

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة سعد دحلب البلدية 1

Université SAAD DAHLAB-Blida 1

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie

Thème :

**Étude de quelques activités biologiques et pharmacologiques
du complexe de Cu(II) de type base de Schiff**

Présenté par :

Soutenu le : 07/07/2025

Melle Radja Nesrine

Melle El Hadj Tahar Amira Naçera

Devant les membres de jury composé de :

Dr AMOKRANE A.	MCB	USDB1	Présidente
Dr TALEB M.	MCA	USDB1	Examinatrice
Mme EL MAHDI I.	MAA	USDB1	Promotrice
Dr BOULESNAM L. S.	Docteur	USDB1	Co-Promotrice
Pr BELAL R.	Professeur	USDB1	Invité
Pr SAIDI F.	Professeur	USDB1	Invité

Année universitaire : 2024/2025

Résumé

Ces dernières années, les métallomédicaments sont apparus comme des composés captivants et prometteurs dans les domaines du traitement du cancer et des agents antimicrobiens. Parmi ceux-ci, on retrouve les complexes de cuivre (II) porteurs de base de Schiff.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'évaluation de l'activité biologique et pharmacologique d'un ligand bis (4-pyridinecarboxaldehyde) éthylènediimine et de son complexe de cuivre (II). Plusieurs tests ont été réalisés afin de comparer l'efficacité du ligand seul et de son complexe métallique de Cu^{2+} .

L'évaluation de **l'activité antimicrobienne**, effectuée selon la méthode de diffusion en puits, a révélé une absence d'effet sur *Enterococcus faecalis* pour les deux composés, quelle que soit la concentration testée. Et, un effet antimicrobien notable a été observé à partir de 5 mg/ml contre plusieurs bactéries, notamment *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus Niger*, avec une efficacité supérieure par rapport au complexe. La détermination de la **concentration minimale inhibitrice (CMI)** a confirmé une meilleure performance antimicrobienne du complexe Cu (II) par rapport au ligand. **L'activité antibiofilm** a prouvé que le complexe est plus efficace que le ligand pour détruire le biofilm des bactéries. Par ailleurs, **l'activité anti-inflammatoire** a montré un pourcentage d'inhibition de 47,37 % pour le ligand et de 77,03 % pour le complexe. Ils ont donné des résultats supérieurs à ceux obtenus par l'indométacine, utilisé comme référence. Enfin, **l'activité antioxydante** a été évaluée par la méthode de DPPH. Le complexe présente une valeur d' IC_{50} de 335,78 $\mu\text{g/ml}$, tandis que celle du ligand s'élève à 608,9754 $\mu\text{g/ml}$. En revanche, la vitamine C se révèle plus efficace, avec une valeur d' IC_{50} de 35 $\mu\text{g/ml}$.

Ces résultats suggèrent que la complexation avec Cu (II) améliore significativement les propriétés biologiques du ligand, en particulier ses effets antimicrobiens, antibiofilm, anti-inflammatoires et antioxydants.

Mots clés : Complexe de cuivre (II), ligand base de Schiff, Activité antimicrobienne, Biofilm, Activité anti-inflammatoire, Activité antioxydante

Abstract

In recent years, metallomedicines have emerged as exciting and promising compounds in the fields of cancer treatment and antimicrobial agents. Among these are Schiff basis carrier copper (II) complexes.

This work is part of the evaluation of the biological and pharmacological activity of a **bis(4-pyridinecarboxaldehyde) ethylenediimine** ligand and its copper (II) complex. Several tests were carried out to compare the effectiveness of the ligand alone and its Cu²⁺ metal complex.

The evaluation of **antimicrobial activity**, carried out according to the well diffusion method, revealed no effect on *Enterococcus faecalis* for both compounds, regardless of the concentration tested. And, a notable antimicrobial effect was observed from 5 mg/ml against several bacteria, including *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Aspergillus Niger*, with superior efficacy compared to the complex. Determination of the **minimum inhibitory concentration (mic)** confirmed better antimicrobial performance of the Cu (II) complex compared to the ligand. **The antibiofilm activity** proved that the complex is more effective than the ligand in destroying the biofilm of bacteria. In addition, **the anti-inflammatory activity** showed a percentage inhibition of 47.37% for the ligand and 77.03% for the complex. They gave results superior to those obtained by indomethacin, used as a reference. Finally, **the antioxidant activity** was evaluated by the DPPH method. The complex has an IC₅₀ value of 335.78 µg/ml, while the ligand has an IC₅₀ value of 608.9754 µg/ml. On the other hand, vitamin C is more effective, with an IC₅₀ value of 35 µg/ml.

These results suggest that complexation with Cu (II) significantly improves the biological properties of the ligand, in particular its antimicrobial, antibiofilm, anti-inflammatory and antioxidant effects.

Keywords: Copper (II) complex, Schiff base ligand, Antimicrobial activity, Biofilm, Anti-inflammatory activity, Antioxidant activity

الملخص

في السنوات الأخيرة، ظهرت الأدوية المعدنية كمركبات مثيرة وواعدة في مجالات علاج السرطان والعوامل المضادة للميكروبات. من بين هذه المجمعات النحاسية الحاملة الأساسية (II) لشيف. هذا العمل هو جزء من تقييم النشاط البيولوجي والدوائي لـ bis(4-pyridinecarboxaldehyde) ethylenediimine ligand ومركب النحاس (II) الخاص به. تم إجراء العديد من الاختبارات لمقارنة فعالية الربيطة وحدها ومركبها المعدني. لم يكشف تقييم النشاط المضاد للميكروبات، الذي تم إجراؤه وفقاً لطريقة نشر البئر، عن أي تأثير على براز المكورات المعوية لكلا المركبين، بغض النظر عن التركيز الذي تم اختياره. ولوحظ تأثير ملحوظ مضاد للميكروبات بتركيز 5 ملغ/مل ضد العديد من البكتيريا، بما في ذلك الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية والرشاشية النيجرية، مع فعالية فائقة مقارنة بالربيطة.

أكد تحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC) أداءً أفضل لمضادات الميكروبات لمركب النحاس (II) مقارنة بالربيطة. أثبت نشاط الغشاء المضاد أن المركب أكثر فعالية من الربيطة في تدمير الغشاء الحيوي للبكتيريا. بالإضافة إلى ذلك، أظهر النشاط المضاد للالتهابات تنبيهاً بنسبة 47.37% للرابطة و 77.03% للمركب. أعطت هذه النتائج أداءً متفوقاً مقارنة بالإنديميثاسين المستخدم كمرجع. أخيراً، تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة بطريقة DPPH، حيث بلغت قيمة IC_{50} للمركب 335.78 ميكروغرام/مل، بينما بلغت قيمة IC_{50} للربيطة 608.98 ميكروغرام/مل. من ناحية أخرى، كان فيتامين C أكثر فعالية، بقيمة IC_{50} تبلغ 35 ميكروغرام/مل.

تشير هذه النتائج إلى أن التعقيد مع النحاس (II) يحسن بشكل كبير الخصائص البيولوجية للربيطة، ولا سيما آثارها المضادة للميكروبات، وتدمير الأغشية الحيوية، ومضادات الالتهاب، ومضادات الأكسدة.

الكلمات المفتاحية:

مركب النحاس (II) ، ربيطة قاعدة شيف، نشاط مضاد للميكروبات، بيوفيلم، نشاط مضاد للالتهابات، نشاط مضاد للأكسدة.

Remerciements



Avant tout, nous remercions ALLAH tout-puissant qui nous a donné la force, la santé, la volonté et le courage afin d'accomplir ce présent travail, ainsi que nos parents qui nous ont toujours soutenu et encouragé durant toutes nos études.

*Nous tenons à présenter nos sincères remerciements à notre honorable encadrante de mémoire, **Mme EL MAHDI IBTISSEM** que sa profonde gratitude pour avoir orienté, dirigé ce travail et également pour tous ses conseils dans l'élaboration et la conception de ce mémoire. Nos remerciements vont aussi à notre co-encadrante **Dr BOULESNAM LYDIA SALIHA** pour son aide, son orientation, ses conseils et son ouverture d'esprit.*

*Nous adressons également nos chaleureux remerciements aux membres du jury, **Dr AMOKRANE ASSIA** et **Dr TALEB MERIEM** d'avoir accepté de juger notre travail.*

*Nous tenons à remercier notre professeur **SAIDI FAIROUZ** pour son accueil au niveau du laboratoire Biotechnologie, environnement et santé (LBES) et toute l'équipe du laboratoire PFE de microbiologie à l'université Saad Dahlab-Blida 1. Les ingénieurs du laboratoire, surtout **MME DJAMILA** pour son effort tout au long de la préparation de notre mémoire.*

Dédicace



*Avec l'aide de Dieu, le Tout-Puissant a achevé le présent travail que
je dédie*

*À mon très **cher père**, qui je porte fièrement son nom, que Dieu te
protège. À la lumière de ma vie, le symbole de tendresse et de sacrifice qui
m'a supporté et m'a aidée dans les pires moments, merci infiniment,
maman. À mes chères sœurs « **RIMA et WASSILA** », en témoignage de
l'attachement et de l'amour que je porte pour vous, je vous dédie ce
travail. À mon cher frère « **MOHAMED** » et ma belle-sœur « **MANEL** ».*

*À ma très chère tante « **RABIA** » une longue vie INCHALLAH.*

*À mes très chères nièces, mes princesses d'amour, **MERIEM, ASSIL
et NADA** »*

*À mes très chers neveux, mes princes d'amour « **SAMI, WASSIM et
ADEM** »*

*Que Dieu vous protège plein de succès à votre futur avenir
INCHALLAH*

*À mon beau binôme « **AMIRA** » j'ai partagé avec elle les joies et les
difficultés au suivi de notre travail.*

*À mes belles copines « **IKRAM, HIBA, LYNA, INES, AMIRA ET
CHOUROUK** » pour sa motivation et son soutien précieux. Vous avez
toujours été à mon côté, je resterai toujours reconnaissante pour votre
soutien et votre amitié sincère. À mes amis, pour leur amitié, leur patience
et leurs encouragements À tous ceux qui ont cru en moi et m'ont aidé
Merci pour votre confiance, votre patience et votre générosité.*



Nesrine

Dédicace



Je dédie ce travail de fin d'études à

Mes parents,

*Pour leur amour, leur soutien, leur encouragement et tous les sacrifices
qu'ils ont faits pour moi.*

*Leurs affections, leur confiance et leur présence constante ont été une
source inestimable de force tout au long de mon parcours.*

*Mon très cher frère : **Naim***

*Ma très chère sœur : **Malak***

*Merci d'avoir toujours cru en moi, votre amour et votre présence m'ont
donné la force d'avancer.*

*Ma chère grand-mère : **Hosni***

*La mémoire de mes chers grands-parents : **Tahar, Hamid, Houria***

Mes tantes et mes oncles

*Ma belle-sœur : **Maroua***

*Mon binôme **NESRINE** pour sa collaboration, son entente et sa sympathie*

*Mes amis : **Imene, Ibtissem, Chaima, Sara, Ikram, Housseem, Yasser,
Sidahmed, Marwan***



Amira Naçera

Liste des abréviations

A-niger	<i>Aspergillus niger</i>
ATCC	American Type Culture Collection
BHIB	Bouillon BHI
CMI	Concentration minimale inhibitrice
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆).
E-faecalis	<i>Enterococcus faecalis</i>
E-coli	<i>Escherichia coli</i> .
IC₅₀	Concentration inhibitrice médiane.
K-pneumoniae	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
MH	Mueller Hinton
PBS	Tampon phosphate salin
P-aeruginosa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
S-aureus	<i>Staphylococcus aureus</i> .

Liste des figures

Figure 1 : Structure générale d'une base de Schiff.....	4
Figure 2 : Réaction de formation d'une base de Schiff.....	5
Figure 3 : Exemple de base de Schiff monodentate, bidentate, tridentée, polydentées.	6
Figure 4 : Interaction des antioxydants avec les radicaux libres par SET et HAT.....	8
Figure 5 : Structure du ligand bis (4-pyridinecarboxaldehyde) éthylènediimine.....	10
Figure 6 : Protocole d'évaluation de l'activité antimicrobienne	12
Figure 7 : Préparation de biofilm.....	13
Figure 8 : Préparation des suspensions bactériennes et fongiques	14
Figure 9 : Culture du biofilm sur microplaque.....	15
Figure 10 : Coloration du biofilm.....	16
Figure 11 : Préparation des lames	17
Figure 12 : Absence des zones d'inhibition chez les souches bactériennes	22
Figure 13 : Zones d'inhibition chez <i>A-niger</i> , <i>S-aureus</i> et <i>P-aeruginosa</i>	23
Figure 14 : Absence des zones d'inhibition chez <i>Enterococcus faecalis</i>	24
Figure 15 : Zones d'inhibition chez la bactérie <i>Escherichia coli</i>	24
Figure 16 : Concentrations minimales inhibitrices du ligand.	26
Figure 17 : Concentrations minimales inhibitrices du complexe	27
Figure 18 : Concentrations minimales inhibitrices du complexe	28
Figure 19 : Concentrations minimales inhibitrices du ligand.....	28
Figure 20 : <i>Staphylococcus aureus</i> avant et après l'ajout de la molécule.....	29
Figure 21 : Milieu polybactéries avant et après l'ajout de la molécule	30
Figure 22 : Observation des halos au niveau des puits.....	30
Figure 23 : Effet du ligand sur la formation du biofilm.	31
Figure 24 : Visualisation de l'effet du ligand et son complexe sur l' <i>Aspergillus niger</i> sous microscope optique à G*40	32
Figure 25 : Visualisation de l'effet du ligand et son complexe sur <i>S. aureus</i> sous microscope optique à G*40	33
Figure 26 : Visualisation de l'effet du ligand et son complexe sur le milieu polybactéries sous microscope optique à G*40	34
Figure 27 : : Visualisation de l'effet du ligand et son complexe sur <i>P- aeruginosa</i> sous microscope optique à G*40.....	35

Figure 28 : Effet du ligand et du complexe sur l'inhibition de la dénaturation des protéines	36
Figure 29: Pourcentage d'inhibition du complexe en fonction de concentration	37
Figure 30: Pourcentage d'inhibition du ligand en fonction de concentration	38
Figure 31: Pourcentage d'inhibition d'acide ascorbique (Vit C) en fonction de concentration	38
Figure 32 : Sérum biologique séparé.....	48
Figure 33 : Préparation du gélose Muller Hinton.....	49
Figure 34 : Coloration de gram	50
Figure 35 : Diagramme de la phase préparatoire de l'activité anti-inflammatoire.....	50
Figure 36 : Lecteur de plaque	53
Figure 37 : Solutions d'Indométacine	53
Figure 38 : Microplaque du biofilm	53

Liste des Tableaux

Tableau I : Classification de la formation de biofilm	16
Tableau II : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induite par le ligand et son complexe.	21
Tableau III : Concentrations minimales inhibitrices du ligand et son complexe.	26
Tableau IV : Différentes matériel et produits chimiques utilisés	47
Tableau V : Souches microbiennes utilisées dans les activités biologiques.	48
Tableau VI : Densité optique du ligand et son complexe.	51
Tableau VII : Densités optiques d'Indométacine.	51
Tableau VIII : Densités optiques du biofilm.	51
Tableau IX : Résultats des absorbances et pourcentages d'inhibitions du ligand aux différentes concentrations.....	52
Tableau X : Résultats des absorbances et pourcentages d'inhibitions du complexe aux différentes concentrations.	52
Tableau XI : Résultats des absorbances et pourcentages d'inhibitions de l'acide ascorbique (Vit C) aux différentes concentrations.....	52

Table des matières

Liste des figures

Liste des Tableaux

Introduction Générale	1
I. Rappels bibliographiques	3
I.1. Généralités.....	3
I.1.1. Complexes organométalliques	3
I.1.2. Ligands.....	3
I.1.3. Cuivre.....	3
I.2. Bases de Schiff	4
I.2.1. Historique.....	4
I.2.2. Définition des bases de Schiff.....	4
I.2.3. Mécanisme réactionnel de synthèse des bases de Schiff	5
I.2.4. Classification des ligands bases de Schiff.....	5
I.3. Applications biologiques des bases de Schiff	6
I.3.1. Activité antimicrobienne.....	7
I.3.1.1. Activité antibactérienne	7
I.3.1.2. Activité antifongique	7
I.3.1.3. Activité antivirale	8
I.3.1.4. Activité antioxydante.....	8
I.3.1.5. Activité antitumorale	9
I.3.1.6. Activité anti inflammatoire	9
II. Matériel et Méthodes	10
II.1. Matériel utilisé.....	10
II.2. Méthodes utilisées	10
II.2.1. Synthèse et caractérisation.....	10
II.2.1.1. Synthèse du ligand et du complexe Cu (II) de type base de Schiff.....	10

II.2.2. Activités biologiques	11
II.2.2.1. Evaluation de l'activités antimicrobiennes.....	11
II.2.2.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	18
II.2.2.3. Évaluation de l'activité antioxydante	19
III. Résultats et discussion	21
III.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne	21
III.1.1. Activité antibactérienne et antifongique	21
III.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrices CMI.....	26
III.1.3. Evaluation de l'activité antibiofilm.....	29
III.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire	36
III.3. Évaluation de l'activité antioxydante	37
Conclusion générale	40
Références Bibliographiques	41
Annexes	47



Introduction générale



Introduction générale

Des millions de personnes dans le monde ont des problèmes de santé, comme le cancer, le diabète, des infections et le stress oxydatif. **(Yusuf et al., 2023)**. Le progrès des nouvelles techniques de synthèse et la recherche de nouvelles molécules ayant une activité thérapeutique potentielle constituent une préoccupation constante et majeure pour les chercheurs. **(Wang et al., 2025)**

De nombreux groupes de chercheurs s'intéressent particulièrement à la synthèse et à l'évaluation biologique des bases de Schiff et leurs complexes métalliques considérés comme des molécules prometteuses pour développer de nouveaux médicaments. En raison de leur grande capacité à former des complexes stables avec les métaux de transition. Ils ont démontré une vaste gamme d'activités biologiques, notamment des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, anti-inflammatoires, antituberculeux, analgésiques et antioxydantes. **(Turan et Buldurun., 2018)**

Les bases de Schiff sont largement exploitées en raison de leurs propriétés intéressantes : elles agissent notamment comme agents antituberculeux et jouent un rôle important dans la liaison et le clivage de l'ADN grâce à la présence d'un groupe azométhine chélateur. **(Emam et al., 2019)**

Le complexe de cuivre (II) est considéré comme candidat promoteur dans le métabolisme bactérien, il peut affecter l'activité enzymatiques des bactéries comme l'uréase qui joue un rôle crucial à la croissance bactérienne et entre dans la synthèse de la paroi cellulaire ce qui peut améliorer la bioactivité de cette molécule. **(Hoque et al., 2025)**

L'objectif de cette étude est d'évaluer les propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires du complexe de cuivre (II) de type base de Schiff dérivant de la 4-pyridinecarboxaldehyde et de l'éthylènediamine. L'effet du complexe sera mis en comparaison avec celui de son ligand libre, ainsi qu'avec divers antibiotiques, anti-inflammatoires et antioxydants de référence, dans le but d'évaluer son potentiel en tant qu'agent thérapeutique.

Notre travail est présenté comme la suite :

- ✚ Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique concernant les bases de Schiff ainsi que leurs applications dans divers domaines, en particulier dans le domaine biologique.

Introduction générale

- ✚ Dans le second chapitre, nous présentons le matériel et les techniques employés pour évaluer certaines activités biologiques telles que l'activité antibactérienne, antifongique, antibiofilm, l'activité antiinflammatoire et l'activité antioxydante du ligand bis (4-pyridinecarboxaldehyde) éthylènediimine et de son complexe de cuivre (II).
- ✚ Le troisième chapitre se concentre sur les résultats ainsi que sur leur interprétation, dans le but d'approfondir la compréhension de l'effet de cette molécule.



Chapitre I

Rappels

bibliographiques



I. Rappels bibliographiques

I.1. Généralités

I.1.1. Complexes organométalliques

Un complexe de coordination ou organométallique peut être défini comme une entité composée d'un ou plusieurs atomes métalliques constituant un cœur entouré d'un certain nombre de molécules ou d'ions appelés ligands. Cette entité peut être électriquement neutre ou chargée positivement ou négativement ; donc un ion métallique accepte une ou plusieurs paires d'électrons par les sites donneurs libres pour former une liaison de coordination. (Lukehart.,1985)

I.1.2. Ligands

Un ligand dit aussi coordiat est toute molécule, atome ou ion qui entourent l'atome central, c'est un composé nucléophile chargé soit négativement soit il est neutre avec un doublet d'électron libre, il se lie facilement aux ions métalliques qui ont une faible densité électronique comme les ions des métaux de transition. Certains ligands peuvent former plusieurs liaisons avec le cation central. On dit qu'ils sont multidentates, l'inverse de monodentate. Les ligands peuvent être des ions constitués d'un seul atome comme les ions halogénures (Cl^- , Br^- et I^-), des molécules neutres comme l'eau (H_2O) ou bien des molécules organiques comme l'éthylenediamine ou inorganiques comme l'acétate (CH_3COO^-) et l'ion phosphate (PO_4^{3-}). (Sidney et Kettle.,1999).

I.1.3. 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 de couleur rougeâtre.

Le cuivre est un métal de transition considéré comme un oligo-élément essentiel à la vie pour tous les organismes vivants avec une capacité unique d'adopter deux états d'oxydoréduction différents dans l'oxydé (Cu^{2+}) et réduit (Cu^+). Il joue un rôle crucial pour la survie et en tant que cofacteur catalytique important dans l'oxydoréduction chimie pour les protéines qui effectuent des fonctions biologiques, importantes à la croissance et le développement. (Hordyjewska et al., 2014)

I.2. Bases de Schiff

I.2.1. Historique

Les ligands de base de Schiff et leurs complexes de métaux de transition représentent une grande classe de chélates dans la chimie de la coordination moderne (Leelavathy *et Arul Antony*., 2013). Près d'un siècle et demi plus tard, ces liaisons restent locales, participant dans divers domaines de recherche et d'exploitation. (Bargotya *et Mathur*.,2017) (Pervaiz *et al.*, 2019) au fond, des efforts importants et des diverses méthodes organiques ont été présentés pour développer et améliorer des méthodes de synthèse pour ces composés. (Khurram Shahzad Munawar *et al.*, 2018)

I.2.2. Définition des bases de Schiff

Selon Hugo 1864 ; une base de Schiff est le résultat de la condensation d'une amine primaire avec une cétone ou un aldéhyde, qui contient une liaison C=N liée à un groupe aryle ou alkyle. De manière générale, les Schiff présentent la formule $R_1R_2C=NR_3$, où R représente une chaîne organique.

On définit parfois ces composés comme des aldiminés secondaires (azométhines ou écarbonen), et leur formule générale est donc de $RCH=NR'$.

Des bases de Schiff (une imine) sont formées lorsqu'une chaîne carbonée est sur l'atome d'azote. Les aniles, où R_3 représente généralement un phényle ou un phényle substitué, sont des dérivés de l'aniline appelés bases de Schiff. (Mokhnache *et al.*, 2020)

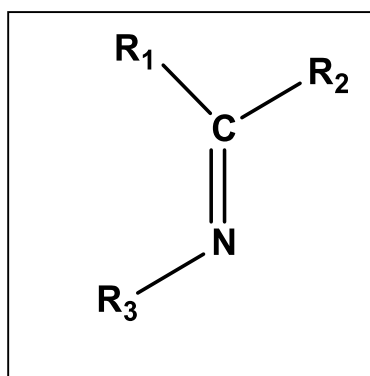


Figure 1 : Structure générale d'une base de Schiff.

Les bases de Schiff symétriques sont obtenues à partir de la réaction entre des composés carbonylés (comme des aldéhydes ou des cétones) et des diamines, dans un rapport molaire de 1 : 2. Cette réaction se fait généralement en présence d'un alcool.

Spécifiquement, les amines et diamines primaires se condensent avec un composé carbonyle actif dans un solvant méthanol pour générer des composés à base de Schiff avec des groupes imines ($-RC=N-$). (Devidas *et al.*, 2011).

I.2.3. Mécanisme réactionnel de synthèse des bases de Schiff

Les études indiquent que le mécanisme de synthèse des bases de Schiff est souvent caractérisé par la présence des molécules d'eau qui pourraient conduire à une réaction réversible (hydrolyse). Cette réaction est réalisée habituellement dans un milieu alcoolique ou parfois à reflux. (Mokhnache *et al.*, 2020).

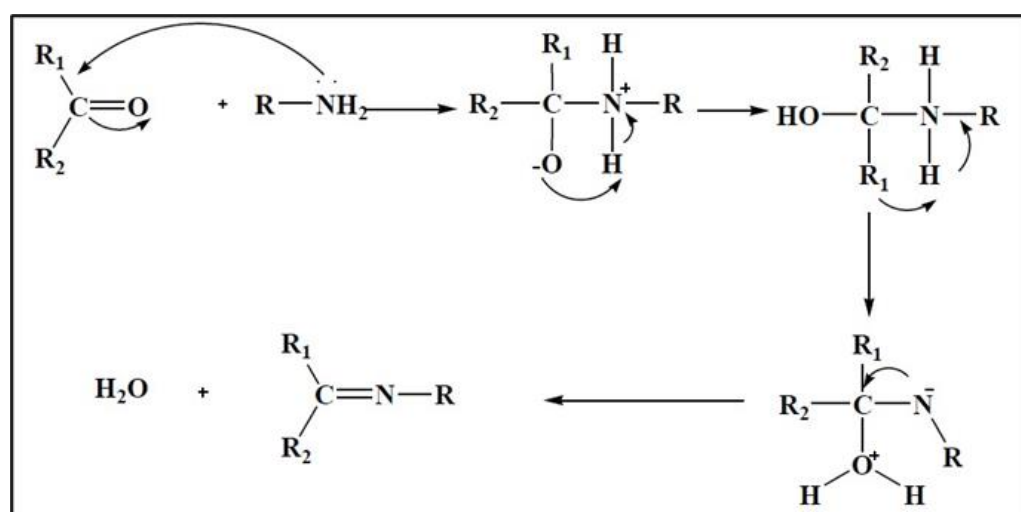


Figure 2 : Réaction de formation d'une base de Schiff. (Mokhnache *et al.*, 2020).

I.2.4. Classification des ligands bases de Schiff

Les bases de Schiff sont classées selon plusieurs types :

- **Selon la liaison aldéhyde ou cétone**
 - ✓ **Aldimine** : produite par la condensation d'un aldéhyde avec une amine primaire.
 - ✓ **Cétimine** : produite par la condensation d'une cétone avec une amine primaire (Meena *et al.*, 2023)
- **Selon la structure du ligand**
 - ✓ **Base de Schiff monodentate** : C'est une molécule qui dispose d'un seul site de fixation à l'atome métallique, elle cède au métal central un doublet non liant avec création d'une liaison.
 - ✓ **Base de Schiff bidentate** : C'est une molécule qui dispose de deux sites de fixation à l'atome métallique, elle peut exister sous forme de type : NN donneurs ou NO donneurs.

- ✓ **Base de Schiff tridentée** : C'est une molécule qui dispose de trois sites de fixation à l'atome métallique qui stimulent la stabilisation des métaux de transition et les éléments donneurs qui profitent de l'effet chélate. Elle existe sous forme de type ONO donneurs ou NON donneurs.
- ✓ **Bases de Schiff polydentées** : C'est une molécule qui dispose de plusieurs sites de fixation à l'atome métallique. (Mokhnache *et al.*, 2020)

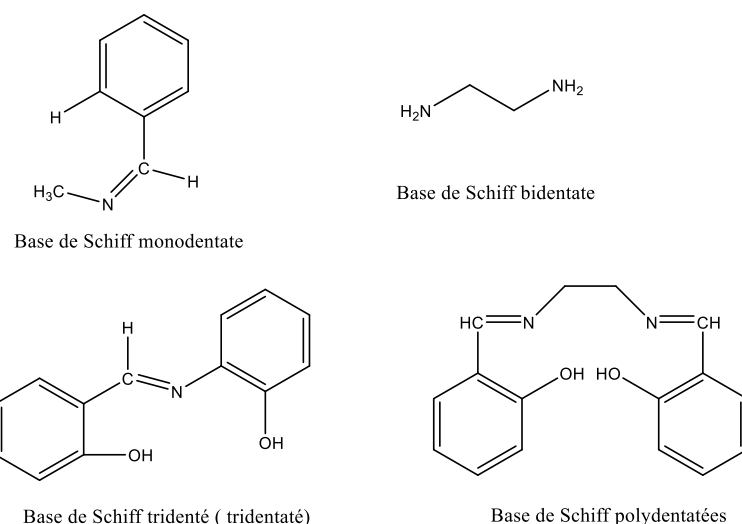


Figure 3 : Exemple de base de Schiff monodentate, bidentate, tridentée, polydentées.

➤ **Selon la nature des groupes fonctionnels.**

- ✓ **Hydrazides** : Ces substances comprennent un groupe hydrazine (NH₂-NH₂) attaché à un groupement carbonyle ou sulfonyle. L'incorporation de ces composés dans les bases de Schiff est comptée au tautomerisme amide-iminol, qui favorise la présence d'une liaison double C=N, spécifiques de ces structures.
- ✓ **Dihydrazides** : Ces composés sont constitués de deux unités hydrazide et sont largement répandu dans la fabrication de polymères ou en tant que ligands à multiples points de liaison.
- ✓ **Hydrazones** : Il s'agit des bases de Schiff conventionnel, qui sont synthétisées par la réaction d'une hydrazide avec un composé carbonyle.
- ✓ **Hydrazide -Hydrazones** : Ces composés hybrides associe simultanément des unités d'hydrazide et d'hydrazone (Raczuk *et al.*, 2022).

I.3. Applications biologiques des bases de Schiff

Les bases de Schiff et leurs complexes métalliques sont envisagés comme des candidats prometteurs pour la création de nouveaux médicaments. A cause de puissance à construire

des complexes stables avec les métaux de transition, ils interagissent facilement avec ces derniers, qui ont des orbitales restreintes. Ils ont dévoilé un large éventail d'activités biologiques, contenant principalement des propriétés antibactériennes, antifongique, antivirales, anti-inflammatoires, antituberculeuse, analgésiques et antioxydantes. **(Turan et Buldurun.,2018)**. Ces complexes présentent plusieurs points forts, incluant une biocompatibilité remarquable et une faible toxicité dans les systèmes biologiques **(Hoque et al., 2025)**.

I.3.1. Activité antimicrobienne

I.3.1.1. Activité antibactérienne

Les complexes métalliques de base de Schiff ont montré une excellente activité contre les deux types de bactéries Gram positives et Gram négatives. Leurs effets antibactériens peuvent s'appliquer via l'interférence avec des mécanismes bactériens non enzymatique ou des mécanismes enzymatiques qui est l'inhibition d'enzymes clés de la croissance bactérienne comme l'uréase et dans la synthèse de la paroi cellulaire et d'autres enzymes nécessaires, ce qui signifie une bioactivité améliorée de ces composés. **(Hoque et al., 2025)**.

En d'autres termes, les bases de Schiff peuvent également être promues pour réduire les biofilms, cela signifie de prévenir, disperser ou éliminer les biofilms. Plus encore, ils interviennent sur la matrice protéique des biofilms et les colonies de ces bactéries. **(Lahiri et al., 2019)**.

I.3.1.2. Activité antifongique

C'est la capacité des peptides antifongiques qui sont des substances naturelles produites par les organismes pour se défendre contre les champignons nuisibles. Par conséquent, ils sont devenus un sujet de recherche important pour lutter contre les champignons pathogènes et surmonter leur résistance aux médicaments. De plus, ils devraient être développés comme nouveaux médicaments thérapeutiques contre les champignons résistants en clinique. **(Li et al., 2021)**. Dans ce sens, le complexe de Cuivre (II) a démontré une forte activité antifongique contre l'*Aspergillus niger*, et il a présenté une activité antifongique supérieure à celles des antifongiques de référence comme la nystatine et la griséofulvine. **(Alfadhawi et al., 2021)**

I.3.1.3. Activité antivirale

L'exploration du potentiel antiviral des bases de Schiff issues de l'4-(2-aminoéthyl) - benzenesulfonamide contre le virus Chikungunya (CHIKV) et le virus Zika (ZIKV) en raison de la gravité de leurs infections, étant donné l'absence actuelle de traitement antiviral spécifique. Les bases de Schiff, qui sont flexibles, représenteraient un chemin intéressant pour découvrir de nouvelles molécules antivirales, en particulier en combinant un groupe sulfonamide bioactif à différents aldéhydes. (Nakahata *et al.*, 2024)

I.3.1.4. Activité antioxydante

Les ligands de base de Schiff, dérivées de la réaction d'amines primaires avec des composés carbonylés, sont considérés comme des agents antioxydants prometteurs car ils piègent les radicaux 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) par deux mécanismes qui sont transfert d'atome d'hydrogène (HAT) et transfert d'électron unique (SET) (Figure 4).

Selon la littérature, certaines bases de Schiff sont non toxiques et possèdent une forte activité antioxydante, similaire à celle des antioxydants classiques en raison de leur structure qui favorisant le don des protons et des électrons. Les bases de Schiff représentent donc une source potentielle d'antioxydants pour lutter contre les maladies associées au stress oxydatif. (Rana *et al.*, 2024).

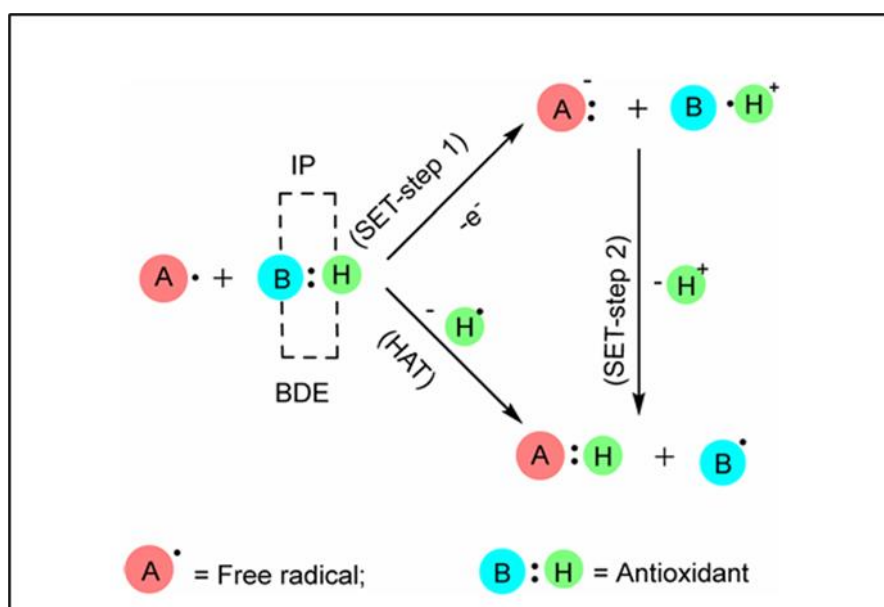


Figure 4 : Interaction des antioxydants avec les radicaux libres par SET et HAT. (Rana *et al.*, 2024).

I.3.1.5. Activité antitumorale

Les bases de Schiff, des complexes métalliques – en particulier, des composés de cuivre, présentent une activité antitumorale prometteuse. Leur structure chimique leur permet d'interagir de manière sélective avec des cibles biologiques, ce qui en fait des prétendants plausibles pour la création de médicaments anticancéreux modernes. En conséquence, l'analyse et la synthèse de “cis ” et des complexes contenant des cuivre (II) est déterminée : cette réaction intermédiaire est pertinente pour le développement de nouvelles thérapies du cancer plus efficaces. **(Kothari., 2023)**

I.3.1.6. Activité anti inflammatoire

Les bases Schiff ont récemment acquis une popularité en raison de la variété des activités biologiques possibles, y compris l'anti-inflammatoire. Il est en réalité authentifié que la combinaison de ces ligands électron-donneurs avec des métaux de transition booste considérablement leur activité biologique. Actuellement, les complexes métalliques de Schiff sont une direction considérable pour la réalisation de nouveaux traitements anti-inflammatoires améliorés, lequel pourrait inhiber le processus inflammatoire aussi bien in vitro que in vivo. **(Mumtaz *et al.*, 2022)**

I-3-2 Applications chimiques et technologiques de base de Schiff

Dans le domaine de la chimie, ces composés un rôle de catalyseurs, par exemple lors des réactions d'aldol asymétrique, de Heck ou de sulfenylation. Ils peuvent aussi être utilisés sous forme de sondes chimiques ou en tant que marqueurs biologiques, par exemple la biotine-hydrazide ou la rhodamine B hydrazide. En outre, ils sont utilisés dans la synthèse de matériaux luminescents ou en spectroscopie infrarouge, comme le démontre l'effet Bohlmann. Finalement, ils sont des éléments cruciaux dans l'analyse des peptides stables en tant que substances peptidomimétiques **(Raczuk *et al.*, 2022).**

Les bases de Schiff exercent une fonction primordiale dans le domaine des teintures, offrant des teintes vives aux tissus et autres matières. **(Rana *et al.*, 2024)**



Chapitre II

Matériel et

Méthodes



II. Matériel et Méthodes

Ce travail a été effectué au sein de deux laboratoires : Laboratoire de microbiologie de fin d'études et le laboratoire de recherche Biotechnologie, Environnement et Santé (LBES) rattaché au Département de Biologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Saad Dahlab, Blida 1. Durant la période allant du 2 Mars au 25 Juin 2025.

Les objectifs de la présente étude sont les suivants :

- ❖ Applications du ligand de type base Schiff et de son complexe de Cu^{2+} dans le domaine biologique telles que :
 - Étude du pouvoir antibactérien des bases de Schiff vis-à-vis des souches bactériennes (Gram (+) / Gram (-)) par la méthode de diffusion en puits.
 - Étude du pouvoir antifongique du ligand et de son complexe Cu^{2+}
 - Détermination de la capacité de ces molécules à prévenir la formation et la destruction de biofilms.
 - Étude du pouvoir antiinflammatoire et antioxydant du ligand et du complexe.

II.1. Matériel utilisé (voir annexe)

II.2. Méthodes utilisées

II.2.1. Synthèse et caractérisation

II.2.1.1. Synthèse du ligand et du complexe Cu (II) de type base de Schiff

Le ligand bis(4-pyridinecarboxaldehyde) éthylènediimine de formule générale $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4$ a été synthétisé par condensation de deux équivalents de la 4-pyridinecarboxaldehyde avec un équivalent de l'éthylènediamine dans un solvant, l'éthanol. Le ligand a été caractérisé par l'analyse élémentaire (CHN), la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire RMN (^1H et ^{13}C), la spectrophotométrie UV-visible et la spectroscopie FTIR. La structure du ligand est :

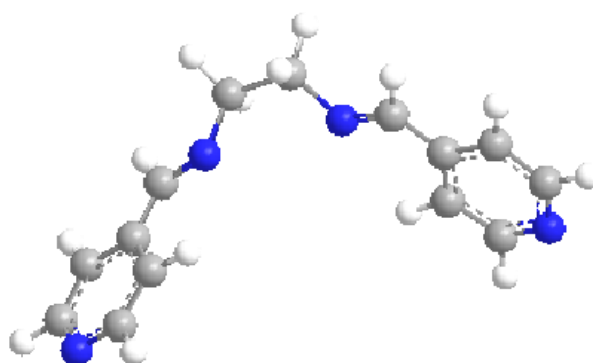


Figure 5 : Structure du ligand bis(4-pyridinecarboxaldehyde)éthylènediimine. (EL Mahdi.,2002).

La réaction du ligand bis (4-pyridinecarboxaldehyde) éthylènediimine avec le Chlorure de Cuivre CuCl_2 dans l'éthanol nous a permis de former le complexe de Cu (II). La structure du complexe a été confirmée par les différentes techniques d'analyses spectroscopiques telles que l'analyse élémentaire (CHN), la spectrophotométrie UV-visible, la spectroscopie FTIR et la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS). (ELMahdi., 2002).

II.2.2. Activités biologiques

II.2.2.1. Evaluation de l'activités antimicrobiennes

L'activité antibactérienne de la base de Schiff et de son complexe métallique de Cu^{2+} a été déterminée vis à vis de cinq souches bactériennes, trois à Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 8139, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 et *Klebsiella pneumoniae* (souche clinique)), et deux souches à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Enterococcus faecalis* ATCC 49532).

L'activité antifongique a été testée vis-à-vis à *Aspergillus niger* ATCC 1015.

II.2.2.1.1. Méthode de diffusion en puits

La diffusion en puits sur gélose est une méthode qualitative couramment utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne de substances d'origine végétale ou microbienne. Ensemencement de l'inoculum microbien sur toute la surface de la gélose. Des puits d'un diamètre compris de 6 à 8 mm sont réalisés de manière aseptique à l'aide d'un emporte-pièce stérile. Un volume (de 20 à 100 μl) de la molécule à tester est introduit dans chaque puits. Les boîtes sont ensuite incubées dans des conditions optimales pour le développement du micro-organisme testé. L'agent antimicrobien diffuse progressivement à travers le milieu gélosé, formant une zone d'inhibition dont le diamètre est mesuré pour évaluer l'efficacité de l'extrait. (Balouiri *et al.*, 2016).

➤ Mode opératoire

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisé selon la méthode de diffusion en puits (Balouiri *et al.*, 2016) expliquée dans la (figure 6).

➤ Préparation de la suspension bactérienne

- ✓ Mettre en suspension 0.5 Mac Farland de chaque souche bactérienne (2 à 3 colonies) âgée de 18 h à 24 h dans 5 ml d'eau physiologique
- ✓ Mélanger bien la solution.

- ✓ Prélever un inoculum de cette suspension et procéder immédiatement à l'ensemencement sur des boîtes de Pétri comportant une couche de gélose Mueller Hinton d'une épaisseur de 4 mm.

➤ Réalisation des puits



Figure 6: Protocole d'évaluation de l'activité antimicrobienne (Balouiri *et al.*, 2016).

II.2.2.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI

La CMI du ligand et son complexe a été déterminée en utilisant la méthode décrite par (CLSI, 2020).

- ✓ Mettre en suspension 5 ml de l'eau physiologique avec 0.5 Mac Farland de chaque souche bactérienne (2 à 3 colonies) âgées de 18 à 24 h.
- ✓ Mettre 2 ml de chaque concentration de la molécule avec 18 ml de gélose nutritif MH dans des boîtes à pétri.
- ✓ Laisser refroidir jusqu'à la solidification de gélose.
- ✓ Déposer une goutte de chaque suspension bactérienne sur la gélose sous forme des spots de la plus faible concentration (5 mg/ml) à la concentration la plus élevée (50 mg/ml).
- ✓ Laisser incubé pendant 24 h puis noter la CMI (la plus faible concentration de notre molécule qui inhibe toute croissance bactérienne visible. (CLSI, 2020).

II.2.2.1.3. Evaluation de l'activité antibiofilm

➤ Evaluation de la capacité des souches à former biofilm

✓ Test Rouge Congo

C'est une méthode utilisée pour détecter la capacité des souches à former des biofilms, d'où elle est détectée par la présence de colonies noires dues à l'association du lipopolysaccharide avec du rouge Congo.

À partir d'une jeune culture, on prélève quelques colonies isolées et identiques à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, puis on prépare deux groupes :

✚ **Groupe 1** : Composé d'une suspension de BHIB additionnée en premier le ligand et la deuxième le complexe, ensuite ensemer les bactéries sur la gélose rouge Congo par la méthode des quatre quadrants afin d'avoir des colonies bien isolées, ensuite incuber à 37°C pendant 16 à 24 h.

✚ **Groupe 2** : Composé d'une suspension de BHIB contient des bactéries et l'ensemencer sur la gélose rouge Congo par la méthode des quatre quadrants afin d'avoir des colonies bien isolées, ensuite incuber à 37°C pendant 16 à 24 h (Stepanović *et al.*, 2007).



Figure 7 : Préparation du biofilm.

✓ Test sur microplaque

Après avoir sélectionné les souches productrices des biofilms, l'activité antibiofilm de notre molécule sera déterminée en cinq phases : (Stepanović *et al.*, 2007).

1- Préparation des suspensions bactériennes

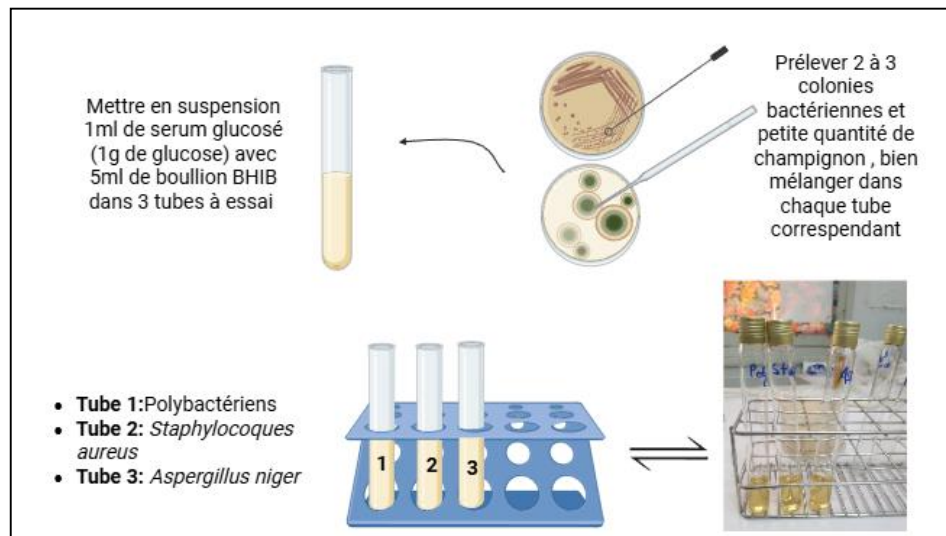


Figure 8: Préparation des suspensions bactériennes et fongiques. (Stepanović *et al.*, 2007)

2- Culture du biofilm

La plaque est divisée en cinq groupes (**figure 9**) :

- ✚ **Groupe 1 : (Groupe témoin négatif –)** : Chaque puits est rempli avec 200 µl de chaque concentration du ligand et du complexe (**10 mg/ml, 25 mg/ml et 50 mg/ml**)
- ✚ **Groupe 2 : (Groupe *S-aureus*)** : Contient 100 µl de suspension de type *S-aureus* incubée pendant 2 h à 37 °C puis additionnée de 100 µl de chaque concentration du ligand et du complexe (**10 mg/ml, 25 mg/ml et 50 mg/ml**)
- ✚ **Groupe 3 : (Groupe polymicrobiens)** : Contient 100 µl de suspension qui contient plusieurs types de bactéries, incubée durant 2 h à 37 °C, ensuite additionnée de 100 µl de chaque concentration du ligand et du complexe (**10 mg/ml, 25 mg/ml et 50 mg/ml**).
- ✚ **Groupe 4 : (Groupe *A-niger*)** : Contient 100 µl de suspension de type *A-niger* incubée pendant 2 h à 37 °C puis additionné de 100 µl de chaque concentration du ligand et du complexe (**10 mg/ml, 25 mg/ml et 50 mg/ml**).
- ✚ **Groupe 5 : (Groupe témoin positif +)** : Contient 200 µl de suspension de type *S-aureus* et incubée à 37 °C sans l'ajout de la molécule. (Stepanović *et al.*, 2007)

La plaque inoculée doit être soigneusement recouverte d'un couvercle et incubée à une température de 37 °C pendant une durée de 48 heures afin de favoriser la formation du biofilm.

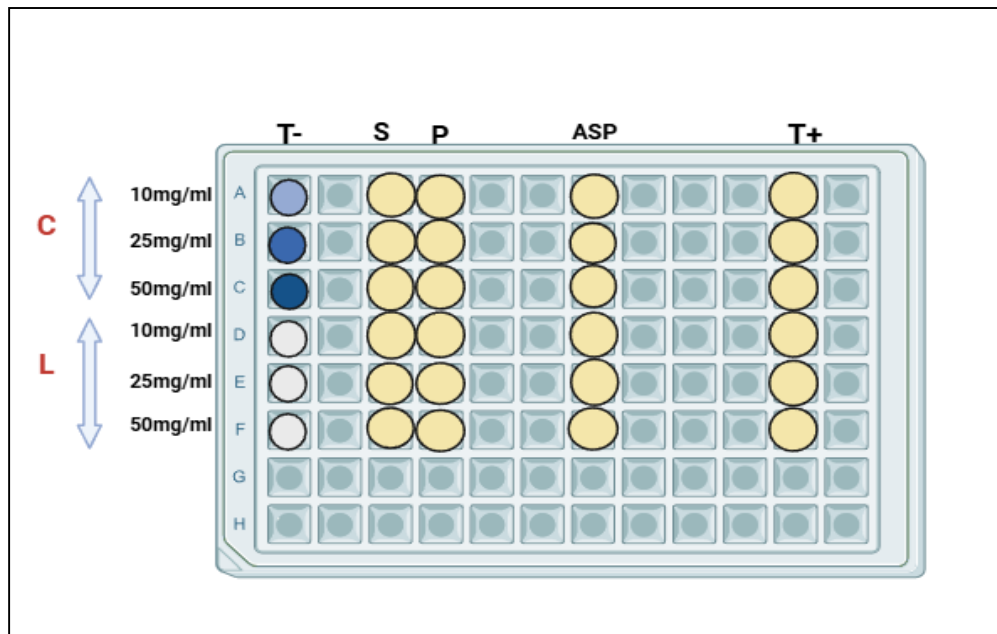


Figure 9: Culture du biofilm sur microplaque.

3- Lavage des puits

Le lavage du biofilm est une étape très importante. L'objectif est de retirer les cellules non collées tout en préservant le biofilm intact. (Stepanović *et al.*, 2007)

- ✓ Après l'incubation, le contenu des puits est transféré dans un récipient destiné à être éliminé.
- ✓ Chaque puits est lavé avec 200 µl de solution saline stérile tamponnée au phosphate (PBS : pH 7,2)
- ✓ Laisser réagir pendant 10 minutes.

4- Coloration du biofilm

- ✓ Chaque puits de microplaque contient une couche de biofilm colorée avec 200 µl de cristal violet et l'incubée pendant 15 minutes à température ambiante.
- ✓ Lorsque la coloration est terminée, il est nécessaire d'aspirer le colorant à l'aide d'une micropipette, puis de rincer le colorant restant avec de l'eau distillée. (Stepanović *et al.*, 2007)

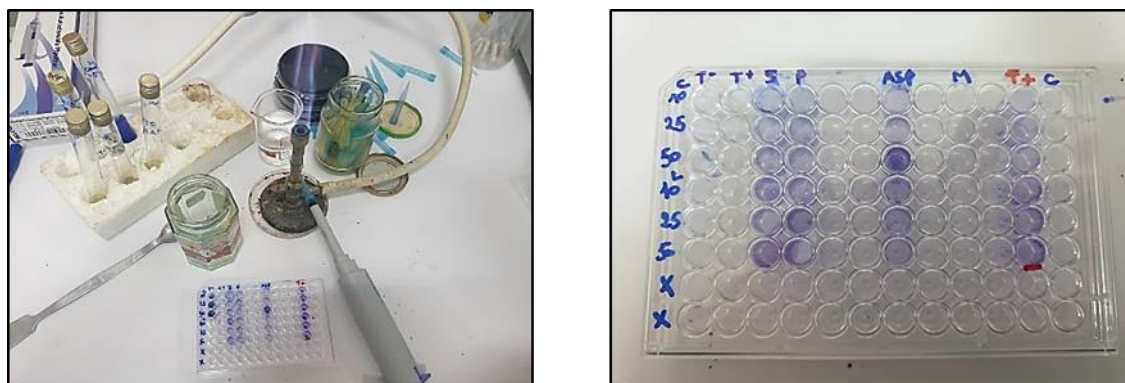


Figure 10 : Coloration du biofilm

5- Solubilisation du colorant et mesure des résultats

- ✓ Ajouter 200 µl de méthanol à 95% dans chaque puits afin de dissoudre le colorant fixé et le laisser incuber pendant 15 minutes à température ambiante.
- ✓ Mesurer la densité optique (DO) de chaque puit coloré avec du cristal violet en utilisant un lecteur de microplaque à une longueur d'onde de 570 nm.

Les souches sont classées dans les catégories suivantes : (Stepanović *et al.*, 2007)

Tableau I : Classification de la formation du biofilm.

Moyenne des valeurs de DO	Formation de biofilm
$DO_{lue} \leq DO_{nc}$	- (absence)
$DO_{nc} < DO_{lue} < 2*DO_{nc}$	± (faible)
$2*DO_{nc} < DO_{lue} < 4*DO_{nc}$	+ (modérée)
$DO_{lue} > 4*DO_{nc}$	++ (forte)

(Stepanović *et al.*, 2007)

DO_{nc} : Moyenne des densités optiques des contrôles négatifs.

DO_{lue} : Densité optique de chaque puit.

➤ Visualisation de l'effet du ligand et du complexe sous microscope optique

La visualisation de l'effet du ligand et du son complexe de Cuivre (II) à (10mg/ml) sur les souches bactériennes et l'espèce fongique a été réalisé par la méthode suivante :

1- Préparation des lames

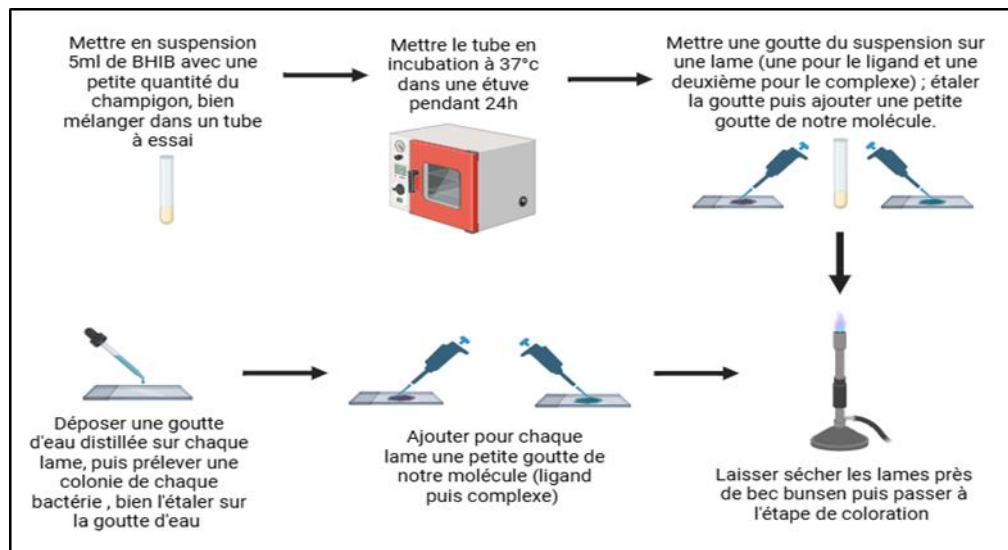


Figure 11: Préparation des lames.

2- Coloration des lames

La coloration des lames a été réalisée en deux gammes :

✚ Pour les espèces fongiques

✚ Coloration avec bleu de méthylène

La coloration au bleu de méthylène est une technique de coloration simple qui utilise un seul colorant pour mettre en évidence des structures spécifiques dans l'échantillon.

- ✓ Placer la lame sur un support de coloration et l'imprégner de bleu de méthylène.
- ✓ Laisser agir pendant 1-3 minutes
- ✓ Rincer délicatement la lame à l'eau distillée,
- ✓ Éliminer l'excès d'eau,
- ✓ Tamponner avec du papier absorbant sans frotter.
- ✓ Laisser les lames sécher intégralement à l'air.
- ✓ Observez la préparation au microscope en utilisant l'objectif (40x). (**Moemen et al., 2015**)

✚ Pour les bactéries

✚ Coloration de Gram

La coloration de Gram est une méthode qui permet de colorer les bactéries pour les identifier et les classer selon la structure de leur paroi cellulaire.

- ✓ Couvrez la préparation avec du cristal violet et laissez agir pendant une minute.
- ✓ Rincez doucement à l'eau distillée

- ✓ . Appliquez la solution de lugol (iode de Gram) sur la préparation et laissez agir durant une minute. Cela favorise la formation d'un complexe cristal violet-iode qui ne se dissout pas dans l'eau. Rincez délicatement à l'eau distillée.
- ✓ Appliquez de l'alcool éthylique ou de l'acétone (le décolorant) pendant environ 10 à 20 secondes. Cela retire le complexe cristal violet-iode des bactéries Gram-négatives, mais pas des Gram-positives ; rincez immédiatement et en grande quantité à l'eau distillée afin de stopper l'action du décolorant.
- ✓ Appliquer la fuchsine sur la préparation et laissez agir durant une minute. Cela rend les bactéries Gram-négatives roses. ; puis rincer les lames doucement à l'eau distillée
- ✓ Tapoter doucement la lame avec du papier buvard pour sécher sans frotter.
- ✓ Observez la préparation au microscope en utilisant l'objectif (40 x). (**Tortora et al.,1989**)

II.2.2.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* du ligand et de son complexe a été effectuée en trois phases selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines de (**Kar et al., 2012**).

1- Phase préparatoire (voir annexe)

2- Préparation de la plaque

La plaque est divisée en quatre groupes : (**Kar et al., 2012**)

- ✚ **Solution d'essai (SE)** : Chaque puits est composé de 90 µl du sérum humain additionné de 10 µl de chaque concentration du ligand et du complexe (100 µg/ml).
- ✚ **Solution control test (CT)** : Chaque puits est composé de 90 µl du sérum humain et 10 µl d'eau distillée.
- ✚ **Solution contrôle produit (CP)** : Chaque puits est composé de 90 µl d'eau distillée avec 10µl de chaque concentration du ligand et du complexe (100 µg/ml)
- ✚ **Solution standard test (XE)** : Chaque puits est composé de 90 µl du sérum humain additionné de 10 µl de solution standard Indométacine avec des concentrations variées (62.5 µg /ml ,125 µg /ml et 250 µg /ml).
 - ✓ Une première incubation a été effectuée à une température de 37 °C pendant 20 minutes.
 - ✓ Une deuxième incubation a été effectuée à une température de 57 °C durant 3 minutes.

- ✓ La plaque a été soumise à un refroidissement sur la paillasse durant une durée de 10 minutes avant la réalisation de la lecture. **(Kar et al., 2012)**

3- Lecture des résultats

- ✓ La densité optique a été mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaque à une longueur d'onde de 255 nm.
- ✓ Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé par la formule suivante : **(Kar et al., 2012)**

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = \left[100 - \left(\frac{DO_{\text{solution d'essai}} - DO_{\text{conrole produit}}}{DO_{\text{test controle}}} \right) \right] \times 100$$

II.2.2.3. Évaluation de l'activité antioxydante

La détermination de l'activité antioxydante du ligand et de son complexe a été réalisée en utilisant la méthode de piégeage du radical libre 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), en suivant le protocole exposé par **(Emir et al., 2019)** avec quelques modifications.

✓ Principe

L'activité antiradicalaire a été évaluée *in vitro* à l'aide du 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), dont le DPPH est un radical libre. La réduction du radical par un donneur d'atome hydrogène conduit à la formation de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine de coloration jaune-vert. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. **(Emir et al., 2019).**

✓ Mode opératoire

L'activité de piégeage du DPPH a été évaluée selon la méthode décrite **(Emir et al., 2019)**. En bref, 1 ml de chaque solution méthanoliques du ligand ou complexe testées à différentes concentrations (10, 20, 40, 60, 100, 200 et 1000 µg/ml) sont mélangées avec 1 ml d'une solution éthanolique de DPPH (0.1 mmol/l). Le mélange réactionnel a été incubé à une température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est lue par un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 517 nm. L'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée à la même concentration pour comparaison.

La capacité antioxydante pour le ligand, le complexe et la vitamine C est déterminée en évaluant le pourcentage d'inhibitions de l'absorbance du radical DPPH. Le pourcentage d'inhibitions a été calculé comme suit : **(Emir et al., 2019).**

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

% d'inhibition : Pourcentage d'inhibition des radicaux libres.

A_{Control} : Absorbance du Control (méthanol+ DPPH).

A_{échantillon} : Absorbance de l'échantillon (ligand, complexe ou vitamine C).

✓ **Détermination d'IC₅₀**

La cinétique de réaction du ligand, du complexe de Cu (II) et de la vitamine C avec le DPPH a été enregistrée à chaque concentration examinée. Tracer les pourcentages d'inhibitions du DPPH à la fin de la réaction en fonction de la concentration pour obtenir un indice IC₅₀. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydants nécessaire pour réduire la concentration initiale de DPPH de 50 %.

La concentration d'inhibition (IC₅₀) est estimée par l'extrapolation à I = 50 %.



Chapitre III

Résultats et

Discussion



III. Résultats et discussion

III.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne

III.1.1. Activité antibactérienne et antifongique

L'effet antimicrobien du ligand et de son complexe de Cu^{2+} a été testé contre cinq microorganismes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*). Les résultats des zones d'inhibition en millimètres ont été résumés dans le Tableau II.

Tableau II : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induite par le ligand et son complexe.

Diamètre des zones d'inhibition (mm) des bactéries						
Concentrations		<i>E-Coli</i>	<i>P-aeruginosa</i>	<i>S-aureus</i>	<i>A-niger</i>	<i>E-Faecalis</i>
Ligand	1 µg/ml	0	0	0	/	/
	10 µg/ml	0	0	0	/	/
	20 µg/ml	0	0	0	/	/
	100 µg/ml	0	0	0	/	/
	1000 µg/ml	0	0	0	/	/
	10 mg/ml	0	17	12	25	0
	25 mg/ml	0	24	25	28	0
	50 mg/ml	0	28	27	36	0
Complexe	1 µg/ml	0	0	0	/	/
	10 µg/ml	0	0	0	/	/
	20 µg/ml	0	0	0	/	/
	100 µg/ml	0	0	0	/	/
	1000 µg/ml	0	0	0	/	/
	10 mg/ml	9	20	13	25	0
	25 mg/ml	15	23	20	27	0

Les résultats du test révèlent qu'aucune zone d'inhibition n'a été observée pour le ligand et le complexe dans des concentrations allant de 1 à 1000 µg/ml (**figure 12**). Par contre, à partir de 10 mg/ml, le ligand libre montre une activité antifongique importante contre *Aspergillus niger* (25 mm), une activité modérée contre *Pseudomonas aeruginosa* (17 mm) et *Staphylococcus aureus* (12 mm). Aucune activité contre *Escherichia coli* et *Enterococcus faecalis*.

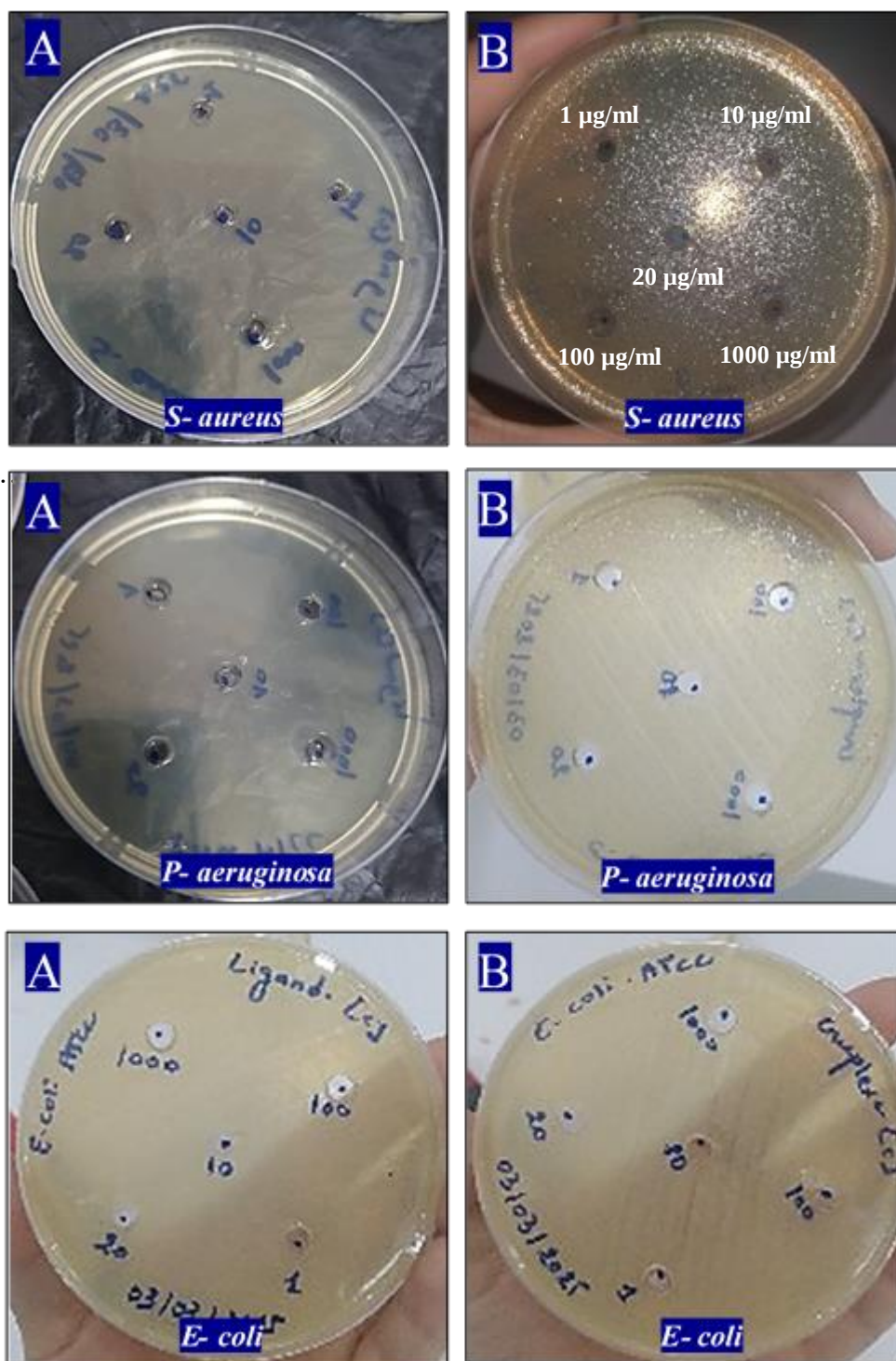


Figure 12 : Absence des zones d'inhibition chez les souches bactériennes de 1µg/ml à 1000µg/ml. (A) : Ligand / (B) : Complexe.

Concernant le complexe Cu (II), il est constaté qu'à une concentration de 10 mg/ml, les valeurs des zones de diamètres d'inhibition s'élèvent à 25 mm pour *Aspergillus niger*, 20 mm pour *Pseudomonas aeruginosa* et 13 mm pour *Staphylococcus aureus*. (**Figure 13**).

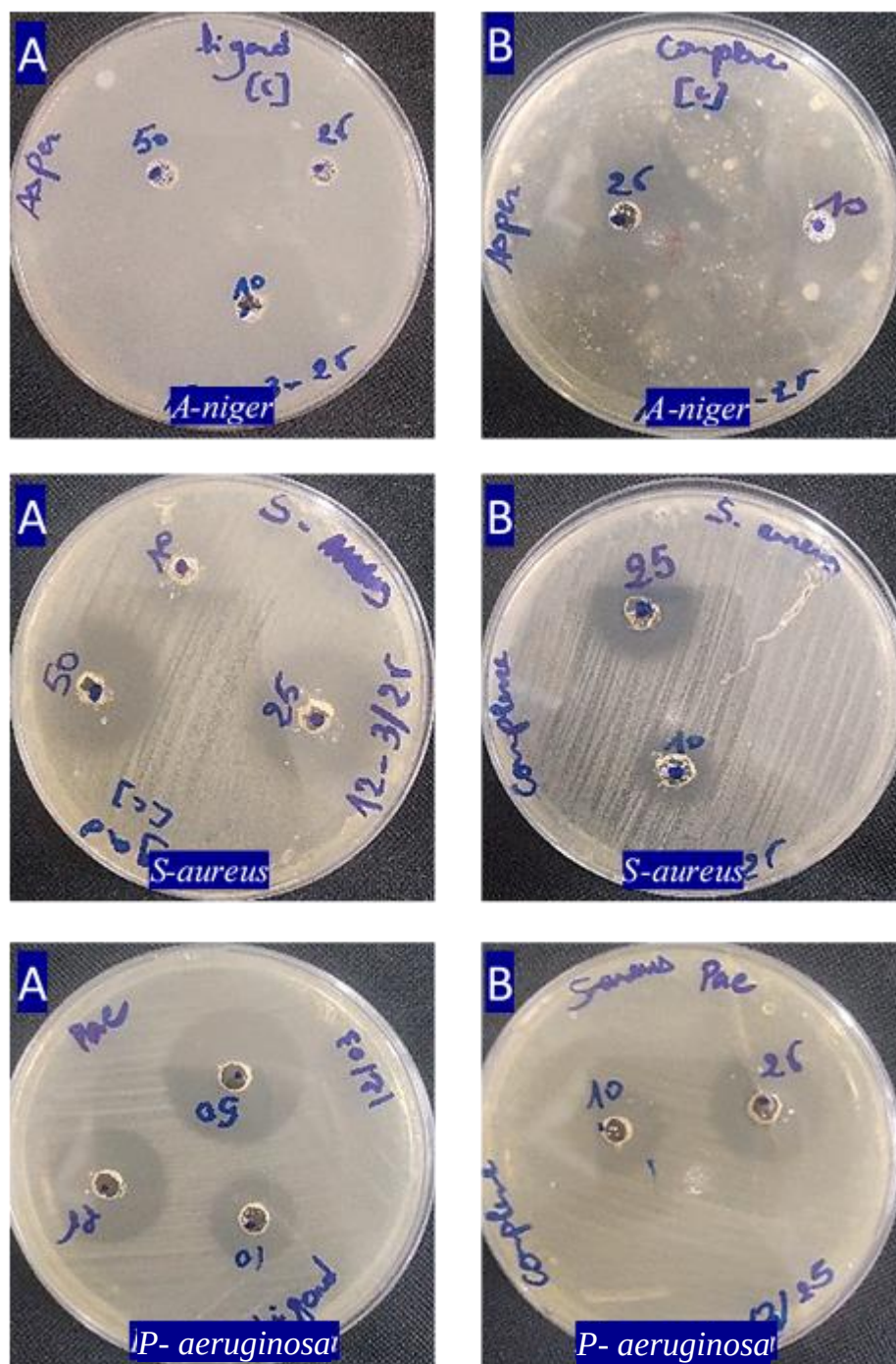


Figure 13 : Zones d'inhibition chez *A-niger*, *S-aureus* et *P-aeruginosa*
(A) : Ligand / (B) : Complexe.

La bactérie *Enterococcus faecalis* ne présente aucune zone d'inhibition à toutes les concentrations du ligand et du complexe (de 10 mg/ml jusqu'à 50 mg/ml).

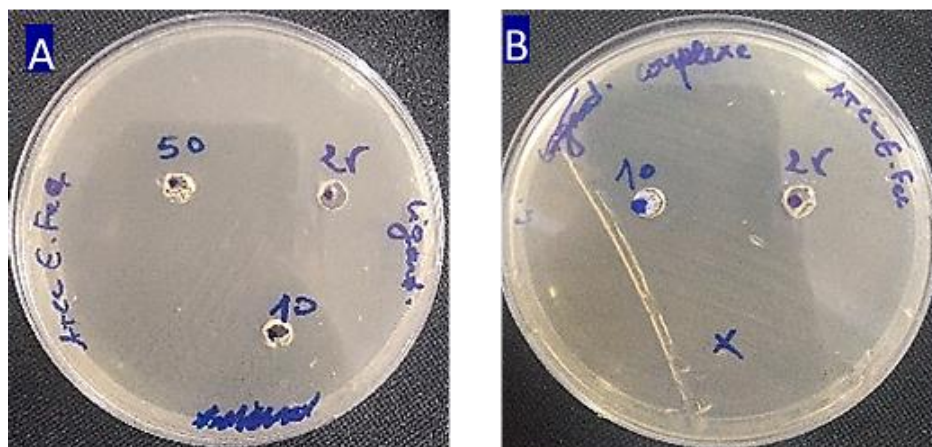


Figure 14 : Absence des zones d'inhibition chez *Enterococcus faecalis*
(A) : Ligand / (B) : Complexe.

La présence de l'effet antimicrobien chez *Escherichia coli* avec le complexe se manifeste par des zones d'inhibition allant de (9 mm à 15 mm) avec des concentrations respectives de (10 mg/ml et 25 mg/ml), tandis que toutes les concentrations testées du ligand contre cette souche ne montrent aucun effet antimicrobien (figure15).

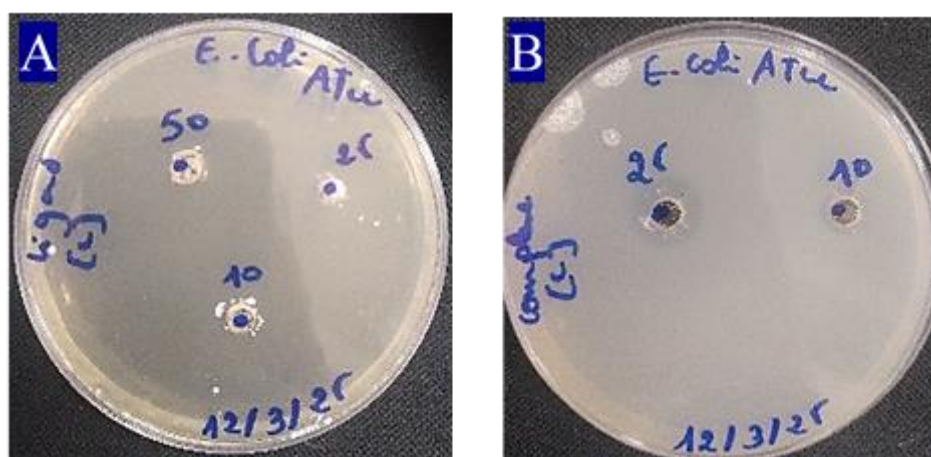


Figure 15 : Zones d'inhibition chez la bactérie *Escherichia coli*
(A) : Ligand / (B) : complexe.

L'évaluation de l'activité antibactérienne du ligand et du complexe vis-à-vis de plusieurs souches bactériennes montre que la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* est la bactérie la plus sensible parmi toutes les souches bactériennes testées. Les résultats montrent que le complexe

de cuivre possède une capacité antimicrobienne légèrement plus forte par rapport au ligand base de Schiff.

Selon (Yusuf *et al.*, 2023), les complexes de Cuivre (II) présentent une activité antibactérienne supérieure à celle de leurs ligands correspondants vis-à-vis des bactéries Gram-positives et Gram négatives. Les différences de sensibilité entre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives sont liées à la structure de leur paroi cellulaire. Les Gram-négatives contiennent plusieurs couches lipidiques, ce qui renforce l'effet d'hydrolyse et influence l'efficacité de la molécule. (Pratama *et al.*, 2019)

Les résultats de (Chung *et al.*, 2021) corroborent avec nos résultats qui rapportent que les complexes de cuivre de base de Schiff présentent une capacité antimicrobienne accrue contre, *E. coli*, *P. aeruginosa*, tandis qu'ils diffèrent des résultats observés chez la bactérie *E. faecalis* (Chung *et al.*, 2021).

Les résultats de notre étude sur les complexes de Cuivre (II) avec un ligand de type base de Schiff montrent une activité antibactérienne améliorée par rapport au ligand libre, ce qui est cohérent avec la littérature. En effet, l'ajout de cuivre a élargi le spectre d'activité, notamment contre *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*, contrairement au ligand sans métal, qui a montré une activité nulle contre *E. coli* et *E. faecalis* (Khan *et al.*, 2013). Le cuivre est reconnu pour son rôle de catalyseur, favorisant la formation de ROS qui perturbent les membranes cellulaires des bactéries, ce qui explique l'efficacité accrue des complexes Cu (II) (Gupta *et al.*, 2017). En comparaison, des études similaires par (Rajendran *et al.*, 2015) ont rapporté des résultats comparables, où les complexes Cu (II) ont montré une activité significative contre *S. aureus* et *P. aeruginosa*, mais modérée contre *E. coli*, confirmant ainsi nos observations. En outre, la forte activité antifongique observée contre l'*Aspergillus niger* à 50 mg/ml est également documentée dans des travaux antérieurs (Singh *et al.*, 2012), qui montrent l'efficacité des complexes Cu (II) contre des champignons pathogènes. Cependant, l'absence d'activité contre *E. faecalis* rejoint les conclusions de (Liu *et al.*, 2018), qui suggèrent que cette bactérie présente des mécanismes de résistance aux complexes métalliques, notamment par l'action de pompes d'efflux.

En ce qui concerne l'activité antifongique, plusieurs études ont révélé que les complexes de Cu (II) sont particulièrement efficaces contre des champignons pathogènes, l'*Aspergillus niger*. Par exemple, (Singh *et al.*, 2012) ont trouvé que les complexes de cuivre de certaines bases de Schiff étaient très efficaces contre *Aspergillus* avec des zones d'inhibition similaires à celles que nous avons observées dans notre étude, allant jusqu'à 36 mm à des concentrations de

50 mg/ml. Cette activité antifongique renforcée du complexe Cu(II) par rapport au ligand libre, indiquant que la présence de cuivre augmente l'interaction avec les parois fongiques, perturbant ainsi leur structure.

III.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI

Les concentrations minimales inhibitrices de base de Schiff et de son complexe sont déterminées par l'absence totale de croissance bactérienne dans le milieu et représentées dans (Tableau III).

Tableau III : Concentrations minimales inhibitrices du ligand et son complexe.

Microorganismes testés	Concentrations minimales inhibitrices (CMI)	
	Ligand	Complexe
<i>E-Coli</i>	25 mg/ml	10 mg/ml
<i>P- aeruginosa</i>	Supérieure à 50 mg/ml	10 mg/ml
<i>S-aureus</i>	25 mg/ml	10 mg/ml
<i>K-Pneumoniae</i>	25 mg/ml	10 mg/ml
<i>E- Faecalis</i>	10 mg/ml	5 mg/ml
<i>A- niger</i>	10 mg/ml	1000 µg/ml

Les résultats obtenus montrent que la concentration minimale inhibitrice varie d'une bactérie à une autre. Le complexe présente des petites valeurs de CMI (5 mg/ml – 10 mg/ml) pour la majorité des bactéries (*E. faecalis* -*E. Coli* , *P. aeruginosa* , *S. aureus* et *K. pneumonia*) respectivement, par rapport au ligand qui montre un effet à des concentrations plus élevées (10mg/ml - 25 mg/ml – 50 mg/ml – 25 mg/ml – 25 mg/ml) avec les mêmes bactéries respectivement.

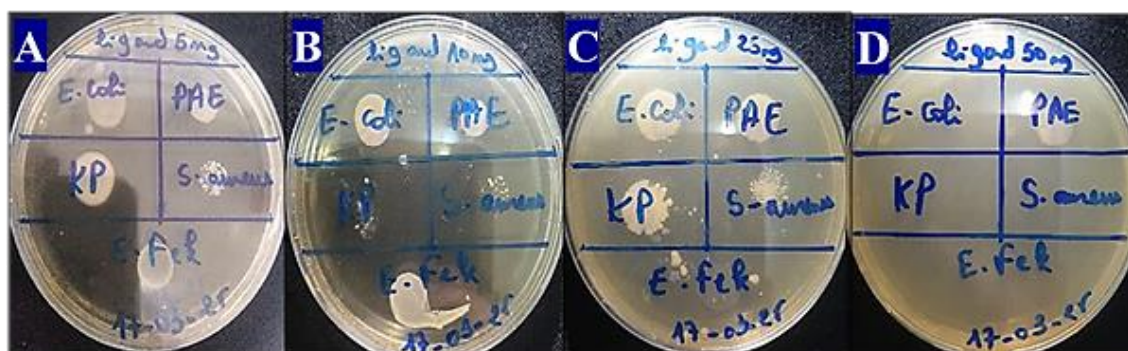


Figure 16: Concentrations minimales inhibitrices du ligand. (A): 5mg/ml – (B): 10mg/ml – (C): 25mg/ml – (D) :50mg/ml

La majorité des bactériens sont sensibles à de faibles concentrations du complexe (5 mg/ml-10 mg/ml) par rapport au ligand qui devient bactéricide à des concentrations plus élevées (parfois à une concentration supérieure 50 mg/ml pour les bactéries résistantes). Par conséquent, le complexe de cuivre possède une activité antimicrobienne accrue avec des valeurs de CMI minimales par rapport au ligand avec tous les microorganismes testés.

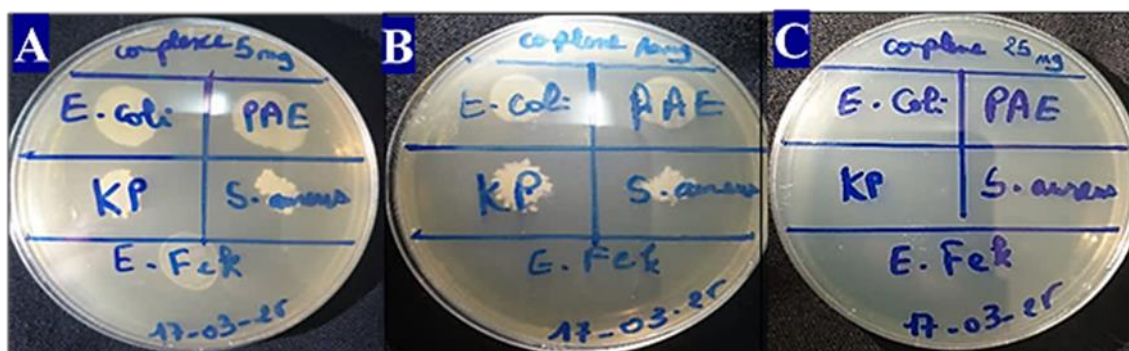


Figure 17 : Concentrations minimales inhibitrices du complexe. (A) : 5mg/ml – (B) : 10mg/ml – (C) : 25mg/ml

La bactérie *K-pneumoniae* est une bactérie multirésistante, elle possède une forte résistance aux antibiotiques, les résultats de (Dawood et Abdullah., 2025) par rapport à la sensibilité de *k pneumoniae* aux antibiotiques montrent que cette souche est sensible à l'imipénème et au méropénème à une concentration de (10 µg). Les résultats de (Dawood et Abdullah., 2025) sont supérieurs par rapport à nos résultats qui donnent une valeur de CMI plus grande à celle de l'imipénème et méropénème (25 mg/ml avec le ligand et 10 mg/ml avec le complexe).

Selon (Emir et al., 2019) la ciprofloxacine a montré une activité antibactérienne supérieure par rapport à notre complexe, à une concentration plus faible (1 mg/ml).

Les résultats de (Zare et Zabardasti., 2019) sont supérieurs à nos résultats, qui révèlent que la concentration inhibitrice la plus faible du nanocomposé de cuivre est de 15 µg/ml par rapport à notre CMI (5 mg/ml).

Nos résultats sont plus efficaces que les résultats de (Al-Jubouri et Abod., 2024) qui montrent que l'érythromycine et la tétracycline sont inefficaces à la sensibilité de *K-pneumoniae* avec des CMI de 0.

En ce qui concerne l'*Aspergillus niger*, les résultats de notre étude montrent que le ligand a une bonne activité antifongique (CMI = 10 mg/ml) tandis que l'activité du complexe Cu (II) semble être moins marquée (CMI = 1000 µg/ml). Cela contraste avec certaines études où l'ajout de cuivre dans les complexes de bases de Schiff améliore généralement l'activité antifongique.

Par exemple, (Singh *et al.*, 2012) ont observé que les complexes Cu (II) montrait une forte activité contre l'*Aspergillus niger* en raison de la capacité du cuivre à interagir avec les composants membranaires fongiques et à générer des radicaux libres affectant leur structure. Cependant, dans notre étude, l'efficacité réduite du complexe Cu (II) contre l'*Aspergillus niger* pourrait être attribuée à des interactions complexes entre le cuivre et les parois fongiques, qui pourraient altérer l'activité du complexe, ou bien à une réduction de la bioaccessibilité du cuivre dans le milieu fongique. Cette diminution de l'activité antifongique pourrait également suggérer que l'effet du cuivre sur les champignons diffère de celui observé avec les bactéries, où les complexes métalliques montrent des résultats plus constants.

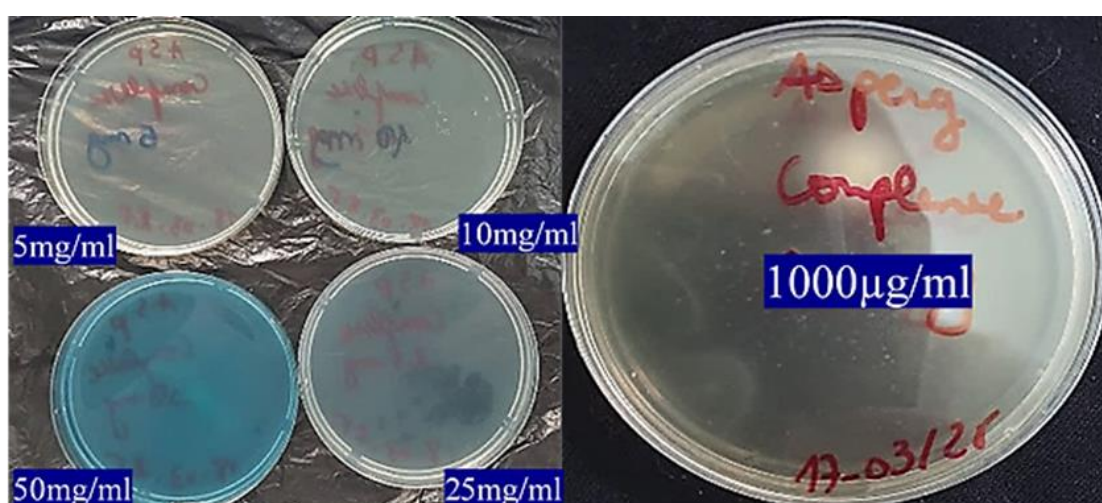


Figure 18 : Concentrations minimales inhibitrices du complexe (ASP).

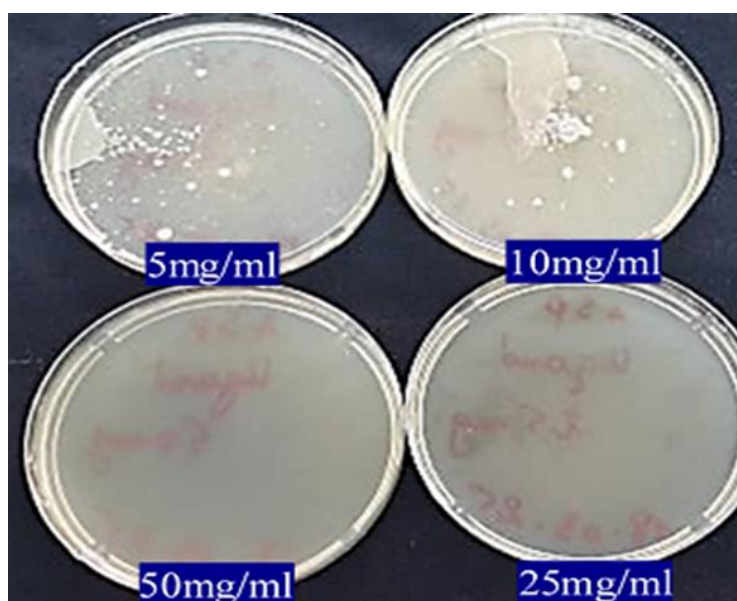


Figure 19 : Concentrations minimales inhibitrices du ligand (ASP)

III.1.3. Evaluation de l'activité antibiofilm

➤ Évaluation de la capacité des souches à former biofilm

✓ Test Rouge Congo

Staphylococcus aureus a la capacité de former des biofilms dues à l'association du lipopolysaccharide avec du Rouge Congo et elle est présentée par des colonies noires. (**Figure 20A 21A**).

Après culture, la souche mise en suspension avec la molécule étudiée a entraîné la conversion des colonies noires en colonies roses, ce qui est dû à l'incapacité de ces dernières à former un biofilm.

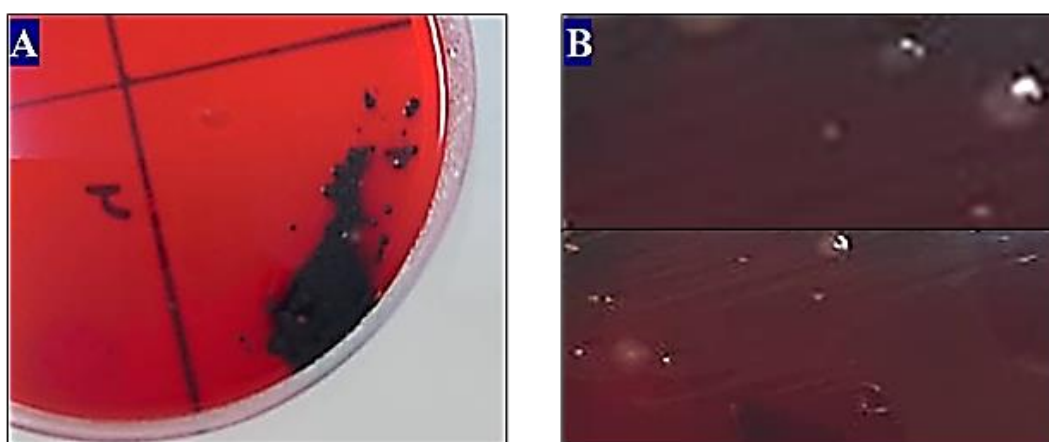


Figure 20 : *Staphylococcus aureus* avant et après l'ajout de la molécule

((**A**) : sans molécule / (**B**) : avec molécule)

L'effet antibiofilm du complexe étudié est aussi évalué chez une population polybactérienne composée de l'ensemble des bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats présentés dans la (**Figure 21**) montrent que les colonies bactériennes aussi sont transformées en colonies roses (biofilm négatif).

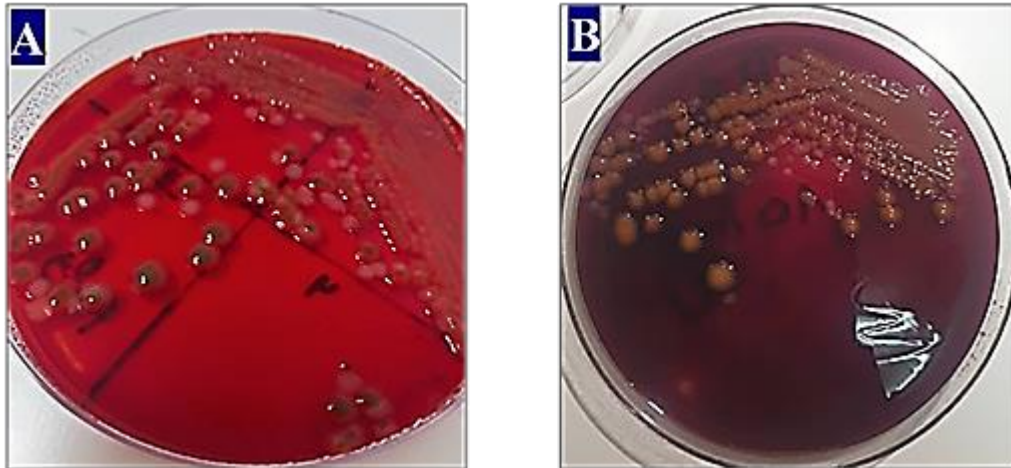


Figure 21 : Milieu polybactéries avant et après l'ajout de la molécule

(**A** : sans molécule / (**B**) : avec molécule)

✓ Test sur microplaque

La formation de biofilm est considérée comme positive si un film visible double recouvre la paroi et le fond du tube et la présence d'un halo à l'interface.

La (**Figure 22**) montre la présence des halos au niveau des puits, ce qui signifie la présence des colonies bactériennes et donc la formation du biofilm.

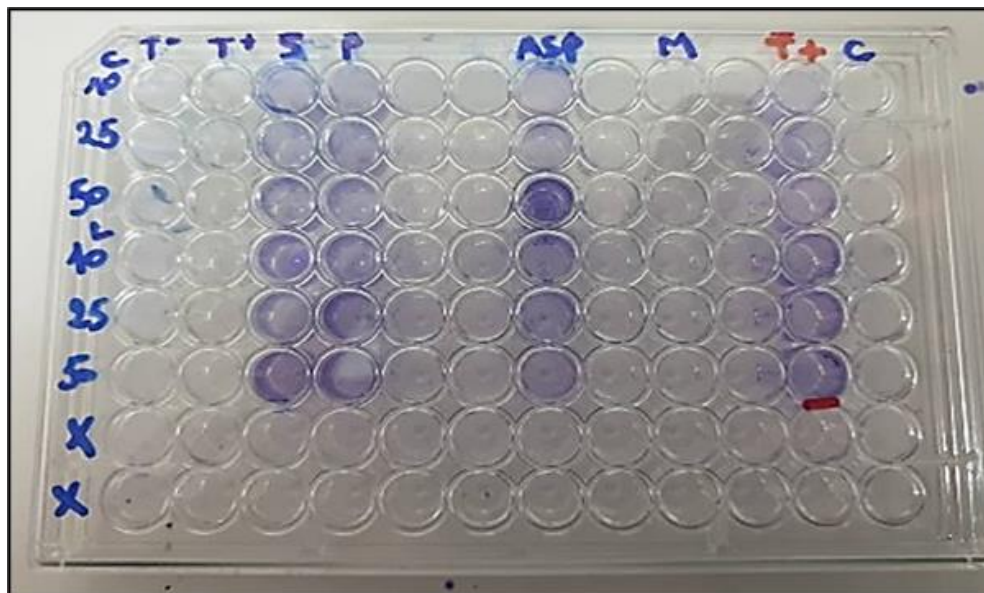


Figure 22 : Observation des halos au niveau des puits.

Les résultats d'évaluation de l'activité antibiofilm sur microplaque du ligand est représenté dans les (Figures 23)

D'après les résultats obtenus, nous observons que la bactérie *Staphylococcus aureus* a montré une formation modérée du biofilm vis-à-vis du ligand avec toutes les concentrations testées (10 mg/ml, 25 mg/ml et 50 mg/ml). Ce qui signifie une inhibition modérée de la formation du biofilm.

Le milieu polybactéries et l'*Aspergillus niger* présentent une faible formation du biofilm vis-à-vis du ligand avec toutes les concentrations testées (10 mg/ml, 25 mg/ml et 50 mg/ml).

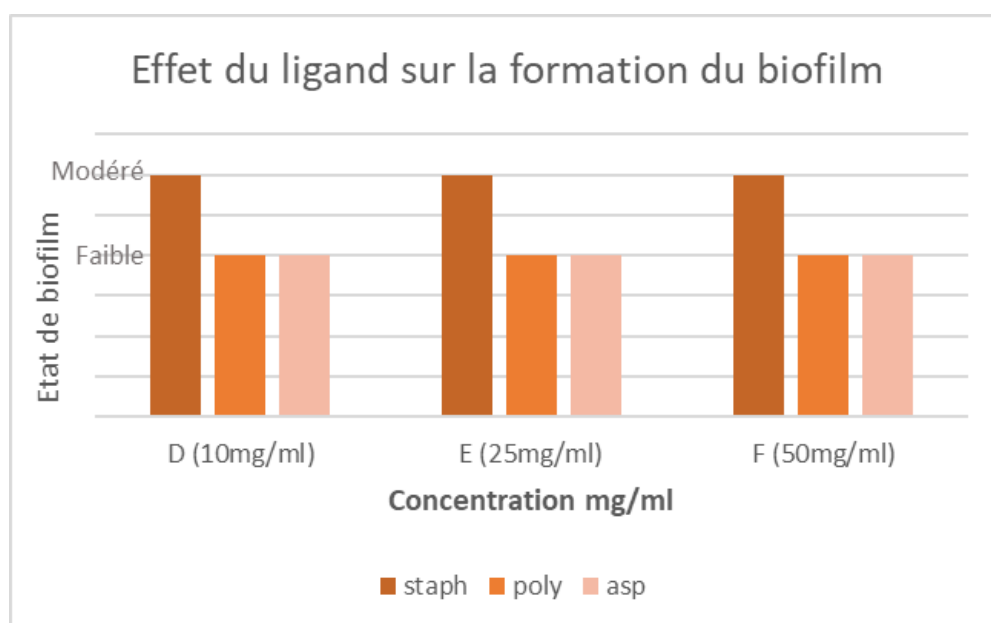


Figure 23 : Effet du ligand sur la formation du biofilm.

Par rapport au complexe, il a montré que tous les microorganismes testés présentent une absence de formation du biofilm (présente des valeurs de densités optiques inférieurs à celle du contrôle négatif) vis-à-vis du complexe avec toutes les concentrations testées (10 mg/ml, 25 mg/ml et 50 mg/ml) ce qui signifie l'absence de formation du biofilm et confirme les résultats précédents de test Rouge Congo (transformation des colonies noire en colonies roses).

L'évaluation de l'activité antibiofilm a montré que le complexe de cuivre (II) présente un excellent effet sur la formation du biofilm par rapport au ligand. Il permet de perturber la culture de biofilm et d'arrêter la croissance microbienne dans le milieu.

Selon (Xie *et al.*, 2025), les ligands organiques et les ions métalliques tels que Cu^{2+} possèdent des propriétés antibactériennes puissante et interagissent avec les membranes des bactéries, perturbent l'activité métabolique, provoquent une fuite de composants cellulaires et conduisent finalement à la mort cellulaire.

Les études de (Shree *et al.*, 2023) montrent que les agents pathogènes comme *P. aeruginosa* présentent une forte résistance aux antibiotiques en raison de la formation de biofilms, ce qui renforce nos résultats et confirme que le complexe a une grande efficacité à inhiber puis arrêter la formation du biofilm.

➤ Visualisation de l'effet du ligand et du complexe sous microscope optique

1. *Aspergillus niger*

Pour l'observation de l'*Aspergillus niger* sous microscope optique en grossissement x 40, le témoin indique des hyphes bien structurés, possédant des parois uniformes et de longs filaments denses. Lorsqu'il est soumis à l'action du ligand, une légère diminution de la densité des hyphes est constatée, cependant leur morphologie demeure préservée. Par contre, le traitement par le complexe provoque des changements avec une diminution des hyphes, une vacuolisation, une déformation des parois et une diminution significative de la densité des filaments. Par conséquent, le complexe a une activité antifongique significative à celle du ligand.

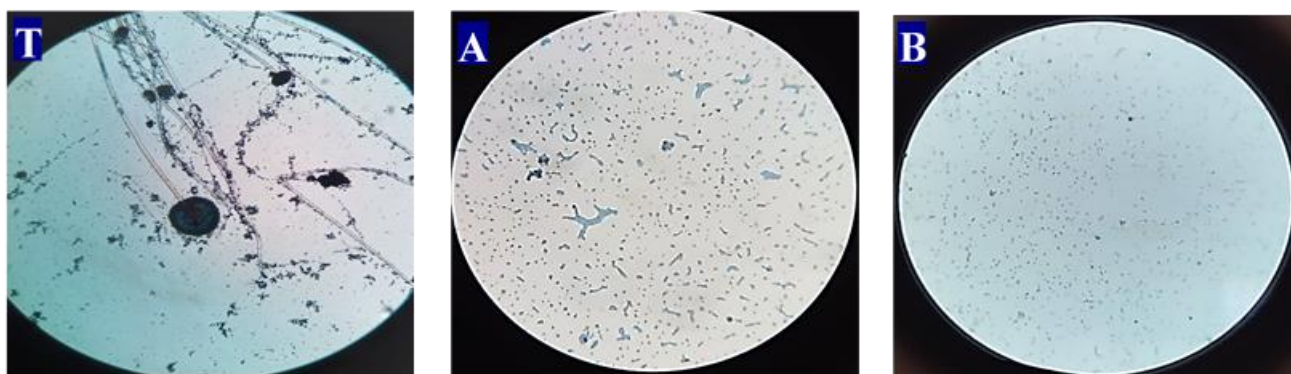


Figure 24 : Visualisation de l'effet du ligand et son complexe sur l'*Aspergillus niger* sous microscope optique à G*40 (T) : Témoin - (A) : Ligand – (B)

(Kumar *et al.*, 2022) ont également démontré que l'action des complexes de cuivre sur *Aspergillus niger* a provoqué une modification significative de la morphologie des hyphes au microscope optique, avec une diminution de la densité des hyphes et une vacuolisation. Cela

renforce l'idée que les complexes métal-ligand sont plus efficaces que les ligands seuls pour modifier la structure fongique.

2. *Staphylococcus aureus*

Au grossissement $\times 40$, l'échantillon révèle des coques distinctement visibles, regroupées en amas, accompagnées d'un grand nombre de cellules. En évaluation du ligand, on observe un léger relâchement des amas, mais la forme cellulaire reste intacte. En revanche, dans le complexe, il y a une désorganisation cellulaire marquée : les cellules sont déformées, les amas sont perdus et le nombre de bactéries est réduit, preuve d'une inhibition. Par conséquent, le complexe provoque une altération bactérienne importante par rapport au témoin et au ligand, ce qui laisse entendre une activité antibactérienne plus forte.

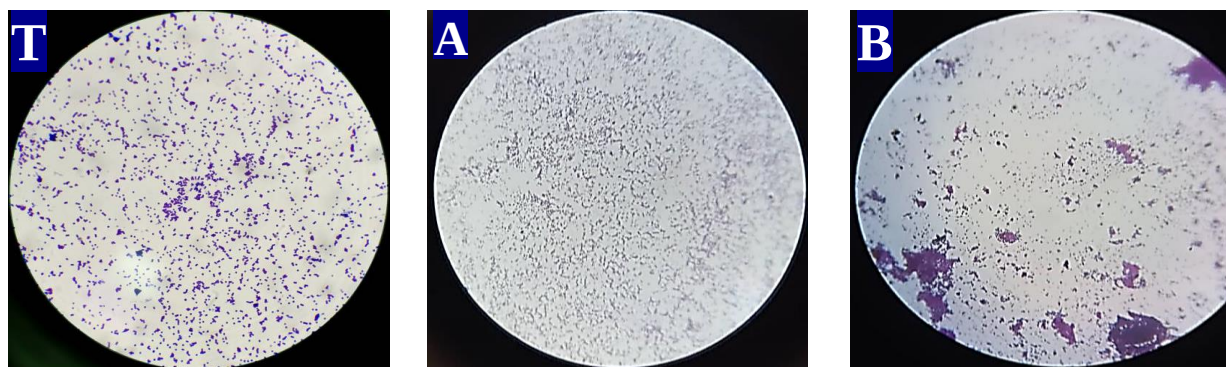


Figure 25: Visualisation de l'effet du ligand et son complexe sur *S. aureus* sous microscope optique à G*40 / **(T)** : Témoin - **(A)** : Ligand – **(B)** : Complexe

Les résultats observés, à savoir la déformation cellulaire et la perte des amas bactériens, sont en accord avec les mécanismes d'action proposés par (López *et al.*, 2019). Selon ces auteurs, l'activité antibactérienne des complexes métalliques résulte de l'interaction des ions métalliques avec les membranes cellulaires bactériennes. Cette interaction entraîne des ruptures au niveau de la paroi cellulaire et une libération de substances intracellulaires essentielles, perturbant ainsi l'intégrité cellulaire.

D'après (Kaul *et al.*, 2022) l'effet du complexe de Cu^{2+} sur *Staphylococcus aureus* génère des altérations morphologiques significatives. La microscopie confocale et la coloration révèlent une perturbation importante de la structure du biofilm, avec une diminution significative de la densité cellulaire et une augmentation du nombre de bactéries mortes. Le complexe qui empêche les mécanismes de résistance au cuivre chez *S. aureus*, provoquant un fort stress oxydatif et des nuisances cellulaires irréversibles.

3. Polybactéries

Au grossissement $\times 40$ avec l'exposition au ligand, on observe diverses bactéries de différentes formes (bacilles et cocci), nombreuses et visibles, sans aucun signe de destruction. En revanche, en présence du complexe polybactérien, on observe une réduction du nombre de cellules, des bacilles déformés et une densité bactérienne diminuée. Cela implique que l'utilisation du complexe aura un effet antibactérien sur diverses bactéries.

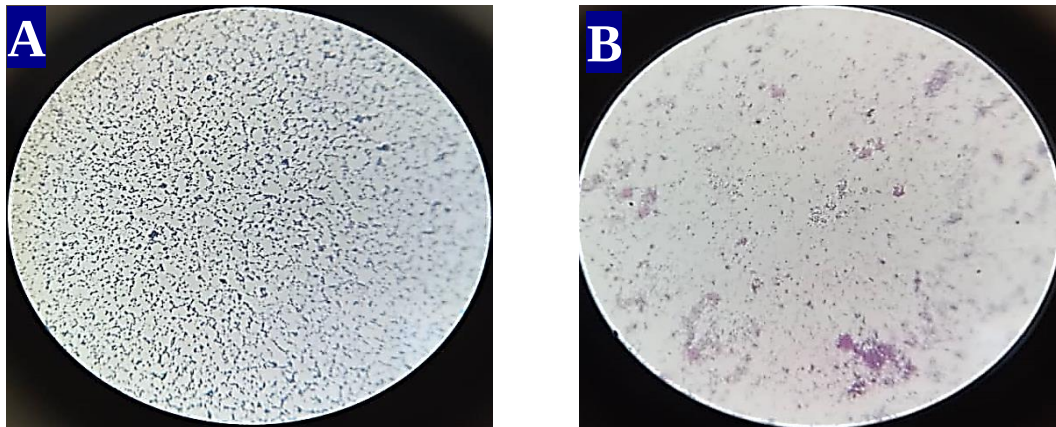


Figure 26: Visualisation de l'effet du ligand et son complexe sur le milieu polybactéries sous microscope optique à G*40 / **(A)** : Ligand – **(B)** : Complexe

Nos résultats sont en accord avec ceux de (López *et al.*, 2019), qui ont démontré que les complexes métalliques, en particulier ceux à base de cuivre, peuvent interagir avec les membranes cellulaires des bactéries, provoquant des ruptures dans la paroi cellulaire et réduisant leur densité. L'observation de la déformation et de la diminution du nombre de bactéries dans notre étude suggère également un effet antibactérien similaire. Ces observations confirment l'action antibactérienne du complexe sur les bactéries.

4. *Pseudomonas aeruginosa*

Au grossissement de $\times 40$, l'observation du témoin révèle des bacilles fins et bien dispersés, caractéristiques d'une bactérie Gram-négative sans signe d'inhibition de la prolifération bactérienne. En revanche, l'évaluation du ligand montre une inhibition marquée de l'adhésion bactérienne, avec un champ presque vide, indiquant une forte réduction de la croissance. En comparaison, le complexe présente une densité bactérienne plus élevée que celle observée avec le ligand seul, les bacilles sont plus nombreux et dispersés sur le champ, bien que leur nombre reste inférieur à celui du témoin. Ainsi, bien que le complexe réduise l'adhésion bactérienne, son efficacité est moindre que celle du ligand pur.

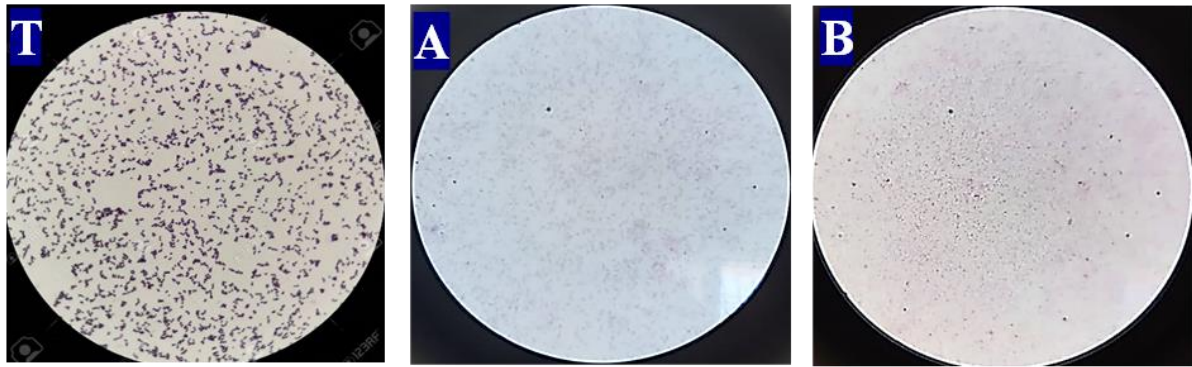


Figure 27 : Visualisation de l'effet du ligand et son complexe sur *P. aeruginosa* sous microscope optique à G*40 **(T) :** Témoin - **(A) :** Ligand – **(B) :** Complexe.

Les résultats observés de notre étude sont en accord avec ceux de (López *et al.*, 2019), qui ont montré que les complexes métalliques inhibent l'adhésion bactérienne en interférant avec les membranes cellulaires des bactéries. Cependant, les travaux de (Xie *et al.*, 2025) suggèrent que l'efficacité antiadhésive des complexes peut être réduite lorsqu'ils sont utilisés à des concentrations sub-inhibitrices, ce qui pourrait expliquer la moindre efficacité observée avec le complexe.

Selon (Savargaonkar *et al.*, 2023) des altérations cellulaires ont été observées au microscope qui indiquent l'absence de détection de colonies (aucune croissance après exposition au Cu^{2+}), ce qui indique une détérioration ou une modification significative de la morphologie cellulaire.

III.2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

Les résultats de l'effet anti-inflammatoire du ligand base de Schiff et son complexe contre la dénaturation protéique causée par la chaleur sont représentés dans la (Figure 28).

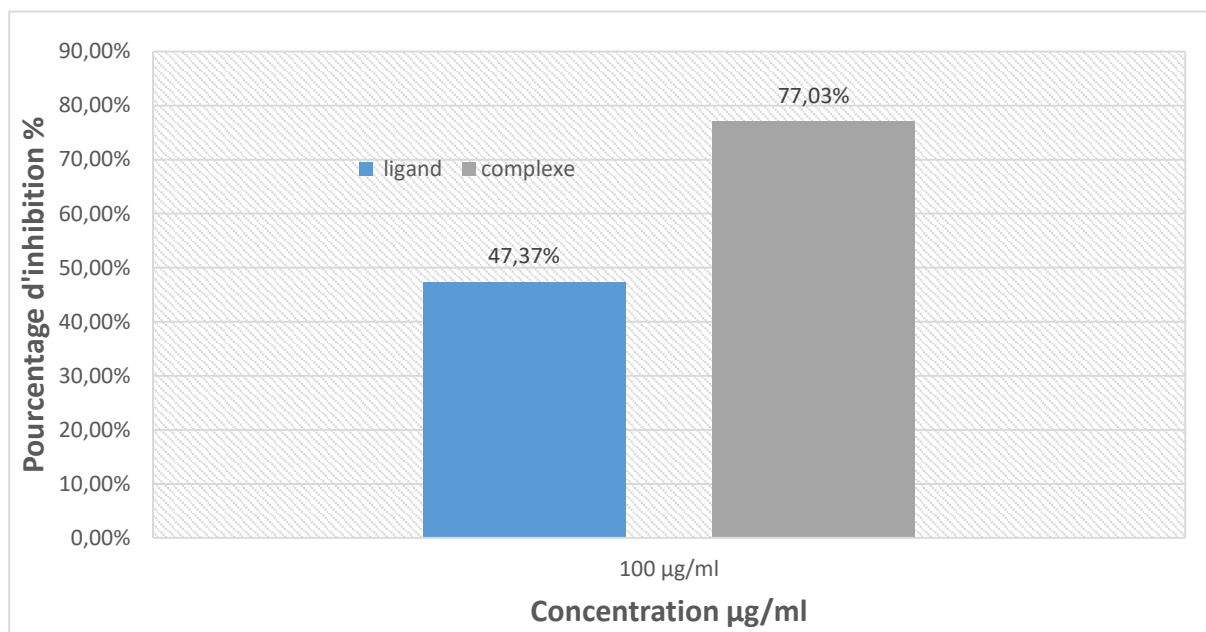


Figure 28 : Effet du ligand et du complexe sur l'inhibition de la dénaturation des protéines

D'après l'histogramme de pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique (Figure 28), on observe que le complexe Cu^{2+} présente une inhibition maximale de la dénaturation des protéines à un pourcentage de (77.03%) à la concentration (100 µg/ml), alors que le ligand présente une inhibition maximale de la dénaturation des protéines ne dépasse pas (47.37%) à la même concentration.

La solution standard de l'indométacine présente une inhibition maximale ne dépasse pas (40.9%) à une concentration plus élevée (250µg/ml) que la concentration du ligand et son complexe (Pourcentage d'inhibition de 77.03% et 47.37% à 100 µg/ml respectivement)

L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que le ligand base de Schiff et son complexe possèdent une activité anti-inflammatoire *in vitro* à la dose de 100 µg/ml plus élevé par rapport à l'indométacine à une concentration de (250 µg/ml), le complexe possède une activité anti-inflammatoire plus élevée par rapport au ligand dans la même concentration.

Les études de (Asue *et al.*, 2025) a montré que l'aspirine présente un pourcentage d'inhibition de 58,45 % à la concentration 1000 µg/ml, ce qui montre que le complexe présente

un pouvoir antiinflammatoire plus puissant par rapport à l'aspirine. (Pourcentage d'inhibition de 77.03% à 100 µg/ml)

Les études de (**Pontiki et al., 2008**) de l'activité antiinflammatoire *in vivo* du complexe corroborent avec nos résultats qui montrent que les complexe de cuivre (II) présentent une protection supérieure à celle de l'indométacine, à dose équivalente.

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* de (**Joseph et Nagashri., 2012**) montrent que l'activité du complexe de cuivre est supérieure à celle des autres complexes, en raison de sa forte diffusion, ces études donnent des confirmations que les complexes de cuivre des anti-inflammatoires non stéroïdiens sont des agents anti-inflammatoires plus actifs que leurs médicaments parents.

III.3.Évaluation de l'activité antioxydante

Les résultats du pouvoir antioxydant du ligand et son complexe de cuivre (II) par le test de DPPH sont représentés dans les **Figures (29, 30 et 31)**.

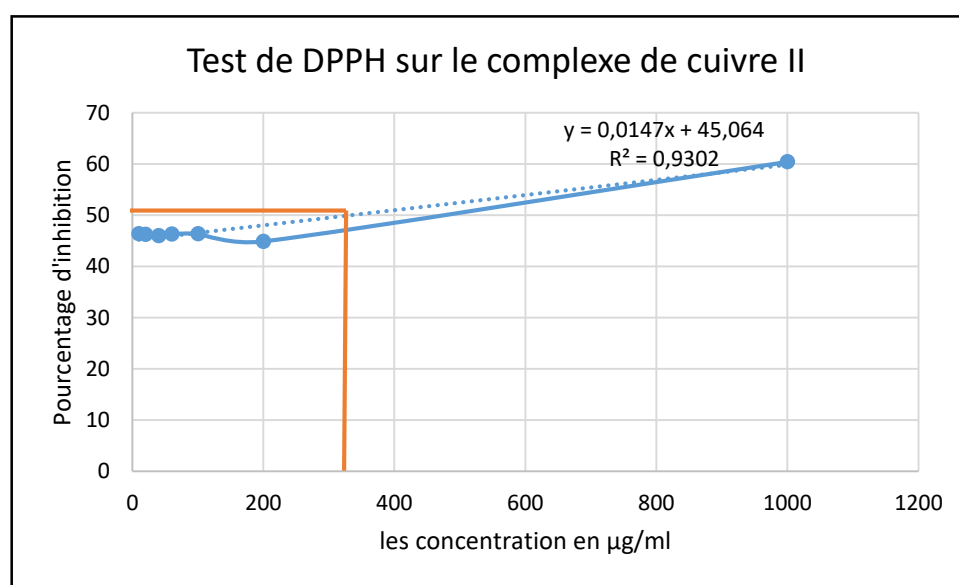


Figure 29: Pourcentage d'inhibition du complexe en fonction de concentration

Nous observons une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition du complexe de cuivre (II) en fonction de concentration (**Figure 29**) ; il présente une activité supérieure à 40% à partir d'une concentration inférieure à 200 µg/ml. La valeur d'IC₅₀ du complexe est de 335,78 µg/ml

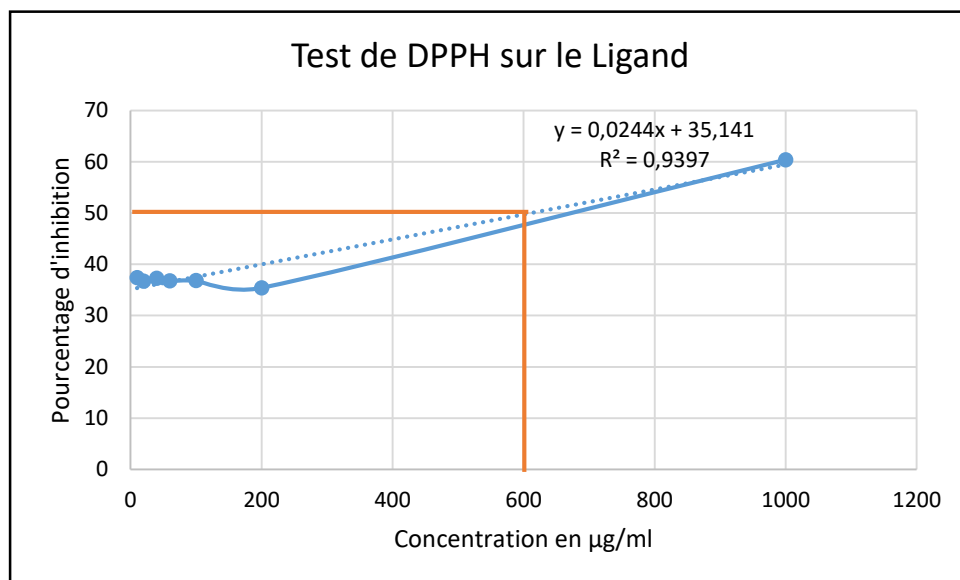


Figure 30: Pourcentage d'inhibition du ligand en fonction de concentration

Pour le ligand, nous observons une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition en fonction de concentration (**Figure 30**), il présente une activité supérieure à 30% à partir d'une concentration inférieure à 200 $\mu\text{g/ml}$. La valeur d' IC_{50} du ligand est de 608,9754 $\mu\text{g/ml}$.

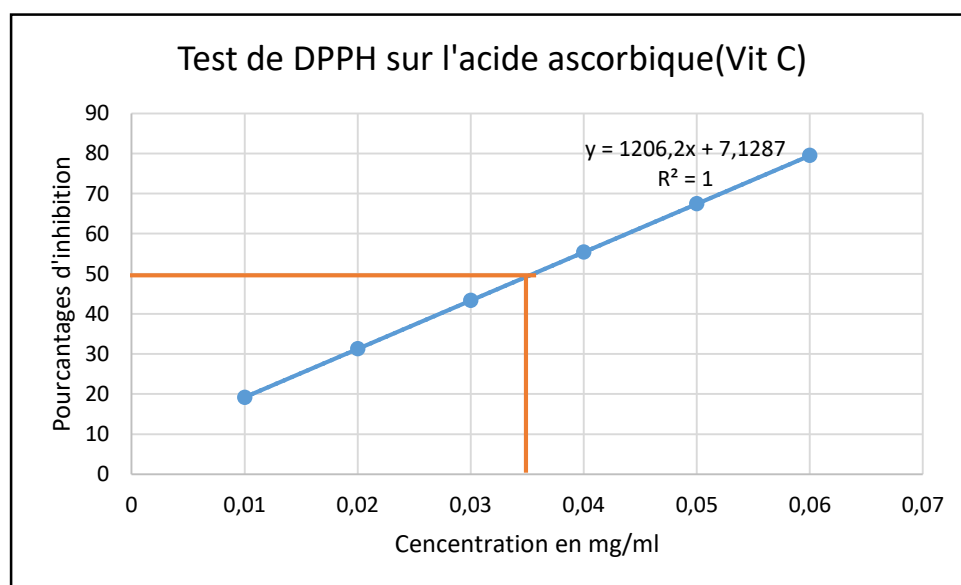


Figure 31: Pourcentage d'inhibition d'acide ascorbique (Vit C) en fonction de concentration

L'acide ascorbique est un antioxydant polyvalent utilisé dans le but de piéger les radicaux libres, d'après nos résultats nous observons une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition en fonction de concentration. L'acide ascorbique a montré une valeur d'IC₅₀ de 35 µg/ml.

D'après les résultats obtenus, On constate que le ligand et son complexe de cuivre (II) présentent un pouvoir antioxydant inférieur à celui de l'acide ascorbique qui présente une valeur d'IC₅₀ inférieure à celle du ligand et son complexe (IC₅₀=35 µg/ml) il nécessite une concentration beaucoup plus faible pour atteindre une inhibition de 50 %. D'autre part, le pouvoir antioxydant du complexe de cuivre (II) est supérieur par rapport au ligand (IC₅₀=335,78µg/ml) Cela indique que le complexe de cuivre II est plus efficace que le ligand, mais reste moins puissant que la vitamine C.

Les résultats de **(Pinheiro et al., 2023)** ne corroborent pas à nos résultats qui montrent que les ligands libres ne présentent aucune activité antioxydante tandis que les complexes de Cuivre II montrent une réaction particulière. Le complexe de cuivre montre une inhibition supérieure à nos résultats (5 µg/ml) avec un pourcentage de 86,1%.

Selon **(Yusuf et al., 2023)**, les complexes de cuivre (II) ont une activité de piégeage des radicaux DPPH supérieure à celle de leurs ligands et du témoin (acide ascorbique). Ces résultats corroborent à nos résultats qui prouvent que les ligands libres et leurs complexes ont montré une capacité de piégeage du DPPH supérieure à celle du témoin (acide ascorbique). Ces résultats montrent que le complexe de Cuivre présente une vitesse de piégeage plus élevée par rapport aux autres complexes testés avec une valeur d'IC₅₀ très proche de notre valeur (374,6 µM). Ces résultats confirment que la chélation du ligand à l'ion Cu (II) augmente l'activité antiradicalaire des complexes.



Conclusion Générale



Conclusion générale

Dans le cadre de cette étude, nous avons procédé à l'évaluation de certaines activités biologiques, pharmacologiques et antioxydantes d'un ligand de type base de Schiff, à savoir le bis (4-pyridinecarboxaldéhyde) éthylènediimine, ainsi que de son complexe de Cu^{2+}

Les résultats obtenus concernant les espèces bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*) ainsi qu'une espèce fongique (*Aspergillus niger*), révèlent que le complexe a démontré des zones d'inhibition nettes à de faibles concentrations, en comparaison avec les zones d'inhibition observées pour le ligand. Ce dernier a affiché une concentration minimale inhibitrice (CMI) inférieure à celle du ligand dans le cadre de l'activité antibactérienne (5mg/ml chez le complexe par rapport à 25mg/ml chez le ligand). En revanche, en ce qui concerne l'activité antifongique, le complexe montre un effet supérieur à celui du ligand en présentant des zones d'inhibitions plus marquées et de CMI plus faibles (1000µg/ml).

Le complexe de cuivre II a montré sa forte capacité d'éliminer tout le biofilm bactérien dans différentes concentrations (à partir de 10mg/ml) au niveau de l'activité antibiofilm. De plus, il a prouvé aussi qu'il a un potentiel antiinflammatoire supérieur (77.03%) à celle du ligand libre (47.37%).

En outre, dans l'activité antioxydante le complexe Cu (II) est plus efficace que le ligand avec un IC_{50} plus faible ($\text{IC}_{50}=335,78\mu\text{g/ml}$ par rapport à $608,9754\mu\text{g/ml}$). Mais la vit C a prouvé sa plus grande puissance antioxydante étant dix fois plus forte que le complexe et 17 fois plus forte que le ligand avec ($\text{IC}_{50}=35\mu\text{g/ml}$) ce qui confirme son statut référence.

Enfin, le complexe est la sélection optimale pour assiéger, les bactéries les champignons l'inflammation et le biofilm.

Pour conclure et ouvrir sur l'avenir il serait intéressant de poursuivre notre travail par des études pharmaco-toxicologiques pour trouver la forme d'administration idéale dans le but de développer de nouvelles molécules thérapeutiques contre certaines maladies comme le cancer et utiliser en bio-imagerie in vivo et comme un agent antimicrobien et antioxydant sous forme d'un conservateur des produits cosmétiques.



Références bibliographiques



Références bibliographiques

Alfadhawi, A., Mohammed, I. H., & Zaidan, D. H. (2021). Synthesis, Characterization and Evaluation of fungal Activity of Copper(II) and Cobalt(II) Complexes with Imine Glutaraldehyde Derivatives. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1058(1), 012078. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/1058/1/012078>

Al-Jubouri, A. N., & Abod, M. K. (2024). Antibiotic Sensitivity of the Staphylococcus aureus and Streptococcus pyogenes Isolated from Pediatric Skin Infections. *Medical Science Journal for Advance Research*, 5(4). <https://doi.org/10.46966/msjar.v5i4.23>

Asue, B. A., Abongwa, E. L., Mayoudom, V. T., Narcisse, B. H., Valentine, N., Fokunang, L. B., Borgia, N. N., Tembe-Fokunang, E., Ngameni, B., Abouzeid, S., & Fokunang, C. N. (2025). Preclinical Evaluation of the Anti-inflammatory Properties of Plants Extracts of Ficus exasperata (Moraceae) on Wistar Rat Models. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 27(1), 53-62. <https://doi.org/10.9734/jamps/2025/v27i1746>.

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.

Bargotya, S., & Mathur, N. (2017). Advances in the Research of Novel N/S Containing Metal Complexes as Potent Antioxidants. *IOSR Journal of Applied Chemistry (IOSR-JAC)*, 10(8), 18-23. <https://doi.org/10.9790/5736-1008021823>.

Chung, P. Y., Khoo, R. E. Y., Liew, H. S., & Low, M. L. (2021). Antimicrobial and antibiofilm activities of Cu(II) Schiff base complexes against methicillin-susceptible and resistant Staphylococcus aureus. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 20(1), 67. <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00473-4>.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2020). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (30th ed., CLSI supplement M100). Clinical and Laboratory Standards Institute.

Dawood, H. T., & Abdullah, A. H. (2025). Molecular Detection of *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Respiratory Infected Sheep and Histopathological Study in Rabbits. *Egyptian Journal of veterinary sciences* 56 (6), 1143-1152. <https://doi.org/10.21608/ejvs.2024.280375.1976>

Références bibliographiques

Devidas, S. M., Quadri, S. H., & Kamble, S. A. (2011). *Novel One-Pot Synthesis of Schiff Base Compounds Derived From Different Diamine & Aromatic Aldehyde Catalyzed by P2O5/SiO2 Under Free-Solvent Condition at Room Temperature.*

ELMAHDI, I. (2002). Synthèse et caractérisation de la bis (4-pyridinecarboxaldéhyde) éthylènediimine et de son complexe de cuivre (II). *Étude théorique (Thèse de Magister, Université Saad Dahlab Blida-1).*

Emam, S. M., Abouel-Enein, S. A., & Abdel-Satar, E. M. (2019). Structural characterization, thermal investigation and biological activity of metal complexes containing Schiff Base ligand (Z)-3-(1-((4,6-dimethyl-1H-pyrazolo[3,4-b] pyridin-3-yl)imino)ethyl)-4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one. *Applied Organometallic Chemistry*, 33(5), e4847.

<https://doi.org/10.1002/aoc.4847>.

Emir, H., Suljagić, J., & Suljkanović, M. (2019). Copper, Schiff base, FTIR, UV/Vis, Antimicrobial activity. *American Journal of Organic Chemistry*, 9(1), 9-13. <https://doi.org/DOI: 10.5923/j.ajoc.20190901.02>

Gupta, S., Kaur, H., & Kumar, R. (2017). Copper(II) complexes of Schiff base ligands: Synthesis, characterization, and antimicrobial studies. *Inorganic Chemistry Communications*, 82, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2017.01.015>

Hoque, F., Nazmun N., Annie, F. S., Afsana R., Hossain, M. K., Mohammad N. A. R., Alkadi, K. A. A., Rosidah B. S., Sulong, N. A., & Abul Kalam A. (2025). *Synthesis, characterization and complexation of Schiff base ligand p-anisalcefuroxime with Cu²⁺ and Fe²⁺ ions; antimicrobial and docking analysis with PBP2xt0 study pharmacokinetic parameters.* Zenodo. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.14647651>

Hordyjewska, A., Popiolek, L., & Kocot, J. (2014). *The many "faces" of copper in medicine and treatment.* *Biometals: An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine*, 27(4), 611–621. <https://doi.org/10.1007/s10534-014-9736-5>

Joseph, J., & Nagashri, K. (2012). Novel Copper-Based Therapeutic Agent for Anti-Inflammatory: Synthesis, Characterization, and Biochemical Activities of Copper(II)

Références bibliographiques

Complexes of Hydroxyflavone Schiff Bases. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(5), 1446-1458. <https://doi.org/10.1007/s12010-011-9529-z>

Kar, B., Kumar, R. S., Karmakar, I., Dola, N., Bala, A., Mazumder, U. K., & Hadar, P. K. (2012). Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S976-S980. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60346-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60346-3).

Kaul, L., Abdo, A. I., Coenye, T., Krom, B. P., Hoogenkamp, M. A., Zannettino, A. C. W., Süss, R., & Richter, K. (2022). The combination of diethyldithiocarbamate and copper ions is active against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms in vitro and in vivo. *Frontiers in Microbiology*, 13, 999893. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.999893>

Khan, M. A., Shah, A. Z., & Khan, M. A. (2013). Antibacterial and antifungal activities of Schiff base metal complexes. *Journal of Coordination Chemistry*, 66(1), 1–17. <https://doi.org/10.1080/00958972.2012.745040>

Kothari, R. (2023). Anti-cancer activity of novel Schiff base copper (II) complex: synthesis and characterization. *Journal of Optoelectronic and Biomedical Materials*, 15(4), 127–140

Khurram S. M., Shah M. H., Syed Ammar H., & Hamid R. (2018). Schiff Bases : Multipurpose Pharmacophores with Extensive Biological Applications. *Journal of Basic & Applied Sciences*, 14, 217-229. <https://doi.org/10.6000/1927-5129.2018.14.34>

Leelavathy, C., & Arul Antony, S. (2013). Synthesis, spectral characterization and biological activity of metal(II) complexes with 4-aminoantipyrine derivatives. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 113, 346-355. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.04.0550>.

Li, T., Li, L., Du, F., Sun, L., Shi, J., Long, M., & Chen, Z. (2021). Activity and Mechanism of Action of Antifungal Peptides from Microorganisms : A Review. *Molecules*, 26(11), 3438. <https://doi.org/10.3390/molecules26113438>

Lukehart, C. M. (1985). *Fundamental Transition Metal Organometallic Chemistry*. Brook/Cole, Monterey.

Meena, R., Meena, P., Kumari, A., Sharma, N., & Fahmi, N. (2023). Schiff Bases and Their Metal Complexes : Synthesis, Structural Characteristics and Applications. In T. Akitsu (Éd.),

Références bibliographiques

Schiff Base in Organic, Inorganic and Physical Chemistry. IntechOpen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.108396>

Mokhnache, K., Karbab, A., & Charef, N. (2020). *SCHIFF BASES: Classification And Applications Les Bases De Schiff: Classification Et Applications*. 19(4).

Moemen, D., Bedir, T., Awad, E. A., & Ellayeh, A. (2015). Fungal keratitis: Rapid diagnosis using methylene blue stain. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(4), 289–294.
<https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2015.08.001>

Mumtaz, A., Mahmud, T., Khalid, M., Khan, H., Sadia, A., Samra, M. M., & Basra, M. A. R. (2022). Biological Evaluation of Synthesized Schiff Base-Metal Complexes Derived from Sulfisomidine. *Journal of Pharmaceutical Innovation*, 17(1), 37-45.
<https://doi.org/10.1007/s12247-020-09476-8>

Nakahata, D., Corsino, C., De Moraes, G., Pereira, G., Cruz, Á., Pereira, D. H., Cassani, N., Ruiz, U. E., Santos, I., Jardim, A. C., & Corbi, P. (2024). Synthesis, Characterization and in vitro Evaluation of 4-(2-Aminoethyl)benzenesulfonamide Schiff Bases against Arboviruses. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20240049>

Pervaiz, M., Ahmad, I., Yousaf, M., Kirn, S., Munawar, A., Saeed, Z., Adnan, A., Gulzar, T., Kamal, T., Ahmad, A., & Rashid, A. (2019). Synthesis, spectral and antimicrobial studies of amino acid derivative Schiff base metal (Co, Mn, Cu, and Cd) complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 206, 642-649.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.05.057>

Pinheiro, A. C., Nunes, I. J., Ferreira, W. V., Tomasini, P. P., Trindade, C., Martins, C. C., Wilhelm, E. A., Oliboni, R. D. S., Netz, P. A., Stieler, R., Casagrande, O. D. L., & Saffi, J. (2023). Antioxidant and Anticancer Potential of the New Cu(II) Complexes Bearing Imine-Phenolate Ligands with Pendant Amine N-Donor Groups. *Pharmaceutics*, 15(2), 376.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020376>

Pontiki, E., Hadjipavlou-Litina, D., & Chaviara, A. T. (2008). Evaluation of anti-inflammatory and antioxidant activities of Copper (II) Schiff mono-base and Copper(II) Schiff base coordination compounds of dien with heterocyclic aldehydes and 2-amino-5-methyl-thiazole. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 23(6), 1011-1017.
<https://doi.org/10.1080/14756360701841251>

Références bibliographiques

- Pratama, A., Sebayang, F., & Nasution, R. B. (2019).** Antibacterial Properties of Biofilm Schiff Base Derived from Dialdehyde Cellulose and Chitosan. *Indonesian Journal of Chemistry*, 19(2), 405. <https://doi.org/10.22146/ijc.34721>
- Raczuk, E., Dmochowska, B., Samaszko-Fiertek, J., & Madaj, J. (2022).** Different Schiff Bases—Structure, Importance and Classification. *Molecules*, 27(3), 787. <https://doi.org/10.3390/molecules27030787>
- Rajendran, V., Sekar, P., & Shanmugam, M. (2015).** Copper(II) Schiff base complexes and their antimicrobial activity: Synthesis, characterization, and structure-activity relationship. *Journal of Molecular Structure*, 1086, 189–198. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2015.04.017>
- Rana, Md. S., Rayhan, N. M. A., Emon, Md. S. H., Islam, Md. T., Rathry, K., Hasan, Md. M., Islam Mansur, Md. M., Srijon, B. C., Islam, M. S., Ray, A., Rakib, Md. A., Islam, A., Kudrat-E-Zahan, Md., Hossen, Md. F., & Asraf, Md. A. (2024).** Antioxidant activity of Schiff base ligands using the DPPH scavenging assay : An updated review. *RSC Advances*, 14(45), 33094-33123. <https://doi.org/10.1039/D4RA04375H>
- Savargaonkar, A. V., Munshi, A. H., Soares, P., & Popat, K. C. (2023).** Antifouling Behavior of Copper-Modified Titania Nanotube Surfaces. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(8), 413. <https://doi.org/10.3390/jfb14080413>
- Shree, P., Singh, C. K., Sodhi, K. K., Surya, J. N., & Singh, D. K. (2023).** Biofilms : Understanding the structure and contribution towards bacterial resistance in antibiotics. *Medicine in Microecology*, 16, 100084. <https://doi.org/10.1016/j.medmic.2023.100084>
- Sidney, F., & Kettle, A. (1999).** *Une approche basée sur la chimie de coordination*. De Boeck.
- Singh, P. K., Singh, R., & Singh, H. (2012).** Synthesis, characterization, and antifungal activities of Cu(II) and Ni(II) Schiff base complexes. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, Article ID 218795. <https://doi.org/10.1155/2012/218795>
- Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Bonaventura, G. D., Djukić, S., Ćirković, I., & Ruzicka, F. (2007).** Quantification of biofilm in microtiter plates : Overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 115(8), 891-899. https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x

Références bibliographiques

Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (1989). Microbiology. *Benjamin-Cummings Publishing Company*, pp. 55–60.

Turan, N., & Buldurun, K. (2018). Synthesis, characterization and antioxidant activity of Schiff base and its metal complexes with Fe(II), Mn(II), Zn(II), and Ru(II) ions : Catalytic activity of ruthenium(II) complex. *European Journal of Chemistry*, 9(1), 22-29. <https://doi.org/10.5155/eurjchem.9.1.22-29.1671>

Wang, H., Ma, X., Sun, L., Bi, T., & Yang, W. (2025). Applications of innovative synthetic strategies in anticancer drug discovery: The driving force of new chemical reactions. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 119, 130096. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2025.130096>.

Xie, Y., Liu, H., Teng, Z., Ma, J., & Liu, G. (2025). Nanomaterial-enabled anti-biofilm strategies : New opportunities for treatment of bacterial infections. *Nanoscale*, 17(10), 5605-5628. <https://doi.org/10.1039/D4NR04774E>

Yusuf, T. L., Waziri, I., Olofinson, K. A., Akintemi, E. O., Hosten, E. C., & Muller, A. J. (2023). Evaluating the in vitro antidiabetic, antibacterial and antioxidant properties of copper(II) Schiff base complexes : An experimental and computational studies. *Journal of Molecular Liquids*, 389, 122845. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.122845>

Zare, N., & Zabardasti, A. (2019). A new nano-sized mononuclear Cu (II) complex with N,N-donor Schiff base ligands : Sonochemical synthesis, characterization, molecular modeling and biological activity. *Applied Organometallic Chemistry*, 33(1), e4687. <https://doi.org/10.1002/aoc.4687>



Annexe



Annexes

Annexe 01 : Matériel utilisé

Matériel non biologique

Tableau IV : Différentes matériel et produits chimiques utilisés

Appareillages	Verreries	Réactifs et produits chimiques	Milieus de culture
Agitateur magnétique Autoclave Bain marie Balance de précision Bec bunsen Etuve de séchage Micropipette Microscope optique Spectrophotomètre Vortex Lecteur de plaque Réfrigérant	Écouvillons stériles Embouts Erlenmeyer Béchers Boîtes pétries Eprouvette Flacons stériles Lames et lamelles Papier filtre Pince Pipettes pasteur Spatule Tubes à essai Tubes secs Portoir Plaqué à 96 puits Anse de platine Pissette Fioles Seringue	DPPH (- 2,2'diphenyl-1-picrylhydrazyl) Méthanol Lugol Violet de Gentiane Rouge congo Glucose Tampon phosphate salin (PBS) Acide ascorbique (vitamine C) Alcool Indométacine (comprimé anti-inflammatoire)	<u>Milieus solides</u> Gélose nutritif Mueller Hinton Gélose rouge Congo <u>Milieus liquides</u> Bouillon BHI (BHIB) Eau physiologique

Annexes

Matériel biologique

✓ Microorganismes testés

Tableau V : Souches microbiennes utilisées dans les activités biologiques.

Microorganisme testé	Souche	Gram	Référence	
Espèce fongique	<i>Aspergillus niger</i>		ATCC 1015	
Souches bactériennes	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -	ATCC 9027	
	<i>Escherichia coli</i>	Gram -	ATCC 8139	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	ATCC 6538	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gram -	Souche clinique	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Gram +	ATCC 49532	

✓ Prélèvement et séparation du sérum biologique au laboratoire.



Figure 32 : Sérum biologique séparé

Annexe 02 : Préparation des milieux de culture

✚ Préparation du gélose nutritif Mueller Hinton

- ✓ Dissoudre 38 grammes de la poudre Muller Hinton dans un litre d'eau distillée.
- ✓ Bien mélanger à l'aide d'un agitateur.
- ✓ Laisser reposer jusqu'à l'obtention d'une suspension uniforme.
- ✓ Faire bouillir entre 30 secondes à deux minutes,
- ✓ Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 30 min.
- ✓ Versez doucement le liquide dans des boîtes de pétri de 4 mm d'épaisseur.
- ✓ Laisser refroidir et solidifier sur la paillasse.



Figure 33 : Préparation du gélose Muller Hinton.

✚ Préparation de BHIB

- ✓ Mettre en suspension 37 g du milieu dans 1L d'eau distillée,
- ✓ Bien mélanger à l'aide d'un agitateur ;
- ✓ Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min.

Annexe 03 : Dilutions et colorations

✚ Coloration des lames

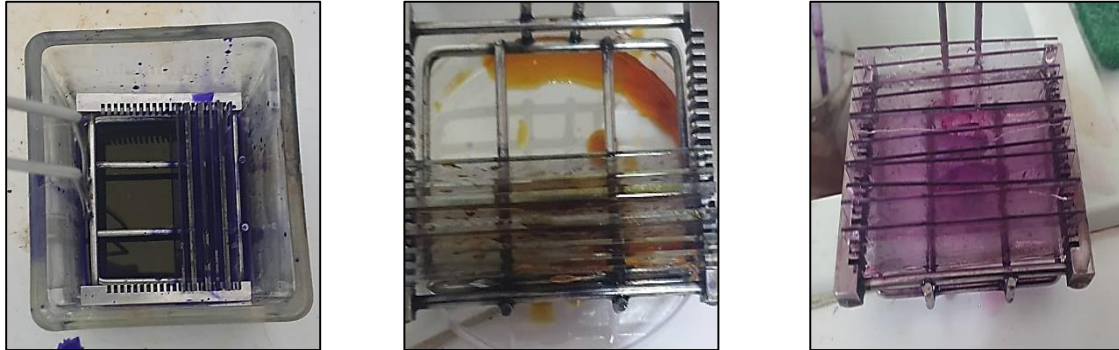


Figure 34 : Coloration de gram (1: violet de gentiane -2: Lugol - 3: Fuschine)

✚ Dilution du sérum et Indométacine

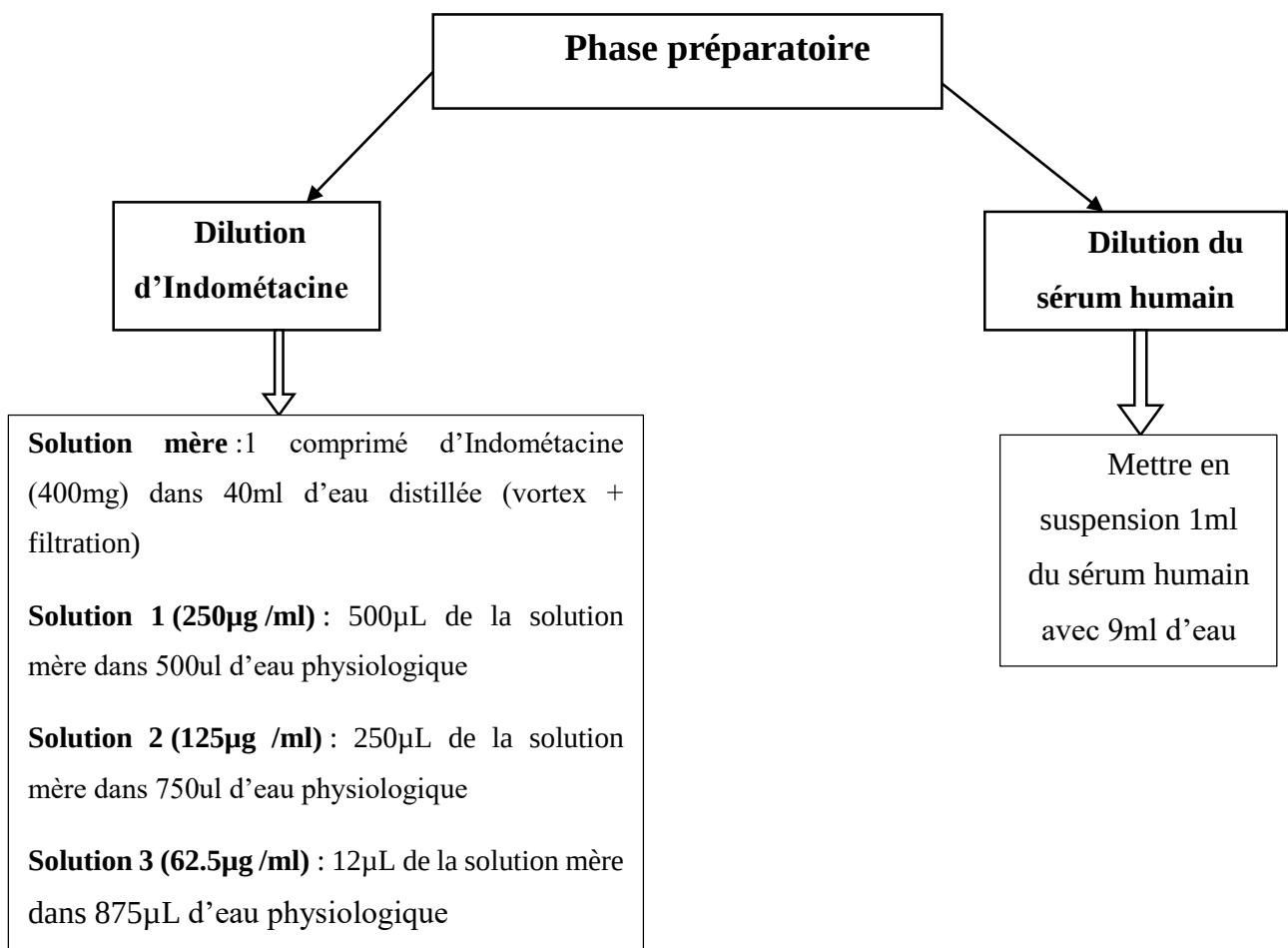


Figure 35 : Diagramme de la phase préparatoire de l'activité anti-inflammatoire.

Annexes

Annexe 04 : Résultats

🚦 Résultats de l'activité anti-inflammatoire

Tableau VI : Densité optique du ligand et son complexe.

Concentration / densité optique	Ligand (100 µg/ml)	Complexe (100 µg/ml)
Molécule (solution test)	0,22	0,24
C (contrôle Produit L)	0,11	0,137
D (contrôle Produit C)	0,192	0,079

Tableau VII : Densités optiques d'Indométacine.

Concentrations d'indométacine	Pourcentage d'inhibition	Densité optique
62.5 µg/ml	31.5 %	0.252
125 µg/ml	33.48 %	0.251
250 µg/ml	40.9 %	0.202

🚦 Résultats de l'activité antibiofilm

Tableau VIII : Densités optiques du biofilm.

Concentration/ Densité optique		Témoin négatif	<i>S.aureus</i>	Poly	<i>A.niger</i>	Témoin positif
Complexe	A (10mg/ml)	0,376	0,23	0,232	0,152	0,128
	B (25mg/ml)	0,184	0,227	0,283	0,128	0,438
	C (50mg/ml)	0,311	0,227	0,197	0,128	0,124
Ligand	D (10mg/ml)	0,096	0,233	0,188	0,153	0,101
	E (25mg/ml)	0,056	0,2	0,164	0,15	0,1
	F (50mg/ml)	0,132	0,234	0,167	0,142	0,15

Annexes

Activité antioxydante

Tableau IX : Résultats des absorbances et pourcentages d'inhibitions du ligand aux différentes concentrations.

Concentration (µg/ml)	Absorbance	Pourcentage d'inhibition
10	0,6686	37,37941369
20	0,6756	36,72379882
40	0,6695	37,29512035
60	0,6748	36,79872623
100	0,6747	36,80809216
200	0,6895	35,421935
10000	0,6239	60,39149574

Tableau X : Résultats des absorbances et pourcentages d'inhibitions du complexe aux différentes concentrations.

Concentration (µg/ml)	Absorbance	Pourcentage d'inhibition
10	0,5728	46,35197153
20	0,5738	46,25831226
40	0,5767	45,98670038
60	0,5733	46,30514189
100	0,5728	46,35197153
200	0,5884	44,89088695
10000	0,4229	60,39149574

Tableau XI : Résultats des absorbances et pourcentages d'inhibitions de l'acide ascorbique (Vit C) aux différentes concentrations.

Concentration (mg/ml)	Pourcentage d'inhibition %
0.1	19.19
0.2	31.25
0.3	43.32
0.4	55.38
0.5	67.44
0.6	79.5

Annexe 05 : Figures



Figure 36 : Lecteur de plaque



Figure 37 : Solutions d'Indométacine.

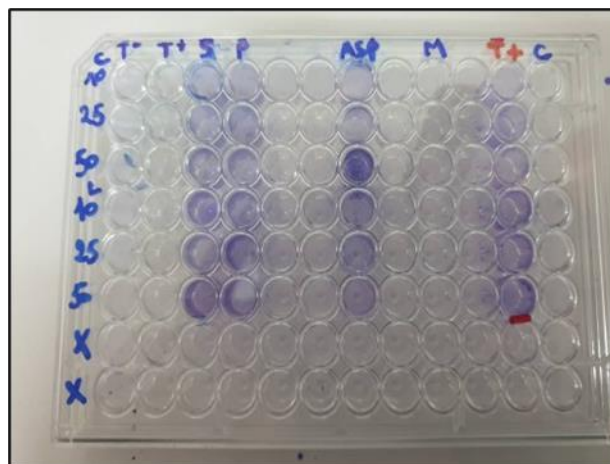


Figure 38 : Microplaque du biofilm.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة سعد دحلب البلدية 1

Université SAAD DAHLAB-Blida 1

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie

Thème :

**Étude de quelques activités biologiques et pharmacologiques
du complexe de Cu(II) de type base de Schiff**

Présenté par :

Soutenu le : 07/07/2025

Melle Radja Nesrine

Melle El Hadj Tahar Amira Naçera

Devant les membres de jury composé de :

Dr AMOKRANE A.	MCB	USDB1	Présidente
Dr TALEB M.	MCA	USDB1	Examinatrice
Mme EL MAHDI I.	MAA	USDB1	Promotrice
Dr BOULESNAM L. S.	Docteur	USDB1	Co-Promotrice
Pr BELAL R.	Professeur	USDB1	Invité
Pr SAIDI F.	Professeur	USDB1	Invité

Année universitaire : 2024/2025