

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 MATIERE

FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : *CHIMIE PHARMACEUTIQUE*

THEME

Synthèse et étude spectrale de complexes mixtes de cuivre (II) et nickel (II) avec l'ortho-phénylènediamine : Application biologique

Présenté par : *MERABTI Maïssa*
BOUSSADA Lynda

Soutenu publiquement, le 11/07/2021 devant le Jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>	<i>Affiliation</i>	<i>Qualité</i>
<i>DERRIDJ Fazia</i>	<i>Professeur</i>	<i>UMMTO</i>	<i>Présidente</i>
<i>BOUGHERRA Hadda</i>	<i>MCB</i>	<i>UMMTO</i>	<i>Rapporteur</i>
<i>KICHOU Nora</i>	<i>MCA</i>	<i>UMMTO</i>	<i>Examinatrice</i>

Remerciements

*Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au laboratoire de Physique et Chimie des Matériaux (LPCM) de la faculté des sciences de l'université **MOULOUD MAMMERI** de **Tizi-ouzou**.*

*Tout d'abord, on tient à remercier vivement, notre aimable promotrice Madame **BERRADJ**, pour sa grande patience, ses conseils avisés et sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle nous a consacré.*

*Nous exprimons notre profonde gratitude à Madame **DERRIDJ Fazia** qui a accepté de présider le jury de ce travail.*

*Nous remercierons également Madame **KICHOU Nora**, pour avoir mobilisé son temps et ses compétences pour examiner ce travail.*

Nous sommes extrêmement reconnaissants aux membres du Laboratoire de Physique et Chimie des Matériaux (LPCM).

Nous souhaitons remercier aussi le personnel du laboratoire microbiologie de CHU Nadir Mohamed de Tizi-Ouzou pour leur accueil et leur aide.

*Nos remerciements s'adressent particulièrement à monsieur **BENCHOULAK Mounir** pour son soutien, son encouragement et ses conseils durant tout notre parcours.*

On désire remercier très sincèrement nos familles, nos amis et toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Je dédie ce travail.

À ma mère, pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices

À mon père, pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'a accordée

À ma petite sœur Dihia

À tous les membres de ma famille

À tous mes amis spécialement Maissa et Fateh

Que ce travail soit l'expression de mon profond respect et reconnaissance.

Lynda BOUSSADA

Dédicace

Je dédie ce travail.

À mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leurs amours, leurs tendresses, leur soutien et leurs prières,

*À mes chères sœurs **Lynda** et **Fadhila** pour leurs amours, encouragement, et leurs soutien moraux,*

*À mon cher frère **Sofiane**, et à beau-frère **Moussa**, pour leurs appuis et leurs encouragements*

*À la mémoire de mon beau-frère **IDIR**,*

*À mes trois petites princesses **Liliane**, **Alice**, **Eline**,*

*À mon cher petit neveu **Aksel***

À toute ma famille pour leurs soutiens tout au long de mon parcours universitaire,

*À tous mes amis spécialement **Lynda** et **Bislam**,*

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Maissa MERABTI

Liste des Abréviations et symboles

AA	Acide ascorbique
Ade	Adénine
ali	Aliphatique
arom	Aromatique
Br-Ani	Bromo-aniline
Cu(II)	Ion métallique de cuivre
Cur	Curcumine
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
énol	énolique
Gua	Guanine
IR	Infrarouge
M	Mole par litre/Masse molaire
Ni(II)	Ion métallique de nickel
OPD	Ortho-phénylènediamine
phén	Phénolique
Pf	Point de fusion
R	Rendement
T	Température
UV	Ultraviolet
Vis	Visible
Λ	Conductivité
°C	Degré Celsius
λ	Longueur d'onde

Liste des figures

Figure I.1 : Cuivre	3
Figure I.2 : Nickel	5
Figure I.3 : Structure de l'orthophénylèndiamine	6
Figure I.4 : La curcumine.....	8
Figure I.5 : Structure de la curcumine.....	9
Figure I.6 : Structure de 4-bromo-aniline	9
Figure I.7 : Structure de l'adénine	10
Figure I.8 : Structure de la guanine.....	11
Figure I.9 : Dispositif de synthèse des complexes	13
Figure I.10 : Dispositif de filtration	14
Figure I.11 : Dispositif de l'infrarouge	16
Figure I.12 : Principe d'UV	17
Figure I.9 : Dispositif de synthèse des complexes	13
Figure I.10 : Dispositif de filtration	14
Figure I.11 : Dispositif de l'infrarouge	16
Figure I.12 : Principe d'UV	17
Figure II.1 : Structure des ligands utilisés	18
Figure III.1 : Spectre IR du complexe [Cu(OPD)(Br-Ani)]	25
Figure III.2 : Spectre IR du complexe [Cu(OPD)(Cur)]	26
Figure III.3 : Spectre IR du complexe [Cu(OPD)(Gua)]	26
Figure III.4 : Spectre UV-Visible du complexe [Cu(OPD)(Br-Ani) ₂]	30
Figure III.5 : Spectre UV-Visible du complexe [Ni(OPD)(cur)]	31

Figure III.6 : Spectre UV-Visible du complexe [Ni(OPD)(Gua)]	31
Figure III.7 : micrographie du complexe [Cu(OPD)(Br-Ani) ₂]	34
Figure III.8 : micrographie du complexe [Ni(OPD)(Ani-Br) ₂]2Br	34
Figure III.9 : micrographie du complexe [Cu(OPD)(Cur)]	34
Figure III.10 : micrographie du complexe [Ni(OPD)(Cur)]	34
Figure III.11 : micrographie du complexe [Cu(OPD)(Ade)]	35
Figure III.12 : micrographie du complexe [Ni(OPD)(Ade)]	35
Figure III.13 : micrographie du complexe [Cu(OPD)(Gua)]	35
Figure III.14 : micrographie du complexe [Ni(OPD)(Gua)]	35
Figure IV.1 : Structure chimique du radical libre DPPH.....	37
Figure IV.2 : Réduction du radical DPPH	38
Figure IV.3 : Activité antioxydant des complexes en utilisant le dosage DPPH.....	39
Figure IV.4 : Morphologie bactérienne.....	40
Figure IV.5 : Paroi bactéries à Gram négatif	41
Figure IV.6 : Paroi bactéries à Gram positif	41
Figure IV.7 : Gélose chapman	44
Figure IV.8 : Gélose hektoen	44
Figure IV.9 : Effet inhibiteur des complexes	46

Liste des tableaux

Tableau I.1: Propriétés physico-chimiques de cuivre	4
Tableau I.2: Propriétés physico-chimiques de nickel	5
Tableau II.1: Propriétés physico-chimiques des complexes.....	22
Tableau III.1: Données IR caractéristiques (cm^{-1}) des ligands	27
Tableau III.2: Données IR caractéristiques (cm^{-1}) des complexes.....	28
Tableau III.7 : Données des spectres d'absorption électroniques de ligands.....	32
Tableau III.8 : Données des spectres d'absorption électroniques des complexes	33

Table des matières

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

Chapitre I : Etudes bibliographiques

I.1. Aperçu théorique sur les métaux de transition et les ligands utilisés	3
I.1.1. Métaux de transition.....	3
I.1.2. Cuivre	3
I.1.3. Nickel	4
I.1.2. Les ligands	5
I.1.2.1. Ortho-phénylènediamine (OPD)	6
I.1.2.2. La curcumine	7
I.1.2.3. Bromo-aniline	9
I.1.2.4. Bases puriques	10
I.2. Aperçu théorique sur les complexes métalliques	11
I.2.1. Type de complexes	12
I.2.2. Les complexes de cuivre et nikel.....	12
I.3. Techniques de synthèses des complexes	13
I.3.1. Introduction.....	13
I.3.2. Chauffage à reflux	13
I.3.3. Filtration.....	13
I.4. Techniques expérimentales	14
I.4.1. Analyse conductimétrique.....	14
I.4.2. Point de fusion	15
I.4.3. Méthodes spectroscopiques.....	15
I.4.3.1. Infrarouge (IR)	15
I.4.3.2. Spectroscopie d'absorption électronique (UV-vis)	16

I.4.4. Microscope électronique à balayage (MEB).....	17
--	----

Chapitre II : Synthèse et propriétés des complexes

II.1. Introduction	18
II.2. Synthèse et préparation des complexes	18
II.2.1. Synthèse des complexes du cuivre	18
II.2.2. Synthèse des complexes du Nickel	20
II.2.3. Propriétés physico-chimiques des complexes	21

Chapitre III : caractérisation des complexes

III.1. Introduction	23
III.2.1. Etudes des spectres infrarouges des complexes	23
III.2.2. Etude des spectres d'absorption électronique des complexes	29
III.3. Analyse par microscopie électronique à balayage électronique	34

Chapitre IV : Application biologique

IV.1. Activité antioxydante	36
IV.1.1. Introduction	36
IV.1.2. Définition des antioxydants	36
IV.1.3. Radicaux libres	36
IV.1.4. L'étude de l'activité antioxydante	37
IV.1.5. Résultats et discussions	39
IV.2. Activité antibactérienne	40
IV.2.1. Introduction	40
IV.2.2. Les micro-organismes	40
IV.2.3. Micro-organismes utilisés	42

IV.2.4. Protocole expérimentale	43
IV.2.5. Détermination de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques	45
IV.2.6. Résultats et discussions	46
Conclusion générale	47
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction générale

Introduction générale

La chimie de coordination, est l'un des domaines qui suscite le plus d'intérêt en chimie inorganique essentiellement celle des métaux de transition, elle doit son nom à la nature des liaisons dans les composés formés (liaison de coordination, liaison dative ou encore liaison donneur accepteur) [1,2].

En chimie un complexe est un édifice poly-atomique constitué d'un ou de plusieurs cations (le plus souvent métallique) entouré de plusieurs ligands qui sont des molécules ou des ions qui délocalisent une partie de leur densité électronique sur le cation, formant ainsi des liaisons chimiques avec celui-ci. La chimie organométallique et celle de la coordination sont les subdivisions de la chimie qui décrivent la formation, la structure et la réactivité de ces complexes [3].

Les cations métalliques jouent un rôle important dans le fonctionnement cellulaire et la transformation des molécules naturelles.

Les ions métalliques comme le cuivre et le nickel sont parmi les éléments essentiels présents dans beaucoup d'espèces, en l'occurrence les protéines. Cependant, un excès de ces ions dans l'organisme humain peut nuire gravement à la santé. Le cuivre (II) et le nickel (II) sont capables de réagir avec des ligands mono-, bis- et polydentés pour former des composés avec diverses applications (environnementale, biologique et médecine) [4].

Les complexes les plus étudiés sont des complexes des métaux de transition, ces complexes ont attiré l'attention de nombreux chercheurs à cause de leur rôle dans un grand nombre de domaines : biologie, médecine, catalyse, l'industrie pharmaceutique, métallurgie et l'environnement [5].

L'ortho-phénylènediamine (OPD) est une diamine aromatique et le précurseur important pour de nombreux composés hétérocycliques [6].

Les bases de Schiff d'OPD sont utilisées dans la synthèse d'insecticides, de fongicides de colorants, d'inhibiteurs de corrosion et de pigments [7].

Les complexes d'ortho-phénylènediamine et de base de schiff dérivés de ce ligand ont une variété d'applications, biologiques, médicales et analytiques [8].

L'adénine (Ade) et la guanine (Gua), constituent les deux bases puriques, ce sont les éléments constitutifs de l'ADN (l'acide désoxyribonucléique) et de l'ARN (l'acide ribonucléique) jouant un rôle crucial dans le stockage de l'information génétique et dans la biosynthèse des protéines [9]. Les complexes métalliques avec les bases puriques ont de nombreuses applications dans la

Introduction générale

reconnaissance moléculaire [10], le magnétisme [11], la luminescence [12], la catalyse [13], l'électronique moléculaire [14] et l'absorption de gaz [15].

En plus des composés des bases puriques, on trouve beaucoup des travaux effectués sur les complexes de métaux de transition avec la curcumine. Cette dernière, composante bioactive jaune du curcuma, connue pour avoir une activité médicinale (activité antioxydante, anti-inflammatoires, détoxification cellulaire...etc.). Cette molécule a fait l'objet de plusieurs recherches dans le domaine de la biologie, de la médecine et de la pharmacologie [16,17].

Ces dernières années beaucoup d'attention a été accordée aux études des complexes mixtes en raison de leur présence dans les systèmes biologiques. Les complexes mixtes sont généralement plus actifs biologiquement que le ligand lui-même et ses complexes binaires.

Pour ces raisons, nous avons synthétisés et caractérisés des nouveaux complexes mixtes de cuivre (II) et de nickel (II) avec l'ortho-phénylènediamine comme ligand primaire et le bromo-aniline, la curcumine et les bases puriques (adénine et guanine) comme ligands secondaires.

Notre travail a consisté également à étudier le pouvoir biologique de ces complexes. Cette étude biologique comprenant l'activité antibactérienne et antioxydante.

De plus de l'introduction et de la conclusion le manuscrit est organisé en cinq chapitres suivants :

- ✚ Chapitre I : Il présente la synthèse bibliographique
- ✚ Chapitre II : Dans ce chapitre, nous donnons les modes opératoires de synthèse et les propriétés analytiques des complexes.
- ✚ Chapitre III : Il est réservé à l'interprétation des résultats de la caractérisation des complexes par les méthodes spectroscopiques.
- ✚ Chapitre IV : cette dernière partie de ce travail a été consacrée à l'activité biologique.

Chapitres I :
Etude bibliographique

I.1. Aperçu théorique sur les métaux de transition et les ligands utilisés

I.1.1. Métaux de transition

Un élément de transition est un élément qui forme un ou plusieurs ions stables avec des orbitales d incomplètes, Parmi les métaux de transition les plus abondants et les plus actifs dans le corps humain on peut citer le cuivre, le nickel et le cobalt [18].

Tous les éléments de transition ont des caractéristiques communes : ce sont des métaux, ils sont relativement durs, ils ont en général une forte densité et une température de fusion élevée. Les atomes sont liés par liaisons métalliques, ils conduisent la chaleur, l'électricité et ils forment des alliages [19].

I.1.2. Cuivre

Le cuivre est un élément chimique de symbole Cu et de numéro atomique 29, il appartient au groupe (IB) de la classification périodique des éléments. Un métal de transition ductile et malléable, de couleur rougeâtre (figure I.1), il possède une exceptionnelle conductivité thermique et électrique [20].



Figure I.1: Cuivre

A l'état pur il est très résistant à la corrosion. Il possède une orbitale s occupée par un seul électron et la sous-couche d est totalement remplie, ce qui permet la formation de liaisons métalliques. Entant que troisième métal de transition le plus abondant et le plus actif dans le corps humain, le cuivre joue de nombreux rôles critiques dans divers processus biologiques [21,22].

En solution, le cuivre se retrouve généralement à deux degrés d'oxydation : I et II.

Il existe également une forme instable du cuivre (III) (plus rare). Le cuivre (II) adopte typiquement une géométrie de coordination plan carrée, cependant, on découvre de plus en plus des complexes de Cu(II) ayant une coordinence cinq. Cette dernière correspond plus à une pyramide à base carrée. Le Cu(II) forme aussi des complexes octaédrique et tétraédrique [23].

Les complexes de Cu(II) possèdent une large gamme d'activité biologique et sont parmi les agents antiviraux les plus efficaces, antitumoraux et agents anti-inflammatoires [24].

➤ Propriétés physicochimiques du cuivre :

Tableau I.1 : Propriétés physicochimiques du cuivre

Numéro atomique	29
Masse molaire(g/mol)	63,54
Masse volumique (g.cm⁻³) à 20°	8,96
Point de fusion (°C)	1085
Point d'ébullition (°C)	2562
Configuration électronique	[Ar] 3d¹⁰4s¹
Isotope	2
Etat physique	Solide

I.1.3. Nickel :

Le nickel est un élément chimique de symbole Ni et de numéro atomique 28, métal de transition du bloc d, le plus léger du groupe 10.

Le nickel est un métal dense blanc argenté (figure I.2), plus dur et plus tenace (résistant) que le fer. Il représente de 0,8 à 0,9 % de la croûte terrestre, et fait partie des groupes des minéraux non ferreux. Le nickel existe dans plusieurs états d'oxydations -1, 0, +2, +3, +4, son état d'oxydation le plus fréquent est le nickel (+2) dans les conditions environnementales normales. L'étude de la chimie de coordination du nickel a suscité un intérêt considérable ces dernières années. Depuis, l'ion Ni (II) joue un rôle important dans le processus biologique et géochimique. L'ion Ni(II) de configuration d⁸ a tendance à former des complexes de géométrie plane-carrée et octaédrique d'une grande stabilité. Le Ni(II) forme des sels avec presque tous

les anions en solution aqueuses et en absence d'un ligand complexant fort, il existe sous forme d'un ion vert $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ [25].



Figure I.2 : Nickel

➤ Propriétés physicochimiques du Nickel

Tableau I.2 : Propriétés physicochimiques du Nickel

Numéro atomique	23
Masse molaire(g/mol)	58,69
Masse volumique (g.cm ⁻³) à 20°	8,9
Point de fusion (°C)	1455
Point d'ébullition (°C)	2913
Configuration électronique	[Ar] 3d ⁸ 4s ²
Isotope	4
Etat physique	Solide

I.1.2. Les ligands

Les ligands (coordinats) sont des molécules ou des atomes qui entourent l'atome central. Ils sont connectés au centre métallique par une liaison chimique. Les ligands peuvent être :

- Des ions constitués d'un seul atome : (Cl⁻, Br⁻, I⁻).
- Des molécules neutres (H₂O, NH₃...).
- Des ions moléculaires organiques (CH₃COO⁻) ou minéraux : (PO₄³⁻).

Les ligands jouent un rôle très important dans la chimie organométallique, puisqu'ils peuvent provoquer des changements dans les propriétés chimiques et physiques des complexes des métaux de transitions [26,27].

I.1.2.1. Ortho-phénylènediamine (OPD) :

L'ortho-phénylènediamine, ou 1,2-diaminobenzène, est un composé chimique de formule $C_6H_4(NH_2)_2$ (Figure I.3). C'est une diamine aromatique précurseur de nombreux composés organiques hétérocycliques. Les autres isomères sont la méta-phénylènediamine, et la para-phénylènediamine.

La préparation de ce composé se fait le plus souvent par le traitement de 2-nitrochlorobenzène $ClC_6H_4NO_2$ avec l'ammoniac NH_3 pour donner le 2-aminonitrobenzène $H_2NC_6H_4NO_2$ qui est ensuite hydrogéné :

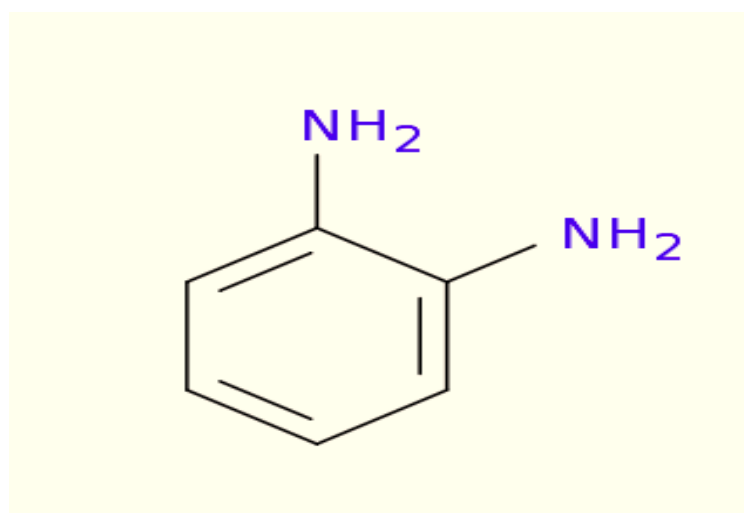
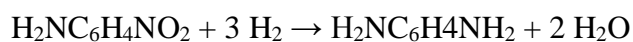
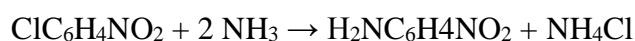


Figure I.3 : Structure de l'ortho-phénylènediamine

➤ Propriétés physiques :

L'ortho-phénylènediamine a une densité relative de 1,2698, le point de fusion de 103 °C à 104 °C, le point d'ébullition de 256 ~ 258 °C. Sa couleur change facilement lors de l'exposition à l'air, du blanc au jaune, au brun, au violet et enfin au noir. Il est légèrement soluble dans l'eau froide, facilement soluble dans l'eau chaude, l'éthanol, l'éther, le chloroforme et le benzène. Sa réaction avec l'acide inorganique peut conduire à la formation de sels hydrosolubles.

➤ Propriétés chimiques

L'ortho-phénylènediamine a des propriétés chimiques actives, il peut avoir une réaction de condensation avec des acides, des aldéhydes, des cétones et d'autres composés, généralement des composés hétérocycliques ; il peut également avoir une réaction d'oxydation, de condensation, de substitution et de diazotation.

L'o-phénylènediamine est principalement utilisé dans la fabrication de pesticides fongicides (carbendazime, bénomyl, thiophanate-méthyl, thiabendazole), colorants réducteurs, colorants cationiques (polymère stabilisateur (2-mercaptobenzimidazole), composés hétérocycliques (benzimidazole et quinoxaline), matériaux photographiques, tensioactifs, antigel, anticorrosifs au cuivre. C'est l'un des composants de la formulation des colorants capillaires et l'un des réactifs organiques couramment utilisés en chimie analytique pour identifier les 1,2-diesters, les acides carboxyliques et les aldéhydes.

I.1.2.2. La curcumine :**➤ Origine :**

La curcumine (curcumin en anglais) (figure I.4), est un composé polyphénolique d'origine végétale naturellement présent dans le curcuma [28].

IL est utilisé depuis des siècles dans les régimes alimentaires et les médecines traditionnelles des cultures asiatiques et indiennes et demeure aujourd'hui une épice alimentaire populaire dans le monde entier [29].

La curcumine a été isolée pour la première fois du curcuma en 1815 et la structure a été délimitée en 1910 sous le nom de diferuloylméthane [30].

Plusieurs rapports montrent qu'il est non toxique pour les cellules normales et induit une toxicité sélective dans les cellules tumorales. En général, des doses allant de 0,2 à 8 g / jour de la curcumine se sont révélées non toxiques pour l'homme.

Au fil des années, la curcumine a également trouvé son application en bioimagerie et en développement de biocapteurs [31].

La curcumine est extraite des rhizomes du curcuma séchés et broyés et est généralement considérée comme son composé le plus actif. Elle donne la couleur jaune, avec les deux autres curcuminoïdes du curcuma et du curry [32].

La curcumine a été utilisée traditionnellement pour de nombreuses maladies en raison de son large spectre d'activités pharmacologiques. Il a été démontré que la curcumine présente

des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Elle a également des activités hépatoprotectrices et néphroprotectrices, protège contre l'infarctus du myocarde et elle possède des propriétés hypoglycémiantes et antirhumatismales [33,34].



Figure I.4 : La curcumine.

➤ **Structure de la curcumine :**

La curcumine est une molécule poly phénolique, de formule brute $C_{21}H_{20}O_6$, dénommée par la nomenclature chimique comme un [1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) -1,6-heptadiene-3,5-dione] ou de manière plus concise diferuloylmethane (figureI.5). La plupart des préparations de curcumine actuellement disponibles contiennent environ 77% de diferuloylméthane, 18 de diméthoxycurcumine et 5 bisdéméthoxycurcumine [30].

La curcumine existe sous la forme cétonique dans les milieux basiques et la forme énolique dans un milieu acide et neutre qui est la forme cristalline la plus stable [35].

La curcumine peut potentiellement exercer un effet antioxydant à travers ses groupes phénoliques et dicétoniques et peut donc agir comme piègeur de radicaux libres. Cependant, il a été récemment démontré que les groupes hydroxyles phénoliques sont responsables du pouvoir antioxydant de la curcumine [30].

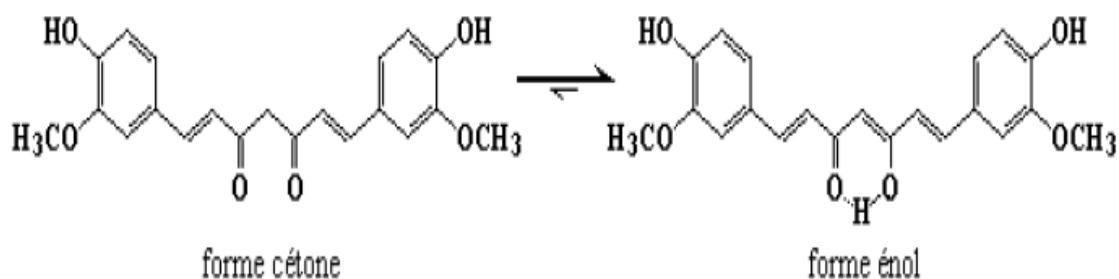


Figure I.5 : Structure de la curcumine

❖ Propriétés de la curcumine :

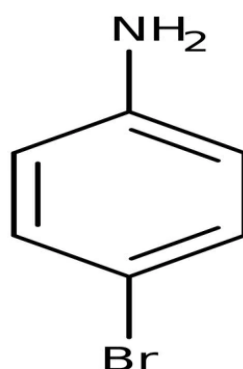
➤ Propriétés physico-chimiques :

A pH neutre et acide, la curcumine se comporte comme un donneur de proton et à pH basique comme un donneur d'électron à l'origine de ses propriétés antioxydantes [36].

La curcumine est insoluble dans l'eau, de nature hydrophobe elle est soluble dans le méthanol, l'acétone, l'éthanol et les huiles. Elle est instable à pH basique, présente un poids moléculaire de 368,37 g/mol et un point de fusion de 183°C [35].

I.1.2.3. Bromo-aniline :

La 4-bromo-aniline ou *p*-bromoaniline est un composé de formule brute C_6H_6BrN (figure I.6). Il est synthétisé à partir d'une molécule d'aniline substituée par un atome de brome en position para, en faisant réagir l'aniline avec du brome en protégeant l'amine de ce dernier avec du chlorure d'acétyle. Il est utilisé généralement dans la synthèse du bromamide et dibromsalan (disanyl).

Figure I.6 : structure du *p*-bromoaniline

I.1.2.4. Bases puriques :

Ce sont des dérivées de la purine, elles sont principalement l'adénine et la guanine contenues dans l'ADN ou l'ARN.

❖ Adénine

L'adénine est une base nucléique entrant dans la constitution des nucléotides, composants de base (ou monomères) des acides nucléiques. C'est une molécule de formule brute $C_5H_5N_5$ (figure I.7), appartenant à la famille des purines, c'est une molécule hétérocyclique, car elle possède en effet plusieurs atomes d'azotes associés en cycle avec des atomes de carbone.

Le point de fusion de l'adénine se situe entre 360 et 365 °C. Il s'agit d'un point de fusion relativement élevé pour un composé organique.

L'adénine est un composé qui possède plusieurs utilités. Au cours de l'évolution, il semble que l'adénine a été un composé apprécié par les organismes vivants de par son efficacité. Il s'avère donc qu'au cours de la diversification de l'immense quantité de réactions chimiques se déroulant dans les organismes vivants, l'adénine s'est retrouvée à jouer plusieurs rôles clés.

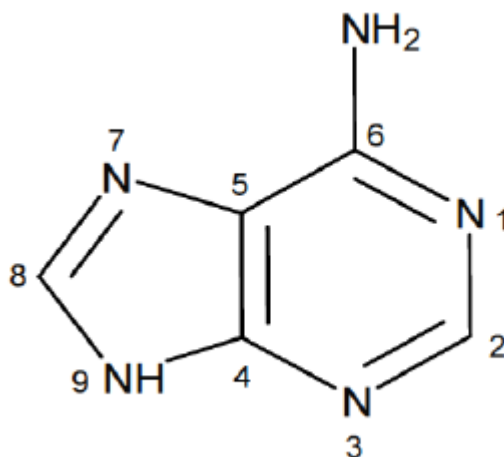


Figure I.7 : structure de l'adénine

❖ Guanine

La guanine est une molécule hétérocyclique (cycle composé de carbone et de l'azote), de formule brute $C_5H_5N_5O$ (figure I.8), C'est une base azotée de la famille des purines (un cycle pyrimidine fusionné à un cycle imidazole).

La guanine participe à la formation de la guanosine (où la guanine est associée à un ribose) qui entre notamment dans la composition des acides nucléiques ADN et ARN. La guanine s'apparie

avec la cytosine dans l'ADN comme dans l'ARN et existe sous six formes tautomères dont quatre stéréoisomères et deux tautomères avec un groupe fonctionnel différent.

La guanine s'oxyde plus facilement que l'adénine, son point de fusion élevé (plus de 350 °C) reflète les ponts hydrogène entre les groupes oxo et amino entre les molécules. À cause de ces liaisons intermoléculaires, la guanine est relativement insoluble dans l'eau, mais soluble dans les acides dilués et les bases.

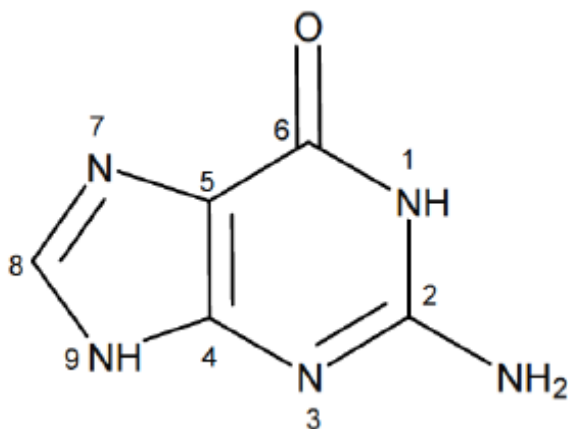


Figure I.8 : structure de la guanine

I.2.Aperçu théorique sur les complexes métalliques :

Un complexe où composé de coordination est un édifice polyatomique constitué d'un cation métallique central entouré d'ions ou de molécules appelés ligands ou d'agents complexant associés à l'atome central par des liaisons de type datives. Certains complexes sont constitués de plusieurs atomes centraux : on les appelle complexes polynucléaires, Le nombre de ligands fixés à l'atome métallique central (indice de coordination, valence coordinative ou coordinence) est un nombre entier qui fixe la géométrie du complexe ; il vaut le plus souvent 4 (géométrie plan carré ou tétraédrique) ou 6 (géométrie octaédrique). Suivant la nature et la charge de chacun des composants du complexe, celui-ci peut être neutre, chargé positivement ou négativement. Le plus souvent, le métal est chargé positivement (oxydé). Les ligands qui peuvent être soit des ions, des atomes ou des molécules sont soit neutres, soit chargés négativement (ou positivement) [37].

I.2.1. Type de complexes :

La classification des complexes se base sur le nombre d'ions (ou d'atomes) centraux qu'ils comportent. Donc on peut distinguer :

- **Complexes monométallique (mononucléaire) :** Il s'agit des complexes contenant un seul ion métallique central.
- **Complexes polymétallique (polynucléaire) :** Ces complexes comportent deux ou plusieurs ions métalliques, on les désigne par les termes bimétalliques (bi nucléaires), tri métalliques (tri nucléaires) ...etc.

I.2.2. Les complexes de cuivre et nickel :

➤ Complexes de cuivre :

Les complexes de cuivre sont toujours présents en médecine, en biologie, en pharmacie, et en chimie et toutes ses disciplines. Le cuivre (II) adopte une géométrie de coordination plan carré, parfois trigonal avec deux ligands axiaux faiblement liés (octaédrique). La stabilité relative des complexes de cuivre (II) en solution dépend très fortement des ligands présents et peut varier considérablement suivant le solvant. Les complexes de Cu(II) possèdent une large gamme d'activité biologique et sont parmi les agents antiviraux les plus efficaces, antitumoraux et agents anti-inflammatoires [38].

➤ Complexes de nickel :

Les complexes de nickel sont caractérisés par la différence de couleur qui change avec la géométrie de coordination.

-La plupart des complexes du nickel (II) octaédriques sont verts ou bleus pâles

-La plupart des complexes du nickel (II) tétraédriques sont bleus ou verts intenses alors que les composés plans-carrés sont souvent rouges ou oranges. Il est clair que l'environnement stéréochimique d'un ion métallique est un facteur important dans la détermination de son spectre [39].

I.3. Techniques de synthèses des complexes :

I.3.1. Introduction

Ce chapitre décrit les montages expérimentaux utilisés ainsi que les différentes méthodes d'analyses permettant la caractérisation des composés obtenus.

I.3.2. Chauffage à reflux

Les complexes du Cu(II) et du Ni(II) ont été synthétisés selon la méthode suivante : Le mélange réactionnel a lieu dans un ballon à fond rond surmonté par un réfrigérant avec Circulation d'eau. La réaction s'effectue avec une agitation magnétique et un chauffage à Reflux (figure II.1).

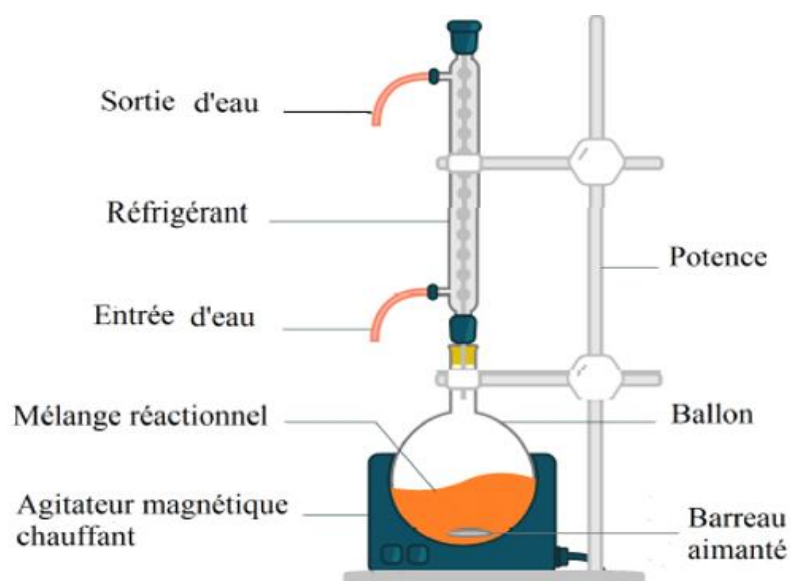


Figure II.1 : Dispositif expérimental de synthèse des complexes du Cu (II) et Ni (II)

I.3.3. Filtration

La filtration (figure II.2) est une méthode de séparation permettant de séparer les constituants d'un mélange qui possède une phase liquide et une phase solide. Tous les précipités obtenus sont filtrés à travers un filtre en verre fritté de porosités 3 ou 4.

Le filtre est maintenu par une bague en caoutchouc placée dans le col d'un erlenmeyer destiné à l'aspiration.

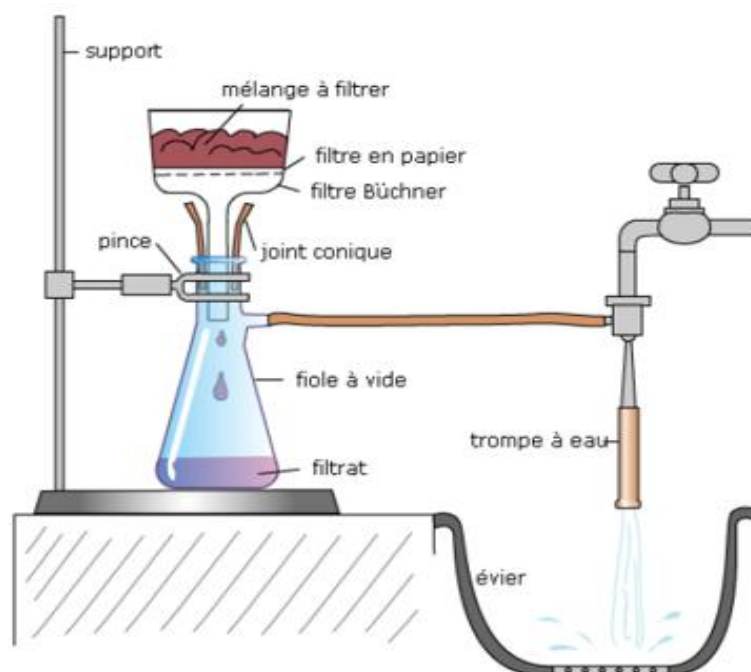


Figure II.2 : dispositif expérimentale de filtration des complexes

I.4. Techniques expérimentales :

Les différentes Techniques de caractérisation ont été utilis pour déterminer les formules chimiques et identifier les complexes synthésés.

I.4.1. Analyse conductimétrique :

La conductivité électrique caractérise l'aptitude d'un matériau ou d'une solution à laisser les charges électriques se déplacer librement, donc permettre le passage d'un courant électrique. La conductivité molaire des espèces solides dans des solvants à température ambiante évaluée par conductimétrie, permet de déterminer la nature des complexes, ioniques ou neutres.

Les mesures de conductimétries ont été effectuées à l'aide d'un conductimètre de type Consort C3030 à $T = 25^{\circ}\text{C}$. La concentration des complexes dissous dans le DMSO relevé est égale à 10^{-3}M . Le passage de la conductivité spécifique σ (valeur affichée sur le conductimètre) exprimée en $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ à la conductivité molaire Λ_{M} , exprimée en $\Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$ est donnée par la formule suivante :

$$\Lambda_{\text{M}} = \sigma / C_{\text{M}}$$

Λ_{M} : conductivité équivalente molaire.

σ : conductivité spécifique mesure affichée sur le conductimètre.

C_M : représente la concentration molaire exprimée en mole par cm^3 .

Lorsque $C_M = 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$, la relation précédente devient alors :

$$\Lambda_M = \sigma/10^{-6}$$

Les mesures conductimétriques nous renseignent sur la nature électrolytique des complexes.

I.4.2. Point de fusion :

Le point de fusion d'un corps représente la température à une pression donnée, à laquelle un élément pur ou un composé chimique passe de l'état solide à l'état liquide. Il peut nous renseigner sur la stabilité des complexes synthétisés.

Les points de fusion des complexes étudiés ont été déterminés en utilisant des tubes capillaires à l'aide d'un appareil digital melting point SMP30.

I.4.3. Méthodes spectroscopiques

I.4.3.1. Infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge est une technique de caractérisation, utilisée pour déterminer les types de liaisons présentes dans une molécule, et les structures de certaines molécules simples. Elle permet d'obtenir des informations et la confirmation de présence des groupements fonctionnels des ligands dans les complexes.

Cette technique d'analyse structurale fonctionnelle est basée sur l'analyse vibrationnelle des liaisons. Elle fournit des informations sur les liaisons chimiques vibrantes à des fréquences caractéristiques, lorsqu'elles sont exposées au rayonnement infrarouge ; elles absorbent le rayonnement à des fréquences qui correspondent à leurs modes de vibration (figure II.3). La mesure de l'absorption du rayonnement en fonction de la fréquence produit un spectre qui peut être utilisé pour identifier les composés [40].

Les spectres IRTF des complexes ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre IR Affinity-1S fourier transform Infrared spectrophotometer modèle SHIMADZU dans un domaine de nombre d'onde allant de 400 à 4000 cm^{-1} .

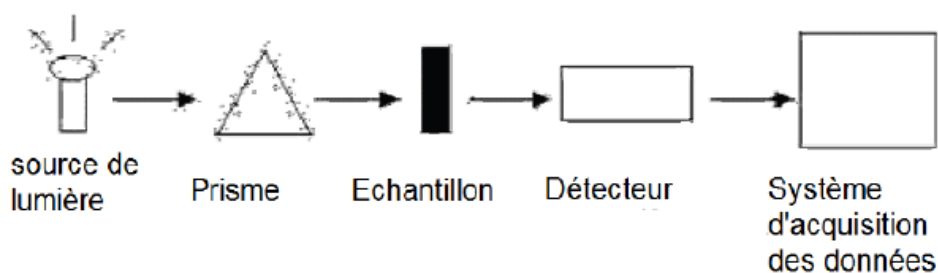


Figure II.3 : Dispositif de l'infrarouge

I.4.3.2. Spectroscopie d'absorption électronique (UV-vis)

La spectroscopie d'absorption électronique nous renseigne sur le mode de coordination de l'ion central avec les ligands. Cette méthode est fondée sur le phénomène d'absorption d'énergie lumineuse par substance (figure II.4). Lorsque cette dernière absorbe une partie d'énergie de la radiation électromagnétique, cette absorption est automatiquement accompagnée d'une transition électronique d'un niveau fondamental à un niveau d'énergie supérieur [41].

Les analyses sont effectuées dans l'UV/Visible de type Thermo Scientific Evaluation 220 UV/Visible spectrophotomètre. Les longueurs d'onde maximales sont obtenues directement par un balayage entre 400 et 800 nm pour le visible et entre 200 et 400 pour ultraviolets. Des cuves en quartz de 1cm de trajet optique sont utilisées.

La spectroscopie UV-Visible permet également de déterminer quantitativement la concentration d'espèces absorbantes dans ce domaine spectral (via la loi de Beer-Lambert).

La loi de Beer-Lambert permet de relier absorbance et concentration :

$$A = \epsilon \cdot l \cdot C = \log(I_0) / (I)$$

A : est l'absorbance (sans unité).

ϵ : est le coefficient d'absorption molaire en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$.

L : longueur de la cuve, en général 1 cm.

C : concentration en mol/L.

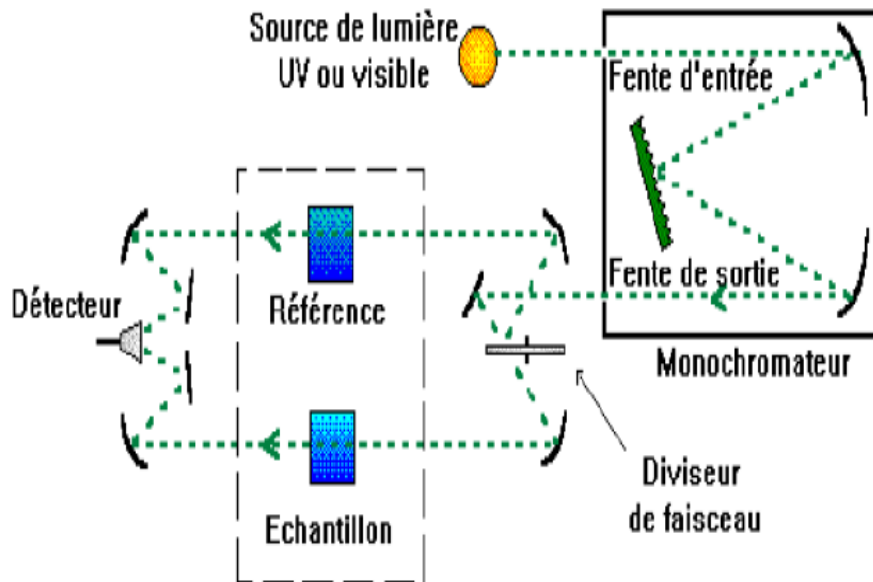


Figure II.4 : Principe d'UV-Visible

I.4.4. Microscope électronique à balayage (MEB) :

Le fonctionnement du MEB est basé sur l'émission d'électrons produits par une cathode et la détection de signaux provenant de l'interaction entre ces électrons et un échantillon. L'envoi d'un faisceau d'électrons incidents d'énergie E_0 sur la surface d'un échantillon entraîne la formation de différentes particules.

Les trois principaux signaux utilisés en microscopie électronique à balayage sont les électrons secondaires, les électrons rétrodiffusés et les rayons X :

1. Les électrons secondaires de faible énergie cinétique permettent d'obtenir des renseignements sur la topographie de l'échantillon.
2. Les électrons rétrodiffusés permettent d'obtenir une image par contraste de numéro atomique.
3. Les rayons X permettent d'obtenir des renseignements sur la nature chimique des éléments constituant l'échantillon. La technique relative à la détection des rayons X est appelée spectroscopie à dispersion d'énergie (EDS en anglais). Cette méthode permet d'obtenir une analyse élémentaire semi-quantitative de l'échantillon étudié.

Chapitre II :

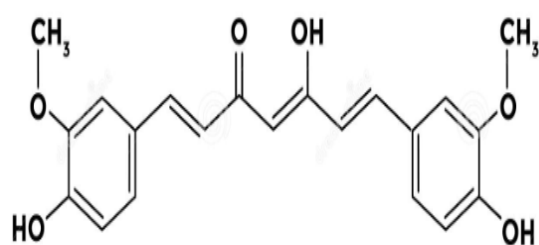
Synthèse et propriétés des complexes

II.1. Introduction

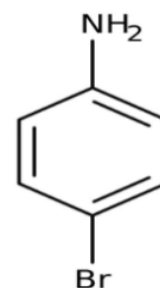
Dans ce chapitre, nous présentons la méthode de préparation des complexes de cuivre (II) et de nickel (II) avec l'ortho-phénylèndiamine comme ligand primaire et le bromo-aniline, curcumine et les bases puriques (l'adénine et la guanine) comme ligands secondaires. II.2.1.

II.2. Synthèse et préparation des complexes

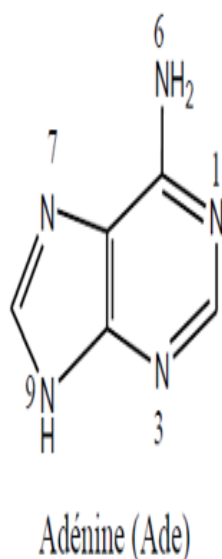
La figure III.1 : montre la structure de tous ligands utilisés dans la synthèse de ces complexes.



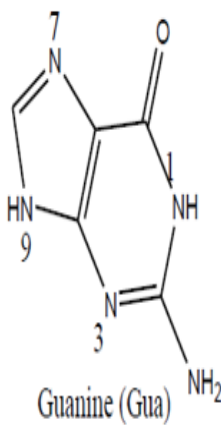
Curcumine (cur)(forme éno)



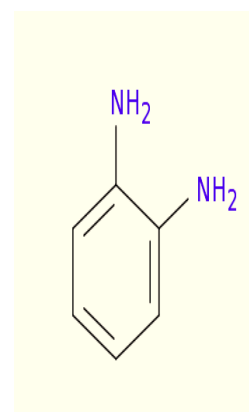
Bromo-aniline (Br-anil)



Adénine (Ade)



Guanine (Gua)



Ortho-phénylènediamine (OPD)

Figure III .1 : Structures des ligands utilisés dans ce travail

II.2.1. Synthèse des complexes du cuivre

• Complexe [Cu(OPD)(Br-ani)₂]

On a dissous (5 mmol) de nitrate de cuivre tri hydraté dans (10 ml) d'eau distillée puis on a rajouté une solution d'OPD (5 mmol) dissous dans un mélange eau /éthanol (5ml/5ml). La

solution obtenue est placée sous agitation et chauffage à reflux. Après 15 min une solution de 4-bromoaniline (10 mmol) dissous dans un mélange eau /éthanol (5ml/5ml) a été ajoutée à la solution précédente et le pH a été ajusté à 10 par une solution NaOH. Après 4h on obtient un précipité qui a été filtré, lavé successivement avec de l'éthanol et l'acétone puis séché à l'air libre.

- **Complexe [Cu(OPD)(Cur)]**

On a dissous (5 mmol) de nitrate de cuivre tri hydraté dans (5 ml) d'eau distillée puis on a rajouté une solution d'OPD (5 mmol) dissous dans un mélange d'eau distillée/éthanol (5ml/5ml) .la solution résultante est placée sous agitation et chauffage à reflux. Après 25 min une solution de curcumine (5 mmol) dissous dans (30ml) d'éthanol a été ajoutée à la solution précédente. Le mélange réactionnel a été chauffé à nouveau à reflux. Après 3h on obtient un précipité de couleur marron chocolat qui a été filtré, lavé successivement avec de l'éthanol et l'acétone puis séché à l'air libre.

- **Complexe [Cu(OPD)(Ade)]**

On a dissous (5 mmol) de nitrate de cuivre tri hydraté dans (5 ml) d'eau distillée puis on a rajouté une solution d'adénine (5 mmol) dissous dans (10ml) de l'éthanol plus quelque goutte de NH₄OH (2M). Le mélange résultant est placé sous agitation et chauffage à reflux. Après 20 min Une solution d'OPD (5 mmol) dissous dans un mélange d'eau distillée/éthanol (5ml/5ml) et a été ajoutée à la solution précédente. Le mélange réactionnel a été maintenu sous agitation et chauffage à reflux. Après 5h on obtient un précipité de couleur noir pétrole qui a été filtré, lavé successivement avec de l'éthanol et l'acétone puis séché à l'air libre.

- **Complexe [Cu(OPD)(Gua)]**

Le complexe a été préparé en mélangeant (5 mmol) de nitrate de cuivre tri hydraté dissous dans (5 ml) d'eau distillée et une solution de guanine (5 mmol, 0.75 g) dissous dans (30ml) d'éthanol avec quelques gouttes de NH₄OH (2M). Le mélange résultant est placé sous agitation et chauffage à reflux. Après 30 min Une solution d'OPD (5 mmol) dissous dans un mélange d'eau distillée/éthanol (5ml/5ml) a été ajoutée à la solution précédente. Le mélange réactionnel a été chauffé à nouveau à reflux. Après 3h30min on obtient un précipité de couleur noir qui a été filtré, lavé successivement avec de l'éthanol et l'acétone puis séché à l'air.

II.2.2. Synthèse des complexes du Nickel :**• Complexe [Ni(OPD)(Br-ani)₂]2Br**

Dans un ballon de 250 ml on a dissous (5 mmol) de nitrate de nickel hexahydraté Ni(NO₃).6H₂O dans (10ml) d'eau distillé et (10mmol) de 4-bromoaniline dissous dans un mélange eau /éthanol (5ml/5ml). La solution obtenue est placée sous agitation magnétique et chauffage a reflux. Par la suite nous avons rajouté une solution d'OPD (5mmol) dissous dans un mélange eau /éthanol (5ml/5ml) avec ajout de (10mmol) de NaBr. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant quelques heures. Le précipité formé de couleur noir a été filtré et laver avec de l'éthanol ensuite l'acétone et séché a l'air libre.

• Complexe [Ni(OPD)₂(Cur)]

Ce complexe a été obtenu par addition de (3mmol) de nitrate de nickel hexahydraté Ni(NO₃).6H₂O dissous dans (5ml) d'eau distillé avec et (6mmol) d'OPD dissous dans un mélange d'eau distillé/éthanol (5ml/5ml). Le mélange a été mis sous agitation magnétique et chauffage a reflux. Par la suite nous avons solubilisé (3mmol) de curcumine dans 30ml d'éthanol que nous avons rajouté successivement à la solution précédente. Le PH a été ajusté à 10 par ajout de quelques gouttes de NaOH (2M). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation magnétique et chauffage à reflux durant 4h30min. Le précipité obtenu est de couleur rouge brique a été filtré ensuite laver avec l'éthanol et l'acétone puis séché l'air libre.

• Complexe [Ni(OPD)(Ade)]

On a dissous (5 mmol) de nitrate de nickel hexahydraté Ni(NO₃).6H₂O dans (10ml) d'eau distillé distillée puis on a rajouté une solution d'adénine (5 mmol) dissous dans (10ml) de l'éthanol plus quelque goutte de NH₄OH (2M). Le mélange résultant est placé sous agitation et chauffage à reflux. Après 20 min Une solution d'OPD (5 mmol) dissous dans un mélange eau /éthanol (5ml/5ml) et a été ajoutée à la solution précédente. Le mélange réactionnel a été maintenu sous agitation et chauffage à reflux. Après 3h30min on obtient un précipité de couleur noir qui a été filtré, lavé successivement avec de l'éthanol et l'acétone puis séché à l'air libre.

- **Complexe [Ni(OPD)(Gua)]**

Le complexe a été préparé en mélangeant une solution (5 mmol) de nitrate de Nickel hexahydraté $\text{Ni}(\text{NO}_3)_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dans (10ml) d'eau distillée et une solution de guanine (5 mmol) dissous dans (30ml) d'éthanol avec quelques gouttes de NH_4OH (2M). Le mélange résultant est placé sous agitation et chauffage à reflux. Après 30 min Une solution de l'OPD (5 mmol) dissous dans (5 ml) d'éthanol et (5ml) de l'eau distillée a été ajoutée à la solution précédente. Le mélange réactionnel a été chauffé à nouveau à reflux. Après 4h45 min on obtient un précipité de couleur noir qui a été filtré, lavé successivement avec de l'éthanol et l'acétone puis séché à l'air.

II.2.3. Propriétés physico-chimiques des complexes :

Les complexes synthétisés à l'état solide sont stables à l'air et à température ambiante et ne demandent pas des conditions particulières de conservation. Ces complexes sont insolubles dans l'eau, l'éthanol et méthanol, mais soluble dans le DMSO et le DMF.

Les mesures de la conductivité sont réalisées dans le DMSO à 25 °C avec une concentration de 10^{-3}M ont montré que sept sur huit de nos complexes sont non ioniques.

Tableau II .1 : Propriétés physico-chimiques des complexes

Complexes		M (g/mol)	Couleur	R (%)	Pf (°C)	Λ_m ($\Omega^{-1}\text{Cm}^2\text{mol}^{-1}$)
1	[Cu(OPD)(Br-Ani) ₂]	513,746	Noir	52,21	> 350	29,5
2	[Ni(OPD)(Br-Ani) ₂] ₂ Br	670,701	Noir	64,61	> 350	50
3	[Cu(OPD)(Cur)]	538,066	Marron Chocolat	43,92	210	3,64
4	[Ni(OPD) ₂ (Cur)]	533,213	Rouge brique	92,87	297	9,30
5	[Cu(OPD)(Ade)]	304.861	Noir foncé	74	> 350	5.20
6	[Ni(OPD)(Ade)]	299,963	Noir	63	> 350	22,2
7	[Cu(OPD)(Gua)]	320.816	Noir	65	> 350	11.42
8	[Ni(OPD)(Gua)]	315,963	Noir	68	> 350	12,9

Chapitre III :
Caractérisation des complexes

III.1. Introduction

Les complexes préparés dans notre présent travail ont été isolés à l'état solide. Leur caractérisation a été faite par des études spectrales (spectres IR et spectres électroniques).

III.2.1 Etudes des spectres infrarouges des complexes :

La technique de la spectroscopie infrarouge permet de savoir s'il y a complexation ou non par comparaison du spectre IR du ligand avec celui du composé obtenu.

En effet, l'engagement d'une molécule comme ligand dans un complexe métallique s'accompagne de modification de son spectre IR. Ces modifications sont représentées par :

- Déplacement de certaines bandes.
- Apparition de nouvelles bandes.
- Disparition de certaines bandes.
- Multiplication de certaines bandes.

Les données spectrales IR des ligands et de leurs complexes sont regroupées dans les tableaux IV.1 et IV.2 respectivement. Les spectres typiques des complexes 1, 3 et 7 qui sont représentés dans les figures IV.1, IV.2 et IV.3.

Le spectre IR de l'orthophénylènediamine (OPD) et bromo-aniline (Br-Ani) montrent deux bandes d'absorption à 3373 et 3185 cm^{-1} pour l'OPD et 3473 et 3381 cm^{-1} pour Br-Ani assignées aux vibrations asymétriques et symétriques du groupement NH_2 respectivement.

La présence et le déplacement de ces deux bandes dans les spectres IR des complexes 1 et 2 indique l'existence et la coordination de ces ligands avec le métal par l'azote du groupement NH [42,43].

De plus, le déplacement des autres bandes importantes qui caractérisent ces deux ligands ($\nu(\text{C}-\text{NH}_2)$, $\delta(\text{C}=\text{C})_{\text{arom}}$) dans les spectres IR des complexes confirme la conclusion précédente [44].

Cette conclusion est renforcée par l'apparition des nouvelles bandes dans la région 413-494 cm^{-1} correspondant à la (M-N) [45,46].

Les spectres IR des complexes 3 et 4 qui sont des complexes à base de curcumine (cur) montrent une bande à 3500 cm^{-1} , cette bande existe à la même fréquence dans la cur libre, ce qui indique que le groupement OH n'est pas impliqué dans la complexation [47].

Cette conclusion est confirmée par la présence d'une bande intense à environ 1260 cm^{-1} dans les spectres IR des complexes de curcumine qui est attribuée au $\delta(\text{C-O})_{\text{phénol}}$.

Par contre, toutes les autres bandes caractéristiques de la curcumine libre ($\nu(\text{C=O})$, $\delta(\text{C-O})$ éno, $\nu(\text{C=C})$ arom, $\nu(\text{C=C})_{\text{aliph}}$ sont déplacées dans les spectres IR de leurs complexes ; cela veut dire que la coordination de la curcumine avec le métal (Cu et Ni) est effectuée avec les oxygènes des groupements carbonyle en forme éno [47].

Par ailleurs, toutes les bandes caractéristiques de l'OPD libre sont déplacées dans les spectres IR de ces complexes. La coordination de la curcumine est confirmée par la présence des nouvelles bandes dans la région $545\text{-}574\text{ cm}^{-1}$ qui sont dues aux liaisons métal-oxygène [50], et la coordination du ligand principale par l'apparition des bandes dans la région $423\text{-}461\text{ cm}^{-1}$ qui sont dues aux fréquences de vibrations métal-azote.

Les complexes à base de l'adénine et la guanine (complexe 5, 6,7et 8) présentent une bande très large et intense dans la région $3106\text{-}3333\text{ cm}^{-1}$ cette dernière est probablement due au chevauchement de plusieurs bandes qui correspondent aux fréquences de vibration asymétrique et symétrique du groupement NH_2 des ligands (Ade, Gua et OPD).

La fréquence de déformation $\sigma(\text{NH}_2)$ de l'adénine et de la guanine libres observée à 1668 et à 1630 cm^{-1} respectivement est décalée vers des nombres d'ondes plus faibles dans les complexes de ces ligands.

De plus la bande à 1250 cm^{-1} dans le spectre IR de l'adénine libre et à 1150 cm^{-1} dans le spectre IR de la guanine libre qui due à $\nu(\text{C-NH}_2)$ est décalée vers des nombres d'ondes plus faibles 1202 cm^{-1} dans les complexes de l'adénine et vers des nombres d'ondes plus élevés (1237 et 1191 cm^{-1}) dans les complexes de la guanine.

Toutes ces indications montrent que l'adénine et la guanine sont coordonnés à l'ion métallique avec le groupe NH_2 de ces ligands [48,49].

Le spectre IR de la guanine libre présente également une bande forte sous forme de deux pics distincts à (1670 et 1695 cm^{-1}), cette bande est déplacée dans les spectres IR de leurs complexes (7 et 8), ceci atteste que le deuxième site de coordination de la guanine avec l'ion métallique est l'oxygène du groupe carbonyle.

Le spectre IR de l'adénine libre montre une bande à 1230 cm^{-1} assignée à $\nu(\text{C}_8\text{-N}_7)$, cette dernière est décalée dans les complexes de ce ligand ce qui indique probablement que le deuxième site de coordination de l'adénine est l'azote (N_7) du cycle imidazole.

L'étude des spectres IR des complexes avec les bases puriques a donné de nouvelles bandes dans la région 431-493 cm^{-1} correspondant à V (M-N) tandis que les bandes (564 et 556) cm^{-1} dans les complexes à la base de la guanine sont dues à V (M-O).

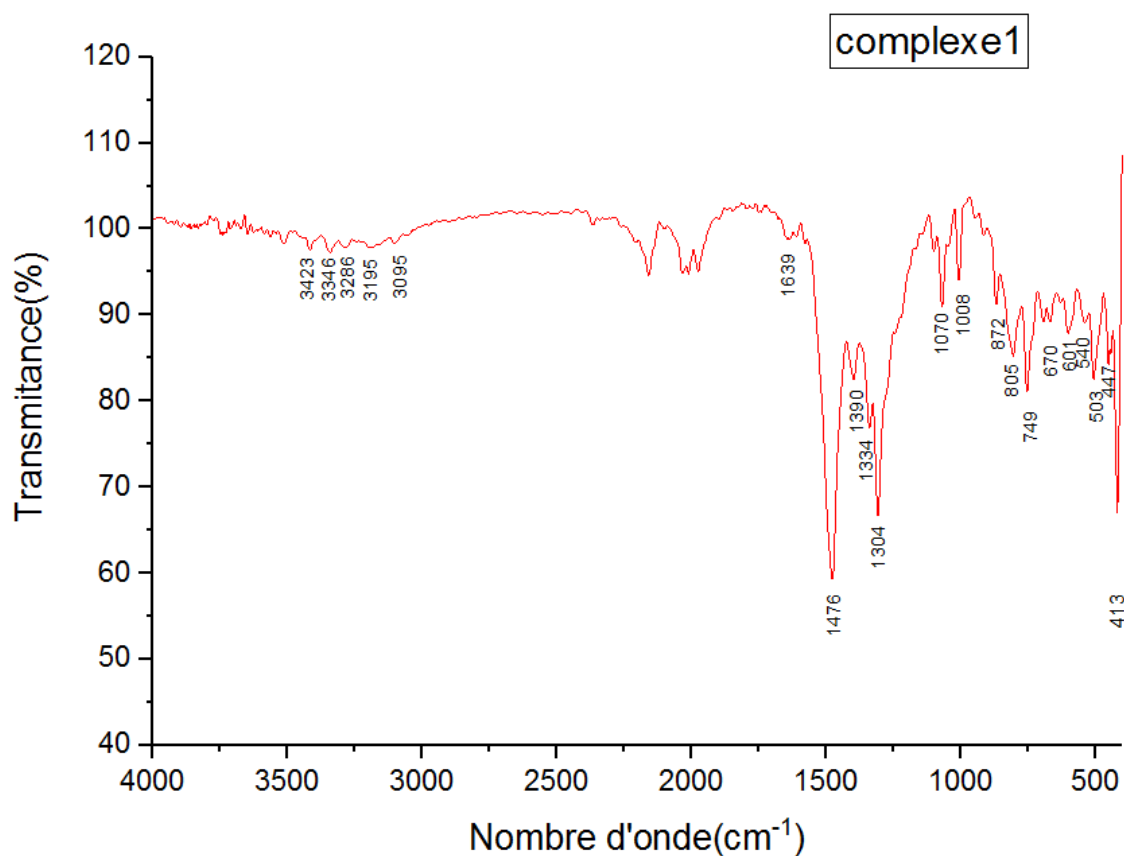


Figure III.1 : Spectre IR du complexe $[\text{Cu}(\text{OPD})(\text{Br-Ani})_2]$

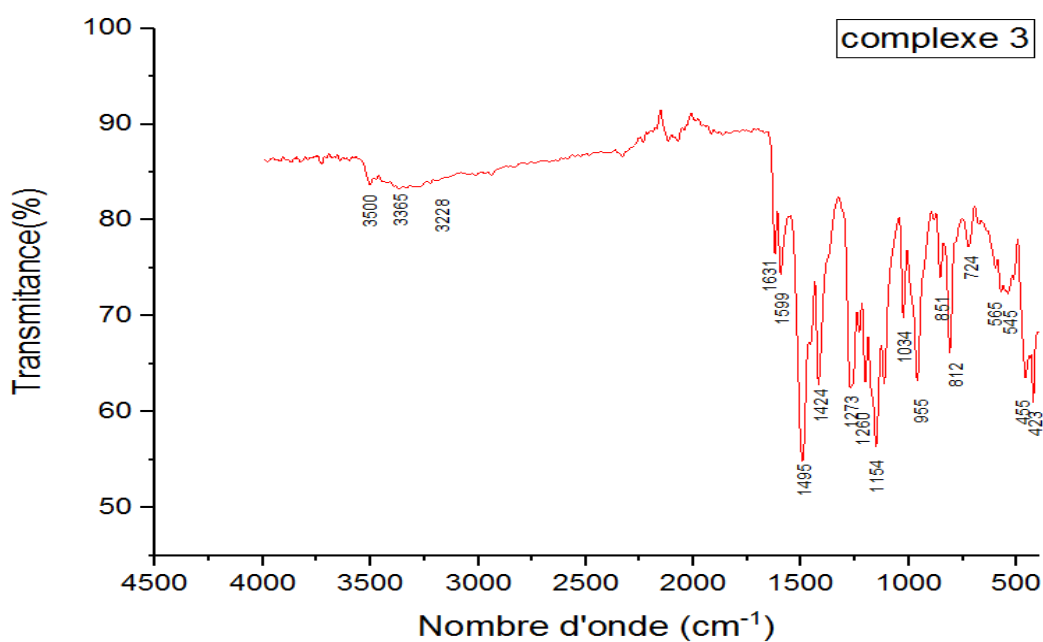


Figure III.2 : Spectre IR du complexe [Cu(OPD)(Cur)]

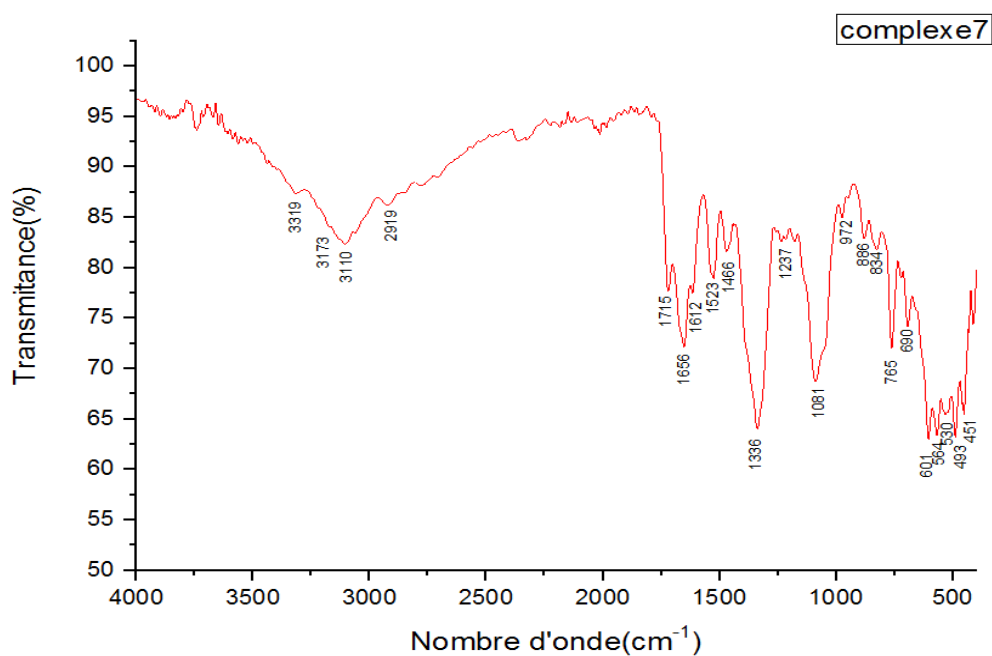


Figure III.3 : Spectre IR du complexe [Cu(OPD)(Gua)]

Tableau III.1 : Données IR caractéristiques (cm^{-1}) des ligands

Complexe	$\nu(\text{OH})$	$\nu_{\text{as}}(\text{NH}_2)$	$\nu_{\text{s}}(\text{NH}_2)$	$\sigma(\text{NH}_2)$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C-NH}_2)$	$\nu(\text{C=C})_{\text{arom}}$ $\nu(\text{C=C})_{\text{ali}}$	$\sigma(\text{C-O})_{\text{phé}}$ $\sigma(\text{C-O})_{\text{éno}}$
OPD	-	3373 3303	3185	-	-	1262	1626 -	-
Bromo-aniline	-	3473	3381	-	-	1274	1607 -	-
Curcumine	3500	-	-	-	1625	-	1498 1595	1262 1429
Adénine	-	3286	3114	1668	-	1250	1502 -	-
Guanine	-	3320	3120	1630	1695 1670 (d)	1150	1557 -	-

Tableau III.2 : Données IR caractéristiques (cm^{-1}) des complexes

Complexe	$\nu(\text{OH})$	$\nu_{\text{as}}(\text{NH}_2)$	$\nu_{\text{s}}(\text{NH}_2)$	$\sigma(\text{NH}_2)$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C-NH}_2)$	$\nu(\text{C=C})_{\text{aro}}$ $\nu(\text{C=C})_{\text{alip}}$	$\sigma(\text{C-O})_{\text{phé}}$ $\sigma(\text{C-O})_{\text{éno}}$	$\nu(\text{M-N})$	$\nu(\text{M-O})$
Complexe 1	-	3423 3346	3286 3195 3095	-	-	1304	1639	- -	447 413	-
Complexe 2	-	3410	3299 3048	-	-	1283	1618	- -	494 455	-
Complexe 3	3500	3365	3228	-	1631	1273	1495 1599	1260 1424	455 423	565 545
Complexe 4	3503	3322	3122	-	1622	1271	1488 1592	1260 1417	461 432	574 545
Complexe 5	-	3333	3211	1641 1603	-	1307 1202	1551-1462	- -	438 416	-
Complexe 6	-	3331	3174	1633	-	1332 1202	1561-1455	- -	460 423	-
Complexe 7	-	3319	3173 3110	1612	1656 1715	1336 1237	1523	- -	493 451	564 530
Complexe 8	-	3303	3106	1535	1691 1648	-	1456	- -	457 431	556

III.2.2. Etude des spectres d'absorption électronique des complexes

Les spectres électroniques sont généralement obtenus lorsqu'il y a des transitions électroniques au sein des orbitales atomiques. Ces spectres sont caractérisés par la présence des bandes dans le visible (400-800nm) et des bandes dans l'ultra-violet [200-400nm].

Ce nombre de bandes et leurs positions dépendent :

- Du nombre de ligands autour de l'ion métallique.
- De la nature des ligands
- De la géométrie du complexe

Les bandes obtenues sont soit des bandes de type :

- d-d
- Transfert de charge ligand-métal (TCLM)
- Intra-ligands ($n \rightarrow \pi^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$)

Tous les spectres électroniques des ligands et les complexes ont été enregistrés dans le DMSO et les résultats sont regroupés dans les tableaux IV.3 et IV.4.

Les spectres typiques d'absorption électronique des complexes 1, 4 et 8 sont représentés sur les figures IV.4, IV.5 et IV.6 respectivement.

Tous les spectres de transition électroniques des complexes montrent des bandes dans le domaine d'ultra-violet entre $[28248-38461 \text{ cm}^{-1}]$ qui se trouve un peu déplacés par rapport à celle des ligands libres, ceci confirme la complexation des ligands au métal [50,51].

Tous les complexes à l'exception de complexe de cuivre avec l'adénine dans la région 450- 360 nm ($2222-27777 \text{ cm}^{-1}$), cette bande est attribuée à une transition de transfert de charge du ligand vers le métal [52].

Analyse des spectres d'absorption électroniques des complexes de nickel :

Les complexes $[\text{Ni}(\text{OPD})(\text{Br-Ani})]$ et $[\text{Ni}(\text{OPD})(\text{cur})]$ ont montré plusieurs bandes dans le visible. La première bande à environ 790nm (12650 cm^{-1}) correspond à la transition ${}^3\text{A}_{2g} \rightarrow {}^3\text{T}_{2g}(\text{F})$, la deuxième bande est située dans le domaine 554-643 nm ($18050-15552 \text{ cm}^{-1}$) qui est attribué à la transition ${}^3\text{A}_{2g} \rightarrow {}^3\text{T}_{1g}(\text{F})$ et la troisième bande autour de 512-611 nm ($19531-19569 \text{ cm}^{-1}$) correspond à la transition

$^3A_{2g} \rightarrow ^3T_{1g}(P)$, ces transitions sont caractéristiques des complexes de Ni(II) dans un champ octaédrique [53,54].

Les deux autres complexes de Ni(II) (complexe 6et 8) présentent deux bandes une à 576 nm(17361 et 15898 cm^{-1})respectivement pour les complexes 6et 8 qui correspond à la transition $^1A_{1g} \rightarrow ^1A_{2g}$

Et l'autre bande à 758 nm (13192 cm^{-1}) et 790 nm (12658 cm^{-1}) respectivement qui peut être assignée à la transition $^1A_{1g} \rightarrow ^1B_{1g}$. Ces transitions sont en accord avec une géométrie plan-carré autour de l'ion Ni(II) [55, 56].

🚩 Analyse des spectres d'absorption électroniques des complexes de cuivre :

Le spectre visible du complexe $[Cu(OPD)(Br-Ani)_2]$ présente une bande unique à 661nm (19569 cm^{-1}), cette dernière est attribuée à la transition $^2E_g \rightarrow ^2T_{2g}$ et se conforme à une géométrie octaédrique [57,58].

Par contre les spectres du visible des complexes $[Cu(OPD)(Ade)]$ et $[Cu(OPD)(Gua)]$ (complexe 5et7) présentent aussi une bande unique à 430nm, cette bande est pour complexe de Cu(II) dont la géométrie est celle d'un plan-carré [59,60].

Par ailleurs, le complexe de cuivre à la base de la curcumine (complexe) montre deux bandes à 558 nm (17921 cm^{-1}) et 513 nm (19493 cm^{-1}) qui sont assignées aux transitions $^2B_{1g} \rightarrow ^2B_{2g}$ et $^2B_{1g} \rightarrow ^2E_{2g}$ caractérisant une géométrie plan-carré autour de l'ion Cu(II)[58] .

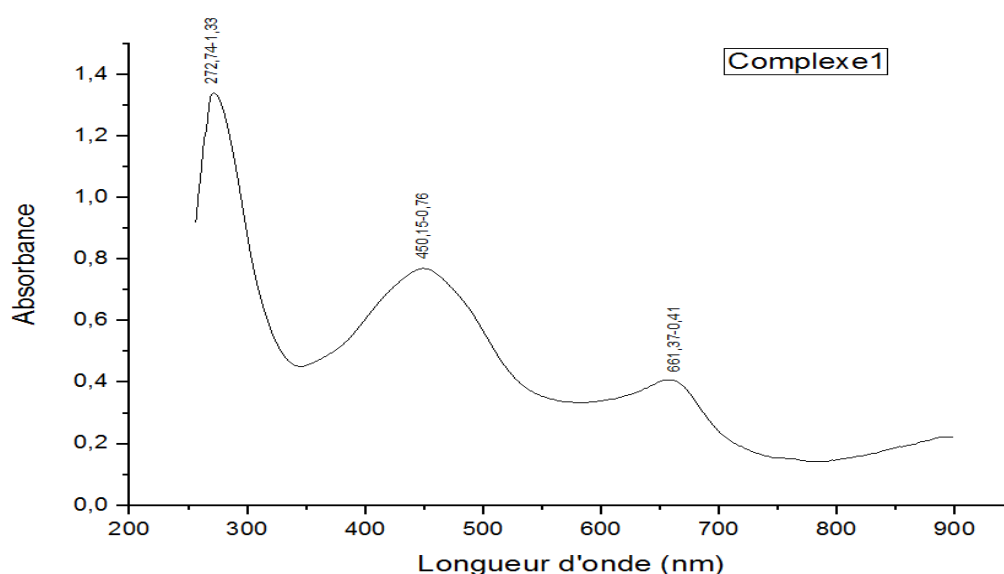


Figure III.4 : Spectre UV-visible du complexe $[Cu(OPD)(Ani-Br)_2]$

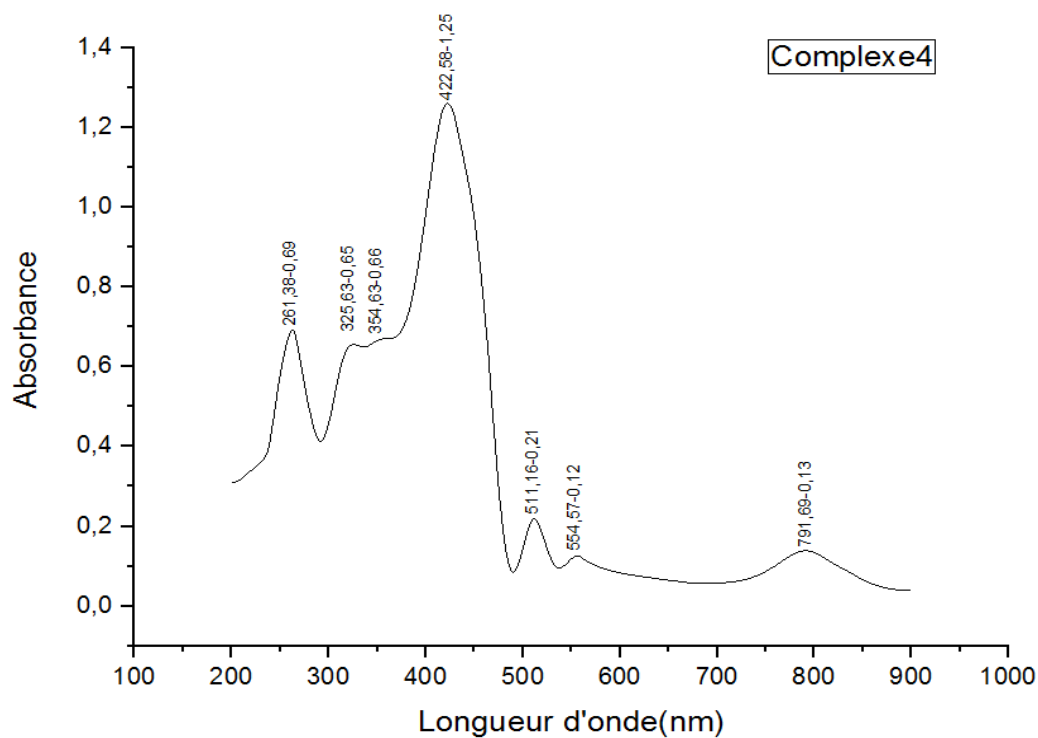


Figure III.5 : Spectre UV-visible du complexe $[\text{Ni}(\text{OPD})(\text{cur})]$

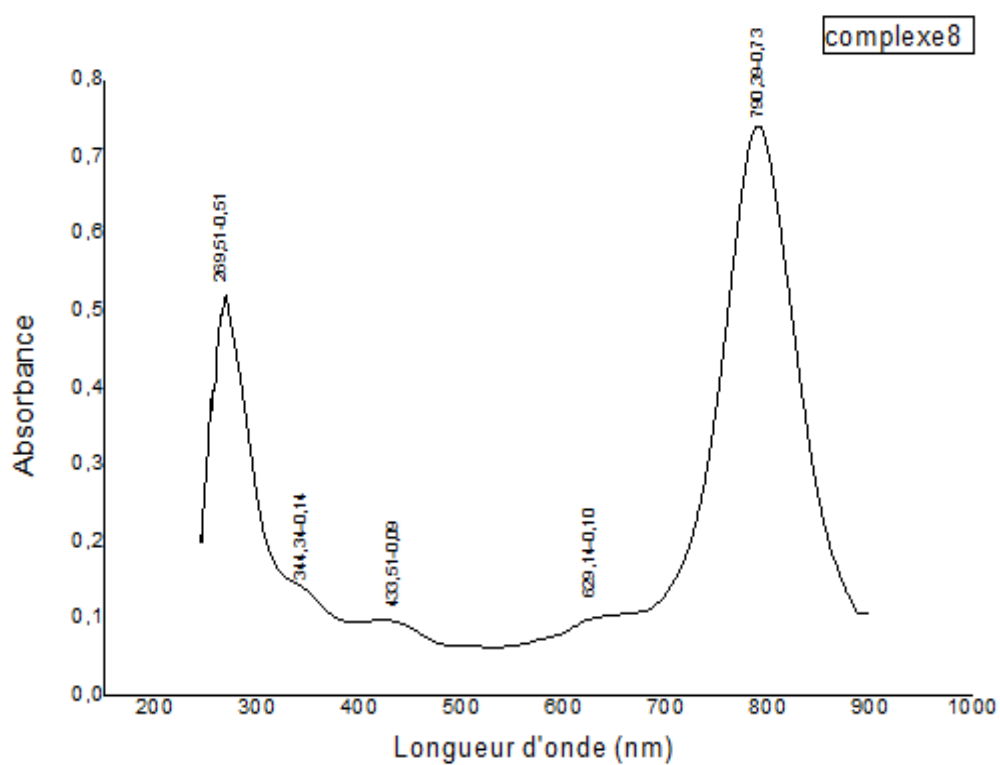


Figure III .6 : Spectre UV-visible du complexe $[\text{Ni}(\text{OPD})(\text{Gua})]$

Tableau. III.3: Données des spectres d'absorption électroniques des ligands

Composé	λ (nm)	ν (cm ⁻¹)	ϵ (l mol ⁻¹ cm ⁻¹)	Transitions électroniques
Bromo-aniline	267	37453	3040	$\pi \rightarrow \pi^*$
	306	32679	2500	$\pi \rightarrow \pi^*$
Curcumine	267	37453	610	$\pi \rightarrow \pi^*$
	434	23041	2160	$n \rightarrow \pi^*$
Adénine	286	34965	2800	$\pi \rightarrow \pi^*$
Guanine	300	33333	3450	$\pi \rightarrow \pi^*$
	375	26667	200	$n \rightarrow \pi^*$
Ortho-phénylènediamine	269	37175	2120	$\pi \rightarrow \pi^*$
	305	32787	3410	$\pi \rightarrow \pi^*$

Tableau. III.4: Données des spectres d'absorption électroniques des complexes

Complexes	$\lambda(\text{nm})$	$\nu(\text{cm}^{-1})$	$\epsilon(\text{l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1})$	Transitions électroniques
Complexe 1	272	36764	133000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	450	22222	76000	transfert de charge
	661	15128	41000	d→d
Complexe 2	265	37735	161000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	307	32575	90000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	406	24630	52000	transfert de charge
	512	19531	25000	d→d
	557	17953	24000	d→d
	643	15552	27000	d→d
Complexe 3	268	37313	94000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	431	23201	332000	transfert de charge
	513	19493	2000	d→d
	558	17921	1000	d→d
Complexe 4	261	38314	69000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	325	30769	65000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	354	28248	66000	n→ π^*
	422	23696	125000	transfert de charge
	611	19569	21000	d→d
	554	18050	12000	d→d
	791	12642	13000	d→d
Complexe 5	268	37313	258000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	289	34602	20600	$\pi \rightarrow \pi^*$
	436	22935	73000	d→d
Complexe 6	266	37593	69000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	432	23148	380	transfert de charge
	576	17361	1040	d→d
	758	13192	71	d→d
Complexe 7	271	36900	186000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	360	27777	61000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	429	23310	55000	d→d
Complexe 8	269	37174	51000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	244	29069	14000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	433	23094	9000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	629	15898	10000	d→d
	790	12658	73000	d→d

III.3. Analyse par microscopie électronique à balayage électronique

Voici la morphologie de nos complexes synthétisés obtenus par le MEB de type Philips ESEM XL 30 a filament de tungstène couplé à un système complet de la microanalyse X.

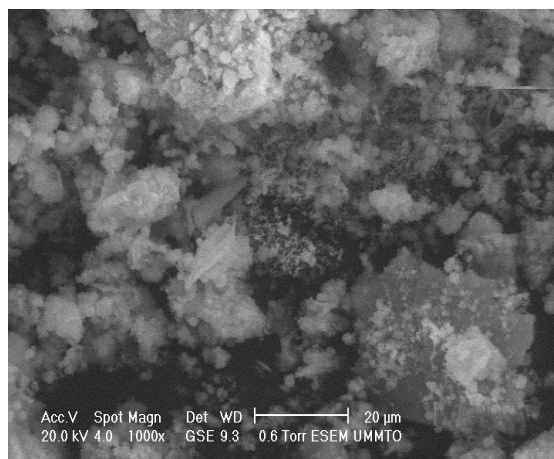


Figure III.7: micrographie du complexe
[Cu(OPD)(Br-Ani)₂]

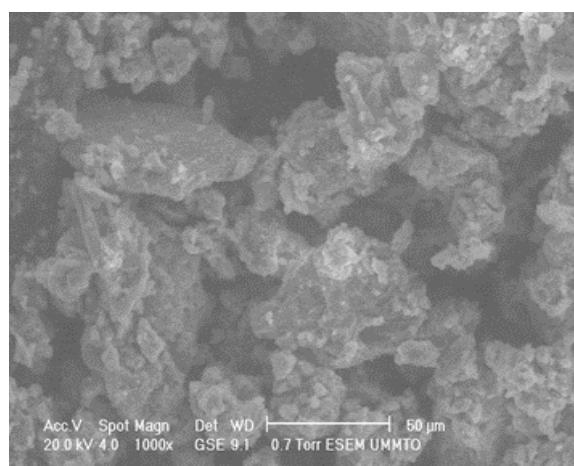


Figure III.8: micrographie du complexe
[Ni(OPD)(Br-Ani)₂]₂Br

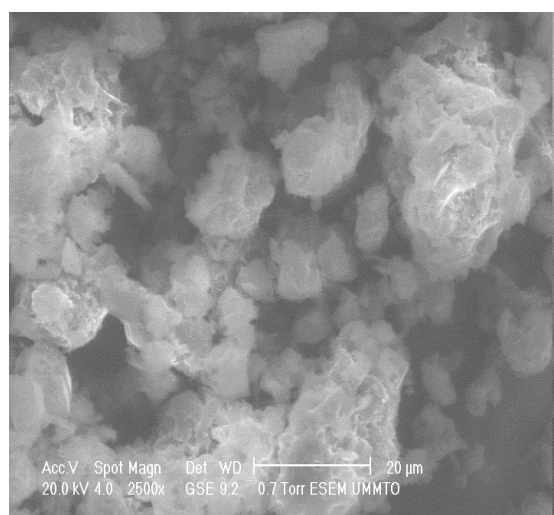


Figure III.9 : micrographie du complexe
[Cu(OPD)(Cur)]

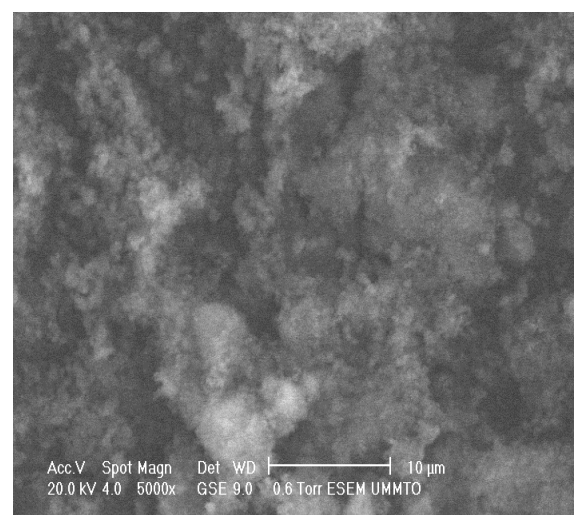


Figure III.10 : micrographie du complexe
[Ni(OPD)₂(Cur)]

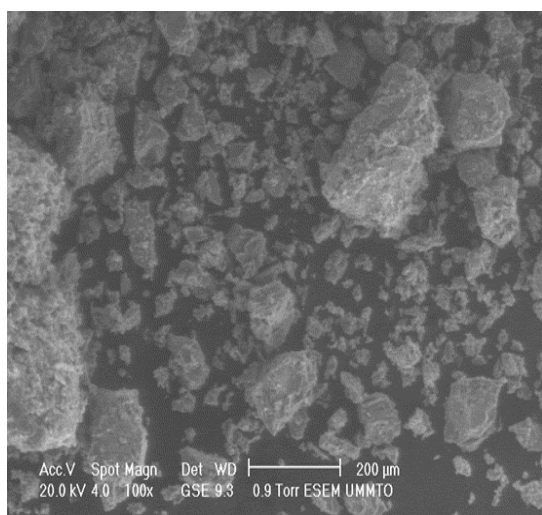


Figure III.11 : micrographie du complexe
[Cu(OPD)(Ade)]

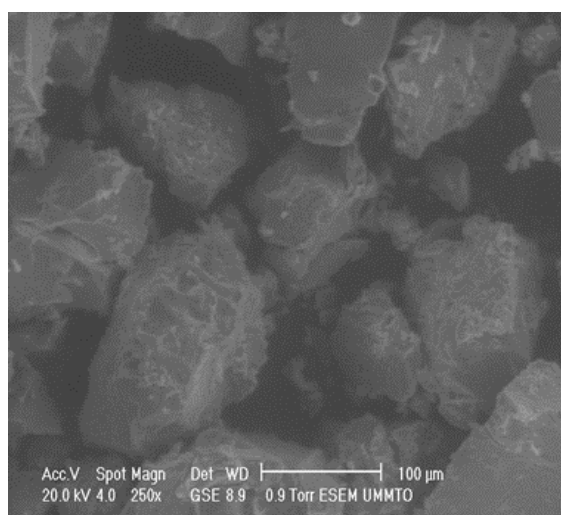


Figure III.12 : micrographie du complexe
[Ni(OPD)(Ade)]

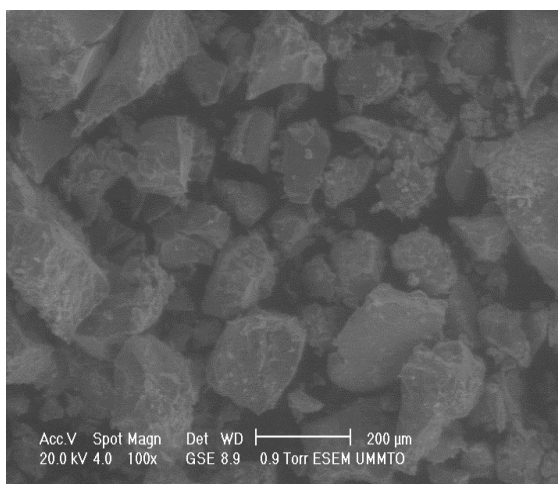


Figure III.13 : micrographie du complexe
[Cu(OPD)(Gua)]

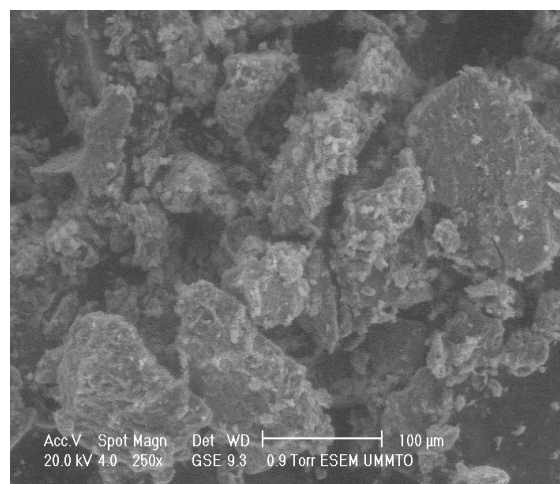


Figure III.14 : micrographie du
complexes [Ni(OPD)(Gua)]

Chapitre IV :
Application biologique

IV.1. Activité antioxydante

IV.1.1. Introduction

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -Carotène (provitamine), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques.

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophile et hydrophobe, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise [61].

IV.1.2. Définition des antioxydants

Les antioxydants sont des molécules naturelles ou synthétiques qui agissent contre l'oxydation causée par les radicaux libres, ils possèdent un pouvoir réducteur par leurs capacités à transmettre leurs électrons à un oxydant afin de le rendre plus stable et donc moins réactif. Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation ou de la médication, et sont donc exogènes.

Ces derniers sont nécessaires à des mécanismes vitaux mais, ils deviennent nocifs quand ils sont en excès et induisent certains dommages au niveau de la structure des organes en entraînant un stress oxydant qui contribue à la création de diverses maladies telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers...etc. Des systèmes de défense permettent de prévenir la formation radicalaire ou de limiter les lésions d'oxydation résultantes [62].

IV.1.3. Radicaux libres

Les radicaux libres sont impliqués, en tant que médiateurs, dans la progression de nombreuses maladies chroniques et dans le vieillissement des cellules en général. Les radicaux sont des espèces réactives vis-à-vis des constituants organiques et des structures cellulaires.

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) qui possède un électron célibataire c'est-à-dire non apparié. Cette caractéristique le rend instable et lui procure une grande réactivité vis-à-vis des molécules environnantes. Un radical libre se stabilise au détriment de la molécule voisine qui devient à son tour un radical libre et ainsi de suite. Le

phénomène se propage par des réactions en chaîne. Les radicaux libres sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal, mais plus encore en cas d'exposition à diverses agressions de l'environnement (agents infectieux, pollution, UV, fumée de cigarettes, rayonnement) [63].

IV.1.4. L'étude de l'activité antioxydante

L'évaluation du pouvoir antioxydant a été réalisée en utilisant la méthode de réduction de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

➤ Le radical stable DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure V.1), de couleur violée absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517 nm. Lorsqu'il est piégé par des substances antioxydants, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pâle.

Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration de la couleur de la forme libre en solution dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire.

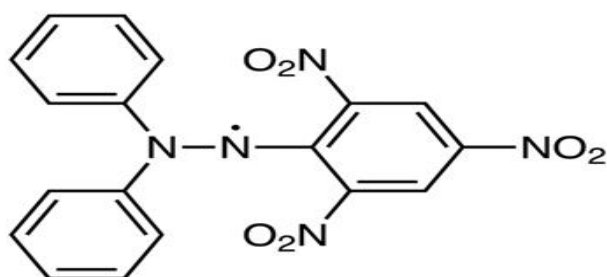
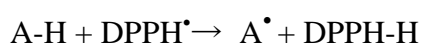


Figure.V.1 : Structure chimique du radical libre DPPH

La réduction du DPPH[•] est effectuée par une molécule antioxydante selon la réaction suivante :



Cette réaction a lieu à température ambiante en milieu éthanolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Ce test est très utilisé, car il est rapide, facile et non coûteux (figure V.2).

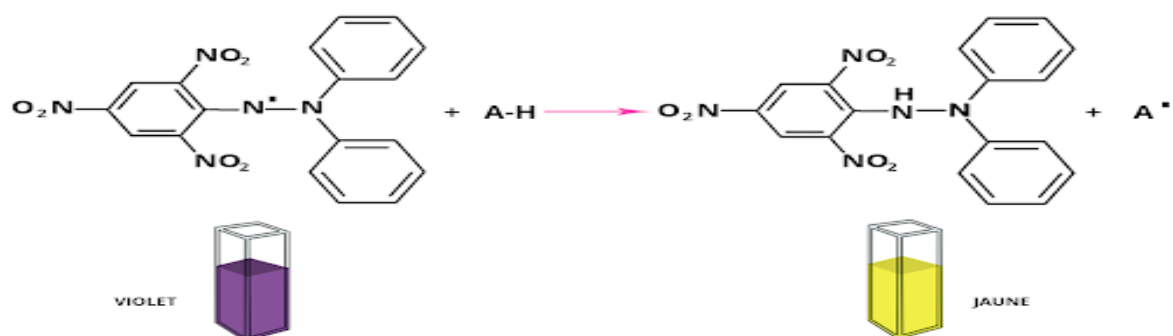


Figure V.2 : Réduction du radical DPPH

❖ Mode opératoire de l'activité antioxydante

L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par Wang et coll. Une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 2 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol. La solution a été ensuite placée à l'obscurité pendant 1h.

Dans des tubes en verre, on prépare une série de dilutions de complexes avec une concentration de la solution mère de (50 mmol/l) afin d'obtenir les concentrations suivantes (25 ; 12.5 ; 6.25 ; 3.25 ; 1.62 mmol/l), ces solutions sont préparées dans le DMSO. Après on introduit 2 ml de la solution DPPH. Après agitation, les tubes sont placés dans l'obscurité à une température ambiante pendant 30min. Concernant le contrôle négatif, il contient seulement 2 ml de la solution DPPH et 40 µl DMSO qui est placée dans l'obscurité pendant 30min.

La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis. L'activité antioxydante est calculée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité Inhibition antioxydante} = [(A_0 - A)/A_0] \times 100$$

A_0 : absorbance de contrôle négatif (DPPH + éthanol)

A : absorbance de l'échantillon

IV.1.5. Résultats et discussions

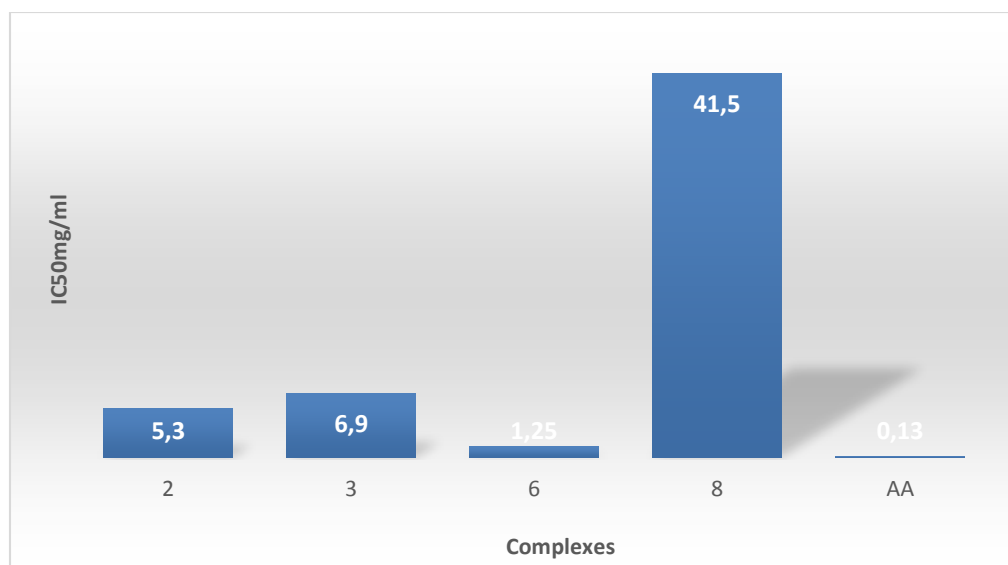


Figure V.3 : Activité antioxydante des complexes en utilisant le dosage DPPH
(IC₅₀ = mg / ml)

L'évaluation du pouvoir antioxydant des complexes a été réalisée en utilisant la méthode de réduction de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

Les valeurs de IC₅₀ (concentration d'échantillon nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH) sont déterminées à partir de la courbe [%inhibition = f (concentrations)].

A noter que le pouvoir antioxydant d'un composé est d'autant plus élevé que son IC₅₀ est petit.

Trois complexes de nickel et un seul complexe de cuivre ont montré une activité antioxydante comparée à celle de contrôle positive l'acide ascorbique (AA) avec des valeurs de IC₅₀ variant entre 1,25-41,5 mg/ml (figure V.3), tandis que l'acide ascorbique (témoin positif) présentait une valeur de 0.13 mg/ml [64].

L'activité du complexe de cuivre [Cu(OPD)(cur)] est probablement due à la présence des groupes OH de la curcumine non déprotonés lors de la complexation qui peut facilement libérer un hydrogène pour réduire le DPPH.

La bonne activité des complexes 2,6 et 8 qui sont des complexes de nickel à la base de bromo-aniline, l'adénine et la guanine respectivement peut être expliquée soit par libération des protons

(H) ou probablement par faible potentiel d'oxydation de l'ion métallique de ces complexes qui peuvent facilement libérer un électron pour réduire le DPPH.

IV.2. Activité antibactérienne

IV.2.1. Introduction

La lutte contre les bactéries constitue une nécessité pour protéger l'état de santé de l'humanité. Mais la mutation (développement) génétique des bactéries 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.

Un nombre important de complexes de métaux de transitions ont été synthétisés, et l'objectif principal de cette préparation est d'avoir des complexes actifs contre les microorganismes mais qui entraînent un minimum de toxicité ainsi d'effets secondaires [65].

IV.2.2. Les micro-organismes

Les micro-organismes (germes ou microbes) sont des organismes vivants microscopiques, invisible à l'œil nu. Ils sont présents dans l'air, dans l'eau ainsi que sur tous les objets qui nous entourent [66].

➤ Bactéries :

Une bactérie est un micro-organisme unicellulaire (procaryote) de petite taille et d'une morphologie variable qui présente des caractéristiques propres. La taille d'une bactérie varie entre 1 à 10 μm . Le poids d'une bactérie est d'environ 10-12 mg. Elle contient 70% d'eau. Rapporté au poids sec, une bactérie est constituée de protéines (55%), de lipides (10%), de lipopolysaccharides (3%), de peptidoglycane (3%), de ribosomes (40%), d'ARN (20%) et d'ADN (3%), comme le montre la (figure V.4) [67].

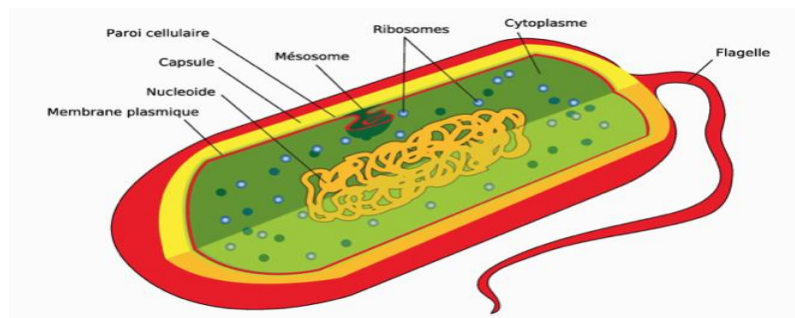


Figure V.4: Morphologie bactérienne

➤ La classification des bactéries

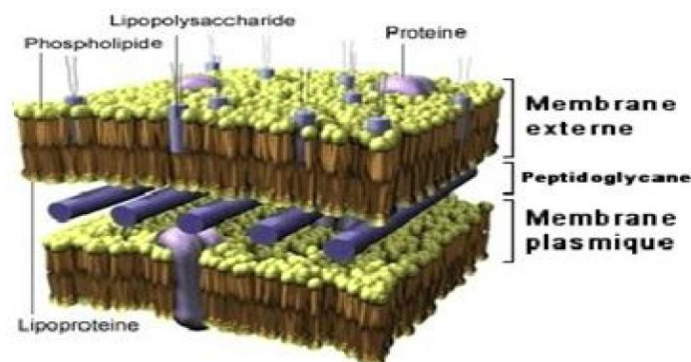
La classification repose sur une coloration (par C. GRAM en 1884) basée sur la plus ou moins grande perméabilité de la paroi à un solvant. Il existe deux grandes classes de bactéries :

- les bactéries à Gram positif
- les bactéries à Gram négatif.

La différence réside essentiellement dans la structure de la paroi cellulaire [68].

• Bactéries à Gram négatif

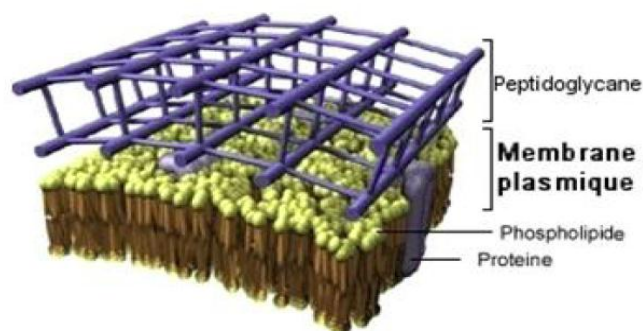
Elles représentent plus de 66 % des bactéries répertoriées dans la classification de Bergey. Elles possèdent une paroi qui donne à la cellule sa forme. Cette paroi est formée d'une couche très fine de peptidoglycane comprise entre la membrane externe et la membrane cytoplasmique. (Voir FigureV.5)



FigureV.5 : Paroi bactéries à *Gram négatif*

• Les Bactéries à Gram Positif

Moins nombreuses que les GRAM négatif une structure s'organisant en trois couches : une couche épaisse de peptidoglycane composant la paroi cellulaire, l'espace périplasmique et la membrane plasmique (FigureV.6). Elles sont très variées sur le plan morphologique, physiologique et écologique [69,70].



FigureV.6 : Paroi bactéries à *Gram positif*.

IV.2.3. Micro-organismes utilisés

L'activité antibactérienne des complexes a été évaluée sur les souches bactériennes suivantes obtenues auprès du laboratoire microbiologie de CHU Nadir Mohamed de Tizi-Ouzou.

- Escherichia coli..... (ATCC 25922)
- Pseudomonas aeruginosa..... (ATCC 27853)
- Staphylococcus aureus (ATCC 25923)

Escherichia-coli

C'est une bactérie intestinale à Gram négatif, appelée également *colibacille*. Elle compose 80 % de la flore intestinale chez l'homme. La plupart des souches d'*Escherichia coli* sont inoffensives, certaines sont pathogènes. La bactérie *Escherichia coli* est souvent responsable d'intoxications alimentaires collectives, ainsi que d'infections urinaires.

C'est une bactérie en forme de bâtonnets, elle se réplique très rapidement à 37 °C, toutes les 20 minutes, ce qui lui permet de multiplier facilement l'ADN ou de synthétiser des protéines.

Pseudomonas aeruginosa

C'est une bactérie à Gram négatif, connue sous le nom, de bacille pyocyanique, que l'on trouve partout dans la nature, et en particulier dans les milieux humides et chauds. Cette bactérie est peu agressive envers l'homme, mais elle peut devenir pathogène (responsable d'une maladie) dans certaines circonstances. Elle est très résistante face aux traitements antibiotiques. Les bacilles sont fins et très mobiles grâce à leur flagelle polaire.

Staphylococcus aureus

C'est une bactérie dorée à Gram positif, de type cocci c'est-à-dire sphériques, qui se trouvent fréquemment chez les personnes en bonne santé, habituellement dans la muqueuse du nez.

C'est l'espèce la plus pathogène du genre **Staphylococcus**. Il est l'un des principaux responsables des infections nosocomiales, c'est-à-dire contractées en milieu hospitalier, ainsi que des intoxications alimentaires.

IV.2.4. Protocole expérimentale

➤ Revivification des souches bactériennes par repiquage

La revivification des souches est une étape nécessaire avant leur utilisation car leur activité biologique est nulle. Donc, elle a pour but l'obtention d'une culture jeune, fraîche et pure. Elle consiste à ensemencer en stérile la surface de la gélose nutritive préalablement coulée et solidifiée dans les boîtes de Pétri quelques colonies des souches conservées à 4°C (milieu gélose nutritif pour les bactéries).

• Protocole de repiquage

Dans des conditions stériles, Nous avons prélevé une colonie isolée et représentative de chaque souche avec une pipette pasteur stérilisé à l'aide d'un bec bunsen. Ensuite nous les avons étalé en stries sur de nouvelles boîtes de milieu de culture convenable pour chaque souche bactérienne. Incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

❖ Milieux sélectif (nutritif)

Un milieu sélectif est un milieu qui permet de sélectionner le type de bactéries qui pourront pousser sur celui-ci, alors que tous les autres micro-organismes présents sont inhibés. Un milieu de culture est rendu sélectif pour une espèce microbienne lorsque sont seules satisfaites les exigences nutritives et les conditions de développement particulières à cette espèce.

Les milieux utilisés pour sélectionner les trois bactéries utilisées dans notre étude sont :

- La gélose Chapman - Mannitol Salt Agar est un milieu sélectif pour l'isolement de *Staphylococcus aureus* (voir Figure V.7).
- La gélose Hektoen est un milieu sélectif pour l'isolement de *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (voir Figure V.8).



Figure V.7 : Géluse chapman



Figure V.8: Géluse hektoen

❖ Milieu de culture :

Les souches ont été cultivées à 37 °C dans un milieu Mueller-Hinton agar en boîtes de pétri pendant 24 heures, afin d'obtenir des cellules jeunes et des colonies isolées.

➤ Préparation du milieu de culture :

La gélose Mueller-Hinton (MH) est un milieu solide standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens par la méthode de diffusion. La gélose est un milieu d'isolement. L'isolement est réalisé dans le but de contrôler la pureté d'une souche bactérienne.

La composition de ce milieu (gélose Mueller-Hinton) en grammes par litre d'eau distillée est de :

- Extrait de viande.....3 g
- Hydrolysate acide de caséine.....17.5 g
- Agar.....18 g
- Eau distillée.....1000 ml

Le PH de milieu est de 7.4.

Le milieu est stérilisé à l'autoclave pendant 15 min à 120 °C.

➤ Préparation des suspensions bactériennes

Après incubation, on prépare les suspensions en prélevant à l'aide d'une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches à tester que l'on dépose dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % de sel (NaCl).

Les suspensions bactériennes préparées, sont bien homogénéisées et standardisées, à l'aide d'un spectrophotomètre, à une absorbance entre 0.08 et 0.1 à la longueur d'onde de 620 nm. Cette absorbance correspond à une concentration de 10^7 UFC/ml (unités formant colonie par

millilitre). Nous avons, ensuite, réalisé une dilution au 1/10 afin d'obtenir des suspensions standardisées à 10^6 UFC/ml.

➤ **Préparation des milieux de culture avec des suspensions bactériennes**

Cette étape consiste à liquéfier le milieu de culture Mueller-Hilton dans un bain marie, puis, on coule aseptiquement les milieux en surfusion dans des boîtes de Pétri à raison de 20mL par boîte. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse puis, on réalise l'ensemencement par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans les suspensions bactériennes et déchargé de l'excès sur les parois des tubes.

Ensuite on commence l'étalement sur la gélose en faisant des stries très serrées sur la totalité de la surface de la boîte et en tournant à chaque fois de 60° .

➤ **Dépôt des complexes :**

Une fois le milieu de culture qui contient les suspensions microbiennes est solidifiée, on procède au dépôt des disques stériles de 6 mm dans les boîtes, puis on prélève aseptiquement à l'aide d'une micropipette 20 μ L de chaque solution des différents complexes, que l'on dépose sur les disques préalablement préparés.

IV.2.5. Détermination de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion décrite précédemment.

La lecture est réalisée après 24 heures d'incubation à 37°C . Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'une règle et exprimés en millimètre (mm) (le diamètre du puits de 6mm est inclus).

Selon Ponce et al [71], la sensibilité des différentes souches vis-à-vis des agents antimicrobiens est classée comme suit :

Non sensible ou résistante, si : $d < 8$ mm ;

Sensible si : 9 mm $< d < 14$ mm ;

Très sensible si : 15 mm $< d < 19$ mm ;

Extrêmement sensible si : $d \geq 20$ mm

IV.2.6. Résultats et discussions

- **Résultats du témoin négatif**

Si les complexes doivent être soumis aux essais biologiques, la toxicité du solvant peut également être critique car même en traces, le solvant ne devrait pas empêcher le procédé biologique. L'attention doit également être prêtée aux interactions possibles entre le solvant et les corps dissous pendant que le solvant peut réagir avec certains composés pour causer la dissociation, la déshydratation ou l'isomérisation de ces complexes. [72]

Pour cela, le DMSO a été testé comme solvant. Les résultats montrent qu'il est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches microbiennes.

- **Résultats des complexes**

Les résultats obtenus par la méthode de diffusion sur gélose réalisée à l'aide de cibles bactériennes sont présentés sur la figure V.9.



FigureV.9 : Effet inhibiteur des complexes (6) et (7) sur la croissance de la bactérie testée staphylococcus aureus

L'activité antibactérienne qui a été étudiée sur trois types de bactéries (E-coli, Pseudomonas aeruginosa et Staphylococcus aureus) a révélé que la plupart des complexes n'ont pas une activité, sauf le $[\text{Ni}(\text{OPD})(\text{Ade})]$ et $[\text{Cu}(\text{OPD})(\text{Gua})]$ qui sont actifs contre le Staphylococcus aureus) avec un diamètre de 12 et 13mm respectivement .

Conclusion générale

Conclusion générale

Au cours de ce travail nous avons synthétisé et caractérisé des nouveaux complexes mixtes de cuivre (II) et de nickel (II) ; avec l'ortho-phénylènediamine comme ligand principal et bromo-aniline, curcumine et les bases puriques (adénine et guanine) comme ligands secondaires.

Les complexes ont été préparés et caractérisés par conductimétrie, spectroscopie IR et UV-visible.

Les complexes sont des poudres très stables à l'air libre et à température ambiante, ils montrent des couleurs variées (noir, marron et rouge brique), leurs points de fusion sont élevés (supérieurs à 350° C) pour la majorité des complexes.

Les mesures de la conductivité molaire indiquent que sept sur huit de nos complexes sont non électrolytes.

Le mode de coordination des ligands avec les ions métalliques a été déterminé par spectrométrie infrarouge, en comparant les spectres des complexes à ceux de ligands correspondants.

L'étude des spectres infrarouge a montré que tous les ligands utilisés dans ce travail sont coordonnés au métal de manière bidentate à l'exception du bromo-aniline qui est un ligand monodenté, coordiné à l'ion central par l'atome d'azote de la fonction amine.

L'étude des spectres UV-Visible des différents complexes a montré qu'ils absorbent tous dans le visible ce qui confirme généralement la présence du métal. Elle a permis aussi d'observer les différentes transitions $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ et transfert de charge (L-M). Ce qui permet de confirmer la présence des ligands dans les complexes. Cette étude a montré aussi que les complexes de nickel avec le bromo-aniline et la curcumine présentent une géométrie octaédrique et ceux avec l'adénine et la guanine présentent une géométrie plan-carré. Quant aux complexes de cuivre, la plupart présentent une géométrie plan-carré à l'exception du complexe de $[\text{Cu}(\text{OPD})(\text{Br-Ani})_2]$ qui a une géométrie octaédrique.

L'activité antioxydante des complexes a été évaluée par un test DPPH. Cette dernière a révélé que la moitié des complexes synthétisés ont une activité antioxydante comparée à celle du contrôle positif acide ascorbique. Quant à l'activité antibactérienne qui a été étudiée sur trois types de bactéries (E-coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus), elle a révélé que

Conclusion générale

la plupart des complexes n'ont pas une activité, sauf le [Ni(OPD)(Adé)]et[Cu(OPD)(Gua)] qui sont actif contre le *Staphylococcus aureus*).

D'autres analyses telles que la spectroscopie d'absorption atomique (SAA), analyse thermogravimétrique (ATG), l'analyse élémentaire ainsi que l'étude de la toxicité des complexes qui présentent une activité antioxydante pourraient compléter cette étude.

Références Bibliographique

Références Bibliographique

- [1] Sidney F. A. K., Physico-Chimie Inorganique, une Approche Basée sur la Chimie de Coordination, 2^e édition. Belgique, 1999.
- [2] McCleverty J., Comprehensive Coordination Chemistry II, vol. 1. 2003.
- [3] chimie inorganique, Ttuhery and Kriter .Ed de boock, (546HUHE).
- [4] Chakravarty A., Coord.,Chem. Rev.13 (1974) 1.
- [5] Chime inorganique, shrier and Athine, Ed de boock (54 SHRI).
- [6] Singh P., Goel R.L., Singh B.P., J. Indian Chem. Soc, 52 (1975) 958-959.
- [7] Soayed A.A., Refaat H.M., Journal of the Chilean chemical society, 58 (2013) 1-9.
- [8] Raman N., Pitchaikani Y.R., Kulandaisamy A, Proc.Indian Academy of Sciences, 113 (2001) 183-189.
- [9] Gang C., Qingcui C., Luyan Z., Jiannong Ye, Analytica Chimica Acta, 457 (2002) 225-233.
- [10] Zheng-Yuliu, Dong H. M., Wang X. G., Zhao X. J., Cuiyang E. Inorganica Chimica Acta, 416 (2014) 135-141.
- [11] Mastropietro T.F., Armentano D., Grisolia E., Zanchini C., Lloret F., Julve M., Munno G De, Dalton transactions, 0 (2008) 514-520.
- [12] Purohit C.S, Ver S, Journal of the American Chemical Society, 128 (2006)400.
- [13] Verma S.,Mishra A.K., Kumar J., Accounts of Chemical Research, 43 (2010) 79-91.
- [14] Ochoa P.A., Castillo O., Alexandre S.S., Welte L., Pablo PJ, Rodūguez- Tapiador MI, Gōmez-Herrero J., Zamora F., Inorg.Chem, 48 (2009) 7931-7936.
- [15] Stylianou K.C., Warren J.E., Chong S.Y., Rabone J., Bacsá J., Bradshaw D., Rosseinsky M.J, Chemical communication, 47 (2011) 3389-3391.
- [16] Subhan M.A, Alam K, Rahaman M. S., Rahman M. A, & Awal M. R. (2014). Synthesis and characterization of metal complexes containing curcumin (C₂₁H₂₀O₆) and study of their anti-microbial activities and DNA binding properties. J. Sci. Res, 6(1), 97-109.
- [17] Priyadharshini N 1., Iyyam Pillai S1., C. Joel 2., R. Biju Bennie 2., Subramanian S 3, P.
- [18] Alabdali A. J., Ibrahim F. M. (2014). Synthesis and Thermal Study of Co(II), Ni(II), Cu (II) Mixed Ligand Complexes Using Histidine As Tridentate Ligand. IOSR Journal of Applied Chemistry.6, 6, 60-63.
- [19] Lewis F.A., The Palladium-Hydrogen System Academic Press, London, 1967.
- [20] Beatriz Cordero., Verónica Gómez., Ana E. Platero-Prats., Marc Revés., Jorge Echeverría., Eduard Cremades., Flavia Barragán et Santiago Alvarez, 2008, « Covalent radii revisited », Dalton Transactions, p. 2832 – 2838.

Références Bibliographique

- [21] Jancso A., Selmeczi K, Gizzi P., Nagy N. V., Gajda T., & Henry B. (2011). The role of terminal amino group and histidine at the fourth position in the metal ion binding of oligopeptides revisited: Copper (II) and nickel (II) complexes of glycyl-glycyl-glycyl-histamine and its N-Boc protected derivative. *Journal of inorganic biochemistry*, 105(1), 92-101.
- [22] Pi Z., Wang J., Jiang B., Cheng G, & Zhou S. (2015). A curcumin-based TPA four-branched copper (II) complex probe for in vivo early tumor detection. *Materials Science and Engineering : C*, 46, 565-571.
- [23] Cotton F. A., Wilkinson G., *Advanced Inorganic Chemistry*, fifth edition, J. Wiley and sons, (1988).
- [24] Vosburg W.C., G.R. (1941). Copper, *J. Am. Chem. Soc.* 63. 437.
- [25] David R. Lide, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, CRC Press Inc, 2009, 90; éd. 2804 p.
- [26] Parshall G. W., Ittel S. D., *Homogeneous Catalysis*, John Wiley, New York. 1992.
- [27] Dedieu A. (ed); *Transition metal hydrides VCH*, New York, 1992.
- [28] Stinic Z.(2017). Curcumin, a compound from natural sources, a true scientific challenge—a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72(1), 1-12.
- [29] Aggarwal B. B., Surh, Y. J., & Shishodia S..(Eds..)(2007). *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease (Vol. 595)*. Springer Science & Business Media.
- [30] Sazaki J. (2012). *Curcumin biosynthesis, medicinal uses and health benefits*. New York: Nova Science Publishers, Inc.
- [31] Li Y., Ji, Y. X, Song L. J., Zhang Y., Li Z. C., Yang L., & Huang, W. C. A novel BF₂-curcumin-based fluorescent chemosensor for detection of Cu²⁺ in aqueous solution and living cells. *Research on Chemical Intermediates*, 1-12.
- [32] Clazure C. (2007). *Méta-analyses des effets chimioprotecteurs de la curcumine et du thé vert sur la cancérogénèse colorectale chez les rongeurs. (Doctoral dissertation)*.
- [33] Anand P., Thomas S. G., Kunnumakkara A. B., Sundaram C., Harikumar K. B., Sung B, & Aggarwal B. B. (2008). Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. *Biochemical pharmacology*, 76(11), 1590-1611.

Références Bibliographique

- [34] Sui Z., Salto R., Li J., Craik C, & de Montellano P. R. O. (1993). Inhibition of the HIV-1 and HIV-2 proteases by curcumin and curcumin boron complexes. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 1(6), 415-422.
- [35] Wanninger S., Lorenz V., Subhan A, & Edelmann F. T. (2015). Metal complexes of curcumin—synthetic strategies, structures and medicinal applications. *Chemical Society Reviews*, 44(15), 4986-5002.
- [36] Aggarwal B. B., Surh Y. J., & Shishodia S. (Eds.). (2007). *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease* (Vol. 595). Springer Science & Business Media.
- [37] Issam J.Sallomi and Amera J.Shaheen, *Polyhedron* Vol.17, No.9, pp.1429-1433, 1998.
- [38] KUMAR N.R.S., NETHAJI M and PATIL K.C., *Polyhedron* Vol.10, No.3, pp.365-371, 1991.
- [39] Issam J.,Sallomi and Amera J.Shaheen, *Polyhedron* Vol.17, No.9, pp.1429-1433, 1998.
- [40] Wolf S. P., T. (1986). *Dean, Biochem*, 234.
- [41] HARRAZ F.A., SAKKA Tet *OGATA Y.H.2005.Electrochemical; Acte*, 40, 48, 50, 53,40.
- [42] Yuste C.,Ferrando J.S., Cangussu D., Fabelo O., Ruiz-pérez C., Marino N., Munno D.G., Stiriba S., RuizGarcía R., Cano J., Lloret F., Julve M., *InorganicaChimica Acta*, 363(2010) 1984-1994.
- [43] Coropceanu E.B., Rija A.P., Lozan V.I., Bologa O.A., Boldisor A.A., Bulhac I.I., ChKravtsov V., Bourosh P.N., *Russ. J. Coord. Chem.*, **2012**, 38, 545.
- [44] Ferrando J.S., Castellano M., Yuste C., Lloret F., Julve M., Fabelo O., Ruiz-pérez C., Stiriba S., RuizGarcía R., Cano J., *InorganicaChimica Acta*, 363(2010) 1666-1678.
- [45] Bougherra H., Berradj O and Adkhis A., *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2018, 10(4): 93-103.
- [46] Berradj O., Adkhis A., Bougherra H., Bruno G., Michaud F., *Journal of Molecular Structure* 1131 (2017) 266—274.
- [47] Moamen S.,Refat,*spectrochilica Acta part A :Molecular and biomolecular spectroscopy* 105 (2013)326-337.
- [48] Masoud M.S., Amira M.F., Ramadan A.M., El-Ashry GM, *J SpectrochimActa*, 69 (2008) 230-238.

Références Bibliographique

- [49] Zaworotko M.J, Hammud H.H., Kabbani A., Mcmanus G.J.M., Ghannoum A.M., Masoud M.S. J Chem crystallogr, 39 (2009) 853-863.
- [50] Tidjani-Rahmouni N., Bensiradj N.H., Djebbar S., Benali-Baitich O., J MolecStruct, 1075 (2014) 254-263.
- [51] Stanila A., Marcu A., Rusu D., David L., J Mol.Struct, 834 (2007) 364-368.
- [52] Masoud M.S., Amira M.F., Ramadan A.M., El-Ashry GM, J SpectrochimActa, 69 (2008) 230-238.
- [53] Nabila Tidjani-Rahmouni, Nour el Houda Bensiradj., Safia Djebbar, Ouassini Benali-Baitich. (2014). Journal of Molecular Structure 1075,254-263.
- [54] Prabinndra Reddy and A Mohan Reddy proc. (December 2000). Indian Acad. Sci. (Chem.Sci.), Vol.112,No.6, , pp 593-600.
- [55] Balasubramanian B., Krishnan C.N., Polyhedron 5 (1986)669-Academic Press, New York, 1971.P.61.
- [56] Sacconi L., Coord. Chem. Revs, 1(1-2), 192(1966).
- [57] Amina A., Soayed and Heba M. Refaat, J Chilean chemical society, 58 (2013) 1-9.
- [58] Zahid HC, Arif M., Sarfraz M., Appl. Organometal. Chem, 21 (2007) 294-302.
- [59] Saeed-Ur-Rehman,Sadia Rehman, Mohammad Ikram, Ferhat Ullah. (2013). Journal of Saudi Chemical Society 17, 353-359.
- [60] Emmanuel Guillon,Isabelle Déchamps-Olivier, Aminou Mohamadou, Jean-pierre Barbier. (1998). Inorganica Chimica Acta, 268,13-19.
- [61] Chan K.M.,Deckar E.A.,Crit.Rev.FootNutr.34(1994)403-426.
- [62] Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R and Bernigault R., Sixièmes Journées de la Recherche Avicole 2005 ; 554-558.
- [63] Benammar Chahid E., Effets antioxydants et immunomodulateurs d'une Plante médicinale nord africaine, zizyphus lotus L. (sedra) : étude des différents extraits, université de Tlemcen, 2011.
- [64] Bougherra Hadda.2018 Synthèse et caractérisation de complexes du cuivre (II) avec la diméthylglyoxime, une série d'acides aminés, les bases puriques et l'ortho-phénylènediamine. Application biologique.Doc:chimie :UMMTO.

Références Bibliographique

- [65] MacDougall C., Polk R.E., *Clinical Microbiology Reviews*, 18 (2005) 638-656.
- [66] Hart T and Shears P., *Atlas de poche de microbiologie*, 1er édition, Médecine-Science Flammarion, Paris (1997).
- [67] Meyer A., Deiana J., et Bernard A. *Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés*. 2004. Wolters Kluwer, France.
- [68] Gram H.C., Ueber die isolirte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten. *Fortschritte der Medizin*, 1884; 2, 185-189.
- [69] Russell A. D., Plasmids and bacterial resistance to biocides. *Journal Applied Microbiology*, 1997, 83, 155.
- [70] Hancock, R. E. W. resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clinical Infectious Diseases*, 1998, 27, 93-99.
- [71] Ponce A.G., Fritz R., del Valle C and Roura S.I., *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, 36 (2003) 679–684.
- [72] Yerjöen T, “Extraction and planar chromatographic separation techniques in the analysis of natural products”, University of Helsinki, (2004) 1-64.

Annexes

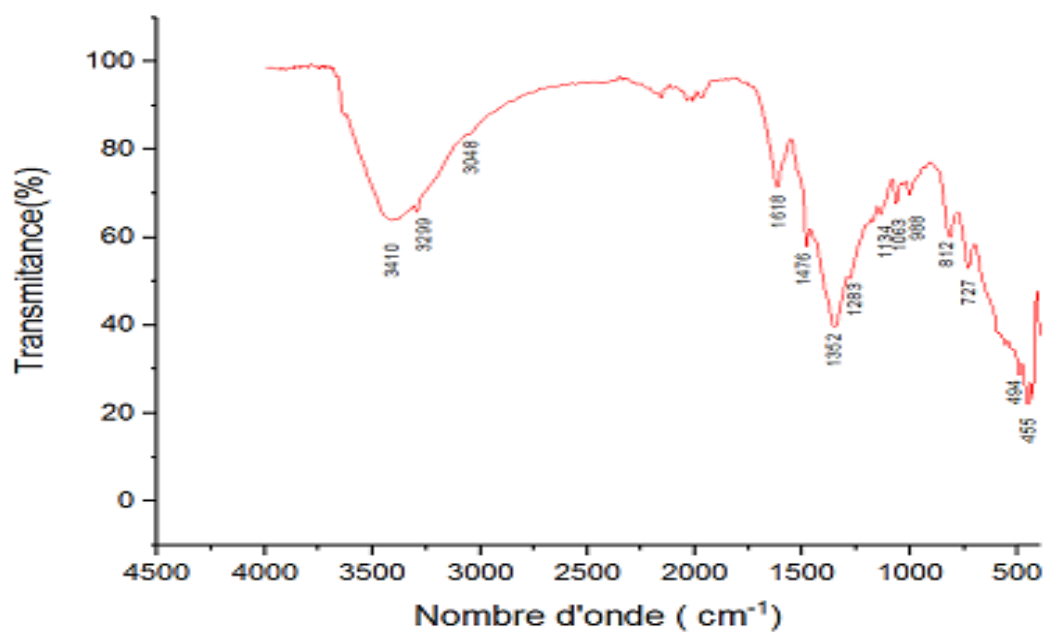


Figure 1 : Spectre IR du complexe [Ni(OPD)(Br-Anil)₂]₂Br

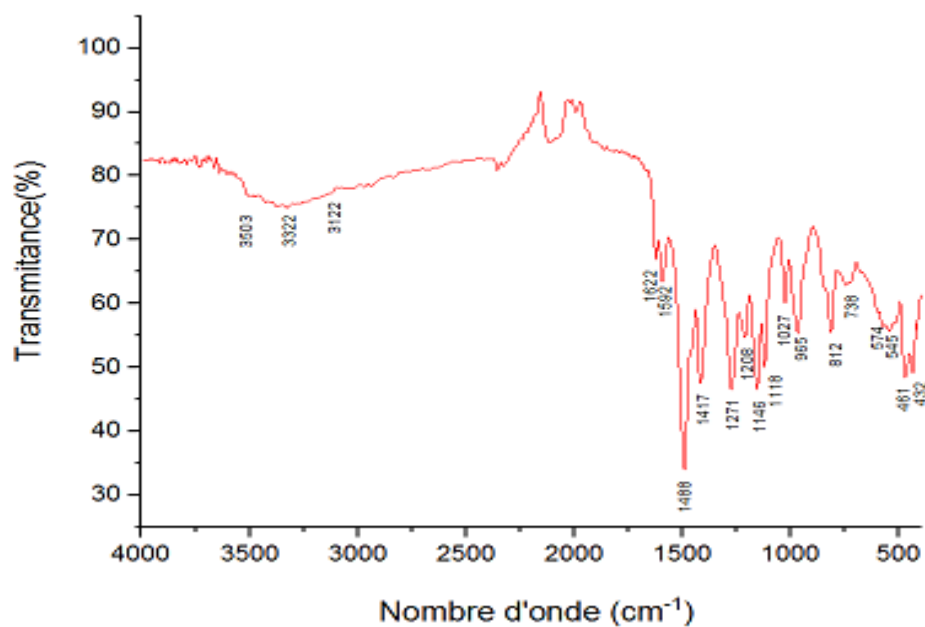


Figure 2: Spectre IR du complexe [Ni(OPD)(Cur)]

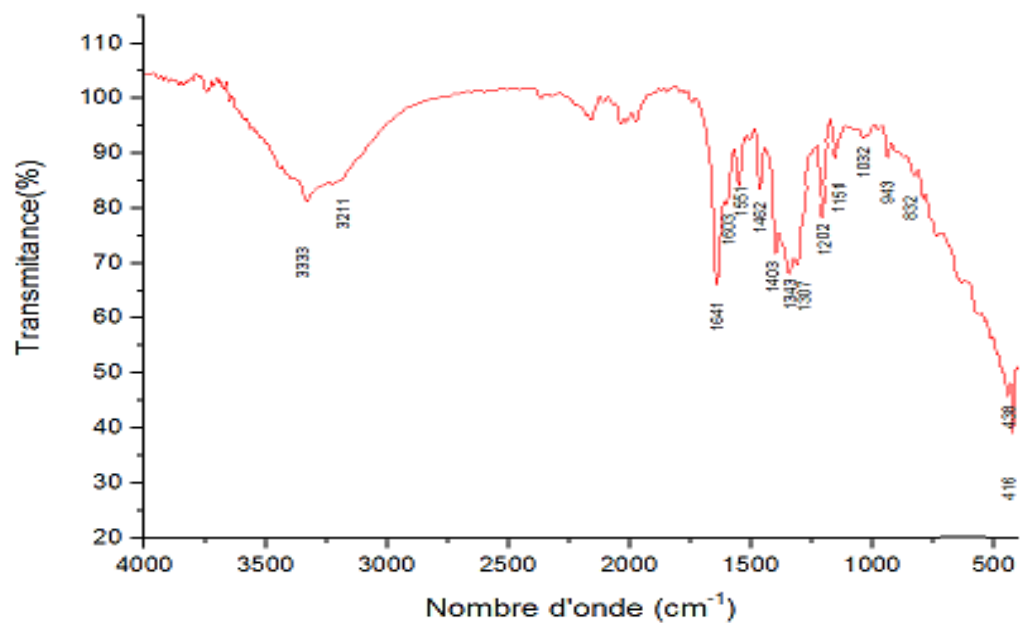


Figure 3: Spectre IR du complexe[Cu(OPD)(Ade)]

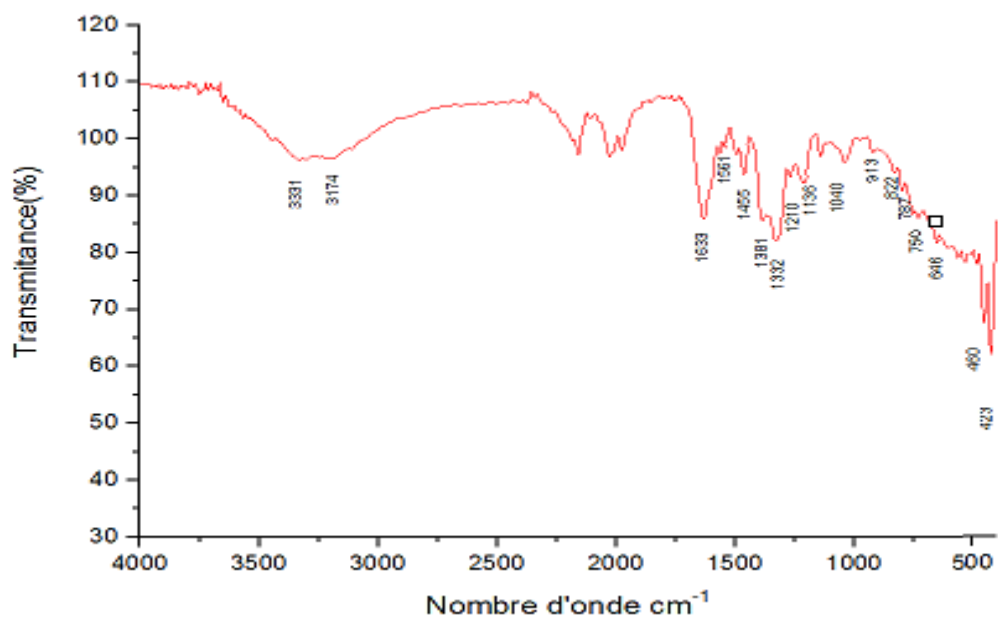


Figure 4: Spectre IR du complexe[Ni(OPD)(Ade)]

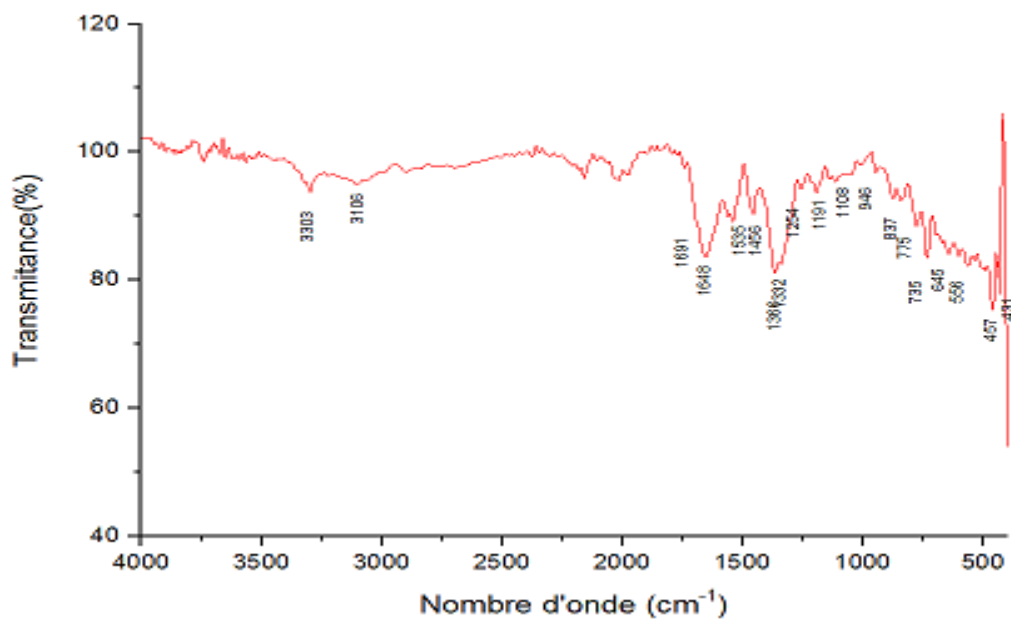


Figure 5: Spectre IR du complexe[Ni(OPD)(Gua)]

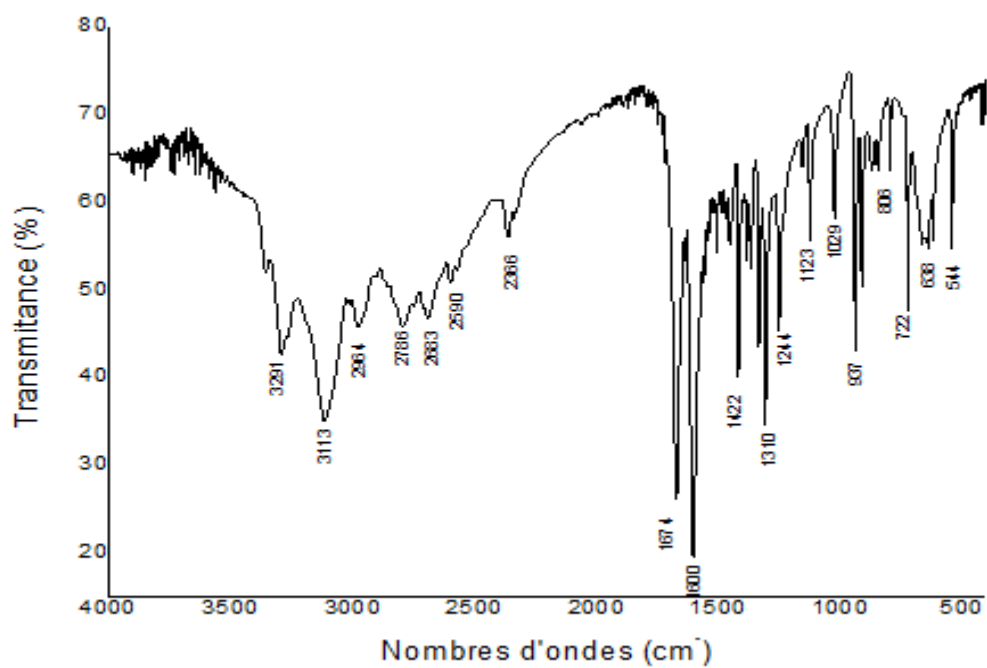


Figure 6: Spectre IR de l'adénine

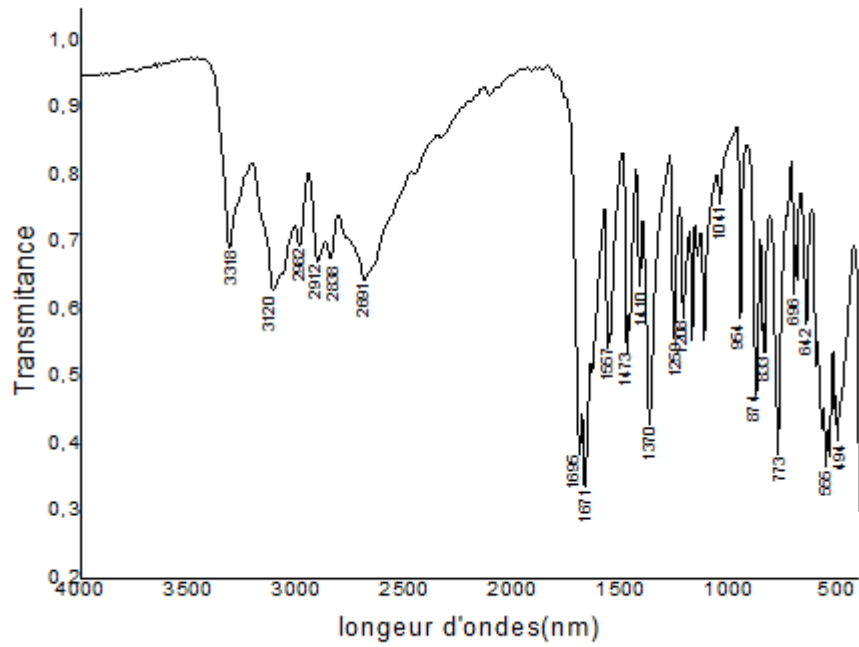


Figure 7 : Spectre IR de la Guanine

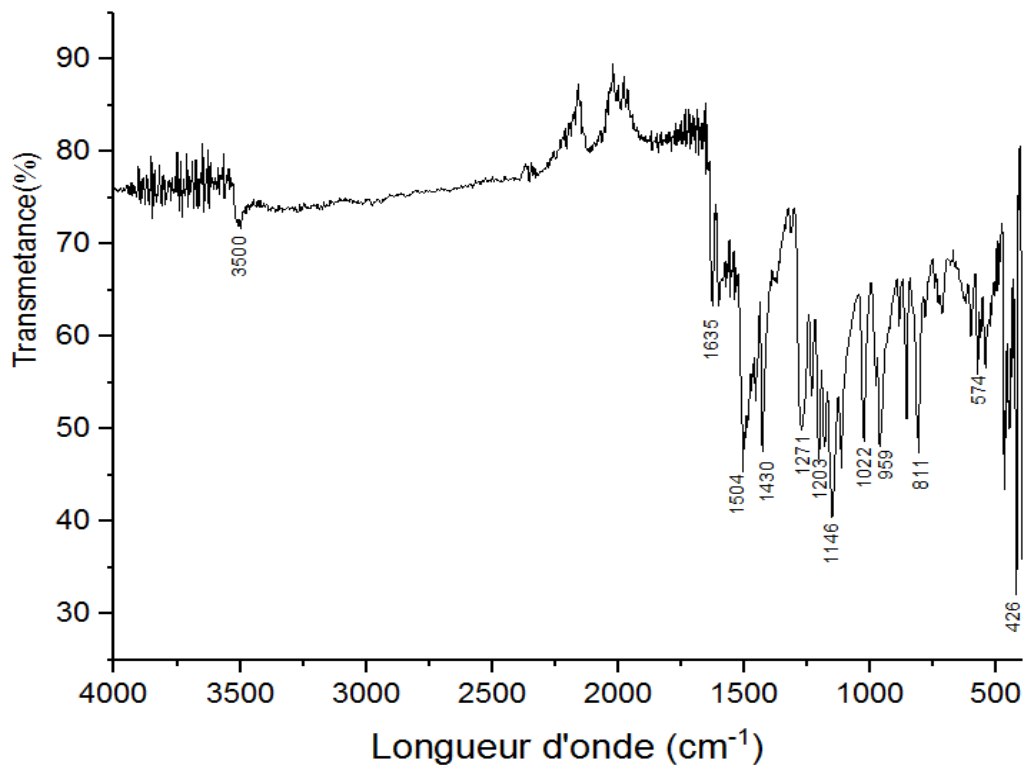


Figure 8 : Spectre IR de la Curcumine

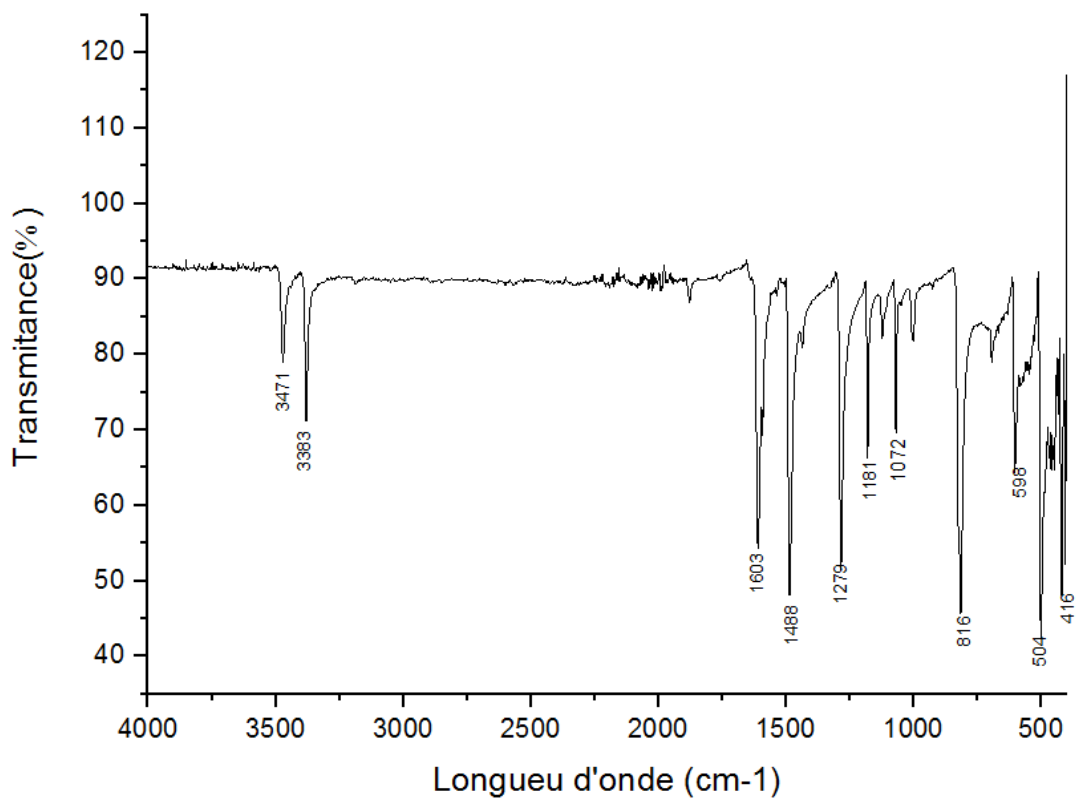


Figure 9 : Spectre IR de Bromo-aniline

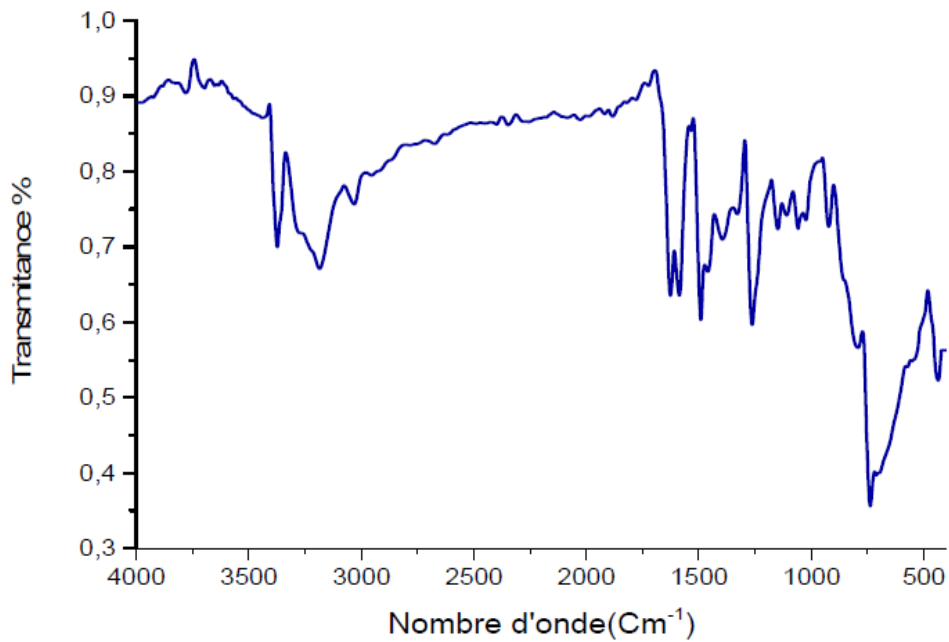


Figure .10: Spectre IR de l'orthophénylènediamine

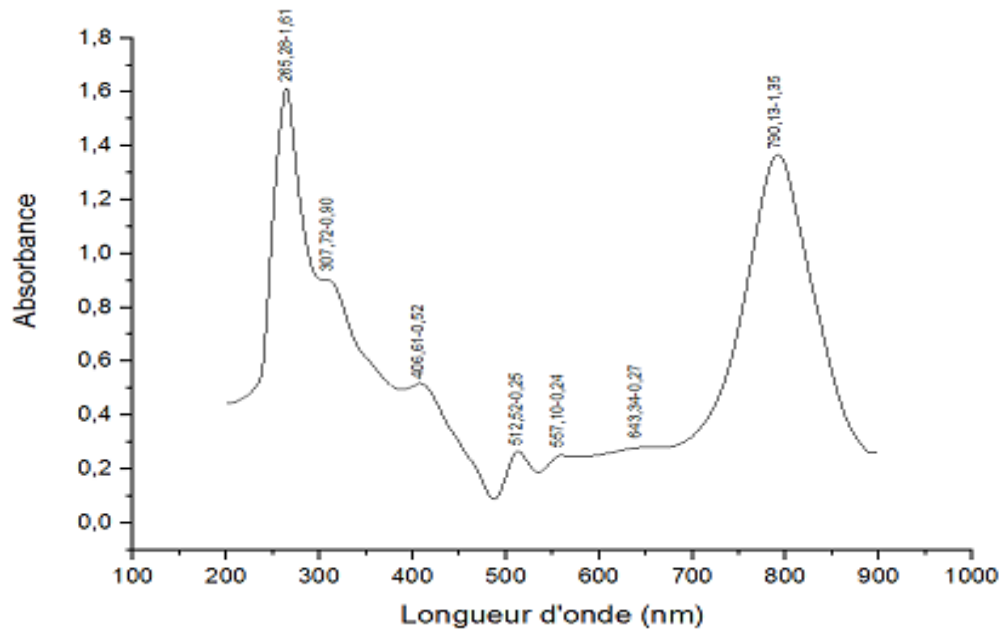


Figure.11 : Spectre UV-vis du complexe $[\text{Ni}(\text{OPD})(\text{Br-Ani})_2]_2\text{Br}$

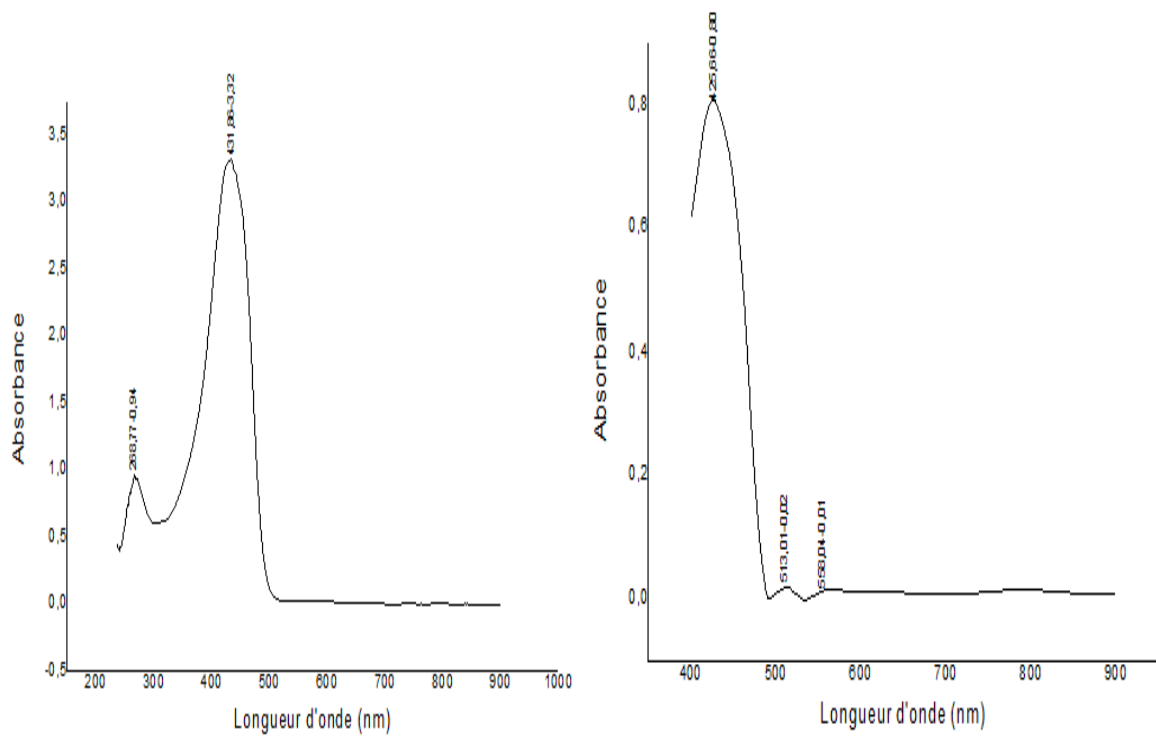


Figure.12 : Spectre UV-vis du complexe $[\text{Cu}(\text{OPD})(\text{cur})]$

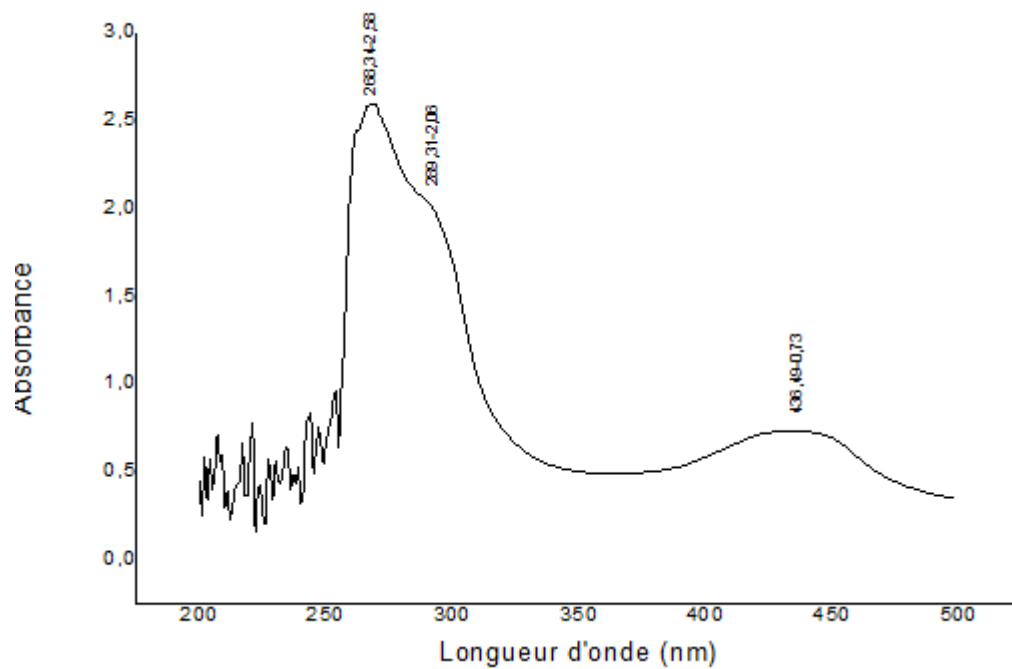


Figure .13: Spectre UV-vis du complexe [Cu (OPD) (Ade)]

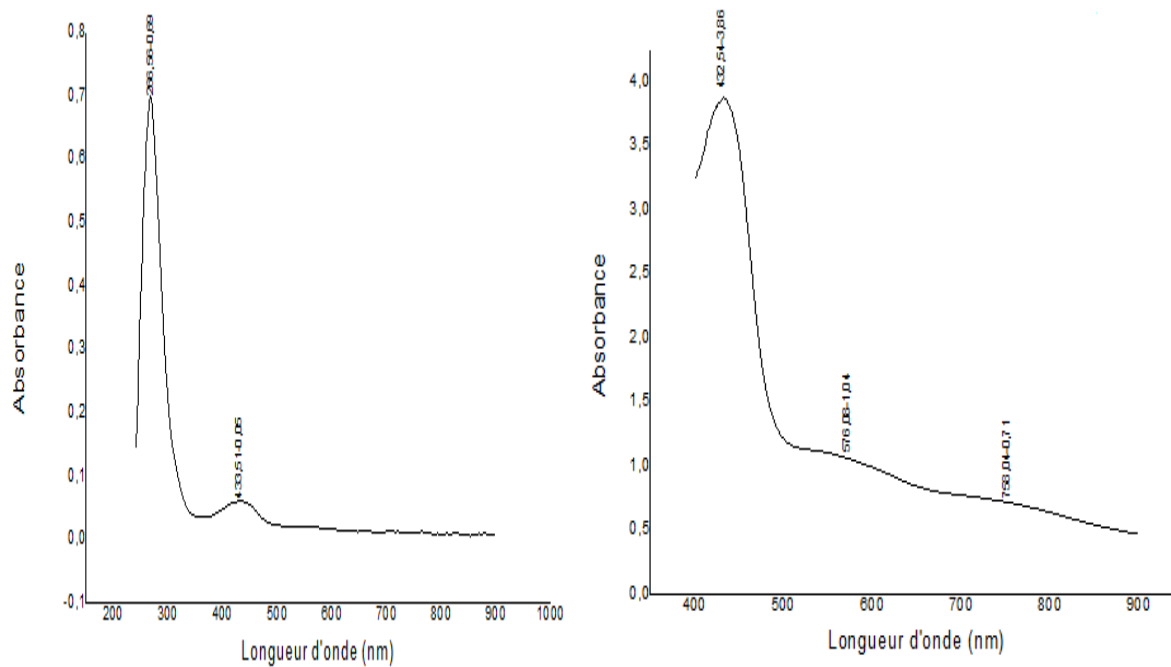


Figure .14: Spectre UV-vis du complexe [Ni(OPD)(Ade)]

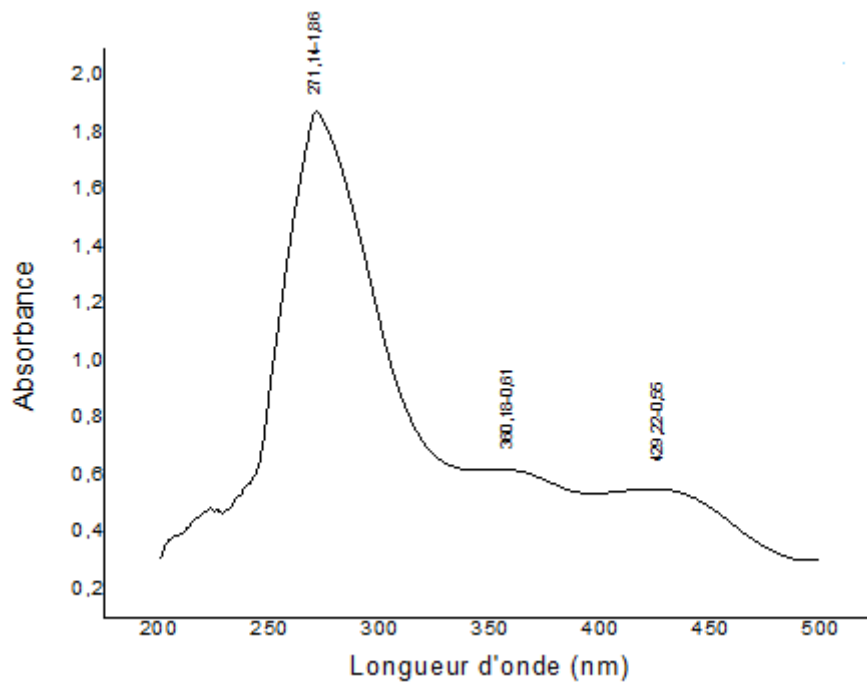


Figure.15 : Spectre UV-vis du complexe [Cu(OPD)(Gua)]

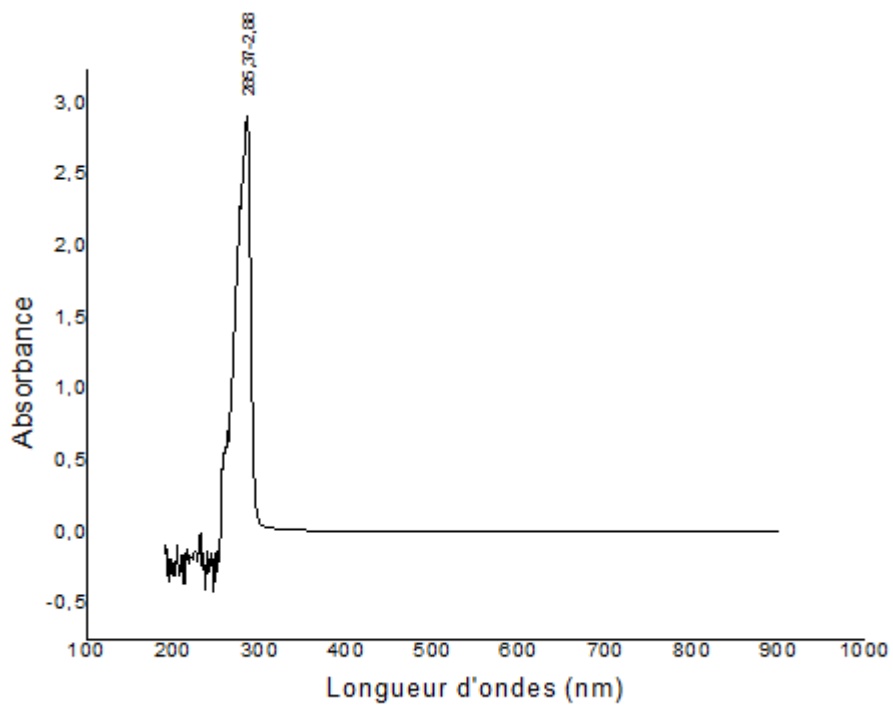


Figure.16 : Spectre UV-Visible de l'adénine

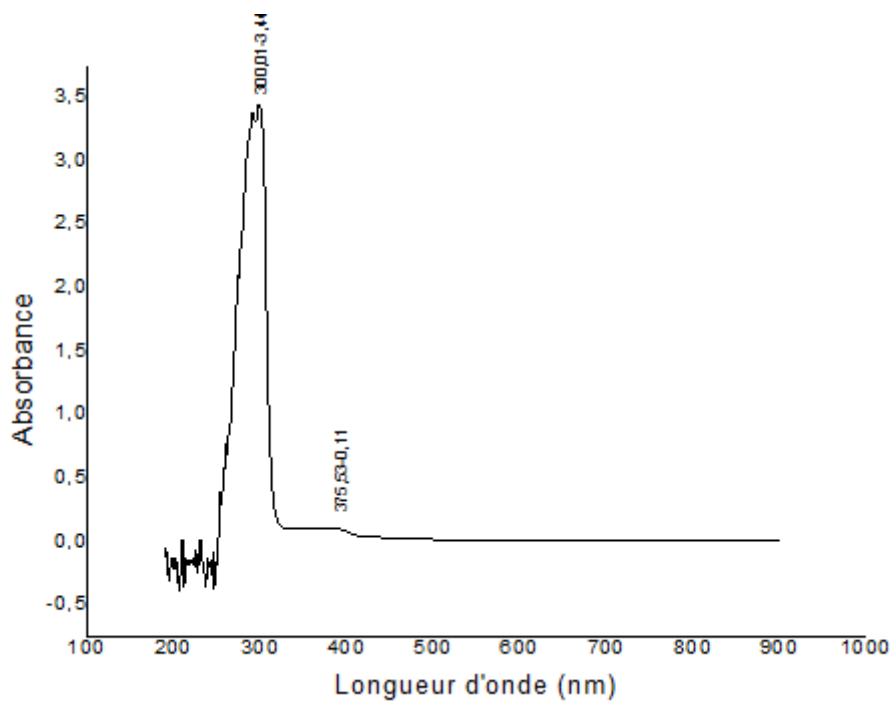


Figure.17 : Spectre UV-Visible de la guanine

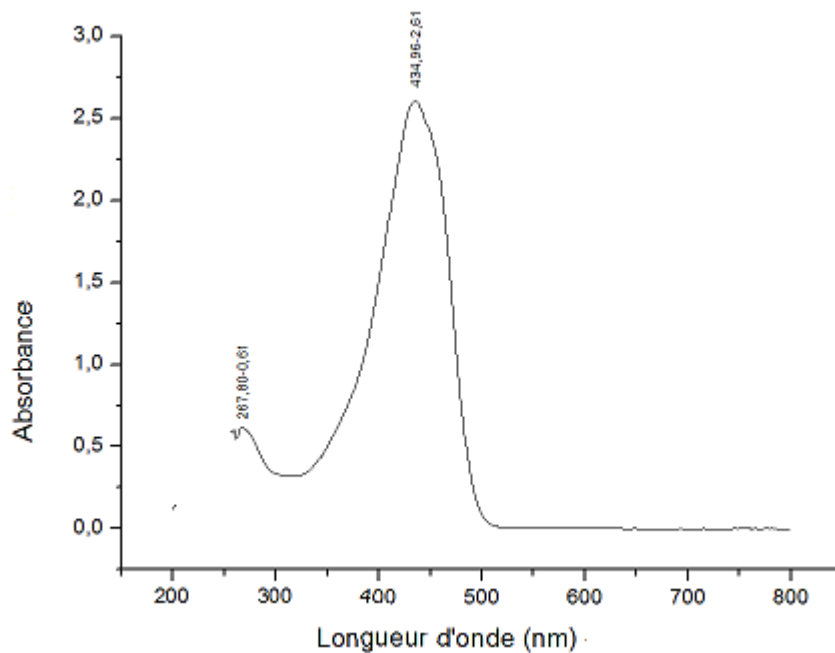


Figure.18 : Spectre UV-Visible de la Curcumine

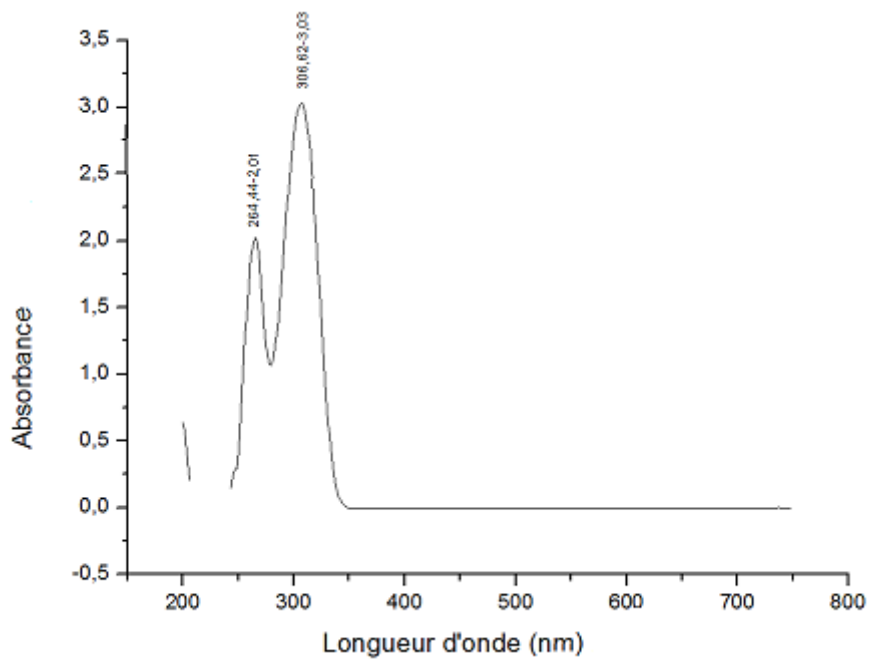


Figure.19 : Spectre UV-Visible d'OPD

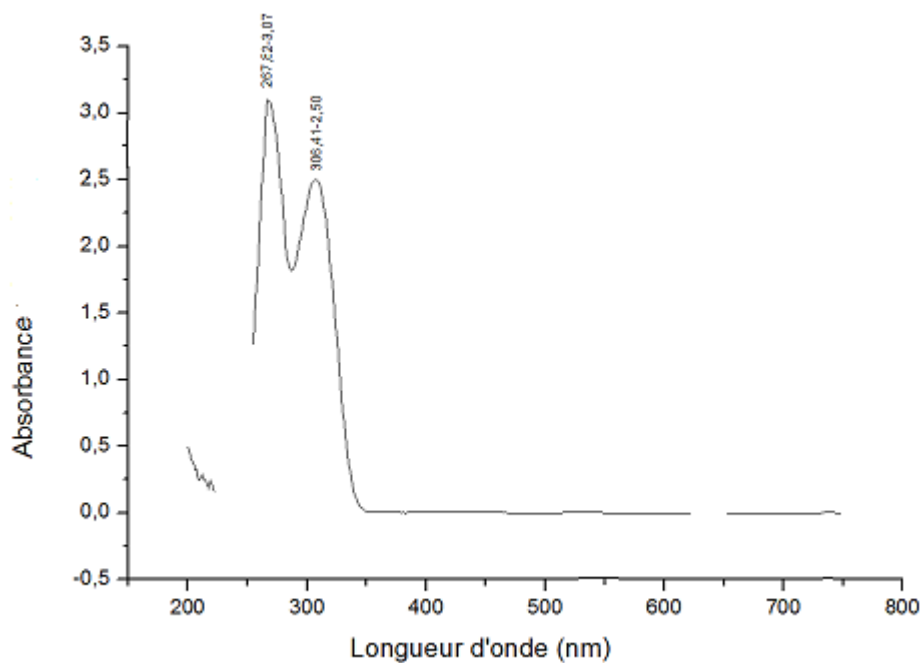


Figure.20 : Spectre UV-Visible de Bromo-aniline

Résumé

De nouveaux complexes mixtes de cuivre (II) et de nickel (II) avec l'ortho-phénylènediamine comme ligand primaire et le bromo-aniline, la curcumine et les bases puriques (adénine et guanine) comme ligands secondaires, ont été préparés et caractérisés par la spectroscopie UV-Vis et IR ainsi que par conductimétrie. Cette dernière a révélé qu'un seul complexe est électrolyte.

Des études spectroscopiques ont montré que les complexes synthétisés ont des géométries différentes (plan carré et octaédrique). Une étude de l'activité antimicrobienne des complexes a été effectuée par la technique de diffusion agar en utilisant le DMSO comme solvant contre différentes espèces de bactéries pathogènes (E-coli, Pseudomonas aeruginosa et Staphylococcus aureus). Les résultats ont montré que la majorité des complexes n'ont pas une activité à l'exception du complexe de nickel à base d'adénine et de cuivre à base de guanine. L'évaluation du pouvoir antioxydant des complexes a été réalisée en utilisant la méthode de réduction de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Les résultats ont montré que la moitié des complexes ont une bonne activité antioxydante comparée à celle de contrôle positif (l'acide ascorbique).

Mots clés : complexes mixtes, l'ortho-phénylènediamine, analyse spectroscopique, activité antimicrobienne, propriétés antioxydantes.

Abstract

New mixed complexes of copper (II) and nickel (II) with ortho-phenylenediamine as primary ligand and bromo-aniline, curcumin and puric bases (adenine and guanine) as secondary ligands, have been prepared and characterized by UV-Vis and IR spectroscopy as well as conducto. The latter revealed that only one complex is electrolyte.

Spectroscopic studies have shown that synthesized complexes have different geometries (square planar and octahedral). A study of the antimicrobial activity of complexes was carried out by the agar diffusion technique using DMSO as a solvent against different species of pathogenic bacteria (E-coli, Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus). The results showed that the majority of the complexes have no activity except for the nickel adenine and copper guanine complex. The antioxidant potency of the complexes was assessed using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) reduction method. The results showed that half of the complexes have a good antioxidant activity compared to that of positive control (ascorbic acid).

Keywords: mixed complexes, ortho-phenylenediamin, spectroscopic analysis, antimicrobial activity, antioxidant properties.