N° d'ordre : ……FS / UMBB / 2021

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أمحمد بوقرة بومرداس
Université M'hamed Bougara de Boumerdès

Faculté des Sciences - Département de Chimie

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Analytique

Mémoire de Projet de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Présenté et soutenu par

BENYOUCEF Fatma et TINKELINE Nesrine

Thème

Synthèse, Caractérisation et Etude de l'activité biologique d'un complexe de Palladium avec un ligand hétérocycle

Mr BOUZID Mohamed	Maître de Conférences A/FS-UMBB	Président
Mme BOUDIEB Naima	Maître de Conférences B/ FS-UMBB	Examinatrice
Mme CHIKHI Sabah	**Maître de Conférences B/ FS-UMBB**	**Promotrice**

Septembre 2021

Remerciements

Nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mme ***S. Chikhi****, Maitre de Conférences à l'UMBB, nous la remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

Nous adressons nos vif remerciements à Mr ***M. Bouzid****, Maitre de Conférences à l'UMBB, qui nous fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire. Nous tenons à lui exprimer notre profonde et respectueuse gratitude.*

Nous sommes très honorées de la participation à ce jury de Mme ***N. Boudieb****, Maitre de Conférences à l'UMBB, nous la remercions vivement d'avoir accepté d'examiner ce mémoire. Finalement, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Merci à tous.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Ma chère mère décédée, merci beaucoup de croire en moi et de me soutenir. Vous m 'avez vraiment donné le monde et je vous remercie tellement pour tous les sacrifices que vous avez faits pour moi tout en dépensant votre vie sur terre avec moi. Je dédie mon diplôme à toi, mon amour, je souhaite que tu sois toujours avec moi ici. Que dieu tout-puissant vous protège au paradis.

mon cher papa que dieu le proège et lui accorde longue vie.

mes chers frères et sœurs, et aussi mes cousins, et sans oblier tout mes amies, c 'est grâce à vous que je suis arrivée a ce que je suis

merci beaucoup.

Fatma

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

mes chers parents, c'est grâce à vous et pour vous que je suis ici maintenant.

mes chères sœurs, Kawther et Rimasse El-Batoule.

mes frères, Abdelkader et Salaheddine.

mon binôme et mon amie Fatma.

mes amies, Nesrine et Malika.

toutes les personnes qui sont passées dans ma vie et ont laissé une belle trace en moi.

tous ceux qui sont heureux de ma réussite.

Nesrine

Figure I.1: Réaction générale de formation de base de Schiff.....2
Figure I.2 : Mécanisme d'obtention d'une base de Schiff en milieu acide.....3
Figure I.3 : N-(salicylidène)-2-hydroxyaniline.....5
Figure I.4 : Exemples de bases de Schiff dérivées du chitosane.....6
Figure I.5 : Exemples de bases de Schiff dérivées de l'aldéhyde benzoïque.....6
Figure I.6 : Exemples d'arrangements octaédriques.....7
Figure I.7 : Quelques exemples de ligands bases de Schiff mono-, bi- et polydentates.....8
Figure I.8 : Quelques exemples de complexes bases de Schiff mono-, bi- et polynucléaires...8
Figure II.1: Réaction de synthèse du ligand.....14
Figure II.2 : Protocole expérimental du suivi de la méthode de puits.....18
Figure III.1 : Spectre IR du ligand en pastille de KBr.....20
Figure III.2. Spectre RMN ^{1}H du ligand dans le $CDCl_3$.....24
Figure III.3 : Spectre RMN ^{13}C du ligand dans le $CDCl_3$.....26
Figure III.4: Spectre UV-visible du ligand.....27
Figure III.5 : Spectre IR du complexe de Palladium.....30
Figure III.6: Spectre électronique du complexe du complexe de Palladium.....31
Figure III.7: Structure proposée pour le complexe de Palladium.....32
Figure II.8 : Sensibilité in vitro de la souche *Aspergillus* au ligand et son complexe.....33
Figure III.9 : Sensibilité in vitro de la souche *Pseudomonas aeruginosa* au ligand et son complexe.....34
Figure III.10 : Sensibilité in vitro de la souche *Staphylococcus aureus* au ligand et son complexe.....34
Figure III.11: Sensibilité in vitro des souches *Escherichia coli* au ligand et son complexe.....35
Figure III.12: Sensibilité in vitro des souches *Klebsiella pneumoniae* au ligand et son complexe.....35
Figure III.13: Histogramme de l'activité antimicrobienne du ligand et de son complexe.....36

Tableau I.1 : Différents types de bases de Schiff.....4
Tableau III.1: Propriétés physiques du ligand.....20
Tableau III.2: Principales bandes de vibration des groupements du ligand.....22
Tableau III.6 : Caractéristiques des bandes d'absorption UV-Visible du complexe de Palladium.....27
Tableau III.4 : Propriétés physiques du complexe.....28
Tableau III.5 : Principales bandes IR du ligand et de son complexe de Palladium.....29
Tableau III.3 : Caractéristiques des bandes d'absorption UV-Visible du ligand.....31

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
MHV	Virus d'Hépatite Murine
µM	Micromole par Litre
coll	Collaborateurs
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
PVC	Polychlorure de vinyle
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
ADN	Acide Désoxyribonucléique
IR	Spectrométrie Infrarouge
cm	centimètre
KBr	Bromure de Potassium
%	Pourcentage
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RMN ^{1}H	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
RMN ^{13}C	Résonance Magnétique Nucléaire du Carbone 13
δ	Déplacement Chimique
ppm	Partie par million
Me_4Si	Tétraméthylsilane
$CDCl_3$	Chloroforme Deutéré
MHz	Mégahertz
nm	nanomètre
UV/Vis	Ultraviolet Visible
Pd	Palladium
DMSO	Diméthylsulfoxyde
M	mole par Litre
mmol	milimole

mL	mililitre
°C	Degrés Celsius
sym	symétrique
asym	asymétrique
λ	Longueur d'onde
C	Concentration
m	masse
g	gramme
$PdCl_2$	Chlorure de Palladium
Ω	Ohm
ν	Fréquence de vibration
$\bar{\upsilon}$	Nombre d'ondes
ATCC	American Type Culture Collection
h	heure
mm	milimètre
µL	microlitre
ε	Coefficient d'absorption molaire

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations et symboles

Introduction générale.....1

CHAPITRE I : Etude Bibliographique.....2

CHAPITRE II : Méthodes et protocoles expérimentaux

II.1. Synthèse du ligand.....14

II.2. Synthèse du complexe de Palladium.....14

II.3. Méthodes de caractérisation.....15

II.3.1. Spectrométrie Infrarouge.....15

II.3.2. Résonance Magnétique Nucléaire.....15

II.3.3. Spectrométrie Electronique d'Absorption (de l'ultraviolet et du visible).....16

II.3.4. Mesure de Conductivité.....16

II.3.5. Point de Fusion.....17

II.4. Techniques expérimentales pour l'étude de l'activité antimicrobienne.....17

CHAPITRE III : Résultats et discussions

III.1. Caractérisation du ligand.....20

III.1.1. Propriétés physiques et données analytiques.....20

III.1.2. Spectrométrie infrarouge.....20

III.1.3. Résonance Magnétique Nucléaire.....22

- Spectrométrie RMN ^{1}H.....22
- Spectrométrie RMN ^{13}C.....25

III.1.4. Spectrométrie Electronique d'Absorption UV-Visible.....27

III.2. Caractérisation du complexe de Palladium.....28

III.2.1. Propriétés physiques du complexe de Palladium.....28

III.2.2. Spectrométrie Infra Rouge.....28

III.2.3. Spectrophotométrie UV-visible.....30

III.2.4. Structure proposée pour le complexe de Palladium.....31

III.3. Activité Antimicrobienne.....32

III.3.1. Etude qualitative.....32

Conclusion générale.....37

Références bibliographiques.....38

Résumé

Introduction générale

Les bases de Schiff représentent une classe des ligands très intéressante, car elles contiennent une variété d'atomes donneurs, tels que l'azote, l'oxygène et le soufre. Au cours de ces dernières années, les chercheurs ont donné une grande importance à la synthèse et la caractérisation des ligands base de Schiff et leurs complexes métalliques. Ces composés sont largement exploités en chimie médicale et en chimie de coordination, et cela est dû à la simplicité de leur synthèse avec un très bon rendement et la diversité de leurs applications.

Cette catégorie des composés chimiques présentent des intérêts potentiels très variés dans de nombreux domaines de la vie, notamment dans le système biologique, où ils ont été utilisés comme des bactéricides, fongicides, anticancéreux, antituberculeux, anti-inflammatoires, antivirales, anti-VIH et dans le traitement de plusieurs maladies incurables. Ils en résultent un parfait modèle de médicaments [1].

L'activité biologique des bases de Schiff a été largement explorée durant ces dernières décennies. Leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires et anticancéreuses ont été testées avec succès [2].

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à la synthèse, la caractérisation et l'étude de l'activité antimicrobienne d'une base de Schiff dérivée de la condensation du 2-hydroxy-1-naphthaldehyde avec le triméthoprime et de son complexe de Palladium.

Le présent mémoire comprend ce qui suit :

Le premier chapitre résume une recherche bibliographique sur les bases de Schiff et leurs complexes metalliques, ainsi qu'un petit rappel sur les bactéries et les champignons.

Le second chapitre décrit les méthodes et protocoles expérimentaux utilisés pour la caractérisation du ligand et de son complexe de Palladium.

Le troisième chapitre est consacré à la synthèse et à la caractérisation du ligand dérivé du triméthoprime.

Le quatrième chapitre présente la synthèse et la caractérisation du complexe de Palladium.

Le cinquième chapitre est consacré à l'étude de l'activité antimicrobienne in vitro du ligand et de son complexe.

CHAPITRE I

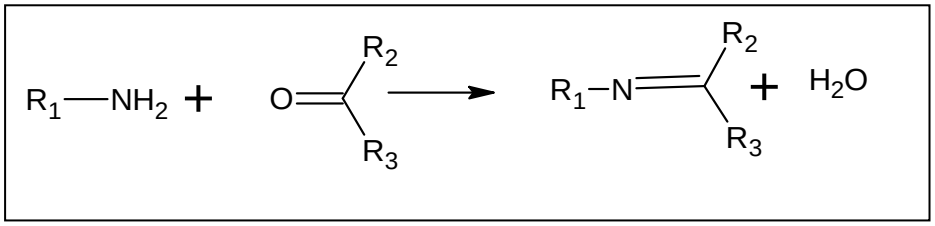
Etude bibliographique

I.1. COMPLEXES DE BASE DE SCHIFF

I.1.1. Généralités et historique

Les premières synthèses de ce type de composés ont été réalisées en 1864 par Hugo Schiff.

Les bases de Schiff sont des molécules comportant une double liaison C=N. Elles sont généralement préparées par la condensation d'une amine primaire avec un composé carbonyle actif (Figure I.1) [3].



Amine primaire **carbonyle** **base de Schiff**

Figure I.1: Réaction générale de formation de base de Schiff [3].

Les bases de Schiff au sens large ont une formule générale de type $R_1R_2C=NR_3$, où R est une chaine organique aliphatique ou aromatique [4].

Les ligands bases de Schiff et leurs complexes de métaux de transition représentent une classe importante de chélates dans la chimie de coordination moderne [5]. Près d'un siècle et demi plus tard, ces composés sont toujours d'actualité et interviennent dans différents domaines de recherche et d'application, tels que la médecine, l'industrie alimentaire, la catalyse, et surtout la chimie pharmaceutique ou ils sont utilisés en particulier comme agent anti-inflammatoire, anti-tumorale, anti-VIH, anticancéreux, et dans le traitement des maladies diverses (accumulation du cuivre dans le foie, le cerveau, et les reins) [6, 7].

En effet, des efforts considérables ont été déployés pour développer les méthodes de synthèse de ces composés, utilisant des différentes méthodes physicochimiques et biologiques [8].

I.1.2. Définition d'un ligand base de Schiff

Le mot Ligand vient du verbe latin ''ligare'' qui veut dire lier, donc les ligands base de Schiff sont des composés ayant toujours un doublet libre d'électrons porté par l'atome d'azote qui lui confère un caractère nucléophile très fort, permet d'attaquer facilement les centres actifs de faibles densité électronique tels que l'atome de carbone du groupement carbonyle et les ions des métaux de transitions [9, 10].

Ainsi notons que ces électrons de ces métaux de transition occupent l'orbital vide (d) en donnant un type de liaison connu sous le nom de liaison de coordination. En synthèse organique, les réactions base de Schiff sont utiles dans faire liaisons carbone-azote [11, 12].

I.1.3. Synthèse de ligand base de Schiff

Le mécanisme de formation d'une base de Schiff est l'addition d'un nucléophile au groupe carbonyle.

Dans ce cas, le nucléophile est une amine. Dans la première partie du mécanisme l'amine réagit avec l'aldéhyde ou la cétone pour donner un composé de condensation instable appelé amino alcool. Les amino alcools se déshydratent en milieu acide pour donner des imines encore appelées bases de Schiff ainsi qu'en terme de synonyme dite azométhine [2]. Le mécanisme d'obtention d'une base de Schiff est le suivant (Figure I.2) :

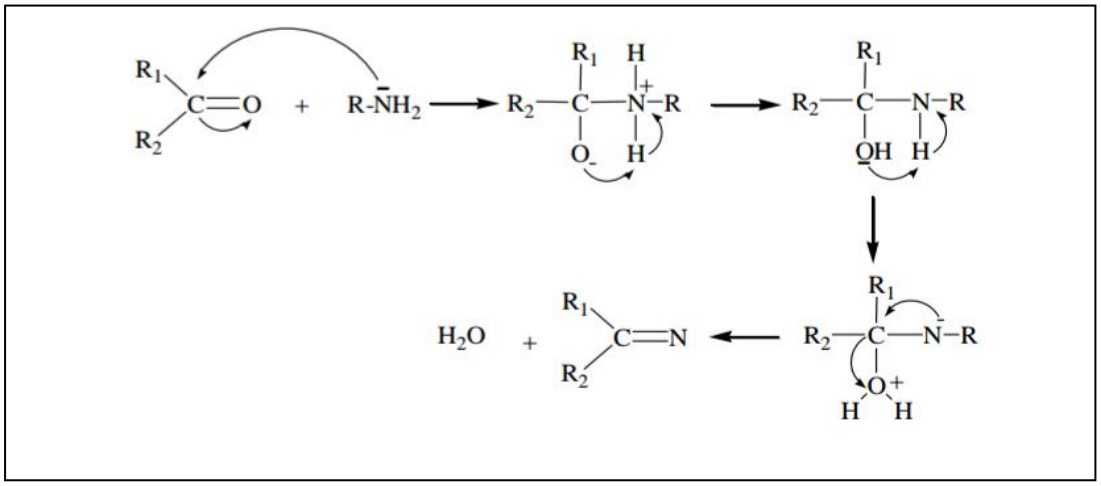
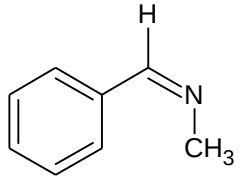
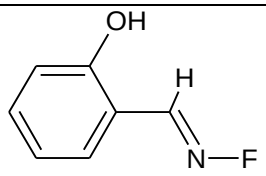
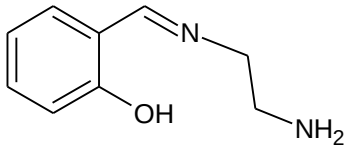
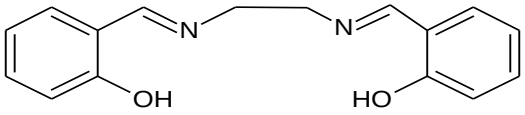
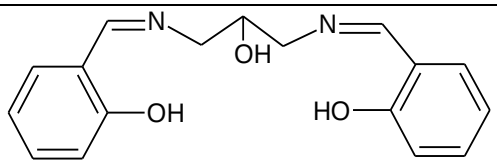
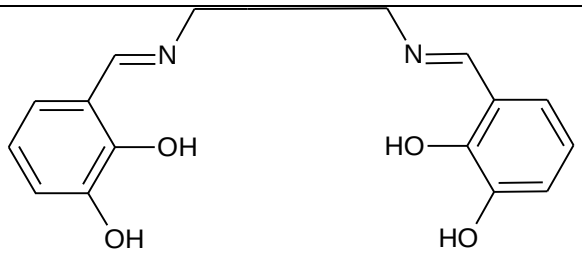
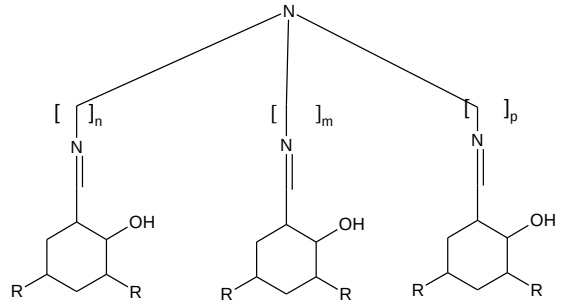


Figure I.2 : Mécanisme d'obtention d'une base de Schiff en milieu acide [13].

I.1.4. Classification des ligands bases de Schiff

Les bases de Schiff sont généralement des ligands mono, bi, tri, tétra, penta, hexa et heptadentées selon le nombre de sites de coordination avec l'ion métallique. Le tableau I.1 ci-après représente les principaux types des bases de Schiff.

Tableau I.1 : Différents types de bases de Schiff.

Base de Schiff monodentée [14, 15, 16]	Base de Schiff bidentée [14,16]
	
Base de Schiff tridentée [14,16]	**Base de Schiff tétradentée [14,16]**
	
Base de Schiff pentadentée [14,16]	**Base de Schiff hexadentée [17, 18]**
	
Base de Schiff heptadentée [19]	
	

(a): R=t-Bu, n=m=p=3.

(b): R =t-Bu, n =m=3, p=2.

(c): R=t-Bu, n =m=p=2.

(d): R=H, n=m=p=3.

(e): R=H, n=m=3, p=2.

(f): R=H, n=m=p=2.

I.1.5. Applications des bases de Schiff

Les bases de Schiff forment une classe importante des composés organiques les plus largement utilisés et qui ont une grande variété d'application dans différents domaines.

I.1.5.1. Application en biologie

Les bases de Schiff possèdent une large application dans le domaine biologique, elles sont caractérisées par leur activité antibactérienne, antivirale, et antifongique.

Activité antibactérienne

Les bases de Schiff ont été désignées comme des agents antibactériens prometteurs. Par exemple, la N-(salicylidène)-2-hydroxyaniline (Figure I.3) est efficace contre *Mycobacterium tuberculosis*. Les bases de Schiff contenant également des fragments 2,4-dichloro-5-fluorophényle participent à une inhibition efficace de la croissance bactérienne [13].

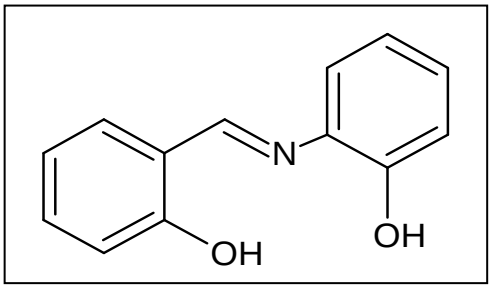


Figure I.3 : N-(salicylidène)-2-hydroxyaniline [20].

Activité antivirale

Différentes bases de Schiff dérivées de 1-amino-3-hydroxyguanidine tosylate qui se sont avérés efficaces contre le virus de l'hépatite murine (MHV), inhibant sa croissance de 50% lorsqu'il est utilisé à des concentrations aussi faibles que 3,2 µM [13].

Activité antifongique

Certaines bases de Schiff sont connues pour être des agents antifongiques prometteurs. Les composés (a) et (b) (Figure I.4) sont des exemples de bases de Schiff dérivées du chitosane avec une activité antifongique [20].

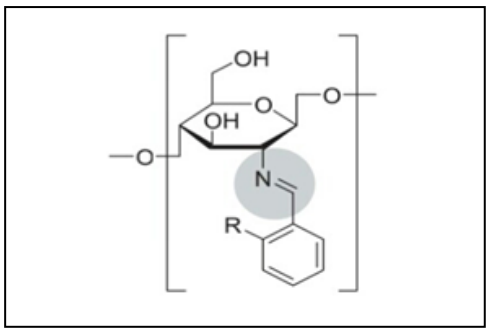


Figure I.4 : Exemples de bases de Schiff dérivées du chitosane (R=H pour le composé (a), R=OH pour le composé (b)) [20].

I.1.5.2. Application en corrosion

De nombreuses études récemment réalisées sur les bases de Schiff ont mis en exergue pour ces systèmes, d'excellentes propriétés inhibitrices de corrosion, vis-à-vis de matériaux divers tels, l'acier, le cuivre, l'aluminium et le zinc, tel que les bases de Schiff dérivées de l'aldéhyde benzoïque dont, la benzylidène-pyrimidin-2-yl-amine, la (4-méthyl-benzylidène)-pyrimidine-2-yl-amine et la (4-chlorobenzylidène)-pyrimidine-2-yl-amine [16, 21] (Figure I.5).

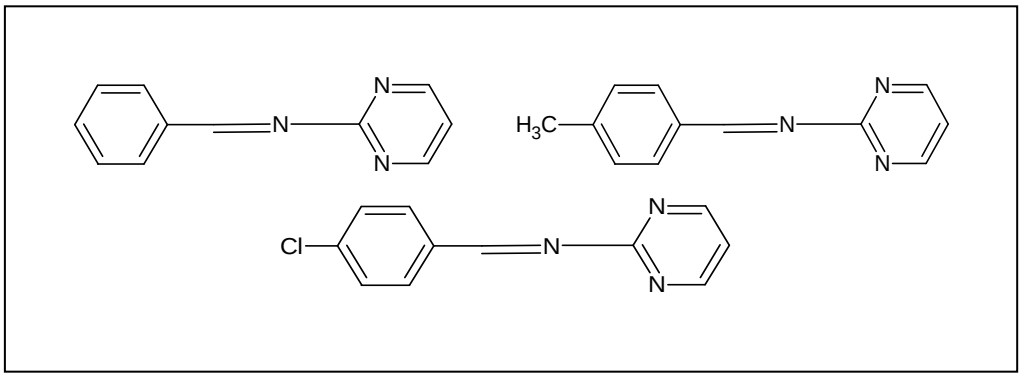


Figure I.5 : Exemples de bases de Schiff dérivées de l'aldéhyde benzoïque [16, 21].

I.1.5.3. Application dans le traitement des eaux usées

Les bases de Schiff peuvent avoir une large utilisation pour la protection de l'environnement, précisément dans le domaine d'épuration des eaux usées à cause de leur grande capacité de complexation des plusieurs métaux de transition notamment les métaux lourds dans les effluents nocifs industriels et les éléments radioactifs dans les déchets nucléaires [1].

I.1.6. Les complexes des bases de Schiff

I.1.6.1. Définition d'un complexe

Un complexe est constitué d'un ion métallique central sur lequel viennent se fixer un certain nombre de molécules neutres ou d'ions, appelés ligands.

Les propriétés chimiques de l'assemblage qui en résulte dépendent de la nature de la liaison entre l'ion métallique et les ligands (ion-dipôle, ionique) et de l'arrangement géométrique de ceux-ci autour de l'ion central, lui-même contrôlé par les propriétés électroniques de l'ion et des ligands.

Lorsqu'un ion s'entoure de ligands pour former un complexe, on parle de réaction de complexation. Cette réaction provoque souvent des changements de couleur, démontrant que les propriétés électroniques des complexes sont différentes de celles des réactifs de départ [22].

Les complexes peuvent avoir plusieurs géométries, telles que le carré plan, l'octaèdre et la pyramide à base carrée ou triangulaire.

Deux exemples d'arrangements octaédriques sont présentés ci-dessous (Figure I.6), dans lesquels l'assemblage se fait soit par liaisons ion-dipôle (ici entre le cation et le dipôle de l'eau) ou ion-ion (entre le cation et le chlorure). L'arrangement choisis est octaédrique, une géométrie que l'on retrouve souvent dans les complexes des cations métalliques 3d, (c'est-à-dire de la première série de transition) [15].

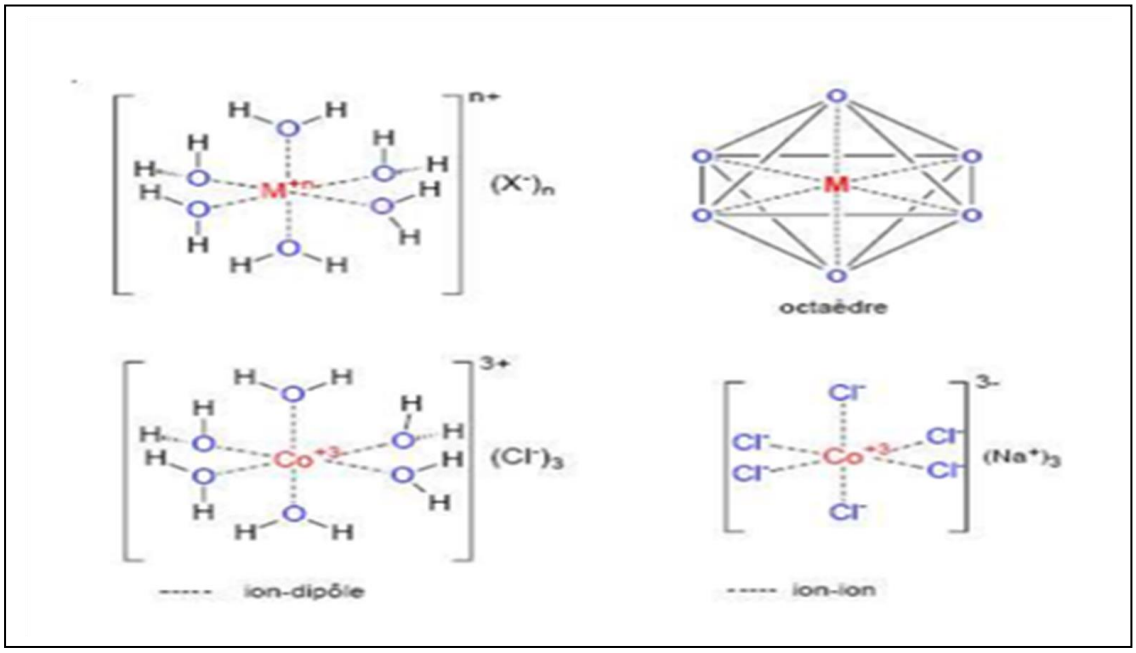


Figure I.6 : Exemples d'arrangements octaédriques [15].

I.1.6.2. Types de complexes des bases de Schiff

Les ligands bases de Schiff peuvent former des adduits ou des chélates avec les métaux de transition selon les conditions de réactions utilisées. Ces composés peuvent alors être classifiés comme monodentates, bidentates et polydentates basés sur le nombre de sites de coordination du ligand comme cela est expliqué sur la figure I.7 et sont en général des polydentates disposant d'une ou plusieurs sphères de coordination pouvant loger un ou plusieurs cations métalliques. C'est ainsi qu'on peut dire qu'ils sont mono, bi ou polynucléaires [23] (Figure I.8).

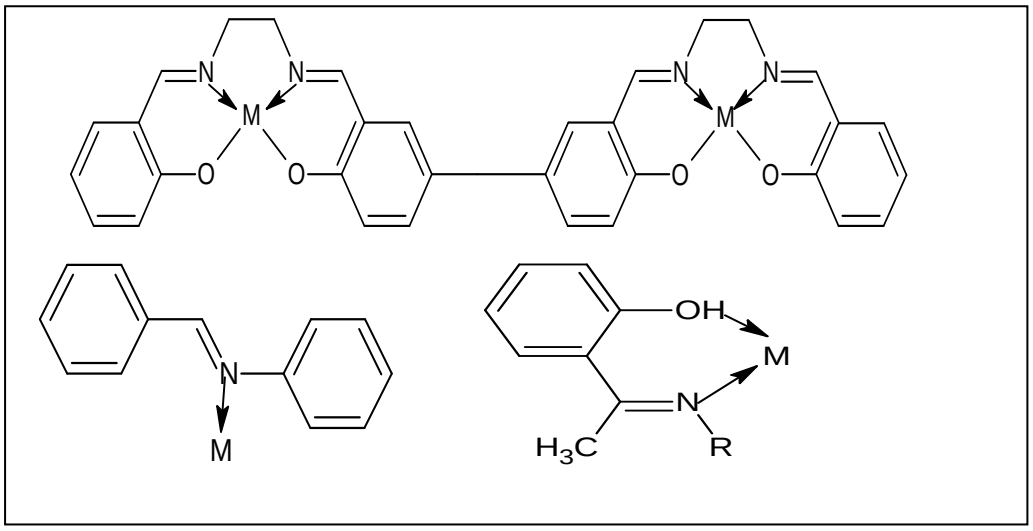


Figure I.7 : Quelques exemples de ligands bases de Schiff mono-, bi- et polydentates.

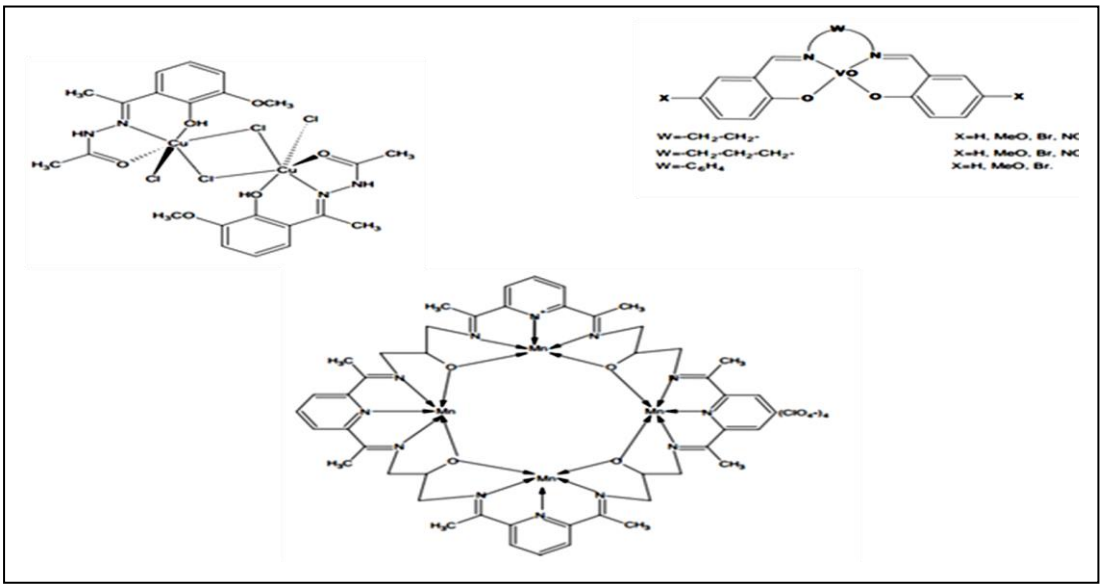


Figure I.8 : Quelques exemples de complexes bases de Schiff mono-, bi- et polynucléaires.

I.1.6.3. Applications biologiques des complexes de bases de Schiff

De nombreux complexes de bases de Schiff avec des métaux de transition ont attiré une grande attention en raison de leurs activités biologiques et pharmaceutiques diverses [2].

Activité antibactérienne et antifongique

De nombreux agents antibactériens à base des complexes de base de Schiff ont été développés par les chercheurs. Muche et al [24] ont synthétisé des complexes de Palladium(II) avec des bases de Schiff dérivées ortho-vanilline et acide L-glutamic ou L-tyrosine. L'activité antibactérienne de ces complexes vis à vis des bactéries Gram positives (*Staphylococcus epidermidis, Micrococcus luteus et Bacillus sub*tilis) et Gram négatives (*Bordetella bronchiseptica*) a montré un effet bactéricide très intéressant avec une CMI = 125-500 µg/mL par rapport aux bases de Schiff libres.

Autre Série des complexes bases de Schiff de type malonyldihydrazide ont été analysés contre la croissance de deux champignons (*Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*). Les données obtenues ont manifesté une augmentation de l'activité antifongique des complexes par rapport à celle de base de Schiff [1].

Activité cytotoxique

L'étude de cytotoxicite de ligand de base de Schiff 4-(diethylamino)-3-quinoline-3-yliminomethyl-2-phenol et son complexe de cuivre a été évalué contre deux lignées cellulaire de cancer (cancer du poumon et cancer du sein). Les résultats obtenus montrent une excellente cytotoxicite du complexe de cuivre par rapport au ligand correspondant [1].

Activité antituberculeuse

Des bases de Schiff 8-formyl-7-hydroxy-4-methylcoumarin et 2-hydrazinobenzothiazole et leurs complexes avec le Cobalt(II), Nickel(II) et le Cuivre(II) ont été synthétisés et analysés par l'activité antituberculeuse contre la bactérie tuberculose Mycobacterium. L'ensemble des complexes révèle une activité antituberculeuse très puissante avec une (CMI = 0,8 µg/mL) comparativement avec le contrôle positif Streptomycine (CMI = 6,25 µg/mL). Et le ligand de base de Schiff correspondant [25].

Activité anticancéreuse

Zong et coll [26] ont synthétisés et testés des complexes de bases de Schiff 4-[(Z)-(2-hydroxy-4-methylphenylamino)phenylmethylene]-3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one. Les complexes du Zinc et du cuivre montrent une activité anticancéreuse appréciable envers les cellules cancéreuses humaines de sein avec une diminution de la viabilité cellulaire de 2% à concentration de 60 µM.

I.1.6.4. Autres applications des complexes bases de Schiff

Plus de leurs utilisations potentielles dans le domaine biologique, les complexes de bases de Schiff présentent plusieurs centres d'intérêt dans des domaines intéressantes de la vie tels que :

I.1.6.4.1. Comme capteurs électrochimiques

Le complexe base de Schiff avec le Ruthénium (III) a été utilisé dans la fabrication des capteurs à membrane de PVC à base de chlorure. Il présente une forte sélectivité vis à vis des ions chlorure.

I.1.6.4.2. Dans la catalyse

Les complexes de bases de Schiff représentent une excellente activité catalytique [8] dans très nombreuses réactions chimiques et surtout à des températures élevées supérieurs à 100 °C, et avec un taux d'humidité élevé.

les bases de Schiff aromatiques et leurs complexes sont utilisés comme catalyseur dans différentes oxydation catalytique des hydrocarbures qui sont diversifiés suivant la nature de fonction chimique portée par ces composés organiques, tels que l'oxydation des alcools, carboxylation des halogénures, oxydation des amines primaire,...etc [1].

I.2. Les métaux de transition

I.2.1. Présentation des métaux de transition

Un élément de transition, ou métal de transition, d'après la définition de l'IUPAC est : «un élément chimique dont l'atome a une sous-couche électronique d incomplète, ou qui peut former des cations dont la sous-couche électronique d est incomplète» [27]. Les éléments de transition qui sont les éléments du groupe 3 à 11 du tableau périodique ont des propriétés communes qui les caractérisent :

- Ils possèdent de nombreux degrés d'oxydation.
- Ils peuvent former un nombre de complexes de structures différentes.
- Ils sont considérés comme de bons catalyseurs.
- Et comme tous les métaux, ils sont de bons conducteurs d'électricité, solides dans les conditions normales de température et de pression et ont une température de fusion élevée.

I.2.2. Importance biologique de quelques métaux de transition

Il y a environ trente éléments qui sont essentiels à la vie. Les recherches sur le rôle des métaux dans la structure cellulaire, la fonction et le métabolisme ont montré un potentiel pour l'utilisation thérapeutique des métaux pour traiter les troubles ou promouvoir une activité saine. Le métabolisme normal semble maintenir des concentrations d'ions métalliques "libres" à des niveaux très bas [28]. Dans ce qui suit quelques exemples de ces métaux :

Le Zinc

Le Zinc est un oligoélément essentiel impliqué dans de nombreuses fonctions cellulaires d'ordre catalytique, structural et régulateur. Il intervient dans l'activité de près de trois cents enzymes et dans les différents étapes de la synthèse protéique, notamment l'activation des enzymes impliquées dans la synthèse des acides nucléiques, la réparation de l'ADN.

Le Zinc est également impliqué dans la stabilisation de la structure tertiaire de certaines hormones peptidiques (insuline, thymuline) et dans la stabilité des membranes cellulaires [29].

Le Fer

Le Fer joue un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions biologiques : respiration (constituant de l'hémoglobine qui est impliquée dans les échanges gazeux avec le milieu extérieur), fonction musculaire (constituant de la myoglobine, forme de réserve de l'Oxygène du muscle) et intervient dans l'activité d'enzymes impliquées dans de nombreux métabolismes : activité mitochondriale (transport des électrons), défense anti-radicalaire (cofacteur de la catalase et de peroxydases), synthèse d'ADN [29].

Le Palladium

De nombreuses utilisations du palladium tirent parti de sa capacité à filtrer ou à absorber l'hydrogène ; Par exemple, les matériaux d'empreinte dentaire utilisaient du palladium

particulaire pour absorber l'hydrogène gazeux libéré lors de la prise d'empreinte qui gâcherait les modèles utilisés dans la fabrication de prothèses dentaires [30].

Outre la propriété antibactérienne, les nanoparticules de Palladium ont également une toxicité pour la lignée cellulaire cancéreuse ; ceci explique leur utilisation pour la thérapie antitumorale. Les nanoparticules de Palladium ont actuellement suscité un intérêt considérable dans la thérapie photothermique (PTT) en raison de leur stabilité thermique élevée et de leurs propriétés optiques [31].

Le Cuivre

Le cuivre est présent dans tous les organismes vivants, il est un élément essentiel de la chimie de l'oxydo-réduction. Il est important pour la fonction de plusieurs enzymes et protéines impliquées dans le métabolisme, la respiration et la synthèse de l'ADN [28].

I.3. Quelques exemples de complexes bases de Schiff à base de triméthoprime

H. Garba et coll [32] ont synthétisé une série de complexes métalliques de Mn(II), Fe(III), Co(II) et Ni(II) avec un ligand base de Schiff dérivé du triméthoprime et du cyclohexanone. Les complexes ont été caractérisés à l'aide de diverses méthodes physico-chimiques.

Tous complexes ont montré des résultats satisfaisants vis-à-vis leurs activités antimicrobiennes.

V. Uma et coll [33] ont synthétisé plusieurs bases de Schiff par condensation du triméthoprime avec du p-chlorobenzaldéhyde et de la vanilline, ainsi que leurs complexes de Mn(II), Co(II), Ni(II) et Zn(II).

Les résultats ont montré que tous les complexes possèdent une géométrie carrée plane.

Les composés synthétisés ont été testés pour leurs activités antibactériennes et les résultats ont montré que la complexation favorise l'activité antibactérienne des ligands.

I.4. Les bactéries

Les bactéries sont des êtres unicellulaires n'appartenant ni au règne animal ni au règne végétal, mais autonomes, de formes très variées, pouvant vivre en saprophytes (sol, eau, organismes vivants) ou en parasites (homme, animaux et plantes). Leur pouvoir peut être soit commensal, soit pathogène.

Les bactéries pathogènes provoquent chez l'homme des infections dont les symptômes sont caractérisés par des éruptions cutanées, toux, écoulement nasal, fatigue, nausée, douleurs musculaires, fièvre, ...etc.; alors que les bactéries commensales participent aux maintiens de la santé en stimulant le système de la défense et en permettant de reconstruire l'immunité.

Elles peuvent devenir pathogènes chez les sujets aux défenses immunitaires altérées. Elles occupent des places au niveau de la muqueuse accessible : nez, bouche, pharynx, intestin, ...etc [28]. Au cours de la dernière décennie, La progression importante des infections bactériennes et la recrudescence des résistances aux antibiotiques utilisés actuellement incite le monde de la recherche à la découverte de nouvelles molécules actives.

I.5. Les champignons

Les champignons sont des organismes vivants présents dans le sol, l'air, l'eau ou encore dans des organismes vivants. Ils regroupent un nombre considérable d'espèces, estimé entre 100000 et 250000, largement répandues dans la nature, dont environs 300 sont impliqués dans la pathologie humaine et vétérinaire et sont donc capables de provoquer des infections communément appelées mycoses.

Au cours de ces vingt dernières années [28], il a été observé une très nette augmentation du nombre d'infections dues aux champignons pathogènes.

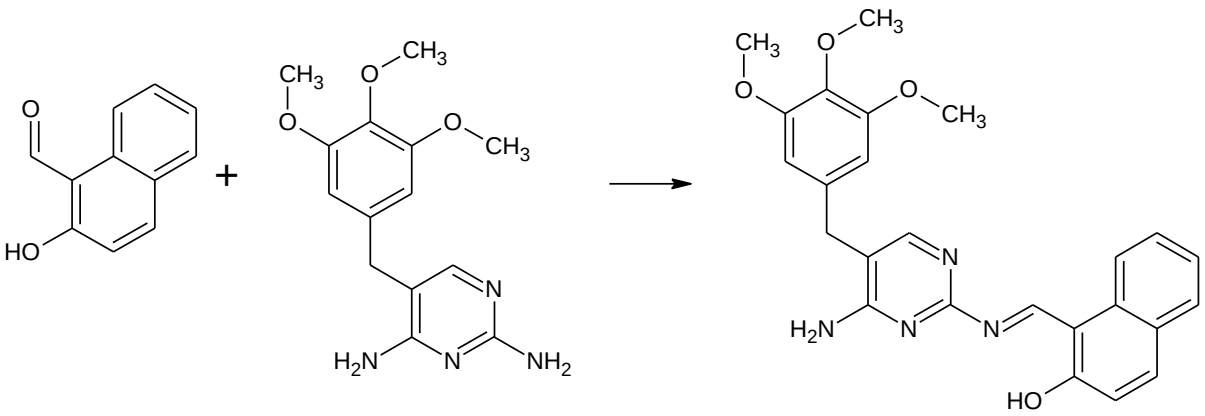
CHAPITRE II

Méthodes et protocoles expérimentaux

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

II.1. Synthèse du ligand

A 2mmol de 2-hydroxynaphtaldéhyde **1** dissoute dans 10 mL de méthanol, est ajoutée 1mmol de triméthoprime **2** et quelques gouttes d'HCl concentré**.** Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante et l'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince. Un précipité jaune fluorescent est récupéré par filtration et lavé avec l'éther, ensuite séché et recristallisé dans le méthanol (Figure II.1).



1 **2** **3**

Figure II.1: Réaction de synthèse du ligand.

II.2. Synthèse du complexe de Palladium

A 0,25 mmol d'une solution éthanolique de $PdCl_2$ (m = 0,04g) est ajoutée 0,5 mmol de la solution éthanolique du ligand (m=0,222g). On maintient le mélange ainsi obtenu sous agitation magnétique dans un bain marie à 50°C pendant 30mn.

Le mélange est ensuite maintenu sous reflux pendant 6 heures à 60 °C, au cours de cette période le complexe a précipité sous forme de poudre. Après refroidissement, le précipité a été récupéré par filtration et lavé avec un mélange équimolaire eau/éthanol, il a été ensuite

séché sous vide. Le composé isolé à l'état de poudre est stable à l'air et à température ambiante. Il est très peu soluble dans l'eau, moyennement soluble dans l'éthanol et le méthanol, et soluble dans le DMSO.

II.3. Méthodes de caractérisation

II.3.1. Spectrométrie Infrarouge (IR)

La spectrométrie infrarouge est une technique d'analyse basée sur la vibration des liaisons d'une molécule. Un spectre infrarouge est obtenu en faisant passer un rayonnement à travers un échantillon pour en déterminer la fraction absorbée. Pour qu'une molécule absorbe dans l'infrarouge elle doit avoir une caractéristique spécifique : son moment dipolaire électrique doit varier pendant la vibration. Une vibration peut être une élongation lorsque les atomes se déplacent sur le plan et le long de l'axe de la liaison, ce qui implique un changement de la longueur de la liaison, ou une déformation lorsque les atomes se déplacent hors du plan, ce qui implique un changement sur l'angle de la liaison. Lors d'une élongation, les atomes peuvent se déplacer en concordance de phase (élongation symétrique notée) ou en discordance de phase (élongation asymétrique) [34].

La spectroscopie IR joue un rôle important dans la détermination des structures des ligands et complexes en identifiant les fonctions formelles par l'étude des modes de vibration de celles-ci. La disparition et le déplacement des bandes des différents groupements du ligand dans le spectre IR du complexe et l'apparition de nouvelles bandes nous conduisent à la détermination de la structure du complexe.

Les spectres IR du ligand et du complexe ont été enregistrés à l'aide d'un Micro Spectromètre IR/TF Perkin Elmer type SPECTRUM ONE / AUTO-IMAGE, et ce, dans le domaine 4000-400 cm^{-1}. Le ligand et complexe ont été échantillonnés sous forme de pastilles KBr (≈5%).

II.3.2. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

L'RMN est la méthode la plus importante pour identifier la structure chimique d'un composé organique ; car les informations obtenues à partir des spectres RMN (d'une dimension et de deux dimensions) sont plus abondantes et interprétables par rapport à celles obtenues par d'autres méthodes spectrométriques [35].

La résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone est très utilisée dans l'étude des structures des molécules organiques. Elle permet la vérification du type et le nombre de protons et de carbone existants dans les groupements qui forment la molécule ainsi elle confirme l'étude par IR. Chaque type d'hydrogène et carbone est caractérisé par un déplacement chimique. L'origine du déplacement chimique est la variation de la densité électronique autour du noyau. Ce nuage électronique diminue l'intensité du champ magnétique ressenti par le noyau, il crée un effet écran et le noyau est dit blindé. Plus le nuage électronique est important, plus le noyau est blindé et inversement [35]. Les déplacements chimiques δ sont exprimés en partie par million (ppm) par rapport au tétraméthylsilane (Me_4Si), qui est utilisé comme référence pour le calcul des déplacements chimiques δ. Les constantes de couplage sont exprimées en Hertz.

Les spectres RMN ^1H et RMN ^{13}C du ligand dans le $CDCl_3$ ainsi que ont été enregistrés sur un spectromètre Varian Mercury FT-400, à 400 et 100 MHz.

II.3.3. Spectrométrie Electronique d'Absorption (de l'ultraviolet et du visible)

L'absorption des radiations lumineuses par la matière dans la plage spectrale s'étendant du proche ultraviolet au très proche infrarouge, soit entre 180 et 1 100 nm, a été abondamment étudiée d'un point de vue fondamental. Cette partie du spectre est désignée par l'«UV/Visible», parce qu'elle englobe les radiations perceptibles par l'œil humain.

D'une manière générale elle apporte certaines informations structurales et possède beaucoup d'applications en analyse quantitative. La spectrométrie électronique permet surtout de confirmer la géométrie des complexes et d'attribuer les bandes aux transitions d-d correspondantes [36].

Les spectres UV-visibles du ligand et son complexe de Pd ont été enregistrés en solution dans le DMSO, dans des cuves en quartz suprasil, à l'aide d'un spectrophotomètre modèle Jasco V-530 connecté à un micro-ordinateur dans la gamme spectrale 200-1100 cm^{-1}.

II.3.4. Mesure de Conductivité

Les mesures de conductivité ont fréquemment été utilisées pour déterminer la nature électrolyte ou non électrolyte des complexes métalliques. C'est une méthode qui permet de déterminer le degré d'ionisation du complexe en solution [37] et donc de confirmer sa structure.

La conductivité d'un composé en solution dépend de la concentration, de la mobilité, de l'état de valence de l'espèce ionisée et de la température à laquelle la mesure est effectuée. Plus la concentration des ions en solution est élevée, plus la conductivité est élevée. Dans le Système International, l'inverse de l'Ohm est le Siemens (S) et dans ce système, la conductivité est exprimée en milli-Siemens par mètre (mS/m).

La mesure de la conductivité d'une solution contenant le complexe $[Pd(L)_2]$ a été effectuée dans le DMSO à une concentration de 10^{-3} M, par un conductimètre InoLab Cond 730 fraichement étalonné, qui a mesuré la conductivité spécifique en « $\mu S.cm^{-1}$ » à une température ambiante de 30,3 C°.

II.3.5. Point de Fusion

La mesure des points de fusion du ligand et de son complexe de Palladium a été effectuée en utilisant un appareil BI Barn Stead Electrothermal.

II.4. Techniques expérimentales pour l'étude de l'activité antimicrobienne

II.4.1. Microorganismes utilisés

L'activité antibactérienne et antifongique du ligand et du complexe a été réalisée par prestation de service dans un Laboratoire de Contrôle de Qualité (Rezgui Lab) sis à Bordj El Bahri. L'activité antimicrobienne a été évaluée sur les souches suivantes obtenues auprès du Laboratoire de Mycologie de l'Institut Pasteur (Algérie).

Bactéries Gram-positif

- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).
- *Pseudomonas aéruginosa* (ATCC 27853).

Bactéries Gram-négatif

- *Escherichia coli* (ATCC 25922).
- *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 974).

Champignon

- *Aspergillus proteus merapis* (ATCC 897).

II.4.2. Identification des souches utilisées

- ***Isolement et repiquage***

Le repiquage a été fait à partir des souches de conservation. Les souches bactériennes ainsi que le champignon sont ensemencées respectivement sur gélose nutritive incubés à 37°C pendant 24 h et sur gélose Sabouraud incubée à 25°C pendant 72 h pour le champignon.

II.4.3. Evaluation qualitative de l'activité antimicrobienne du ligand et de son complexe

- **Principe**

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne a été effectuée par une méthode de diffusion en gélose (méthode de puits) [28]. C'est une méthode fondée par Tagg et Mc Given [38], en 1971 (Figure II.2). Elle est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet antimicrobien. Elle consiste à estimer l'inhibition de la croissance des bactéries et des champignons soumis aux produits à tester.

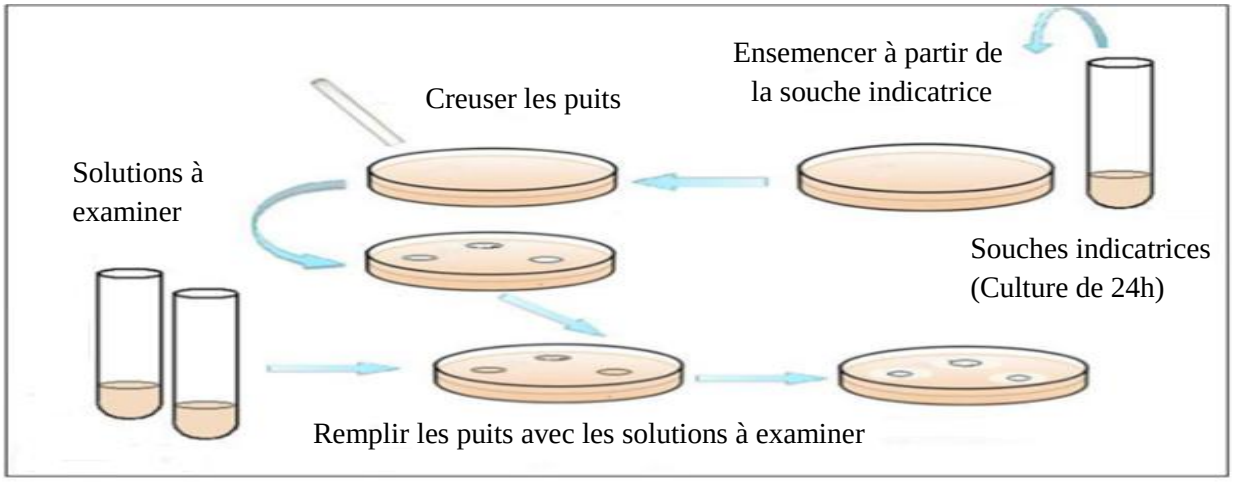


Figure II.2 : Protocole expérimental du suivi de la méthode de puits.

- **Les milieux de culture**

Les milieux proposés pour la culture de différentes souches sont : la Gélose de Mueller-Hinton (MH) et la Gélose de Sabouraud (SAB). Le Mueller Hinton (bouillon de Mueller Hinton) est un milieu polyvalent servant à la culture d'un grand nombre de microorganismes exigeants et non exigeants. Elle doit être coulée en boîte de façon à obtenir une épaisseur de 4 mm. La Gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes.

- **Préparation des suspensions**

Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture jeune de 18 h pour les bactéries et d'une culture jeune de 72 h pour les moisissures, on prépare des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques, qu'on met dans 5 mL d'eau physiologique stérile, puis on agite au vortex. On fait une première lecture de la densité optique (DO) à une longueur d'onde de 620 nm qui doit être entre 0.22 et 0.32 pour *Bacillus subtilis, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa*, de 0.3 à 0.4 pour *Staphylococcus aureus* et entre 2 et 3 pour les levures et les moisissures. Cette valeur correspond à une concentration optimale de 10^8 germes/mL.

- **Détermination de la sensibilité aux antibactériens et antifongiques**

Les composés à tester sont solubilisés dans le DMSO à 5 mg/mL [28], des boites de Pétri contenant du milieu Sabouraud dextrose agar additionné de 2% de glucose (pour les champignons) et Mueller Hinton agar (pour les bactéries) sont ensemencées aseptiquement par une suspension de 10^8 germes/mL qui provient d'une culture jeune de champignons ou de bactéries respectivement. L'ensemencement se fait par écouvillonnage.

Après le séchage des boites, la gélose est perforée au centre à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur d'un diamètre de 4 mm, pour avoir des puits de 6 mm de diamètre et 2,5 mm d'épaisseur. Les cavités ainsi formées sont remplies de la solution à tester (environ 25 µL par puits).

Les boites sont mises à incubées dans une étuve à 25°C pendant 72h pour les champignons, et à 37°C pendant 24h pour les bactéries.

L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits.

La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm [28]. l'Ampicilline a été prise comme référence pour l'activité antimicrobienne, et le Kétoconazole comme référence pour l'activité antifongique. L'activité du complexe de Palladium a été comparée à celle du ligand seul afin de déterminer l'effet de la complexation sur l'éventuelle activité du ligand. De plus, l'activité réelle du complexe a été déterminée en évaluant l'activité du sel métallique seul, et du solvant utilisé. Dans ce but, un contrôle est réalisé en remplissant 25 µL de DMSO dans le puit.

CHAPITRE III

Résultats et discussions

III.1. Caractérisation du ligand

III.1.1. Propriétés physiques et données analytiques

Le ligand obtenu est soluble dans les solvants organiques tels que : l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et le DMSO.

Tableau III.1: Propriétés physiques du ligand.

Ligand	Couleur	Rendement (%)	Point de Fusion (°C)
	Jaune fluorescent	92%	210,1

III.1.2. Spectrométrie infrarouge

Le spectre IR du ligand est donné en figure III.1, et les principales bandes de vibration sont regroupées dans le tableau III.2.

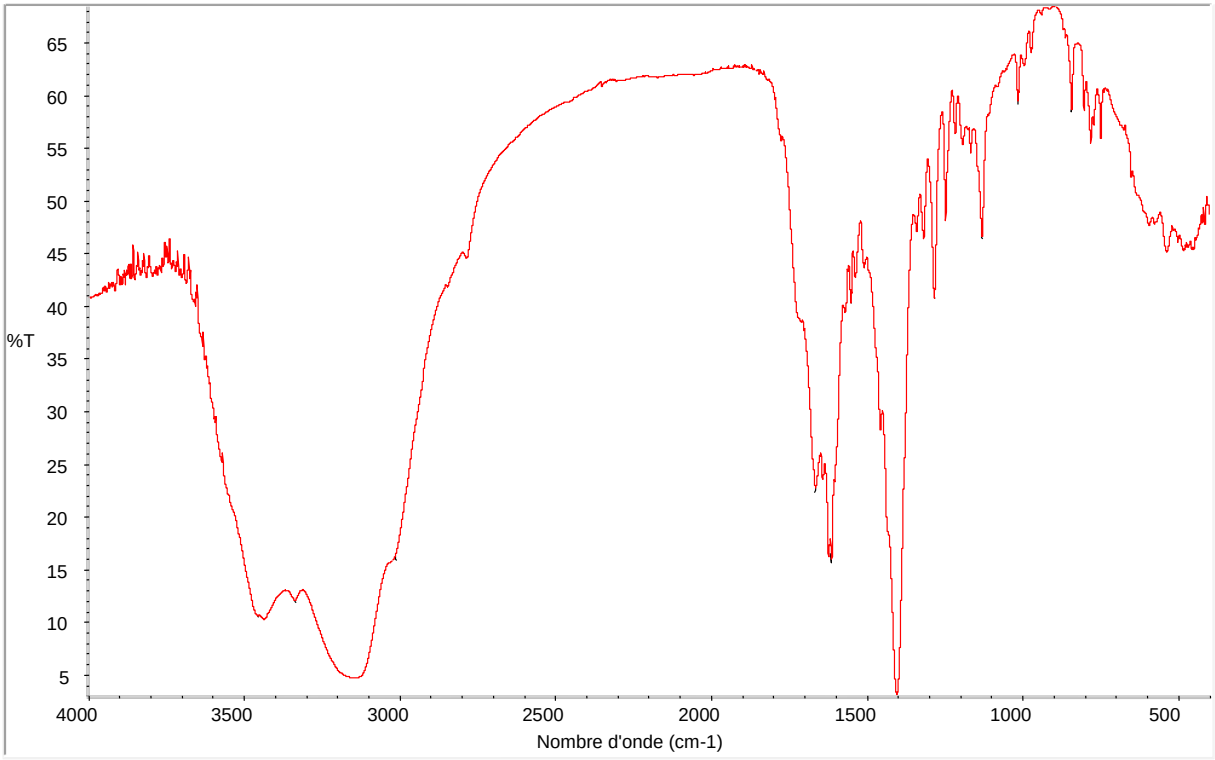


Figure III.1 : Spectre IR du ligand en pastille de KBr.

- Deux bandes de vibration d'élongation de moyenne intensité sont observées à 3334,75 cm-$^{-1}$ et 3452,49 cm^{-1} attribuées à (N-H) **sym** et (N-H) **asym** de fonction amine (NH_2) [39, 40].
- Le spectre IR du ligand présente une large bande aux alentours de 3149,30 cm^{-1} correspondant au groupement hydroxyle (OH) [39, 41].
- Une bande de vibration d'élongation de forte intensité est observée à 1618,64 cm^{-1} est attribuée à (C=N) du groupement imine [42,43].
- Une bande de vibration d'élongation de forte intensité est observée à 1639 cm^{-1} est attribuée à (C=N) du cycle pyrimidine [40, 41].
- Deux absorptions de moyenne intensité à 3010,01 cm^{-1} et 1550,94 cm^{-1} sont attribuées respectivement à (C-H) [44] et (C=C) [44, 45] aromatique. L'adsorption de forte intensité situe à 1403,76 cm^{-1} et 1283,07 cm^{-1} de la vibration d'élongation des liaisons (C-N) [46] et (C-O) phénolique [47, 48].
- L'absorption de forte intensité de la fonction éther (O-CH_3) est présente aux alentours de 1130,01 cm^{-1}[41, 44].
- Une bande de vibration d'élongation de forte intensité à1015, 21cm^{-1} attribué à la liaison (C-C).
- Une bande d'absorption de forte intensité de déformation de liaison (C-H) aromatique à 841,51cm^{-1}.
- Une bande aux alentours de 2800 cm^{-1} correspond aux (C-H) aliphatiques.

Le tableau ci-dessous regroupe les différentes bandes d'absorption du ligand**.**

Tableau III.2: Principales bandes de vibration des groupements du ligand.

Bande	Position (cm^{-1})	intensité
(OH)	3149,70	Forte: large
(N-H) **sym**	3347,75	Moyenne
(N-H) **asym**	3452,49	Moyenne
(C=N) imine	1618,64	Forte
(C=N) pyrimidine	1639	Forte
(C-H) aromatique	3010,01	Moyenne
(C=C) aromatique	1550,94	Moyenne
(C-N)	1403,76	Forte
(C-O)	1283,07	Forte
(O-CH3)	1130,01	Forte
(C-H) aromatique	841,54	Forte
(C-C)	1015,21	Forte

III.1.3. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

L'identification des constituants des molécules du ligand a été effectuée par l'étude des déplacements chimiques δ (en ppm) des differents types de protons et carbones donnés par les spectres RMN ^{1}H et RMN ^{13}C du ligand dans le $CDCl_3$.

- ***Spectrométrie RMN ^{1}H***

Le spectre RMN ^{1}H du ligand est représenté sur la figure III.2.

L'analyse du spectre RMN ^{1}H du ligand dans le $CDCl_3$ Confirme sa structure et appuie la structure proposée par Spectrométrie IR. Elle montre les déplacements chimiques caractéristiques suivants :

- Un singulet à 3,77 ppm indique la présence des protons du groupe méthylène ($-CH_2$) [49].
- Un doublet entre 3,82 et 3,84 ppm correspondant aux protons du groupement ($O-CH_3$) [39].
- Un autre singulet est enregistré à 5,07 ppm, ce dernier correspondant aux protons du groupe amine (NH_2) [39].

- Un multiplet entre 6,42 et 7,98 ppm correspondant aux protons aromatiques (Ar-CH) [39].
- Un singulet à 8,03 ppm correspondant au proton pyrimidine.
- Un doublet entre 9,50 et 9,53 ppm correspond au proton du groupe imine (CH=N) [39].
- Un autre doublet est apparu entre 14,18 et 14,21 ppm correspondant au proton du groupe (>C=C-OH).

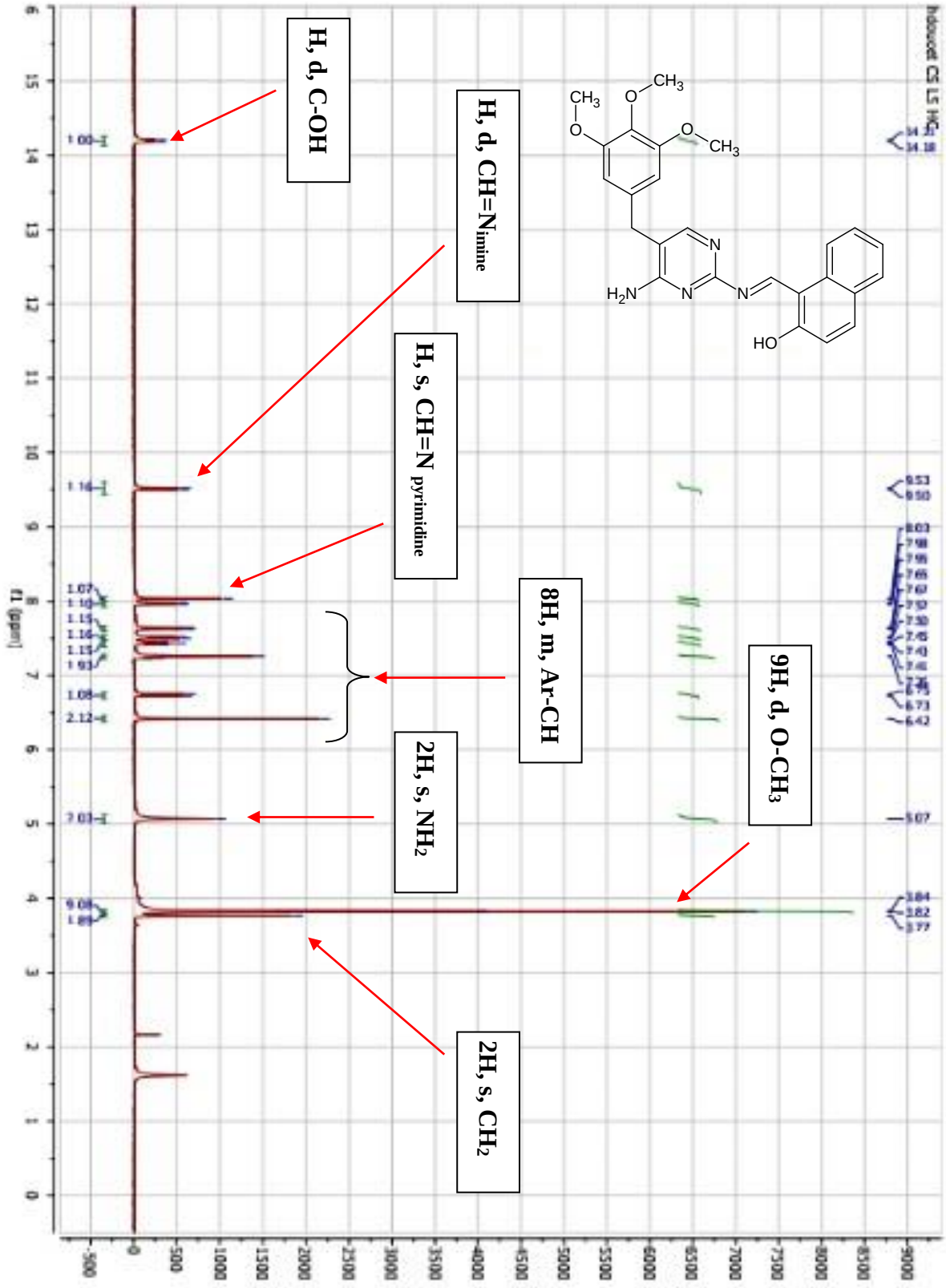


Figure III.2. Spectre RMN ^{1}H du ligand dans le $CDCl_3$.

- ***Spectrométrie RMN ^{13}C***

Le spectre RMN ^{13}C du ligand dans le $CDCl_3$ est représenté sur la figure III.3.

- Un signal du carbone du groupement (C-NH_2) apparait vers 162,65 ppm.
- Un signal entre 156,27 ppm et 156,47 ppm est attribué à l'atome de carbone du groupement azométhine (C=N) [50].
- Les deux déplacements chimiques 145,72 ppm et 153,61 ppm sont attribués aux atomes de carbone (C=C) dans le cycle pyrimidine [39].
- les signaux des carbones des groupements aromatiques apparaissent entre 105 et 140,76 ppm [39].
- Les deux déplacements chimiques à 60,73 ppm et 56,03 ppm correspondant aux carbones du groupe méthoxy (O-CH_3) [41].
- Le déplacement chimique à 34,70 ppm correspond au groupement méthylène (-CH_2) [41].
- Le déplacement chimique à 184,48 ppm correspond au carbone du groupement (C-OH) [51].

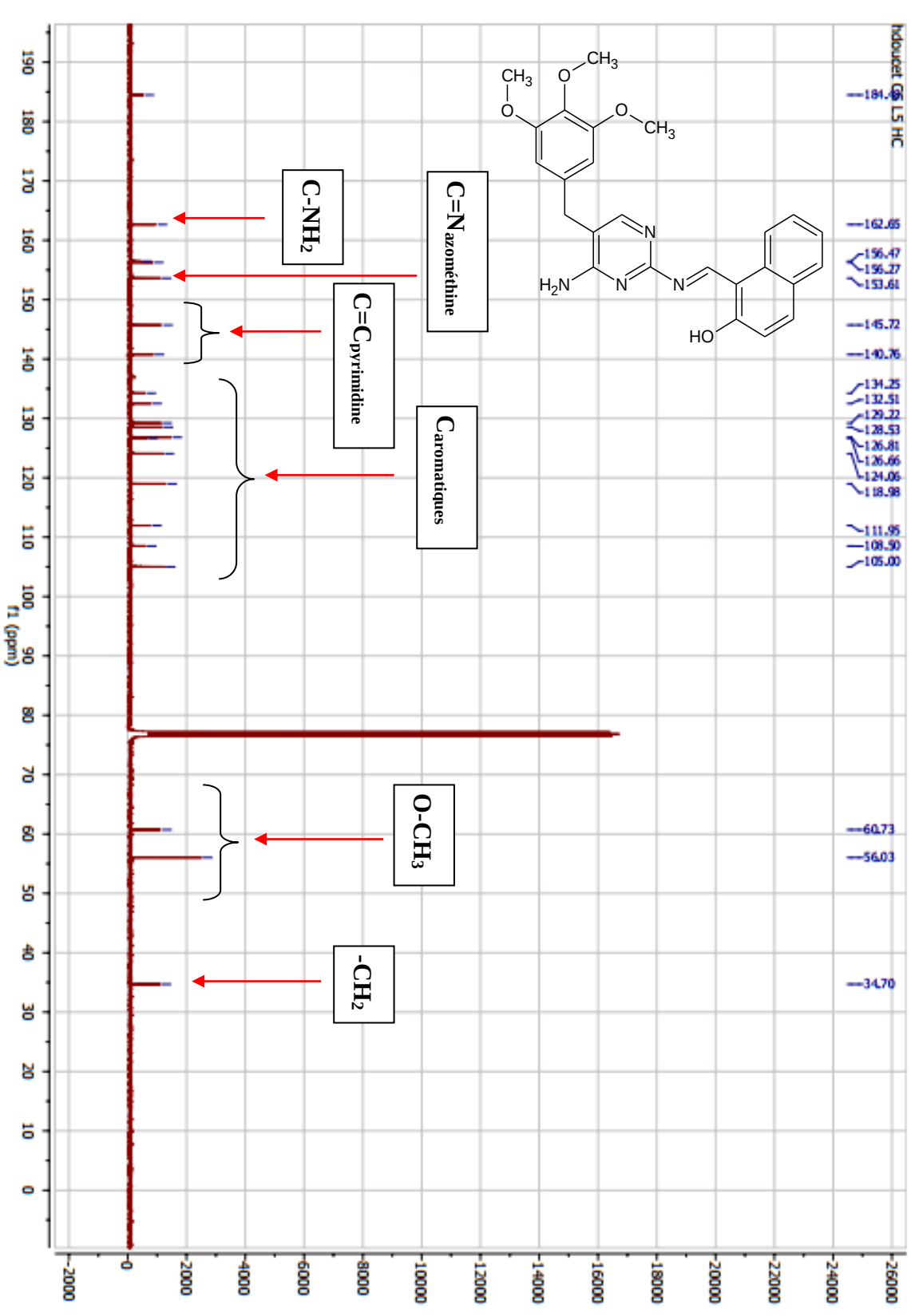


Figure III.3 : Spectre RMN ^{13}C du ligand dans le $CDCl_3$.

III.1.4. Spectrométrie Electronique d'Absorption (de l'ultraviolet et du visible)

Le spectre électronique d'absorption UV-visible du ligand enregistré en solution dans le DMSO (Figure III.4) présente des bandes dans le domaine 21000-38000 cm^{-1}, attribuées aux transitions π→π* et n→π* [28].

Les caractéristiques de ces bandes sont regroupées dans le tableau III.3.

Tableau III.3 : Caractéristiques des bandes d'absorption UV-Visible du ligand.

Ligand	**λ nm(cm^{-1})**	**ε ($mole^{-1}$ .L.cm^{-1})**	**Transitions électroniques**
	263 (38023)	7630	**π → π***
	310 (32258)	5040	**π → π***
	355 (28169)	2480	**π → π***
	411 (24331)	5130	**n → π***
	435 (22988)	8490	**n → π***
	457 (21882)	8250	**n → π***

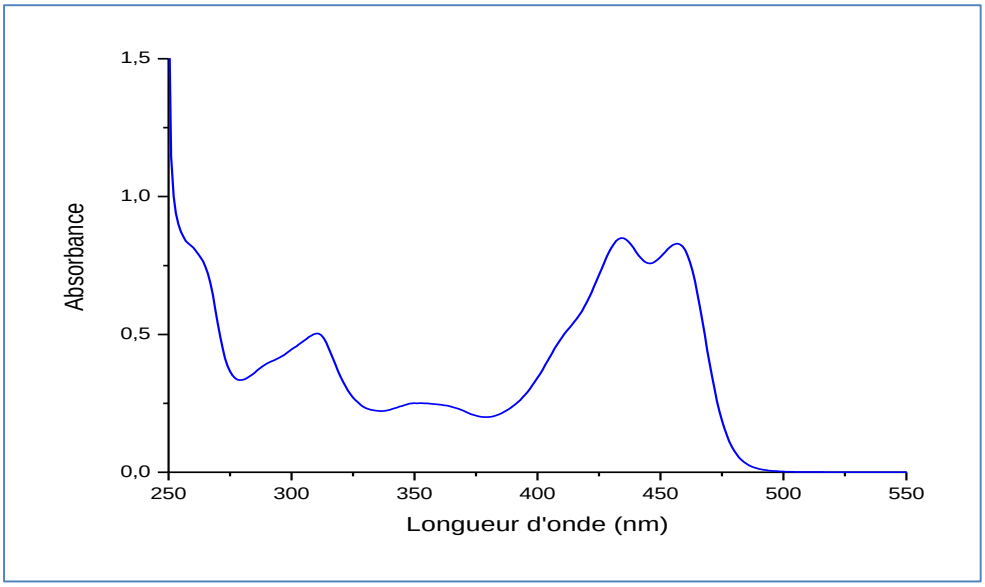


Figure III.4: Spectre UV-visible du ligand, Cuve= 1cm, C= 10^{-4} M.

III.2. Caractérisation du complexe de Palladium

III.2.1. Propriétés physiques du complexe de Palladium

La valeur de la conductivité molaire du complexe formé lui suggère une nature non électrolyte [52]. Les propriétés physiques du complexe sont regroupées dans le tableau III.4.

Tableau III.4 : Propriétés physiques du complexe

Complexe	**Point de fusion (°C)**	**Couleur**	**Rendement (%)**	**Conductivité molaire (DMSO) (Ω^{-1} cm^{2}mol^{-1})**
[Pd(L)$_2$]	230	Marron Verdâtre	42%	6,1

III.2.2. Spectrométrie Infra Rouge

La spectroscopie IR est une méthode très utilisée dans l'identification des complexes ou des groupements les constituant. La comparaison du spectre infrarouge du ligand avec celui de son complexe, nous permet l'identification des sites de coordination. En effet, lors de la complexation, on observe des déplacements de certaines bandes du ligand et l'apparition de nouvelles bandes.

Les principales bandes IR sont regroupées dans le tableau III.5.

- Le spectre infrarouge représenté sur la figure III.5 montre l'absence de la bande de vibration (OH) phénolique, ce qui confirme la formation de la liaison (Pd-O) [53, 54]. La disparation de la bande de vibration de la liaison (O-H) indique la déprotonation du ligand après complexation et la formation d'un complexe neutre [55].
- Le déplacement de la bande de vibration d'élongation de la fonction imine vers 1559,03 cm^{-1} confirme que le ligand est coordonné au palladium par le groupe imine (C=N) [46, 54, 56].
- La vibration de la liaison (C-O) a subi un déplacement vers les faibles fréquences (de 1283,07cm^{-1} à 1241,72cm^{-1}), ce qui est en faveur des interactions métal-ligand à travers l'atome d'oxygène [57].

- Les bandes de vibration d'élongation de moyenne intensité observées à 3452,49 cm^{-1} et 3334,75 cm^{-1}, et attribuées à (N-H) asym et (N-H) sym de la fonction amine (NH_2) dans le spectre du ligand se sont très légèrement déplacées vers 3446,01 cm^{-1}et 3330,60 cm^{-1} dans le spectre du complexe.
- Le spectre IR du complexe a également montré l'apparition de nouvelles bandes de faibles intensités à 421,96 cm^{-1} et 479,28 cm^{-1} correspondent à ν (M-N) et ν (M-O), respectivement, absentes dans le spectre du ligand, indiquant ainsi que la coordinationau métal, s'est faite par les atomes d'azote et d'oxygène du ligand [46, 54].
- Il faut aussi noter que les bandes du groupement pyrimidine n'ont pas subi de changement. Ceci indique que ce groupement ne participe pas à la complexation [39].

Tableau III.5 : Principales bandes IR du ligand et de son complexe de Palladium (cm^{-1}).

Composés	ν(OH)	$\nu(C=N)_a$	$\nu(C=N)_b$	ν(C=C)	ν(C-O)	$\nu(N-H)_{sym}$	$\nu(N-H)_{asym}$	ν(M-N)	ν(M-O)
Ligand	3149,3	1618,64	1639	1550,94	1283,07	3334,75	3452,49	-	-
$Pd(L)_2$	-	1559,03	1633,36	1465,40	1241,72	3330,60	3446,01	421,96	479,28

a: C=N imine; b: C=N pyrimidine

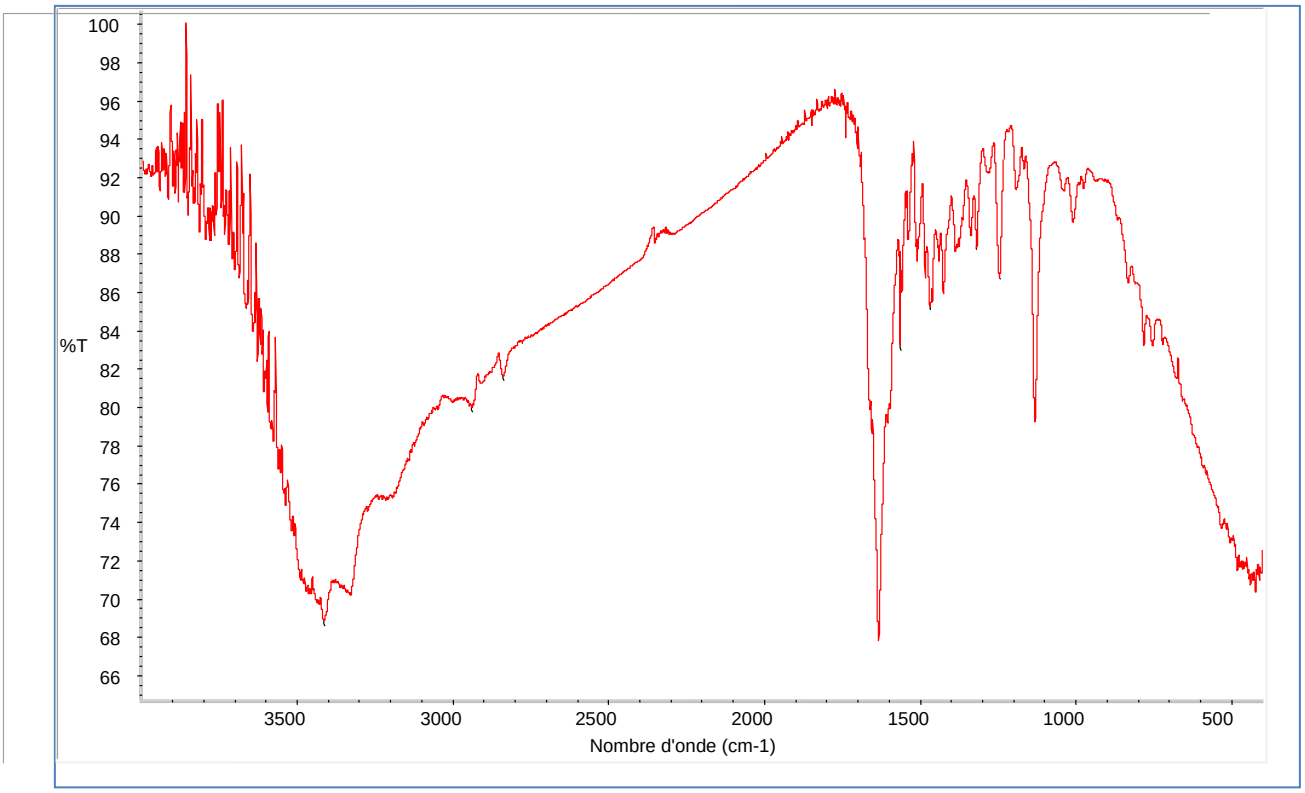


Figure III.5 : Spectre IR du complexe $[Pd(L)_2]$.

III.2.3. Spectrophotométrie UV-visible

On observe sur le spectre du complexe des bandes d'intensités variables dans le domaine de l'ultraviolet (31000-37000 cm^{-1}) dues à des transitions intra ligands $\pi \rightarrow \pi^*$, ces bandes se trouvent déplacées par rapport à celles du ligand (21000-38000 cm^{-1}), ce qui indique que le ligand est présent autour du métal central. Par ailleurs les bandes du ligand attribuées aux transitions $n \rightarrow \pi^*$ situées entre 411-457 nm ne sont pas visible sur le spectre du complexe, elles sont masquées.

Le spectre électronique d'absorption UV-visible du complexe de Palladium enregistrés dans le DMSO (Figure III.6) fait apparaître une bande située à 367nm, qui peut être due à la transition transfert de charge (LMCT) (O/N(p)→M(d)) [58, 59].

La bande de faible absorption autour de 442 nm (22624 cm^{-1}), est attribuée à la transition d-d $^1A_{1g} \rightarrow {}^1B_{1g}$ et $^1A_{1g} \rightarrow {}^1A_{2g}$, caractéristique d'une géométrie carré plan autour de l'ion central [40].

Les données électroniques de ce spectre sont regroupées dans le tableau III.6.

Tableau III.6 : Caractéristiques des bandes d'absorption UV-Visible du complexe de Palladium.

Ligand	**Nombre d'ondes** $\bar{\upsilon}$ **(cm^{-1})**	**Longueur d'onde** λ **(nm)**	**Coefficient d'absorption molaire** (ε **: L. mole^{-1}.cm^{-1})**	**Transitions électroniques**
$[Pd(L)_2]$	37594	266	29000	$\pi \rightarrow \pi^*$
	33445	299	16800	$\pi \rightarrow \pi^*$
	31348	319	10800	$\pi \rightarrow \pi^*$
	27248	367	6400	**Transfert de charge**
	22624	442	3280	**d-d**

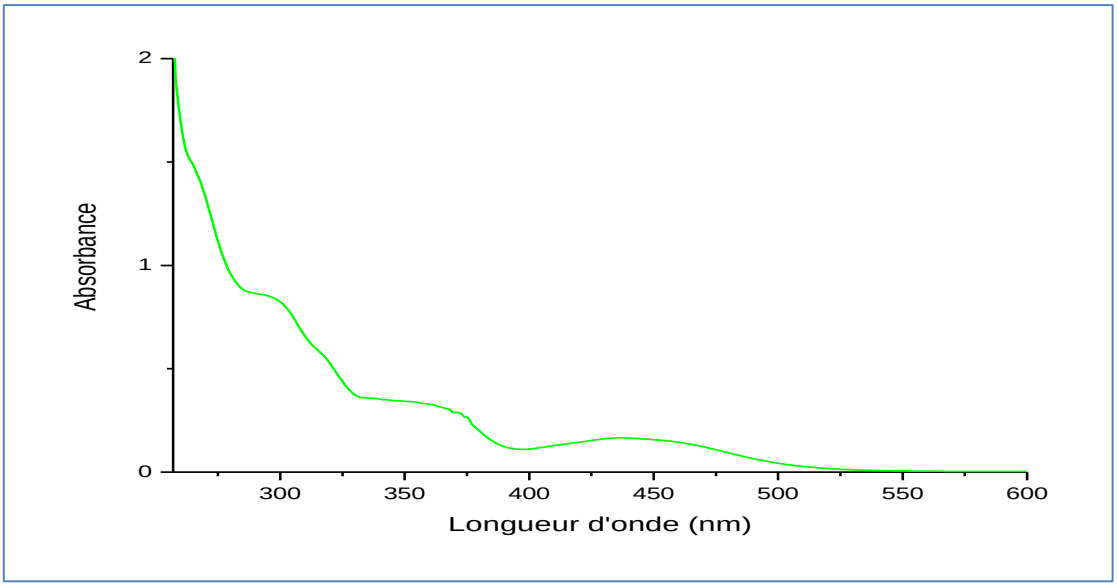


Figure III.6: Spectre électronique du complexe du complexe de Pd(II), C = 10^{-4} M.

III.2.4. Structure proposée pour le complexe de Palladium

Les différentes caractérisations ont permis d'attribuer la formule $[M(L)_2]$ pour le complexe de Palladium. Les résultats obtenus suggèrent le schéma structural représenté par la figure III.7. La spectrométrie infrarouge a montré que le ligand s'est lié de façon bidentate par les atomes d'azote de la fonction imine et l'oxygène de la fonction hydroxyle.

Les résultats de la spectrophotométrie d'absorption électronique ont montré que la coordination du ligand au centre métallique est dans une géométrie carrée plane pour le complexe formé.

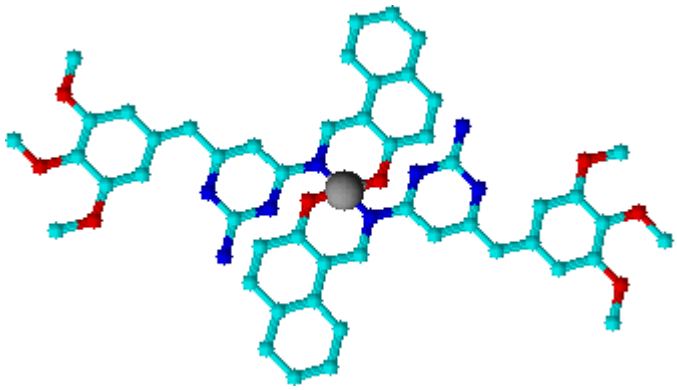


Figure III.7: Structure proposée pour le complexe de Palladium.

III.3. Activité Antimicrobienne

L'activité antibactérienne et antifongique a été évaluée pour le ligand et son complexe ainsi que pour le sel métallique et le solvant seul. Cette activité antimicrobienne a été comparée à celle d'un antibiotique de référence qui est l'Ampicilline et un antifongique azolé : le Kétoconazole.

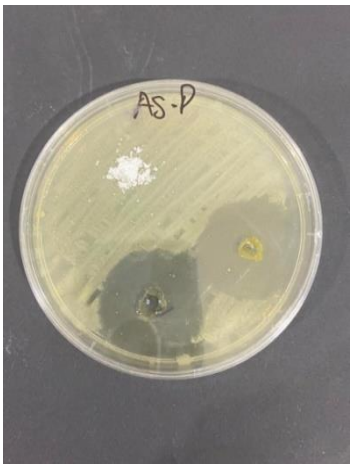
Aucune zone d'inhibition n'a été observée pour le solvant et le sel métallique, ceci indique que ces derniers ne sont pas impliqués dans l'activité du ligand et du complexe.

III.3.1. Etude qualitative

L'activité antimicrobienne est évaluée en fonction du diamètre (mm ou cm) des zones d'inhibition de la croissance microbienne. L'estimation de cette activité est basée sur une échelle de mesure où les composés sont classés selon les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne, en quatre classes :

- Extrêmement sensible : lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est >> 20 mm ;
- Très sensible : lorsque le diamètre de la zone varie entre 15 et 19 mm ;
- Sensible : lorsque le diamètre de la zone varie entre 9 et 14 mm ;
- Non sensible : lorsque le diamètre d'inhibition est inférieur à 8 mm [28].

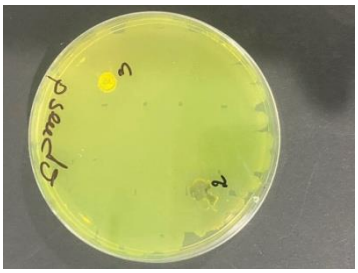
- Les résultats obtenus montrent que le ligand et son complexe de Palladium présentent une activité antibactérienne vis-à-vis trois souches testées, à savoir : *Staphylococcus aureus* (Gram $^{+}$), *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (Gram $^{-}$), et une activité antifongique vis-à-vis *Aspergillus proteus merapis.* Tous ces micro-organismes sont extrêmement sensibles à ces composés avec des diamètres des zones d'inhibition qui varient entre 30 et 35 mm pour le ligand libre et entre 32 et 39 mm pour son complexe de Palladium.
- Le ligand et son complexe présentent une activité inhibitrice très importante sur *Aspergillus* dont le diamètre de la zone d'inhibition est égal à 35 mm pour le ligand et de 39 mm pour le complexe, cela par rapport au Kétoconazole qui n'a montré aucune activité inhibitrice vis-à-vis l'espèce fongique utilisée (Figure III.8).



1 : Ligand ; 2 : Complexe de palladium.

Figure II.8 : Sensibilité in vitro de la souche *Aspergillus* au ligand et son complexe.

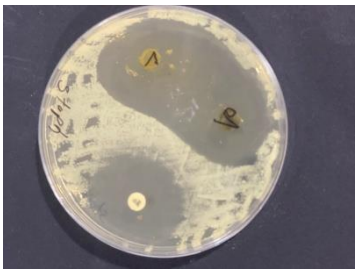
- Aucune zone d'inhibition n'est observée sur *Pseudomonas aeruginosa* (Gram $^{+}$), ni pour le ligand seul, ni pour son complexe. Cela veut dire que *Pseudomonas aeruginosa* n'est pas sensible à leur action par rapport aux autres souches étudiées. Cette résistance de *Pseudomonas aeruginosa* est due à la nature de sa membrane externe qui lui confère la résistance à la plupart des agents biocides [56] (Figure III.9).



2 : Complexe de Palladium ; 3 : Ligand.

Figure III.9 : Sensibilité in vitro de la souche *Pseudomonas aeruginosa* au ligand et son complexe.

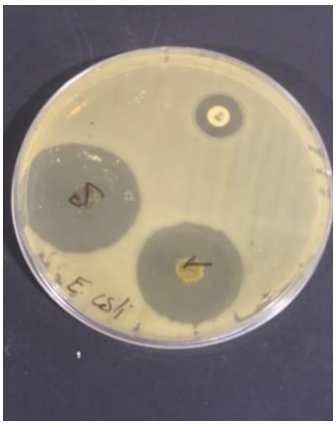
- Le ligand et son complexe ont montré une activité antibactérienne significative contre *Staphylococcus aureus*, avec des zones d'inhibition importantes (35 mm de diamètre pour les deux composés) (Figure III.10).

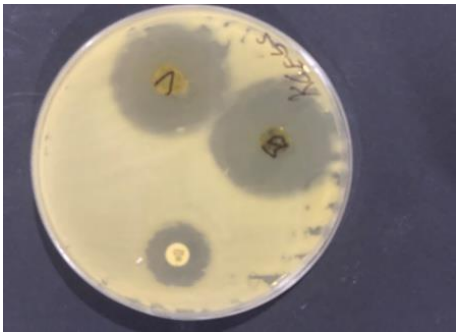


1 : Ligand ; 2 : Complexe de Palladium.

Figure III.10 : Sensibilité in vitro de la souche *Staphylococcus aureus* au ligand et son complexe.

- Pour les souches à Gram-négatif, *Escherichia coli* et *Klebsiella Pneumoniae*, une activité élevée a été observée pour le ligand et son complexe de Palladium avec des diamètres d'inhibition qui varient entre 30 mm (pour le ligand) et 32 mm (pour le complexe) qui est supérieur au diamètre observé avec l'antibiotique de référence (Figures III.11 et III.12). Ce résultat est intéressant du fait que ces deux souches sont particulièrement résistantes à l'antibiotique utilisé comme référence dans cette étude. Ceci est dû à la morphologie des bactéries Gram-négatif qui possèdent une double paroi, cette spécificité ne permet pas la pénétration facile à la cellule bactérienne.





1: Ligand ; 2 : Complexe de Palladium.

Figure III.11: Sensibilité in vitro de la souche *Escherichia coli* au ligand et son complexe.

Figure III.12: Sensibilité in vitro de la souche *Klebsiella Pneumoniae* au ligand et son complexe.

- Le ligand et son complexe sont plus actifs contre la bactérie Gram-positif que contre les bactéries Gram-négatif, cela peut être attribué à leurs parois cellulaires différentes. La paroi cellulaire des bactéries Gram-positif est entièrement composée de polyglycogène peptidique. La couche de peptidoglycane est composée d'un réseau de pores qui permettent aux molécules étrangères de pénétrer dans la cellule sans difficulté et de favoriser l'absorption des cellules. La paroi cellulaire des bactéries Gram-négatif est composée d'une fine membrane de peptide polyglycogène et d'une membrane externe constituée de lipopolysaccharide, de lipoprotéine et de phospholipides. En raison de la structure cellulaire complexe de la bicouche, la membrane externe est une barrière potentielle contre les molécules étrangères ayant un poids moléculaire élevé [28].

- Une augmentation de la zone d'inhibition est observée pour le complexe par rapport au ligand libre. Cela indique que la complexation augmente l'activité inhibitrice du ligand vis-à-vis des micro-organismes. Donc on peut dire que la complexation favorise l'activité antimicrobienne des ligands. En effet, l'activité des complexes est toujours supérieure à celle des ligands correspondants. Cela peut s'expliquer par la théorie de chélation : la chélation réduit la polarité de l'ion métallique à cause de la neutralisation de sa charge positive par les atomes donneurs du ligand et elle augmente son caractère lipophile, ce qui lui facilite la pénétration à travers la membrane lipidique de la cellule.

La figure III.13, résume les résultats de l'activité antimicrobienne du ligand ainsi que de son complexe de Palladium.

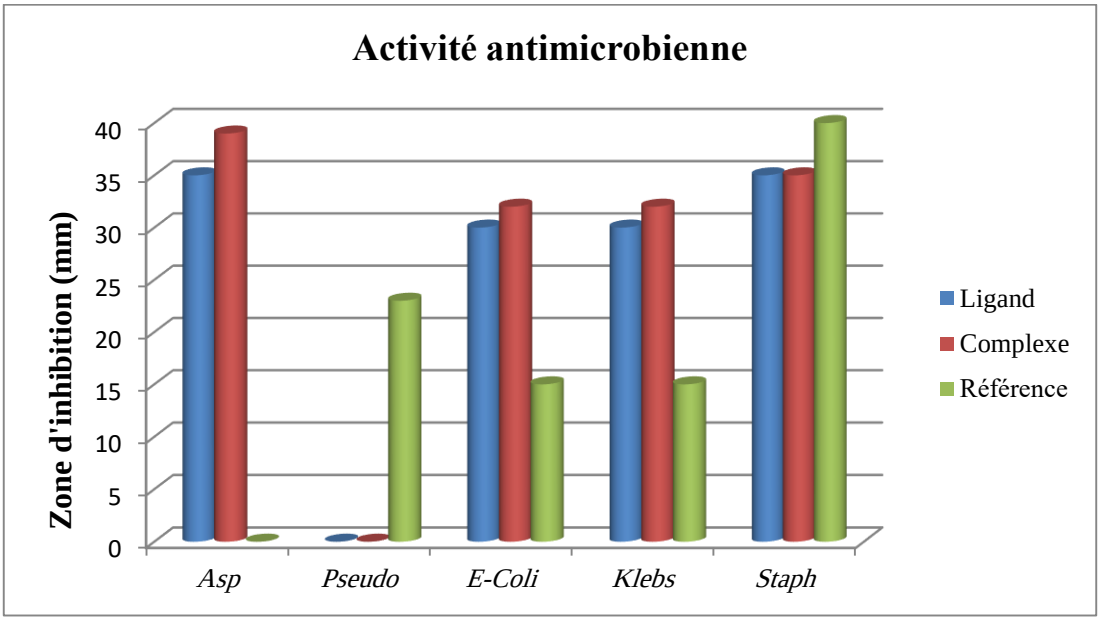


Figure III.13 : Histogramme de l'activité antimicrobienne du ligand et de son complexe.

Conclusion générale

Au cours de ce travail, nous avons synthétisé et caractérisé un ligand base de Schiff dérivé du Triméthoprime.

La synthèse du ligand a été faite par une réaction de condensation à partir du Triméthoprime et d'un aldéhyde. La caractérisation du ligand par les différentes méthodes de caractérisation a confirmé la présence de la fonction imine : c'est le groupement caractéristique des bases de Schiff.

L'étude de la complexation de ce ligand avec le Palladium a été effectuée à l'état solide, son activité biologique a été évaluée *in vitro*.

Le complexe a été isolé à l'état solide par une réaction de précipitation, ensuite caractérisé par conductimétrie, spectrométrie IR et spectrophotométrie UV-Visible.

La conductimétrie a permis de proposer une formule brute pour ce composé et a montré qu'il est non électrolyte.

L'analyse par IR a permis de déduire le mode de coordination du ligand à l'ion métallique à qui s'est liés sous forme déprotonnée d'une manière bidentate à travers l'atome d'azote de la fonction imine et l'oxygène de la fonction hydroxyle.

La géométrie autour de l'ion central a été déterminée par spectrophotométrie UV-Visible et a permis de conclure une structure carré plane pour le complexe formé. Un schéma structural a été proposé.

La dernière partie de ce travail a été consacrée à l'étude de l'activité biologique du ligand et de son complexe.

L'activité antimicrobienne du ligand et son complexe de Palladium a été évaluée in vitro sur quatre souches bactériennes : deux Gram-négatif, deux Gram-positif et un champignon de genre *Aspergillus*.

Cette activité a montré que le ligand et son complexe inhibent de façon remarquable la croissance de certaines bactéries et une activité inhibitrice très importante sur le champignon *Aspergillus*.

Références bibliographiques

[1] F. Sebti, Thèse de Doctorat, **2018**, Université Ferhat Abbas Sétif-1, Algérie.

[2] M. Y. Belghit, Thèse de Doctorat, **2017**, Université Mohamed Kheider - Biskra, Algérie.

[3] R. Vadivel, R. Jayakumar, Organic and medicinal chemistry, **2018**, 5(3), 1-6.

[4] M. El-ajaily, A. Maihub, U. Mahanta, K. Badhei, Rasayan journal of chemistry, **2018**, 11(1), 166-174.

[5] C. Leelavathy, S. Arulantony, Spectrochimica acta part A: Molecular and biomolecular spectroscopy, **2013**, 113, 346

[6] K.T. Tadele, Journal of pharmaceutical and medicinal research, **2017**, 3 (1), 73-77.

[7] M. Pervaiz, M. Yousaf, I. Ahmad, A. Munawar, Spectrochimica acta part A: Molecular and biomolecular spectroscopy, **2018**.

[8] K.S. Munawar, S.M. Haroon, S.A. Hussain, H. Raza, Basic and applied sciences, **2018**, 14, 217-229.

[9] S. Shaygan, Applied sciences, **2018**, 8, 85, 1-12. 108.

[10] S.K; Tadavi, A.A. Yadav, R.S. Bendre, Journal of molecular structure, **2018**, 1152, 223-231.

[11] W. Al-Zoubi, International journal of organic chemistry, **2013**, 3, 73-95.

[12] I.P. Ejidike, P.A. Ajibade, Molecules, **2015**, 20, 9788-9802.

[13] M.N. Uddin, S.S. Ahmed, S.M.R. Alam, Journal of Coordination Chemistry, **2020**, 73(23):3109-3149.

[14] K. Mokhnache, A. Karbab, N. Charef, J. Mar. Chim. Heterocycl, **2020**, 19, 16-22.

[15] F. Fenanir, Mémoire de Magister, **2009**, Université Ferhat Abbas de Sétif, Algérie.

[16] N. Ghichi, Thèse de Doctorat, **2018**, Université Frères Mentouri/Constantine, Algérie.

[17] L.Salmon et all, Chem. Com, **2003**, 762.

[18] T.Le Borgne et all, Chem Eur J, **2002**, 8, 773.

[19] S.Salehzadeh, S.M.Nouri, H. Keypour, M. Bagherzadeh, Polyhedron, **2005**, 24, 1478

[20] C.M. da Silva, D.L. da Silva, L.V. Modolo, R.B. Alves, M.A. de Resende, C.V.B. Martins, A. de Fatima, Journal of Advanced Research, **2011**, 2, 1–8).

[21] Y. Hadj et H. Reffas, Thèse de Doctorat, **2016**, Université d'Oran Mohamed Boudiaf, Algérie.

[22] A. Lehleh, Mémoire de Magistère, **2010**, Université Mentouri de Constantine, Algérie.

[23] W. Derafa, Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas-Sétif, Algérie.

[24] S. Muche, K. Harms, A. Biernasiuk, A. Malm, Polyhedron, **2018**, 151, 465-477.

[25] S.J. Shailaja, A.P. Sangamesh, S.T.Shivakumar, Coordination chemistry, **2018**, 71(2), 271-283.

[26] Z. Zong, X.Wei, X. Yan, Y. Fan, Molecular structure, **2018**, 1171, 333-339.

[27] M. Diallo, Thèse de Doctorat, **2020,** Université de lorraine.

[28] S. Chikhi, Thèse de Doctorat, **2018**, USTHB, Alger.

[29] https://ciqual.anses.fr, Saisine n° 2012-SA-0103, Rapports d'expertise collective, Décembre **2016**, Édition scientifique.

[30] V.N. Uversky et al, Encyclopedia of Metalloproteins, DOI 10.1007/978-1-4614-1533-6, # Springer Science+Business Media New York **2013**.

[31] T.T.V. Phan, T.C. Huynh, P. Manivasagan, S. Mondal, J. Oh, Nanomaterials, **2020**, 10, 66.

[32] H. Garba, J. B. Yakasai, I.Waziri, I.O. Bisiriyu, Acta Scientific Pharmaceutical Sciences, **2020**, 4.5 : 36-45

[33] S. Joshi, V. Pawar, V.Uma, Der Pharma Chemica, **2010**, 2 (5) : 329-336.

[34] B. Stuart, Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, Volume 14, 5th Edition, John Wiley & Sons, **2001**.

[35] O. Zerbe, S. Jurt, Applied NMR Spectroscopy for Chemists and Life Scientists, WILEY-VCH, Germany, **2014**.

[36] F. Rouessac, A. Rouessac, D Cruché, Analyse Chimique Méthodes et techniques instrumentales modernes, 6e édition, Dunod, Paris, **2004**.

[37] M. S. R, Rafat, J. Mol. Struct, **2007**, Vol, 842 , 24–37.

[38] J.R. Tagg and A.R. McGiven, Appl Environ Microbiol, **1971**, Vol 21, page 943.

[39] A. T. Numan *et al* J. Phys. : Conf. Ser. **1003** 012016,**2018**.

[40] A.Peter, Ajibade et G.Omoruyi. Idemudia, Bioinorganic Chemistry and Applications, Volume **2013**.

[41] H. Mejbel Azeez, N. Mahmood Aljamali, International Journal of Biochemistry and Biomolecules, **2021**.

[42] M. GulcaniL, M. Sonmez, I. Berber, Turk J Chem, **2012**, 189 – 200.

[43] S.Sakara, k.Dey, Spectrochimie acta part A62, 383-393.

[44] Atheer A. Ali, Basim I. Al-Abdali, Iraqi Journal of Science, **2015**, Vol 56, No.2B, pp: 1274-1288.

[45] M. Salehi, F. Ghasemi, M. Kubicki, A. Asadi, M.B.M. Ghasemi, A. Gholizadeh, Inorganica Chimica Acta **2016.**

[46] H. Garba1, J. Bashir Yakasai, I. Waziri ET I. O Bisiriyu, Acta Scientific Pharmaceutical Sciences, 5 May **2020,** Volume 4, 2581-5423.

[47] M. Shebl, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 117, **2014**, 127–137.

[48] Yu-Ye Yu, Hui-Duo Xian, Jain-Feng Liu et Guo-Liang Zhao, Molécules, **2009**, Vol, 14, 1747-1754.

[49] RSC Adv., **2020,** 10, 18259.

[50] S.Yıldırım Uçan, B.Mercimek, Synthesis and Reactivity inInorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry, **2005, vol,** 35, 197–201.

[51] S.Messali Ep Maiza .Thèse Doctorat .Université Farhar Abbas Setif-1, Algérie.

[52] J. Geary, Coord. Chem. Rev, **1971**, Vol, 7, 81-122.

[53] A. Henni, Mémoire de Magister, **2013,** Université AbouBekre Belkaid Tlemcane.Algerie.

[54] E.Yousif, et al, Arabian Journal of Chemistry, **2013.**

[55] V. Gomathi, R. Selvameena, R. Subbalakshmi, G. Valarmathy, Oriental Journal of Chemistry, **2013,** Vol, 29 (2), 533-538.

[56] M. Mesbah, Thèse de Doctorat, Univérsite de Ferhat Abbase-Stif, Algerie.

[57] Sh. Rajab Bakir, J. of AL-Nahrain University, **2012**, Vol, 15, 30-42.

[58] H. Amiri Rudbari, M. Reza Iravani, V. Moazam, B. Askari, M. Khorshidifard, N. Habibi, G. Bruno, Journal of Molecular Structure, **2016**.

[59] N. Turan, K. Buldurun, N. Çolak, I. Ozdemir, Open Chem, **2019**, 17 :571-580.

Résumé :

On s'est proposé d'étudier dans ce présent travail la complexation d'un nouveau ligand base de Schiff dérivé du triméthoprime et de son complexe de Palladium ainsi que leurs activités biologiques. Dans ce contexte, une caractérisation du ligand a été réalisée dans une première partie par spectrométrie IR, RMN-^{1}H, RMN-^{13}C et UV- Visible. La deuxième partie du travail a été consacrée à la synthèse du complexe de Pd à l'état solide. Il a été caractérisé par conductimétrie, spectrométrie IR et UV- Visible. La spectrométrie IR a permis de déduire que le ligand se lie d'une manière bidentate à travers les atomes N et O. La spectrophotométrie UV-Visible nous a permis de conclure une structure carrée plane pour le complexe formé.

La dernière partie du travail concerne l'évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne du ligand et de son complexe de Palladium. Celles-ci ont été réalisées sur des bactéries du genre *Escherichia, Starphylococcus, Pseudomonas* et sur un champignon filamenteux *du genre Aspergillus.* Cette activité a montré que le ligand et son complexe inhibent de façon remarquable la croissance de certaines bactéries et une activité inhibitrice très importante sur le champignon *Aspergillus*.

Abstract:

In this present work, it was proposed to study the complexation of a new Schiff base ligand derived from trimethoprim and its Palladium complex as well as their biological activities.

In this context, a characterization of the ligand was carried out in a first part by IR, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR and UV-Visible spectrometry. The second part of the work was devoted to the synthesis of the Pd complex in the solid state. It was characterized by conductimetry, IR and UV-Visible spectrometry. IR spectrometry allowed us to deduce that the ligand binds in a bidentate manner through the N and O atoms. UV-Visible spectrophotometry allowed us to conclude a planar square structure for the complex formed.

The last part of the work concerns the in vitro evaluation of the antimicrobial activity of the ligand and its Palladium complex. These were carried out on bacteria of the genus Escherichia, Starphylococcus, Pseudomonas and on a filamentous fungus of the genus Aspergillus. This activity has shown that the ligand and its complex remarkably inhibit the growth of certain bacteria and a very significant inhibitory activity on the Aspergillus fungus.

ملخص:

في هذا العمل الحالي ، تم اقتراح دراسة مركب ربيطة قاعدة شيف جديد مشتق من تريميثوبريم ومركب البلاديوم الخاص به بالإضافة إلى أنشطتهم البيولوجية.

في هذا السياق، تم إجراء توصيف للروابط في الجزء الأول بواسطة IR، ^{1}H-NMR، ^{13}C-NMR و UV-Visible. تم تخصيص الجزء الثاني من العمل لتركيب مركب Pd في الحالة الصلبة. وقد تميزت بقياس الناقلية والطيف بالأشعة تحت الحمراء والأشعة فوق البنفسجية المرئية. سمح لنا مطياف الأشعة تحت الحمراء باستنتاج أن الرابطة ترتبط بطريقة ثنائية الاتجاه عبر ذرات N و O. سمح لنا القياس الطيفي المرئي بالأشعة فوق البنفسجية بإبرام بنية مربعة مستوية للمركب المتكون.

يتعلق الجزء الأخير من العمل بالتقييم المختبري للنشاط المضاد للميكروبات للربيطة ومركب البلاديوم الخاص به. أجريت هذه التجارب على بكتيريا من جنس Escherichia و Starphylococcus و Pseudomonas وعلى فطر خيطي من جنس الرشاشيات. أظهر هذا النشاط أن الربيطة ومركبها يثبطان بشكل ملحوظ نمو بعض البكتيريا ويؤثران بشكل كبير على نشاط التثبيط على فطر الرشاشيات.