

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**UNIVERSITÉ de BLIDA 1**

**Faculté de Technologie**

**Département de Génie des Procédés**



# **Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER EN GENIE DES PROCEDES**

**Spécialité : GENIE CHIMIQUE**

Intitulé du mémoire

**SYNTHESE, CARACTERISATION ET ETUDE  
DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DE  
QUELQUES BASES DE SCHIFF.**

Réalisé par:

- KECHOUT Nesrine
- MADANI Hicham

Encadré par:

Dr. HADJEB DJELLEAB Rihana

Année universitaire 2020/2021



## Remerciement

الحمد والشكر لله الذي كان عوننا لنا لإنهاء هذا العمل وسخر لنا القوة لإتمامه، فكل التوفيق منه وحده وكل سهو أو خطأ فمننا ومن الشيطان

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Au début, nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à notre promotrice et directrice Mme « HADJEB RIHANA » pour son encadrement en me faisant bénéficier de ses connaissances, son soutien, et de ses conseils. Qu'elle trouve ici nos sentiments de gratitude et de profonde reconnaissance pour sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce travail de recherche.

Nous remercions également toute l'équipe de laboratoire d'hygiène, plus précisément Mr TEFFAHI et Mme NAKKAB pour leurs disponibilités et pour l'encadrement exemplaire qui nous a montré durant toute la période de stage, ainsi que toutes les personnes que nous avons côtoyées au laboratoire, pour leur aide, leur bonne humeur et leur gentillesse.

Nos sincères remerciements vont également à tous les membres de département de Génie des Procédés spécialement le responsable de Master Génie Chimique Mr AOUDJ et le chef de département Mme BOUTEMAK, et à mes chères enseignants Ms ISSAADI, Ms TOUIL et Ms BOUCHERIT pour leurs merveilleux efforts de nous orienter vers le bon chemin.

Nos vifs remerciements vont aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nos remerciements les plus dévoués à nos chers parents qui n'ont jamais cessé de nous soutenir et qui ont toujours été présents pour nous, à nos frères et sœurs et notre famille et nos ami(e)s qui ont été à notre côté durant la réalisation de ce travail et qui nous ont soutenu dans les moments difficiles et d'encouragement.



## *Dédicace*

A la mémoire de mon père

Celui qui a tout fait pour me voir réussir, ce travail est le fruit de tes sacrifices

J'aurais souhaité ta présence en ce moment pour partager ma joie avec toi

Tu m'as toujours fait preuve d'amour et d'affection pour encouragement et soutien tout au long de mes études.

Tu es toujours présent dans mon esprit et dans mon cœur, aussi dans ce moment exceptionnel pour moi, tu as toutes mes pensées cher bouclier...

Que tes âmes reposent en paix

\*\*\*\*\*

A ma mère, ma vie tu es ma force, mon courage et mon bonheur, le plus beau cadeau que le bon Dieu m'a offert, que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde la santé, le bonheur, et te protège de tout mal.

A ma très chère tante qui a toujours été présente depuis mon enfance, et leurs prières qui ont été à la base de ma réussite.

A mes adorables sœurs Zohor et Hadjer je vous remercie pour le soutien moral et l'encouragement que vous m'avez accordé, que Dieu vous protège et vous offre tout le bonheur. Je vous aime

A mes chères amies Niama et Imene, les plus chères à mon cœur qui m'ont énormément aidé. Merci pour les précieux conseils et encouragements que ce travail puisse être l'expression de mes sentiments d'amitié les plus sincères

A mon ami Mahieddine, tu n'es pas seulement mon ami tu es mon confident, que cela soit dans les moments de joie ou de désespoir, que Dieu te protège

A mes camarades ainsi que toute ma famille, que Dieu vous garde en bonne santé

***NESRINE***

# Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mon cher père, et ma chère mère pour leurs amours, leur confiance et pour les valeurs qu'ils m'ont transmises.

A mes sœurs.

A Toute ma grande famille.

A mes enseignants et professeurs du primaire à l'Université.

A Tous ceux qui m'ont transmis leurs connaissances.

A ma promotrice madame Hadjeb Rihanna

A mes amis et mes collègues : Hichem, Nassima, Ferial, Mounir,

Kheiro, Remdhan, Moncef, Lamia, Sidahmed, Saleh,

Wassim, Soumeya, Youcef, Chaïma, Rania, .....

Surtout les étudiants de M2 génie chimique

Promotion 2020-2021.

**HICHAM**

---

## SOMMAIRE

REMERCIEMENT

DEDICACE

RESUME

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS

<b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....	1
<b>CHAPITRE 1 ELIMENTS BIBIOGRAPHIQUES</b> .....	3
1.1. INTRODUCTION.....	4
1.2. GENERALITES SUR LES BASES DE SCHIFF.....	4
1.2.1. Définition des bases de Schiff.....	4
1.2.2. Classification des bases de Schiff.....	5
1.2.3. La synthèse des bases de Schiff.....	6
1.2.3.1. Synthèse conventionnelle.....	6
1.2.3.2. Synthèse verte.....	6
1.2.4. Caractérisations des bases de Schiff.....	7
1.2.5. Applications des bases de Schiff.....	7
1.3. GENERALITES SUR LES ACTIVITES BIOLOGIQUES.....	8
1.3.1. Les activités antibactériennes.....	8
1.3.1.1. Les bactéries.....	8
1.3.1.2. Les antibiotiques.....	11
1.3.1.3 Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne.....	13
1.3.2. Les activités antifongiques.....	14
1.3.2.1. Les champignons.....	14
1.3.2.2. Les levures.....	14
1.3.3. Les activités antioxydants.....	14
1.3.3.1. Les méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes in vitro.....	15
1.4. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES ACTIVITES BIOLOGIQUE DES BASES DE SCHIFF.....	16
<b>CHAPITRE 2 SYNTHESE ET CARACTERISATION DES BASES DE SCHIFF</b> .....	21
2.1. INTRODUCTION.....	21
2.2. PARTIE EXPERIMENTALE.....	21

---

---

2.2.1.	Synthèse des bases de Schiff.....	21
2.2.1.1.	Synthèse conventionnelle.....	22
2.2.1.1.	La synthèse verte .....	24
2.2.2.	Appareillages et méthodes d'analyses.....	25
2.2.2.1.	Le rendement.....	25
2.2.2.2.	Le point de fusion.....	26
2.2.2.3.	Infrarouge.....	26
2.2.2.4.	Spectrophotométrie UV-visible.....	27
2.3.	RESULTATS ET DISCUSSION.....	27
2.3.1.	Synthèse et caractérisations physicochimiques des bases de Schiff.....	27
2.3.2.	Spectroscopie infrarouge.....	29
2.3.3.	Spectroscopie électronique et équilibre cétoénolique.....	32
<b>CHAPITRE 3 ETUDE DE L'ACTIVITES BIOLOGIQUES.....</b>		<b>34</b>
3.1.	INTRODUCTION.....	35
3.2.	MATERIELS ET METHODES.....	35
3.2.1.	L'activité antibactérienne et antifongique.....	35
3.2.1.1.	Matériel biologique.....	36
3.2.1.2.	Préparation et choix de concertation.....	36
3.2.1.3.	L'ensemencement.....	39
3.2.1.4.	La dispersion des solutions de produits (Imprégnation des disques) .....	39
3.2.1.5.	Lecture des boîtes après incubation.....	40
3.3.2.	L'activité antioxydante.....	40
3.3.	RESULTAT ET DISCUSSIONS.....	42
3.3.1.	Evaluation de l'activité antibactérienne.....	42
3.3.2.	Evaluation de l'activité antifongique des bases de Schiff.....	47
3.3.3.	Evaluation de l'activité antioxydante des bases de Schiff.....	52
CONCLUSION GENERALE .....		56
ANNEXE.....		59
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		61

---

## ملخص

تم تصنيع مركبين من نوع قاعدة شيف ، من تكثيف ألدهيد الساليسيليك ونوعين من ديامين (ثيوريا ويوريا) ، باستخدام طريقتين تخليقيتين مثل الطريقة الخضراء والطريقة التقليدية. تم تحديد بنية هذين المركبين من خلال طرق التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية والأشعة تحت الحمراء بالإضافة إلى تحديد نقاط الانصهار الخاصة بهم ، والتي اكتسبت ثباتاً كبيراً للمنتجات المركبة وهذا بسبب تسطيح الأخير. تم اختبار التطبيق البيولوجي للمركبين مثل النشاط المضاد للبكتيريا بأربعة أنواع من البكتيريا والنشاط المضاد للفطريات مع نوعين من الفطريات ، كما حاولنا تقييم النشاط المضاد للأكسدة لقواعد شيف الخاصة بنا من خلال طريقة إزالة الجذور الحرة DPPH.

**الكلمات الأساسية:** قاعدة شيف اساسية ، التوليف الأخضر ، الأنشطة المضادة للبكتيريا والفطريات ومضادات الأكسدة.

## Résumé

Deux composés de type base de Schiff ont été synthétisés, à partir de la condensation de l'aldéhyde salicylique et une diamine de type thiourée et l'urée, en utilisant deux approches de synthèse tels que la méthode verte et la méthode conventionnelle. La structure de ces deux composés a été déterminée par les méthodes spectroscopies UV- visible et l'IR ainsi que la détermination de leurs points de fusion, ce qui acquiert une grande stabilité aux produits synthétisés et ceci à cause de la planéité de ces derniers. L'application biologique pour les deux composés tel que l'activité antibactérienne sont testés avec quatre types de bactéries et l'activité antifongique avec deux types de champignons et aussi nous avons tenté d'évaluer l'activité antioxydante de nos bases de Schiff par la méthode de piégeage de radical libre DPPH.

**Mots clés :** ligand base de Schiff, synthèse verte, activités antibactériennes, antifongiques et antioxydants.

## Abstract

Two Schiff base compounds were synthesized, from the condensation of salicylic aldehyde and a type of diamine (thiourea and urea), using two synthetic approaches such as the green method and the conventional method. The structure of these two compounds was determined by UV-visible and IR spectroscopy methods as well as the determination of their melting points, which acquired a great stability to the synthesized products and this because of the flatness of the latter. The biological application of the two compounds has been tested such as antibacterial activity with four types of bacteria and antifungal activity with two types of fungi. and also, we tried to evaluate the antioxidant activity of our Schiff bases by the DPPH free radical scavenging method.

**Key words:** Schiff base ligand, green synthesis, antibacterial, antifungal and antioxidant activities.

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.1</b> : les bases de Schiff polydentés .....	5
<b>Tableau 2.1</b> : Caractères physicochimiques principaux des réactifs utilisés.....	22
<b>Tableau 2.2</b> : Caractérisations physicochimiques des bases de Schiff obtenus par voie bio.....	27
<b>Tableau 2.3</b> : Caractérisations physicochimiques des bases de Schiff obtenus par voie classique.....	27
<b>Tableau 3.1</b> : souches microbiennes testés et leurs Provenances .....	38
<b>Tableau 3.1</b> : Activité antibactérienne des bases de Schiff synthétisées à différentes concentrations .....	42
<b>Tableau 3.3</b> : Activité antifongiques des bases de Schiff synthétisées à différentes concentrations .....	48

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.1</b> : Structure générale d'une base de Schiff.....	4
<b>Figure 1.2</b> : Base de Schiff monodenté .....	5
<b>Figure 1.3</b> : Schéma général de la synthèse des bases de Schiff .....	6
<b>Figure 1.4</b> : Réaction de la synthèse des bases de Schiff en présence d'un catalyseur acide .....	7
<b>Figure 1.5</b> : Structure générale de la bactérie .....	9
<b>Figure 1.6</b> : différents formes de bactérie .....	10
<b>Figure 1.7</b> : Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé .....	13
<b>Figure 1.8</b> : Structure de N-(substitué) benzylidène-N-(4-fluoro-2-méthyl) phenyl aniline.....	16
<b>Figure 1.9</b> : Acide 4 [(4-méthoxybenzylidène) amino] benzoïque .....	17
<b>Figure 1.10</b> : Acide 4[(z)(hydroxyphényle méthylidène] amino benzoïque .....	17
<b>Figure 1.11</b> : Acide 4-méthylidèneamino benzoïque .....	17
<b>Figure 1.12</b> : Synthèse des composés pyrimidine .....	18
<b>Figure 1.13</b> : Activité de piégeage des radicaux de N-EDMPA-PDMPA EDTMP et BHT avec des différentes concentrations.....	19
<b>Figure 1.14</b> : Structures moléculaires optimisées de N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP.....	19
<b>Figure 2.1</b> : Structure générale du ligand salen symétrique .....	21
<b>Figure 2.2</b> : Synthèse conventionnelle des bases de Schiff .....	23
<b>Figure 2.3</b> : Filtration sous vide.....	24
<b>Figure 2.4</b> : Synthèse verte des bases de Schiff .....	25
<b>Figure 2.5</b> : la base de Schiff 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) urée .....	29
<b>Figure 2.6</b> : la base de Schiff 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) thiourée .....	29
<b>Figure 2.7</b> : Spectre infrarouge de 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) thiourée obtenue par synthèse verte. ....	30
<b>Figure 2.8</b> : Spectre infrarouge de 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) thiourée obtenue par synthèse conventionnelle.....	30

<b>Figure 2.9 :</b> Spectre infrarouge de 1,3-bis (2-hydroxy benzyldène) urée obtenue par synthèse verte.....	31
<b>Figure 2.10 :</b> Spectre infrarouge de 1,3-bis (2-hydroxy benzyldène) urée obtenue par synthèse conventionnelle.....	31
<b>Figure 2.11 :</b> Equilibre céto – énolique dans l ‘anilinesalicylidène.....	32
<b>Figure 2.12 :</b> Spectre UV-Vis du ligand 1(1,3-bis (2-hydroxy benzyldène)thiourée) et ligand 2 (1,3-bis (2-hydroxy benzyldène) urée) dans le cyclohexane.....	33
<b>Figure 3.1 :</b> La Préparation de solutions mère.....	36
<b>Figure 3.2 :</b> la solution fille préparée de l’antifongique .....	37
<b>Figure 3.3 :</b> l'ensemencement des suspensions bactériennes et fongiques .....	39
<b>Figure 3.4 :</b> le dépôt des disques sur la gélose .....	40
<b>Figure 3.5 :</b> Schéma représente la réduction du radical DPPH° par A-H, où (AH) est un composé capable de céder un H au radical DPPH.....	41
<b>Figure 3.6 :</b> Activité antibactérienne en mm pour les deux bases de Schiff à 25mg/ml.....	43
<b>Figure 3.7 :</b> Activité antibactérienne en mm pour les deux bases de Schiff à 50 mg/ml .....	44
<b>Figure 3.8 :</b> Activité antibactérienne en mm pour les deux bases de Schiff à 100 mg/ml .....	44
<b>Figure 3.9 :</b> L’effet des bases de Schiff sur les souches bactérienne à 25mg/ml .....	46
<b>Figure 3.10 :</b> L’effet des bases de Schiff sur les souches bactérienne à 50 mg/ml .....	46
<b>Figure 3.11:</b> L’effet des bases de Schiff sur les souches bactérienne à 100 mg/ml.....	47
<b>Figure 3.12 :</b> Activité antifongique en mm pour les deux bases de Schiff à 50 mg/ml.....	48
<b>Figure 3.13 :</b> Activité antifongique en mm pour les deux bases de Schiff à 100 mg/ml .....	49
<b>Figure 3.14:</b> L’effet des bases de Schiff sur les souches fongiques à 25 mg/ml .....	50
<b>Figure 3.15 :</b> L’effet des bases de Schiff sur les souches fongiques à 50 mg/ml .....	50
<b>Figure 3.16 :</b> L’effet des bases de Schiff sur les souches fongiques à 100 mg/ml.....	51
<b>Figure 3.17 :</b> L’effet de fongicide commercial « Fluconazole ».....	51
<b>Figure 3.18 :</b> Pourcentages d’inhibition (%) de DPPH de l’acide ascorbique .....	52

<b>Figure 3.19 :</b> Pourcentages d'inhibition (%) de DPPH de composé B1 .....	53
<b>Figure 3.20 :</b> Pourcentages d'inhibition (%) de DPPH de composé B2 .....	53
<b>Figure 3.21:</b> Valeurs d'IC50% des composés testés et de l'acide ascorbique.....	54

## LISTE DES ABREVIATIONS

- ADN** : L'acide désoxyribonucléique
- ABTS** : (2,2-azinobis(3-éthyle-6-benzothiazol-6-sulfonate))
- ATCC** : American Type Culture Collection
- ARN** : Acide ribonucléique
- Aspergillus.B** : aspergillus brasiliensis
- Bacillus.S** : Bacillus spizizeni
- BHT** : hydroxytoluène butylé
- CCM** : Chromatographie sur couche mince
- CV** : voltampèremètre cyclique
- C.albicans** : Candida albicans
- CI50** : concentration d'inhibition à 50%
- DPPH** : Diphenyl-2-Picryl Hydrazyl
- DFT** : la théorie fonctionnelle de la densité
- DMSO** : Diméthyl sulfoxyde.
- ERO** : Espèces réactives d'oxygène
- EDTMP** : Ethylenediamine-tetrakis (méthylène acide phosphonique)
- E.coli** : Escherichia coli.
- FRAP** : Pouvoir antioxydant par réduction ferrique
- FL** : fluconazole
- GN** : gentamicine
- IR** : Spectroscopie Infra-rouge
- Kbr** : bromure de potassium
- MS** : Spectrométrie de masse
- MH** : Muller-Hinton
- N-EDMPA** : Néthylminodiméthylènediphosphonique
- N-PDMPA** : N propyliminodiméthylène diphosphonique
- NaCl** : eau physiologique
- ORAC** : capacité d'absorption des radicaux oxygénés

**P. aeruginosa** : Pseudomonas aeruginosa

**RO** : Le radical alkoxy

**RMN** : la résonance magnétique nucléaire

**SDA** : la méthode de diffusion des disques sur milieu sabouraud dextrose

**S. Aureus** : Staphylococcus aureus

**TRAP** : total radical trapping antioxidant parameter

**UV** : Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible

# **INTRODUCTION GENERALE**

L'industrie chimique s'est considérablement développée au cours du vingtième siècle, et plus particulièrement après la deuxième guerre mondiale. La chimie fait aujourd'hui partie de notre quotidien : l'essentiel des produits que nous consommons ou utilisons ont, au moins à une étape de leur fabrication, un lien avec l'industrie chimique.

Cependant, l'image de la chimie auprès du public s'est progressivement dégradée au rythme de catastrophes aux conséquences humaines ou écologiques lourdes. Alors Une réflexion sur une « réforme de la chimie » s'est engagée, réflexion qui s'insère dans le cadre de travaux de plus grande ampleur sur l'impact des activités humaines sur l'environnement : un nouveau concept de « chimie verte » (« green chemistry ») a été développé aux États-Unis au début des années 1990 dans le but d'offrir un cadre à la prévention de la pollution liée aux activités chimiques.

La chimie verte a pour but de concevoir et de développer des produits et des procédés chimiques permettant de réduire ou d'éliminer l'utilisation et la synthèse de substances dangereuses. Cette définition a été développée en douze principes par les chimistes américains Anastas et Warner, qui ont contribué à faire naître et à populariser ce concept ; parmi ces principes on s'intéresse à la conception de méthodes de synthèse moins dangereuses, dans le but d'utiliser et produire des substances peu ou pas toxiques pour l'homme et l'environnement [1].

La synthèse des bases de Schiff constitue un thème de recherche d'actualité qui ne cesse d'attirer de nombreuses équipes de recherche à travers le monde. Cela peut être associé essentiellement à l'importance et à la diversité des applications de ce type de composés. Les bases de Schiff sont largement utilisées dans le domaine biologique à cause de leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires et anti-oxydantes.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à la synthèse des nouveaux composés de types bases de Schiff, en utilisant deux voies de synthèse ; méthode classique (synthèse conventionnelle) et par méthode contemporain (synthèse verte), dont l'objectif est de les utiliser comme inhibiteurs (antibactérienne, antifongique et anti-oxydante).

Après une introduction générale visant les objectifs et le but de travail réalisé, ce mémoire est divisé en trois chapitres décrits comme suit :

- Le premier chapitre constitue une synthèse bibliographique des différents aspects abordés au cours de ce travail : généralités sur les bases de Schiff, mode de synthèse, intérêt et application, puis suivies d'une description de différents types d'activité biologique et enfin des éléments bibliographiques sur l'activité biologique de quelques bases de Schiff ont été donné.
- Le deuxième chapitre s'attèle d'abord à la description des conditions mises en jeu dans la synthèse de nos bases de Schiff. Ensuite, on y expose les différentes techniques de caractérisations utilisées ainsi que la discussion de l'ensemble des résultats obtenus.
- Le troisième chapitre porte, dans sa première partie, sur la présentation des techniques et les méthodes mises en œuvre ainsi que les conditions expérimentales adoptées afin d'étudier l'activité biologique de nos composés bases de Schiff à savoir : l'activité biologique, antifongique et anti-oxydante. la deuxième partie présente la discussion des résultats obtenus.

Enfin, une conclusion générale clôtura ce mémoire en synthétisant les principaux résultats obtenus et nous présenterons quelques perspectives ouvertes par ce travail

**CHAPITRE 1**  
**PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1.1 INTRODUCTION

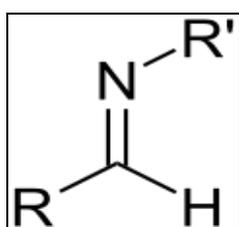
Le premier chapitre fait référence aux connaissances bibliographiques actuelles sur les bases de Schiff, leurs différentes structures et leurs différents domaines d'application tels que la catalyse, la corrosion, la biologie, et la médecine, en focalisant sur leurs applications dans le domaine biologique. Une étude bibliographique concernant les bactéries et les champignons, leur classification et leurs principales caractéristiques a été présentée ainsi qu'un rappel sur les travaux bibliographiques sera effectués sur les bases de Schiff et leurs activités biologiques.

## 1.2. GENERALITES SUR LES BASES DE SCHIFF

C'est en 1864 que la première synthèse des composés maniques fut réalisée par Schiff [2]. C'est ainsi que ces composés ont pris ensuite son nom (bases de Schiff). Dans la vie humaine elles jouent un rôle de plus en plus grand dans plusieurs domaines. Les chercheurs se sont intéressés à la préparation des bases de Schiff par différentes méthodes, ce qui leur offre une multitude d'applications notamment dans chimie, en analyse, en catalyse, et dans la biologie comme agent antibactériens, antifongique, antioxydante, anticancéreux, anti-tumeurs, anti tuberculose et plusieurs maladies incurables.

### 1.2.1. Définition des bases de Schiff

Une base de Schiff est définie comme étant le produit résultant de la condensation d'une amine primaire avec une cétone ou aldéhyde, comportant une double liaison C=N avec l'atome d'azote lié à un groupe aryle ou alkyle. Les bases de Schiff au sens large ont une formule générale de type  $R_1R_2C=NR_3$ , où R est une chaîne organique. La chaîne carbonée sur l'atome d'azote fait des bases de Schiff (une imine) stable. Ils sont dérivés de l'aniline, où  $R_3$  est donc un phényle ou un phényle substitué sont appelées aniles [3].



**Figure 1.1 :** Structure générale d'une base de Schiff.

### 1.2.2. Classification des bases de Schiff

Les bases de Schiff peuvent être classifiés selon le nombre de sites de coordination avec l'ion métallique comme suit :

- a. Bases de Schiff monodentés :** Ce sont des bases qui possèdent un seul site de fixation à l'atome métallique, elle cède au métal central un doublet non liant avec création d'une liaison [4].

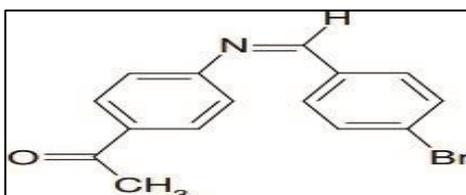


Figure 1.2 : Base de Schiff monodenté

- b. Bases de Schiff polydentés :** La liaison des ligands polydentés (bi,tri,tetra.....), c'est à dire qu'ils se lient un certain nombre généralement de deux à six fois avec l'ion métallique et ceci augmente la force de la liaison et les rendent très stables [5].

Le tableau ci-après représente les bases de Schiff polydentés.

Tableau 1.1 : les bases de Schiff polydentés.

Base de Schiff bidentée	Base de Schiff tridentée
Base de Schiff tétradentée	Base de Schiff pentadentée
Base de Schiff hexadentée	

### 1.2.3. La synthèse des bases de Schiff

Au cours de ces dernières décennies, les chercheurs ont prêté une grande importance à la synthèse des bases de Schiff par différentes méthodes. La synthèse des bases de Schiff est réalisée le mélange d'aldéhyde (ou cétone) et d'amine en milieu organique avec ou sans catalyseur acide [6]. Elle est accompagnée par l'élimination d'une molécule d'eau selon la figure suivante.

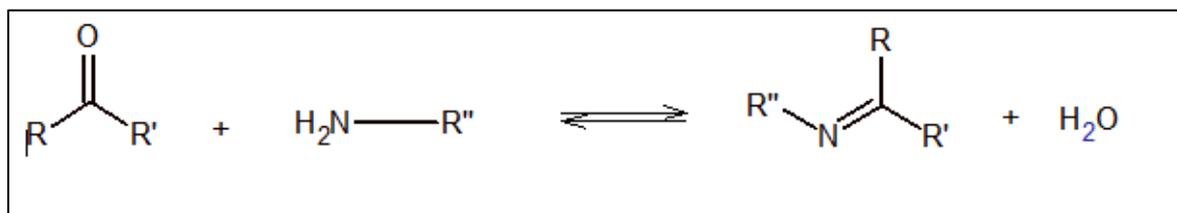


Figure 1.3 : Schéma général de la synthèse des bases de Schiff.

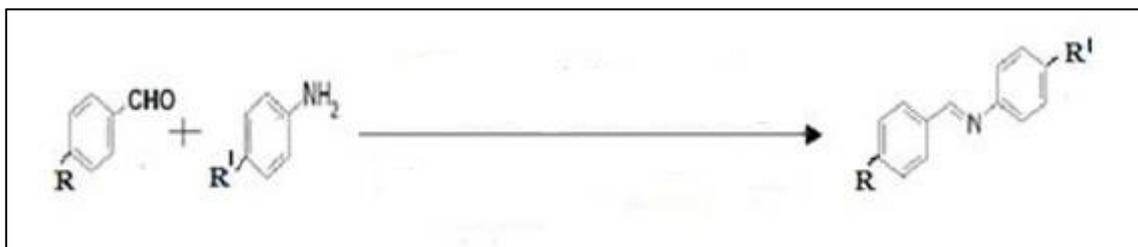
#### 1.2.3.1. Synthèse conventionnelle

La synthèse classique des imines par condensation des amines primaires avec les aldéhydes ou les cétones, en présence de solvant. Bien que la méthode effectuée par chauffage classique ait permis d'obtenir des imines avec de bons rendements chimiques, elles présentent néanmoins certains inconvénients dus notamment :

- À l'utilisation de solvants toxiques (benzène, toluène).
- Aux temps de réaction trop longs, généralement compris entre 3 heures et 8 heures.
- Aux étapes multiples de lavage et de filtration [7].

#### 1.2.3.2. Synthèse verte

La chimie verte, qui est l'un des sujets les plus récents et les plus étudiés de nos jours, est en vogue depuis les années 1990. La majorité des recherches en chimie verte visent à réduire la consommation d'énergie nécessaire à la production des produits souhaités, qu'il s'agisse de médicaments, de colorants ou d'autres composés chimiques. Elle vise à réduire, à éliminer la production de tout produit dérivé nocif et à maximiser le produit souhaité sans compromettre l'environnement (figure 1.4) [8].



**Figure 1.4** : Réaction de la synthèse des bases de Schiff en présence d'un catalyseur acide [8].

#### 1.2.4. Caractérisations des bases de Schiff

Généralement les bases de Schiff sont caractérisées par les spectres d'infrarouge ainsi que par la spectrophotométrie UV-Vis.

- Les fréquences de vibration du groupe azométhine (C=N) des ligands des bases de Schiff sont comprises entre 1603 –1680  $\text{cm}^{-1}$  selon la nature des différents substituons sur les atomes du carbone et d'azote. Cette propriété fait de la spectroscopie infrarouge une technique de choix pour l'identification de ce groupement fonctionne.
- L'UV-Vis des composés contenant un chromophore non-conjugué sont caractérisés par des spectres de transition de type  $n-\pi^*$  dans l'intervalle 235 –272 nm [9].

#### 1.2.5. Applications des bases de Schiff

Les bases de Schiff dérivés des amines et des aldéhydes aromatiques ayant une grande Variété d'applications dans plusieurs domaines, par exemple : la médecine, l'industrie pharmaceutique et domaine de la chimie et catalyse et activité biologique [10].

- **En médecine** : Le traitement de quelques maladies (accumulation du cuivre dans le foie, le cerveau et les reins ou certaines formes de cancer) [11].
- **En biologie** : ils possèdent plusieurs applications, comme antimicrobien (bactériostatique vers *Candida Albicans*, *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus*, *Bacillus polymxa*, *Trychophyton gypseum*, *Mycobacteria*, *Erysiphe graminis* et *Plasmopora viticola*). D'autres applications biologiques peuvent être citées comme antifongique, antiviral, insecticide, anti-inflammatoire, antitumorale et cytotoxique [12].
- **En catalyse** : Les bases de Schiff ont été étudiées pour leurs propriétés importantes en catalyse. Ils montrent une activité catalytique dans l'hydrogénation des oléfines [13].

- **En corrosion des métaux** : Une application intéressante des bases de Schiff est leur utilisation comme inhibiteur de corrosion efficace, qui repose sur leur capacité à former spontanément une monocouche sur la surface à protéger. De nombreux inhibiteurs commerciaux comprennent des aldéhydes ou des amines, mais vraisemblablement en raison de la liaison C = N, les bases de Schiff fonctionnent plus efficacement dans de nombreux cas [14].
- **En l'industrie pharmaceutique** : Utilisés dans les médicaments comme anticorps et anti-inflammatoires [15].
- **En d'autres utilisations** : Les bases de Schiff sont également employées dans des sondes optiques et électrochimiques [16]. Les bases de Schiff montrent également quelques applications analytiques comme Titration, précipitation et séparation des métaux...etc. [17].

### 1.3. GENERALITES SUR LES ACTIVITES BIOLOGIQUES

L'activité biologique décrit les effets bénéfiques ou indésirables d'un produit sur la matière vivante. Lorsqu'un mélange chimique complexe, cette activité est exercée par l'ingrédient actif de la substance, mais peut être modifiée par les autres constituants. Parmi les diverses propriétés des composés chimiques, l'activité biologique joue un rôle crucial puisqu'elle suggère l'utilisation des composés dans les applications médicales et alimentaire [18].

#### 1.3.1. Les activités antibactériennes

Les infections bactériennes sont causées par différents micro-organismes et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. De nombreux antibiotiques sont développés pour les traiter, cependant leur utilisation abusive est à l'origine de l'apparition de la multirésistance bactérienne. La maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale [19].

##### 1.3.1.1. Les bactéries

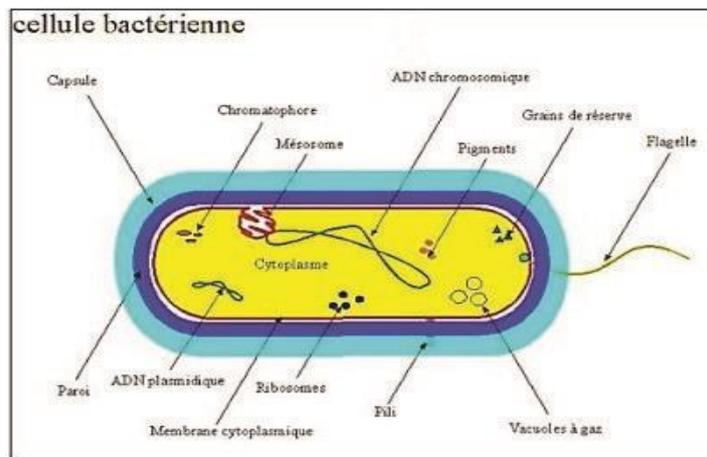
Les bactéries sont omniprésentes, elles vivent dans notre organisme et dans notre environnement, on peut les observer sur des opérations réalisées à partir de milieux très diversifiées (aliment, sol, eaux, flores humaines et animales).

L'observation de frottis colorés réalisés à partir de souches pures de collection montre qu'elles se présentent, selon leur identité, sous des formes variées qui constituent un des critères de leur identification [20].

### a. La structure de bactérie

Les bactéries sont entourées par une paroi complexe, différente selon la bactérie est à Gram positif ou négatif. Ils possèdent des flagelles, des pili, ou une capsule à l'extérieur de la paroi. Aussi bien les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif ont une membrane cytoplasmique formée d'une bicouche lipidique associée à des protéines. Dans les deux cas, le composant principal de structure de la paroi est le peptidoglycane.

La couche de peptidoglycane est plus fine que celle des Gram positif, et elle est entourée par une membrane externe composée de lipopolysaccharides et de lipoprotéines. La partie Lip polysaccharidique de la paroi des Gram négatif comprend les molécules d'endotoxine qui contribuent au pouvoir pathogène bactérien [21].

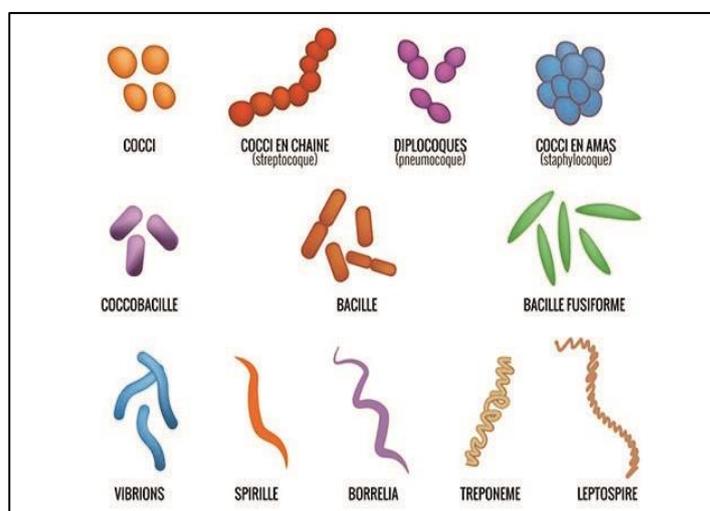


**Figure 1.5 :** Structure générale de la bactérie.

**b. Les classifications des bactéries**

Les bactéries peuvent être classées et donc identifiées en fonction de plusieurs paramètres [22] :

- Morphologie microscopique : coque, bacile, isolés groupés en deux, en chaînette, en amas ...
- Morphologie macroscopique : taille, forme, couleur des colonies sur culture
- Résultat de la coloration de gram : gram positif ; gram négatif,
- Température de croissance
- Besoins respiratoires : aérobic, anaérobic strict ; aéro anaérobic facultatif, micro aérophile
- Mobilité
- Présence de spores
- Besoins nutritionnels : nécessite de substances particulières.



**Figure 1.6 :** différents formes de bactérie

### c. Espèces bactériennes

Il existe cependant de nombreuses espèces pathogènes :

- **Escherichia coli** : *Escherichia coli* appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles à coloration de Gram négative, non sporulés, anaérobies facultatifs et qui ne possèdent pas d'oxydase. Il se trouve dans le tractus gastro-intestinal de nombreux animaux à sang chaud, y compris les humains, où elles jouent généralement le rôle des bactéries commensales [23].
- **Bacillus spizizenii** : Bacille à gram positif, gros, droit, mobile par des cils péritriches, capsulé, en forme de bâtonnets de 2µm de diamètre et dont la longueur peut atteindre 7µm, formant des spores ellipsoïdales ou cylindriques en position centrale, paracentrale ou subterminales dans le corps bactérien [24].
- **Pseudomonas aeruginosa** : Bacille à gram négatif, aérobie strict, oxydase positive, mobile par un flagelle polaire, température optimale de croissance de 30 °C. *P. aeruginosa* est une bactérie répandue dans la nature. Il vit dans l'eau et sur le sol on le trouve aussi dans l'environnement hospitalier, surtout dans les endroits humides [25].
- **Staphylococcus aureus** est une coque à coloration de Gram positive. Il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, ne sporule pas, est immobile, aéro-anaérobie facultatif et possède une catalase et une coagulase. *S. aureus*, est un germe ubiquitaire, retrouvé dans le sol, l'air et l'eau. C'est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. On le trouve à l'état normal dans l'oropharynx, les fosses nasales, dans les selles, au niveau du périnée ou des aisselles [26].

#### 1.3.1.2. Les antibiotiques

Un antibiotique (du grec anti : « contre », et bios : « la vie ») est une molécule naturelle ou semi-synthétique qui détruit ou bloque la croissance des bactéries.

De manière simplifiée un antibiotique est, dans le domaine médical, « une substance chimique organique d'origine naturelle ou synthétique inhibant ou tuant les bactéries pathogènes à faible concentration et possédant une toxicité sélective ». Plus généralement,

pour les microbiologistes et les chimistes, un antibiotique est une substance antibactérienne [27].

a. **Classification des antibiotiques**

Les antibiotiques sont très nombreux et peuvent être classés selon plusieurs critères [28].

- **Origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- **Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.
- **Spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).
- **Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (excycle  $\beta$  lactame) sur laquelle il y a émis synthèse. La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles ( $\beta$  lactamines, aminosides, tétracyclines...etc).

b. **Mode d'action des antibiotiques**

Le principe d'action des antibiotiques consiste à bloquer sélectivement une étape d'un mécanisme essentiel à la survie ou à la multiplication des micro-organismes, Il existe ainsi quelques grandes familles de mécanisme d'action pour les antibiotiques [29].

- **Action sur la membrane des cellules** : Un pore (un trou) dans la membrane qui va permettre la fuite des composés cellulaires. Il Existe un certain nombre de molécules antibiotiques qui agissent sur la membrane des cellules, soit en agissant comme des détergents qui désorganisent les lipides.
- **Inhibition de la synthèse protéique** : La synthèse des protéines est un processus essentiel des cellules vivantes, dans ce cas les molécules antibiotiques sont capables de bloquer sélectivement la traduction des protéines chez les bactéries, et en inhibant l'action des facteurs de traduction associés au ribosome.
- **Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne** : Certaines bactéries sont protégées de l'environnement extérieur par une paroi. Il existe une machinerie de synthèse qui fabrique les composants de cette paroi et qui est composée d'enzymes

et de systèmes de transport acheminant les composants à la surface cellulaire. Il existe un ensemble d'antibiotiques qui bloquent différentes étapes de cette machinerie.

- **Inhibition de la synthèse de l'acide nucléique :** La synthèse des acides nucléiques, ADN et ARN est absolument vitale pour les cellules, sans elle, la division cellulaire et la fabrication des protéines est impossible.

### **1.3.1.3 Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne**

Parmi les méthodes utilisées pour déterminer l'activité antimicrobienne nous nous sommes intéressés à la méthode de diffusion.

#### **a. La Méthode de diffusion**

La méthode de diffusion ou encore antibiogramme ou méthode de disque est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des différentes souches aux antimicrobiens et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Elle permet une variété dans le choix des antimicrobiens et ne requiert aucun matériel particulier [30].

Des disques à papier buvard, imprégnés de l'antibiotiques à tester à une certaine concentration sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablementensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de croissance. Chaque zone peut être mesurée selon divers moyens en millimètre. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique, plus il est petit, plus la souche est résistante. Les diamètres des zones d'inhibition permettent d'apprécier la sensibilité des germes [31].

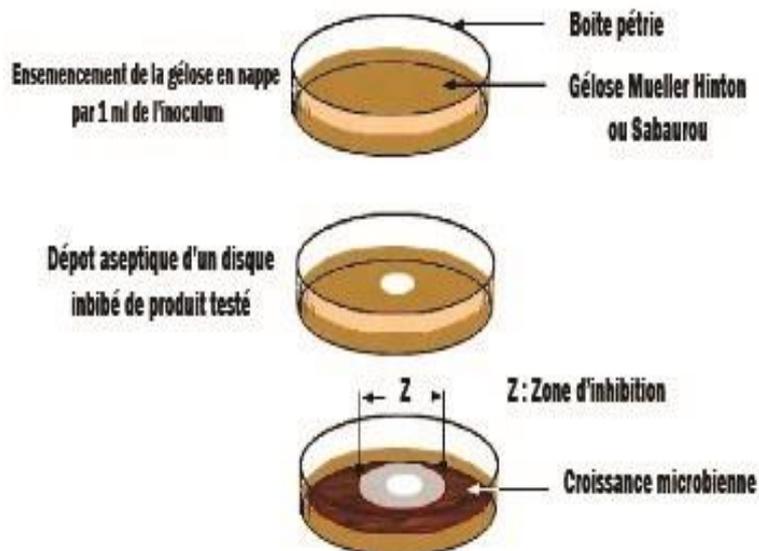


Figure 1.7 : Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé.

### 1.3.2. Les activités antifongiques

La fréquence des infections fongiques a augmenté de façon considérable au cours des dernières années en raison principalement du nombre accru de patients immunodéprimés et d'interventions invasives. Ces infections sont associées à un taux de morbidité et de mortalité élevé. De nouvelles molécules sont en voie de développement et la possibilité de combinaisons avec ces agents semble prometteuse.

L'identification des patients à risque, l'amélioration des tests diagnostiques, la compréhension des mécanismes de résistance ainsi que de la pharmacodynamie et de la pharmacocinétique des antifongiques permettront, dans un avenir rapproché, d'optimiser les traitements antifongiques et, possiblement, de réduire la mortalité liée aux mycoses invasives [32].

#### 1.3.2.1. Les champignons

Les Champignons sont des végétaux inférieurs dits thallophytes, dont l'appareil végétatif, relativement rudimentaire, n'est pas différencié en véritables tissus. Ils sont dépourvus de chlorophylle et contrairement aux Algues qui sont autotrophes et hétérotrophes, n'ont pas besoin de lumière et vivent soit sur les matières organiques en décomposition provenant des cadavres ou des déjections des êtres vivants (Champignons saprophytes), soit en parasites sur ou dans les corps des Animaux ou des Végétaux (Champignons parasites) [33].

### **1.3.2.2. Les levures**

Les Levures sont des Champignons microscopiques, aux cellules ovoïdes de quelques millièmes de millimètres de largeur, se détachant facilement les unes des autres et, de ce fait, bien adaptées à la propagation dans les liquides. [34].

### **1.3.3. Les activités antioxydants**

La recherche dans le domaine des complexes et leur activité antioxydante est devenu très intéressante ces dernières années afin d'identifier un grand nombre de molécules ayant une capacité élevée de piéger les radicaux libres produits par les maladies ou les troubles associés à des dommages oxydatifs provoqués par les espèces réactives d'oxygène [35].

Les antioxydants synthétiques sont largement utilisés à cause de leur efficacité et leur prix minimum par rapport aux antioxydants naturels. Les ligands de base de Schiff et leurs complexes métalliques ont montré une excellente activité antioxydante. Par ailleurs, la combinaison de groupes fonctionnels antioxydants est toujours améliorée le potentiel antioxydant [36].

#### **1.3.3.1. Les méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes in vitro**

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, in vitro et in vivo, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes ROO par les méthodes ORAC et TRAP, les ions ferriques par la méthode FRAP ou les radicaux ABTS ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH.

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester [37].

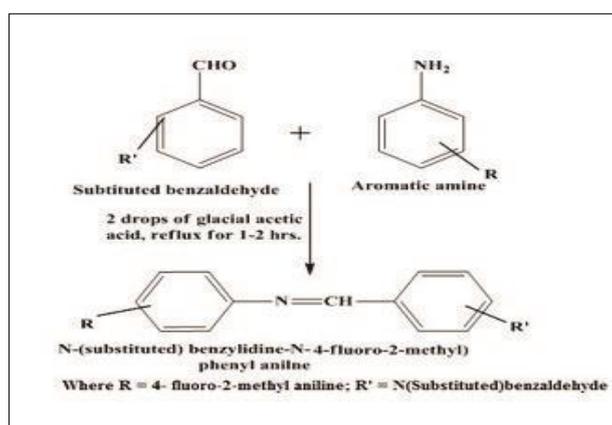
#### **a. Le test de DPPH**

La méthode de DPPH est une méthode rapide, simple et non couteuse pour mesure la capacité antioxydante. Elle implique l'utilisation radical libre, (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl). Le DPPH est largement utilisé pour évaluer la capacité des composés agissant comme des scavengers des radicaux libres ou donateurs d'hydrogènes et pour

évaluer l'activité antioxydantes des aliments. Il a aussi été utilisé pour quantifier les antioxydants dans les systèmes biologiques complexes [38].

## 1.4. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES ACTIVITES BIOLOGIQUE DES BASES DE SCHIFF

La synthèse des bases de Schiff par méthode conventionnelle et par méthode verte de N-(substitué) benzylidène-N-(4-fluoro-2-méthyl) phényl aniline a été rapporté par Manisha Shukla et coll [8]. Cette molécule a été caractérisé par des analyses élémentaires et des techniques spectroscopies IR, RMN, et MS. Les auteurs ont montré que la méthode par synthèse verte a été prouvée ici comme une meilleure méthode pour la synthèse des bases de Schiff grâce à l'augmentation du pourcentage de rendement Bases de Schiff .

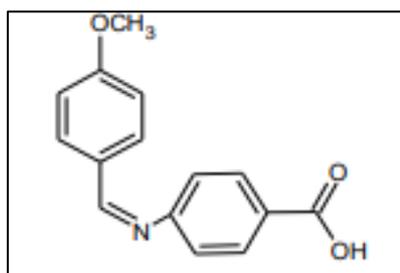


**Figure1.8 :** Structure de N-(substitué) benzylidène-N-(4-fluoro-2-méthyl) phényl aniline.

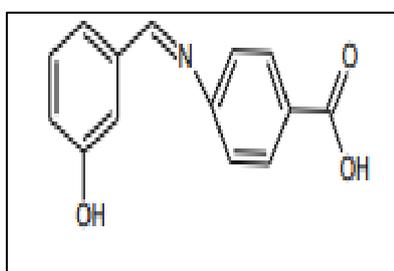
Les bases de Schiff ont été criblées pour leurs activités biologiques in vitro contre les bactéries et les champignons. Les résultats obtenus ont montré que les bases de Schiff synthétisées se sont avérées avoir une certaine activité antibactérienne contre les bactéries *E. coli* Gram-négatif et *Staphylococcus aureus* Gram- positif et une activité antifongique contre *Aspergillus niger*.

V.kawlkar [39] a synthétisé quelques bases de Schiff par une technique sans solvant (la Méthode verte) elle a été caractérisée par une analyse élémentaire et des techniques spectroscopiques (RMN, CCM, UV, IR). Le résultat obtenu a montré que cette méthode est

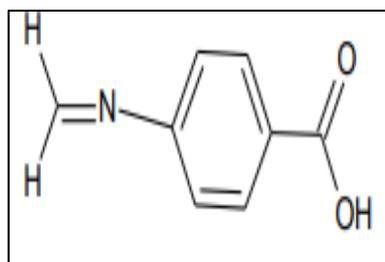
plus propre, plus sûre, et plus respectueuse de l'environnement impliquant des conditions de réaction douce telles que le temps de réaction et les rendements sont excellents.



**Figure1.9 :** Acide 4 [(4-méthoxybenzylidène) amino] benzoïque.



**Figure 1.10:** Acide 4[(z)(hydroxyphényle méthylidène] amino benzoïque.

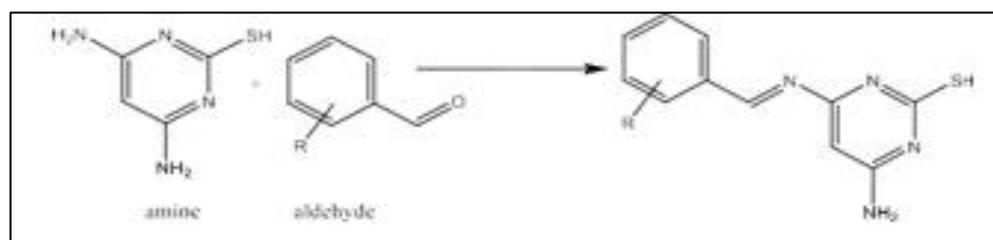


**Figure1.11 :** Acide 4-méthylidèneamino benzoïque.

A.alikhani,et col [6] ont rapporté la synthèse verte avec un catalyseur (jus de citron ) et l'activité antibactérienne contre des bactéries de Gram négatives (*Escherichia coli* et *Serratia marcescens* ) et Gram positif (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*).

Les auteurs ont montré que le ligand de base de Schiff s'est révélé avoir une activité contre toutes les souches bactériennes testées avec une concentration minimale

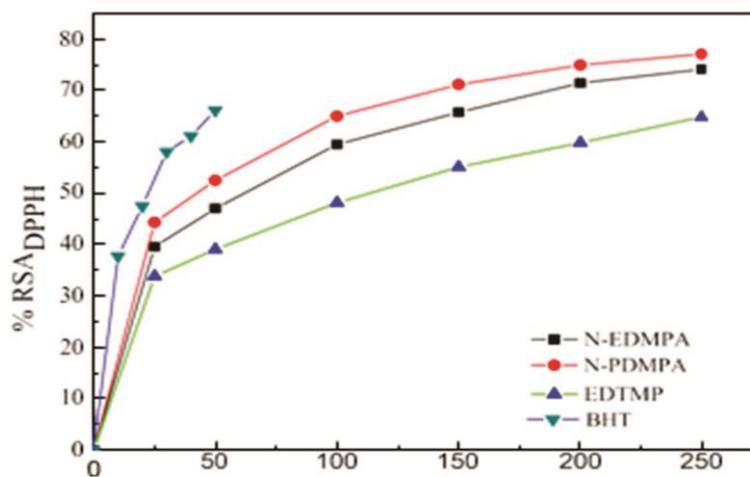
inhibitrice et l'importance des jus dans les transformations organiques avec une exclusivité naturelle et biocatalytique.



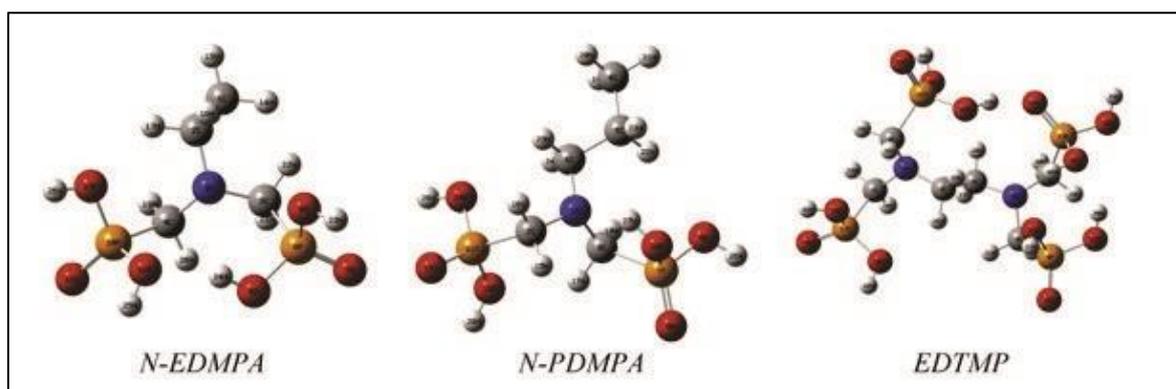
**Figure 1.12:** Synthèse des composés pyrimidine.

Notons aussi les travaux de M. Mehri et col [40] qui ont synthétisé trois acides aminophosphoniques à savoir l'acide Néthylminodiméthylènediphosphonique (N-EDMPA), l'acide N propyliminodiméthylène diphosphonique (N-PDMPA) et l'éthylènediamine-tétrakis (méthylène acide phosphonique EDTMP) par la réaction de diverses amines primaires, du para formaldéhyde et de l'acide phosphoreux en milieu acide via la réaction de Moedritzer-Irani et ils sont caractérisés par UV, IR, RMN.

Les composés étudiés ont été criblés pour leur activité antioxydante au moyen de l'activité de piégeage des radicaux libres en utilisant des méthodes de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) et de voltampèremétrie cyclique (CV). Les valeurs obtenues de la concentration inhibitrice à 50 % montrent que le N-PDMPA présente une activité antioxydante plus importante et l'ordre des activités antioxydantes des composés étudiés est EDTMP < N EDMPA < N-PDMPA.



**Figure 1.13 :** Activité de piégeage des radicaux de N-EDMPA-PDMPA EDTMP et BHT avec des différentes concentrations.



**Figure 1.14 :** Structures moléculaires optimisées de N-EDMPA, N-PDMPA et EDTMP.

**CHAPITRE 2**  
**SYNTHESE ET CARACTERISATION DES BASES**  
**DE SCHIFF**

## 2.1. INTRODUCTION

Dans ce chapitre, nous présentons l'étude de la synthèse de deux bases de Schiff de type 1,3-bis (2-hydroxy benzyldène) thiourée et 1,3-bis (2-hydroxy benzyldène) urée par deux méthodes de synthèse à savoir ; la méthode verte et la méthode conventionnelle. En deuxième lieu des différentes méthodes d'analyse physico-chimiques seront appliquées afin de caractériser et identifier nos bases de Schiff.

## 2.2. PARTIE EXPERIMENTALE

### 2.2.1. Synthèse des bases de Schiff

Les bases de Schiff ont une structure chélatante et sont des ligands très sollicités grâce à la facilité de leur synthèse et la diversité de leurs structures. Ces ligands sont des donneurs d'électrons modérés avec des effets électroniques et stériques facilement modulables, leur permettant d'être des ligands versatiles [41-42]. Parmi les bases de Schiff communément utilisées comme ligands, les salen illustrent une classe de ligands tétradentates de type  $N_2O_2$ . Bien que le terme salen a été introduit pour désigner les bases de Schiff obtenues par la condensation du salicylaldéhyde et de la 1,2-éthylènediamine (figure 2.1), ceci a été généralisé dans la littérature pour tous les ligands possédant une structure analogue résultant d'une condensation de Schiff entre une diamine primaire et un salicylaldéhyde.

Les salen possèdent des avantages supplémentaires par rapport aux autres ligands base de Schiff ; la sphère de coordination  $N_2O_2$  reproduit étroitement l'environnement de coordination autour de nombreux métaux dans les métalloprotéines, étant des ligands dianioniques tétradentates structurellement similaires aux cycles de porphyrine, tout en représentant une cible synthétique plus facile.



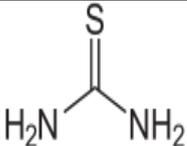
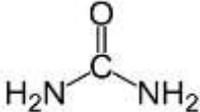
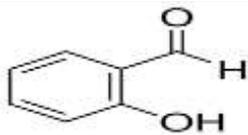
**Figure 2.1 :** Structure générale du ligand salen symétrique.

A cet effet, nous nous sommes intéressés dans ce travail à synthétiser deux bases de Schiff de type salen ; à partir de la condensation d'une diamine avec l'aldéhyde salicylique. Cette synthèse se fait selon deux voies à savoir la synthèse verte et la synthèse conventionnelle.

### 2.2.1.1. Synthèse conventionnelle

Tous les produits chimiques utilisés dans ce travail sont des produits commercialisés auprès de Sigma-Aldrich, ils sont utilisés sans purification.

**Tableau 2.1 :** Caractères physicochimiques principaux des réactifs utilisés.

Réactifs	Thiourée (thiocarbamide)	Urée (carbamide, carbonyl diamide, isourée)	Salicylaldéhyde (2- hydroxybenzaldéhyde)
Formule brute	CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> S	CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>
Formule chimique			
Aspect et la couleur	Poudre cristallin blanc	Cristaux blancs	Liquide jaune
Masse molaire (g/mol)	76.121	60.0553	122.1213
Point de fusion °C	176 -178	132.7-135	-7

Dans un ballon à tricolles de 100 ml on dissout les deux réactifs avec un minimum d'éthanol, l'ensemble est maintenu au reflux et sous agitation pendant environ deux heures, les bases de Schiff ont été purifiées par recristallisation dans l'éthanol. [43]



**Figure 2.2** : Synthèse conventionnelle de 1,3-bis (2-hydroxy benzyldène) urée

- **La recristallisation :**

La recristallisation est une méthode de purification d'un produit solide, elle permet de séparer un solide de ses impuretés après une réaction. Le principe de la recristallisation repose sur la différence de solubilité d'un composé dans un solvant à chaud et à froid

On verse les produits dans un erlenmeyer, en ajoutant le solvant (l'éthanol) par petites quantités et chauffé jusqu'à l'ébullition de l'éthanol (dissolution des produit), on laisse les produits lentement à température ambiante. Une fois que les premiers cristaux sont apparus, on complète la recristallisation dans un bain de glace (eau + glace) jusqu'à la fin de la formation des cristaux.

- **La filtration**

Après la synthèse des bases de Schiff. Des cristaux se forment dans la solution. On agite bien le mélange pour la mise en suspension des cristaux, puis on sépare les cristaux de la phase liquide par filtration sous vide.



**Figure 2.3:** Filtration sous vide

### **2.2.1.1. La synthèse verte :**

Dans notre travail on a choisi le procédé de la synthèse verte de nos bases de Schiff, cette méthode est moins utilisée par rapport à celle classique, mais elle a l'avantage de donner directement la base de Schiff souhaitée, cette réaction est effectuée sans solvant organique, ce qui argumente son choix.

- **Synthèse de 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) urée :**

Dans un bécher de 100 ml, on verse 0.01mol de l'urée dissoute dans 1ml de jus de citron (catalyseur), on laisse le mélange pendant 4minutes, puis on ajoute 0.02 mol de l'aldehydesalicylique. Le tout est mise en agitation à température ambiante pendant un temps de réaction environ 15 min jusqu'au on observe la formation d'un précipite blanc, qui sera séparé par filtration et lavé avec un minimum d'éthanol.[6]

- **Synthèse de 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) thiourée :**

La base de schiff 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) thiourée a été obtenu selon la même procédure, à partir de la réaction de 0.01 mol de la thiourée avec 0.02 mol de l'aldehydesalicylique, au bout de 20 min on observe la formation d'un précipité jaune, qui sera filtré et lavé avec l'éthanol, le produit obtenu a été caractérisé après séchage.



**Figure 2.4 :** Synthèse verte des bases de Schiff.

### **2.2.2. Appareillages et méthodes d'analyses**

Les deux bases de Schiff synthétisés sont des solides et se présentent sous forme de poudre. Le changement de l'état physique des produits obtenus par rapport ceux des produits de départ c'est un indice significatif sur la formation de nouveaux produits. Tous les appareillages de tests de caractérisation sont présentés dans l'annexe 1.

#### **2.2.2.1. Le rendement**

Le rendement caractérise donc la qualité de la synthèse dans son ensemble, Il dépend fortement du choix des réactifs, du catalyseur, et la température

On appelle rendement « r » d'une synthèse, le rapport entre la quantité de matière de produit formé expérimentalement sur la quantité de matière qu'il est possible d'obtenir en théorie. De plus le rendement est égal à la masse de produit obtenue expérimentalement sur la masse de produit obtenue.

### 2.2.2.2. Le point de fusion

- **Principe**

Ce terme désigne le changement d'état d'un matériau quand celui-ci passe d'un état solide à un état liquide. Le point de fusion est la température exacte nécessaire à cette transformation et sa détermination est très importante puisqu'elle est hautement dépendante de la pureté du matériau testé. Cette technique est donc utilisée pour définir la qualité d'une substance

- **Mode opératoire**

Les points de fusion des ligands ont été mesurés à l'aide d'un appareil **BOETIUS PHMK 05** par l'observation de l'échantillon à travers l'oculaire jusqu'à ce qu'il soit complètement fondu avec la lecture instantanée de son point de fusion à partir du thermomètre dans l'appareil

### 2.2.2.3. Infra rouge

- **Principe**

La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (ou spectroscopie IRTF) est une technique d'analyse qui se base sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Cette technique permet, au travers de la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques et des groupements fonctionnels, d'identifier des matériaux de nature organique

- **Mode opératoire**

Une petite quantité du ligand est dispersée dans une petite quantité de KBr bien séché puis finement broyé après le mélange est extrait du moule sous très haute pression dans une presse hydraulique sous forme de pastille fine de bonne qualité qui a été utilisée pour obtenir le spectre. Ensuite la pastille a placé dans le porte échantillon de spectre, puis le placer dans la chambre de mesure du spectre sur le trajet du faisceau incident. Les spectres sont enregistrés en transmittance en utilisant un spectrophotomètre SHIMADZU FTIR-8900.

#### **2.2.2.4. Spectrophotométrie UV-visible**

- **Principe**

La spectroscopie UV-visible est une méthode d'analyse quantitative permet de détecter certaines particularités de l'espèce chimique que l'on cherche à analyser comme la couleur d'une espèce chimique en solution. Elles sont caractérisées par leur énergie (longueur d'onde) et par leur intensité (absorbance). Elle rend compte de l'interaction entre une onde électromagnétique et une particule chargée. Cette spectroscopie est largement répandue en travaux pratiques de chimie ainsi qu'en analyse chimique ou biochimique.

- **Mode opératoire**

Les spectres électroniques d'absorption des différentes bases de Schiff synthétisés ont été effectués en solution dans le cyclohexane entre 200 et 500 nm en utilisant un spectrophotomètre UV1800 SHIMADZU.

### **2.3. RESULTATS ET DISCUSSION**

#### **2.3.1. Synthèse et caractérisations physicochimiques des bases de Schiff**

Les caractéristiques physicochimiques de nos bases de Schiff synthétisées tels que ; l'aspect et la couleur, les rendements et les points de fusion obtenus par les deux méthodes de synthèse sont résumées dans les tableaux ci- dessous.

- Pour la synthèse verte

**Tableau 2.2** : Caractérisations physicochimiques des bases de Schiff obtenus par voie bio.

Réactif 01	Réactif 02	Catalyseur naturel	Couleur du produit	Temps (min)	Rendement	Point de fusion
Salicylique aldehyde (0.02mol)	Thiourée (0.01mol)	Jus de citron (1ml)	Blanc	20min	42.87%	183°C
Salicylique aldehyde (0.02mol)	Urée (0.01mol)	Jus de citron (1ml)	Cristaux Jaune	20min	40.40%	135°C

- Pour la synthèse conventionnelle

**Tableau 2.3** : Caractérisations physicochimiques des bases de Schiff obtenus par voie classique.

Réactif 01	Réactif 02	Solvant	Couleur du produit	Temps (min)	Rendement	Point de fusion
Salicylique aldehyde (0.02mol)	Thiourée (0.01mol)	50ml éthanol	Cristaux Jaune	2h	31.40	180 °C
Salicylique aldehyde (0.02mol)	Urée (0.01mol)	50ml éthanol	Cristaux Jaune	2h	25.89	130°C

D'après les résultats obtenus, on peut dire que l'utilisation de la technique de chimie verte consiste à éliminer les solvants pendant les processus de synthèse ou à remplacer les solvants dangereux par des solvants respectueux de l'environnement ainsi qu'à l'utilisation des catalyseurs naturels ; nous a donné des valeurs satisfaisantes par rapport au rendement et encore avec un temps réduit.



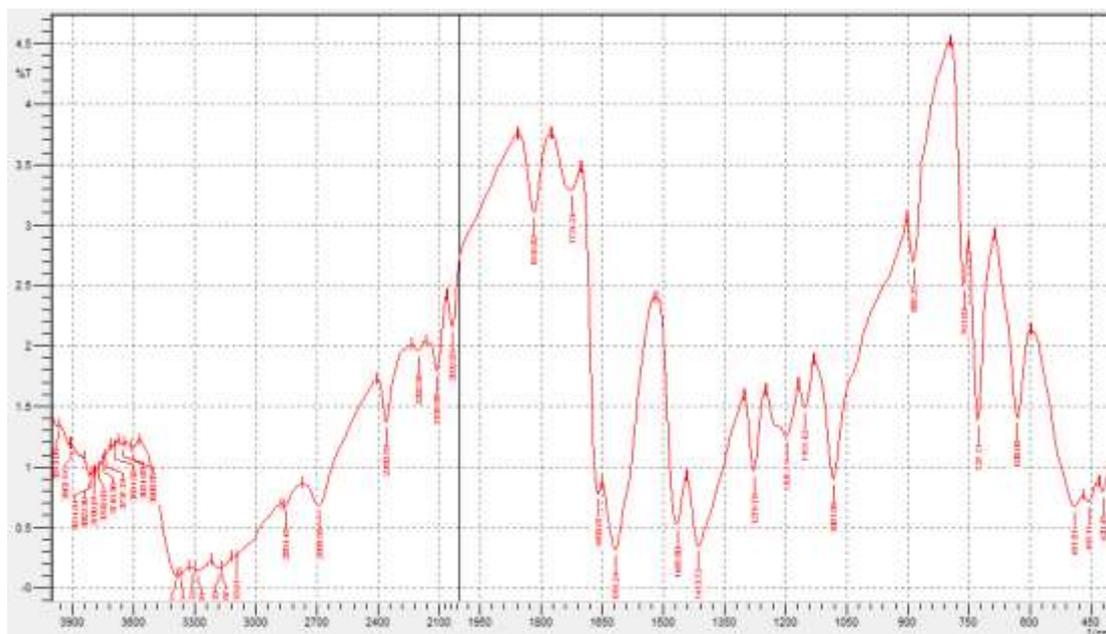
**Figure2.5** : la base de Schiff 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) urée.



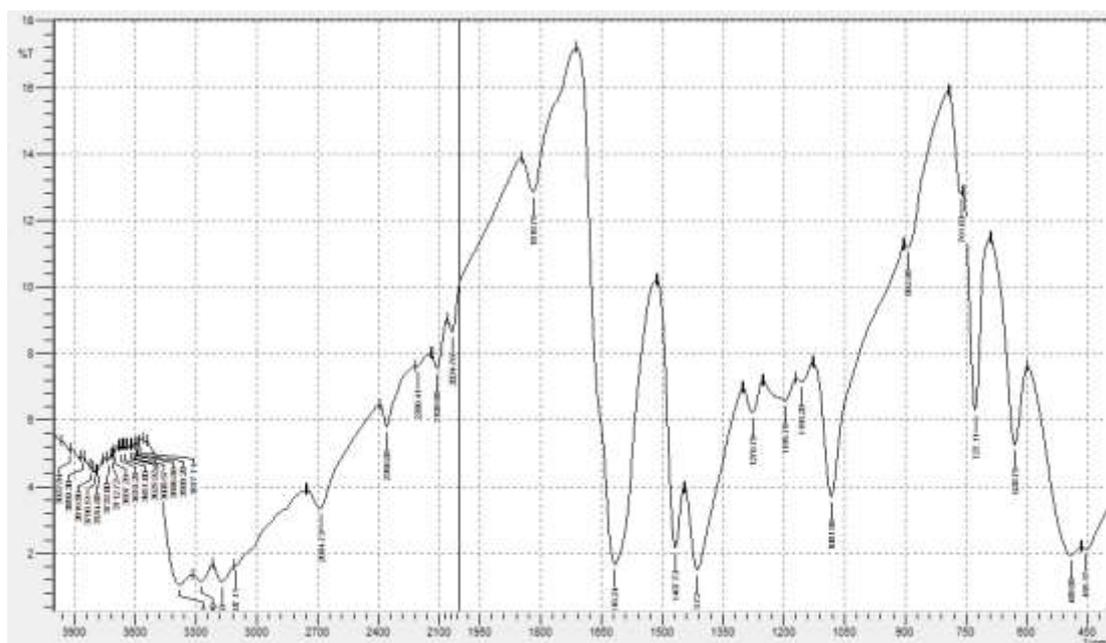
**Figure2.6** : la base de Schiff 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) thiourée.

### **2.3.2. Spectroscopie infrarouge**

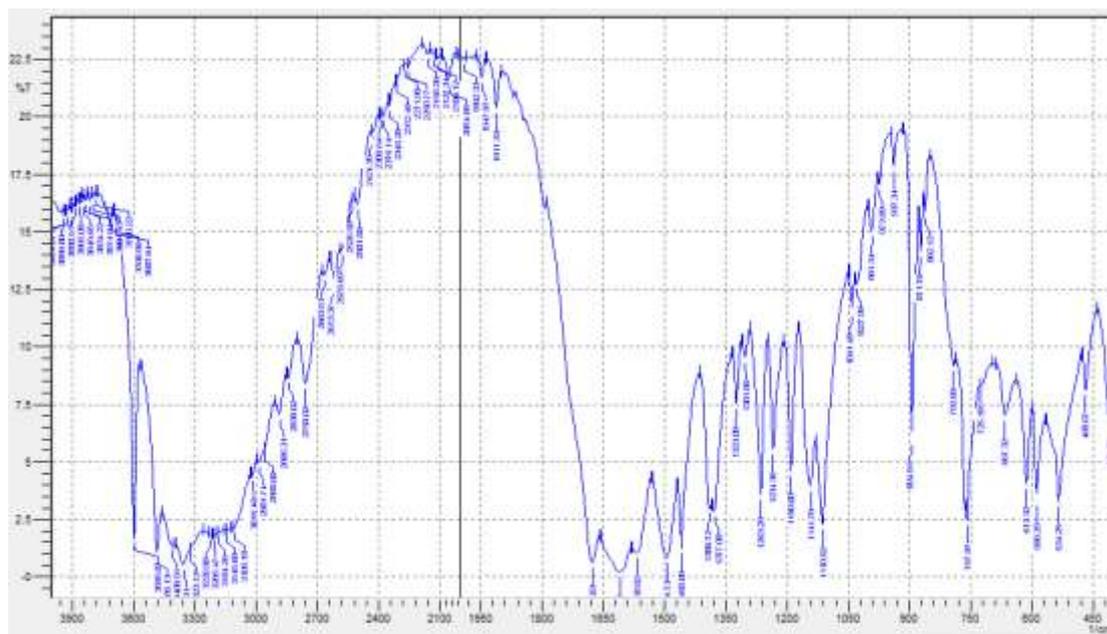
Les figures (2.6 – 2.9), illustrent les spectres IR de nos composés bas de Schiff obtenus par les deux méthodes de synthèse, et ceux des produits de départ correspondants.



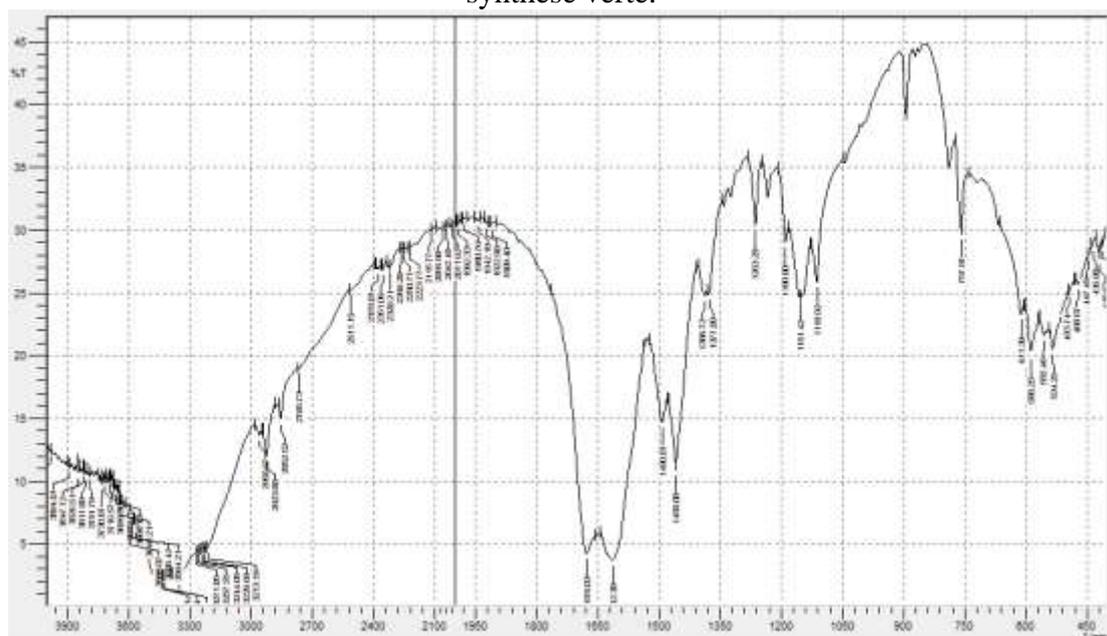
**Figure 2.7:** Spectre infrarouge de 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) thiourée obtenue par synthèse verte.



**Figure 2.8:** Spectre infrarouge de 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) thiourée obtenue par synthèse conventionnelle.



**Figure 2.9 :** Spectre infrarouge de 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) urée obtenue par synthèse verte.



**Figure 2.10 :** Spectre infrarouge de 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) urée obtenue par synthèse conventionnelle.

Les spectres enregistrés pour les quatre produits synthétisés, indiquent sans ambiguïté des différences bien claires entre les amines de départ et les composés synthétisés, ce qui différencie ces spectres s'est surtout la disparition totale de la bande

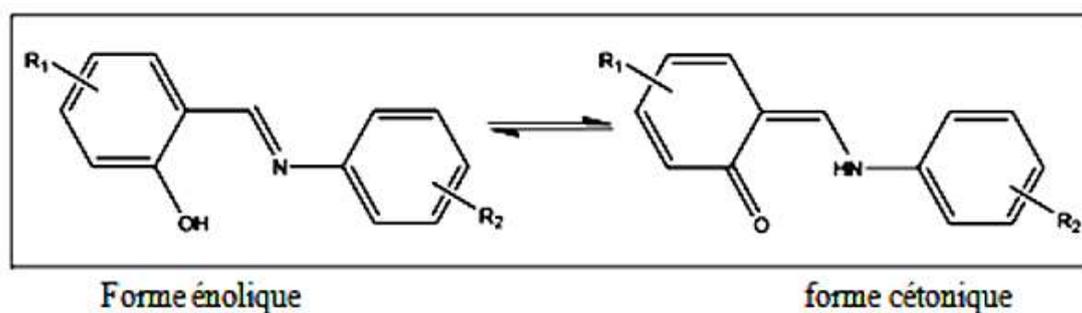
empreinte de l'amine primaire sur les spectres des molécules synthétisées et l'apparition des nouvelles bandes d'absorption caractéristiques des composés imines.

Une bande d'absorption est systématiquement observée dans l'intervalle 3300- 3800  $\text{cm}^{-1}$  quel que soit la base de Schiff, cette bande est attribuée aux groupements hydroxyles (O-H). L'IR confirme la persistance de la bande d'absorption de la fonction azométhine (C=N) au voisinage de 1600  $\text{cm}^{-1}$ .

### 2.3.3. Spectroscopie électronique et équilibre céto-énolique

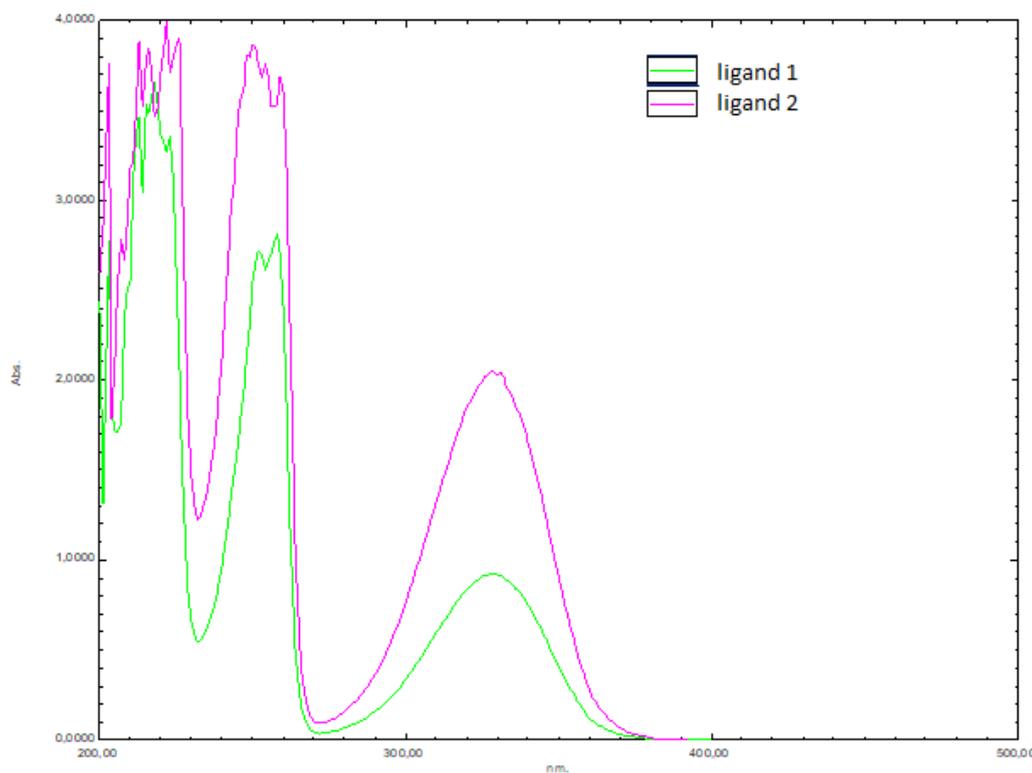
La spectrophotométrie UV-Vis nous a permis la mise en évidence des bandes d'absorption caractéristiques des différents produits impliqués dans ce travail, le spectre a été enregistré en cyclohexane dans le domaine d'ultraviolet allant de 200 à 500 nm.

Les hydroxybases de Schiff, de par leurs groupement hydroxyl sont capables dans certaines conditions d'établir un équilibre entre deux formes tautomères, une forme énolique et une forme cétonique (voir fig. 2.10).



**Figure 2.11:** Equilibre céto – énolique dans l'anilinesalicylidène [44].

Il a été démontré empiriquement pour les bases de Schiff à structure purement énolique des bandes en deçà de 400nm, alors que celles adoptant la forme cétonique (en équilibre avec la structure énolique), absorbent en plus entre 450 et 500nm [45-46].



**Figure 2.12** : Spectre UV-Vis du ligand 1(1,3-bis (2-hydroxy benzylidène)thiourée) et ligand 2 (1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) urée) dans le cyclohexane.

On remarque que le spectre de nos bases de Schiff étudiés présentent une absorption entre 200-400 nm, il reflète le même mode d'absorption en deca de 400 nm, alors qu'une seule forme énolique est présentée pour les deux bases de Schiff synthétisé.

**CHAPITRE 3**  
**ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES**

### 3.1. INTRODUCTION

Ce chapitre est subdivisé en deux parties, sa première partie est consacrée à présenter le protocole expérimental de l'ensemble des méthodes utilisées au cours de l'étude de l'activité biologique de nos deux bases de Schiff synthétisées, y compris l'activité antibactérienne, anti-antifongique et antioxydante.

Dans la deuxième partie, on va présenter les résultats obtenus au cours des tests d'applications biologiques étudiés suivie par l'interprétation et la discussion ces résultats.

### 3.2. MATERIELS ET METHODES

Cette partie est consacré à l'étude biologique de nos bases de Schiff mise en évidence de ses activités antimicrobienne sur quatre bactéries (*Escherichia coli*, *Bacillus spizizeni*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*), L'activité antifongique sur un champignon *Aspergillus brasiliensis* et un levure *Candida albicans* qui ont été testés vis-à-vis quelques composés synthétisés par la méthode de disque et par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition, ainsi que l'activité antioxydante par l'estimation de l'effet antioxydant en utilisant la méthode du DPPH.

#### 3.2.1. L'activité antibactérienne et antifongique

Deux composés de type bases de Schiff synthétisés ; 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) thiourée (**B1**) et 1,3-bis (2-hydroxy benzylidène) urée (**B2**), ont été évalués par la méthode de diffusion en gélose ou méthode de diffusion en disque pour les activités antibactériennes (milieu Muller- Hinton) et les l'activités antifongiques (milieu Sabouraud). Dans cette méthode nous avons utilisé des disques de papier Wattman stérile de diamètre 9 mm imprégnés des différents produits à tester et déposer à la surface d'un milieu solide (gélose) préalablementensemencé en surface par inondation de la souche à tester (la bactérie ou le champignon). Après incubation pendant 24 h pour les bactéries et 48 h pour les champignons. La lecture des résultats a été faite par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm.

### 3.2.1.1. Matériel biologique

Le Matériel utilisé au cours de cette étude biologique est le suivant :

Milieu de culture (gélose MH) - milieu de culture (gélose Sabouraud) - eau distillé stérile - eau physiologique (NaCl) - DMSO - antifongique commerciale (fluconazole) - antibiotique commerciale (gentamicine 40mg/2ml) - Boites de pétrie 90 mm - disque wattman 9mm - fioles 10ml - seringues 5ml ou 10 ml - pince - tubes à essai stériles - bec bunsen - Souches bactériennes et champignons

### 3.2.1.2. Préparation et choix de concertation

#### a. Préparation des produits synthétisés

Nous avons choisi trois quantités 25mg ,50mg et 100mg des produits synthétisés, chaque produit a été dissous dans 1ml de DMSO pour obtenir finalement des solutions mères de concentration 25mg/ml ,50mg/ml et 100mg/ml [47].



**Figure 3.1 :** La Préparation de solutions mères

**b. Préparation des antibiotiques antibactérienne et antifongique :**

Deux solutions mères ont été préparé dans une fiole jaugée de 10 ml de fongicide commerciale Fluconazole (gélule) et l'antibactérienne commerciale Gentamicine pour avoir des concentrations de 5mg/ml et 2mg/ml.



**Figure 3.2 :** la solution fille préparée de l'antifongique

**c. Préparation de milieu culture**

Nous avons procédé à une surfusion de milieu de culture (Muller Hinton, Sabouraud) dans un bain-marie pendant 30min, après la dissolution des milieux, on les verse dans les boites de pétri, on laisse les boites refroidir à côté du bec bunsen jusqu'à la solidification puis on les met dans une étuve pendant 15 minutes pour déshumidifier.

**d. Préparation des suspensions bactérienne et champignons**

L'activité antimicrobienne a été évaluée sur une large gamme de micro-organisme vis-à-vis de quatre souches bactériennes *Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus spizizenii* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et deux souches fongiques *aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *Candida albicans* ATCC 10231. Les souches sont présentées dans les tableaux ci-dessous :

**Tableau 3.1** souches microbiennes testés et leurs Provenances

Souches	Forme	Gram	Code	Provenance
Escherichia coli	Bacile	-	ATCC 8739	Laboratoire de contrôle microbiologique du groupe SAIDAL -MEDEA
bacillus spizizeni	Bacile	+	ATCC 6633	
Pseudomonas aeruginosa	Bacile	-	ATCC 9027	
Staphylococcus aureus	cocci	+	ATTC 6538	
aspergillus brasiliensis	Ovoïdes	/	ATCC 16404	
Candida albicans	Mycélium	/	ATCC 10231	

La préparation des souches a été composé en deux parties suivant :

- **Le repiquage :**

- Prélever une colonie isolée et représentative de la souche à l'aide d'un enseigneur.
- Etaler en stries sur une boîte de milieu de culture.
- Cultiver dans l'étuve à 37°C afin d'obtenir une culture jeune Bactéries en généralement 18 à 24 h de culture avant résultat observables champignons et Levures en généralement 48h de culture avant résultats observables

- **Préparation de l'inoculum**

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, racler 2 à 3 colonies bien isolés et identiques à partir d'une culture pure et jeune puis inoculées dans 5 ml d'eau physiologique stérile, après bien mélanger la suspension jusqu'à ce qu'il devienne homogène

### **3.2.1.3. L'ensemencement**

Les bactéries et les champignons en suspension sont prélevées à l'aide d'un écouvillon stérile, ensuite l'écouvillon est frotté délicatement sur la totalité de la surface gélosée, en tournant la boîte de pétri à chaque fois de 60°. Tout en travaillant dans une zone d'asepsie au tour du bec benzène. Les boîtes de pétri sont ensuite fermées et mise à l'étuve à 37°C pendant 24h.



**Figure 3.3 :** L'ensemencement des suspensions bactériennes et fongiques.

### **3.2.1.4. La dispersion des solutions de produits (Imprégnation des disques)**

Les disques de papier filtre wattman stérile de 9 mm de diamètre ont été imprégnés d'une faible quantité des produits testés et des témoins, d'une concentration de 50mg/ml et 100 mg/ml pour les produits testés et 2 mg/ml et 5 mg /ml pour les témoins, puis à l'aide d'une pince, on les dépose à la surface des boîtes pétris préalablement ensemencées. Ensuite, L'empilement des boîtes mise dans l'étuve et incubés à 37°C pendant 24h.



**Figure3.4** : Le dépôt des disques sur la gélose.

### **3.2.1.5. Lecture des boîtes après incubation**

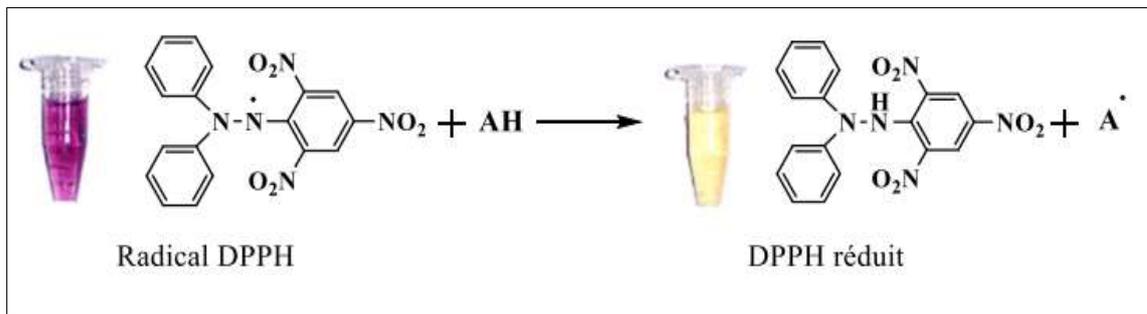
Après l'apparition des zones d'inhibition circulaire, on mesure les diamètres des zones d'inhibition des produits synthétisés au millimètre avec un pied à coulisse et on compare avec les zones d'inhibition des témoins utilisés.

### **3.3.2. L'activité antioxydante**

#### **3.3.2.1.Principe**

La détermination de l'activité antioxydante a été effectuée en utilisant la méthode de test de DPPH. Cette méthode mesure la capacité d'un antioxydant (AH) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le radical DPPH est de couleur violette sous sa forme oxydée, devient jaune pâle après transfert d'électron par des composés antioxydants (figure 3.5).

Le DPPH° (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable, a une maximale absorption vers  $\lambda_{\text{max}} = 517 \text{ nm}$  dans le méthanol et l'éthanol.



**Figure3.5 :** Schéma représente la réduction du radical DPPH° par A-H, où (AH) est un composé capable de céder un H au radical DPPH.

Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée avec une substance qui peut donner un hydrogène, cette réaction donne lieu à la forme réduite avec perte de la couleur violette, la forme réduite n'absorbe plus à  $\lambda = 517 \text{ nm}$ , ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde.

La réaction de transfert d'hydrogène de l'antioxydant vers le DPPH• est suivie par la spectrophotométrie visible en enregistrant la décroissance de la bande d'absorption du DPPH• à  $\lambda=517\text{nm}$  (diminution de la coloration violette) [48].

L'évaluation de l'activité antioxydante a été effectuée en utilisant la méthode de DPPH qui exprimée en pourcentage d'inhibition à l'aide de la formule suivante : [40]

$$\text{PI}(\%) = \left( \frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100$$

**A0 :** absorbance Blanc

**A1 :** absorbance échantillon

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur de la CI50, sachant que l'IC50 est la concentration de l'échantillon nécessaire pour neutraliser 50% des radicaux libres qui a été obtenue.

### **3.3.2.2.Mode opératoire**

Un volume de 0,2 ml, de chaque échantillon de chacune des concentrations préparées et dilués à partir de  $10^{-3}$ g/ml de l'acide ascorbique, 0.05 g/ml pour le composé B1 et 0.15 pour le composé B2, puis chaque 0, 4 ml de la solution a été ajouté 0.8 ml à d'une solution de radicaux DPPH dissout dans le méthanol. Le mélange est laissé pendant 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. Les absorbances de tous les solutions préparées ont été mesurées à 517 nm. Les résultats obtenus pour chaque produit testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique pris comme référence.

## **3.3. RESULTAT ET DISCUSSIONS**

Au cours des tests effectués dans ce travail, l'activité antibactérienne des produits synthétisés a été déterminée à trois doses différentes (25mg/ml, 50mg/ml, 100mg/ml) contre quatre types des bactéries (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus spizizeni* ATCC 6633 et *Staphylococcus aureus* ATTC 6538) en utilisant la méthode de diffusion de disque sur milieu de Mueller-Hinton gélosé. (MHA) et deux souches fongiques : *aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 et *Candida albicans* 10231, également par la méthode de diffusion des disques sur milieu sabouraud dextrose (SDA). Cette méthode est basée sur la présence ou l'absence de zone d'inhibition en comparaison avec celle de l'antibiotique standard. Les tests ont été effectué au niveau de laboratoire d'hygiène de la Wilaya de Blida.

### **3.3.1. Evaluation de l'activité antibactérienne**

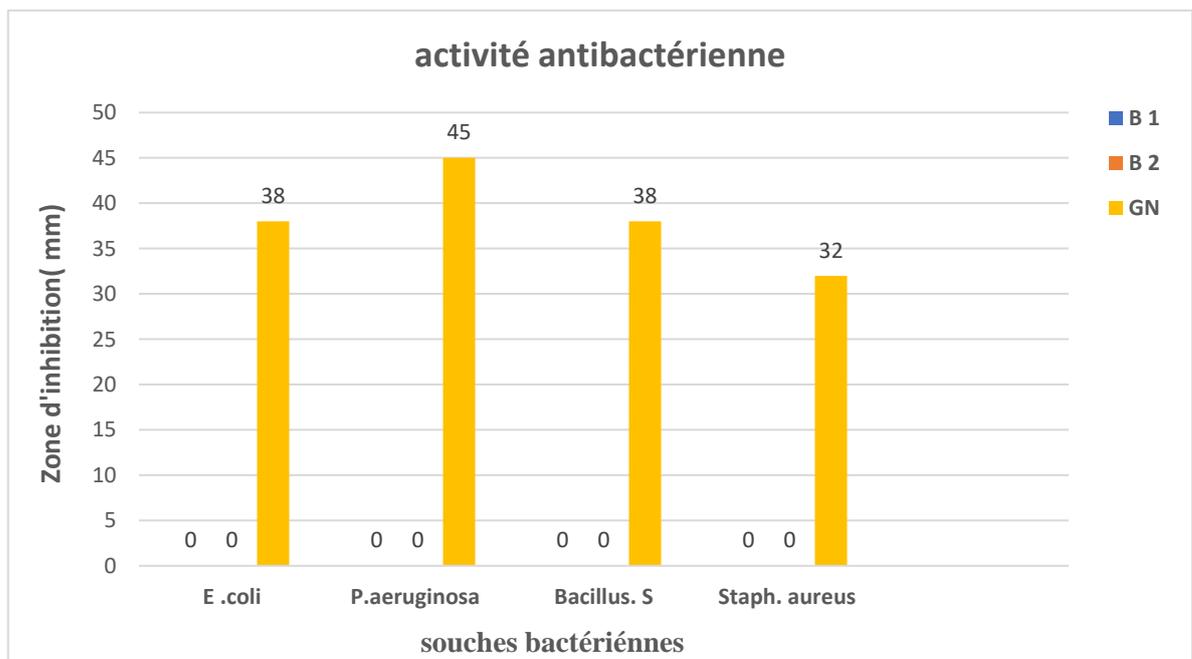
Cette sensibilité est traduite par la mesure de diamètre des zones d'inhibition après l'incubation pendant 24 heure à 37°C. Les résultats ont été comparés avec l'antibiotique gentamicine (GN) qui a été utilisés comme contrôle positif avec les bases de schiff synthétisés (B 1et B 2) dans les trois Concertations (25mg/ml ,50mg/ml et 100mg/ml).

La lecture des résultats se fait par la mesure, à l'aide d'une règle graduée, du diamètre de la zone d'inhibition formée autour du disque de 9 mm [49].

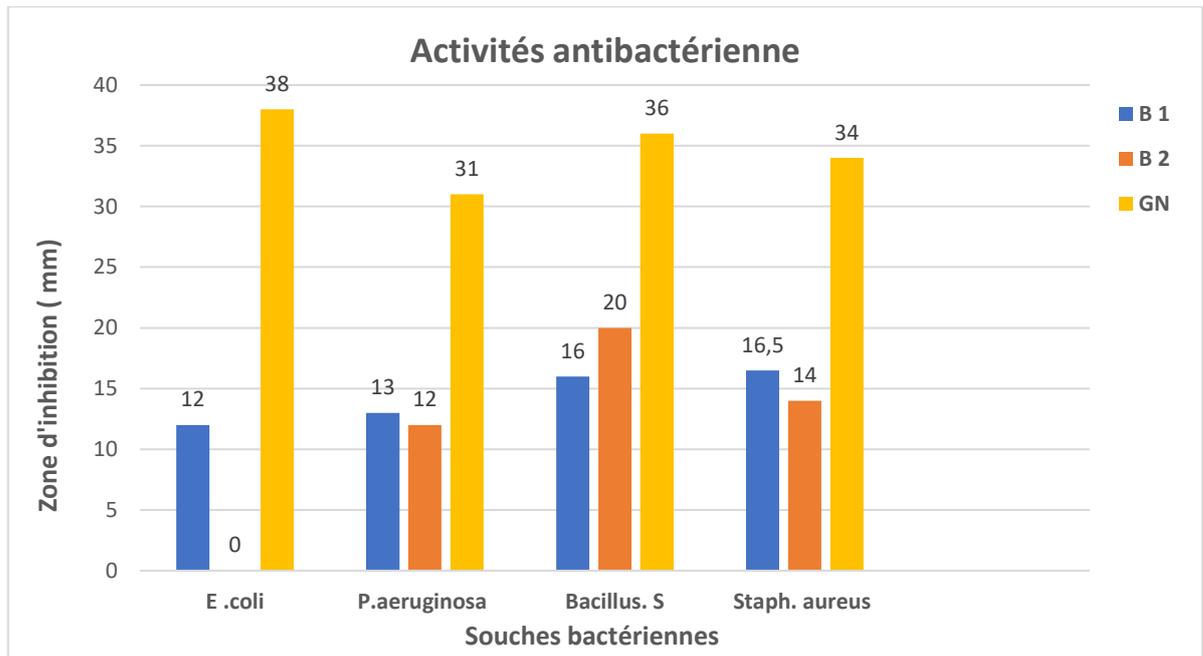
Les résultats obtenus de l'étude de l'activité antibactérienne des bases des schiff sont regroupés dans le tableau suivant.

**Tableau 3.2** Activité antibactérienne des bases de Schiff synthétisées (B1 et B2) à différentes concentrations.

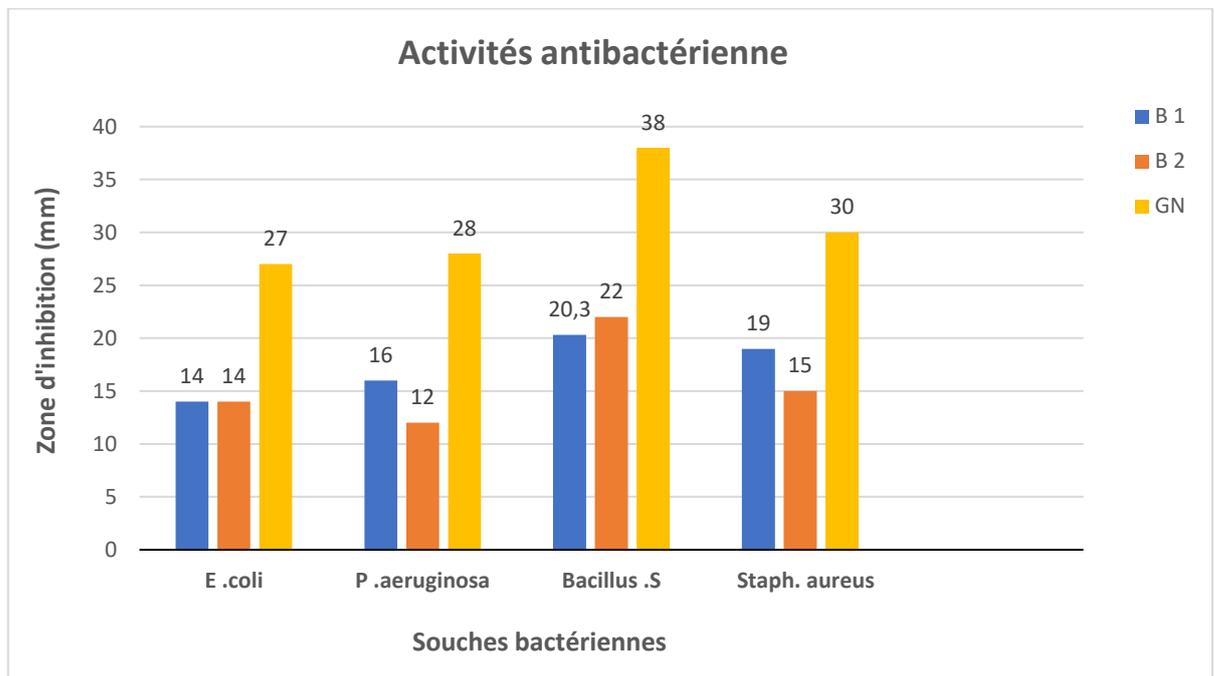
Souches bactériennes		Concentration (mg /ml)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)		
			B 1	B 2	GN
Gram Négatif	Escherichia coli	25	00	00	0
		50	12	00	38
		100	14	14	27
	Pseudomonas aeruginosa	25	00	00	00
		50	13	12	31
		100	16	12	28
Gram Positif	Bacillus spizizeni	25	00	00	00
		50	16	20	36
		100	20.3	22	38
	Staphylococcus aureus	25	00	00	00
		50	16.5	14	34
		100	19	15	30



**Figure 3.6 :** Activité antibactérienne en mm pour les deux bases de Schiff à 25 mg/ml.



**Figure 3.7:** Activité antibactérienne en mm pour les deux bases de Schiff à 50 mg/ml.



**Figure 3.8:** Activité antibactérienne en mm pour les deux bases de Schiff à 100 mg/ml.

D'après le tableau 3.2 les résultats de l'activité antimicrobienne des deux bases de schiff testée à trois concentrations différentes (25mg/ml, 50mg/ml et 100mg/ml), montrent que toutes les souches se sont révélées sensibles à la gentamicine avec des diamètres variés qui représente une large activité antibactérienne entre 27 et 38mm. Une très forte activité a été enregistrée sur E.coli et Bacillus S avec une zone d'inhibition de 38 mm

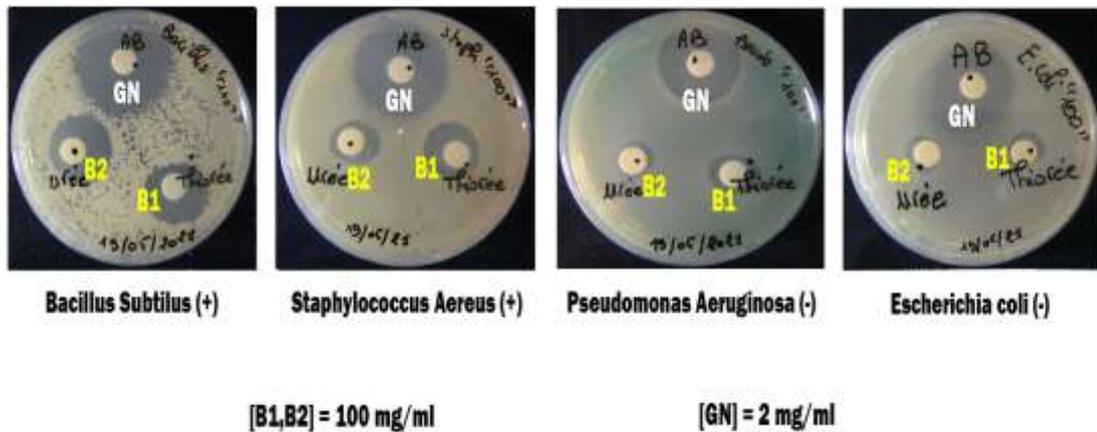
Les résultats obtenus montrent une absence totale d'activité antibactérienne à la concentration de 25mg/ml dans les deux composés B1 et B2. N'a aucune influence antibactérienne sur toutes les souches testées sauf dans l'antibiotique « gentamicine » qu'il montre une forte activité antibactérienne.

Les ligand bases de Schiff B1 et B2 à 50 mg/ml ont montré une bonne activité sur les bactéries à Gram positif Bacillus.S et Staph.aureus avec des zones d'inhibition 16 mm et 16.5mm pour le composé B1 et 14mm à 20 mm pour le composé B2.

Une faible activité contre les bactéries à gram négatif P. aeruginosa et E. coli avec des zone d'inhibition varient de 12 à 13 mm ainsi que le composé B2 ne présente aucune activité antibactérienne sur la bactérie E. coli.

Par contre à 100 mg/ml nous avons remarqué également un pouvoir antibactérien prononcé sur toutes les bactéries. Ce pouvoir touche principalement les bactéries à gram positif Bacillus.S et staph.aureus qu'ils ont présenté une bonne activité par rapport les bactéries à gram négatif E.coli et P. aeruginosa qu'ils ont montré une activité modérée dans tous les ligands synthétisés.





**Figure 3.11:** L'effet des bases de Schiff sur les souches bactérienne à 100mg/ml.

En conclusion, L'évaluation de l'activité antibactérienne des bases de Schiff synthétisés montre une activité plus forte sur les souches bactériennes à gram positif telles que (Bacillus.S, Staph. Aureus) par rapport à gram négatif (E.coli , P. aeruginosa), malgré la forte et la moyenne activités de ces composés nous avons remarqué que l'activité du l'antibiotique est plus importante que celle du ligand correspondant. Cette étude indique que les composés sont plus lipophiles, ce qui permet une meilleure pénétration à travers la membrane lipidique de la cellule (l'attaque le cible d'organisme pour inhibant la croissance bactérienne) [50].

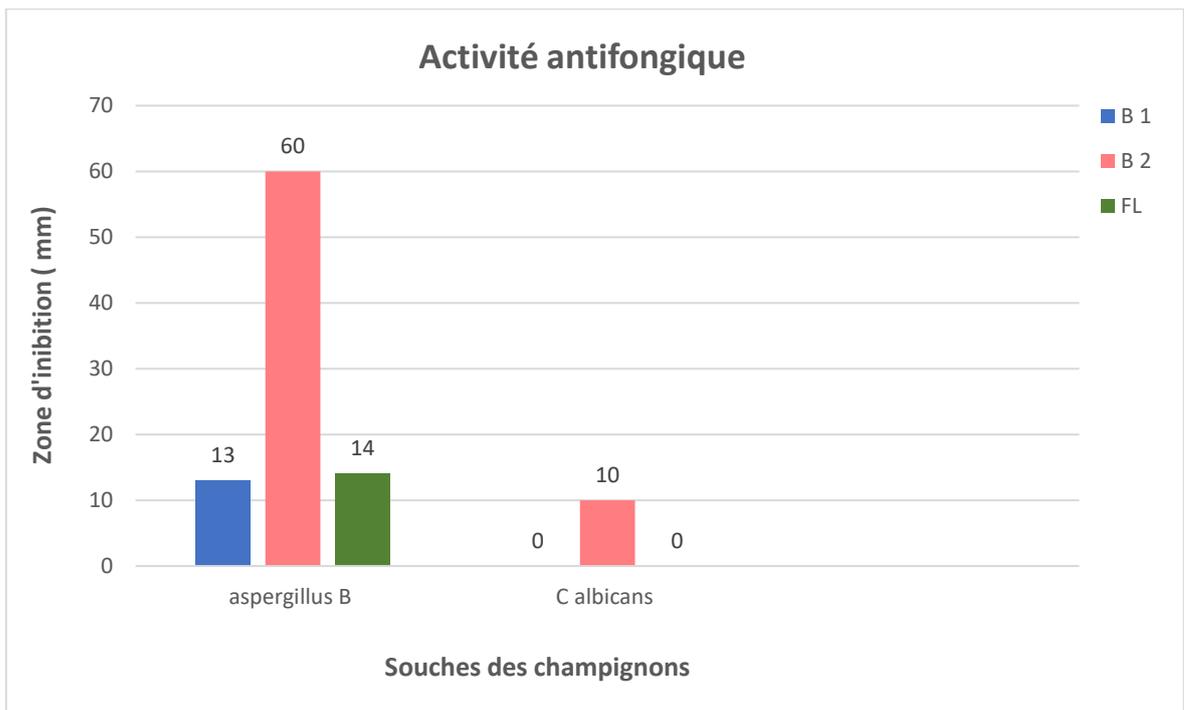
### **3.3.2. Evaluation de l'activité antifongique des bases de Schiff**

L'évaluation de l'activité antifongique des bases de schiff a été testée contre C.albicans et aspergillus.B en comparant des tests de l'activité antifongiques avec le fongicide Fluconazole ( FL) .

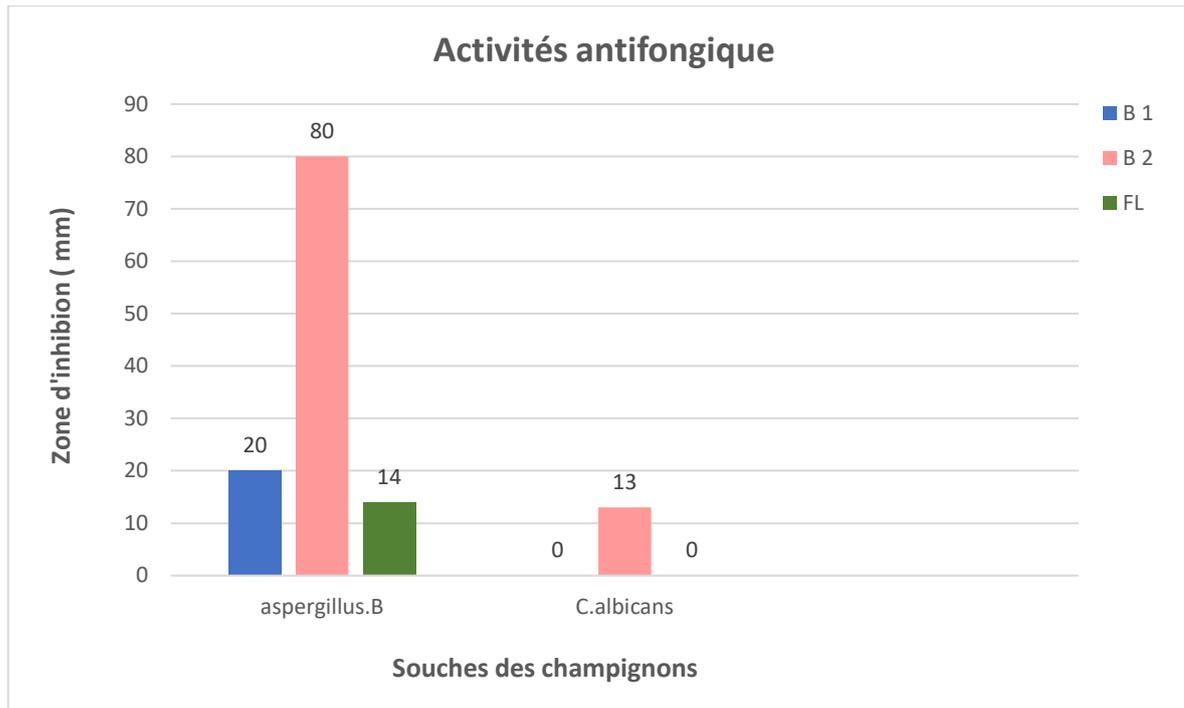
Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) sont regroupés dans le tableau 3.3 et leurs représentations graphiques sont illustrées dans les figures présentées ci-dessous.

**Tableau 3.3 :** Activité antifongiques des bases de Schiff synthétisées à différentes concentrations.

Les souches des champignons	Les bases de schiff	Zone d'inhibition (mm)		
		25mg/ml	50mg/ml	100mg/ml
C.albicans	B 1	00	00	00
	B 2	00	10	13
	FL	00		
aspargillus.B	B 1	00	13	20
	B 2	00	60	80
	FL	14		



**Figure3.12 :** Activité antifongique en mm pour les deux bases de Schiff à 50 mg/ml.



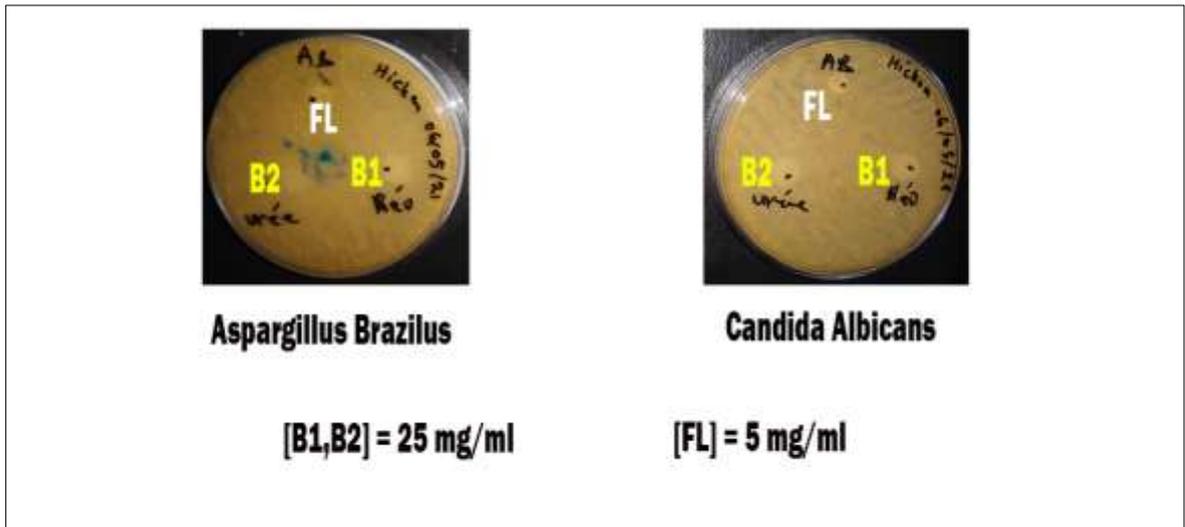
**Figure 3.13** : Activité antifongique en mm pour les deux bases de Schiff à 100 mg/ml.

L'antibiotique au cours des travaux de mémoire n'ont présenté aucune activité antifongique sur la levure *C.albicans* par rapport la souche fongique *aspergillus.B* qu'il montre une activité faible avec un diamètre d'inhibition nettement élevée de 14mm

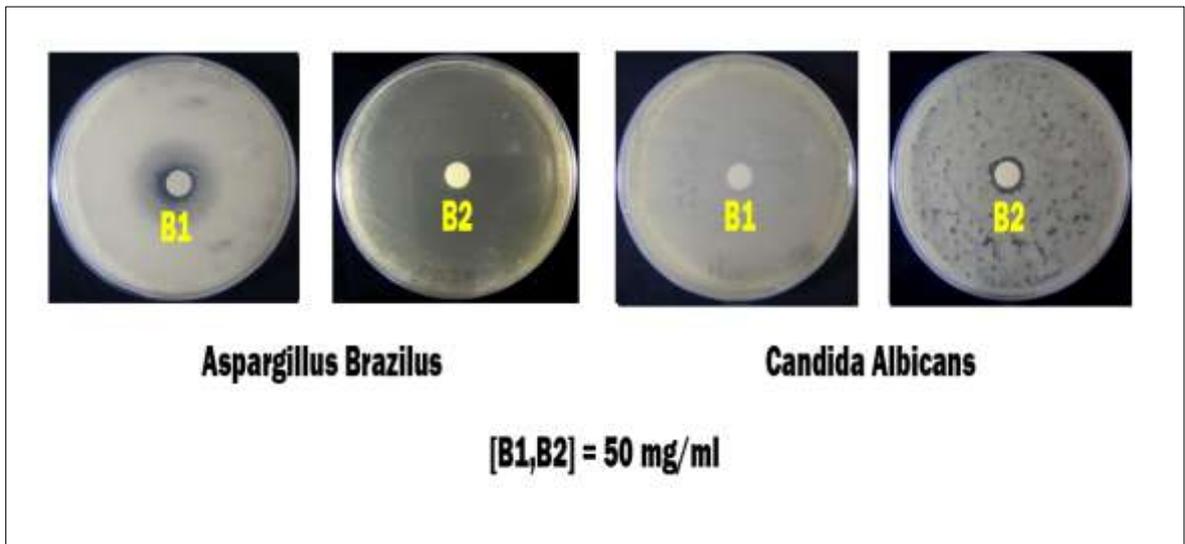
Compte tenu des résultats obtenus dans la concentration de 25mg/ml, les souches fongiques ont aucun effet sur tous les ligands synthétisés.

Les résultats de produit B1 se sont montrés inactifs sur la souche *C.albicans* à 50mg/ml et 100mg/ml. En revanche le produit B2 qu'il indique une activité antifongique variable mais qui reste globalement faible (diamètres d'inhibition compris entre 10 et 13 mm).

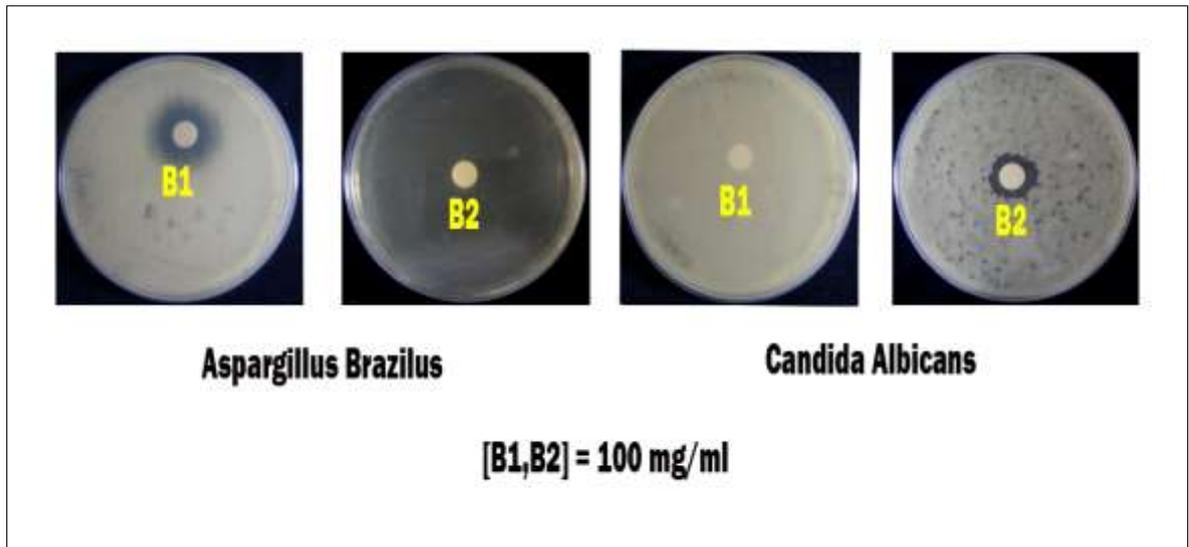
Le produit B2 a présenté la plus grande inhibition sur *aspergillus.B*, celui-ci a montré une activité antifongique importante, la valeur du diamètre d'inhibition obtenue était de 60 mm à 80mm dans les concentrations 50mg/ml et 100mg/ml et aussi pour le produit B1 qui s'est avérée également active avec un diamètre d'inhibition de 13mm à 20mm.



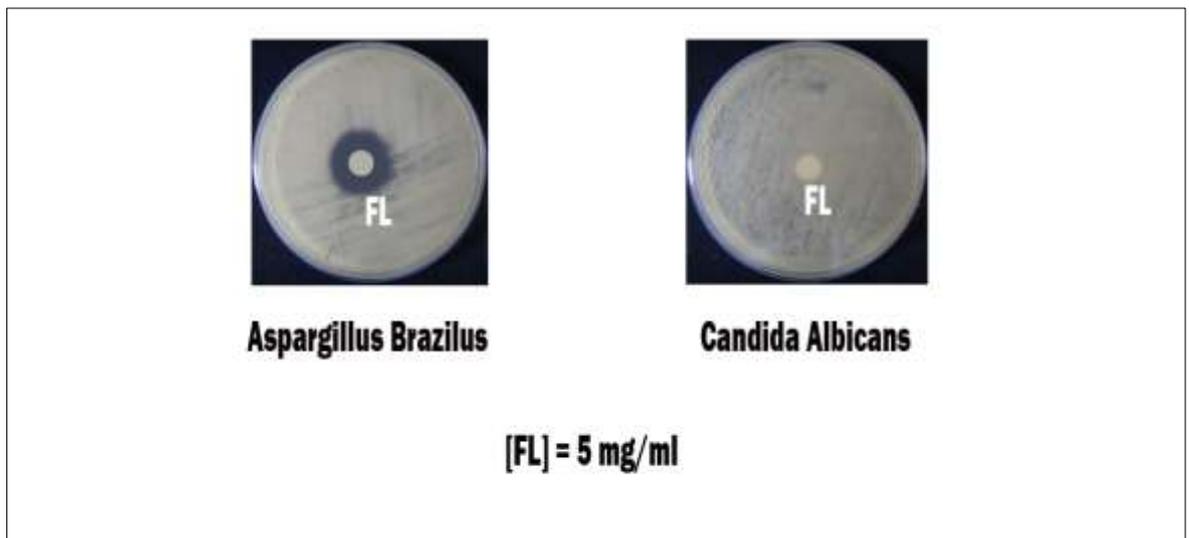
**Figure 3.14:** L'effet des bases de Schiff sur les souches fongiques à 25 mg/ml.



**Figure 3.15 :** L'effet des bases de Schiff sur les souches fongiques à 50 mg/ml.



**Figure 3.16 :** L'effet des bases de Schiff sur les souches fongiques à 100 mg/ml



**Figure 3.17:** L'effet de fongicide commercial « Fluconazole ».

D'après les résultats, on remarque le composé B2 a donné une grande activité antifongique sur le champignon aspergillus.B. tandis que La souches C. albicans présente une résistance moyenne. Cette étude montre que la présence des groupes électro- donneurs (CH<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>O – et CL<sup>-</sup>) a amélioré l'activité antifongique des composés [51].







## **CONCLUSION GENERALE**

## CONCLUSION GENERALE

L'obtention des inhibiteurs est actuellement un domaine d'une importance considérable. C'est donc dans cet ordre d'idée que nous nous sommes axés pour contribuer à cette étude avec des composés de type bases de Schiff.

Ce travail a pour objectif l'étude de composés organiques base de Schiff de type Salen. Ces composés ont été synthétisés par une condensation de l'aldéhyde salicylique et le diamine thiourée pour la première base de Schiff (B1), et le diamine urée (B2) pour le deuxième composé, cette synthèse a été réalisé selon deux approches ; verte et classique.

La méthode verte a été prouvée ici comme une meilleure méthode pour la synthèse des bases de Schiff qui peuvent également présenter de plusieurs avantages. Parmi ces avantages, nous avons la réduction de temps de réactions, lors de cette méthode nous avons remarqué que le temps est limité de 10 minutes seulement. Contrairement à la méthode conventionnelle dans laquelle nous avons pris presque deux heures. En ce qui concerne le deuxième avantage est l'augmentation de rendement des bases de Schiff, il a été toujours supérieure par rapport à la méthode conventionnelle.

Les deux bases de Schiff synthétisées ont été caractérisées et identifiées par les méthodes spectroscopiques UV/VIS et IR usuelles pour conformer leurs structures.

Dans un deuxième temps, une étude biologique (activité antibactérienne, antifongique et antioxydante) a été menée par différentes souches bactériennes.

L'évaluation de l'activité antibactérienne indique que ces produits possèdent une sensibilité sur toutes les souches testées à 50mg/ml et 100mg/ml, Les plus fortes activités ont été présentes sur les souches à gram positif. Cependant, les tests d'activités antifongiques montrent que ces produits ont une influence sur le champignon aspergillus.B alors que l'effet de la base de Schiff (B2) est plus grand par rapport au composé (B1), par contre sur la levure C.albicans qui a marqué une faible activité sur le composé (B2) et aucune activité a été remarqué pour le composé (B1). Toutes les souches bactériennes et fongiques ne possèdent aucune sensibilité qui a été totalement inactive à la concentration de 25mg/ml. Globalement le pouvoir antifongique des bases de Schiff synthétisés s'est révélé plus important que le pouvoir antibactérien.

Les résultats obtenus par l'activité antioxydante montrent que le composé (B1) est un antioxydant efficace et il présente une bonne capacité de piégeage radical par rapport au composé (B2), mais moins que l'acide ascorbique.

Les perspectives envisagées au terme de ce travail de thèse peuvent être présenter comme suit :

- La synthèse d'autres bases de Schiff riches en sites de coordinations.
- Etude de l'affinité des molécules synthétisées à former des complexes solides et en solution avec les métaux de transition.
- Poursuite de la mise en évidence des activités biologiques et pharmaceutiques des molécules synthétisées, notamment l'étude de leur intérêt dans la lutte contre le cancer.

# **ANNEXE**



**Appareil de point de fusion « BOETIUS PHMK 05 »**



**Un spectrophotomètre UV-visible « UV1800 SHIMADZU »**



**Une presse hydraulique**

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- [1] : P.Anastas, T. Warner, J. Green « chemistry theory and practice », Oxford university press (1998), 135p
- [2] : H.S.Schiff; «Ann Chemistry», (Paris), 131, (1964),118p.
- [3] : K. Mokhnache, A. Karbab et N. Charef ,« LES BASES DE SCHIFF» , Journal Marocain De Chimie Hétérocyclique, (2020), 17p
- [4] : White sell, J.K, Winterfield, Ed. Pergamon, « synthèse organique globale, dans Comprehensive Organic Synthesis », Oxford, Royaume-Uni, Vol. 6, (1991), 703–732.
- [5] : Al. Zoubi, « Biological Activities of Schiff Bases and Their Complexes », Vol.3, (2013), 73-95
- [6] : A.Alikhani, N. Foroughifar ,H. Pasdar « Lemon Juice as a Natural Catalyse for Synthesis of Schiff's base: A Green Chemistry Approach », Department of Chemistry, Vol .5, (February 2018).
- [7] : N.Mimouni « Synthèse, Etude physico-chimique et Hydrolyse des Bases de Schiff Styréniques De Benzothiazole Et Ses Dérivés Composés A Visée Thérapeutique », chimie Moléculaire, analyse, modélisation, synthèse, (janvier 2009),43p.
- [8] : M. Shukla, H. Kulshrashtha, D. Seth « Comparative Study of the Schiff Bases by Conventional and Green Method and Antimicrobial Activity » International Journal of Materials Science, Vol.12, N°1, (2017) ,71p.
- [9] : R.BhaHacharyaM.S.R, S.Chaudhuri, L.Rigi, G.Bocelli, G.Mukhopadhyay, A.Ghsosh , « Polyhedron », Vol.22, (2003) ,617p.
- [10] : Singh P, Goel R L and Singh B P, « Journal of Indian Chemical Society », Vol.52, (1975), 958-959.

- [11] : MESBAH Mounira, « Synthèse, Caractérisation et Application Biologique de Nouveaux Ligands Bases de Schiff et Leurs Complexes métalliques », Thèse de Doctorat, génie des procédés pharmaceutiques, (2018),9p
- [12] : Y. Ma, Y. Fan, D.Y. Wang, « Chemistry Abstract », Vol.143, (2005), 3996p.
- [13] : M.M. Hernandes, M.L. Mckee, T.S. Keizer, B.C. Yeaswood and D.A. Atwood, «journal of the Chemical Society », Dalton Trans, Vol.410, (2002).
- [14] : S. Li, S. Chen, H.Ma, R. Yu and D. Liu, «Corrosion Science», Vol. 41, (1999), 1273p.
- [15] : A. Budakoti, M. Abid and A. Azam, «European Journal of Medicinal Chemistry», Vol. 41, (2006) ,63p.
- [16] : P.R. Palet, B.T. Thaker, and S. Zele, « Indian Journal of Chemistry », Vol.38, (1999),563p.
- [17] : Singh P, Goel R L and Singh B P, « Journal of the Indian Chemical Society », Vol. 52, (1975), 958-959.
- [18] : Balouiri M, Sadiki M, et Ibsoud S K. « Methods For In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity. Journal Of Pharmaceutical Analysis », Vol.6, (2016), 71–79.
- [19] : R. Ben Abdallah, D. Frikha, S. Maalej, S. Sassi « Evaluation In Vitro De L'activité Antibactérienne Et Antifongique De Quatre Espèces Algales Marines », Faculté des Sciences de Sfax Tunisie, vol. 31, (Février 19), 39p.
- [20] : J.Figarella, G.Leyral, M.Terret «Microbiologie Générale Et Appliquée» , Delagrave éd , (2004), 20p.
- [21] : A.Meddour ,M .Redha ,M. Misseraoui « Exposé Sur La Classification Bactérienne », Génie de l'environnement, (2020).

- [22] : M. Bousekraoui, Z.Said ,N. Sora ,N. Benaouda ,K.Zerouali ,M. Mahmoud «Guide Pratique Des Bactéries Pathogènes» société marocaine d'infectiologie pédiatrique et de vaccinologie , (2017).
- [23] : D. Alpha Amadou, « Escherichia Coli Pathogènes Et Résistantes Aux Antibiotiques Dans Les Effluents D'origine Humaine Et Animale : Prévalence Et Caractérisation Avant Et Après », doctorat de l'université de toulouse, (2013), 13p.
- [24] :S. Bouhairi, « Bacillus Sybtilis Caracteres Et Application », faculté de médecine et de Pharmacie, (2017), 11p.
- [25] : A. Jean, L. Fauchère, J.Loup ,«Bactériologie générale et médicale », marketing S.A éd. Paris, 259p.
- [26] :« Staphylococcus Aureus Et Entérotoxines Staphylococciques », fiche de description de Danger biologique transmissible par les aliments, (2011),1p.
- [27] : J. BURDIN, « Les Bactéries », presses universitaires De France-Paris, (1973).
- [28] : E. Denes, « Les Infections Fongiques Systémiques », Actualités pharmaceutiques hospitalières, Vol.1, (2005), 12-14.
- [29] : Yala D, Merad A.S., Mohamedi D., Ouar korich M.N, « Classification et mode d'action Des antibiotiques », Médecine du Maghreb, n°91, (2001),5-12.
- [30] : R.Bonnet, J. Bru, F. Caron, F. Jehl, « Comité De L'antibiogramme De La Société Française », Hôpitaux universitaires de Strasbourg, (2015).
- [31] : J.L. Fauchère, J.-L. Avril, « Bactériologie Générale Et Médicale », Ellipses, (2002).
- [32] : S. Carle, B.Pharm., M.Sc « Les Antifongiques Dans Le Traitement Des Infections Invasives », Centre universitaire de santé Mc Gil, Vol. 36, N°1, (Février 2003) ,25p.

[33] : A. Wurtz, « Champignons, Bactéries Et Algues Des Eaux Polluées », bulletin français de Pisciculture, N°182, (juillet 1956).

[34] : <https://www.universalis.fr/encyclopedie/levures>.

[35] : Abu-Dief MA, et Mohamed IM A, « A Review on Versatile Applications of Transition Metal Complexes Incorporating Schiff Bases », Journal of basic and applied sciences, Vol.4, (2015), 1-15.

[36] : Tadele, «Antioxidant Activity of Schiff Bases and Their Metal Complexes», A Recent Review, Journal of pharmaceutical and medicinal research, Vol.3 (1), (2017), 73-77.

[37] : C. Popovici, I. Saykova, B. Tylkowski, « Evaluation De L'activité Antioxydant Des Composés Phénoliques Par La Réactivité Avec Le Radical Libre DPPH », Université de Technologie chimique et de métallurgie, vol .2, (2009), 27 p.

[38] : A. Prakash, « Antioxidant Activity », Medallion Laboratories Analytical Progress, vol 19, (2001).

[39] : V. Jagtap A. Kawalkar, « Synthesis of Schiff Bases by Green Solvent Method: A Green Chemistry Approach », Department of Chemistry, Vol. 9, (2019), 422p.

[40] : M. Mehri, N. Chafai, L. Oukcel, K. Benbouguerra, A. Hellel, S. Chafaa, « Synthesis Electrochemical And Classical Evaluation of The Antioxidant Activity of Three Aminophosphonic Acids », Journal of Molecular Structure, (2018), 188p.

[41] : Cozzi, P. G, « Chemical Society Reviews », Vol.33, (2004), 410–421.

[42] : Garnovskii, A. D. Nivorozhkin, A. L. Minkin, «Coordination Chemistry Reviews », Vol.126, (1993), 1– 69.

[43] : R. HADJEB, « Synthèse et étude du comportement acido-basique et de distribution des hydroxybases de Schiff substituées. Application de l'équation de Hammett », Thèse de Doctorat, Génie Chimique, (2015), 38p.

[44] : D. Özkır, K. Kayakırılmaz, E. Bayol, A. Gürten, F. Kandemirli, « Corrosion Science », Vol.56, (2012), 143-152.

- [45] : S. Deng, X. Li, H. Fu, « Corrosion Science », Vol.53, (2011), 822–828.
- [46] : F. Bentiss, M. Lebrini, M. Lagrenee, « Corrosion Science », Vol.47, (2005), 2915–2931.
- [47] : Miloud MM, El-Ajaily MM, Al-Noor TH And Al-Barki NS, «Antifungal Activity Of Some Mixed Ligand Complexes Incorporating Schiff Bases», Journal of Bacteriology and Mycology, (February 2020),2p.
- [48] : P. Molyneux, « The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity », Journal of Scientific & Technology, Vol.26, (2004), 211-219.
- [49] : H.Leclerc ,« Précis Photothérapie » ,Masson, (1975) ,170p.
- [50] :S. Chandra, D.Jain, K.A.Sharma, « Coordination Modes Of A Schiff Base Pentadentate Derivative Of 4-Aminoantipyrine With Cobalt (II), Nickel (II) And Copper (II) Metal Ions Synthesis, Spectroscopic And Antimicrobial Studies. Molécules », (2009), 174-90.
- [51] : M.Y Belghit, « synthèse structurale et étude du comportement des ortho-hydroxy bases De schiff en phase liquide -liquide », chimie industrielle, (Mai 2017) ,114p.
- [52] : S. NAKKAB, « Etude De Quelques Activités Biologiques D'une Plante : Cestrum Parqui », Thèse de Doctorat, biologie, (2019),188p.