la variole [19]. Récemment, la Triapine® (3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone) a été développée comme un médicament anticancéreux et il est arrivé aux essais cliniques de la phase (II) sur plusieurs types de cancer [20].

I-2-b- Présentation des thiosemicarbazones

Les thiosemicarbazones (TSC) sont des classes importantes de ligands de base de Schiff en raison de la présence du groupement imine (C=N). Ils sont des molécules organiques à trois fonctions azométhine ou imine (1), hydrazine (2) et thioamide (3) (voir la figure ci-dessous) [21,22].

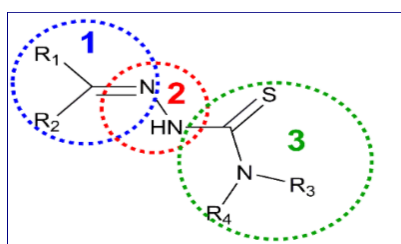


Figure I.1 : Fragments du groupe thiosemicarbazone

Les thiosemicarbazones présentent le phénomène de tautomérie (Figure I.2). En solution, elles existent sous un mélange de deux formes tautomériques **thione** (1) et **thiol** (2). Tandis qu'à l'état solide, elles existent principalement sous la forme **thione** (1).

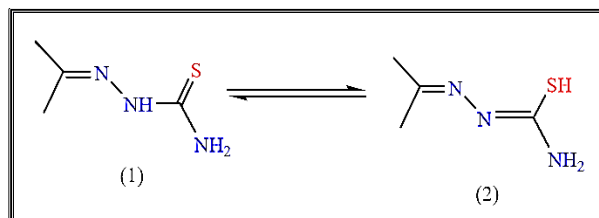


Figure I.2 : Formes tautomérie des thiosemicarbazones

La présence de thiosemicarbazones sous les deux formes thione et thiol leur confère les configurations (E et Z). Plusieurs facteurs électroniques et stériques peuvent contribuer à l'adoption d'une géométrie cis ou trans dans le groupement ($>C=N^3-N^2H-(C=S)-N^1<$) [23]. Généralement et à l'état solide, les thiosemicarbazones non substitués en position N^1 présentent une structure de base presque plane avec l'atome de soufre qui est en position trans par rapport à l'atome d'azote N^3 de la fonction imine (Figure I.3, forme I), cette configuration a été remarquée chez la plupart des thiosemicarbazones. La même géométrie a été attribuée aux thiosemicarbazones avec une amine terminale secondaire [24], ce qui conduit à la formation de liaison hydrogène entre le H de l'amine et l'azote de l'imine. Alors que, si le groupement amine est une amine tertiaire, la thiosemicarbazone cristallise avec l'atome de soufre en position cis par rapport à la double liaison de l'azométhine (configuration Z) comme il est montré sur la forme II de la figure 1.3.

La présence d'un substituant sur l'atome d'azote de l'hydrazine ne conduit pas à un changement de la configuration, tandis que, la présence d'un substituant sur l'atome de soufre (fonction thioéther) fait que la molécule adopte une configuration Z (Figure I.3, Forme III).

Si la molécule porte un atome donneur supplémentaire près du groupe thiosemicarbazone, la thiosemicarbazone peut avoir une configuration cis ou deux isomères trans et cis à cause des liaisons hydrogène intramoléculaires qui peuvent s'établir entre l'hydrogène de l'hydrazine et l'atome donneur supplémentaire. C'est le cas, par exemple, de la pyridine-2-formyl thiosemicarbazone.

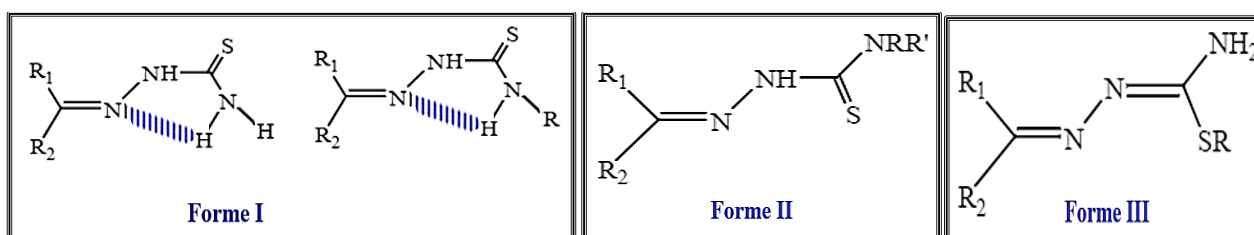


Figure I.3 : Géométries des thiosemicarbazones

I-2-c- Synthèse des thiosemicarbazones

La synthèse des ligands avec des atomes donneurs N et S ont fait l'objet d'une attention considérable au cours de ces dernières années. Parmi ces composés les thiosemicarbazones et ces dérivés qui apparaissent dans un grand nombre de composés médicalement précieux et des efforts considérables ont été consacrés à la synthèse de ces molécules.

La synthèse des thiosemicarbazones est très simple, souple et propre, donnant généralement des rendements élevés [25-27]. Les thiosemicarbazides représentent les principaux précurseurs permettant la préparation des thiosemicarbazones, à partir d'un dérivé carbonyle, de type aldéhyde ou cétone, en présence de quelques gouttes d'acide comme catalyseur en milieu alcoolique et à reflux (schéma I.1) [28-30]. Les produits solides finaux obtenus peuvent être facilement isolés et purifiés davantage si nécessaire par recristallisation dans l'éthanol.

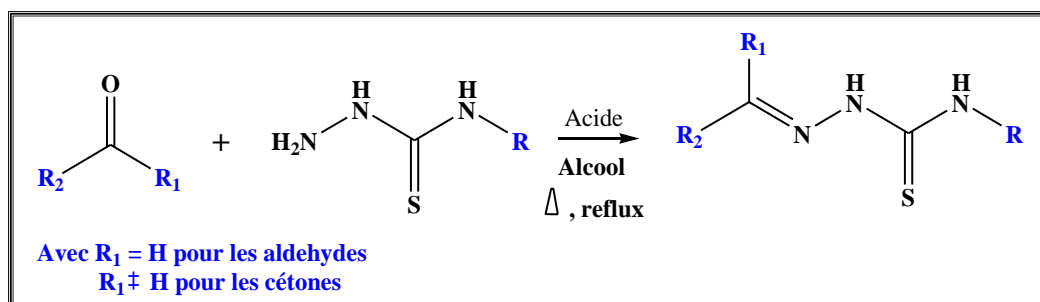


Schéma I.1 : Synthèse des dérivés de thiosemicarbazone

Selon le nombre, la nature et la position des substituants des réactifs (l'aldéhyde ou la cétone et la thiosemicarbazide), les dérivés de thiosemicarbazone présentent plusieurs formes. Les structures les plus simples sont illustrées sur la figure I.4 :

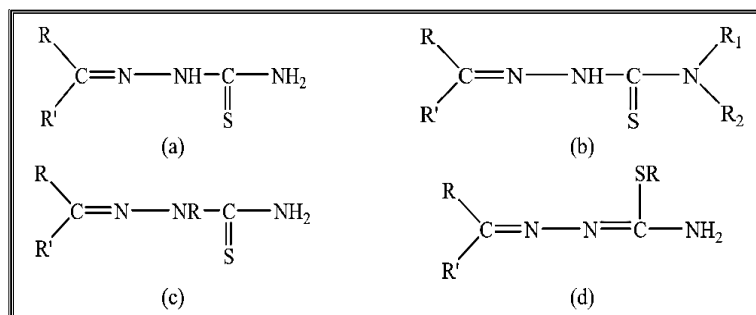


Figure I.4: Les structures possibles des thiosemicarbazones

I-2-d- Pouvoir complexant des dérivés de thiosemicarbazones

La présence d'atomes donneurs N et S sur le groupement thiosemicarbazone ($>C=N-NH-(C=S)-N<$) fait de ces molécules une classe importante de ligands chélatants non seulement pour les ions des métaux de transition, mais également pour les éléments non métalliques. Le pouvoir chélatant des dérivés thiosemicarbazones varie en fonction de la nature des substituants, plus ils possèdent d'atomes donneurs tels que l'oxygène, l'azote plus la complexation sera meilleure.

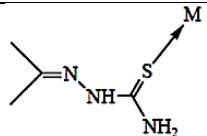
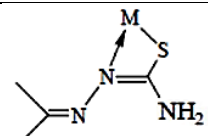
Les thiosemicarbazones présentent différents modes de coordination avec les métaux de transition (tableau I.1) [31]. Un certain nombre de raisons peuvent être citées comme responsables de leur polyvalence de coordination, telles que la liaison hydrogène intramoléculaire, l'encombrement stérique sur le carbone de l'azométhine et la délocalisation des électrons π [32-34]. La position des atomes donneurs dans le groupement thiosemicarbazone offre une flexibilité à ces molécules qui peuvent se coordiner à l'ion métallique sous une forme neutre ou déprotonée, formant des complexes mono ou polynucléaires avec des métaux de transition [35].

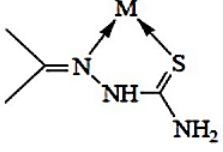
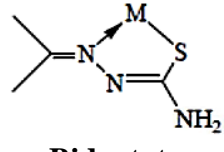
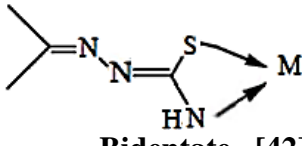
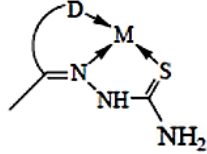
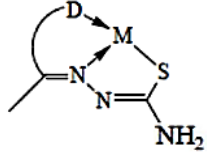
Les thiosemicarbazones existent généralement en configuration cis, elles forment des cycles stables à cinq chaînons avec l'ion métallique lors de la formation des complexes, en se coordinant via les atomes d'azote d'azométhine et le soufre du groupement thiol. Parfois, la thiosemicarbazone existe en configuration trans, elle se comporte comme ligand monodentate où elle se lie uniquement via l'atome de soufre. Si les dérivés de la thiosemicarbazone portent d'autre site donneur d'électrons (oxygène ou azote), il est possible alors d'obtenir la formation de chélates tridentates ONS ou NNS, ou comme donneur mono-anionique bidentate NS formant un cycle à cinq chaînons, ou un cycle à quatre chaînons, (qui est assez rare) avec des ions métalliques.

La littérature montre également d'autres dérivés de thiosemicarbazone avec un mode de coordination titradentate, conduisant à la formation des complexes très stables [36].

Il a été noté que les ligands tridentates et titradentates ont une meilleure capacité de chélation et forment des complexes plus stables que les ligands bidentates.

Tableau I.1 : Modes de coordination des dérivés de thiosemicarbazone

Mode de coordination en tant que ligand neutre	Référence	Mode de coordination en tant que ligand anionique	Référence
 <p>Monodentate</p>	[37,38]	 <p>Bidentate</p>	[39]

 <p style="text-align: center;">Bidentate</p>	[40]	 <p style="text-align: center;">Bidentate</p>	[41]
 <p style="text-align: center;">Bidentate [42]</p>			
 <p style="text-align: center;">Tridentate</p>	[43]	 <p style="text-align: center;">Tridentate</p>	[44]

Selon la littérature, les complexes métalliques des thiosemicarbazones possèdent d'excellentes propriétés pharmacologiques parfois plus intéressantes que celles des ligands libres. La présence d'un ion métallique augmente l'activité ou aide à réduire les effets secondaires des composés organiques parents [45,46].

I-3- Activités biologiques et intérêts pharmacologiques des dérivés de thiosemicarbazone et de leurs complexes de métaux de transition

Ces dernières années, la croissance des agents pathogènes résistants aux médicaments due aux modifications biologiques et morphologiques a conduit à une forte demande de nouveaux médicaments avec une activité améliorée et ciblée. Dans cette course incessante pour trouver de nouveaux composés actifs, ou hyperactiver les structures existantes, de nombreux chercheurs (chimistes et biologistes) contribuent au développement de nouveaux médicaments efficaces et moins toxiques.

Le squelette de la thiosemicarbazone est fréquemment rencontré en chimie médicinale, ces dérivés ont été au centre des préoccupations des chimistes et des biologistes au cours des dernières décennies en raison de leur large gamme d'effets pharmacologiques pour obtenir une meilleure activité. Différentes séries de TSC sont synthétisées et caractérisées, en faisant varier la nature et/ou la position des substituants sur le fragment thiosemicarbazone, leurs propriétés chimiques ainsi que leurs applications pharmacologiques ont été étudiées. Les thiosemicarbazones et ces dérivés sont connus pour leurs propriétés antituberculeuses, antibactériennes, anticancéreuses, antiinflammatoires, etc. [47].

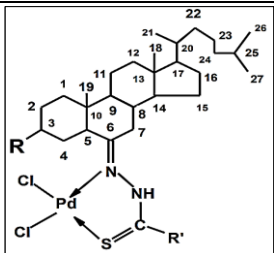
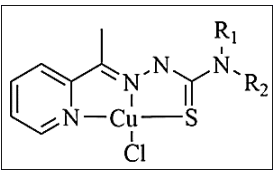
Des recherches bibliographiques indiquent que la nature du substituant, la position et l'encombrement stérique affectent les activités biologiques de ces molécules [48]. Si le substituant est un cycle phényle, la présence de donneur d'électrons ainsi que la capacité de donneur de protons du groupe en position para du cycle s'avèrent améliorer les activités biologiques du composé. Ceci suggère que la liaison avec le substrat est meilleure en présence de substituants donneurs de protons [49].

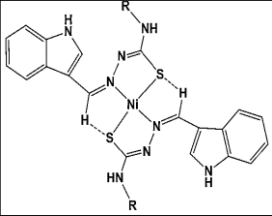
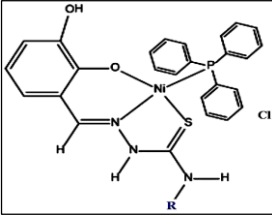
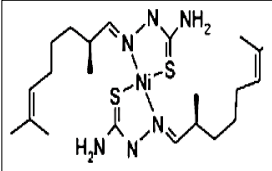
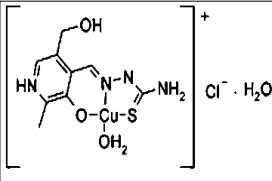
Dans la plupart des études, la coordination métal-ligand s'est avérée augmenter l'activité biologique du ligand et parfois le complexe formé peut présenter une bioactivité qui n'est affichée ni par le sel métallique ni par le ligand libre [50] suggérant une synergie.

D'autres études ont montré que la complexation du métal améliore également la délocalisation des électrons π dans la molécule à travers le métal, le rendant ainsi perméable. Ce caractère lipophile accru du complexe ciblerait la couche lipidique des membranes bactériennes en formant une liaison hydrogène avec les sites actifs des constituants cellulaires [51].

Certains complexes des dérivés de la thiosemicarbazone biologiquement puissants sont regroupés dans le tableau I.2.

Tableau I.2 : Quelques complexes des dérivés thiosemicarbazone et leurs activités biologiques

Complexe	Activité biologique	Résultat	Réf
 <p>$R = \text{CH}_3\text{COO}$ (C₁) $R = \text{Cl}$ (C₂) $R = \text{H}$ (C₃)</p>	Activité antibactérienne	L'étude a montré que les complexes ont une meilleure activité par rapport au ligand libre et que le composé C ₂ est un agent antibactérien plus actif par rapport à l'amoxicilline.	52
 <p>$R_1 = R_2 = \text{H}$ (C₁) $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{Me}$ (C₂) $R_1 = R_2 = \text{Me}$ (C₃)</p>	Activité antibactérienne et anticancéreuse	Trois complexes Cu(II)-TSC ont été synthétisés et caractérisés par J. Qi et al. Ces complexes ont montré une excellente activité anticancéreuse et antimicrobienne et dépassent largement celle du ligand libre. C ₃ possède l'activité antiproliférative la plus élevée ($\text{IC}_{50} = 0,20 \pm 0,04 \mu\text{M}$) contre A549 et le meilleur diamètre de zone inhibitrice ($25,78 \pm 0,18 \text{ mm}$) contre E. coli.	53

 <p>R= H (C₁) R = Me (C₂) R=C₆H₆ (C₃) R=C₆H₁₂ (C₄)</p>	<p>Activité antioxydant</p>	<p>Tous les complexes présentent une activité antioxydant et que le complexe C₃ montre une activité plus puissante que les trois autres complexes, ce qui pourrait être dû à l'effet attracteur d'électrons du groupe phényle sur l'atome d'azote terminal.</p>	<p>54</p>
 <p>R = H (C1) R= CH₃ (C2) R=C₆H₅ (C3) R= C₂H₅ (C4)</p>	<p>Activité anti inflammatoire</p>	<p>Shawish et al. ont synthétisé des complexes ternaires de nickel avec quatre dérivés thiosemicarbazone pour examiner leur effet anti-inflammatoire in vitro et in vivo. Ils suggèrent le complexe C₁ en tant que nouvel inhibiteur de NF-kB avec de puissants effets anti-inflammatoires.</p>	<p>55</p>
 	<p>Activité antivirale</p>	<p>G. Pelose et ses collaborateurs ont rapporté une étude sur l'activité antivirale de deux complexes métalliques, contre le VIH-1 et le HTLV-1/ -2. Les deux composés présentent des propriétés antivirales contre le VIH mais pas contre les HTLV. En particulier, le complexe de cuivre présente la plus forte activité anti-VIH</p>	<p>56</p>

Les bases de Schiff contenant divers atomes donneurs (N, O, S, etc.) tels que les thiosemicarbazones fusionnées à la coumarine présentent un intérêt particulier en raison de leurs diverses activités biologiques qui sont renforcées par la complexation avec divers ions de métaux de transition et fournissent un échafaudage pour la conception et la synthèse de nouveaux composés actifs pharmacologiques [57].

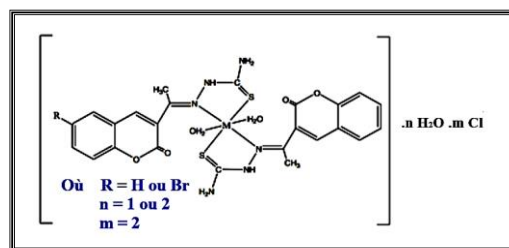
I-4- Complexes de thiosemicarbazones coumarines et leurs applications

Les coumarines constituent une classe importante d'hétérocycles contenant de l'oxygène que l'on trouve dans diverses sources végétales sous la forme de dérivés de benzopyrone. Ces lactones naturelles ont été isolées pour la première fois à partir de fèves tonka en 1820. Elles contiennent le

noyau coumarinique (2H-1-benzopyran-2-one) et occupent une place importante dans les produits naturels et la chimie organique de synthèse [58]. Les composés contenant la fraction coumarine et ses dérivés ont été associés à diverses applications biologiques telles que antibactériennes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antivirales, antioxydantes, antimutagènes, anticancéreuses, antibiotiques, anti-VIH, etc. [59]. Il a été constaté que les antibiotiques naturels tels que la novobiocine et la clorobiocine contiennent le fragment 3-aminocoumarine [60]. En raison de leur faible toxicité, de leur photostabilité exceptionnelle, de leur bonne solubilité, de leur facilité de préparation et de leur rendement quantique de fluorescence élevée, la coumarine et ses dérivés sont également largement utilisés dans les sondes fluorescentes, les colorants laser, les matériaux optiques et d'autres domaines [61].

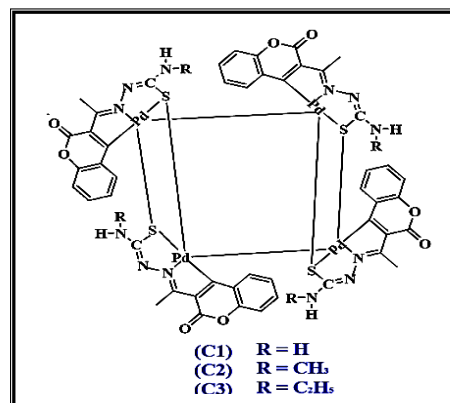
La combinaison de deux molécules biologiquement importantes, comme les coumarines et les thiosemicarbazides, par hybridation moléculaire peut améliorer les propriétés pharmacologiques des composés résultants. L'existence du groupement carbonyle de la coumarine améliore la complexation des thiosemicarbazones formés.

En 2009, Refat et al. ont synthétisé et caractérisé des complexes de Cu(II), Co(II) et Ni(II) avec deux dérivés de coumarine-3-yl thiosemicarbazone. Sur la base de données spectrale et analytique, il a été observé que les ligands se coordinaient aux atomes métalliques

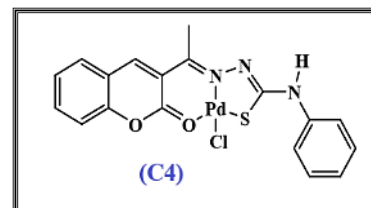


de manière monobasique bidentée et possédaient ainsi une géométrie octaédrique. L'étude de l'activité antimicrobienne des ligands synthétisés et de leurs complexes a montré que les complexes sont plus actifs que les ligands parents. De plus, l'étude de clivage de l'ADN a révélé que les complexes métalliques clivent l'ADN plus efficacement que les ligands [27].

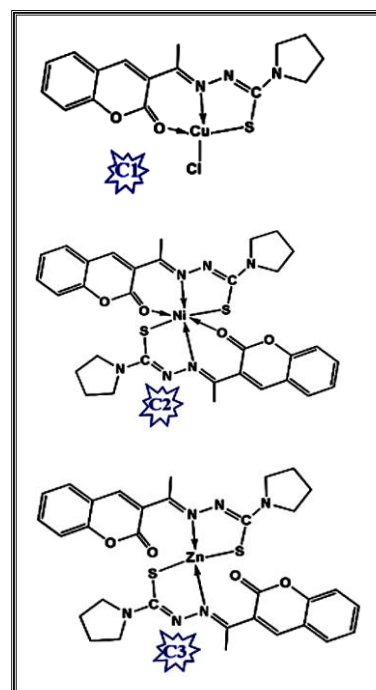
Trois complexes de palladium(II) tétranucléaire (C1-3) et mononucléaire (C4) ont été synthétisés par G. Kalaiarasi et al. [62] à partir de quatre thiosemicarbazones dérivées de la 3-acétyl-chromène-2-one. Le test MTT a été réalisé pour analyser le potentiel anticancéreux de ces ligands et de leurs complexes correspondants contre les cellules HepG2 (cancer du foie humain) et HT-29 (cancer du côlon humain). G. Kalaiarasi et al. ont montré que tous les ligands et



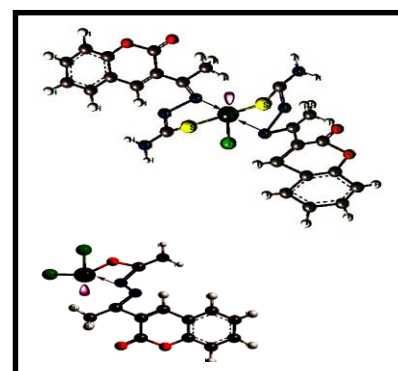
les complexes affichent une meilleure cytotoxicité avec des valeurs d'IC₅₀ inférieures à celles du médicament standard cisplatine. D'autres tests de coloration AO-EB et DAPI ont été effectués pour détecter le mode de mort cellulaire induit par les complexes. Le résultat de l'étude suggère un type de mort cellulaire apoptotique et que le complexe C3 est plus actif par rapport aux autres complexes. L'analyse par cytométrie en flux a confirmé la mort cellulaire apoptotique induite par le complexe C3.



Une autre molécule dérivée de thiosemicarbazone à base de 3-acétylcoumarine et ses complexes de Cu(II), Ni(II) et Zn(II) ont été synthétisés et caractérisés par K.N. Anees Rahman et ses collaborateurs. L'interaction des complexes obtenus avec l'ADN de thymus de veau (CT-DNA) et l'albumine sérique bovine (BSA) a été explorée à l'aide de méthodes spectrales d'absorption et d'émission et de mesures de viscosité. De plus, tous les complexes ont été soumis à des études cytotoxiques contre le carcinome hépatique humain (HepG-2), le carcinome pulmonaire (A549), le lymphome monocyte leucémique humain (U937) et les cellules de myélome multiple lymphoblastoïde (IM-9). Le complexe de zinc a montré une cytotoxicité significative contre les lignées cellulaires de carcinome hépatique humain (HepG-2) et de myélome multiple lymphoblastoïde (IM-9) avec une valeur IC₅₀ de 25 µg/mL [63].



Une série de complexes de Bi(III) et Sb(III) avec des thiosemicarbazones à base de coumarine a été synthétisée par L. DAWARA et R.V. SINGH, ainsi que leurs activités antimicrobiennes et pesticides ont été étudiées. Les complexes ont montré de meilleures activités antimicrobiennes et pesticides que les ligands parents. Les composés inhibent également la croissance des champignons et des bactéries dépendant de la concentration [64].



D'après cette synthèse bibliographique, les activités biologiques des dérivés de thiosemicarbazone se sont améliorées après leurs coordinations aux ions métalliques. Les métaux de transition occupent une place importante dans la biochimie des médicaments, présentent différents états d'oxydation et peuvent interagir avec un certain nombre de molécules chargées négativement.

I-5- Les métaux de transition

Les métaux de transition représentent tous les éléments qui appartiennent aux blocs (d) et (f) du tableau périodique. La particularité de ces métaux est qu'ils perdent facilement des électrons pour former des ions chargés positivement qui ont tendance à être solubles dans les fluides biologiques. C'est sous cette forme cationique que les métaux jouent leur rôle en biologie.

Les ions de métaux de transition 3d tels que le cuivre (II), le cobalt (II), le zinc (II) et le nickel (II) sont devenus un domaine d'intérêt et d'importance largement reconnu en chimie bio-inorganique et en chimie de coordination. Ces ions métalliques sont les éléments essentiels présents dans le milieu biologique intracellulaire des organismes vivants. Ce sont les oligo-éléments les plus abondants et présents dans les systèmes biologiques avec le fer et la plupart des métalloprotéines contiennent ces éléments. Ils sont aujourd'hui présents dans plusieurs produits pharmaceutiques inorganiques utilisés comme médicaments contre une variété de maladies, allant des applications antibactériennes et antifongiques aux applications anticancéreuses. Un autre fait pour cibler ces ions métalliques particuliers est leur nature moins toxique qui peut être encore réduite lorsqu'ils sont liés aux molécules organiques.

I-5-a- Le cuivre

Le cuivre est le troisième ion de métaux traces le plus abondant dans le corps humain après les ions de fer et de zinc, il existe généralement sous deux degrés d'oxydation cuivre (I) et le cuivre (II). Le cuivre est un micronutriment important pour toutes les espèces qui vivent dans des environnements riches en oxygène. Il s'agit d'un métal redox-actif qui passe rapidement de l'état d'oxydation réduit du Cu(I) à l'état d'oxydation du Cu(II) oxydé ou vice versa. Le cuivre est un oligo-élément nécessaire pour la croissance et le développement en raison de ses propriétés oxydantes et bio-essentiels. Il est important pour la fonction de plusieurs enzymes et protéines impliquées dans le métabolisme énergétique, la respiration et la synthèse de l'ADN [65]. Les principales fonctions des molécules biologiques du cuivre impliquent des réactions d'oxydo-réduction dans lesquelles elles réagissent directement avec l'oxygène moléculaire pour produire des radicaux libres [65].

Les complexes de cuivre attirent une grande attention en raison de l'activité redox des ions cuivre, fournissant de multiples voies d'activité biologique. Ils sont des agents antitumoraux efficaces, constituant une alternative moins coûteuse et plus sûre à la chimiothérapie classique contenant du platine, ils sont également efficaces comme antimicrobiens, antituberculeux, antipaludéens, antifongiques et anti-inflammatoires [66]. Les composés de coordination du ^{64}Cu sont des agents d'imagerie TEP prometteurs pour le diagnostic de pathologies malignes, y compris le cancer de la tête et du cou, ainsi que la caractéristique de la maladie d'Alzheimer amyloïde- β (A β) [66].

I-5-b- Le cobalt

Parmi les 27 éléments essentiels au maintien et à la croissance du corps humain, on trouve le cobalt (II) qui est l'un des éléments les plus importants et essentiels. Malgré sa rareté dans la nature, le cobalt joue un rôle biologiquement essentiel en tant que cofacteur dans un certain nombre de protéines. Il joue également un rôle décisif dans la génération de neurotransmetteurs, qui sont nécessaires au bon fonctionnement d'un organisme. Le cobalt est un oligo-élément essentiel présent chez tous les animaux et est utilisé comme cofacteur de la vitamine B₁₂ ; par conséquent, il peut réguler la synthèse de l'ADN [67] et maintenir le fonctionnement normal du système nerveux et du cerveau.

Les complexes

L'activité biologique des complexes de cobalt a été rapportée pour la première fois par Dwyer et al. à l'Université de Sydney en 1952 [68]. Il a ensuite identifié des complexes de cobalt phénanthroline avec une activité antibactérienne puissante, ainsi que des complexes qui pourraient inhiber l'activité neuromusculaire chez les animaux. Les complexes de cobalt de ligands de base de Schiff tétradente ont été largement utilisés pour imiter les coenzymes cobalamine (B₁₂), et les transporteurs de dioxygène et les activateurs d'oxygène [69]. Ils sont également utilisés pour la réduction énantiosélective et comme agents antimicrobiens [69]. Les complexes de cobalt se sont avérés être des agents anticancéreux très prometteurs qui méritent d'être approfondis.

I-5-c- Le nickel

Le nickel est un métal-trace essentiel sur le plan nutritionnel pour au moins plusieurs espèces animales, micro-organismes et plantes. Il existe sous différentes formes, dont le nickel bivalent est la forme la plus répandue en biologie. Le nickel se trouve dans le corps humain à des concentrations plus élevées dans les acides nucléiques, en particulier l'ARN et est lié à plusieurs substances biologiques telles que les protéines (kératine, insuline), les acides aminés et l'albumine sérique [70]. Il peut activer certaines enzymes liées à la dégradation ou à l'utilisation du glucose. Le nickel peut aider à la production de prolactine et donc à la production de lait maternel. Le nickel contribue à l'absorption du fer, ainsi qu'au métabolisme de l'adrénaline et du glucose, aux hormones, aux lipides et à la membrane cellulaire, améliore la résistance des os et peut également jouer un rôle dans la production de globules rouges [70]. Le nickel participe à certaines réactions métaboliques clés telles que l'uréolyse (métabolisme de l'azote), le métabolisme de l'hydrogène, la biogenèse du méthane et l'acitogénèse.

Les composés de nickel (II) ont trouvé de nombreuses applications potentielles en médecine, ils ont été étudiés pour inhiber la prolifération des cellules cancéreuses [71]. Au cours des 20 dernières années, les complexes de métaux de transition sont devenus de plus en plus importants en tant que médicaments et nucléases synthétiques. L'un des objectifs de conception des complexes Ni (II) est de

développer des systèmes chimiques plus réactifs capables de cliver efficacement l'ADN dans des conditions physiologiques.

I-5-d- Le zinc

Le zinc, le deuxième métal trace le plus important dans le corps humain après le fer, est essentiel à la croissance et au développement et joue un rôle important dans divers systèmes biologiques. En raison de la configuration électronique d^{10} du zinc, ce dernier a tendance à former des complexes stables avec des protéines et des enzymes.

Au cours des dernières années, une grande variété de complexes de zinc (II) à potentiel anticancéreux a été étudiée, à savoir l'étude qui a été réalisée par Y. Chin et ses collaborateurs [72] et ils ont prouvés que la substitution du glycérol sur la phtalocyanine (Pc), en particulier dans les structures (substitution tétra-glycérol non périphérique, substitution mono-iodo périphérique et tri-glycérol non périphérique), est capable d'améliorer les propriétés photodynamiques du ZnPc. Les complexes thiosemicarbazones de Zinc (II) ont généralement montré une cytotoxicité significativement plus élevée que les thiosemicarbazones libres dans plusieurs types de cellules tumorales [73].

I-6- Conclusion

L'analyse bibliographique a montré que les dérivés de la thiosemicarbazone, en particulier les thiosemicarbazones à base des coumarines, ont été largement étudiés pour leurs diverses activités biologiques.

Le Cobalt, le cuivre, le nickel et le zinc sont les ions métalliques potentiellement utilisés qui forment des complexes de faible poids moléculaire, qui se sont révélés efficaces contre diverses maladies.

Le soutien de la littérature indique que les complexes métalliques des dérivés de thiosemicarbazone ont montré que le comportement des groupements fonctionnels vis-à-vis de la complexation des cations métalliques est varié et les complexes formés sont plus actifs que leurs ligands parents.

CHAPITRE II
PARTIE EXPERIMENTALE

Le présent chapitre développe la partie expérimentale relative à notre travail. En effet, après la description des modes opératoires adoptés pour l'élaboration du ligand ainsi que de ses complexes de cobalt (II), cuivre (II), nickel(II) et zinc (II) isolés à l'état solide, nous développons les différentes techniques de caractérisation et appareillages utilisés dans cette étude suivi de la description du mode opératoire de l'application biologique.

II-1- Réactifs et solvants utilisés

Tous les produits chimiques, solvants et réactifs, utilisés pour la synthèse du ligand et de ses complexes, sont de qualité analytique et ont été utilisés sans purification préalable. Il s'agit des molécules suivantes :

II-1-a- Les réactifs

L'ensemble des réactifs utilisés dans étude sont regroupés dans le tableau suivant






Tableau II.1 : Réactifs utilisés pour la synthèse du ligand et de ses complexes.

Réactifs	Pureté %	Laboratoire
L'aldéhyde salicylique	99	Riedel-dehaen
L'acétoacétate d'éthyle	99	Sigma-Aldrich
Le thiosemicarbazide	97	Sigma-Aldrich
La pipéridine	99	Sigma-Aldrich
L'acide acétique	98	Sigma-Aldrich
Cuivre (II) chloride dihydraté	98	Sigma-Aldrich
Zinc (II) chloride	99	Sigma-Aldrich
Cobalt(II) chloride hexahydrate	98	Sigma-Aldrich
Nickel(II) chloride hexahydraté	98	Sigma-Aldrich

II-1-b- Les solvants

Le tableau II.2 regroupe tous les solvants utilisés pour notre synthèse

Tableau II.2 : Solvants utilisés pour la synthèse du ligand et de ses complexes.

Solvants	Caractères	Laboratoire	Toxicité
Ethanol	M = 46 g.mol ⁻¹ P _f = - 114 °C P _{eb} = 79 °C D = 0.789	Sigma-Aldrich	 Inflammable
Méthanol	M = 32.04 g.mol ⁻¹ P _f = - 98 °C P _{eb} = 65 °C d = 0.79 Pureté = 95 %	Sigma-Aldrich	 Toxique et inflammable
Acétone	M = 58.08 g.mol ⁻¹ P _f = - 94.6 °C P _{eb} = 56.05 °C d = 0.78 Pureté = 99 %	Sigma-Aldrich	 Inflammable et danger
Chloroform	M = 119.38 g.mol ⁻¹ P _f = - 64 °C P _{eb} = 61.3 °C d = 1.79 Pureté = 99%	Sigma-Aldrich	 Toxique et irritant
DMSO	M = 78.13 g.mol ⁻¹ P _f = 18.5 °C P _{eb} = 190.85 °C d = 0.867 Pureté ≥ 99.9 %	Sigma-Aldrich	 Irritant

II-2- Synthèse du ligand et de ses complexes

II-2-a- Synthèse du ligand (3-acétylcoumarinethiosemicarbazone ; HL)

La synthèse du ligand HL a été réalisée en deux étapes, en premier lieu on a synthétisé le réactif 3-acétylcoumarine suivi de la réaction de condensation directe d'un aldéhyde salicylique et de l'acétoacétate d'éthyle.

Synthèse de 3-acétylcoumarine

La 3-acétylcoumarine que nous avons synthétisé est obtenue à partir de la réaction de Knoevenagel qui nécessite l'utilisation d'un milieu basique. Cette réaction consiste en une condensation d'aldéhyde salicylique et de l'acétoacétate d'éthyle en quantités équimolaires en présence de quelques gouttes de pipéridine (comme catalyseur) à température ambiante. Un précipité

jaune 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.

La séquence réactionnelle est représentée dans le schéma II.1 suivant :

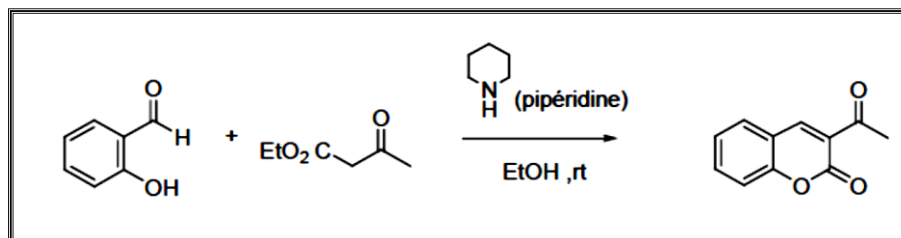


Schéma II.1 : Synthèse de la 3-acétylcoumarine

✚ Synthèse de la base de Schiff (3-acétylcoumarinethiosemicarbazone ; HL)

Un mélange de quantités équimolaires, de la thiosemicarbazide (5 mmole), et de la 3-acétylcoumarine (5 mmole), est mis en réaction dans un ballon de 100 ml contenant 15 ml de l'éthanol, puis quelques gouttes d'acide acétique ont été ajoutées sous agitation constante. Le mélange réactionnel est porté au reflux pendant un temps de 2 h, tout en suivant l'évolution de la réaction par CCM. A la fin de la réaction le mélange a été laissé au repos puis filtré. Le solide obtenu est recristallisé dans l'éthanol.

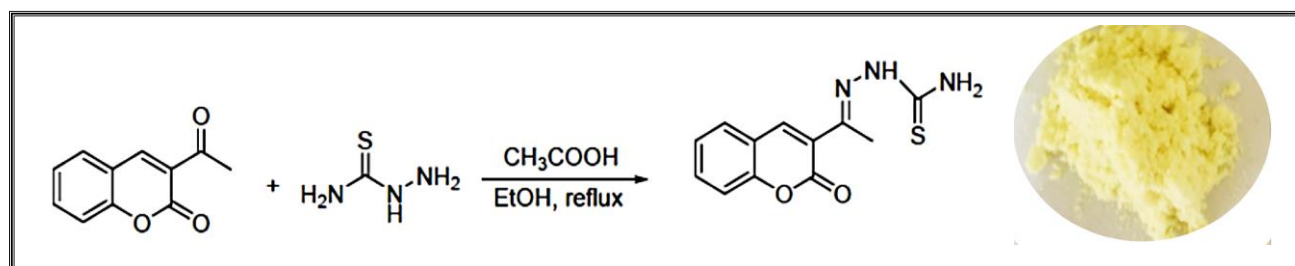


Schéma II.2 : Synthèse de la base de Schiff (HL)

II-2-b- Synthèse des complexes

D'une manière générale, les complexes métalliques de Cu(II), Co(II), Ni(II) et Zn(II) avec la 3-acétylcoumarinethiosemicarbazone (HL) sont synthétisés par addition d'une solution éthanoïque de sel métallique $MCl_2 \cdot nH_2O$ (2 mmoles) goutte à goutte à la solution du ligand (2 mmoles ; 0,522 g) dissoute dans un mélange de solvants éthanol/chloroforme (10/40 ml) dans un rapport stœchiométrique sel métallique/ligand de 1:1. La couleur des mélanges change juste après l'ajout des premières gouttes du sel métallique ce qui assure la formation instantanée des complexes. Le temps des réactions varie selon le sel métallique utilisé (entre 2 - 4h). Après refroidissement, les produits obtenus sont filtrés sur

un verre fritté puis ils sont lavés avec un mélange Chloroforme/éthanol chaud, enfin séchés dans l'étuve à 50°C.

II-3- Etude en solution de l'effet de la concentration du métal sur le ligand HL

Pour optimiser la complexation, une étude en solution a été réalisée afin de déterminer le rapport molaire M/L nécessaire pour la synthèse des complexes.

Des solutions d'égales concentrations ($C = 5 \cdot 10^{-4} \text{M}$) de chlorure de cuivre (II) et du ligand (HL) dans le chloroforme sont initialement préparées.

Une série de onze échantillons est ensuite préparée à partir de ces solutions mères, en faisant varier les concentrations du ligand et du métal comme suit : $f_L = 1, 0.9, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1$ et 0. Avec (f_L : fraction molaire du ligand, f_M fraction molaire du métal = $1 - f_L$).

II-4- Appareillages et méthodes d'analyses

La base de Schiff (3-acetylcoumarinethiosemicarbazone ; HL) et ses complexes synthétisés, ont été caractérisés par diverses méthodes analytiques et spectrales pour confirmer leurs structures.

II-4-a- Chromatographie sur couche mince (CCM)

La pureté du ligand synthétisé a été contrôlé 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. Les produits sont dissous dans le chloroforme et l'éluant utilisé est un mélange de Chloroforme-Méthanol (2ml/ 7 gouttes). La révélation des produits a été effectuée en utilisant l'iode sublimé.



Figure II.1 : La plaque CCM

II-4-b- Point de fusion

Les points de fusion du ligand et des complexes ont été mesurés à l'aide d'un appareil digital de type melting point Apparatus SMP30 au niveau du laboratoire pédagogique de chimie Pharmaceutique, département de chimie de l'UMMTO.



Figure II.2 : L'appareil de point de fusion

II-4-c- Analyse conductimétrique

Les mesures conductimétriques ont été effectuées au laboratoire de cinétique du département de chimie, de l'UMMTO, à l'aide d'un conductimètre de type Cond 1970i. Comme les complexes sont solubles dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), les mesures ont été prises pour des solutions de concentration égale à 10^{-3} M dans ce solvant. 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 suivante : $\Omega_M = \delta / C_M$.

II-4-d- Méthodes spectroscopiques

✚ Spectrophotométrie d'absorption Uv-visible

Les spectres Uv-visible ont été enregistrés en solution dans le DMSO à différentes concentrations et à température ambiante du laboratoire, à l'aide d'un spectrophotomètre Uv-visible de type Thermo Scientific EVOLUTION 220 relié à un ordinateur, au laboratoire LPCM de l'UMMTO.

✚ Spectroscopie infrarouge

Les spectres infrarouges des ligands et ceux des complexes correspondants ont été enregistrés à l'état solide à l'aide d'un spectromètre BRUKER α ALPHA-T, dans la gamme spectrale $4000-400 \text{ cm}^{-1}$, au centre de recherche (CRAPC).

✚ Spectroscopie RMN ^1H et ^{13}C

Les spectres RMN ^1H et ^{13}C dans le DMSO- d_6 ont été enregistrés à l'aide d'un spectromètre Bruker Avance III à température 25°C au centre de recherche CRAPC de Bousmail. Les déplacements chimiques ont été rapportés en parties par million (ppm) en utilisant le TMS comme référence interne.

II-5- Etude de l'activité biologique

II-5-a- Activité antioxydante

Plusieurs méthodes (la méthode du radical DPPH, la méthode FRAP,...), sont utilisées pour mesurer l'activité antioxydant dans le système biologique in vitro mais il reste très compliqué in vivo [74]. Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron.

La méthode choisie pour étudier l'évaluation de l'activité antioxydante de nos échantillons synthétisés est la méthode de piégeage du radical libre DPPH^{*}

La méthode du DPPH est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH^{*} en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH), qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire (DPPH-H).

La réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle, initialement violet foncé sous sa forme libre, devient jaune pâle après transfert d'électron par des composés antioxydants. Cette réduction qui se traduit par une diminution de l'absorbance de la solution de DPPH en présence d'antioxydant est suivie par spectrophotométrie à 517 nm par rapport à un témoin d'antioxydant commercial.

L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical libre est généralement estimée par le pourcentage d'inhibition donné par la relation suivante :

$$\%I = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀ : Absorbance à 518nm du standard (contient tous les éléments mais sans aucun échantillon).

A₁ : Absorbance à 518nm de l'échantillon

Les produits testés (base de Schiff et ses complexes (de cuivre, de cobalt, de nickel et de zinc)) sont préparés à des concentrations de 10⁻³ mol/L dans le DMSO.

Mode opératoire

Notre étude a été réalisée selon la procédure décrite par Mansouri et al. [75] avec quelques modifications :

- La solution de DPPH^{*} est préparée par la solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100 mL d'éthanol ;
- Les composés ligand et ses complexes métalliques ont été dissous dans du DMSO pour obtenir des solutions mères de 0.8mg/ml ;
- La concentration des composés à tester a été diluée avec du DMSO pour avoir des concentrations finales de 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.5 et 0.025 mg/ml pour tous les composés ;

- 40 μ L des différentes dilutions ont été ajoutés à 2 mL de solution éthanolique de DPPH. Le mélange réactionnel a été agité vigoureusement et incubé une heure à la température du laboratoire et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517 nm en utilisant le mélange DMSO et solution de DPPH• comme blanc (40 μ L de DMSO dans 2 mL de solution DPPH•). Deux essais ont été réalisés pour chaque concentration, puis la moyenne des deux mesures a été calculée. L'acide ascorbique pris comme contrôle positif a été préparé dans les mêmes conditions que les échantillons.

II-5-b- Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne du ligand et de ses complexes a été réalisée au niveau du département de biologie de l'UMMTO. Cette étude a été menée contre trois souches bactériennes, en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide (méthode des disques).

✚ Souches bactériennes

- *Bacillus cereus*

Les souches de *B. cereus* sont constituées de bacilles Gram positif de 1,4 μ m habituellement observés en paires ou en chaînettes courtes [76]. Les bacilles présentent un métabolisme respiratoire aéro-anaérobie facultatif et sont dotés d'une capacité à sporuler lors de l'établissement des conditions défavorables à leur croissance.

- *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*

Ce sont des bacilles à gram négatif, de forme non sporulée, elles sont aérobies, mobiles grâce à la présence de flagelles, il s'agit de bactérie résistante pour plusieurs antibiotiques [77]. Elle est responsable de 16% des cas de pneumonie nosocomiale, 12% des infections urinaires [78].

- *Staphylococcus aureus ATCC 25923*

Ce sont des cocci gram positif, de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires (petites chaînes). Elles sont habituellement non capsulées ou possèdent des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives. Elles sont responsables des infections postopératoires de blessures, endocardite aiguë, intoxication alimentaire [79].

✚ Réalisation de l'antibiogramme

➤ Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 18h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacun des souches bactériennes à tester.

La standardisation de la suspension à 106 UFC/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 625nm. 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 Bunsen.

Les disques imprégnés de 20µl de l'échantillon à tester sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.

- Les échantillons à tester ont été dissout dans le DMSO à une concentration de 10mg/ml.
- Le témoin négatif : représente le solvant utilisé pour la préparation des échantillons soit le DMSO.
- Le témoin positif : représente l'antibiotique de référence de la marque OXOID (Chloramphénicol 30µg).
- Le milieu de culture, les disques en papier Wattman, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes ont été stérilisés à l'autoclave pendant 2h.

➤ **Incubation**

Les boîtes de pétri sont ensuite fermées et mise à l'étuve à 37°C pendant 24h.

➤ **Lecture des antibiogrammes**

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques.

II-5-b- Activité antifongique

➤ **Réalisation de l'antibiogramme**

- Préparation des souches fongiques

Les champignons (*Alternaria*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium*, *Penicilium*, Pen G) ont été cultivés sur le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) dans des boîtes de pétri par ensemencement avec un écouvillon pour être réactivés puis incubés durant 72h à 27°C. Ils ont subi des repiquages successifs par la suite.

- Préparation du milieu extrait de malt de levure(YM) et imprégnation des disques

On verse aseptiquement (devant un bec Bunsen), et dans des boîtes de pétri la quantité nécessaire d'extrait de malt. Cette préparation est préalablement obtenue par fusion dans un Bain-marie et ensuite refroidie à température ambiante.

Imprégner des disques de papier Wattman stériles et vierges de 20 μ L de produit à tester (Complexes métalliques et ligand dissous dans un solvant approprié).

A partir des boîtes où on a repiqué nos souches (milieu PDA) on prélève des spores et on les dépose sur la surface du milieu YM de chaque boîte de pétri en présence des disques imbibés par les solutions.

Finalement, la lecture des antibiogrammes est faite après sept jours d'incubation à 28°C.

CHAPITRE III
INTERPRETATION DES RESULTATS

La lutte contre les bactéries constitue une nécessité pour protéger l'état de santé de l'humanité. Mais malheureusement les bactéries sont en développement génétique permanent, cette caractéristique leur permet d'acquérir une résistance aux antibiotiques. Pour ces raisons, la demande pour de nouveaux et de meilleurs composés chimiques ayant une activité antimicrobienne est aujourd'hui un domaine important de la recherche.

Les thiosemicarbazones (TSC) sont une catégorie de bases de Schiff, ils sont au centre des préoccupations des chimistes et des biologistes au cours de ces dernières décennies en raison de leur large gamme d'effets pharmacologiques. Pour obtenir une meilleure activité, différentes séries de TSC sont développées en modifiant le système hétéroaromatique de leurs molécules [80].

La synthèse de dérivés de thiosemicarbazone à base des coumarines et de ses complexes de métaux de transition a beaucoup attiré notre attention vue leurs diverses applications biologiques et pharmacologiques [81]. Les différentes méthodes de synthèse adoptées et les résultats d'analyses expérimentaux obtenus sont rapportés dans ce chapitre.

III-1- Synthèse, analyse et caractérisation de la 3-acétylcoumarine thiosemicarbazone (HL)

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

La condensation directe de la thiosemicarbazide sur la 3-acétylcoumarine, en présence de l'acide acétique comme catalyseur conduit à la formation de 3-acétylcoumarine thiosemicarbazone HL (Schéma III.1). Ce dernier est obtenu avec un bon rendement. La pureté du produit de synthèse a été confirmée par CCM et sa structure est identifiée par différentes techniques d'analyses, spectrophotométrie Uv-visible, spectroscopies RMN et IR.

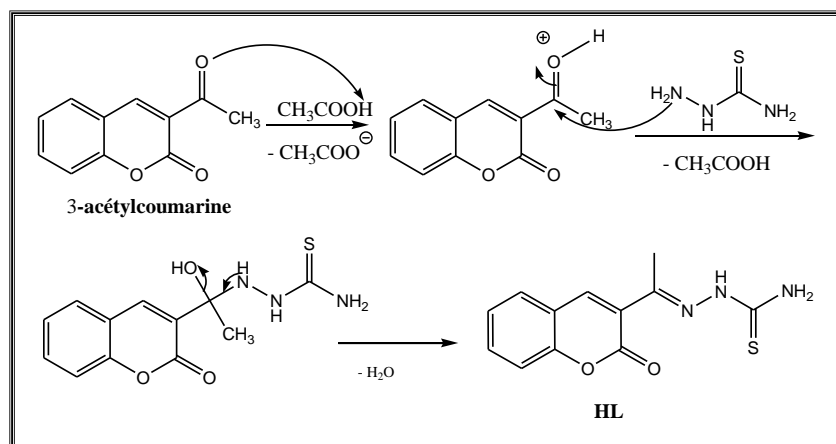



Schéma III.1 : Mécanisme réactionnel de la synthèse du ligand HL

III-1-b- Propriétés physico-chimique du ligand HL

Le tableau III.1 présente quelques propriétés physico-chimiques du ligand **HL**. La 3-acétylcoumarine thiosemicarbazone isolée à l'état solide est une poudre de couleur jaune, insoluble dans l'eau, et soluble dans les solvants organiques tels que le DMSO, l'éthanol, le méthanol et le chloroforme.

Tableau III.1 : Propriétés physico-chimiques du ligand **HL**

Aspect et couleur	Formule chimique $C_{12}H_{11}N_3O_2S$						P_f (°C)	Rdt (%)
	% C	% H	% N	% O	% S	M (g/mol)		
							200	85
	55.17	4.21	16.09	12.26	12.26	(261)		

La valeur élevée du rendement (85%) de la réaction, nous donne une idée sur la grande réactivité de la thiosemicarbazide sur la 3-acétylcoumarine.

III-1-c- Caractérisation du ligand par méthodes spectroscopiques

Les méthodes spectroscopiques fournissent des informations sur l'identité, la structure et les niveaux énergétiques des atomes et des molécules grâce à l'analyse de l'interaction des rayonnements électromagnétiques avec la matière.

❖ Analyse par spectroscopie Infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge est utilisée pour l'identification des groupes fonctionnels des composés. Les bandes caractéristiques d'une molécule que l'on souhaite caractériser sont identifiées par la table de corrélation de la spectroscopie infrarouge présente dans la littérature scientifique.

Les spectres IR ont été enregistrés dans le domaine $400-4000\text{ cm}^{-1}$ (Fig. III.1). Les bandes caractéristiques de la 3-acétylcoumarine obtenues après l'analyse de son spectre infrarouge sont comme suit : ν (cm^{-1}) : 1737 (C=O pyrone); 1674 (C=O cétone aliphatique); 1157 (C-O-C coumarine); 1608 (C=C aromatique) [82].

Parmi les bandes les plus dignes d'être relevées et qui caractérisent le ligand **HL**, celles qui correspondent aux groupements C=N, N-N, NH_2 , N-H, C-N, C=S et C=O de la coumarine.

La comparaison du spectre IR de la 3-acétylcoumarine thiosemicarbazone et celui de la coumarine du départ montre clairement la formation du produit attendu.

Le spectre IR du ligand **HL** a montré une bande intense à 1715cm^{-1} attribuée à la vibration

d'élongation de la double liaison C = O de la coumarine, ceci confirme la présence de cette dernière dans la structure du ligand synthétisé. Nous avons également remarqué la disparition de la bande caractéristique de la cétone aliphatique située à 1674 cm^{-1} sur le spectre de la 3-acétylcoumarine et l'apparition d'une nouvelle bande à 1601 cm^{-1} attribuée à la vibration d'élongation de la liaison C=N, ce qui prouve la formation de la base de Schiff [82, 83]. Sur le même spectre, de nouvelles bandes d'intensités moyennes sont apparues entre $3148 - 3383\text{ cm}^{-1}$, à 1070 cm^{-1} et à 1284 cm^{-1} dues aux vibrations d'élongation des liaisons N-H des groupements (N-H et NH_2), N-N et C-N respectivement [83, 63], et donc formation du groupement thiosemicarbazone.

La bande $\nu(\text{S-H})$ d'intensité moyenne située généralement autour de $2700\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ est absente sur le spectre IR du ligand. En revanche, la bande $\nu(\text{NH})$ est présente à 3148 cm^{-1} d'où le ligand existe sous sa forme thione à l'état solide [84]. Celle-ci est confirmée par la présence de la bande de vibration de la double liaison carbone-soufre (C=S) à 1329 et 858 cm^{-1} [84,85].

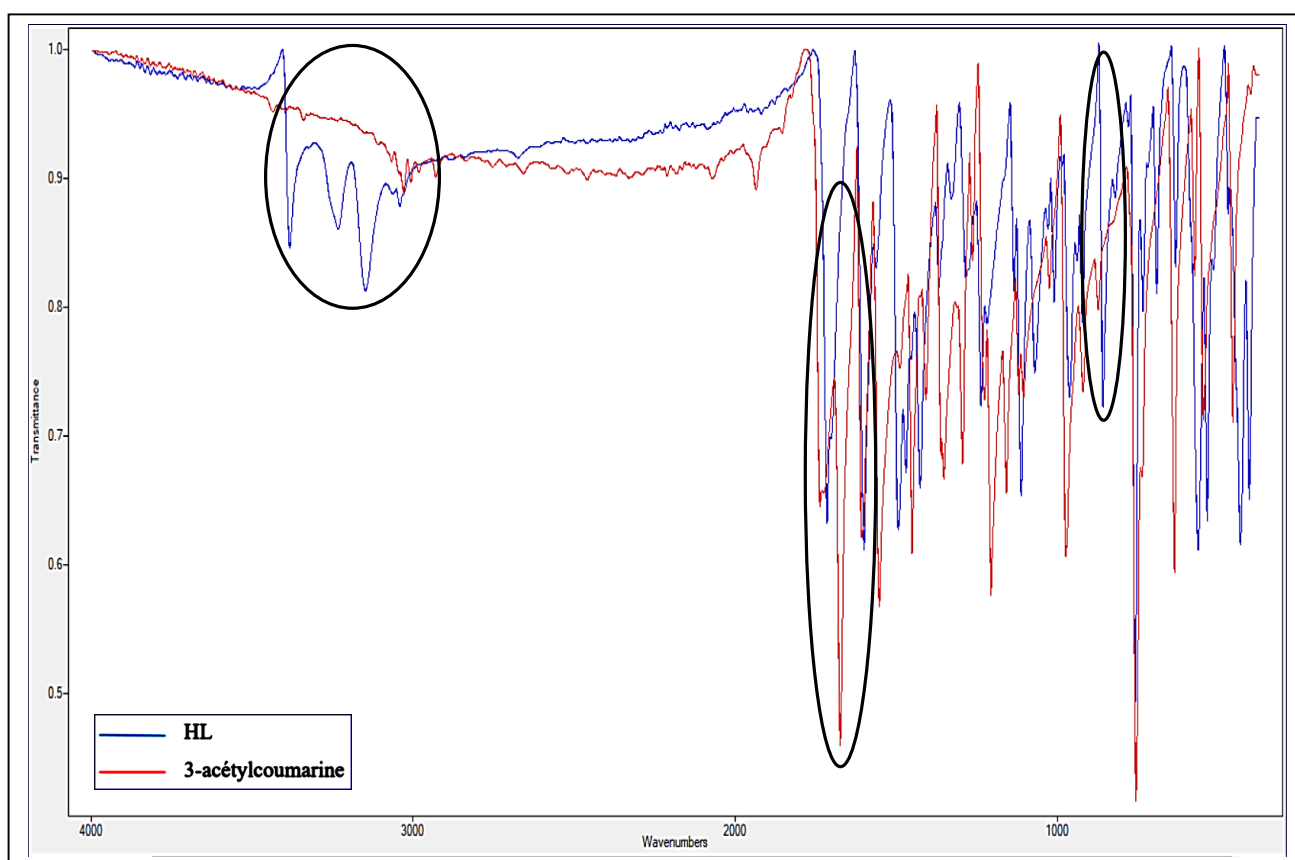


Figure III.1 : Spectre infrarouge du ligand HL et de 3-acétylcoumarine

❖ Analyse par spectrophotométrie Uv-visible

La spectrophotométrie ultra-violette et visible est à la fois une méthode d'analyse qualitative et quantitative. Elle est essentiellement fondée sur le phénomène d'absorption d'énergie lumineuse par une substance donnée.

Le spectre d'absorption Uv-visible du ligand enregistré dans le DMSO à une concentration de $2 \cdot 10^{-4} \text{M}$ (Fig. III.2), montre deux bandes d'absorption situées à 280nm et à 350nm attribuées respectivement aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ du noyau aromatique et $n \rightarrow \pi^*$ du groupement imine ($\text{C}=\text{N}$) [64]. La position de ces bandes est différente de celle de la 3-acétylcoumarine, indiquant la formation du ligand HL.

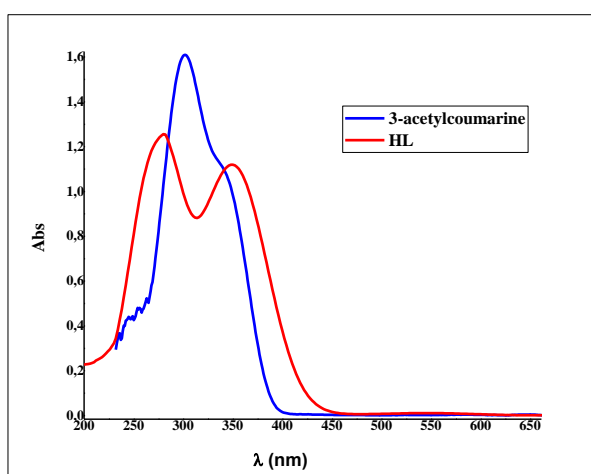


Figure III.2 : Spectres d'absorption électroniques de ligand et de la 3-acétylcoumarine dans le DMSO.

❖ Analyse par spectrométrie RMN du proton et du carbone

La résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone est très utilisée pour la caractérisation des structures des molécules organiques. Elle permet la vérification du type et le nombre de protons et de carbones existants dans la molécule.

Le spectre RMN du proton du ligand **HL** enregistré dans le DMSO deutéré se caractérise par les déplacements chimiques significatifs de la forme tautomère thiol-thionique (Fig. III.3) du groupement thiosemicarbazone.

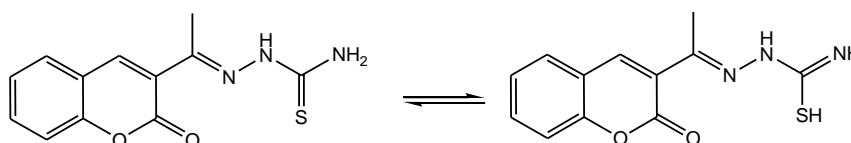


Figure III.3 : Formes tautomères du ligand **HL**.

Le spectre RMN ^1H du le ligand HL représenté sur La figure III.4 nous a permis d'identifier

tous les protons caractéristiques de la molécule [27, 64, 84].

- Un signal à 10,41 ppm caractéristique du proton $-N=C-SH$ de la forme thiol ;
- Les protons $NH-C=S$ de la forme thione et imine thione $NH=C-SH$, résonnent autour de 8,38 ppm et 7,94 respectivement ;
- Le pic à 8,44 ppm correspond au proton C-H en position 4 de la coumarine ;
- Les pics qui apparaissent sous forme d'un massif entre 7,38 ppm et 7,76 ppm sont caractéristiques des protons aromatiques du groupement coumarinique ;
- A 2,26 ppm, un singulet est apparu en raison de la résonance des protons de $CH_3-C=N$.

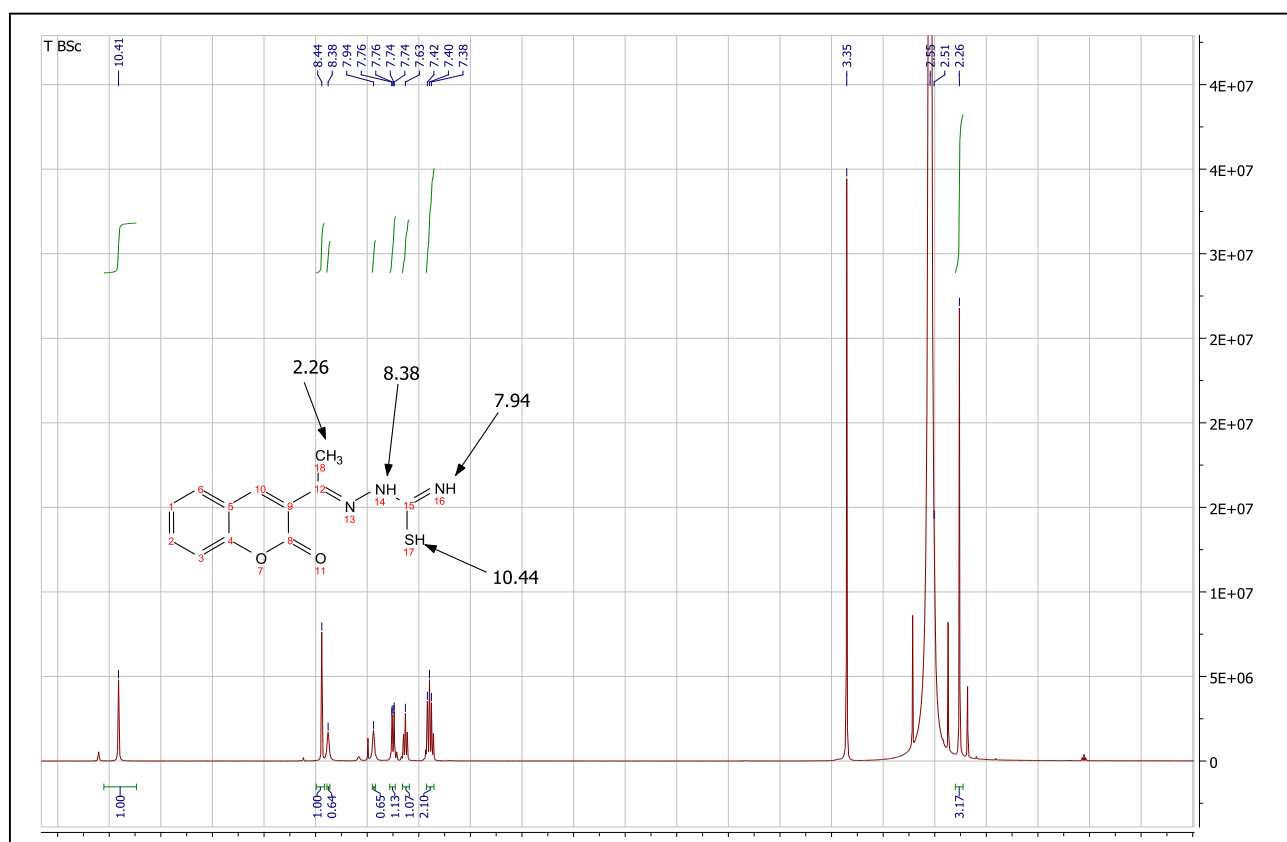


Figure III.4 : Spectre RMN du 1H du ligand **HL** dans le $DMSO-d_6$

L'analyse du spectre RMN ^{13}C du ligand (Fig.III.5), a confirmé l'identification structurale. La présence des carbones aromatiques a été confirmée à 116,41-147,41 ppm. Les groupes fonctionnels : thione ($C=S$), lactone ($C=O$) et imine ($C=N$) ont été confirmés à 179,73 ppm, 159,47 ppm et 153,82 ppm, respectivement. Le déplacement chimique du carbone du groupement $-CH_3$ porté par la fonction imine est observé 16,47 ppm.

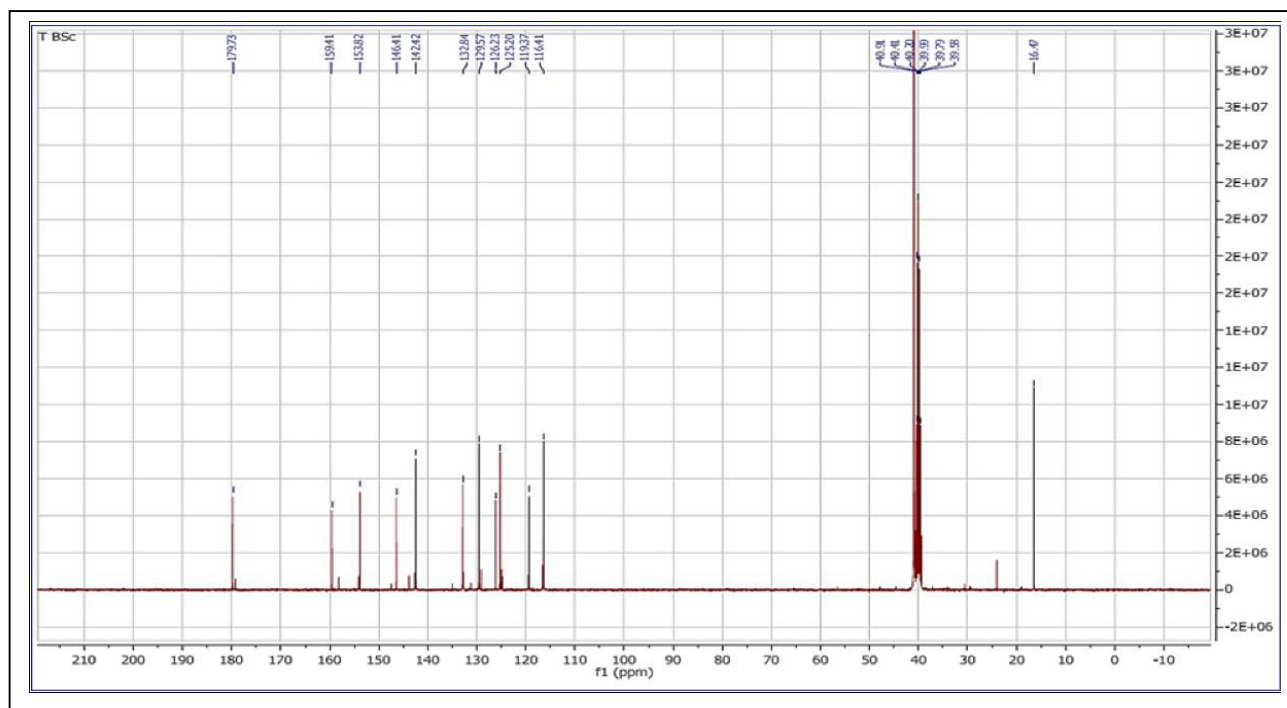


Figure III.5 : Spectre RMN du ^{13}C du ligand HL dans le DMSO- d_6

III-1-d- Étude en solution par spectrophotométrie Uv-visible du comportement du ligand vis-à-vis du cuivre (II)

Afin d'optimiser la complexation du ligand HL vis-à-vis de l'ion métallique Cu (II), une étude par spectrophotométrie Uv-visible sur l'interaction métal-ligand a été réalisée selon la méthode décrite dans la littérature [86].

L'application de la méthode de Job et celle de Purohit [87, 88], nous a permis d'établir la stœchiométrie, la constante de stabilité K_s et le coefficient d'extinction molaire ϵ du complexe obtenu et du ligand. L'énergie de Gibbs ΔG° du complexe a été également estimée par utilisation de l'équation suivante : $\Delta G^\circ = -RT \ln K_s$

Avec : R étant la constante des gaz parfait exprimé en $\text{Joule} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$.

T : la température ambiante (298K).

Des solutions d'égales concentrations ($C = 5 \cdot 10^{-4} \text{M}$) de chlorure de cuivre (II) et du ligand (HL) dans le chloroforme sont initialement préparées.

Une série de onze échantillons est ensuite préparée à partir de ces solutions mères, en faisant varier les concentrations du ligand et du métal comme suit : $f_L = 1, 0.9, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1$ et 0. Avec (f_L : fraction molaire du ligand, f_M fraction molaire du métal = $1 - f_L$).

La réalisation des spectres électroniques de chacune des onze solutions entre 400 et 700 nm (Fig.III.6) nous permet tout d'abord de dégager la longueur d'onde maximale λ_{max} inhérente à ce

complexe ainsi que la fraction molaire maximale de ligand (f_{\max}) correspondant à l'absorbance maximale, autrement dit, au maximum de complexe formé.

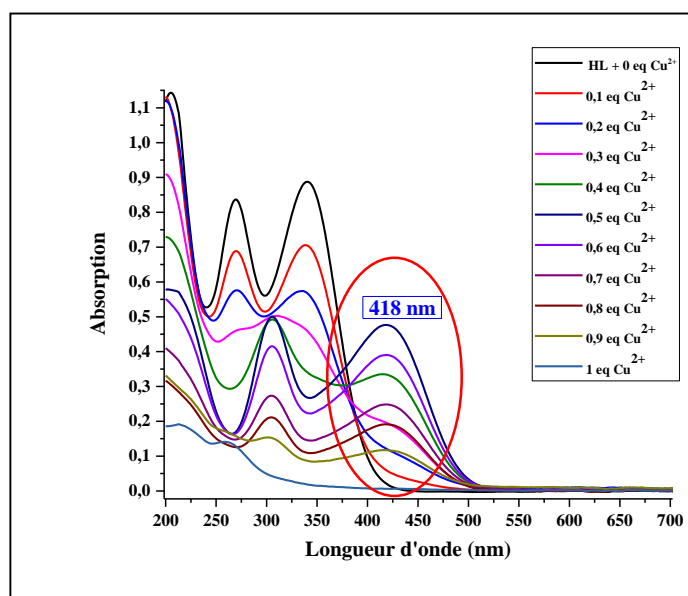
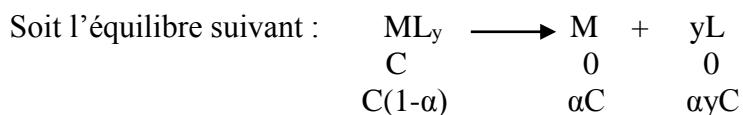


Figure III.6 : Evolution de spectres d’absorption Uv-visible lors de la complexation du ligand HL avec l’ion métallique Cu(II) dans le chloroforme

La constante de dissociation α est déduite graphiquement par la méthode de Purohit et coll. [88] (figure III.7). La valeur de cette dernière nous permet enfin de calculer la constante de stabilité K_s selon la méthode décrite ci-après.

Un complexe de type ML_y a été choisi à titre d’exemple [88] :



α étant le degré de dissociation du complexe avec $\alpha = ((EC - ED) / EC) * 100$

- ✚ EC : absorbance maximale théorique du complexe.
- ✚ ED : absorbance maximale expérimentale du complexe.
- ✚ Le point C est obtenu par intersection des deux tangentes de la courbe de Job.
- ✚ Le point D c’est l’absorbance maximale correspondant à f_{\max} .

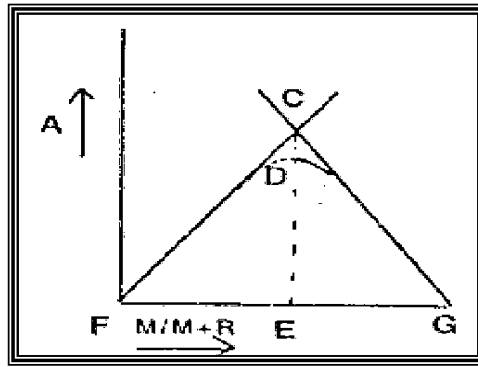


Figure III.7 : Méthode graphique de calcul du degré de dissociation α d'un complexe [88]

La constante de stabilité K_s est exprimée comme suit :

$$K_s = [ML_y] / ([M][L]^y) = [1-\alpha] / ([yC]^y[\alpha]^{y+1})$$

C : concentration initiale de l'un des deux réactifs (les réactifs de départ ont la même concentration initial C).

L'expression du coefficient d'extinction molaire ϵ_{max} est exprimée comme suit :

$$\epsilon_{max} = Abs_{max} / [complexe] \cdot \ell = Abs_{max} / [M_xL_y] \cdot \ell = Abs_{max} / C(1-\alpha) \cdot \ell$$

Avec Abs_{max} : absorbance maximale du complexe formé en solution. $C = [M_xL_y]$: concentration du complexe ($mol \cdot l^{-1}$).

ℓ : la largeur du trajet optique (1cm).

Le tracé de la variation des absorbances des différentes solutions du complexe Cu-HL à λ_{max} (418 nm) en fonction des fractions molaires f_L (Fig. III.8), nous permet de relever la valeur de f_{max} (0,5) permettant d'établir pour ce complexe la stœchiométrie ML.

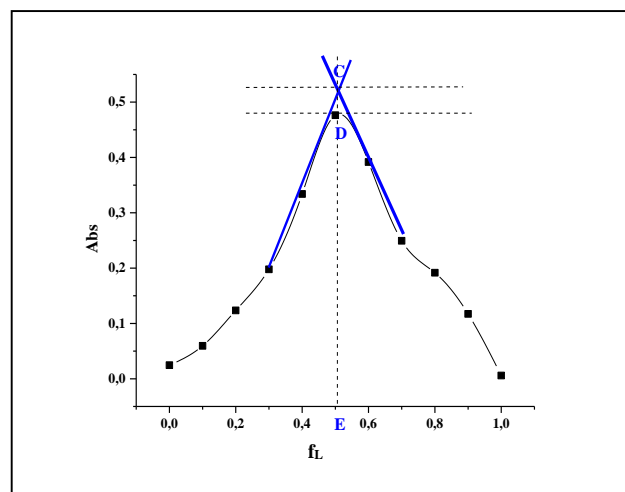


Figure III.8 : Méthode de Job. Variation de l'absorbance du complexe [Cu-HL] dans le chloroforme en fonction de la fraction f_L du ligand. $\lambda_{max} = 418 \text{ nm}$

L'ensemble des résultats de calcul sont regroupés dans le tableau III.2.

Tableau III.2 : Valeurs d'EC, ED et α des complexes de Cu(II) avec HL dans le chloroforme obtenus par la méthode des variations continues.

EC	ED	$\alpha = ((EC - ED) / EC) * 100$	Ks	ϵ (mol ⁻¹ .l.cm ⁻¹)	ΔG° (kJ/mol)
0,519	0,480	7,46	3,32*10 ⁶	9604	-37,18

La valeur de Ks obtenue montre bien la stabilité du complexe [Cu-HL] de stœchiométrie M-L (1 :1). La valeur négative de l'enthalpie libre (ΔG°) montre le caractère spontané de la réaction de complexation.

III-2- Synthèse et caractérisation des complexes

Après la synthèse et la caractérisation de la 3-acétylcoumarinethiosemicarbazone, ses complexes de cuivre (II), cobalt (II), nickel (II) et de zinc (II) ont été isolés à l'état solide. La spectrophotométrie d'absorption Uv-visible, ainsi que les spectroscopies infrarouge (FT-IR), et de résonance magnétique nucléaire du proton (¹HNMR) ont été mises en œuvre afin de confirmer les structures proposées. Nous avons également envisagé des mesures de la conductivité molaire dans le DMSO de tous les composés afin d'évaluer leur aptitude à conduire l'électricité.





III-2-a- Propriétés physico-chimiques des complexes synthétisés

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 très solubles dans la DMF et le DMSO.

Les propriétés physiques (couleur, température de fusion, conductivité) et le calcul théoriques des pourcentages en élément C, H, O, S et M des complexes sont regroupés dans le tableau III.3.

À température du laboratoire, la conductivité molaire a été mesurée en solution à une concentration de 10⁻³ M pour chaque complexe dans le DMSO. Les résultats de mesures montrent que les complexes de cuivre et de zinc sont des non électrolytes [89, 90], tandis que ceux de nickel et cobalt indiquent un caractère électrolytique de type 1:1 pour le complexe de cobalt [91] et 1:2 pour le complexe de nickel [92].

Tableau III.3 : Propriétés physico-chimiques des complexes

Complexe	CoL ₂	CuL ₂	NiL ₂	ZnL ₂
Aspect et couleur				
Formule chimique	C ₂₄ H ₂₂ N ₆ O ₄ S ₂ ClCo	C ₂₄ H ₂₁ N ₆ O ₄ S ₂ ClCu	C ₂₄ H ₂₂ N ₆ O ₄ S ₂ Cl ₂ Ni	C ₂₄ H ₂₃ N ₆ O ₅ S ₂ ClZn
%C	46.80	46.45	44.20	45.01
%H	3.44	3.41	3.40	3.62
%N	13.64	13.54	12.89	13.12
%O	10.39	10.31	9.81	12.49
%S	10.41	10.33	9.83	10.01
%M	9.57	10.24	9.00	10.20
M (g/mol)	615.98	620.59	650.20	640.45
P _f (°C)	226	210	245	243
Δ _M (Ω ⁻¹ .cm ² .mole ⁻¹)	48	17.1	110	5.5

III-2-b- Caractérisation des complexes par méthodes spectroscopiques

Les complexes synthétisés ont été caractérisés au moyen des méthodes spectroscopiques classiques à savoir : la spectrométrie infrarouge (IR) et la spectrophotométrie d'absorption Uv-visible.

❖ Spectrométrie Infrarouge (IR)

La comparaison des spectres infrarouges du ligand avec ceux des complexes nous permet d'identifier les sites de coordination.

Les spectres IR ont été tracés dans le domaine 400-4000 cm⁻¹ (Fig. III.9). Les fréquences des principales bandes de vibration caractéristiques du ligand et de ses complexes de Ni(II), Cu(II), Co(II) et Zn(II) sont regroupées dans le tableau III.4.

En examinant les spectres IR du ligand et de ses complexes, on peut conclure que les complexes formés sont de type ML₂, de sorte que la première molécule du ligand est liée sous sa forme thione et la seconde est liée sous sa forme thiol [91]. Trois modes de coordination pour le ligand ont été caractérisés :

- ✚ Pour le complexe de nickel, les deux molécules du ligand se sont liées sous leur forme thione de type bidentate neutre avec les deux atomes (S et O), cela est justifié par l'absence de nouvelles bandes autour de 1600 cm^{-1} ($\nu(\text{C}=\text{N})$) et de 940 cm^{-1} ($\nu(\text{C}-\text{S})$). Ce résultat est confirmé par la valeur élevée de la conductivité molaire ($\Lambda_M = 110\ \Omega^{-1}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mole}^{-1}$) indiquant la formation d'un complexe électrolyte de type 1 : 2 [92]. La fréquence de la bande de vibration de la liaison C=S initialement apparue à 1329 cm^{-1} a subi un déplacement vers les faibles fréquences (1311 cm^{-1}) suggérant la coordination du ligand via l'atome de soufre sous la forme thione [27]. Sur le même spectre, le pic fin attribué à la vibration d'élongation de la liaison C=N de la fonction azomethine (C=N) qui était à 1601 cm^{-1} [82, 83] reste pratiquement inchangé sur le spectre du complexe, cela montre que le groupement C=N n'a pas participé à la formation du complexe.
- ✚ En effet, dans les autres complexes, la deuxième molécule du ligand est liée à l'atome central sous sa forme thiol avec le déplacement de l'atome d'hydrogène du groupe -NH (dans le cas des complexes de cuivre et cobalt) ou -NH₂ (dans le cas du complexe du zinc) au groupe C=S, d'où le ligand est de type bidentate (OS) dans le cas des deux complexes de cobalt et de zinc et de type tridentate (NOS) avec une charge négative portée par le soufre. Ce résultat est confirmé par l'apparition de deux vibrations $\nu(\text{C}=\text{N})$. L'une d'elles, due au groupement (C=N) du groupement thiosemicarbazone qui est pratiquement constante par rapport à celle retrouvée dans le spectre du ligand libre, tandis que l'autre observée dans l'intervalle $1581-1694\text{ cm}^{-1}$ est due à la nouvelle bande (C=N) formée comme un résultat de la thioénolisation. De plus, la nouvelle bande observée dans la région $935-946\text{ cm}^{-1}$ due à $\nu(\text{C}-\text{S})$ [83] est un support supplémentaire pour la thioénolisation et la participation du groupe thiol (C-S) à la coordination du ligand aux ions métalliques.

Comparativement toujours au spectre du ligand, les bandes de vibration de la liaison N-H situées entre $3148 - 3383\text{ cm}^{-1}$ sur le spectre du ligand, se sont retrouvées sur les spectres de tous les complexes ce qui indique que cet azote n'est pas impliqué dans la formation des complexes. Le déplacement de la bande de vibration d'élongation de la liaison (C=O) du noyau de la coumarine nous amène à déduire l'implication de l'atome d'oxygène dans la complexation. Il est à noter que le déplacement significatif de la fréquence du groupement (C=O) des complexes de cobalt et nickel peut être expliqué par la formation de liaison hydrogène inter et/ou intramoléculaire [91].

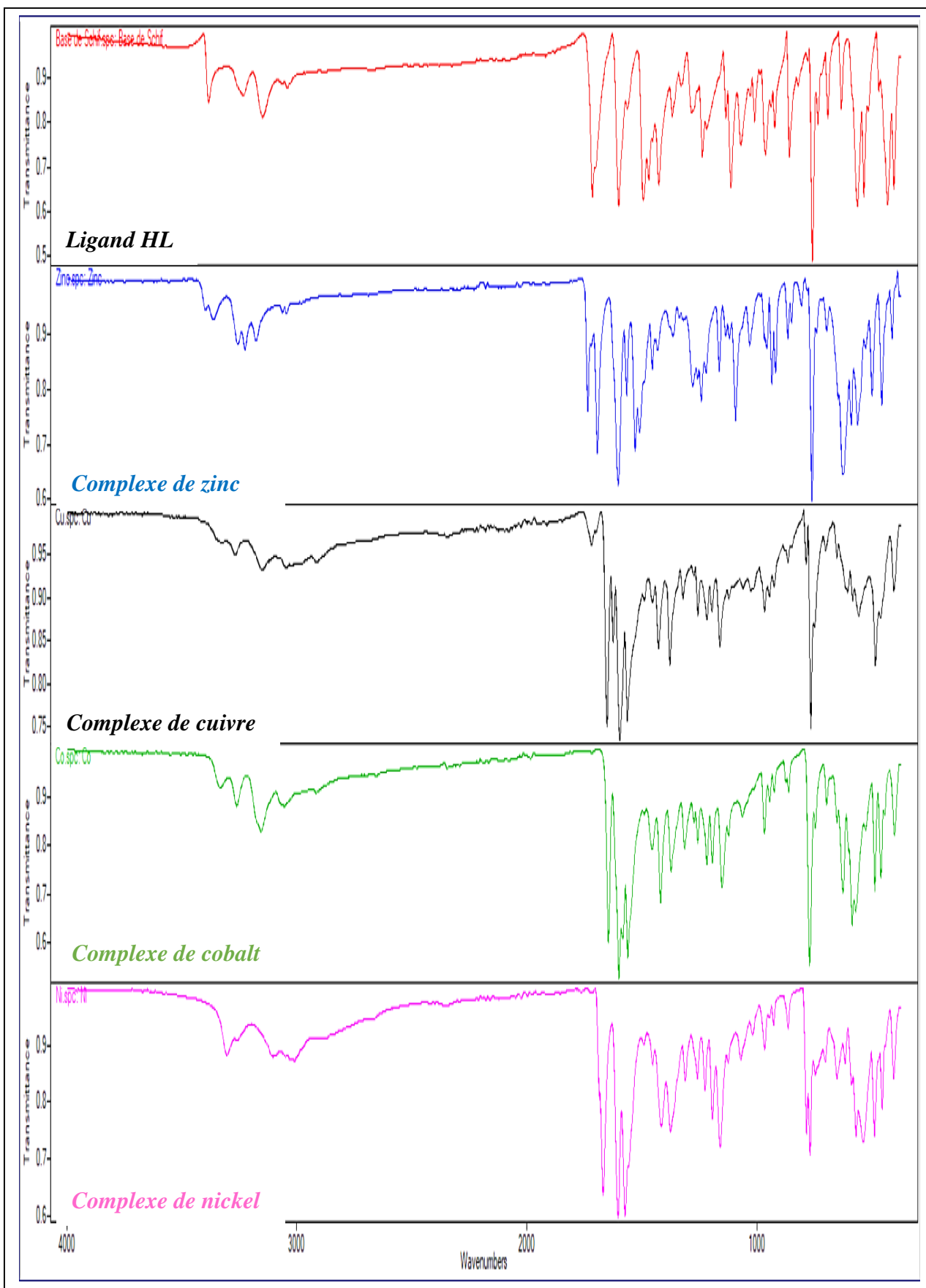
Le spectre IR du complexe de zinc fait apparaître deux nouvelles bandes à 3396 cm^{-1} et à 3225 cm^{-1} . La première est attribuée à la vibration de la liaison O-H de H₂O de coordination qui est confirmé par l'apparition d'une autre bande de faible intensité à 849 cm^{-1} [27] et la deuxième est probablement attribuée à la vibration de la liaison N-H résultante de la thioénolisation.

Egalement pour le spectre IR du complexe de cuivre qui a montré un nouveau pic situé à 1624 cm^{-1} qui peut être attribué à la coordination du groupement C=N à l'ion Cu^{2+} .

En plus des modifications entraînées par la complexation, apparaissent de nouvelles bandes vers les basses fréquences situées entre $606 - 586\text{ cm}^{-1}$, $584 - 487\text{ cm}^{-1}$ et $485 - 444\text{ cm}^{-1}$ dues aux vibrations $\bar{\nu}$ (M-O), $\bar{\nu}$ (M-N) et $\bar{\nu}$ (M-S) respectivement [93, 94].

Tableau III.4 : Principales bandes IR du ligand et de ses complexes (en cm^{-1}).

Composés Attribution	HL	CuL	ZnL	NiL	CoL
$\bar{\nu}_{\text{H}_2\text{Ocoord}}$	----	----	3396	----	----
$\delta_{\text{H}_2\text{Ocoord}}$	----	----	849	----	----
$\bar{\nu}_{\text{as}}(\text{NH}_2)$	3383	3325	3363	3304	3332
$\bar{\nu}_{\text{s}}(\text{NH}_2)$	3232	3269	3256	3260	3261
$\bar{\nu}_{(\text{N-H})}$	3148	3150	3177	3103	3156
$\bar{\nu}_{(\text{SCN-H})}$	---	---	3225	---	---
$\bar{\nu}(\text{C=O})$	1715	1718	1735	1669	1646
$\bar{\nu}(\text{C-O-C})$	1113	1121	1119	1125	1123
$\bar{\nu}(\text{C=N})$	1601	1596 (1624)	1603	1604	1600
$\bar{\nu}(\text{SC=N})$	---	1651	---	---	1581
$\bar{\nu}(\text{SC=NH})$	---	---	1694	---	---
$\bar{\nu}(\text{C=C})$	1563	1563	1566	1573	1561
$\bar{\nu}(\text{C=S})$	1329	1321	1320	1311	1314
$\delta(\text{C=S})$	858	878	865	864	862
$\bar{\nu}(\text{S-H})$	---	---	---	---	---
$\bar{\nu}(\text{C-S})$	---	946	935	----	944
$\bar{\nu}(\text{N-N})$	1070	1061	1093	1070	1062
$\bar{\nu}(\text{C-N})$	1284	1256	1258	1258	1257
$\bar{\nu}(\text{M-S})$	---	485	457	459	444
$\bar{\nu}(\text{M-N})$	---	584	500	488	487
$\bar{\nu}(\text{M-O})$	---	606	590	588	586



Figures III.9 : Spectres IR du ligand et de ses complexes.

❖ Spectrophotométrie Uv-visible

L'étude spectrophotométrie Uv-visible des complexes est très utilisée pour déterminer la valence, la géométrie de l'ion métallique et d'avoir des informations sur la nature des liaisons M-L.

Les spectres électroniques du ligand HL de ses complexes métalliques (Fig. III.10) ont été mesurés dans le DMSO entre 200-1100 nm, à température du laboratoire. Les longueurs d'onde d'absorption, leurs attributions et les coefficients d'extinction molaire maximum sont rapportées dans le tableau III.5.

A l'exception du spectre d'absorption électronique du complexe de cuivre, les spectres des complexes Ni (II), Co (II) et Zn (II) ne montrent aucun déplacement des bandes d'absorption caractéristiques du ligand attribuées aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ (C=C) et $n \rightarrow \pi^*$ (C=N), cela a été considéré comme une preuve que le groupement imine (C=N) n'a pas participé à la formation des complexes de nickel, cobalt et zinc. Ce résultat soutient et confirme les résultats de la spectroscopie infrarouge.

L'interprétation des spectres visible des complexes de cuivre (II) est généralement compliquée en raison de la distorsion de Jahn-Teller et de la faible symétrie de l'environnement autour de l'ion Cu^{2+} [95]. Il est à noter que l'effet Jahn-Teller est souvent responsable de l'apparition d'une faible bande vers les longueurs d'ondes élevées. Cet effet se traduit généralement par la transformation de l'environnement octaédrique autour de l'ion Cu^{2+} en un octaèdre déformé. La levée de dégénérescence accompagnant cette baisse de symétrie conduit à un dédoublement des états 2E_g en (${}^2B_{1g}$, ${}^2A_{1g}$) et ${}^2T_{2g}$ en (${}^2B_{2g}$, 2E_g).

Le spectre d'absorption électronique du complexe de cuivre enregistré dans le DMSO à une concentration de $3.54 \cdot 10^{-5} \text{M}$ montre deux bandes d'absorption dans le domaine ultra-violet situées à 283 nm et à 337 nm attribuées aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ (C=C) et $n \rightarrow \pi^*$ (C=N). La dernière bande a subi un déplacement hypsochrome vers les faibles longueurs d'ondes par rapport au ligand libre, ceci montre l'engagement du groupement C=N dans la formation du complexe, ce qui confirme le résultat de la spectrométrie IR. Sur le même spectre, une nouvelle bande sous forme d'un épaulement (437 nm, Abs= 0.466) est apparue provient très probablement de la transition de transfert de charge ligand \rightarrow métal. A une concentration plus élevée ($1.45 \cdot 10^{-3} \text{M}$), le spectre du même complexe fait apparaître une seule bande large centrée à 866 nm (11547 cm^{-1}) attribuée à la transition ${}^2B_{1g} \rightarrow {}^2E_g$ résultant des transitions d-d caractéristique des complexes de cuivre (II) dans une géométrie octaédrique [89].

Le spectre électronique du complexe Ni(II) enregistré dans le visible, présente deux bandes d'absorptions situées à 701 nm (14265 cm^{-1}) et 836 nm (11962 cm^{-1}) dues respectivement aux

transitions ${}^3T_1(F) \rightarrow {}^3T_1(P)$ et ${}^3T_1(F) \rightarrow {}^3A_2$, suggérant un environnement tétraédrique autour de l'ion Ni(II). [96].

Quant au spectre électronique du complexe CoL_2 , montre deux bandes d'absorption, la première est sous forme d'épaule à 603nm et la deuxième bande à 671 nm, tous deux résultant de transitions d-d (${}^4A_2 \rightarrow {}^4T_1(P)$ et ${}^4A_1 \rightarrow {}^4T_1(F)$) caractéristiques des complexes de cobalt(II) dans une géométrie tétraédrique [97].

Enfin, le spectre électronique Uv-visible du complexe de zinc ne présente aucune transition d-d en raison de sa configuration électronique d^{10} complètement remplie. Une géométrie octaédrique a été proposée d'après les résultats trouvés par spectroscopie IR.

Tableau III.5 : Spectroscopie électronique des complexes dans le DMSO.

Complexes	Longueur d'onde λ (nm)	Nombre d'ondes $\bar{\nu}$ (cm^{-1})	Coefficient d'absorption molaire (ϵ : L. mole $^{-1}$.cm $^{-1}$)	Transitions électroniques
CuL₂	283	35336	36918	$\pi \rightarrow \pi^*$
	337	29673	30703	$n \rightarrow \pi^*$
	437	22883	13155	TC
	866	11547	151	${}^2B_{1g} \rightarrow {}^2E_g$
CoL₂	281	35587	37711	$\pi \rightarrow \pi^*$
	350	28571	37239	$n \rightarrow \pi^*$
	603	16584	84	${}^4A_2 \rightarrow {}^4T_1(P)$
	671	14903	141	${}^4A_1 \rightarrow {}^4T_1(F)$
NiL₂	280	35714	39130	$\pi \rightarrow \pi^*$
	350	28571	39006	$n \rightarrow \pi^*$
	701	14265	108	${}^3T_1(F) \rightarrow {}^3T_1(P)$
	836	11962	104	${}^3T_1(F) \rightarrow {}^3A_2$
ZnL₂	280	35714	33172	$\pi \rightarrow \pi^*$
	350	28571	34356	$n \rightarrow \pi^*$

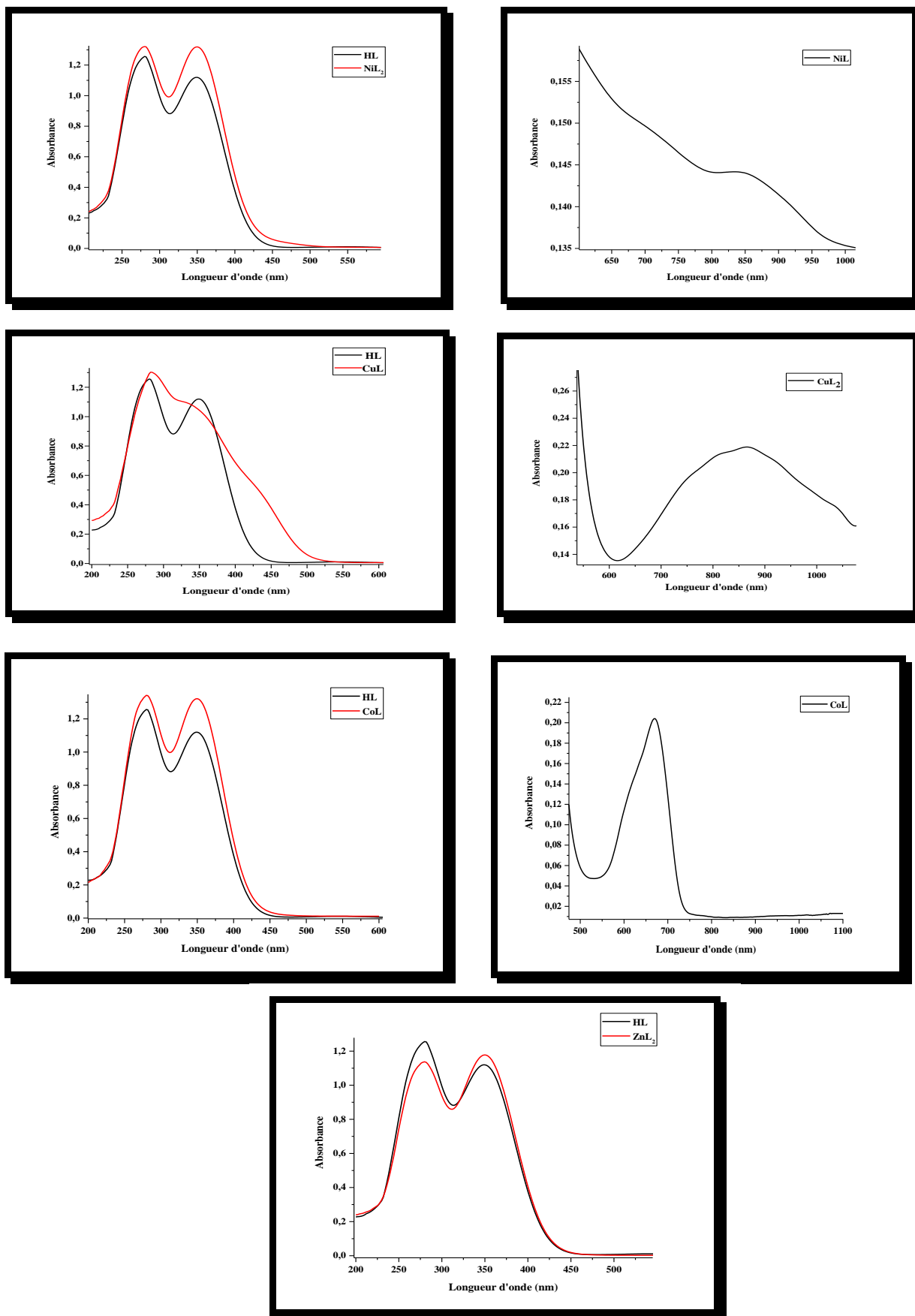


Figure III.10 : Spectres électroniques des complexes dans le DMSO

III-3- Schémas structuraux proposés

Sur la base des résultats obtenus par les méthodes spectroscopiques rejoignent ceux des mesures de conductivité molaire, les complexes de cuivre (II) et de zinc (II) adoptent des géométries octaédriques et les complexes de cobalt (II) et nickel (II) adoptent des géométries tétraédriques. Les structures présentées sur les figures III.11 sont proposées pour les complexes isolés à l'état solide.

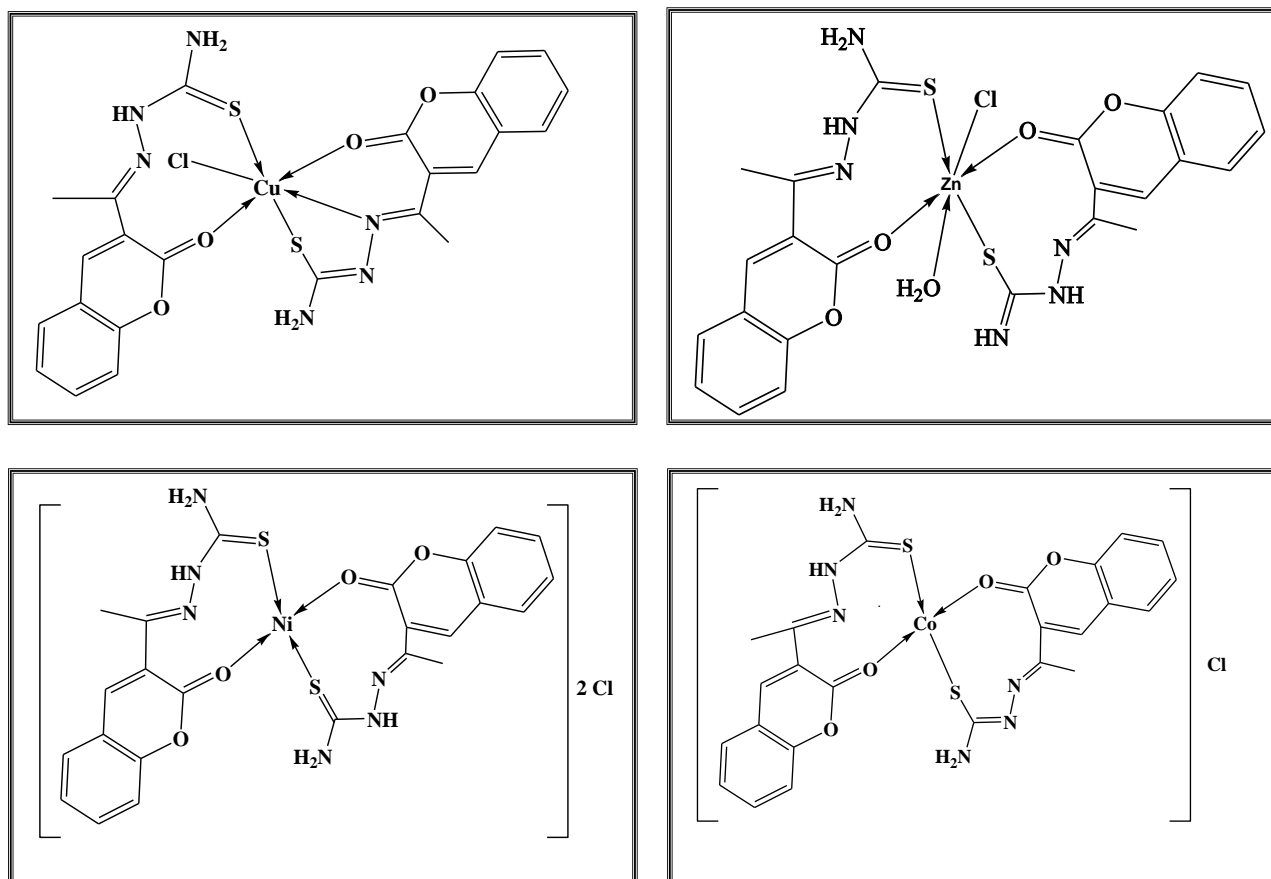


Figure III.11 : Structures proposées pour les complexes

III-4- Activités biologiques du ligand HL et de ses complexes

Les thiosemicarbazones dérivés de la coumarine et leurs complexes possèdent un large spectre d'applications biologiques, à savoir antibactérienne, antifongiques, et antioxydante. Les études biologiques portant sur les thiosemicarbazones ont montré que la complexation peut renforcer leurs propriétés biologiques.

III-4-a- Activité antioxydant

L'activité antioxydante du ligand et de ses complexes isolés à l'état solide a été étudiée par la méthode de DPPH.

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH (I(%)) a été calculé à partir de l'équation : $%I = [(A_{DPPH} - A_s) / A_{DPPH}] \times 100$ (voir chapitre II). Le tracé du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration (Fig. III.12), nous a permis de calculer les IC50 par la méthode des moindres carrés pour chaque composé.

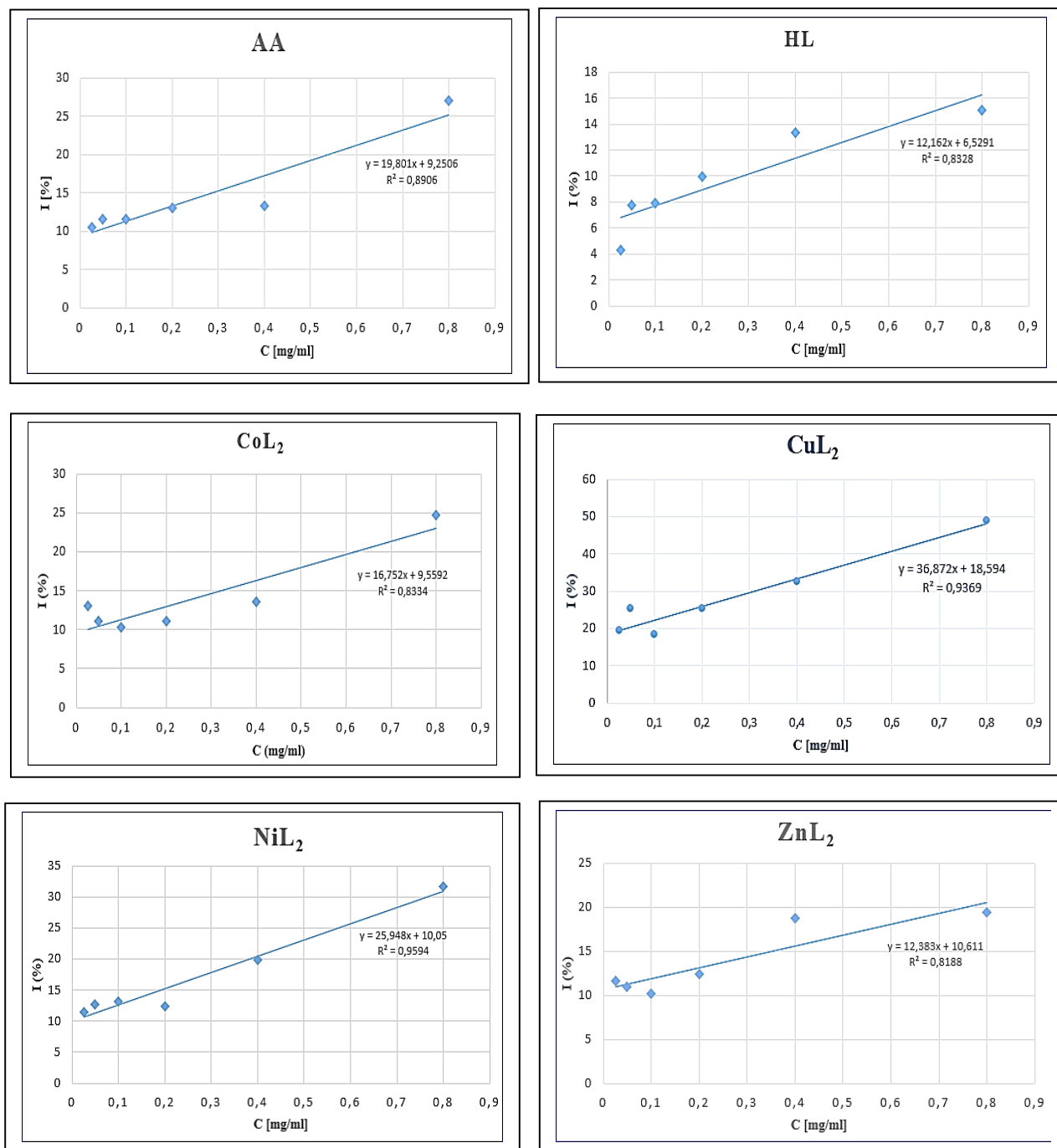


Figure III.12 : Pourcentage d'inhibition du ligand HL et de ses complexes métalliques en fonction de la concentration

Les résultats ont révélé que les pourcentages d'inhibition augmentent avec l'augmentation de la concentration des échantillons à testés, et donc le ligand et ses complexes présentent une activité en tant qu'agents de radicaux libres. L'action de ces composés est supposée être due à leur capacité de donation d'atome d'hydrogène ou d'un électron. Les résultats représentés dans la figure III.13 ci-après, montrent la variation IC₅₀ (mg/ml) du ligand et de ses complexes métalliques en comparaison avec l'acide ascorbique (AA).

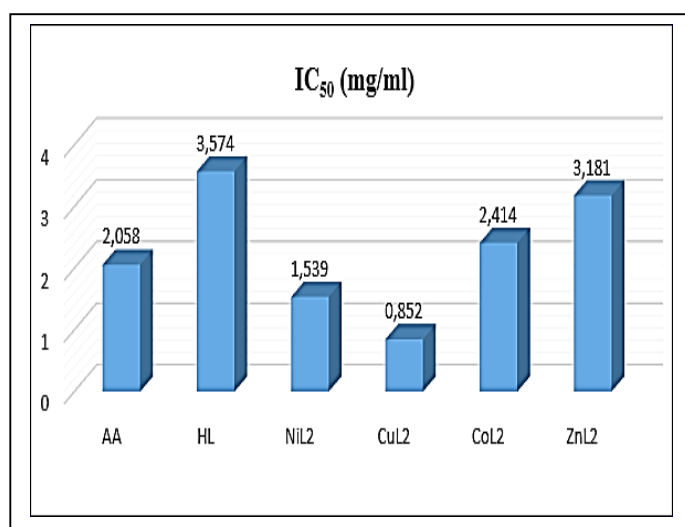


Figure III.13 : Valeurs d'IC₅₀ des composés testés et de l'acide ascorbique.

L'IC₅₀ est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est intéressante.

Comme le montre la figure III.13, tous les composés testés possèdent une activité antioxydante et cela est probablement dû à la présence d'un atome d'hydrogène de l'amine secondaire dans le fragment thiosemicarbazone [98, 99].

Tous les complexes sont plus actifs par rapport au ligand libre et les complexes de cuivre et de nickel présentent une activité plus élevée par rapport à l'acide ascorbique pris comme référence. Ce résultat peut être dû au faible potentiel d'oxydation de l'ion métallique de ces complexes qui peut facilement libérer un électron pour participer à la réduction de DPPH. L'ordre des activités des complexes est CuL₂ > NiL₂ > CoL₂ > ZnL₂ > HL.

III-4-b- Activité antibactérienne

Des tests de l'activité antibactérienne réalisés sur le ligand HL et ses complexes de cuivre, de zinc et de nickel ainsi que celle du solvant DMSO seul comme témoin négatif, ont fait l'objet d'une étude sur trois souches bactériennes : *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *P. aeruginosa*.

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne sur les trois bactéries a été faite par la méthode des aromatogrammes, une méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé MH. Le pouvoir antimicrobien est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par MOERIRA et al [100]. Ces auteurs ont classé le diamètre des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne comme suit :

- Non sensible (-) : $D \leq 8\text{mm}$.
- Sensible (+) : $9 \leq D \leq 14\text{mm}$.
- Très sensible (++) : $15 \leq D \leq 19\text{mm}$.
- Extrêmement sensible (+++) : $D \geq 20\text{mm}$

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition observées autour des disques imprégnés des différents produits étudiés ont été mesurées. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure III.14.

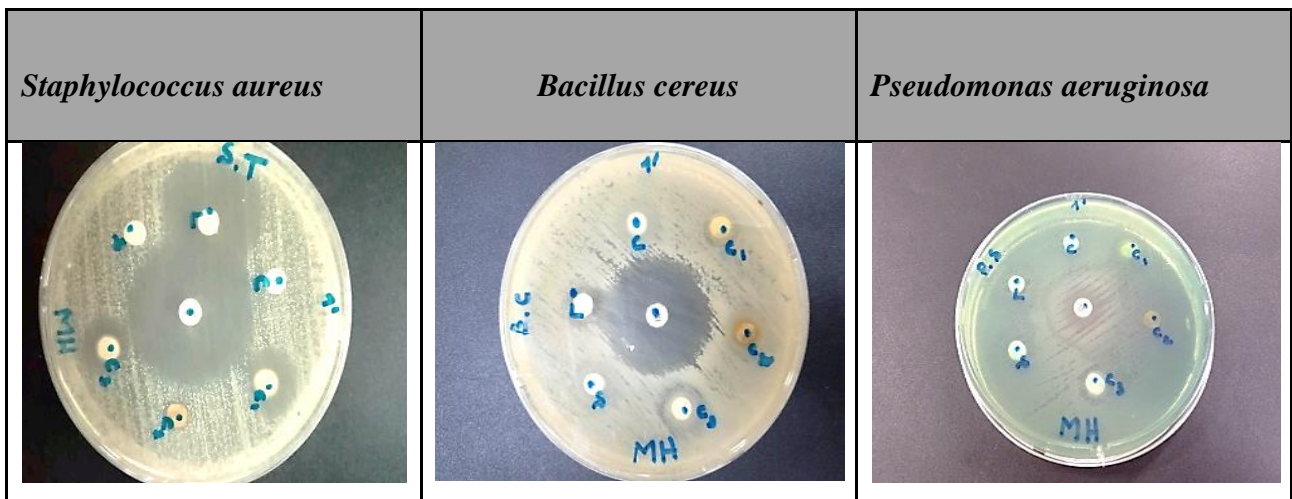


Figure III.14 : Effet du ligand HL et de ses complexes sur les souches testées.
 Avec **HL** : Ligand, **C** : 3-acétylcoumarine, **C1**: complexe de nickel, **C2**: complexe de cuivre, **C3** : complexe de zinc, **S** : solvant (DMSO).

A l'aide d'un pied à coulisse, on mesure les diamètres des zones d'inhibitions de la prolifération bactérienne autour des disques imprégnés de différentes solutions du ligand et ses complexes pour toutes les souches testées et les résultats sont exprimés en (mm). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau III.6 et illustrés sur la figure III.15.

Tableau III.6 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) du ligand et de ses Complexes

Souche bactérienne	Diamètre de zone d'inhibition en mm					
	Ligand	Coumarine	NiL ₂	CuL ₂	ZnL ₂	ATB
<i>B.cereus</i>	11	12	11	6	11	32
<i>S.aureus</i>	22	6	14	6	12	35
<i>P.aeruginosa</i>	11	8	13	6	11	13

(-) pas d'inhibition, ATB = *Chloramphénicol* 30µg

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.

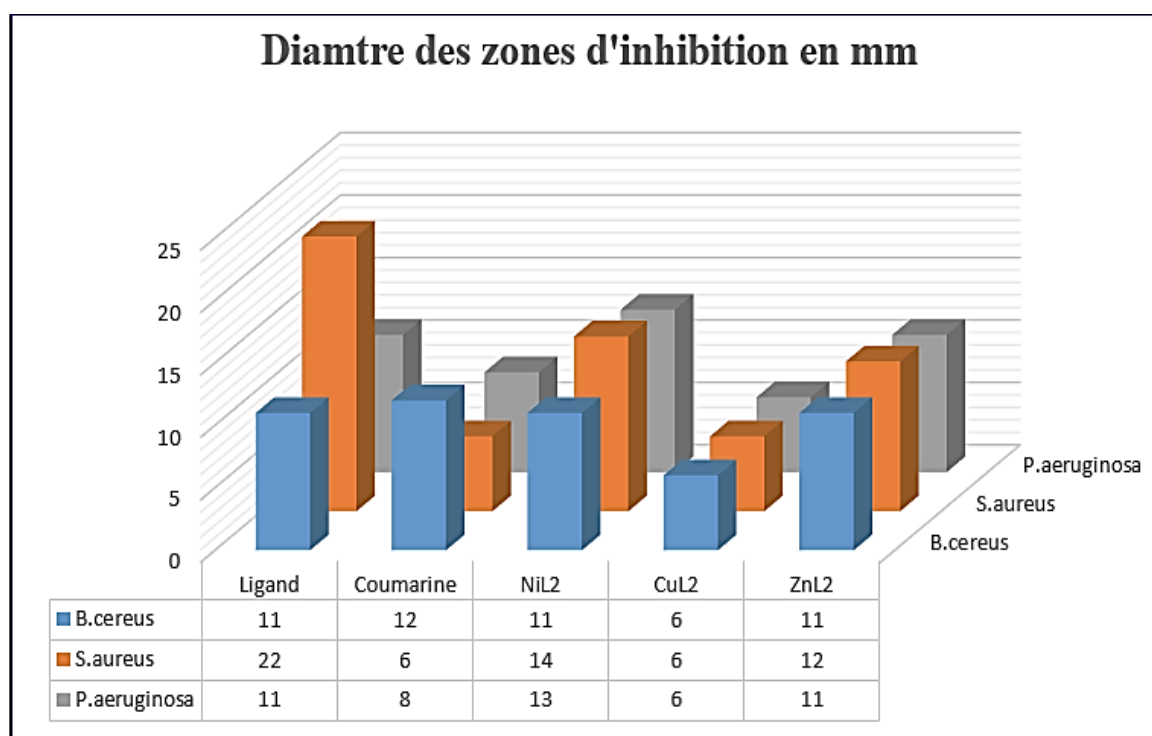


Figure III.15 : Diamètres des zones d'inhibition du ligand et de ses complexes.

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

La coumarine (C) présente une activité significative via la bactérie *B.cereus* avec une zone d'inhibition de 12 mm et une activité faible via la bactérie *P.aeruginosa* avec une zone d'inhibition de 8 mm. Par ailleurs elle ne présente aucune activité via la souche bactérienne *S.aureus*.

La condensation de thiosemicarbazide sur la 3-acétylcoumarine améliore l'activité antibactérienne de la coumarine dont le ligand (3-acétylcoumarinethiosemicarbazone, HL) montre une meilleure activité envers la bactérie *S.aureus* avec un diamètre d'inhibition de 22 mm. Ce même composé montre une activité moyenne via les bactéries *P.aeruginosa* et *B.cereus* avec une zone d'inhibition respectivement de 11 mm.

Nous avons constaté également que l'activité antibactérienne a diminué après la complexation du ligand 3-acétylcoumarinethiosemicarbazone, dont le complexe de cuivre n'a enregistré aucune zone d'inhibition contre ces souches bactériennes contrairement aux complexes de nickel et de zinc qui ont montré une inhibition modérée via les bactéries *B.cereus* et *P.aeruginosa*.

On ce qui concerne la souche *S.aureus*, les complexes de nickel et de zinc ont induit une zone d'inhibition avec des diamètres de 14 mm et 12 mm respectivement, ce qui semble que cette souche est sensible vis-à-vis de ces complexes qui inhibent sa croissance.

On remarque aussi que les bactéries *S.aureus* à gram positif montrent des zones d'inhibitions supérieures à celles observés chez les bactéries *P.aeruginosa* à gram négatif et *B.cereus* à gram positif. La bactérie *S.aureus* prouve donc une plus grande sensibilité contrairement à *B.cereus* et *P.aeruginosa* qui présente une certaine résistance compte tenu de sa structure.

L'absence d'activité du complexe de cuivre et les activités moyennes des complexes de nickel et de zinc peuvent être dues à leur faible lipophilie. Cela peut interrompre leur pénétration à travers la membrane lipidique et, par conséquent, ils ne peuvent ni bloquer ni résister efficacement à la croissance des micro-organismes [101].



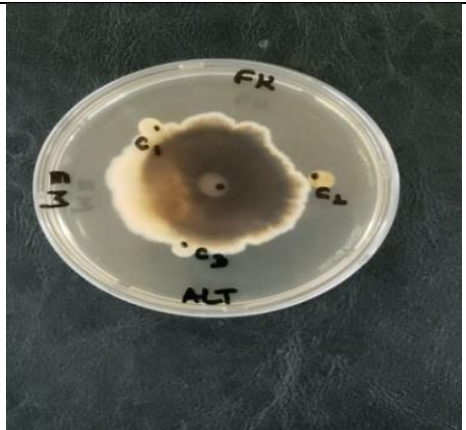
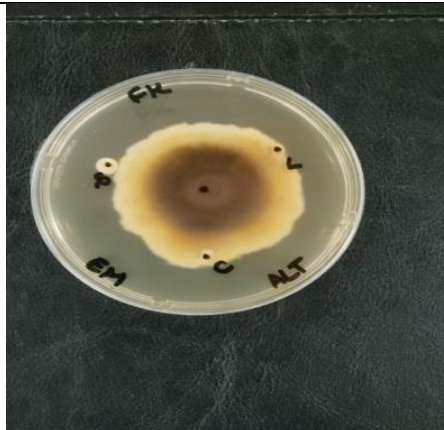
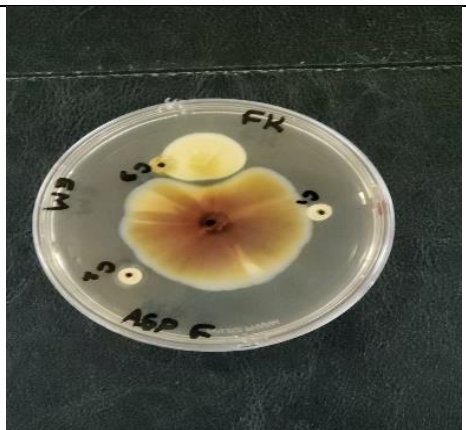
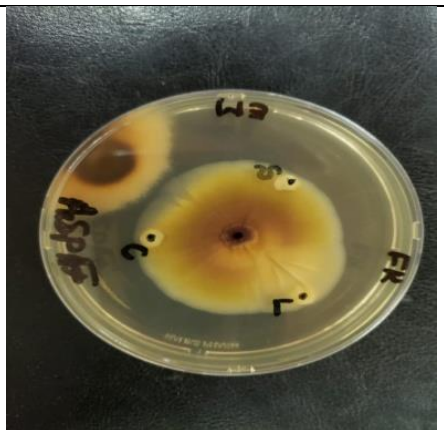
III-4-c- L'activité antifongique

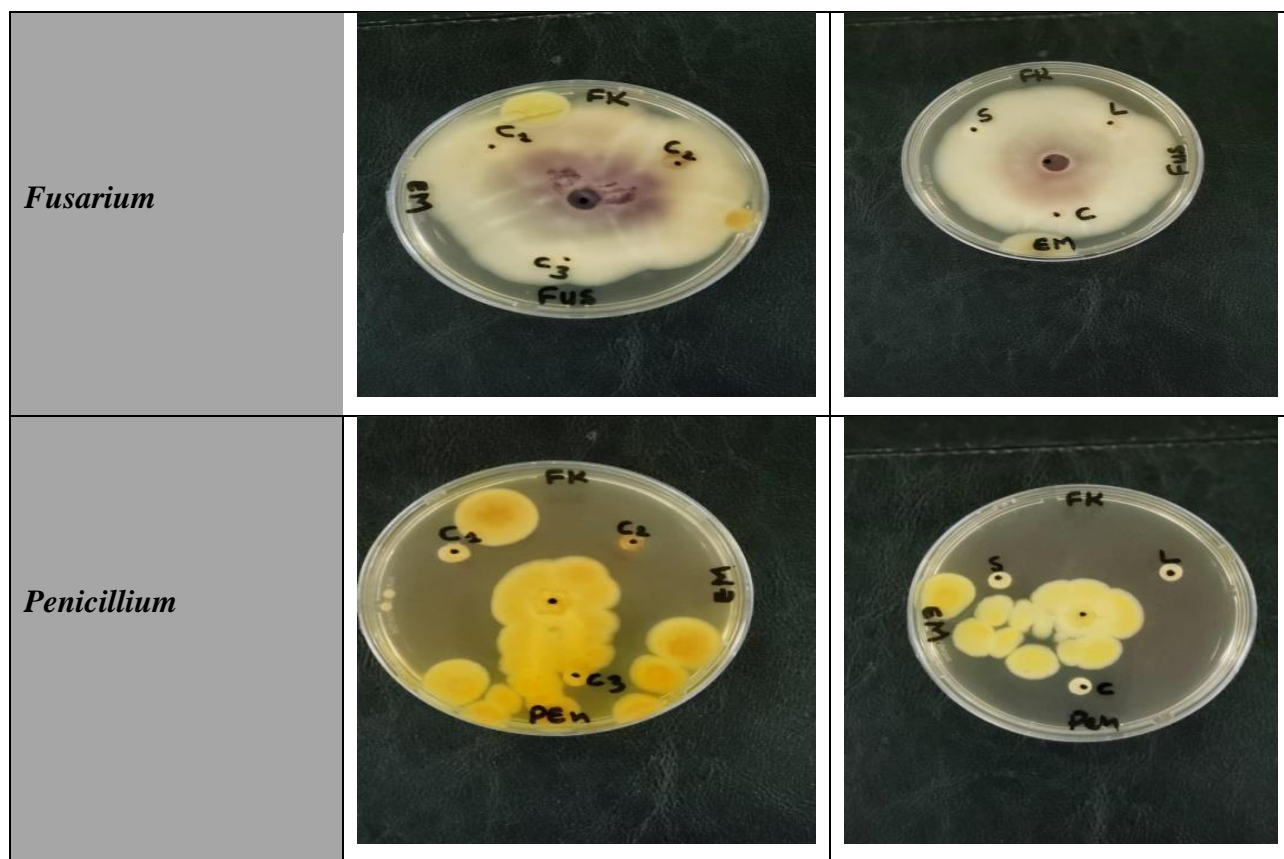
Des tests de l'activité antifongique réalisés sur le ligand HL et ses complexes (nickel, cuivre et zinc) ainsi que le solvant DMSO seul comme témoin négatif, ont fait l'objet d'une étude sur cinq champignons : *Alternaria*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Penicillium G*.

L'évaluation qualitative de l'activité antifongique des complexes sur les cinq champignons a été faite par la méthode de diffusion des disques sur un milieu extrait de malt de levure (YM).

Sept jours après l'incubation à 28°C, les zones d'inhibition observées autour des disques imprégnés des différents composés testés ont été distinguées. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau III.7.

Tableau III.7 : Images des zones d'inhibition des composés testés.

Molécules Champignons	Les complexes	Ligand, solvant et 3-acétylcoumarine
<i>Penicillium G</i>		
<i>Alternaria</i>		
<i>Aspergillus flavus</i>		



L : ligand, C : 3-acétylcoumarine, C₁ : complexe de nickel, C₂ : complexe de cuivre, C₃ : complexe de zinc, S : solvant (DMSO).

Le tableau III.8 ci-après représente les résultats de l'activité antifongique.

Tableau III.8 : Zone d'inhibition du ligand et de ses complexes.

Les produits	Les champignons				
	<i>Penicillium G</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>
L	-	+	+	+	-
S	-	-	-	-	-
C	-	+	+	+	-
C ₁	+	+	+	+	+
C ₂	-	-	-	+	-
C ₃	-	+	-	+	+

(-) : pas d'inhibition, (+) : présence d'inhibition.

Des inhibitions nettes et effectives ont été observées à différents type de champignons selon les molécules testées.

Les résultats ont montré que le ligand lui-même ne présente aucune activité antifongique contre les champignons *Penicillium G* et le *Penicillium*.

L'analyse des résultats montre que *l'Aspergillus flavus* et *Penicillium G* sont sensibles aux complexes C₂ et C₃. Toutefois, aucune résistance n'a été observée pour le complexe C₁.

A l'exception du complexe de cuivre qui inhibe uniquement le champignon *Fusarium*, les complexes de nickel et zinc présentent des zones d'inhibition importante contre la plupart des champignons testés. Le complexe de nickel présente une meilleure activité contre tous les champignons, ce qui peut être dû à la plus stabilité de ce complexe. Le mode d'action des composés peut impliquer la formation d'une liaison hydrogène via le groupe azométhine ($>C = N-$) avec les centres actifs de divers constituants cellulaires, entraînant une interférence avec les processus cellulaires normaux [102].

CONCLUSION GENERALE

À l'issue de ce mémoire nous avons pu isoler à l'état solide et avec un très bon rendement la 3-acétylcoumarinethiosemicarbazone par la condensation directe de thiosemicabazide sur la 3-acétylcoumarine en présence de quelques gouttes d'acide acétique. Le produit de synthèse a été caractérisé par des méthodes analytiques et spectroscopiques, en l'occurrence infrarouge, Uv-visible, RMN¹H et RMN¹³C.

La pureté du ligand a été vérifiée par la CCM. Le spectre IR a permis de caractériser le ligand en identifiant leurs principales fonctions. La spectrophotométrie UV-visible a montré la présence de deux bandes d'absorption attribuées aux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$. Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN ¹H et RMN¹³C) ont confirmé la structure du ligand.

L'étude en solution de la complexation du ligand (3-acétylcoumarinethiosemicarbazone ; HL) avec l'ion métallique Cu(II) montre la formation d'un complexe stable [Cu-HL] de stœchiométrie M-L (1 :1). La valeur négative de l'enthalpie libre (ΔG°) montre le caractère spontané de la réaction de complexation.

Après la caractérisation du ligand, de nouveaux complexes de cuivre, de cobalt, de nickel et de zinc ont été synthétisés et isolé à l'état solide. Cette complexation a conduit à la formation des monomères de composition ML₂. Les valeurs de la conductivité molaire indiquent que les complexes de cuivre et de zinc sont non électrolytes tandis que ceux de cobalt et de nickel sont des électrolytes de type 1:1 et 1:2 respectivement.

La caractérisation des complexes par spectroscopie infrarouge a révélé la coordination du ligand avec le métal. Cette étude s'est faite en comparant les spectres des complexes à celui du ligand libre. Les complexes formés sont de type ML₂, de sorte que la première molécule du ligand est liée sous sa forme thione et la seconde est liée sous sa forme thiol. Trois modes de coordination pour le ligand ont été caractérisés OS, OS⁻ et ONS⁻.

La spectrophotométrie Uv-visible nous a permis de faire une supposition quant à la géométrie des complexes : octaédrique pour les complexes CuL₂ et ZnL₂ et tétraédrique pour les complexes CoL₂ et NiL₂.

La dernière partie de ce travail a été consacrée à l'étude de l'activité biologique du ligand et de ses complexes. L'étude de l'activité antioxydant a montré que toutes les molécules testées sont actives et que la complexation améliore l'activité du ligand. L'activité antibactérienne effectuée sur trois souches bactériennes appartenant à des espèces différentes de bactéries (*S. aureus*, *Bacillus cereus*, *P. aeruginosa*.), a montré que le ligand et ses complexes de nickel inhibent de façon remarquable la

croissance des bactéries. Ainsi que les bactéries à Gram (+) montrent des zones d'inhibitions supérieures à celles observées chez les bactéries à Gram (-). Les résultats de l'activité antifongique montrent que le champignon *Fusarium* est sensible à toutes les molécules testées et aucune résistance n'a été observée pour le complexe de nickel.

Perspectives

Quant aux perspectives de ce travail, elles peuvent s'articuler autour des points suivants :

- Il serait intéressant de mener une étude plus approfondie avec d'autres techniques d'analyse physicochimique afin de confirmer notre étude notamment les mesures magnétiques, la Résonance paramagnétique électronique (RPE), l'analyse élémentaire et l'analyse gravimétrique.
- Il serait intéressant aussi de tester nos composés en les soumettant à des tests sur un certain nombre de cibles biologiques contre d'autres souches bactériennes.
- Il serait intéressant de poursuivre notre travail par des études pharmaco-toxicologiques pour trouver la forme d'administration idéale dans le but de développer de nouvelles molécules thérapeutiques.

REFERENCE
BIBLIOGRAPHIQUE

- [1] A.A. Aly, E.M. Abdallah, S.A. Ahmed, M.M. Rabee, S. Bräse, « Transition Metal Complexes of Thiosemicarbazides, Thiocarbohydrazides, and Their Corresponding Carbazones with Cu(I), Cu(II), Co(II), Ni(II), Pd(II), and Ag(I)-A Review », *Molecules*, (2023), 28(4), 1808.
- [2] O. M. Tsivileva, O. V. Koftin and N. V. Evseeva, « Coumarins as Fungal Metabolites with Potential Medicinal Properties », *Antibiotics*, (2022), 11(9), 1156.
- [3] G. Patel, and S. Banerjee, « Review on Synthesis of Bio-Active Coumarin-Fused Heterocyclic Molecules », *Current Organic Chemistry*, (2020), 24(22), 2566-2587.
- [4] D. Srikrishna, C. Godugu, and P.K. Dubey, « A Review on Pharmacological Properties of Coumarins », *M.r.m.c.*, (2018), 18(2), 113-141.
- [5] S. Borhade, « Studies of metal complexes of thiosemicarbazide », *Life Sciences Leaflets*, (2012), 10, 01-09.
- [6] K. Bajaj, R. M. Buchanan, C. A. Grapperhaus, « Antifungal activity of thiosemicarbazones, bis(thiosemicarbazones), and their metal complexes », *Journal of Inorganic Biochemistry*, (2021), 225,111620.
- [7] W-X. Hu, W. Zhou, C-N. Xia, X. Wen, « Synthesis and anticancer activity of thiosemicarbazones », *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, (2006), 16(8), 2213-2218.
- [8] Y. Gou, J. Wang, S. Chen, Z. Zhang, Y. Zhang, W. Zhang, F. Yang, « α -N-heterocyclic thiosemicarbazone Fe(III) complex: Characterization of its antitumor activity and identification of anticancer mechanism », *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2016), 123, 354-364.
- [9] G.R. Subhashree, J. Haribabu, S. Saranya, P. Yuvaraj, D. Anantha Krishnan, R. Karvembu, and D. Gayathri, « In vitro antioxidant, anti-inflammatory and in silico molecular docking studies of thiosemicarbazones », *Journal of Molecular Structure*, (2017), 1145(5), 160-169.
- [10] W. M. Basyouni, S. Y. Abbas, K. A. M. El-Bayouki, R. M. Daawod, and M. K. Elawady, « Synthesis and antiviral evaluation of 5- (aryloxy)salicylaldehyde thiosemicarbazone derivatives as potent anti-bovine viral diarrhoea virus agents », *Synthetic Communications*, (2021), 51(14), 2168-2174.
- [11] G. Munikumari, R. Konakanchi, V.B. Nishtala, G. Ramesh, L.R. Kotha, K. Chandrasekhar and C. Ramachandraiah, « Palladium (II) complexes of 5-substituted isatin thiosemicarbazones : Synthesis, spectroscopic characterization, biological evaluation and in silico docking studies », *Synthetic Communications* (2019), 49, 146-158.
- [12] P. Zhang and P.J. Sadler, « Redox-active metal complexes for anticancer therapy », *European Journal of Inorganic Chemistry*, (2017), 1541-1548.
- [13] A. Warra, « Transition metal complexes and their application in drugs and cosmetics-a Review », *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.*, (2011), 3, 951-958.
- [14] J. Takaya, « Catalysis using transition metal complexes featuring main group metal and metalloid compounds as supporting ligands », *Chemical Science*, (2021), 12, 1964-1981.
- [15] A.A. Aly, E.M. Abdallah, S.A. Ahmed, M.M. Rabee and S. Bräse, « Transition Metal Complexes of Thiosemicarbazides, Thiocarbohydrazides, and Their Corresponding Carbazones with Cu(I), Cu(II), Co(II), Ni(II), Pd(II), and Ag(I) - A Review », *Molecules*, (2023), 28, 1808.

- [16] R. Sahu and D. Thakur, « Schiff base : An overview of its medicinal chemistry potential for new drug molecules », *International Journal of Pharmaceutical Sciences Nanotechnol.*, (2012), 5, 1757-1764.
- [17] E.M. Bavin, R.J.W. Rees, J.M. Robson, M. Seiler, D.E. Seymour and D. Suddaby, « The tuberculostatic activity of some thiosemicarbazones », *Journal of Pharmac and Pharmacology*, (1950), 2(11), 764-72.
- [18] O. Koch, and G. Stuttgen, «Clinical and experimental studies on the effects of thiosemicarbazones », *Naunyn Schmiedebergs Archives Experimental of Pathology and Pharmacology*, (1950), 210(5-4), 409-23.
- [19] G.A. Kune «To-day's drugs: methisazone », *British Medical Journal*, (1964), 5(5409), 621.
- [20] G. Pelosi, « Thiosemicarbazone Metal Complexes : From Structure to Activity », *Open Crystallogr. Journal*, (2010), 3, 16-28.
- [21] S. Priyarega, J. Haribabu and R. Karvembu, « Development of thiosemicarbazone-based transition metal complexes as homogeneous catalysts for various organic transformations », *Inorganica Chimica Acta*, (2022), 532, 120742.
- [22] G.L. Parrilha, R.G. dosSantos, and H. Beraldo, «Applications of radiocomplexes with thiosemicarbazones and bis(thiosemicarbazones) in diagnostic and therapeutic nuclear medicine », *Coordination Chemistry Reviews* (2022), 458, 214418.
- [23] K. Alomar, « Synthèse, caractérisation structurale de complexes de thiosemicarbazones, semicarbazones et oximes mono et fonctionnelles d'aldéhyde thiophéniques avec des métaux de transition. Etude de propriétés biologiques », thèse de doctorat, Faculté pharmacie d'ANGERS, France, (2012).
- [24] A. Castiñeiras, E. Bermejo, L.J. Ackerman, H. Beraldo, J. Valdés-Martínez, S. Hernández-Ortega, and D.X. West, «Structural and spectral characterization of two 1-phenyl-1,2-propanedione bis{N(4)-alkylthiosemicarbazones} », *Journal of Molecular Structure*, (1999), 510(9), 157-163.
- [25] M.P. Sathisha, Ullas N. Shetti, V.K. Revankar, K.S.R. Pai, « Synthesis and antitumor studies on novel Co(II), Ni(II) and Cu(II) metal complexes of bis(3-acetylcoumarin)thiocarbohydrazone », *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2008), 43, 2338e2346.
- [26] D.S. Ranade, A.M. Bapat, S.N. Ramteke, B.N. Joshi, P. Roussel, A. Tomas, P. Deschamps and P.P. Kulkarni, «Thiosemicarbazone modification of 3-acetyl coumarin inhibits A β peptide aggregation and protect against A β -induced cytotoxicity », *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2015), 121(4), 803-809.
- [27] M.S. Refat, I.M. El-Deen, Z.M. Anwer, S. El-Ghola, « Bivalent transition metal complexes of coumarin-3-yl thiosemicarbazone derivatives: Spectroscopic, antibacterial activity and thermogravimetric studies », *Journal of Molecular Structure*, (2009), 920, 149-162.
- [28] R. P. Gupta and N. L. Narayana, « Synthesis of some Mannich bases of 1-cyclohexylidene N(1,2-dihydro-2-oxo-3H-indol-3-ylidene) thiosemicarbazones and their antibacterial activity », *Pharmaceutica Acta Helveticae* (1997), 72, (1), 43-45.
- [29] G. Sarodnick, M. Heydenreich, T. Linker, and E. Kleinpeter, « Quinoxalines. Part 12 : Synthesis and structural study of 1-(thiazol-2-yl)-1H-pyrazolo[3,4-b]quinoxalines-the dehydrogenative cyclization with hydroxylamine hydrochloride », *Tetrahedron*, (2003), 59(33), 6311-6321.
- [30] D. Cebotari, S. Calancea, J. Marrot, R. Guillot, C. Falaise, C. Falaise, V. Guérineau, D. Touboul, M. Haouas, A. Gulea, S. Floquet, «Tuning the nuclearity of [Mo₂O₂S₂]²⁺ - based assemblies by playing with the degree of flexibility of bithiosemicarbazone ligands », *Dalton Transactions*, (2023), 52 (10), 3059-3071.

- [31] E. Ramachandran, P. Kalaivani, R. Prabhakaran, N.P. Rath, S. Brinda, P. Poornima, V. V. Padma, and K. Natarajan, « Synthesis, X-ray crystal structure, DNA binding, antioxidant and cytotoxicity studies of Ni(II) and Pd(II) thiosemicarbazone complexes », *Metallomics*, (2012), 4, 218-227.
- [32] L. Ze-hua, D. Chung-Ying, L. Ji-hui, L. Young-jiang, M. Yu-hua, and Y. X-Zeng, « Structural dependence of π - π interactions in dithiocarbazato and thiosemicarbazato nickel complexes », *New Journal of Chemistry*, (2000), 24, 1057.
- [33] C. Metcalfe, and J.A. Thomas, «Kinetically inert transition metal complexes that reversibly bind to DNA », *Chemical Society Reviews* (2003), 32, 215-224.
- [34] F. Basuli, S.M. Peng, and S. Bhattacharya, « Steric Control of the Coordination Mode of the Salicylaldehyde Thiosemicarbazone Ligand. Syntheses, Structures, and Redox Properties of Ruthenium and Osmium Complexes », *Inorganic Chemistry*, (1997), 36, 5645-5647.
- [35] H.B. Shawish, M. Paydar, C.Y. Looi, Y.L. Wong, E. Movahed, S.N.A. Halim, W.F. Wong, M. Mustafa, and M.J. Maah, « Nickel(II) complexes of polyhydroxybenzaldehyde N4- thiosemicarbazones : synthesis, structural characterization and antimicrobial activities », *Transition Metal Chemistry*, (2014), 39, 81-94.
- [36] C. González-García, A. Mata, F. Zani, M. A. Mendiola, and E. López-Torres, « Synthesis and antimicrobial activity of tetradentate ligands bearing hydrazone and/or thiosemicarbazone motifs and their diorganotin (IV) complexes... », *Journal of Inorganic Biochemistry*, (2016), 163, 118-130.
- [37] Y. P. Tian, C. Y. Duan, C. Y. Zhao, Y. Xiao-Zeng, T. C. W. Mak, and Z. Y. Zhang, « Synthesis, Crystal Structure, and Second-Order Optical Nonlinearity of Bis(2-chlorobenzaldehyde thiosemicarbazone)cadmium Halides (CdL_2X_2 ; X = Br, I) », *Inorganic Chemistry*, (1997), 36, 1247-1252.
- [38] P. M. Krishna, and K. H. Reddy, «Synthesis, single crystal structure and DNA cleavage studies on first 4 N-ethyl substituted three coordinate copper(I) complex of thiosemicarbazone », *Inorganic Chemistry Acta*, (2009), 362, 4185-4190.
- [39] F. Basuli, S. M. Peng, and S. Bhattacharya, « Unusual Coordination Mode of Thiosemicarbazone Ligands. A Search for the Origin », *Inorganic Chemistry*, (2000), 39, 1120-1127.
- [40] S.A. Khan, and M. Yusuf, « Synthesis, spectral studies and in vitro antibacterial activity of steroidal thiosemicarbazone and their palladium (Pd (II)) complexes », *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2009), 44, 2270-2274.
- [41] J. Garcia-Tojal, J.L. Pizarro, A. Garcia-Orad, A. R. Perez-Sanz, M. Ugalde, A. Alvarez Diaz, J. L. Serra, M.I. Arriortua, and T. Rojo, «Biological activity of complexes derived from thiophene-2-carbaldehyde thiosemicarbazone. Crystal structure of $[Ni(C_6H_6N_3S_2)_2]$ », *Journal of Inorganic Biochemistry*, (2001), 86, 627-633.
- [42] H.A. Tang, L.F. Wang, and R.D. Yang, « Synthesis, characterization and antibacterial activities of manganese (II), cobalt (II), nickel (II), copper (II) and zinc (II) complexes with soluble vitamin K3 thiosemicarbazone », *Transition Metal Chemistry*, (2003), 28, 395-398.
- [43] P.P. Netalkar, S.P. Netalkar, and V.K. Revankar, « Transition metal complexes of thiosemicarbazone : Synthesis, structures and invitro antimicrobial studies », *Polyhedron*, (2015), 100, 215-222.
- [44] Z. Afrasiabi, E. Sinn, W. Lin, Y. Ma, C. Campana, and S. Padhye, « Nickel (II) complexes of naphthaquinone thiosemicarbazone and semicarbazone: Synthesis, structure, spectroscopy, and biological activity », *Journal of Inorganic Biochemistry*, (2005), 99, 1526-1531.

- [45] A. Gómez Quiroga, and C. N. Ranninger, « Contribution to the SAR field of metallated and coordination complexes Studies of the palladium and platinum derivatives with selected thiosemicarbazones as antitumoral drugs », *Coordination Chemistry Reviews*, (2004), 248,119-133.
- [46] A.L. Lainé, and C. Passirani, « Novel metal-based anticancer drugs: A new challenge in drug delivery », *Current Opinion in Pharmacology*, (2012), 12, 420-426.
- [47] A. Sakirigui, « Hémi-synthèse in situ, activité antitrypanosomienne et toxicité de thiosemicarbazones substituées de composés carbonylés naturels d'huiles essentielles de plantes aromatiques acclimatées au Bénin », *Faculté des Sciences et Techniques (FAST), Benin*, (2013).
- [48] S. Gupta, N. Singh, T. Khan, and S. Joshi, « Thiosemicarbazone derivatives of transition metals as multi-target drugs: A review », *Results in Chemistry*, (2022), 4, 100459.
- [49] S. Sardari, S. Feizi, A. H. Rezayan, P. Azerang, S. M. Shahcheragh, G. Ghavami, and A. Habibi, « Synthesis and Biological Evaluation of Thiosemicarbazide Derivatives Endowed with High Activity toward Mycobacterium Bovis », *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, (2017), 16 (3), 1128-1140.
- [50] N. Farrell, « Biomedical uses and applications of inorganic chemistry. An overview », *Coordination Chemistry Reviews*, (2002), 232, 1-4.
- [51] Z.H.A. El-Wahab, M.M. Mashaly, A.A. Salman, B.A. El-Shetary, and A.A. Faheim, « Co (II), Ce(III) and UO₂(VI) bis-salicylathiosemicarbazide complexes : binary and ternary complexes, thermal studies and antimicrobial activity », *Spectrochimistry Acta - Part A*, (2004), 60 (12), 2861-2873.
- [52] S. A.Khan, and A. M.Asiri, « Multi-step synthesis, spectroscopic studies of biological active steroidal thiosemicarbazones and their palladium (II) complex as macromolecules », *International Journal of Biological Macromolecules* », (2017), 1-24.
- [53] J. Qi, X. Wang, T. Liu, M. Kandawa-Schulz, Y. Wang and X. Zheng, « Synthesis, antiproliferative activity and mechanism of copper(II)- thiosemicarbazone complexes as potential anticancer and antimicrobial agents », *Journal of Coordination Chemistry*, (2020), 1-15.
- [54] J. Haribabu, K. Jeyalakshmi, Y. Arun, N. S.P. Bhuvanesh, P. Thirumalai Perumal, and R. Karvembu, «Synthesis of Ni(II) complexes bearing indole-based thiosemicarbazone ligands for interaction with biomolecules and some biological applications», *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, (2017), 22, 461-480.
- [55] H.B. Shawish, W.Y. Wong, Y.L. Wong, S.W. Loh, C.Y. Looi, P. Hassandarvish, A. Y. Phan, W.F. Wong, H. Wang, I.C. Paterson, C.K. Ea, M.R. Mustafa, and M.J. Maah, « Nickel(II) complex of polyhydroxybenzaldehyde N4-thiosemicarbazone exhibits anti-inflammatory activity by inhibiting NF-κB transactivation », *PLoS ONE*, (2014), 9 (6), e100933.
- [56] G. Pelosi, F. Bisceglie, F. Bignami, P. Ronzi, P. Schiavone, M. Carla Re, C. Casoli, and E. Pilotti, « Antiretroviral Activity of Thiosemicarbazone Metal Complexes », *Journal of Medicinal Chemistry*, (2010), 53, 8765-8769.
- [57] I. Kostova, and L. Saso, « Advances in Research of Schiff-Base Metal Complexes as Potent Antioxidants », *Current Medicinal Chemistry*, (2013), 20, 4609-4632.

- [58] C. S. Francisco, C.S. Francisco, A. F. Constantino, Á. C. Neto, and L. Jr. Valdemar, « Synthetic Methods Applied in the Preparation of Coumarin-based Compounds », *Current Organic Chemistry*, (2019), 23(24), 2722-2750.
- [59] T.M. Pereira, D.P. Franco, F. Vitorio, and A.E. Kümmerle, «Coumarin Compounds in Medicinal Chemistry: Some Important Examples from the Last Years », *Curr. Top. Med. Chem.*, (2018), 18,124-148.
- [60] A. Donnelly and B. S. J. Blagg, « Novobiocin and Additional Inhibitors of the Hsp90 C-Terminal Nucleotide-binding Pocket », *Current Medicinal Chemistry* , (2008), 15(26), 2702-2717.
- [61] J. Xue, L. Tian, and Z.-y. Yang, « A novel ratiometric fluorescent probe based on coumarin derivative for the recognition of Al(III) and its application on test strips », *Tetrahedron Letters*, (2019), 60, 150945.
- [62] G. Kalaiarasi, S. Dharani, V. M. Lynch, and R. Prabhakaran, « Para metallation of 3-acetyl-chromen-2-one Schiff bases in tetranuclear palladacycles: Focus on their biomolecular interaction and in vitro cytotoxicity », *Dalton Trans.*, (2019),1-36.
- [63] K.N.A. Rahman, J. Haribabu, C. Balachandran, N.S.P. Bhuvanesh, R. Karvembu, A. Sreekanth, « Copper, nickel and zinc complexes of 3-acetyl coumarin thiosemicarbazone: Synthesis, characterization and in vitro evaluation of cytotoxicity and DNA/protein binding properties », *Polyhedron*, (2017), 135, 26-35.
- [64] L. Dawara, and R.V. Singh, « Microwave-assisted synthesis, characterization, antimicrobial, and pesticidal activity of bismuth and antimony complexes with coumarin-based ligands », *Journal of Coordination Chemistry*, (2011), 64(6), 931-941.
- [65] G. Gupta and B. Fadeel, « ToxPoint: Copper Is the New Showstopper », *Toxicological Sciences*, (2022), 189(1), 3-4.
- [66] O. Krasnovskaya, A. Naumov, D. Guk, P. Gorelkin, A. Erofeev, E. Beloglazkina, A. Majouga, « Copper Coordination Compounds as Biologically Active Agents », *International Journal of Molecular Sciences*, (2020), 21(11), 3965.
- [67] J.R. González-Montaña, F. Escalera-Valente, A.J. Alonso, J.M. Lomillos, R. Robles, and M.E. Alonso, « Relationship between Vitamin B₁₂ and Cobalt Metabolism in Domestic Ruminant : An Update », *Animals (Basel)*, (2020), 10(10), 1855.
- [68] F. P. Dwyer, E. C. Gyarfas, W. P. Rogers and J. H. Koch, « Biological activity of complex ions », *Nature*, (1952), 170, 190-191.
- [69] A.A. Aly, E.M. Abdallah, S.A. Ahmed, M.M. Rabee, and S. Bräse, « Transition Metal Complexes of Thiosemicarbazides, Thiocarbohydrazides, and Their Corresponding Carbazones with Cu(I), Cu(II), Co(II), Ni(II), Pd(II), and Ag(I)- A Review », *Molecules*, (2023), 28(4), 1808.
- [70] I. E. Otuokere, B.C. Igbo and O.U. Akoh, « Nickel complexes and their antimicrobial activities : A Review», *Nigerian Research Journal of Chemical Sciences*, (2021), 9(1), ISSN : 2682-6054.
- [71] F. Liang, P. Wang, X. Zhou, T. Li, Z. Li, H. Lin, D. Gao, C. Zheng, and C. Wu, « Nickle(II) and cobalt(II) complexes of hydroxyl-substituted triazamacrocyclic ligand as potential antitumor agents », *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, (2004), 14(8), 1901–1904.
- [72] Y. Chin, S.H. Lim, Y. Zorlu, V. Ahsen, L.V. Kiew, L.Y. Chung, F. Dumoulin, and H.B. Lee, «Improved Photodynamic Efficacy of Zn(II) Phthalocyanines via Glycerol Substitution», *PLoS One*, (2014), 9(5),97894.

- [73] A.E. Stacy, D. Palanimuthu, P.V. Bernhardt, D.S. Kalinowski, P.J. Jansson and D.R. Richardson, « Zinc(II)-Thiosemicarbazone Complexes Are Localized to the Lysosomal Compartment Where They Transmetallate with Copper Ions to Induce Cytotoxicity », *Journal of Medicinal Chemistry*, (2016), 59(10), 4965-4984.
- [74] H.N. Siti, Y. Kamisah and J. Kamsiah, « The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review) », *Vascular Pharmacology*, (2015), 71, 40-56.
- [75] A. Mansouri, G. Embarek, E. Kokkalou and P. Kefalas, « Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*) », *Food chemistry*, (2005), 89, 411-420.
- [76] N.A. Logan, and M. Rodriguez-Diaz, « Principles and Practice of Clinical Bacteriology », 2nd Edition, John Wiley and Sons Ltd, England, (2006), p. 139-158.
- [77] S.L. Percival, « Microbiology of water borne diseases: Microbiological Aspects and Risks », Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Boston, (2004), p. 480.
- [78] C. Van Delden, and B.H. Iglewski, « Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections *Emerging Infectious Diseases*, (1998), 4(4), 551-560.
- [79] B. S. Negi, and B. P. Dave, « In Vitro Antimicrobial Activity of *Acacia catechu* and Its Phytochemical Analysis », *Indian Journal of Microbiology*, (2010), 50, 369-374.
- [80] M. Asif and S. Alghamdi, « Chemical and Biological potentials of semicarbazide and thiosemicarbazide derivatives and their metals complexes », *Advanced Journal of Chemistry, Section B*, (2021), 3(3), 243-270.
- [81] N.P. Prajapati, and H. D. Patel, « Novel thiosemicarbazone derivatives and their metal complexes: Recent development », *Synthetic Communications*, (2019), 49, 2767-2804.
- [82] D. Jayaseelan, M. Ganapathi, and S. Guhanathan, « A Conventional and Micro wave Assisted Synthesis of 3-(3-(4-chlorophenyl)acryloyl)-2H-chromen-2-one Using Eco-Friendly Catalyst And Its Characterisation », *SOJ Materials Science & Engineering*, (2015), 3(3), 1-6.
- [83] P. Kapoor, N. Fahmi, and R.V. Singh, « Microwave assisted synthesis, spectroscopic, electrochemical and DNA cleavage studies of lanthanide (III) complexes with coumarin based imines », *Spectrochimica Acta Part A*, (2011), 83, 74-81.
- [84] A. I. Mosa, M. M. Ibrahim, and S. A. Aldhlmani, « Spectroscopic and Solution Studies of Some Transition Metal Complexes of New 4-Hydroxy Coumarin Semi- and Thiosemicarbazone Complexes », *Journal of Solution Chemistry*, (2013), 42, 2364 - 2383.
- [85] M. Shebl, M.A. Ibrahim, S. M.E. Khalil, S.L. Stefan, and H. Habib, « Binary and ternary copper(II) complexes of a tridentate ONS ligand derived from 2-aminochromone-3 carboxaldehyde and thiosemicarbazide: Synthesis, spectral studies and antimicrobial activity », *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, (2013), 115, 399-408.
- [86] F. ACHACHE, « Etude du comportement en solution et du mode de coordination de bases de Schiff polydentées vis-à-vis de Ni(II) et Fe(III) dans différents milieux organiques », mémoire magister en chimie, (2015), Faculté Chimie, Département de Chimie Organique Industrielle, USTOMB.
- [87] Z. D. Hill, and P. M. Carthy, « Novel Approach to Job's Method », *Journal of Chemical Education*, (1986), 63(2), 162-167.

- [88] D. N. Purohit, A. K. Goswami, R. S. Chauhan, and S. Ressalan, « Purohit's spectrophotometric method for determination of stability constants of complexes using Job's curves », *Asian Journal of Chemistry*, (1999), 11(1), 123-129.
- [89] A.I. Mosa, A.A.A. Emara, J.M. Yousef, and A.A. Saddiq, « Novel transition metal complexes of 4-hydroxy-coumarin-3-thiocarbohydrazone : Pharmacodynamic of Co(III) on rats and antimicrobial activity », *Spectrochimica Acta Part A*, (2011), 81, 35-43.
- [90] M. Sutradhar, E.C.B.A. Alegria, K.T. Mahmudov, M.F.C. Guedes da Silva and A.J. L. Pombeiro, « Iron(III) and cobalt(III) complexes with both tautomeric (keto and enol) forms of aroylhydrazone ligands : catalysts for the microwave assisted oxidation of alcohols», *RSC Advances*, (2016), 1-25.
- [91] S.M. Emam, S. Bondock, and A. A.M. Aldaloo, « Schiff base coordination compounds including thiosemicarbazide derivative and 4-benzoyl-1,3-diphenyl-5-pyrazolone : Synthesis, structural spectral characterization and biological activity », *Results in Chemistry*, (2023), 5, 100725.
- [92] A.A. Alzharani, «Three Cu (II)- hydrazone complexes: synthesis, physicochemical characteristics, stability, thermal analysis, and investigation of metal and iodine absorption », *Journal of Umm Al-Qura Univ. Applied Sciences*, (2023), 1-16.
- [93] S. E. H. Etaiw, D. M. Abd El-Aziz, E.H. Abd El-Zaher, and E.A. Ali, « Synthesis, spectral, antimicrobial and antitumor assessment of Schiff base derived from 2-aminobenzothiazole and its transition metal complexes », *Spectrochimica Acta Part A*, (2011),79, 1331-1337.
- [94] B. Jeragh, and A. A. El-Asmy, « Coordination of Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II), Hg(II), Pd(II) and Pt(II) with 2,5-hexanedione bis(thiosemicarbazone), HBTS: Crystal structure of cis-[Pd(HBTS)]Cl₂ and 1-(2,5-dimethyl-1H-pyrrol-yl)-thiourea », *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, (2014),130(15), 546-552.
- [95] F.A. Cotton and G. Wilkinson, « *Advanced Inorganic Chemistry* », fourth Ed., John Wiley and Sons, New York, (1980).
- [96] H. EL. Hamdani, and M. EL. Amane, « Preparation, spectral, antimicrobial properties and anticancer molecular docking studies of new metal complexes [M(caffeine)₄](PF₆)₂; M = Fe(II), Co(II), Mn(II), Cd(II), Zn(II), Cu(II), Ni(II) », *Journal of Molecular Structure*, (2019), 1184, 262-270.
- [97] A. Koshika, C. Parthiban, and K. P. Elango, «Synthesis, characterization and DNA binding/cleavage, protein binding and cytotoxicity studies of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes of aminonaphthoquinone », (2017), *Jpb* 10737, 1-48.
- [98] T. Bal-Demirci, M. Şahin, E. Kondakç ı, M. Özyürek, B. Ülküseven, and R. Apak, « Synthesis and antioxidant activities of transition metal complexes based 3-hydroxysalicylaldehyde-Smethylthiosemicarbazone », *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* (2014), 138(5), 866-872.
- [99] T.A. Nibila, P.P. Soufeena, Pradeepan Periyat, and K.K. Aravindakshan, « Synthesis, structural characterization and biological activities of transition metal complexes derived from 2,4-dihydroxybenzaldehyde n(4)-methyl(phenyl)thiosemicarbazone », *Journal of Molecular Structure*, (2021),1231, 129938.
- [100] M.R. Moreira, A.G. Ponce, C.E. Del Valle, and S.I. Roura, Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Leaving Water Temperature*, (2005), 38, 565-570.

- [101] T. Bal-Demirci, M. Şahin, E. Kondakçı, M. Özyürek, B. Ülküseven, and R. Apak, « Synthesis and antioxidant activities of transition metal complexes based 3-hydroxysalicylaldehyde-S-methylthiosemicarbazone », *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, (2014), 138(5), 866-872.
- [102] A. A. Al-Amiry, A.A. H. Kadhum, and A. B. Mohamad, « Antifungal and Antioxidant Activities of Pyrrolidone Thiosemicarbazone Complexes », *Bioinorganic Chemistry and Applications*, (2012), 2012, ID 795812.

Résumé : Notre travail se concentre sur la synthèse et la caractérisation d'une dérivée de thiosemicarbazone à base de la coumarine et de ses complexes de métaux de transition, ainsi que l'étude biologique des produits de synthèse a été réalisée. Les résultats spectroscopiques IR, RMN et Uv-visible confirment la formation du ligand 3-acetylcoumarinthiosemicarbazone. La complexation de ce dernier avec une série de métaux de transition (Cu (II), Co (II), Ni (II) et Zn (II)) a été vérifiée par les méthodes spectroscopiques usuelles tels que l'IR et l'Uv-visible. Les résultats montrent la formation des complexes de type **ML₂**. Les complexes de cuivre et zinc adoptent une géométrie octaédrique et les complexes de cobalt et nickel adoptent une géométrie tétraédrique. Le test de l'activité antioxydant a montré que toutes les molécules testées sont actives et que la complexation améliore l'activité du ligand. De plus, L'activité antibactérienne effectuée sur trois souches bactériennes appartenant à des espèces différentes de bactéries (*S. aureus*, *Bacillus cereus*, *P. aeruginosa*.), a montré que le ligand et ses complexes de nickel inhibent de façon remarquable la croissance des bactéries. En fin, Les résultats de l'activité antifongique montrent que le champignon *Fusarium* est sensible à toutes les molécules testées et aucune résistance n'a été observée pour le complexe de nickel.

Mots clés : Les thiosemicarbazones, coumarines, complexes de métaux de transition, activité antioxydante, activité antibactérienne, activité antifongique.

Abstract: Our work focuses on the synthesis and characterization of a thiosemicarbazone derivative based on coumarin and its transition metal complexes, as well as the biological study of the synthesis products has been carried out. The IR, NMR and Uv-visible spectroscopic results confirm the formation of the 3-acetylcoumarinthiosemicarbazone ligand. The coordination of the latter with transition metals (Cu (II), Co (II), Ni (II) and Zn (II)) was verified by the usual spectroscopic methods such as IR and Uv -visible. The results show the formation of **ML₂** type complexes. The copper and zinc complexes adopt an octahedral geometry and the cobalt and nickel complexes adopt a tetrahedral geometry. The antioxidant activity test showed that all the molecules are active and the coordination of the ligand to metal ions enhances its activity. In addition, the antibacterial activity carried out on three bacterial strains belonging to different species of bacteria (*S. aureus*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*), showed that the ligand and its nickel complexes inhibit in a remarkable way the growth of bacteria. Finally, the results of the antifungal activity show that the *Fusarium* fungus is sensitive to all the molecules tested and no resistance was observed for the nickel complex.

Keywords: Thiosemicarbazones, coumarins, transition metal complexes, antioxidant activity, antibacterial activity, antifungal activity.