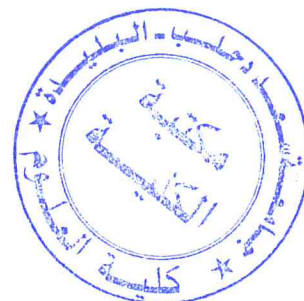


République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université BLIDA 1
Faculté des Sciences
Département de Chimie



Mémoire présenté par
BEN HANNOUR Khadidja
En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Science de la matière
Filière : Chimie
Option : **Chimie des Substances Naturelles**

Titre

Synthèse et caractérisation des complexes des métaux de transition du Bis(indolyl)méthane (BIM). Evaluation microbiologique et anti-oxydante.

Soutenu publiquement en octobre 2013 devant le jury composé de :

H. Boutoumi	MCA	Président	Université de Blida
K. Boutemak	MCB	Examinatrice	Université de Blida
N. Bouzidi	MCB	Examinatrice	Université de Blida
S. Kasmi	MCA	Promotrice	Université de Blida
M. El hattab	Pr	Membre de CP	Université de Blida
A. Badis	Pr	Membre de CP	Université de Blida
Y. Daghbouch	Pr	Membre de CP	Université de Blida
Z.Chemat	MCB	Membre de CP	Université de Blida
O. Touafak	MCB	Membre de CP	Université de Blida
N. Ayachi	MAA	Membre de CP	Université de Blida

Promotion 2012-2013

Résumé

Les Bis (indolyl) méthanes sont des alcaloïdes largement présents dans les organismes marins (éponges, moisissures...) et sont doués d'activités biologiques importantes : insecticides, antioxydantes et antibactériennes. Sachant que la plupart des métaux de transitions sont des oligoéléments essentiels pour la vie des organismes tels que Cu(II), Zn(II)... il nous a paru intéressant d'utiliser comme un ligand un bis(indolyl)méthane, susceptible de se coordonner avec des cations métalliques.

Notre choix s'est porté sur un ligand, le bis(indolyl)méthane (BIM) contenant le motif de la p-vanilline qui formera donc des complexes avec les cations métalliques Co(II), Ni(II) et Cu(II).

Le ligand BIM ainsi que ses complexes sont caractérisés par des différentes méthodes spectroscopiques tels que : IRTF, RMN ¹H, UV-Vis. L'analyse élémentaire, conductance molaire ainsi que l'analyse thermique ont été également réalisées.

A partir des résultats obtenus, une structure géométrique octaédrique des complexes est proposée.

Une étude antibactérienne a été réalisée sur le ligand BIM ainsi que ses complexes vis-à-vis de quelques bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* et *Bacillus subtilis*). Il ressort de cette étude que tous les complexes présentent une activité antibactérienne plus élevée que le ligand BIM contre les mêmes bactéries.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du piégeage de radical libre DPPH et celle de CCM par réduction du radical DPPH du ligand BIM et les complexes Co(II), Ni (II) et Cu(II) ont montré que seul le ligand BIM présente une activité antioxydante. De plus, le ligand BIM présente une bonne activité anti-radicalaire presque similaire par rapport au contrôle positif l'acide ascorbique.

Mots clés : Bis (Indolyl) Méthane, Indole, p-Vanilline, Pouvoir anti-oxydant, Activité antibactérienne.

Abstract

The Bis (indolyl) methanes alkaloids are widespread in marine organisms (sponges, fungi ...) and are endowed with important biological activities: insecticides, antioxidant and antibacterial. Knowing that most of the transition metals are essential trace elements for the life of organisms such as Cu (II), Zn (II) ... it seemed interesting to use as a ligand bis (indolyl) methane, likely to coordinate with metal cations.

Our choice fell on a ligand, bis (indolyl) methane (BIM) containing the pattern p-vanillin thus form complexes with metal cations Co (II), Ni (II) and Cu (II).

BIM ligand and its complexes are characterized by different spectroscopic methods such as FTIR, ¹H NMR, UV-Vis. The elemental analysis, molar conductance and thermal analysis were also performed.

From the results obtained, an octahedral complex geometric structure is proposed.

Antibacterial study was conducted on BIM and its ligand complex vis-à-vis some bacteria (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus epidermidis*). It appears from this study that all complexes exhibit a higher than BIM ligand against the same bacteria antibacterial activity.

Evaluation of antioxidant activity by the method of DPPH free radical scavenging and the CCM by DPPH radical reduction of the ligand and complex BIM Co (II), Ni (II) and Cu (II) showed that only BIM ligand has antioxidant activity. In addition, the BIM ligand has good almost similar anti-radical activity compared with the positive control ascorbic acid.

Keywords: Bis (indolyl) methane, indole, p-vanillin, antioxidant power, antibacterial activity.

المخلص

مركبات البيس اندوليل ميثان هم عبارة عن قلويدات تتواجد على نطاق واسع في الكائنات البحرية (الاسفنج، الفطريات...) , لهم عدة أنشطة بيولوجية هامة كمبيدات الحشرات , مضاد للاكسدة ومضاد للجراثيم. مع العلم ان معظم المعادن الانتقالية هي عبارة عن مغذيات دقيقة ضرورية لحياة الكائنات الحية مثل النحاس , الزنك.....بيدو مثيرا للاهتمام استعمال بيس اندول كرابط الذي يكون سلسلة من المعقدات مع هذه المعادن.

في هذا العمل , قمنا بتكوين بيس اندول الذي يتم الحصول عليه عن طريق تكثيف جزيئين من الاندول مع جزيء من الفانيلين و استعماله كرابط الذي يشكل مجموعة من المعقدات مع مختلف الكاتيونات المعدنية الكوبالت , النحاس , النيكل.

BIM والمعقدات الكوبالت, النحاس و النيكل تم تمييزها بمطيافية فوق البنفسجية المرئية وتحت الحمراء , التحليل الحراري , تحليل العناصر و التصرف المولي.

من النتائج التي تم الحصول عليها تم اقتراح بنية هندسية لهذه المعقدات.

تم إجراء تقييم لنشاط ضد البكتيريا من خلال طريقة النشر على الوسط الصلب للخلايا الجرثومية: *Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Streptococcus* و *bacillus subtilis* . أظهرت أن تأثير مضادة للجراثيم من المعقدات هي أكثر تأثير من الرابط BIM ضد نفس الجراثيم البكتيرية.

أظهر النشاط المضادة للأكسدة من خلال طريقة ارجاع الجذر الحر DPPH. نشاطا قويا فقط بالنسبة للرابط BIM كما انه اعطى نتائج جيدة كمضاد للأكسدة بالمقارنة مع المراقب الايجابي. من خلال هذه النتائج نستنتج ان التعقيد تم على مستوى OH بالنسبة لرابط BIM .

الكلمات المفتاحية مكرر اندوليل ميثان , اندول , فانيلين , مضاد للاكسدة , النشاط المضاد للبكتريا.

Remerciements

Les travaux de recherche présentés dans ce mémoire ont été réalisés au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles du département de chimie de la faculté des sciences de l'Université BLIDA 1, sous la direction de Mme KASMI-MIR Souad. Je tiens à la remercier pour son encadrement, ses conseils, ses commentaires et sa bienveillance. Qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude pour m'avoir guidée et aidée tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur H.BOUTOUMI qui a accepté de présider le jury de ce travail.

Je souhaite remercier vivement Madame K.BOUTMEK d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Mes remerciements vont également à Madame N.BOUZIDI qui m'a fait l'honneur de juger ce travail en tant que examinatrice.

Mes remerciements vont aussi à toute l'équipe pédagogique du master option « Chimie des Substances Naturelles », à leur tête Monsieur le Pr. M.El Hattab, initiateur du projet master, Madame la Pr. Y.Daghbouche, Monsieur le Pr. A.Badis, Madame la Dr. Z.Chemat, Madame la Dr. N.Ayachi pour tout soutien et conseils pendant ces deux années.

J'aimerais remercier Monsieur M.MAHFOUD et Madame F.STANBOULI pour l'aide qu'ils m'ont apporté lors de la réalisation de ce travail au sein de l'hôpital Franz-Fanon.

Je remercie de tout mon cœur tous ceux qui, de loin ou de près, m'ont aidé dans ce travail. Je leur exprime ma profonde gratitude.

Enfin, je remercie ma famille pour m'avoir soutenu moralement dans tous les années de mon étude, et je remercie plus que tout, mon beau frère Ali qui m'a soutenu tous les jours de cette aventure.

Merci à tous

RKM

Dédicaces

*Avec une immense joie, je dédie ce modeste travail à ce que j'aime et qui sont chers à
mon cœur*

A mes parents

Mon père,

Ce travail est ce fruit de tes prières, de tes sages conseils et sacrifices

Ma mère,

Tes prières et tes bénédictions m'ont accompagnée tous les jours dans mes études

A mon beau frère Ali

Qui m'a soutenu tout au long de mes études par leur dévouement et abnégation.

A mes sœurs « Asmaa, Amina, Maria »

A mes frères « Mohamed, Choaipe, Obaida, Aboubaker, Zin Elabidine, Diaa Elhak, Bachir »

A mes beaux frères « Mohamed, Slimane »

A mes nièces,

« Sérine, Alaa, Kholoud, Douaa, Israa et Rahma »

A tous ma famille

A mes amies

Pour le soutien qu'ils m'ont apporté,

Avec toute mon affection et ma reconnaissance

RKM

Table des matières

Introduction générale.....1

Partie bibliographique

Chapitre I : *Etude bibliographique sur les métaux de transitions Co(II), Cu(II) et Ni(II)*

I. Introduction.....4

II. Caractéristique des métaux de transition Cobalt(II), Cuivre(II) et Nickel(II).....5

II.1. Généralités sur le cobalt(II).....5

II.2. Généralités sur le cuivre(II).....6

II.3. généralités sur le nickel (II).....7

III. Les complexe de cobalt(II), cuivre(II) et nickel(II).....8

III.1. Exemple de complexe de Co(II), Cu(II) et Ni(II) avec les bases de Schiff.....8

III.2. Exemple de complexes de Co(II), Cu(II) et Ni(II) avec les acides amines.....9

Chapitre II : *Aperçu sur la synthèse des Bis(indolyl)méthanes et leur applications*

I. Introduction.....11

II. Bisindoles naturels.....13

III. Extraction des Bisindoles.....15

IV. Synthèse des Bis indoles.....15

V. Application des Bis(indolyl)méthanes.....18

VI. Conclusion.....22

Partie expérimental

I. Introduction.....23

II. Réactifs utilisés.....	23
III. Techniques de caractérisation.....	24
III.1. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	24
III.2. Microanalyse Elémentaire.....	24
III.3. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN).....	24
III.4. Analyse thermique.....	25
III.5. Spectrophotométrie d'infrarouge (IR).....	27
III.6. Spectrophotométrie d'ultraviolet-visible (UV-vis).....	27
III.7. Conductimétrie.....	28
IV. Synthèse et caractérisation de ligand et leurs complexes Co(II), Cu(II) et Ni(II).....	29
IV.1. Synthèse.....	29
IV.1.1. Synthèse de Bis indolyl méthane (BIM).....	29
IV.1.2. Synthèse des complexes métalliques.....	31
IV.2. Les propriétés physiques des complexes.....	32
IV.3. Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM).....	33
IV.4. Analyse élémentaire.....	35
IV.5. Analyse par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN).....	35
IV.6. Analyse thermique.....	42
IV.7. Analyse par spectrophotométrie d'infrarouge (IR).....	46
IV.9. Analyse conductimétrique.....	52
IV.10. Analyse par spectrophotométrie d'ultraviolet-visible (UV-vis).....	52

IV.11. Les structures suggérées aux complexes.....	56
V. Etude des activités biologiques.....	56
V.1. L'étude du pouvoir antibactérien.....	56
V.2. L'étude du pouvoir antioxydant.....	67
Conclusion général.....	75

Liste des Abréviations et symboles

AlCl_3 : Chlorure d'aluminium

Al_2O_3 : L'alumine ou oxyde d'aluminium

BIM : Bis indolyl méthane

C : Concentration

C : Concentration molaire (mole.cm^{-3})

Cat : catalyseur

CCM : chromatographie sur couche mince

CH_2Cl_2 : Dichlorométhane

CH_3CN : Acétonitrile

CH_3COOH : acide acétique

Co(II) : Cobalt (II)

Cu(II) : Cuivre (II)

$\text{CoCl}_2, 6\text{H}_2\text{O}$: Chlorure de cobalt (II) hexahydraté

$\text{CuCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$: Chlorure de cuivre (II) dihydrate

DTA : Analyse Thermique Différentielle

DSC : Analyse Enthalpique Différentielle

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

DMF : Diméthylformamide

d : Doublet

Et_3NH : Triéthylamine

EtOH : Ethanol

g : gramme

h : heur

HClO₄ : Acide perchlorique

HIV : virus de l'immunodéficience humaine

H₂PO₄ : Acide phosphorique

IR : Infrarouge

KBr : Bromure de potassium

L : ligand

L-Co(II) : Ligand Cobalt (II)

L-Cu(II) : Ligand Cuivre (II)

L-Ni(II) Ligand Nickel (II)

M : Mole par millilitre

m: Multiplet

Met : méthionine

min : Minute

mg/ml : Milligramme par millilitre

ml : Millilitre

mm : Millimètre

mmole : Millimole

MeOH : méthanol

M(Met)₂ : Métal- méthionine

MW : micro onde

NaOH : Hydroxyde de sodium

Ni(II) : Nickel (II)

NiCl₂, 6H₂O : Chlorure de nickel (II) hexahydraté

nm : Nanomètre

pH : Potentiel d'hydrogène

ppm : partie par million

R₁ : Bis-{4-[bis-(1H-indol-3-yl)-methyl]-phenyl}-phenylamine

Rdt : Rendement

R_f : Rapport frontal

RMN: Résonance magnétique nucléaire

t.a : température ambiante

S : Siemens

s : Singulet

SiO₂ : Silicon dioxide

sl : Singulet large

t : Triplet

TCLM : Ttransfert de charge ligand-métal

T_f : Température de fusion

TGA : Analyse Thermogravimétrique

TMA : Analyse ThermoMécanique

TMS : Tétraméthylsilane

UV-Vis : Ultra-violet visible

V : Volume

Λ : Conductivité équivalente molaire ($S.cm^2.mole^{-1}$)

σ : Conductivité spécifique ($S.cm^{-1}$)

$^{\circ}C$: Degrés Celsius

μl : Microlitre

μM : micromole par millilitre

ν : Nombre d'onde exprimé en cm^{-1}

λ : Longueur d'onde exprimé en nm

Liste des figures

P1-Figure 1 : Complexes métallo-organiques utilisés dans le traitement de certaines pathologies.

P7-Figure 2 : Effet Jahn-Teller : évolution des positions en énergie des orbitales d.

P8-Figure 3 : Indole et ses dérivés.

P11-Figure 4 : Bis indolyl méthane.

P18-Figure 5 : Bis-{4-[bis-(1H-indol-3-yl)-methyl]-phenyl}-phenylamine (R_1) comme récepteur.

P19-Figure 6 : Changement de couleur visible de R_1 à divers ions métalliques dans CH_3CN/H_2O (70/30, v / v). $R_1 = 10 \mu M$, $Cu^{2+} = 10 \mu M$ et les concentrations des autres ions métalliques sont de 50 Mm.

P20-Figure 7 : Les spectres d'absorption UV-visible obtenus par l'addition de divers ions métalliques de CH_3CN/H_2O (70:30, V / V) contenant R_1 ($C = 2 \times 10^{-5} M$).

P20-Figure 8 : Les spectres d'absorption UV-visible obtenue par addition d'ions Cu^{2+} (0-100 μM) de CH_3CN/H_2O (70:30, V / V) contenant R_1 ($C = 2 \times 10^{-5} M$).

P21-Figure 9 : Influences du pH sur l'absorption de R_1 (10 μM) dans de CH_3CN/H_2O de la solution (70/30, V / V). Le pH est modulé par l'addition de 75% de la solution de NaOH ou $HClO_4$.

P33-Figure 10 : Chromatogramme de BIM ainsi que des réactifs de départ.

P34-Figure 11 : Chromatogramme des complexes.

P38-Figure 12 : Spectre RMN 1H du ligand.

P39-Figure 13 : Spectre RMN 1H du complexe Co(II).

P40-Figure 14 : Spectre RMN 1H du complexe Ni(II).

P41-Figure 15 : Spectre RMN 1H du complexe Cu(II).

P44-Figure 16 : Spectre ATG / DSC du ligand.

P44-Figure 17 : Spectre ATG/DSC du complexe Co(II).

P45-Figure 18 : Spectre ATG/DSC du complexe Ni(II).

P45-Figure 19 : Spectre ATG/DSC du complexe Cu(II).

P47-Figure 20 : Spectre IR du BIM.

P49-Figure 21 : Spectre IR du complexe Co(II).

P49-Figure 22 : Spectre IR du complexe Ni(II).

P50-Figure 23 : Spectre IR du complexe Cu(II).

P54-Figure 24 : Spectre électronique d'absorption du ligand.

P54-Figure 25 : Spectre électronique d'absorption du complexe Co(II).

P55-Figure 26 : Spectre électronique d'absorption du complexe Ni(II).

P55-Figure 27 : Spectre électronique d'absorption du complexe Cu(II).

P62-Figure 29 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de ligand relatif aux différentes souches bactériennes.

P62-Figure 30 : Zone d'inhibition de ligand testé pour les cinq souches.

P63-Figure 31 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de complexe Co(II) relatif aux différentes souches bactériennes.

P63-Figure 32 : Zone d'inhibition de complexe Co(II) testé pour les cinq souches.

P64-Figure 33 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de complexe Ni(II) relatif aux différentes souches bactériennes.

P64-Figure 34 : Zone d'inhibition de complexe Ni(II) testé pour les cinq souches.

P65-Figure 35 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de complexe Cu(II) relatif aux différentes souches bactériennes.

P65-Figure 36 : Zone d'inhibition de complexe Cu(II) testé pour les cinq souches.

P67-Figure 37 : Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH.

P71-Figure 38 : Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

P72-Figure 39 : Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de BIM.

P73-Figure 40 : Les IC_{50} et les pouvoirs antiradicalaires du BIM et du contrôle positif.

P74-Figure 41: Chromatogramme du BIM et du complexes Co(II) révélé par DPPH.

Liste des schémas

P8-Schéma 1 : Schéma réactionnel proposé par Pfeiffer et coll.

P15-Schéma 2 : Synthèse générale des bis indoles.

P16-Schéma 3 : Synthèse des bis indoles catalysée par cobalt au manganèse nano oxyde.

P16-Schéma 4 : Synthèse des bis indoles catalysée par [Et₃NH] [H₂PO₄].

P17-Schéma 5 : Synthèse des bis indoles catalysée par Oxyde d'aluminium (acide) sans solvant.

P17-Schéma 6 : Synthèse des Bis indoles catalysée par SiO₂-AlCl₃.

P17-Schéma 7 : Synthèse des Bis indoles catalysée par La zéolite.

P18-Schéma 8 : Synthèse des Bis indoles catalysée par gel de silice.

P29-Schéma 9 : Synthèse de BIM.

P30-Schéma 10 : Mécanisme réactionnel de la préparation de BIM.

P31-Schéma 11 : Synthèse des complexes L-Co(II), L-Ni(II) et L-Cu(II).

Liste des tableaux

P14-Tableau 1 : Les différents composés de dis-indoles naturelles et leurs activités biologiques.

P32-Tableau 2 : Les résultats expérimentaux des complexes.

P33-Tableau 3 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince de BIM.

P34-Tableau 4 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince des complexes.

P35-Tableau 5 : Résultats de l'analyse élémentaire.

P36-Tableau 6 : Caractérisation spectroscopiques RMN ^1H du ligand BIM et ses complexes.

P43-Tableau 7 : Résultats de l'analyse thermique ATG.

P51-Tableau 8 : Les bandes d'absorptions de spectre IR (cm^{-1}) du ligand et leurs complexes.

P53-Tableau 9 : Les résultats des spectres d'absorption électroniques de ligand et leurs complexes.

P57-Tableau 10 : Provenance des germes étudiés.

P61-Tableau 11 : Les valeurs de diamètre des zones d'inhibition (mm) de ligand et leurs complexes relatifs aux souches bactériennes testées.

P70-Tableau 12 : Valeurs des absorbances et des pourcentages d'inhibition des composés étudiés.

P72-Tableau 13 : Valeurs de IC_{50} et du pouvoir antiradicalaire (ARP) de l'acide ascorbique et du ligand BIM.

P74-Tableau 14 : Résultats du test antioxydant DPPH sur le ligand et le complexe métallique Cu(II).

Introduction générale

La chimie du vivant a longtemps été considérée comme essentiellement « organique » et donc « bio-organique ». Mais depuis ces dernières années, des études sur le monde vivant ont montré l'importance du rôle des ions métalliques dans le processus cellulaire de productions et de transformations des molécules naturelles. Il existe 13 métaux considérés comme essentiels à la vie, Ca, K, Na, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, Co et Mo.

Les ions métalliques, particulièrement ceux des métaux de transition « 3d » montrent une grande affinité pour des atomes, des molécules organiques ou des ions comportant des doublets électroniques libres des hétéroatomes tels que N, O, X- (Cl-, Br-, I-, etc...).

Ces molécules (ligands) qui contiennent habituellement O et N atomes donneurs ont joué un rôle important dans la chimie de coordination depuis la fin du 19 siècle. Les complexes métalliques avec ces ligands sont de plus en plus importants. Ils sont largement utilisés en médecine pour le traitement de plusieurs maladies (figure 1).

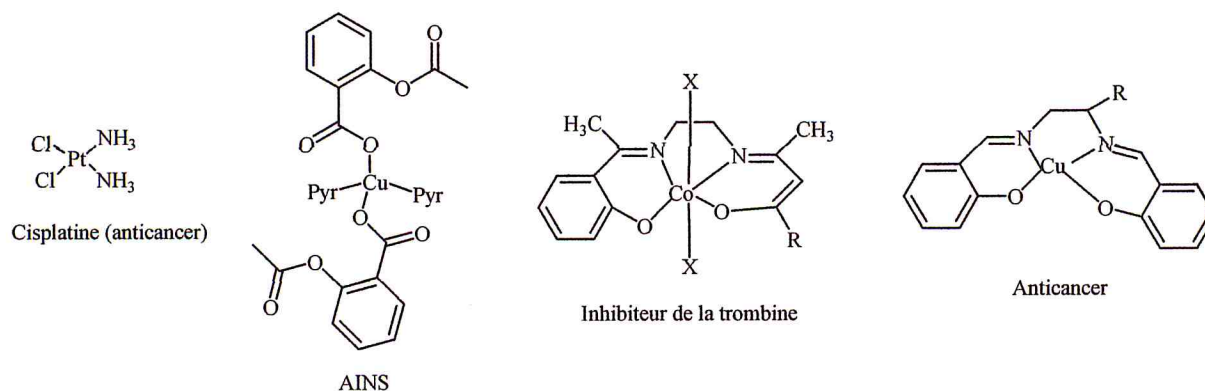


Figure 1 : Complexes métallo-organiques utilisés dans le traitement de certaines pathologies

En industrie, ils servent à la conception de matériaux ferromagnétiques, des réactifs biochimiques [1-9]. Ils peuvent aussi avoir une vaste application dans le domaine des traitements des eaux grâce à leur capacité à se complexer avec les métaux de transition notamment dans la récupération des métaux lourds provenant des effluents industriels ou des déchets radioactifs nucléaires [10-13].

Les ligands laissent apparaître de larges activités biologiques et sont d'un intérêt particulier en raison de leur différente façon à se lier à des ions métalliques. Il est connu que l'existence d'ions métalliques liés à des composés biologiquement actifs peut accroître leurs activités [14]. Les complexes de métaux de ces ligands montrent une grande diversité dans

leurs activités biologiques variées comme activités antifongiques [15-19], anti-HIV [20], antivirale et anticancéreux [21] antimicrobienne [22-27] et antibactérien [28] agents.

Dans la littérature, beaucoup de travaux ont été effectués sur les complexes des métaux de transition avec des acides aminés [29], l'éthylénediamine [30], des bases puriques, pyrimidiques [31] et de bases de Schiff [32], comme ligand. Cependant, dans notre recherche bibliographique, nous avons constaté que très peu de travaux ont été consacrés sur la synthèse de complexes utilisant comme ligand le Bis(indolyl)méthane. A notre connaissance aucune étude n'a été réalisée sur le Bis(indolyl)méthane ayant comme motif la p-vanilline. Les travaux consacrés par la littérature concernent essentiellement les Bis(indolyl)méthane comme détecteurs chimiques sélectifs vis-à-vis du cuivre [33].

Voilà pourquoi, il nous a semblé intéressant de synthétiser un ligand à partir de 2-Methylindole et de la p-vanilline selon une réaction de condensation. La **vanilline** est un aldéhyde aromatique naturel qui se développe dans les gousses de vanille et le benjoin de Siam, est utilisé comme épice et comme matière première dans la fabrication du LEVODOPA, un médicament destiné à traiter la maladie de Parkinson. Le ligand obtenu est un bis(indolyl)méthane (BIM) qui formera des complexes avec des cations métalliques : Cu(II), Ni(II) et Co(II). Les méthodes spectroscopiques (UV-Vis, IR, RMN¹H), l'analyse élémentaire, la conductance molaire et l'analyse thermogravimétrique (ATG, DSC) ont été utilisées dans le but de déterminer la structure du ligand et ses complexes.

Le Ligand BIM ainsi que tous ses complexes ont été testés pour leur activité antibactérienne et antioxydante. L'objectif est de démontrer que les complexes synthétisés présentent une activité antibactérienne plus élevée que celle du ligand correspondant.

Notre travail est organisé en deux parties :

La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique visant à mieux comprendre le sujet et composée de deux chapitres :

- Le premier chapitre donne un aperçu bibliographique sur la caractérisation des métaux de transition Cobalt(II), Cuivre(II) et Nickel(II) avec quelques exemples de complexes de métaux de transition des composés azotés les plus couramment utilisés et qui sont les bases de Schiff.

- Le deuxième chapitre est consacré à un bref rappel sur les différentes voies de synthèse des Bis(indolyl)méthanes ainsi que sur leur utilisation en tant que capteur chimique sélectif vis-à-vis des cations métalliques.

La deuxième partie regroupe les résultats expérimentaux obtenus lors de la synthèse du ligand BIM et des complexes correspondants Co (II), Ni(II) et Cu(II). Ces composés ont été caractérisés par les méthodes spectroscopiques. Enfin une étude pharmacologique qui concerne l'activité antimicrobienne et antioxydante a été aussi abordée.

Finalement, une conclusion générale viendra clore ce travail.

Partie
bibliographique

Chapitre I

*Etude bibliographique sur les
métaux de transitions Co(II),
Cu(II) et Ni(II)*

I. Introduction:

La chimie des complexes de métaux de transition a reçu beaucoup d'attention ces dernières années en raison de leurs larges utilisations en tant que matériaux fonctionnels, dans les mécanismes des réactions enzymatique et en chimie bio-inorganique [34]. Les métaux de transition présentent différents états d'oxydation et peuvent interagir avec un certain nombre de molécules chargées négativement. Cette activité de métaux de transition a commencé avec le développement des médicaments à base de métal avec une application pharmacologique prometteuse qui peut offrir des possibilités thérapeutiques uniques [35].

Les ions métalliques comme le cobalt, le cuivre et le nickel sont parmi les éléments essentiels présents dans beaucoup d'espèces, en l'occurrence les protéines. Cependant un excès de ces ions dans l'organisme humain peut nuire gravement à la santé. Le cobalt, le cuivre et le nickel sont capables de réagir avec des ligands mono-, bi- et poly-dentés pour former des composés complexes avec diverses applications (environnemental, biologie et médecine).

Certains métaux, qui possèdent un caractère d'oxydo-réducteur, peuvent engendrer la formation de radicaux et donc une augmentation du stress oxydant s'ils s'accumulent dans l'organisme (surcharges métalliques).

La maladie de Wilson est une maladie génétique qui a pour conséquence une *surcharge hépatique en cuivre au degré d'oxydation +I. Les traitements actuels, qui utilisent des chélateurs, ne sont pas assez efficaces et sont peu sélectifs du cation métallique cible* [36].

Cette partie est tout d'abord consacrée aux synthèses des ligands bases de Schiff et des acides aminés ainsi que les métaux de transition et leurs complexes obtenus à partir de ces agents chélatants car beaucoup des travaux ont été effectuée sur ces ligands.

II. Caractéristique des métaux de transition Cobalt(II), Cuivre(II) et Nickel(II) :

Les métaux de transition présentent une sous-couche d'orbitale **d** incomplète occupée par des électrons. Les cinq orbitales **d** se remplissent progressivement par acquisition de 1 à 10 électrons, selon la règle de Hund. C'est un principe empirique, lorsqu'une couche d'orbitale est occupée par des électrons, la distribution s'effectue de manière à ce que les électrons occupent un nombre maximal d'orbitales de cette couche. Les composés stables des métaux de transition obéissent à la règle de l'octet, le métal tend à accepter de la part des ligands qui l'entourent le nombre d'électrons nécessaires pour compléter sa couche de valence à un nombre optimal d'électrons de 18. Cependant, dans le cas d'une géométrie plan carré le nombre optimal passe à 16 électrons : c'est le cas pour le Ni(II), Pt(II) et le Pd(II).

Beaucoup d'étude ont montré que les ions Co (II), Cu(II) et Ni(II) sont capables de déprotoner l'atome d'azote de l'amide en formant une espèce chélate stable [37]. De plus, ces éléments sont impliqués dans plusieurs processus biologiques. Les complexes de Co(II), Cu(II) et Ni(II) avec les ligands du dipeptide sont les plus étudiés parmi tous les complexes des métaux de transition de la première série. Le cuivre (II) est impliqué dans le métabolisme de dioxygène (transport, stockage et activation) [38]. Il joue un rôle essentiel dans la désactivation du super oxyde et dans la chaîne respiratoire [39]. De plus, le cuivre (II) se trouve à concentrations élevées dans le cerveau sous forme labile, il est généralement complexé par les acides aminés ou les peptides [40]. Le nickel est essentiellement présent dans quatre espèces différentes d'enzymes (urésae, hydrogénase, déhydrogénase et méthyl coenzyme M réductase). Le cobalt est biologiquement essentiel, il est identifié comme un constituant de nombreuses enzymes.

II.1. Généralités sur le cobalt(II) :

Le cobalt est le premier métal de transition du groupe VIII-B, il possède une configuration électronique externe de $4s^23d^7$. Il partage avec les deux autres membres du groupe VIII-B en l'occurrence le fer et le nickel, la caractéristique de pouvoir être ferromagnétique. Comme le fer, le cobalt est exclusivement présent sous deux états d'oxydation : Co(II) et Co(III).

Le cobalt est un élément présent naturellement dans l'environnement : l'eau, la terre et les roches. Il présente certains bienfaits pour l'homme, cependant, à des concentrations trop importantes il peut être nocif.

II.2. Généralités sur le cuivre(II) :

Le cuivre est un élément essentiel pour la plupart des formes de vie. Il existe dans les plantes et les animaux et joue un rôle important dans le métabolisme humain [41,42]. Il constitue notamment le cofacteur des enzymes impliquées dans plusieurs processus tels que la respiration (cytochrome oxydase) ou la suppression des espèces réactives de l'oxygène (super oxyde dismutase) [43].

Le cuivre ($Z=29$) est un élément de transition appartenant au même groupe de tableau périodique que l'or et l'argent. Il fait partie de la première série des métaux de transition.

Ces composés sont caractérisés par la présence de niveaux électroniques 3d incomplets. Ce métal a quatre états d'oxydation : Cu(0), Cu(I), Cu(II) et Cu(III) (plus rare).

En solution, le cuivre se trouve généralement à deux degrés d'oxydation : +1 et +2.

Le Cu(II) est paramagnétique il a une configuration électronique (d^9), à l'état coordiné il adopte généralement une géométrie carré-plan. Cependant, on découvre de plus en plus des complexes de Cu(II) ayant une coordinence cinq. Cette dernière correspond plus à une pyramide à base carrée. Le Cu(II) forme aussi des complexes octaédriques et tétraédriques.

Cependant, il a été démontré théoriquement que la géométrie octaédrique n'est pas la plus stable pour le Cu(II) et que la distorsion de cet octaèdre conduit à un gain énergétique. Cette distorsion se traduit par une levée de la dégénérescence, c'est l'effet Jahn-Teller : le Cu(II) a neuf électrons dans sa sous-couche d et la configuration électronique du complexe qu'il forme est $(t_{2g})^6 (e_g)^3$. Si l'octaèdre est régulier, les orbitales e_g sont dégénérées. Pour stabiliser le complexe l'octaèdre va se déformer avec une levée de dégénérescence entraînant ainsi la formation d'une configuration plus stable. On observe, de ce fait, un allongement des liaisons axial Cu-L et le gain énergétique ΔE est obtenu par abaissement de la symétrie (d'une symétrie octaédrique vers une symétrie quadratique) [44].

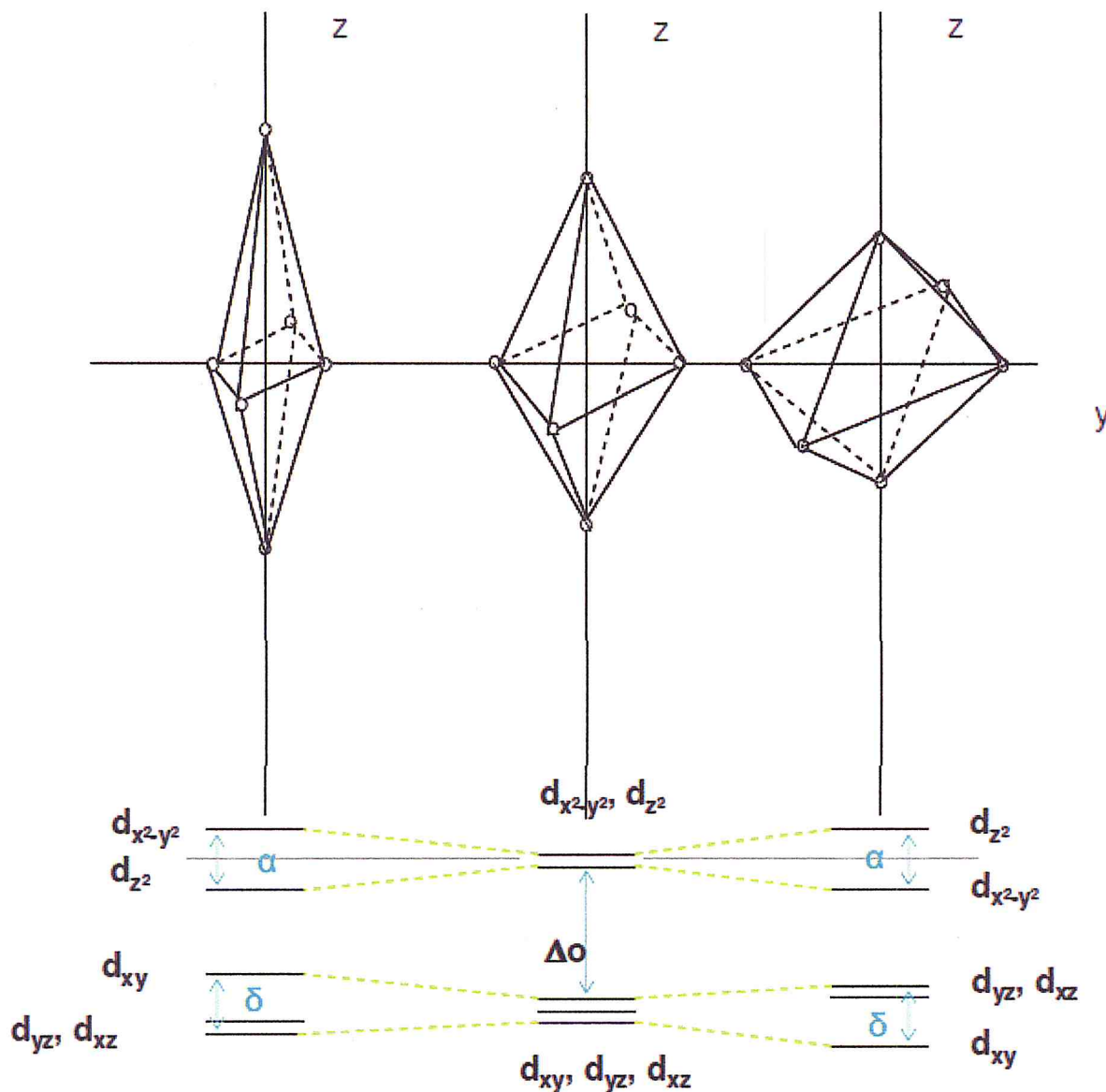


Figure 2 : Effet Jahn-Teller : évolution des positions en énergie des orbitales d [45]

La stabilité relative de cuivre (II) en solution dépend très fortement des ligands présents et peut varier considérablement suivant le solvant [46, 47].

II.3. généralités sur le nickel :

L'étude de la chimie de coordination du nickel a suscité un intérêt considérable ces dernières années [48]. Depuis, l'ion Ni(II) joue un rôle important dans les processus biologique et géochimie. L'ion Ni(II) de configuration d^8 a tendance à former des complexes de géométrie carré-plan et octaédrique d'une grande stabilité.

Dans la chimie de nickel, le Ni(II) est en état d'oxydation le plus important qu'il soit dans une solution aqueuse ou non aqueuse. Le Ni(II) forme des sels avec presque tous les anions en solution aqueuse et en absence d'un ligand complexant fort, il existe sous forme d'un ion vert $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ [49].

III. Les complexes de cobalt(II), cuivre(II) et nickel(II) :

La chimie de coordination moderne est fondée sur les travaux d'Alfred Werner, la théorie de ce dernier se rapporte à la stéréochimie des complexes des métaux de transition. Depuis, les complexes métalliques ont été énormément étudiés [50].

Plusieurs travaux ont portés sur les complexes de Co(II), Cu(II) et Ni(II) avec différents ligands tels que : les bases de Schiff, les acides aminés, l'éthylènediamine et les bases azotés ect.....

III.1. Exemples de complexes de Co(II), Cu(II) et Ni(II) avec les bases de Schiff :

Les ligands bases de Schiff peuvent être classés selon leurs nombres de sites chélatants, c'est pourquoi ces ligands sont susceptibles de se présenter sous une variété de sites chélatants, communément appelés « dents » à savoir mono, bi, tri, tétra ou poly-dentés.

Les tétra-dentates sont les plus étudiés dans la littérature à cause de leur stabilité accrue, induite par la sphère chélatante qui encage parfaitement l'ion métallique. Cette forme de complexe est observée dans celles des enzymes du cytochrome P450 présentes principalement dans le foie ainsi que dans celle de l'hémoglobine du sang. Ce type de ligand a été synthétisé pour la première fois en 1931 par Pfeiffer et coll en vue de réaliser la synthèse des complexes de métaux de transitions selon le schéma suivant [51]:

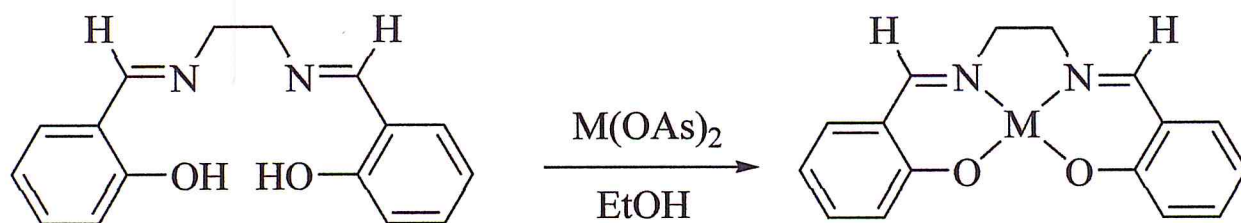


Schéma 1 : Schéma réactionnel proposé par Pfeiffer et coll [51]

Les complexes bases de Schiff ont pu acquérir une importance particulière dans le domaine de la chimie de coordination à cause de leurs différentes possibilités d'applications dans plusieurs domaines telles que la catalyse homogène, hétérogène, l'analyse, la détection et l'activité biologique comme agents antibactériens et antifongiques [52-56].

Ces complexes bases de Schiff ont été connus depuis 1869 et même avant la préparation générale des ligands bases de Schiff eux-mêmes [57] et furent ensuite étudiés systématiquement dans les années 1930 par Pfeiffer et coll. [58], y compris les premiers cas de composés chiraux susceptibles de se présenter sous forme de mélanges racémiques [59].

Un grand nombre de bases de Schiff et de leurs complexes métalliques des Co(II), Cu(II) et Ni(II) possèdent une activité biologique et sont utilisés comme catalyseur important [60]. Il est bien connu que les atomes O, N et S jouent un rôle clé dans la coordination des métaux sur les sites actifs de nombreux metallobiomolécules. Ils sont utilisés comme modèles pour les systèmes biologiques et trouvent des applications dans des réactions catalytiques biomimétiques [61,62]. Les hétérocycles, occupent une place importante en raison de leurs activités biologiques polyvalentes due à la présence de groupes multifonctionnels. Les complexes métalliques avec ces ligands sont de plus en plus importants en biochimie, dans la conception de modèles moléculaires et en chimie des matériaux [63-65].

III.2. Exemple de complexes de Co(II), Cu(II) et Ni(II) avec les acides aminés:

Les complexes des métaux de transition avec les acides aminés ont constitué la base de nombreuses études en raison de leur activité biologique. Aussi, les acides aminés participent souvent à la formation de liaisons hydrogène dans la formation de leurs complexes [66], ils sont considérés comme des agents complexants importants [67].

Les complexes des Co(II), Cu(II) et Ni(II) avec l'acide aspartique et l'acide glutamique sont rapportés et caractérisés [67]. Les ions métalliques se coordonnent avec les acides aminés par les atomes donneurs N, O et S qu'ils contiennent dans leur chaîne latérale [68]. Il est reporté dans la littérature [69] que les ions Cu(II) et Ni(II) forment avec la méthionine (Met) des complexes insolubles dans l'eau de la forme $[M(\text{Met})_2]$.

Ces dernières décennies, beaucoup de travaux ont été menés sur la chimie de coordination des composés ayant une activité biologique [70]. Parmi ces nombreuses études,

des complexes de Co(II), Cu(II) et Ni(II) sur différents acides aminés ont été synthétisés et caractérisés [67].

Chapitre II

*Aperçu sur la synthèse des
Bis(indolyl)méthanes et leurs
applications*

I. Introduction :

Aujourd'hui, plus que jamais, les scientifiques font beaucoup de recherche sur les molécules biologiquement actives qui occupent une place importantes dans la vie puisqu'elles sont à la base de nombreux principes actifs utilisés dans plusieurs domaines : pharmaceutiques, thérapeutiques, cosmétiques ect.....

Ces molécules forment un groupe très vaste de substances à différente structures. Parmi elles, on peut trouver des grandes familles de composés comme les alcaloïdes et les terpènes. Avec un isolement moderne et des techniques de séparation et l'application de méthodes spectroscopiques pour la détermination structurale, le nombre de ces composés connus a grandi considérablement. Ces molécules peuvent être d'origine naturelle, semi synthétique ou totalement synthétique.

Le groupement indole (Fig. 3) est un composé appartenant à la famille des alcaloïdes. Il est également omniprésent dans de nombreux systèmes biologiques, isolés de sources naturelles terrestres et marines, ainsi que dans de nombreux composés qui présentent une activité pharmacologique et biologique [71,72]. Ils ont des applications dans le domaine de la biochimie et de la chimie médicinale [73].

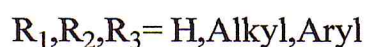
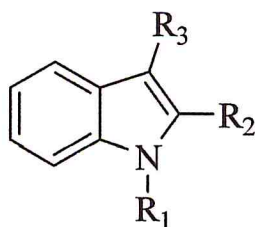
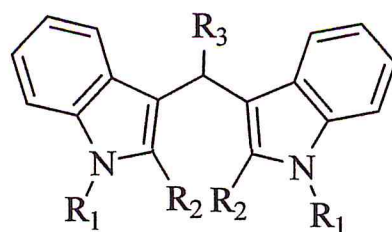


Figure 3 : Indole et ses dérivés

Parmi les différents dérivés de l'indole les plus répandus et les plus intéressants les Bis (indolyl) alcanes (Fig. 4) qui se trouvent dans des métabolites bioactifs d'origine marine et terrestre. Ils présentent également une puissante activité antibactérienne [74,75]. D'autre part, ils occupent une place importante dans la chimie médicinale [76,77].

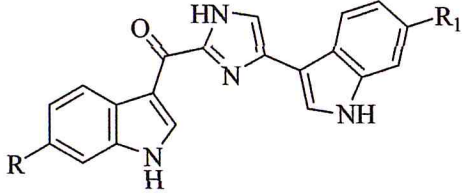
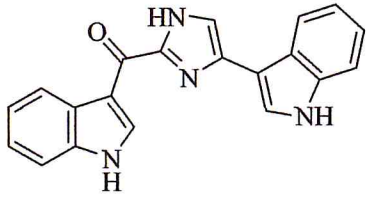
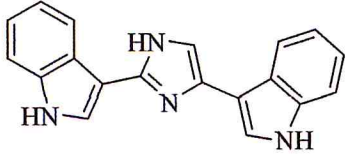
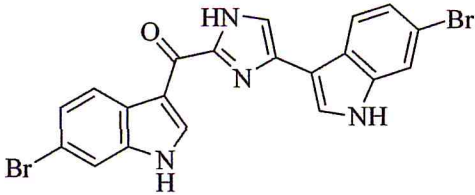
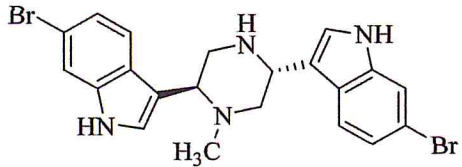


$R_1, R_2, R_3 = H, \text{ alkyl, aryl}$

Figure 4 : Bis indolyl méthane

II. Bisindoles naturels :

Les Bisindoles sont des alcaloïdes fréquemment isolé chez les organismes marins divers, y compris les bryozoaires, coelentérés, éponges, et tuniciers, algues et les champignons [78]. Les Bis (indole) sont des alcaloïdes, composés de deux moitiés d'indole reliés entre eux par l'intermédiaire d'unités hétérocycliques, sont très abondants dans les éponges [79, 80]. Ils possèdent un large éventail d'activités biologiques [81] tels que : l'antimicrobienne [82] (antibactérienne et anti fongicide) [83, 84], cytotoxique [85], antiproliférative [86], anticancéreuse [87], anti-inflammatoire [88], anti-VIH [89] et anti-Alzheimer [90] (tableau 1).

Référence	Structure	Nomenclature	Activité
[91]	 <p style="text-align: center;">$R = OH, R_1 = H$</p>	Topsentin	Antiviraux Antimicrobiennes Anti-inflammatoire
[92]		Deoxytopsentin	Antibactérien
[93]		Nortopsentin	Antifongique
[94, 95]		Dibromotopsentin	Antibactérien
[96]		Dragmacidon A	Cytotoxique

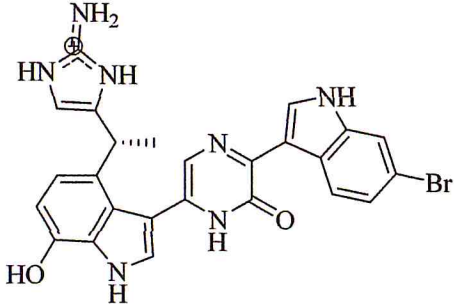
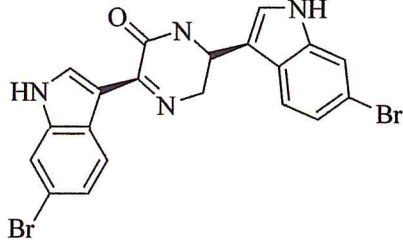

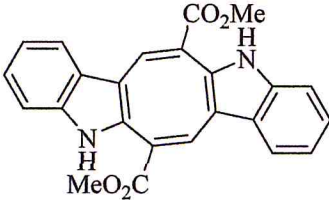
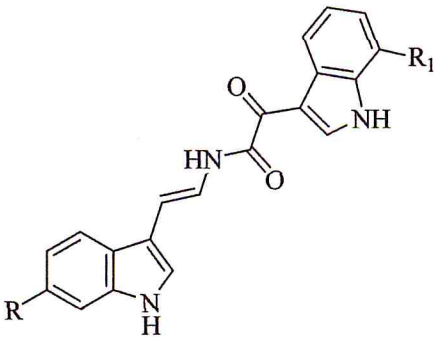
[97]		Dragmacidin D	Inhibiteur de protéines phosphatases sérine-thréonine (PP1)
[98]		Hamacanthines A	Antimicrobiennes Antifongiques
[99]		Hamacanthines B	Antimicrobiennes Antifongiques
[100]		Caulerpin	Antitumorale
[101,102]		Coscinamide	Anti HIV

Tableau 1 : Quelques Bis(Indolyl) méthanes (BIM) biologiquement actifs

III. Extraction des bisindoles :

A partir de ces métabolites marins on peut extraire les Bisindoles, leurs extractions sont réalisées dans l'éthanol ou dans un solvant mixte méthanol/dichlorométhane puis sont chromatographies en phase inverse pour séparer les différents composés [103,104].

IV. Synthèse des bis indoles :

En raison de la vaste activité biologique de Bis(indolyl)méthanés et leurs larges applications médicales, différentes méthodes de leur synthèse ont été signalées dans la littérature.

Le meilleur itinéraire synthétique de cette classe est la condensation de deux molécules d'indoles avec une molécule d'aldéhyde ou cétone en présence d'un catalyseur.

Ces dernières années, une grande variété de réaction avec différents catalyseur ont été publiées pour la synthèse de dérivés de Bis (indolyl) méthane [105- 111].

Certains protocoles indiquent que ces catalyseurs présentent des inconvénients tels que le coût élevé, une faible stabilité thermique, une toxicité élevée, méthode fastidieuse de la séparation des produits et l'utilisation de solvants organiques nuisibles à l'environnement [112], l'exigence des grandes quantités de catalyseur [113-115], temps de réaction très longs[116,117], faibles rendements de produit [118].

Par contre, plusieurs des méthodologies ont été adoptées dans la littérature possédant de nombreux avantages tels que la simplicité expérimentale du protocole, le temps de réaction plus court, des rendements élevés en produit, réutilisable du catalyseur non toxique, réaction sans solvant [119] et respectueuse de l'environnement [120].

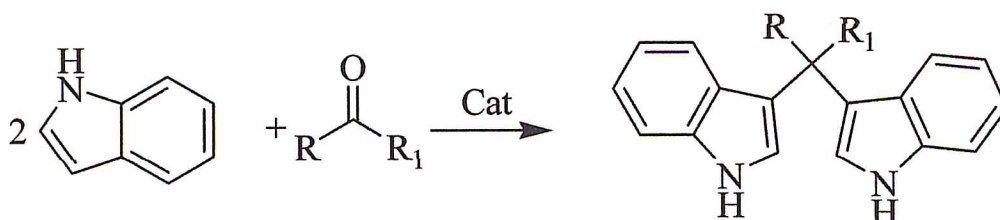


Schéma 2: Synthèse générale des Bis indoles

Exemples de réactions des Bis(indolyl)méthanés utilisant différents catalyseurs

a) Cobalt au manganèse nano oxyde :

Un protocole simple et performant vert pour la synthèse de Bis(indolyl)méthanés a été réalisé en présence de catalyseurs de cobalt au manganèse nano oxyde à 100 °C. Le produit est obtenu avec un rendement élevé (95 %) [121].

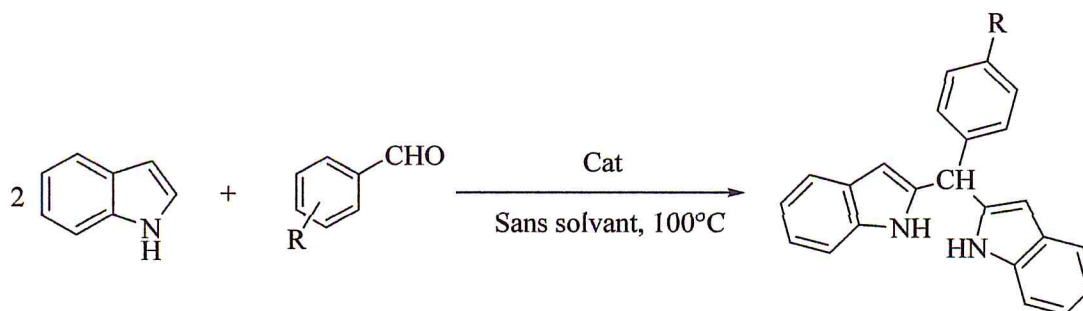


Schéma 3 : Synthèse des Bis indoles catalysée par cobalt au manganèse nano oxyde

b) [Et₃NH]-[H₂PO₄]:

La réaction est réalisée en présence de triéthyle dihydrogénophosphate d'ammonium [Et₃NH] [H₂PO₄] à 100°C pendant de temps approprié. Ils ont obtenus des produits avec des rendements élevés (96%) [119].

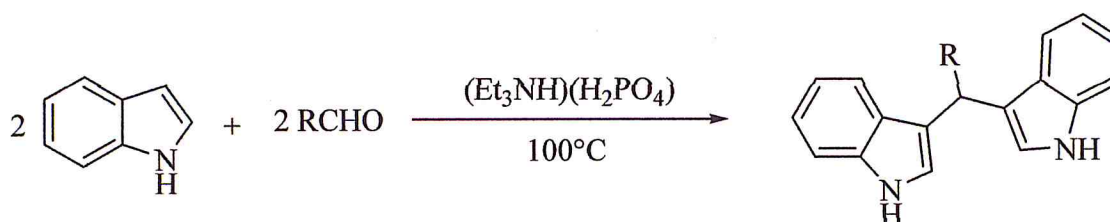


Schéma 4 : Synthèse des Bis indoles catalysée par [Et₃NH] [H₂PO₄]

c) Al₂O₃:

Une procédure simple utilisant l'alumine acide activée par l'irradiation micro-onde a permis d'obtenir quantitativement (97%) les Bisindoles et en un temps de réaction très court (5 min) [122].

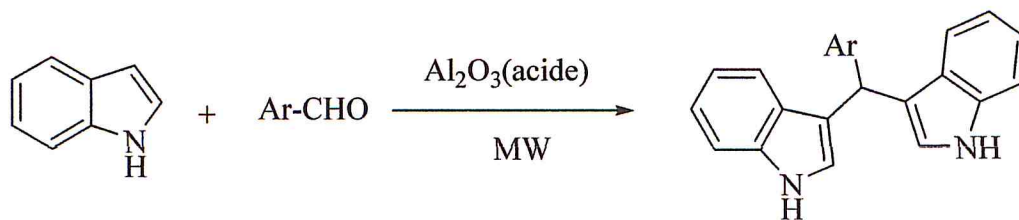


Schéma 5 : Synthèse des Bis indoles catalysée par Oxyde d'aluminium (acide) sans solvant

d) $\text{SiO}_2\text{-AlCl}_3$:

Une méthode alternative de synthèse utilisant un mélange $\text{SiO}_2\text{-AlCl}_3$ à température ambiante, en milieu sec conduit aux bis indolyl methanes avec de bons rendements (85%) [123].

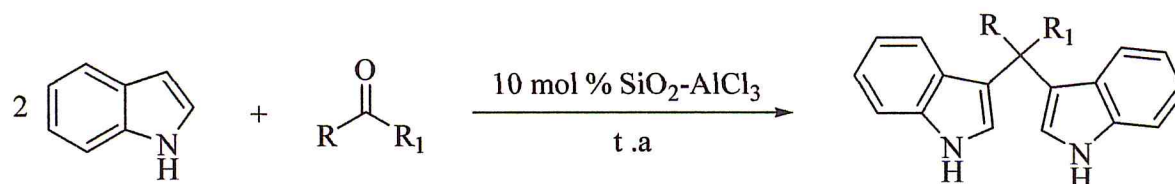


Schéma 6 : Synthèse des Bis indoles catalysée par $\text{SiO}_2\text{-AlCl}_3$

e) La zéolite :

La réaction est impliquée en présence de catalyseur de zéolite à 120 °C sous pression atmosphérique et l'éthanol. Le rendement obtenu est de l'ordre de 73 % [124].

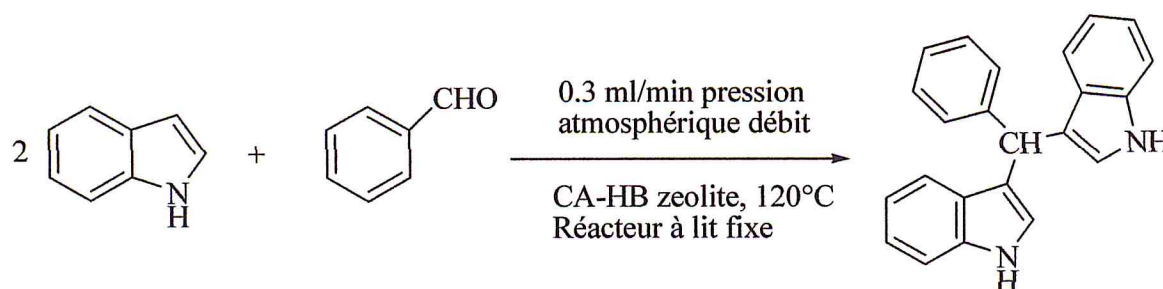


Schéma 7 : Synthèse des Bis indoles catalysée par La zéolite

g) Gel de silice:

La réaction est réalisée en présence de gel de silice 50 mg à 100 °C. Le produit est obtenu très quantitativement (99%) [125].

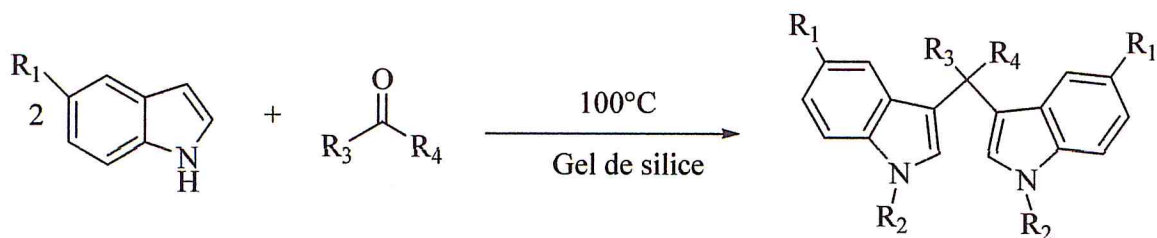


Schéma 8 : Synthèse des Bis indoles catalysée par gel de silice

V. Application des Bis(indolyl)méthanés

Le développement de récepteurs artificiels pour la reconnaissance sélective d'entités biologiques a attiré l'attention de beaucoup de chercheurs. Cependant, le développement de capteurs moléculaires fluorescents pour la détection des ions et plus particulièrement pour les cations métalliques est d'un grand intérêt pour de nombreux scientifiques comme les chimistes, les biologistes, les biochimistes et les écologistes.

Il est connu que le sodium, le potassium, le magnésium ainsi que le calcium sont impliqués dans des processus biologiques (contraction musculaire, régulation de l'activité cellulaire ect.....). En outre, plusieurs ions métalliques appartiennent aux métalloenzymes. Par exemple, en médecine, il est important de contrôler, le taux sérique de lithium chez un malade souffrant de dépression maniaque, sa toxicité est connue et selon certaines études son implication dans la maladie d'Alzheimer est probable [126-129].

V.I. Détection sélectifs des métaux de transitions [33] :

Des auteurs ont synthétisé un Bis(indolyl)méthane avec un motif de triphénylamine et ont mené une étude phytophysique qui leur a permis de fixer sélectivement le Cu(II).

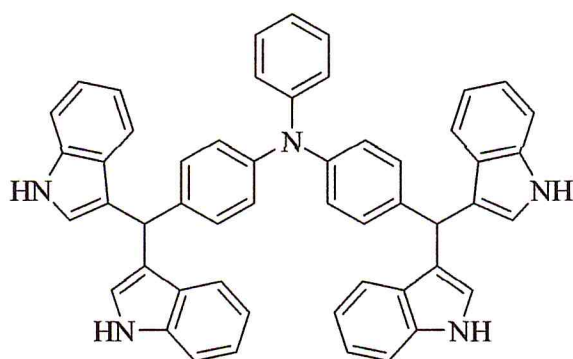


Figure 5 : Bis-{4-[bis-(1H-indol-3-yl)-methyl]-phenyl}-phenylamine (R₁) comme récepteur

V.I.1. Les propriétés phytophysiques :

Etude par UV-visible :

1^{ère} analyse :

Ces auteurs ont utilisés une série de cations métalliques à 10 équivalents ($C = 2 \times 10^{-3}$ M) telle que : (Cu^{2+} , Hg^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} et Mn^{2+}) dans un mélange de solvant $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (70/30, V / V), au quel on ajoute une solution de capteur chimique R_1 (2×10^{-5} M), La capacité colorimétrique de détection capteur chimique R_1 avec ces différents cations a été suivie par absorption UV-vis et par l'observation à l'œil nu.

La couleur de la solution de récepteur R_1 a viré de l'incolore au violet, ce qui pourrait être facilement observé à l'œil nu.

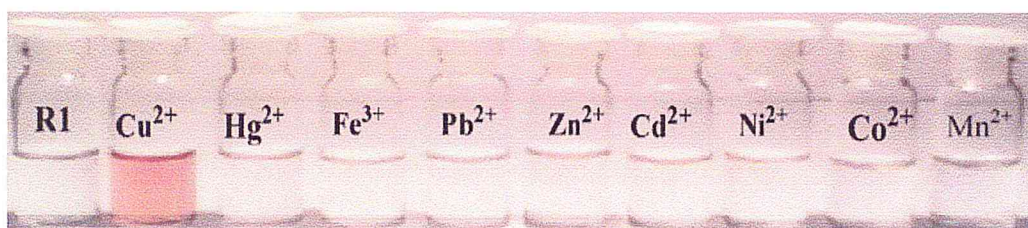


Figure 6 : Changement de couleur visible de R_1 à divers ions métalliques dans $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (70/30, v / v). $\text{R}_1 = 10 \mu\text{M}$, $\text{Cu}^{2+} = 10 \mu\text{M}$ et les concentrations des autres ions métalliques sont de $50 \mu\text{M}$

Interprétation :

Seul le cation Cu^{2+} a montré un changement de couleur vers le violet. Aucun changement de couleur n'a été observé pour les autres cations même à forte concentration (100 équivalents).

Les spectres d'absorption des complexes formés à partir de R_1 ion métallique sont illustrés dans la figure suivante :

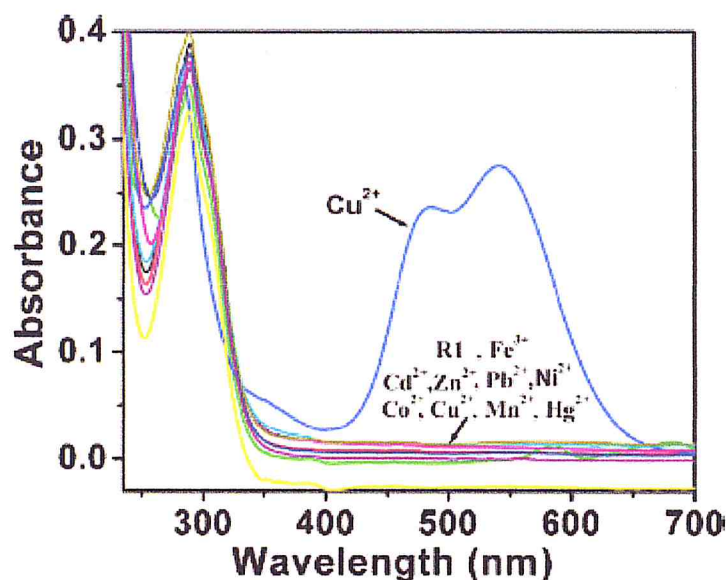


Figure 7 : Les spectres d'absorption UV-visible obtenus par l'addition de divers ions métalliques de CH₃CN/H₂O (70:30, V / V) contenant R₁ (C = 2 × 10⁻⁵ M)

2^{ème} analyse :

Une solution de Cu²⁺ à des différentes concentrations varient de 0 à 100 μM a été préparé dans un mélange de solvant CH₃CN/H₂O (70:30, V / V), ensuite cette solution sera ajoutée au capteur chimique R₁ (2 × 10⁻⁵ M). Le spectre d'absorption que l'on obtient est le suivant :

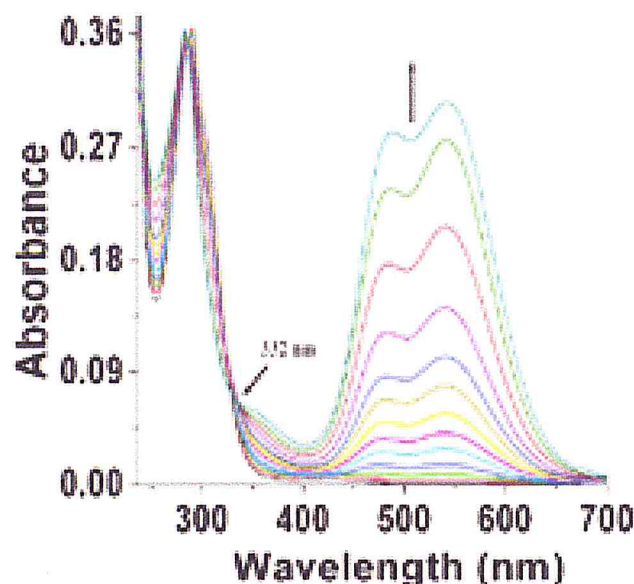


Figure 8 : Les spectres d'absorption UV-visible obtenue par addition d'ions Cu²⁺ (0-100 μM) de CH₃CN/H₂O (70:30, V / V) contenant R₁ (c = 2 × 10⁻⁵ M)

Interprétation :

La figure 8 montre que les spectres d'absorptions UV-visible d'un mélange de R₁ Capteur chimique avec différentes concentrations de Cu²⁺ dans CH₃CN/H₂O (70/30, V / V), sont dominées par deux fortes bandes d'absorption à 274 et 283 nm, avec un épaulement moins fort à 356 nm.

En augmentant la concentration de Cu²⁺, on voit l'apparition de deux nouvelles et fortes bandes d'absorption à 487 et 541nm, tandis que l'absorption à 291nm a été diminué progressivement. Simultanément, deux points isobestiques sont clairement observés à 287 et 332 nm, ce qui indique qu'une inter-conversion nette entre les espèces non complexées et complexées se produit.

3^{ème} analyse :

Influences du pH sur l'absorption de R₁ (10 mM) dans de l'acétonitrile-eau de la solution (70/30, v / v). Le pH est modulé par l'addition de 75% de la solution de NaOH ou HClO₄

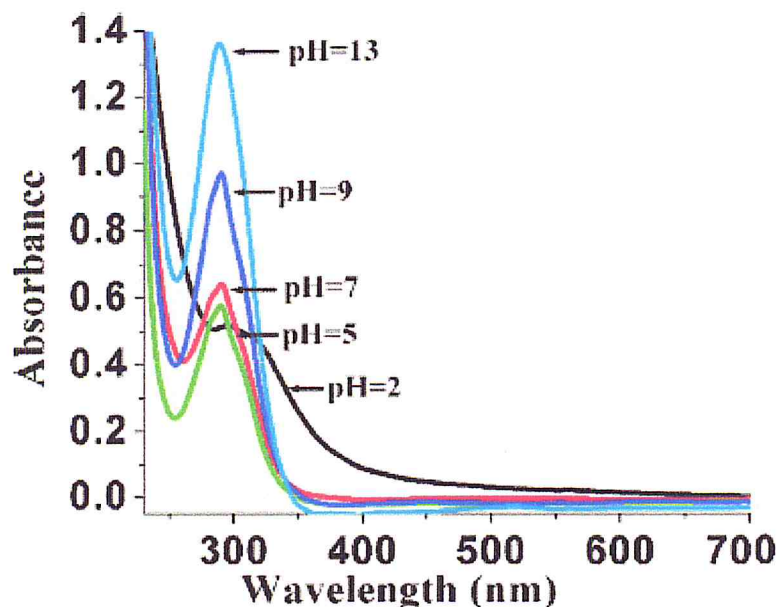


Figure 9 : Influences du pH sur l'absorption de R₁ (10 μM) dans de CH₃CN/H₂O de la solution (70/30, V / V). Le pH est modulé par l'addition de 75% de la solution de NaOH ou HClO₄

Interprétation

Lorsque la valeur du pH est dans la gamme de 5-13, l'intensité d'absorption de R_1 augmente progressivement. Lorsque le pH a varié de 5 à 2, l'intensité d'absorption diminue progressivement (Figure 9). On observe un décalage de 5 nm vers le bleu (291nm–286nm).

Conclusion :

Dans ce chapitre, nous avons décrit d'abord la famille des Bis-indoles naturelles extraites d'organismes marins et les différentes voies synthétiques. Ces composés présentent des activités pharmacologiques et biologiques intéressantes. Ils ont des applications dans le domaine de la biochimie et de la chimie médicinale. Nous avons aussi décrit les applications de ce Bis(indolyl)méthane comme détecteur chimique sélectif vis-à-vis du Cu(II). Cette étude nous a permis de constater qu'il y a complexation avec le Cu^{+2} , même à pH neutre et pas avec les autres cations métalliques et que cette coordination a en lieu avec l'azote du Bisindole et s'est manifesté par un changement de couleur et par une absorption dans le visible.

I. Introduction :

La recherche scientifique axée sur la synthèse et la caractérisation des composés biologiques des ions métalliques a un intérêt particulier en raison de son applicabilité dans la pharmacie, la médecine, l'agronomie et la nutrition. Les études effectuées sur les complexes des métaux de transition ayant des ligands comme molécules bioactives, ont mis en évidence une augmentation de leur activité biologique par rapport aux ligands purs [130,131].

L'introduction des métaux de transition dans l'organisme humain est indiquée sous la forme de complexes, souvent sous forme de complexe chélate [132].

Les composés de métaux de transition avec différentes molécules d'intérêt biologique sont fortement impliqués dans les processus catalytiques, fonctionnel et structural dans les organismes vivants. L'activité biologique des complexes dépend de la structure locale autour des ions métalliques, le type et la force des liaisons chimiques [133-135].

Notre travail consiste à synthétiser un ligand, le BIM obtenu à partir de la condensation de 2 méthyl indole et de la p-vanilline. Ce ligand va nous permettre de réaliser la synthèse de trois complexes avec les cations Co(II), Ni(II) et Cu(II). Pour la caractérisation du ligand et des complexes nous avons utilisé les méthodes spectroscopiques (UV-Vis, IR, RMN proton), l'analyse élémentaire et l'analyse thermique (ATG et DSC).

Enfin, sur la base des données, nous essayerons de proposer une structure pour les produits obtenus.

II. Réactifs utilisés :

Les réactifs utilisés pour la préparation de bis-indolyl méthane sont la p-vanilline, l'acide acétique glacial ($\geq 99.85\%$ / CH₃COOH/Sigma Aldrich) et le 2-méthyl indole qui a été déjà préparé au sein de laboratoire pédagogique « Chimie des Substances Naturelles ».

Les sels métalliques utilisés pour la préparation des complexes métalliques étaient de qualité (PSR Panreac).

Les solvants utilisés dans notre travail sont l'éthanol absolu, l'éther et le méthanol de Sigma Aldrich.

III. Techniques de caractérisation :

III.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) :

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple dont le principe est basé sur le phénomène d'adsorption. Il est extrêmement utile, on l'utilise en générale pour suivre l'avancement des réactions, connaître la composition de fraction séparés sur colonne ou contrôlé la pureté des produits [136]. Nous avons utilisé la chromatographie pour suivre les réactions et pour vérifier la pureté des produits synthétisés.

Les chromatographies sur couches minces (CCM) ont été effectuées, en utilisant des feuilles d'aluminium Al_2O_3 . Les révélations ont été effectuées dans un bain de sable iodé.

III.2. Microanalyse Élémentaire :

L'analyse élémentaire permet de connaître la composition en éléments chimiques de la matière. L'analyse élémentaire du carbone, de l'azote et de l'hydrogène a été effectuée au laboratoire LIMBP de Metz. Les analyses sont réalisées sur un appareil de microanalyse CHNS Thermo Scientific Flash 2000.


III.3. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) :

Le développement de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire à partir de 1955 a fortement contribué aux progrès rapides de la synthèse organique, c'est en effet un moyen d'identification sûr et rapide de la structure d'une molécule. Elle concerne à la fois l'état liquide et l'état solide, elle est basée sur les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques. C'est la première méthode utilisée par les chimistes organiciens pour déterminer la structure des molécules [137].

Les spectres RMN 1H des composés étudiés ont été enregistrés à l'aide d'un appareil à transformée de Fourier Bruker 400MHz. au laboratoire LIMBP de Metz. Le solvant utilisé est le DMSO- d_6 . Les déplacements chimiques δ sont exprimés en ppm par rapport au TMS (tétraméthylsilane) utilisé comme référence interne. La multiplicité des pics est indiquée par les lettres suivantes : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), td (triplet de doublet), m (massif).

III.4. Analyse thermique [138]:

Quand les matériaux subissent une chauffe, ils subissent un certain nombre de changements :

Cristal 1		Cristal 2
Solide		Liquide
Solide		Vapeur
Amorphe		Cristal
Fragile		Ductile
Composition 1		Composition 2

Un ensemble de méthodes a été développé pour permettre de mesurer ces changements :

1. *DTA* – Analyse Thermique Différentielle
2. *DSC* – Analyse Enthalpique Différentielle
3. *TGA* – Analyse Thermogravimétrique
4. *TMA* – Analyse ThermoMécanique

Dans notre travail, nous, nous sommes intéressés notamment à deux méthodes parmi ces quatre méthodes et sont:

- *ATG* – Analyse Thermogravimétrique ;
- *DSC* – Analyse Enthalpie Différentielle ;

ATG :

La thermogravimétrie est une technique mesurant la variation de masse d'un échantillon lorsqu'il est soumis à une programmation de température, sous atmosphère contrôlée. Cette variation peut être une perte de masse (émission de vapeur) ou un gain de masse (fixation de gaz, oxydation...).

Le principe de l'ATG est le suivant :

1. L'échantillon est pesé et la ligne de base est établie
2. L'échantillon est soumis à la montée en température
3. À différentes températures, des réactions chimiques peuvent libérer des espèces gazeuses ou former des oxydes entraînant une variation de masse de l'échantillon
4. Ce changement de masse est enregistré en fonction de la température

DSC :

Un grand nombre de transitions (fusion, cristallisation, transition vitreuse...) ne s'accompagnent pas d'une variation de masse. Ces transitions qui ne sont pas détectées par l'analyse thermogravimétrique le sont par l'analyse Enthalpique différentielle.

L'analyse enthalpique différentielle est une technique déterminant la variation de flux thermique émis ou reçu par un échantillon lorsqu'il est soumis à une programmation de température, sous atm contrôlée. Lors d'une chauffe ou d'un refroidissement, toute transformation intervenant dans un matériau est accompagnée d'un échange de chaleur : la DSC permet de déterminer la température de cette transformation et de quantifier la chaleur.

Le principe de la DSC est le suivant :

1. L'échantillon et la référence sont soumis à la montée en température
2. Quand l'échantillon subit un changement de phase, sa réponse en température va varier par rapport à la référence
3. Le thermocouple va mesurer cette variation.
4. Le type de réaction (exo ou endothermique) va produire un pic

D'une manière générale, les analyses thermogravimétriques (TGA et DSC) sont utilisées pour : (i) obtenir des renseignements sur la stabilité thermique des nouveaux complexes , (ii) décider si les molécules d'eau (si elles sont présentes) sont à l'intérieur ou à

l'extérieur de la sphère de coordination interne de l'ion métallique central et (iii) proposer un schéma général de la décomposition thermique des complexes.

Ces analyses ont été réalisées par analyseur thermique NETZSCH TA 409 PC/PG avec une vitesse de chauffage de $10^{\circ}\text{C. min}^{-1}$ et la perte de poids a été mesurée à partir de la température ambiante jusqu'à 550°C . La masse pris pour le ligand BIM et ses complexes est de l'ordre de 5mg/ml .

III.5. Spectrophotométrie d'infrarouge (IR) :

C'est une technique d'analyse utilisée pour l'identification des groupements fonctionnels du produit synthétisé. Le domaine de fréquence le plus couramment utilisé s'étend de 4000 à 650cm^{-1} et correspond à des transitions entre niveaux vibrationnels. Ces vibrations peuvent être des vibrations d'élongation ou de déformation et seules celles entraînant une variation du moment dipolaire de la molécule sont actives pour cette spectroscopie [139].

Les spectres FTIR de ligand et leurs complexes ont été réalisés à l'aide d'un spectre photomètre FTIR à transformée de fourrier modèle BRUKER du type Tensor 27 dans un domaine de nombre d'onde allant de 400 à 4000cm^{-1} .

Le ligand et leurs complexes sont échantillonnés sous forme de pastilles de KBr. Le bromure de potassium ne présente aucun pic dans le domaine exploité, toutes les bandes de vibrations enregistrées sont donc propres aux complexes.

III.6. Spectrophotométrie d'ultraviolet-visible (UV-vis) :

La spectroscopie d'absorption ultraviolet - visible nous renseigne sur le mode de coordination de l'ion central avec le ligand. Cette méthode est fondée sur le phénomène d'absorption d'énergie lumineuse par une substance. Lorsque cette dernière absorbe une partie d'énergie de la radiation électromagnétique, cette absorption est automatiquement accompagnée d'une transition électronique d'un niveau fondamental à un niveau d'énergie supérieur [140].

Les spectres d'absorption électroniques du ligand (BIM) et de leurs complexes ont été enregistrés en solution dans du MeOH à l'aide d'une spectrophotométrie de type SHIMADZU UV-1600 Series. Les longueurs d'onde maximales sont obtenues directement

par un balayage entre 200 et 700 nm. Des cuves en quartz de 1cm de trajet optique sont utilisées.

III.7. Conductimétrie :

La conductivité molaire des espèces solides dans des solvants à température ambiante a été mesurée par conductimètre qui nous permet de déterminer la nature des complexes ioniques ou neutre.

Les mesures conductimétriques ont été effectuées à l'aide d'un conductimètre du type Lamork AD3000 appartenant au département de chimie. La concentration des complexes dissous dans le MeOH est prise égale $\sim 10^{-3}M$. La valeur de la conductivité équivalente molaire a été déterminée après étalonnage du conductimètre par la relation :

$$\Lambda = \frac{\sigma}{C}$$

Λ : conductivité équivalente molaire ($S.cm^2.mole^{-1}$)

σ : conductivité spécifique ($S.cm^{-1}$)

C : concentration molaire ($mole.cm^{-3}$)

IV. Synthèse et caractérisation de ligand et leurs complexes Co(II), Cu(II) et Ni(II) :

IV.1. Synthèse :

IV.1.1. Synthèse de Bis indolyl méthane (BIM):

Dans un erlenmeyer de 100 ml, on introduit 2,1mmoles de 2-méthyl indole ($m=0,271\text{g}$), 1mmole de p-vanilline ($m = 0,152\text{g}$) et 1ml d'acide acétique glacial. Le mélange est agité puis chauffé à 90°C pendant 30min à 1h. Il se forme une pate de couleur marron très clair. Après 1h, on ajoute un excès de méthanol et on laisse agiter quelques minutes à température ambiante. La réaction est suivie par CCM. Le précipité solide de couleur rose clair obtenu est filtré, puis lavé avec du méthanol froid à plusieurs reprises et séché à l'air libre et enfin stocké sous pression réduite dans un dessiccateur. La synthèse de ce produit est représentée dans le (schéma 9).

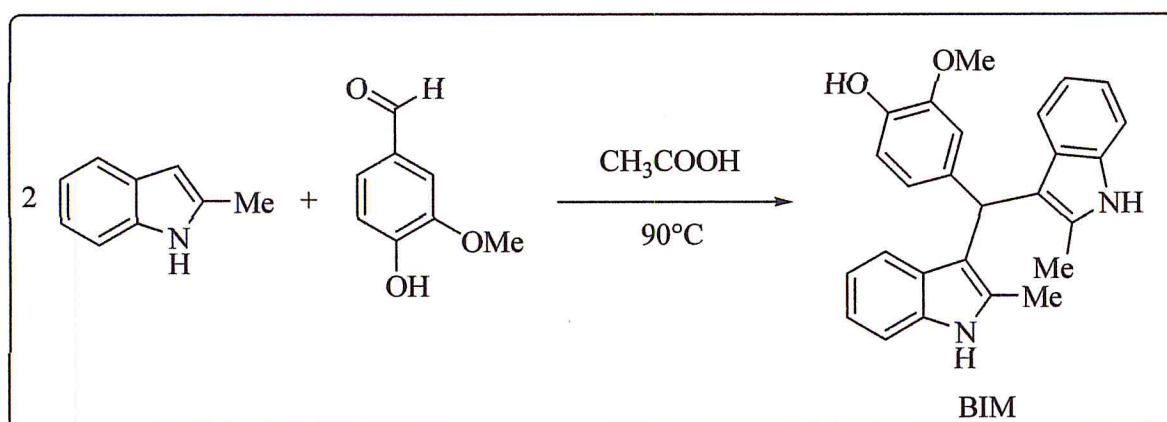
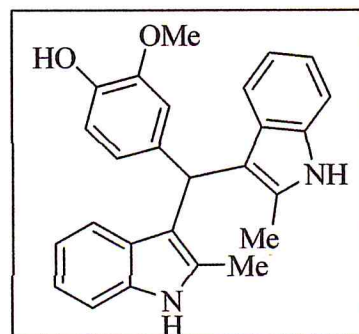


Schéma 9 : Synthèse de BIM

Description du BIM : 4-(bis(2-méthyl-1H-indol-3-yl)méthyl)-2-méthoxyphénol

- Masse exacte ($\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$) : $396.18 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.
- Aspect : solide rose clair.
- Rdt = 89%.
- $T_f = 249^{\circ}\text{C}$.
- $R_f (\text{CH}_2\text{Cl}_2) = 0,44$.



La structure de BIM est confirmée par IR, RMN¹H, UV-Vis et par l'analyse élémentaire. Le mécanisme réactionnel proposé est le suivant :

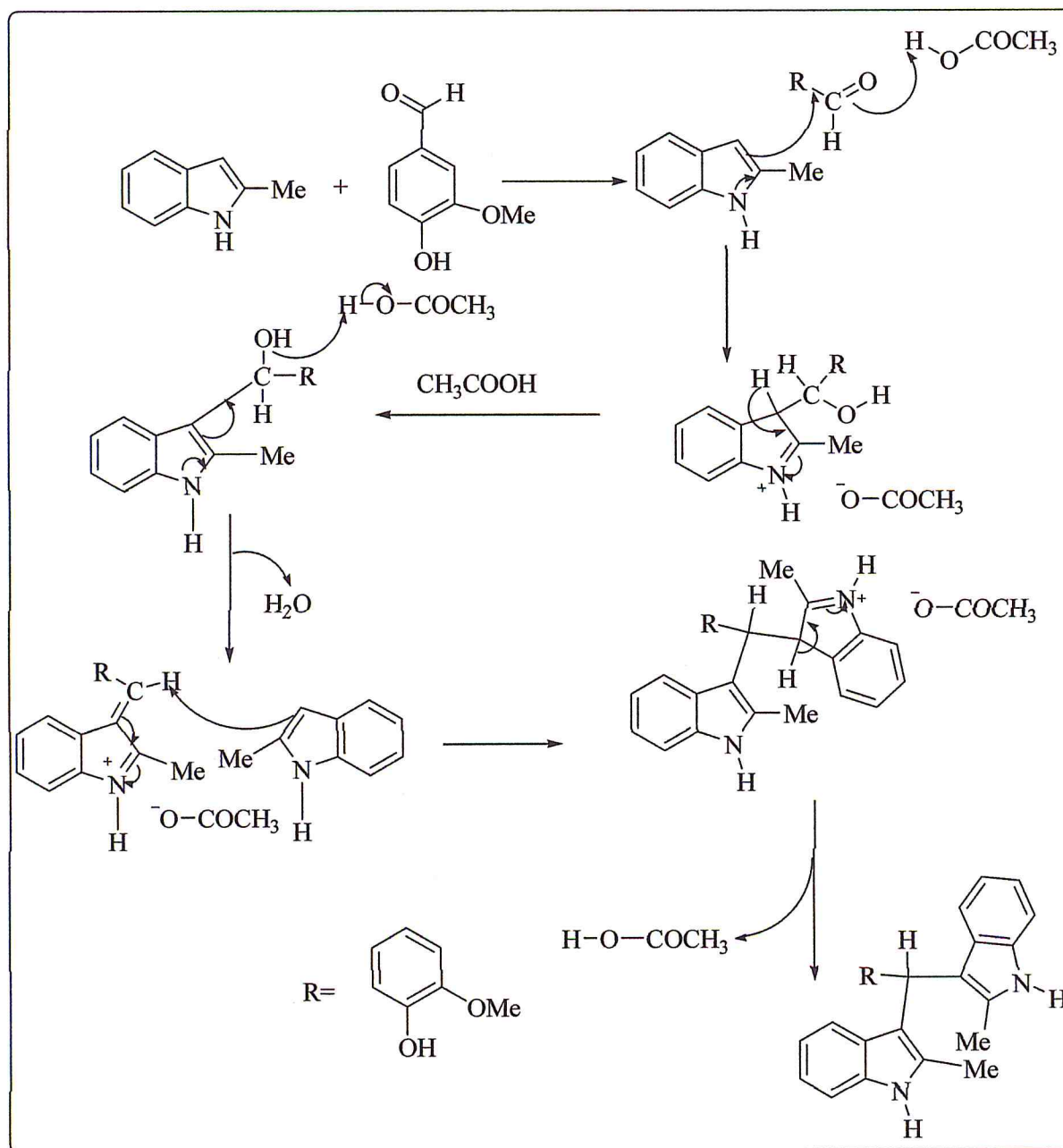


Schéma 10 : Mécanisme réactionnel de la préparation de BIM

IV.1.2. Synthèse des complexes métalliques :

Procédure générale pour la synthèse des complexes métalliques de BIM

2mmoles de ligand sont introduites dans un erlenmeyer à fond rond contenant 15 ml d'éthanol absolu auquel est ajouté 1mmole de chlorure de métal (II) dissous préalablement dans 10 ml d'éthanol. Le mélange est porté au reflux sous agitation magnétique. On laisse refroidir à température ambiante. La précipitation du complexe est provoquée par l'ajout de l'éther froid. Le précipité obtenu est filtré puis lavé à l'éther. Il est séché puis maintenu dans un dessiccateur sous vide. Le schéma 11 représente la synthèse générale de ces complexes.

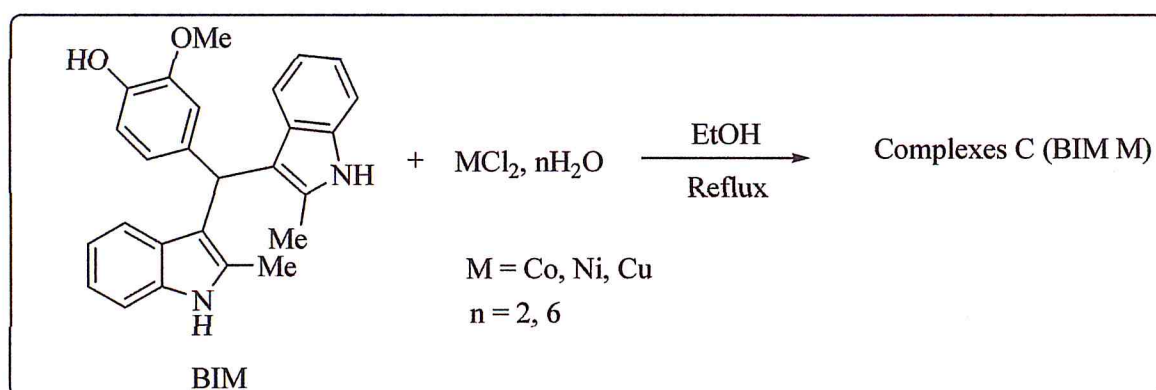


Schéma 11 : Synthèse de complexe L-Co(II), L-Ni(II) et L-Cu(II)

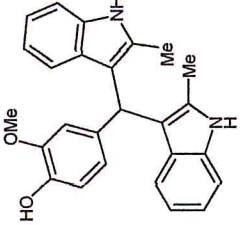
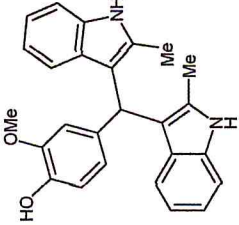
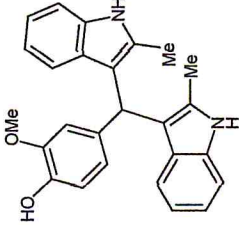
IV.2. Les propriétés physiques des complexes :

Tous les complexes synthétisés sont solides et stables à température ambiante. Leurs points de fusion ont été déterminés à l'aide d'un fusiomètre et sont supérieurs à 300°C (tableau 3).

Des testes de solubilités sur l'ensemble des complexes révèlent que tous les complexes sont solubles dans éthanol, DMF et méthanol, mais ils sont assez solubles dans l'eau, CH_2Cl_2 et acétone.

Les résultats expérimentaux sont regroupés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Résultats expérimentaux des complexes

Enter	BIM (L)	Sel de chlorure	Produit	Aspect physique	Temps (h)	Rendement (%)	Point de fusion (°C)
1		CoCl ₂ , 6H ₂ O	L-Co(II)	Cristaux violets	4	48	>300
2		NiCl ₂ , 6H ₂ O	L-Ni(II)	Cristaux rouge foncés	6	36	>300
3		CuCl ₂ , 2H ₂ O	L-Cu(II)	Cristaux grenat	3	55	>300

IV.3. Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) :

Nous avons soumis nos produits à une analyse chromatographique sur couche mince, en utilisant le dichlorométhane comme éluant, nous sommes arrivés à une bonne séparation de nos produits.

Après le développement du chromatogramme, et lorsque le front du solvant d'éluion a atteint la ligne supérieure, la plaque a été retirée, séchée et révélée par l'iode afin d'avoir la séparation chromatographique du produit présent (Figure 10 et 11).

1. BIM :

D'après les résultats obtenus nous avons confirmés que notre produit est pur (tableau3).

Tableau 3 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince de BIM

	Composés	Rapport frontal R_f (CH_2Cl_2)
1	2-Méthylindole (réactif)	0,8
2	p-Vanilline (réactif)	0,32
3	BIM (produit obtenu)	0,44

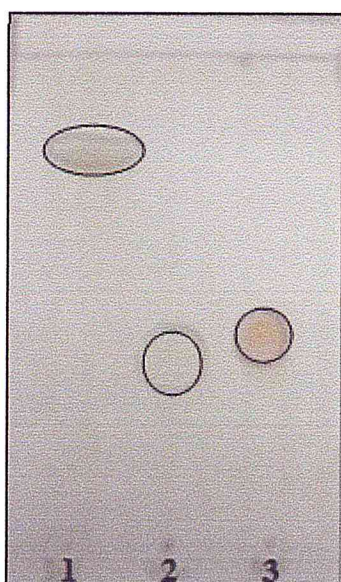


Figure 10 : Chromatogramme de BIM ainsi que des réactifs de départ

2. Les complexes :

Les résultats de l'analyse chromatographique sur couche mince de nos produits ont été résumés dans le (Tableau 4) ont confirmé que ces produits sont purs.

Tableau 4 : Les résultats de la chromatographie sur couche mince des complexes

	Composés	Rapport frontal (R_f) (CH_2Cl_2)
1	BIM	0,44
2	L-Co(II)	-
3	L-Cu(II)	-
4	L-Ni(II)	-

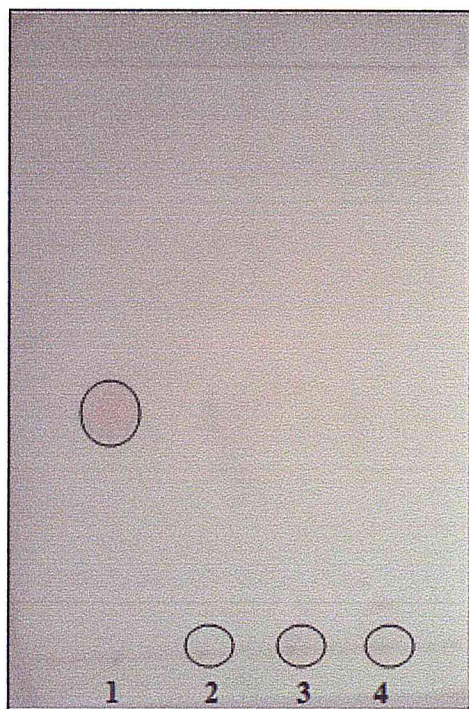


Figure 11 : Chromatogramme des complexes

Le chromatogramme de la figure 11 montre que tous les complexes ont été formés et qu'il n'y a pas la présence de BIM dans les spots 2, 3 et 4.

IV.4. Analyse élémentaire :

Le tableau 5 présente les résultats obtenus par l'analyse élémentaire du ligand BIM et ses complexes.

Tableau 5 : Résultats de l'analyse élémentaire

N°	Composés	L'analyse élémentaire (calculé)			L'analyse élémentaire (trouvée)		
		C%	H%	N%	C%	H%	N%
1	Ligand BIM	78,76	6,10	7,07	78,17	6,72	6,70
2	L-Co(II)	62,77	5,63	5,63	62,33	5,41	5,16
3	L-Ni(II)*	-	-	-	42,68	4,53	3,35
4	L-Cu(II)*	-	-	-	59,63	4,58	4,37

*la détermination structurale est en cours.

IV.5. Analyse par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) :

L'examen du tableau 6 permet les commentaires suivants :

Si on compare la position des autres signaux de proton du ligand avec ceux des complexes, on peut conclure que ces signaux se trouvent dans la même région que le ligand avec un léger décalage dû à la coordination du ligand à l'ion métallique.

Le signal à 8.70ppm du ligand (BIM) caractéristique du proton O-H, disparaît des spectres de tous les complexes. Il est clair que cela indique que l'oxygène du groupe OH en position 4 du noyau aromatique est coordonné au métal après déprotonation.

En dépit de la difficulté à interpréter le complexe C₂ (BIM Ni), on constate qu'il conserve un signal dans la région 12-11ppm, attribuable au proton NH du noyau indolique.

On note cependant la disparition du signal vers cette région (12-11ppm) pour le complexe C₃(BIMCu), en plus de celui de OH. Donc le cation Cu(II) a formé des liaisons

avec l'oxygène de OH et l'azote de NH après déprotonation. Ce résultat est prévisible pour nous, nous l'avons remarqué lors de la synthèse bibliographique relative au récepteur bis(indolyl)méthane comportant le motif triphénylamine. En effet, la littérature le décrit comme étant un capteur chimique sélectif vis-à-vis du Cu^{+2} (la complexation de Cu^{+2} avec le bis(indolyl)méthane) a été mise en évidence même à un pH neutre (pH=7). La complexation de Cu^{+2} avec le récepteur bis(indolyl)méthane a donné lieu à un changement de couleur allant de l'incolore au violet et visible à l'œil nu. La complexation sélective sur NH s'est faite d'abord avec Cu, puis Ni et enfin Co. Ce qui nous concerne, nous avons opéré à un pH presque neutre pH= 6.8, seul le cation Cu^{+2} s'est coordonné avec NH.

Tableau 6 : Caractérisations spectroscopiques RMN ¹H du ligand BIM et ses complexes

Composés	δppm des signaux	Attribution des signaux
BIM (L)	10.67	(s, 2H, NH)
	8.70	(s, 1H , OH)
	7.20-6.51	(m, 11Har)
	5.81	(s, 1H, CH)
	3.56	(s, 3H, OMe)
	2.06	(s, 6H, 2Me)
L-Co(II)	11.76	(sl, 4H, NH)
	7.6-6.83	(m, 22Har +2 CH)
	3.48	(sl, 6H, 2OMe)
	2.09	(s, 12H, 4(Me)
L-Ni(II)*	7.19-6.72	(m, Har +CH)
	3.17	(OMe)
	2.05	(Me)
L-Cu(II) *	12.29-11.90	(NH)
	7.32-6.81	(m, Har+ CH)
	3.60-3.48	(OMe)
	2.17-2.06	Me

*Spectre difficile à interpréter. On a probablement formation d'un mélange de produits

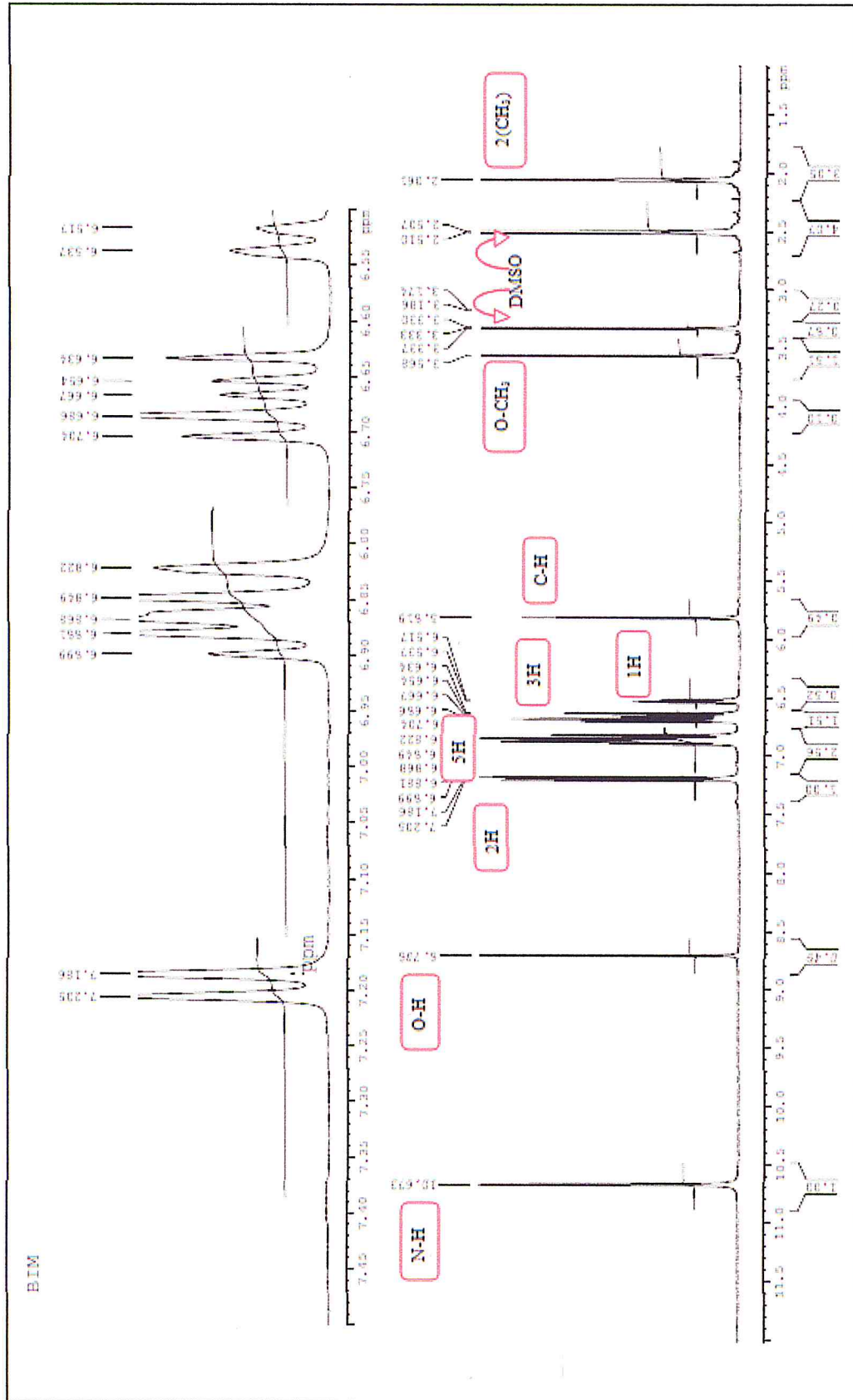


Figure 12 : Spectre RMN ^1H du ligand

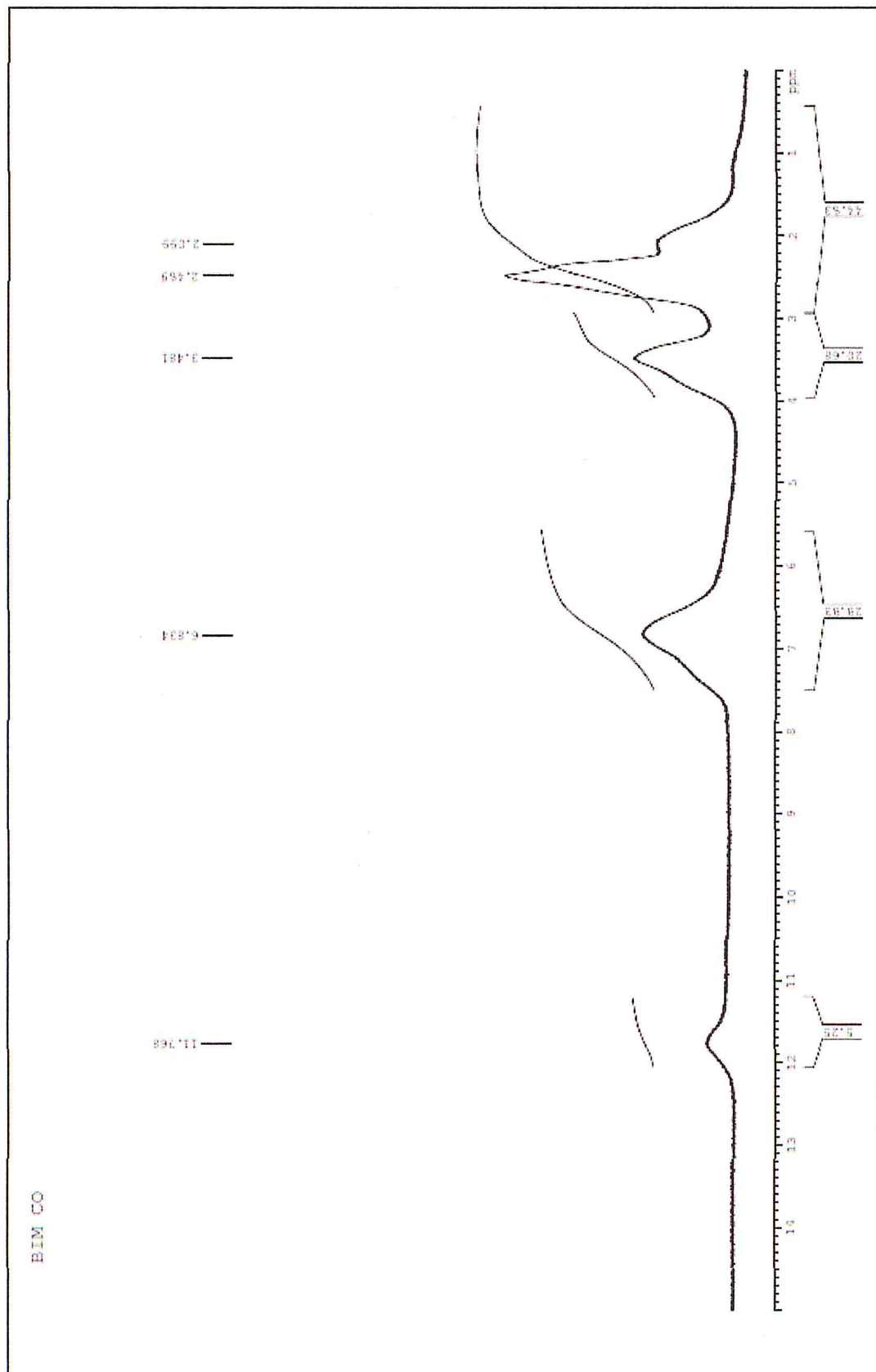


Figure 13 : Spectre RMN ^1H du complexe Co(II)

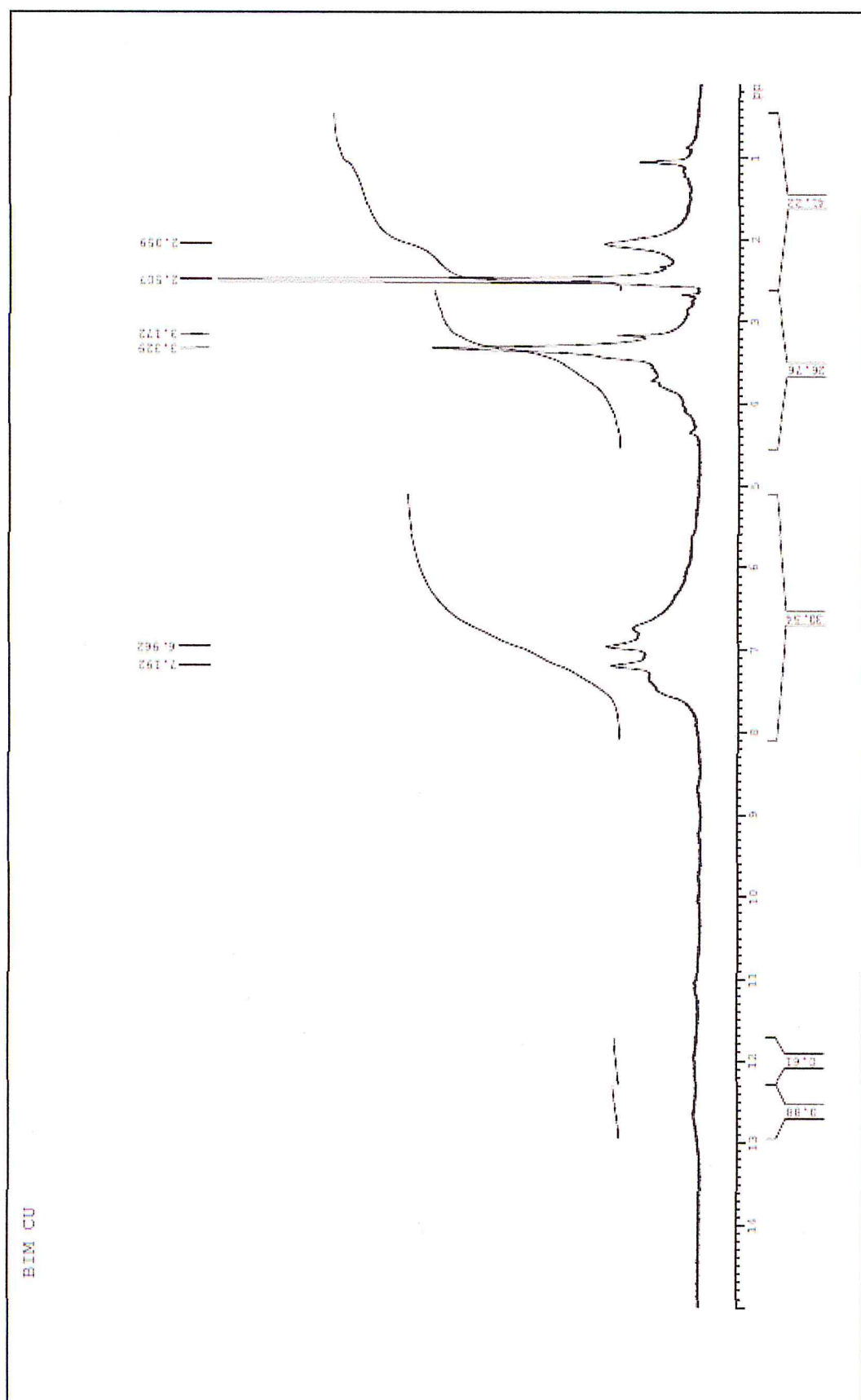


Figure 15 : Spectre RMN ¹H du complexe Cu(II)

IV.6. Analyse thermique :

Dans ce mémoire nous n'avons pas cherché à attribuer les pertes des masses (ATG), car ce n'été pas notre objectif.

L'étude détaillée de l'analyse thermique (ATG, DSC) ainsi que la détermination structurale des deux complexes sont en cours et feront probablement l'objet d'une publication.

L'ATG (figures 16) indique que le ligand commence à se décomposer à 158°C. Il affiche deux étapes avec une perte de masse dans la gamme de 158 à 550°C. La première étape se situe entre 158-328 °C, et présente une perte de masse de 42,01%. La deuxième étape a lieu à 328-550 °C, avec une perte de masse de 11,84%. Pour la DSC, la courbe affiche un seul pic à 202,9°C, caractéristique d'une réaction endothermique.

Le complexe Co(II) (figure 17) présente deux étapes avec une perte de masse dans la gamme de température de 61 à 550 °C. La première étape se situe à 61-428 °C, avec une perte de masse de 38,41%. La deuxième étape a lieu à 428-550 °C, avec une perte de masse de 37,78 %. La courbe de DSC présente quatre pics, le premier pic est observé à 49,7°C, le deuxième est observé à 281,2°C, le troisième et le quatrième sont observés à 381,1°C et 466,4°C. Tous les pics correspondent à une réaction endothermique.

La figure 18 présente la courbe ATG de complexe Ni(II) montre trois étapes avec une perte de masse dans l'intervalle de température 60,8-550°C. La première étape de décomposition se situe entre 60,8-248,9 °C, avec une perte de masse estimée à 7,73 %. La deuxième étape de décomposition survient à 248,9-343°C, avec une perte de masse de 19,40%. La dernière étape se trouve dans la gamme de température 343-550°C, entraînant une perte de masse de l'ordre de 31,06%. La courbe DSC de ce complexe présente aussi deux pics, l'un à 256,1°C et l'autre à 488,9°C caractéristiques à une réaction exothermique.

La courbe ATG de complexe Cu(II) (figure 19) a montré que ce complexe se décompose en trois étapes dans l'intervalle de température de 65 à 550°C. La première perte de masse est estimée à 9,07% à 65-288°C. La deuxième étape de décomposition se produit à 288-324,8 °C avec une perte de masse de 10,39%. La troisième étape correspond à une perte de masse de 48,67% et a lieu à 324,8-550°C. La courbe de DSC présente deux pics, l'un à 303,5°C, l'autre à 430,7°C attribuables à une réaction exothermique.

Une comparaison des courbes thermogravimétrique pour le ligand et les complexes de cobalt(II), cuivre(II) et nickel(II) montre que ces complexes sont moins stables thermiquement que le ligand BIM. L'ordre de la stabilité thermique est jugée BIM > L-Cu(II) > L-Co(II) > L-Ni(II).

Les données de l'analyse thermogravimétrique du ligand et les complexes de L-Co(II), L-Ni(II) et L-Cu(II) sont présentées dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Résultats de l'analyse thermique ATG

Composés	Gamme de température en °C	TG perte de poids calculé en %
L (BIM)	158-328	42,01
	328-550	11,84
L-Co(II)	61-428	38,41
	428-550 °C	37,78
L-Ni(II)	60,8-248,9 °C	7,73
	248,9-343°C	19,40
	343-550°C	31,06
L-Cu(II)	65-288 °C	9,07
	288-324,8 °C	10,39
	324,8-550 °C	48,67

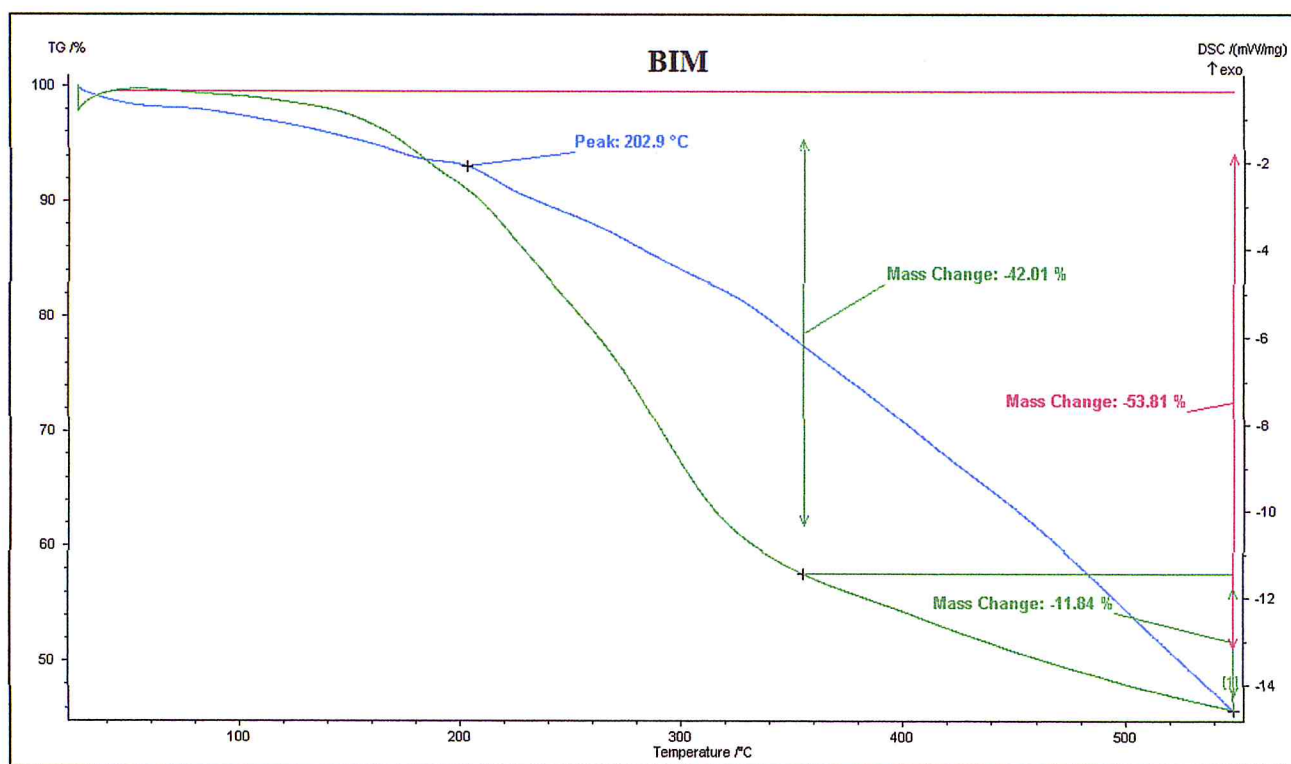


Figure 16 : Spectre ATG / DSC du ligand

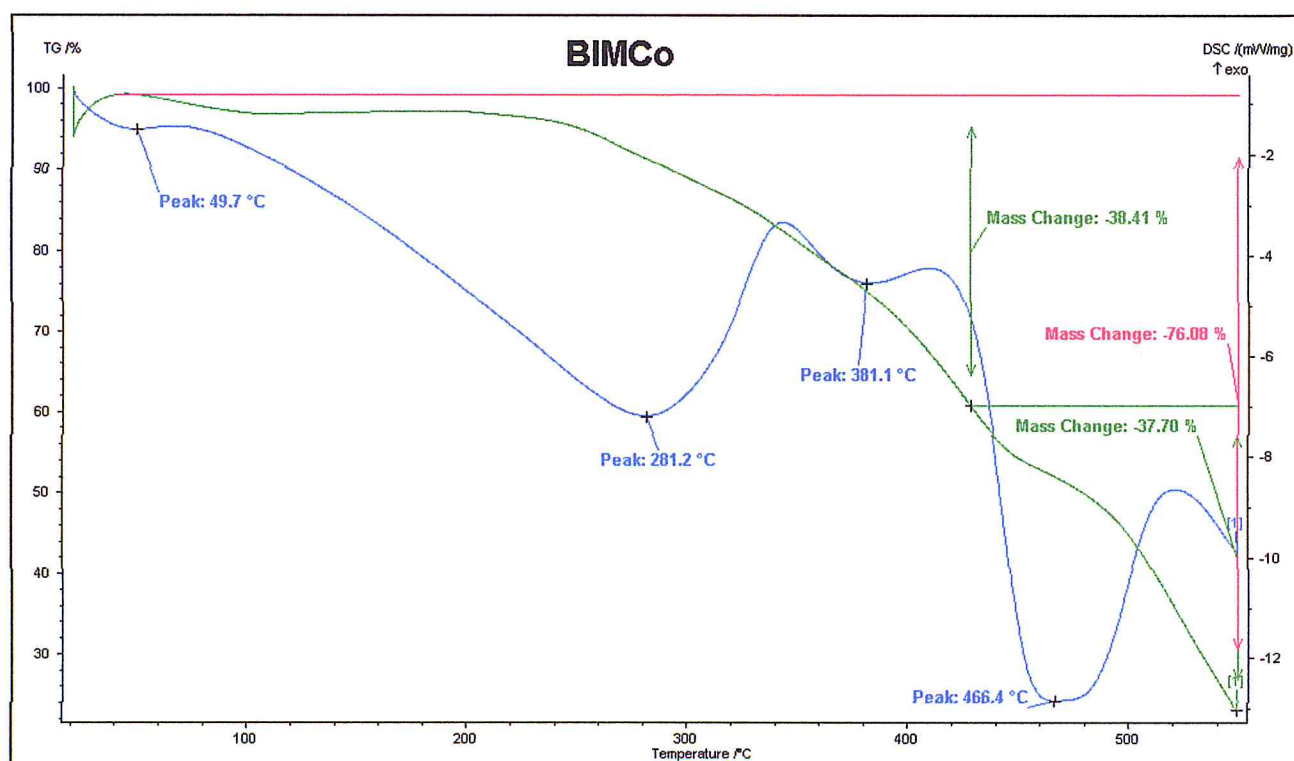


Figure 17: Spectre ATG/DSC du complexe Co(II)

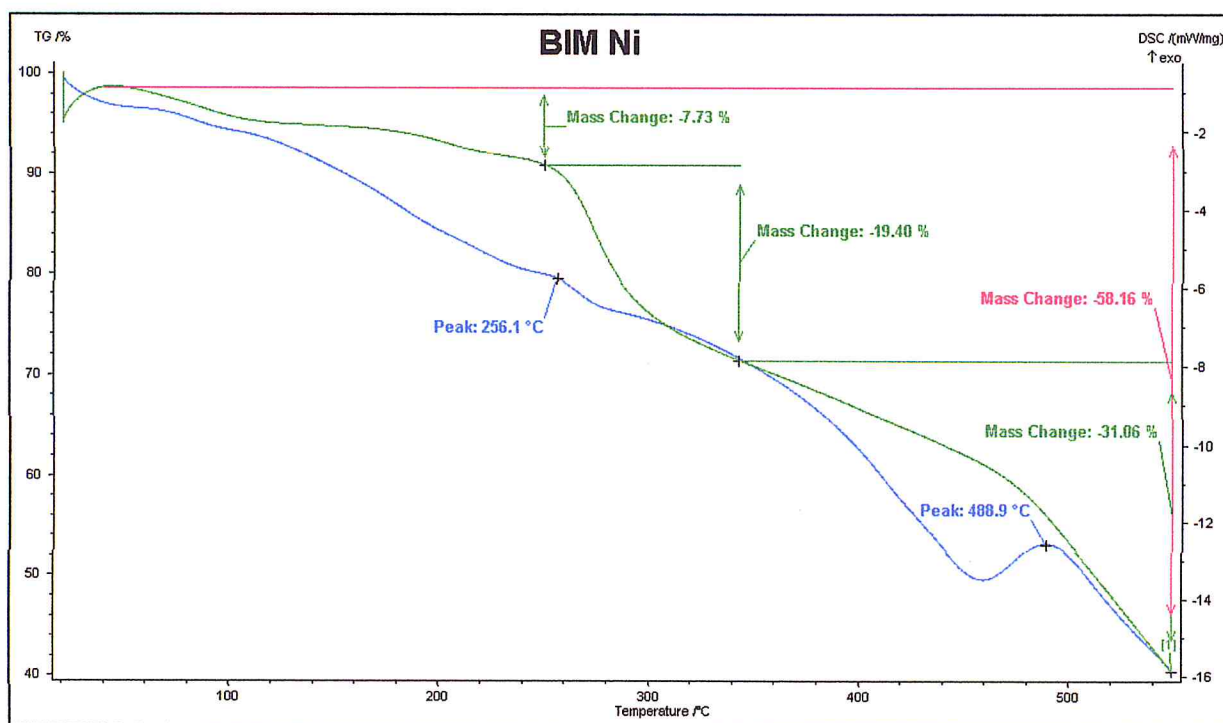


Figure 18 : Spectre ATG/DSC du complexe Ni(II)

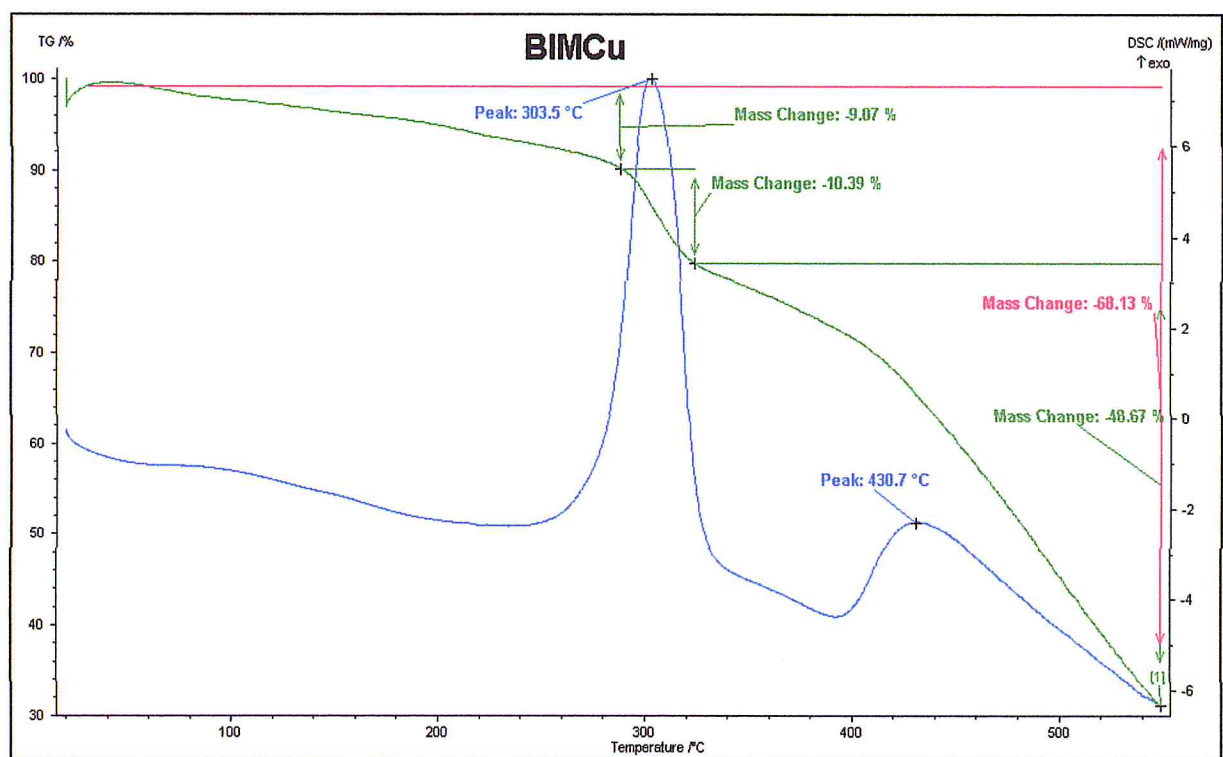


Figure 19 : Spectre ATG/DSC du complexe Cu(II)

IV.7. Analyse par spectrophotométrie d'infrarouge (IR) :

L'utilisation de la technique IR dans les complexes donne des informations intéressantes car elle permet de savoir s'il y a complexation ou non, par comparaison avec le spectre de ligand libre. En effet, s'il y a complexation on observe un déplacement de certaines bandes par rapport à celles du ligand et apparition de nouvelles bandes de faibles intensités vers 778 et 400 cm^{-1} , indiquant que la coordination des ligands s'est effectuée avec le cation métallique [141].

a. L'étude de spectre du ligand BIM :

Le spectre (IR) du BIM (figure 20) présente :

- Une bande d'absorption de forte intensité située vers 3479 cm^{-1} caractéristique du OH phénolique.
- La vibration d'élongation de l'amine secondaire (NH) du noyau indolique, de forte intensité apparaît vers 3370 cm^{-1} .
- Deux bandes fines de vibration d'élongation (faible) situées à 3048 et 3014 cm^{-1} indiquent les (CH) aromatiques.
- Une bande de très faible intensité située à 2842 cm^{-1} est caractéristique du groupe méthoxy (CH_3O) aromatique.
- Une bande d'absorption d'intensité moyenne située vers 1254 cm^{-1} caractéristique à C-O.
- Les absorptions enregistrées vers 1610 , 1549 , 1512 , 1457 et 750 cm^{-1} correspondent à la vibration d'élongation (C=C) aromatiques.

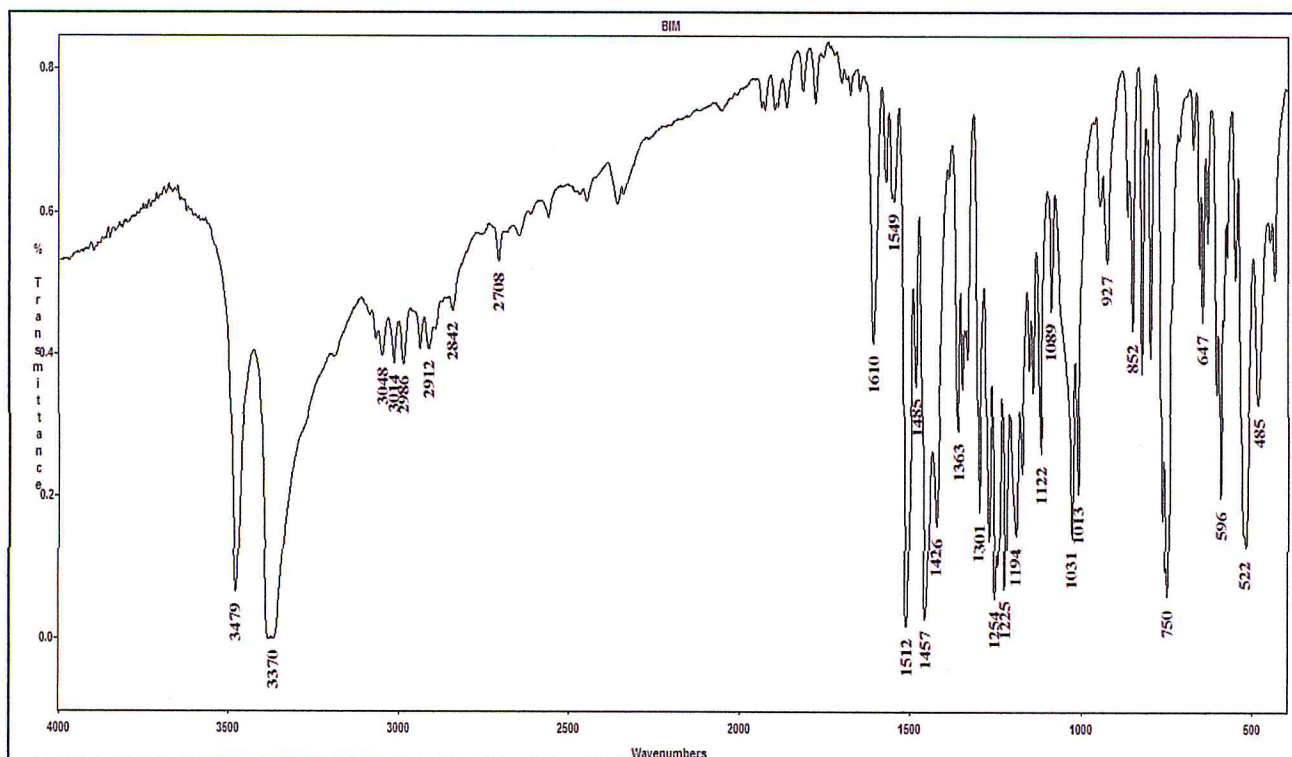


Figure 20 : Spectre IR de BIM

b. Spectres IR des complexes L-Co(II), L-Ni(II) et L-Cu(II) :

L'examen des spectres IR des complexes en comparaison avec celle de ligand correspondants a permis de relever les points suivants :

Dans le cas des complexes (figure 21, 22 et 23), on constate de légères variations dans les déplacements et les intensités provoquées par les différents ions métalliques (II) par rapport au spectre IR du ligand BIM.

Le spectre IR du ligand a montré un pic intense à 3479cm^{-1} qui est attribué à $\nu(\text{OH})$ vibration. Dans le cas des complexes de Co(II), Ni (II) et Cu (II), on constate large bande caractéristique d'une vibration d'élongation de OH de l'eau qui s'étend de $\sim 3500\text{-}3117\text{ cm}^{-1}$ et qu'il est très difficile de faire des attributions des OH phénoliques et des NH indoliques dans cette région. Cette large bande indique la présence de l'eau dans les complexes. En d'autre terme, les complexes cristallisent avec $n\text{H}_2\text{O}$.

La vibration $\nu(\text{CH})$ aromatique se situe à 3048 et 3014 cm^{-1} pour le ligand, elle est déplacée à 3098 et 3023 cm^{-1} dans le complexe Co(II), et à 3100 et 2970cm^{-1} dans le

complexe Cu(II). La même bande de faible intensité $\nu(\text{CH})$ est apparu à 3098 et 3024 cm^{-1} dans le spectre de complexe Ni(II).

Le spectre infrarouge de ligand montre l'existence d'une bande d'absorption à 2842 cm^{-1} attribuée à la vibration $\nu(\text{CH}_3\text{O})$ aromatique. Dans les différents complexes elle est légèrement déplacée vers de faibles nombres d'onde. Elle est observée à 2838 cm^{-1} dans le spectre du complexe Co(II) et Cu(II) et à 2837 cm^{-1} dans le spectre du complexe Ni(II).

Une bande d'absorption est observée dans le spectre du ligand vers 1254 cm^{-1} correspond à la vibration de C-O. Cette bande apparaisse dans les différents complexes Co(II), Ni(II) et Cu(II) vers 1232, 1225 et 1232 cm^{-1} respectivement.

Cinq bandes d'absorption sont observées aux environs de 1610, 1549, 1512, 1457 et 750 cm^{-1} dans le spectre du ligand, elles correspondent aux bandes de vibration d'élongation de la liaison C=C. Après complexation ces cinq bandes apparaissent dans les différents complexes vers 1614, 1586, 1513, 1457 et 784 cm^{-1} pour le complexe Co(II), vers 1615, 1588, 1513, 1458 et 751 cm^{-1} pour le Cu(II) et vers 1616, 1591, 1518, 1457 et 751 cm^{-1} pour Ni(II).

Par ailleurs, Les spectres de tous les complexes montrent des nouvelles bandes de faibles intensités très caractéristiques dans la région (499-423 cm^{-1}) et (507-502 cm^{-1}) qui sont absentes dans le spectre de ligand libre. Ces bandes sont dues aux vibrations d'allongement de la liaison M-Cl et M-O respectivement [142,143].

Les principales bandes d'absorption IR(en cm^{-1}) de ligand et ces complexes sont représentées dans le tableau 8.

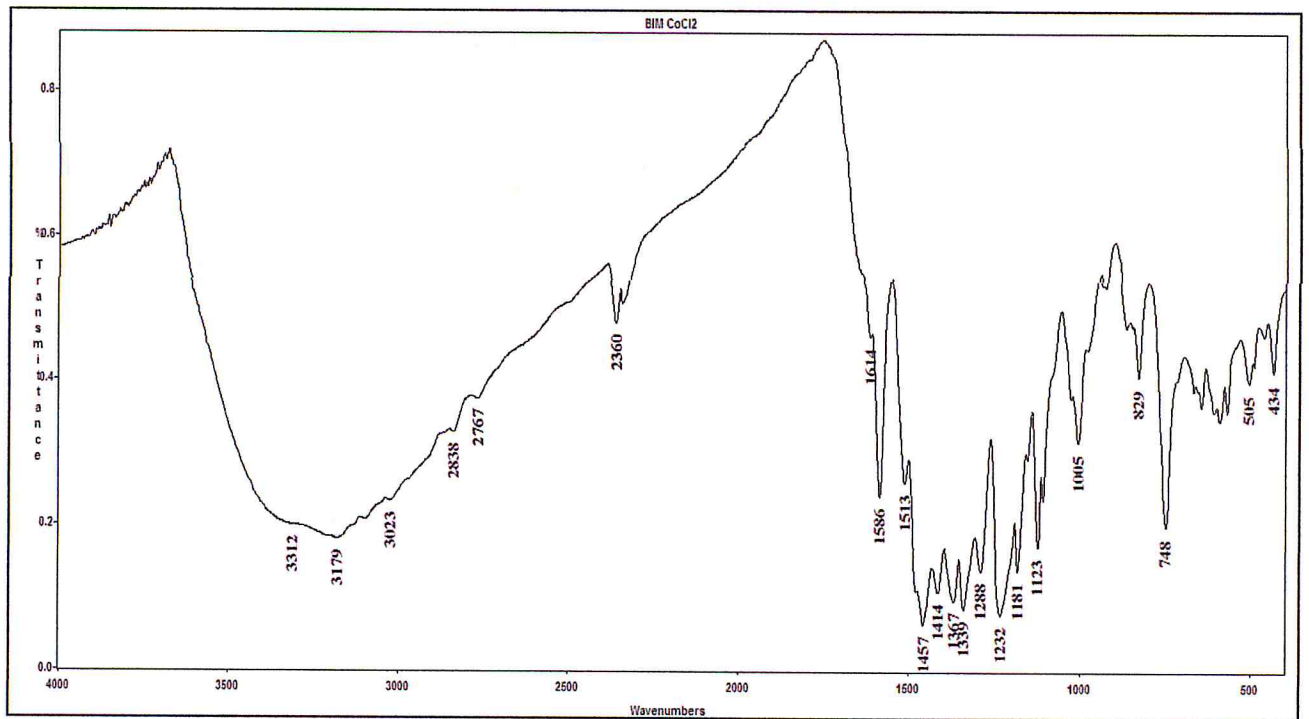


Figure 21 : Spectre IR du complexe Co(II)

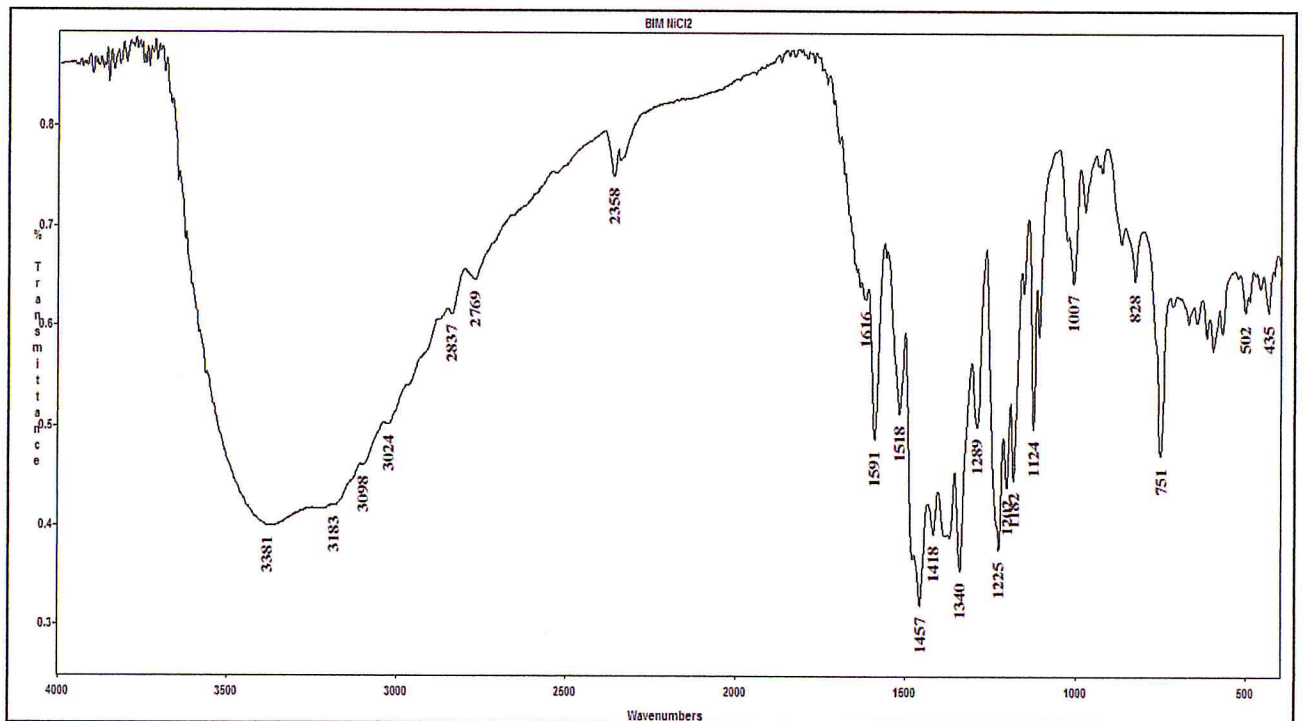


Figure 22 : Spectre IR du complexe Ni(II)

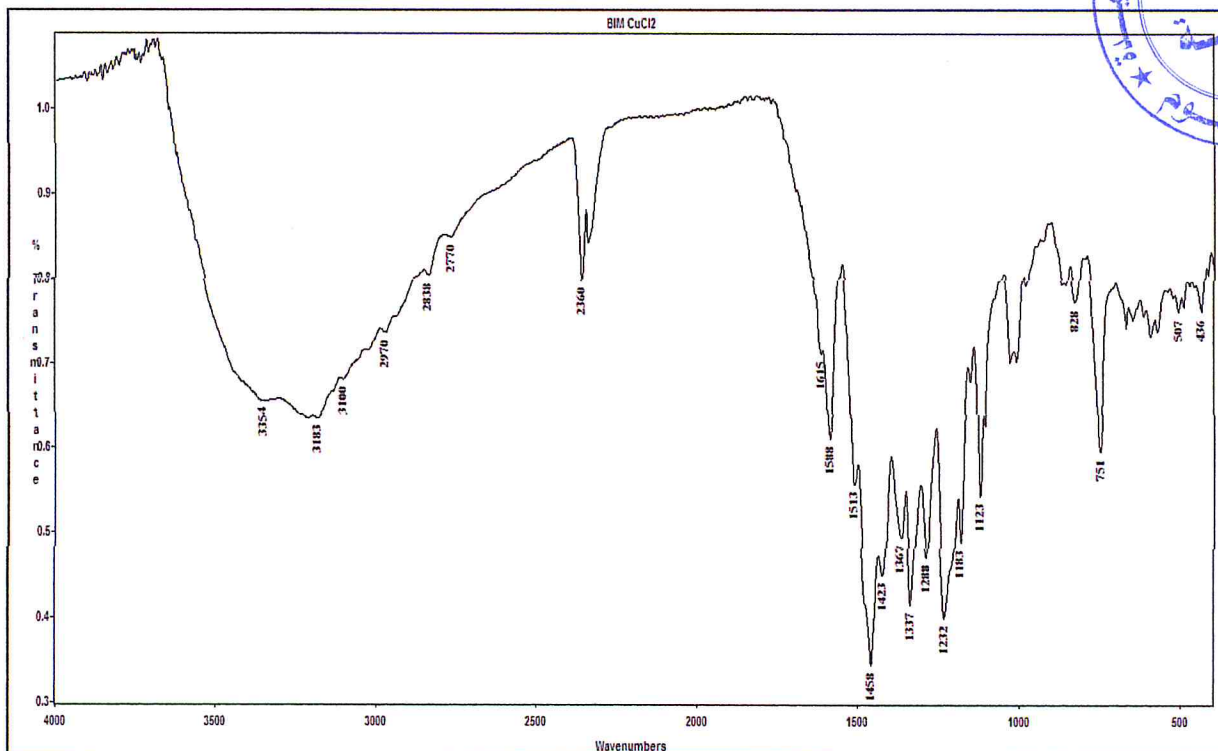


Figure 23 : Spectre IR du complexe Cu(II)

Tableau 8 : Les bandes d'absorption de spectre IR (cm^{-1}) du ligand et leurs complexes

F : Fort, m : moyenne, f : faible et tf : très faible. *Présence de H_2O

Composé	νOH	$\nu\text{N-H}$	$\nu\text{C-H}$	$\nu\text{CH}_3\text{O}$	$\nu\text{C}=\text{C}$	$\nu\text{C-O}$	M-O	$\nu\text{M-Cl}$
L	3479 (F)	3370 (F)	3048(f) et 3014 (f)	2842 (f)	1610(m), 1549(tf), 1512 (F), 1457(F) et 750(m)	1254(f)	-	-
L-Co(II)	3500-3117*		3098(f) et 3023(f)	2838 (f)	1614(tf), 1586(m), 1513(f), 1457(f) et 784(m)	1232(f)	505 (tf)	434(tf)
L-Cu(II)	3500-3117*		3100-2970(f)	2838(f)	1615(tf), 1588(f), 1513(f), 1458(f) et 751(m)	1232(f)	507(tf)	436(tf)
L-Ni(II)	3500-3117*		3098-3024(f)	2837(f)	1616(tf), 1591(m), 1518(f), 1457(f) et 751(m)	1225(f)	502 (tf)	435(tf)

IV.9. Analyse conductimétrique :

Les données du tableau 9 montrent que les valeurs de conductance molaires des complexes Co (II), Ni (II) et Cu (II) obtenus sont relativement faibles de l'ordre de 23~38 S.cm².mole⁻¹, indiquant la nature non-électrolyte de ces complexes. [144, 145].

IV.10. Analyse par spectrophotométrie d'ultraviolet-visible (UV-vis) :

Les informations à propos de la symétrie locale de l'ion métallique sont obtenues par comparaison du spectre de ligand seul avec ces spectres après complexation.

Le spectre d'absorption électronique de ligand (figure 24) présente une seule bande dans le domaine de l'ultraviolet à 284nm caractéristique de la transition $\pi \rightarrow \pi^*$.

Les spectres d'absorption des complexes présentent des bandes très intenses dans l'UV (figures : 25, 26 et 27) :

Dans le domaine de l'ultraviolet, tous les spectres électroniques des complexes de Co(II), Cu(II) et Ni(II) présentent une bande d'absorption intense située aux alentours de 282nm et un épaulement vers 328nm et observer seulement dans le spectre du complexe Ni(II). Ces bandes dans les complexes pourraient être associées respectivement aux transitions électroniques intra-ligand $\pi \rightarrow \pi^*$ et de transfert de charge ligand-métal [146].

Les spectres électroniques d'absorption des complexes synthétisés présentent une large bande se trouvant dans le visible. Elle est située autour de 508nm qui est attribuée à la transition d-d* [147], ces transitions sont liées à la structure des complexes.

Ces transitions correspondent ainsi à :

- Le complexe Co(II) présente une bande à 19841cm⁻¹, affectée à la transition $^4T_{1g} \rightarrow ^4T_{1g}$ qui est caractéristique d'une géométrie octaédrique des complexes de cobalt(II) [148,149].
- Le complexe Cu(II) présente aussi une large bande autour de 19685 cm⁻¹ renfermant la transition $^2B_{1g} \rightarrow ^2A_{1g}$. Cette transition est caractéristique d'une géométrie octaédrique [149, 150].
- Pour le complexe de Ni(II) la bande observée à 19685cm⁻¹ attribuée à la transition $^3A_{2g} \rightarrow ^3T_{1g}$ suggère la géométrie octaédrique [149, 151].

Les valeurs des longueurs et des nombres d'ondes ainsi que les transitions électroniques qui leurs sont associées sont représentées dans le tableau 9.

Composé	λ (nm)	ν (cm ⁻¹)	Transitions électroniques	Λ ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^2$)	Λ (S $\cdot\text{cm}^2\cdot\text{mole}^{-1}$)
L	284	35211	$\pi \rightarrow \pi^*$	-	-
L-Co	282	35460	$\pi \rightarrow \pi^*$	42.7	38.46
	504	19841	${}^4\text{T}_{1g} \rightarrow {}^4\text{T}_{1g}$		
L-Ni	276	36231	$\pi \rightarrow \pi^*$	26.9	24.33
	328	30.487	TCLM		
	508	19685	${}^3\text{A}_{2g} \rightarrow {}^3\text{T}_{1g}$		
L-Cu	278	35971	$\pi \rightarrow \pi^*$	25.9	23.33
	508	19685	${}^2\text{B}_{1g} \rightarrow {}^2\text{A}_{1g}$		

ν : Nombre d'onde exprimé en cm⁻¹.

λ : Longueur d'onde exprimé en nm.

TCLM : Transfert de charge ligand-métal.

Tableau 9 : Résultats des spectres d'absorption électroniques et de l'analyse conductimétrique du ligand et ses complexes.

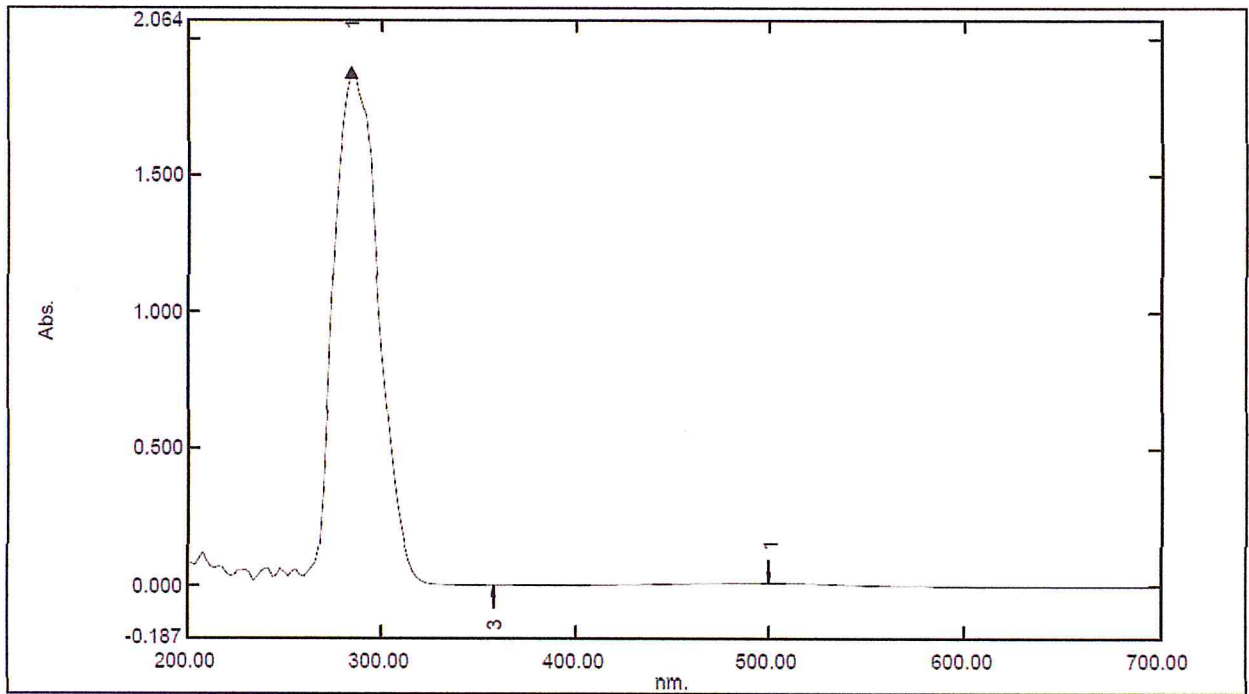


Figure 24 : Spectre électronique d'absorption du ligand

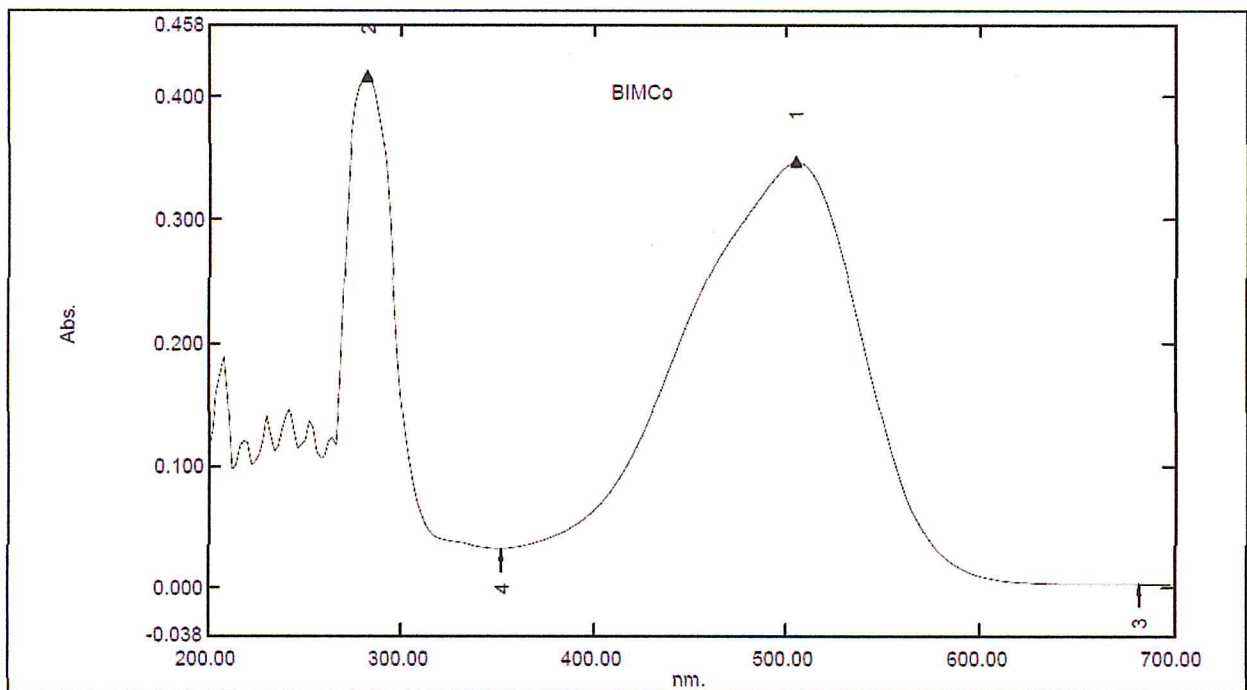


Figure 25 : Spectre électronique d'absorption du complexe Co(II)

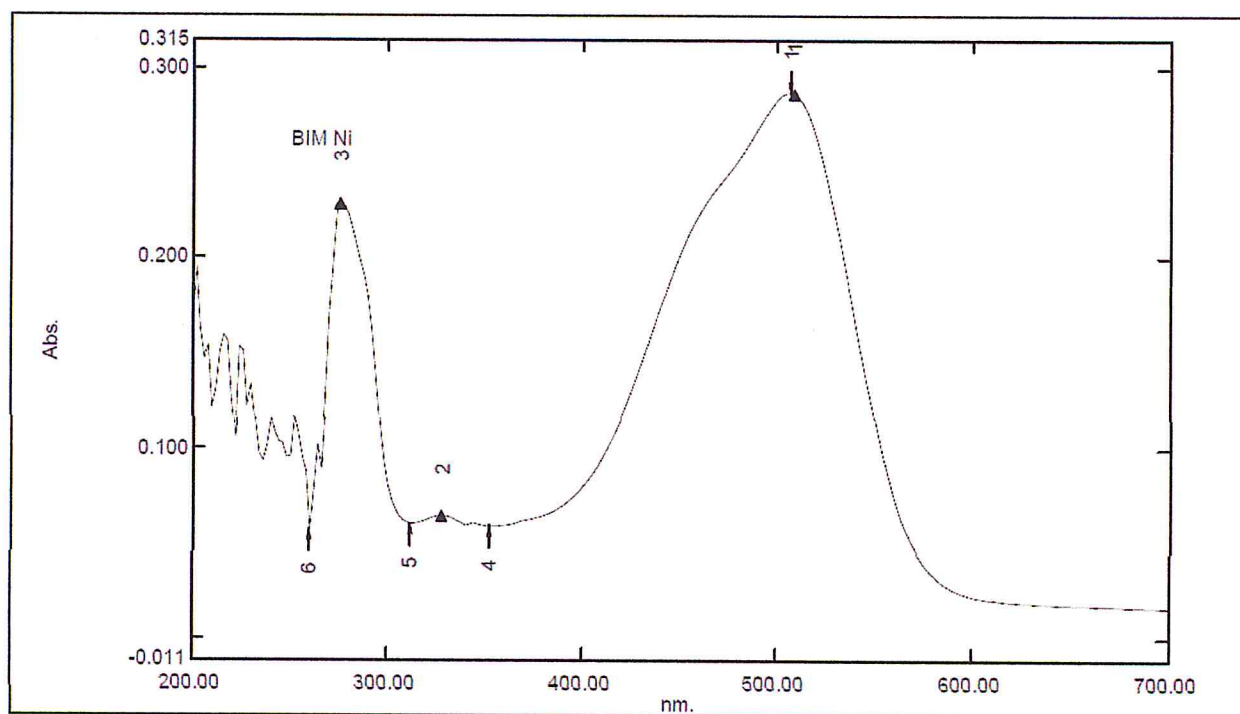


Figure 26 : Spectre électronique d'absorption du complexe Ni(II)

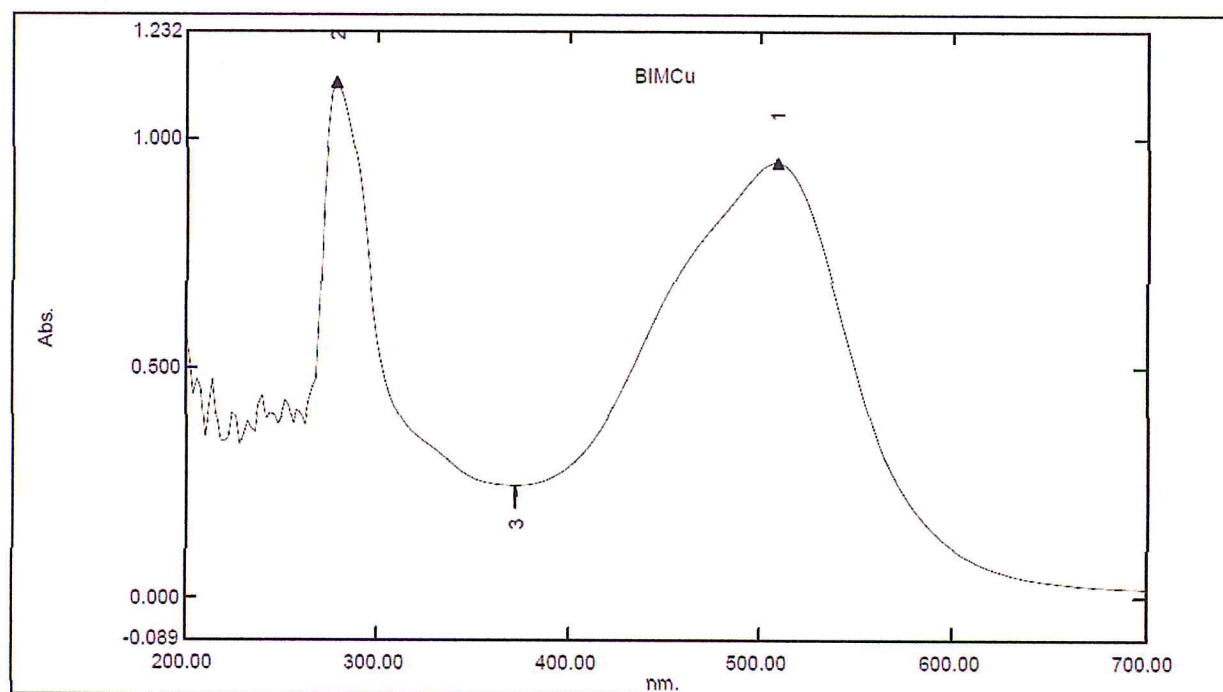


Figure 27 : Spectre électronique d'absorption du complexe Cu(II)

IV.11. Les structures suggérées aux complexes :

A partir des données spectroscopiques (UV-Vis, IR et RMN, analyse thermique et la conductivité), nous avons assai de proposer une structure géométrie octaédrique pour les trois complexes.

Cependant pour lever toute ambiguïté une analyse des complexes par RX est indispensable.

V. Etude des activités biologiques :

V.1. L'étude du pouvoir antibactérien :

Les tests antibactériens ont pour but de savoir si les composés suivants : ligand BIM, L-Co(II), L-Ni(II) et L-Cu(II) présentent un effet antibactérien vis-à-vis de différentes bactéries testés.

L'activité antibactérienne du ligand et ses complexes métalliques synthétisés a été déterminée vis-à-vis les cinq bactéries suivants : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermdis* et *Bacillus subtilis*, par la méthode de diffusion de disque sur milieu de Mueller-Hinton gélosé.

Le ligand et leurs complexes ont été solubilisés dans du MeOH pour obtenir des concentrations de 100mg/ml et 50 mg/ml.

Cette étude est faite au sein du laboratoire microbien du laboratoire central de centre hôpitalo- universitaire de Frantz-Fanon de Blida.

V.1.1. Principe :

La méthode de diffusion est très utilisée en microbiologie, repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide.

L'effet antibactérien du produit sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre de cette dernière, la souche du microorganisme sera qualifiée comme sensible, intermédiaire ou résistante.

V.1.2. Provenance des germes étudiés :

Le tableau suivant représente le code et la provenance des différentes souches microbiennes utilisées dans notre étude.

Tableau 10 : Provenance des germes étudiés

Souches utilisées	Code de la souche	Provenance
Bactéries		
Bactéries à Gram (+)		
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 663	Laboratoire d'antibiothérapie et d'hygiène de l'institut Pasteur d'Algérie à Dely Brahim
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 43300	
Bactéries à Gram (-)		Laboratoire d'antibiothérapie et d'hygiène de l'institut Pasteur d'Algérie à Dely Brahim
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	

63V.1.3. Protocole expérimental :

L'activité inhibitrice du ligand et des complexes a été déterminée selon le procédé indiqué précédemment dans la littérature, avec de légères modifications [152].

1. Repiquage des espèces bactériennes :

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées dans le milieu de gélose, puis incubées pendant 24h à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

2. Préparation des milieux de culture :

Les milieux de culture sélectifs pour chaque souche sont mis en surfusion et sont coulés dans des boîtes de pétri à raison de 20ml par boîte.

3. Préparation des pré-cultures :

La concentration bactérienne des inoculums est évaluée par la méthode des dilutions et elle est exprimée par la mesure de l'opacité à l'aide d'un Mc Farland densitomètre qui doit être équivalent à 0,5 Mc pour les bactéries.

L'inoculum est ajusté, soit en ajoutant des colonies s'il est trop faible ou de l'eau physiologique stérile, s'il est trop fort.

A partir d'une culture pure et jeune de 18h pour les bactéries, les suspensions sont réalisées par le prélèvement de quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

Les suspensions sont émulsionnées dans un tube contenant 6 ml d'eau physiologique et homogénéisées par agitation au vortex.

4. Ensemencement :

L'ensemencement est fait à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans la suspension microbienne. L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées, répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

L'écouvillon est rechargé à chaque fois dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.

5. Dépôt des disques :

Les disques de 9mm de diamètre, sont imbibés par différentes concentrations des solutions de chaque composé. Le volume pris de chaque concentration est de l'ordre de 20 μ l.

Les disques absorbants sont stérilisés et imprégnés d'une quantité de 20 μ l de solution du test et sont déposés sur la surface de gélose inoculée avec les souches testées. Les boîtes de pétri sont incubées à l'étuve pendant 24h à 37°C.

Pour permettre une bonne diffusion de ces composés dans le milieu, et inhiber momentanément la croissance du germe testé, les boîtes sont placées à 4°C pendant trois heures, puis incubées à 30°C pendant 24h.

6. La lecture :

Le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné a été déterminé en mesurant à l'aide d'un pied à coulisse, déterminé par les différentes concentrations des différents composés autour des disques.

V.1.4. Résultats et discussion :

Nous avons testé l'effet antibactérien du ligand et des complexes vis-à-vis de cinq bactéries via la méthode de diffusion sur le milieu solide. Tous les composés testés ont démontré une activité biologique remarquable contre les différents types de bactéries à Gram positifs et négatifs.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 11. Il est à noter que les complexes ont une activité plus élevée que celle du ligand BIM libre correspondante contre les mêmes bactéries, par conséquent, on peut conclure que la complexation augmente l'activité antibactérienne. D'autre part, la sensibilité de BIM est presque la même pour les cinq bactéries, tandis que ses complexes montrent quelques différences.

D'une manière générale, les complexes préparés montrent une activité antibactérienne envers la bactérie à Gram positif *S. aureus*, en présentant une inhibition plus importante que celle des autres types de bactéries. Le complexe du cobalt présente l'activité la plus importante par rapport à d'autres complexes, vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées. Ce résultat est peut être liée à la stabilité du complexe et au couplage avec le ligand. L'augmentation de l'activité antimicrobienne et peut être dû également à la solubilité, la conductivité et la longueur de la liaison entre le métal et le ligand [151].

Au cours de notre recherche bibliographique, nous n'avons trouvé aucune étude réalisée sur les complexes contre la souche bactérienne *S.epidermdis*. Les résultats obtenus sont intéressants surtout par rapport au complexe Co(II).

Tableau 11 : Les valeurs de diamètre des zones d'inhibition (mm) de ligand et leurs complexes relatifs aux souches bactériennes testées.

Composé	Diamètre de zone d'inhibition en mm, la concentration en mg/ml									
	<i>B.subtilis</i>		<i>E.Coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>S.aureus</i>		<i>S.epidermdis</i>	
	100	50	100	50	100	50	100	50	100	50
L	12	11	10	-	10	-	13	12	11	10
L-Co(II)	25	21	27	23	17	13	30	26	17	15
L- Ni(II)	19	10	13	9,5	13	-	17	11	15	-
L- Cu(II)	16	14	-	-	-	-	17	14	-	-

Les résultats de l'activité antimicrobienne du ligand et des complexes Co(II), Ni(II) et Cu(II) obtenus par la mesure des diamètres d'inhibition de la croissance des microorganismes sont illustrés graphiquement par les figures 29, 31, 33 et 35.

Les figures 30, 32, 34 et 36 montrent les photographies des résultats obtenus de l'activité antibactérienne des composés testés contre les cinq souches bactériennes après 24 h d'incubation à 37°C.

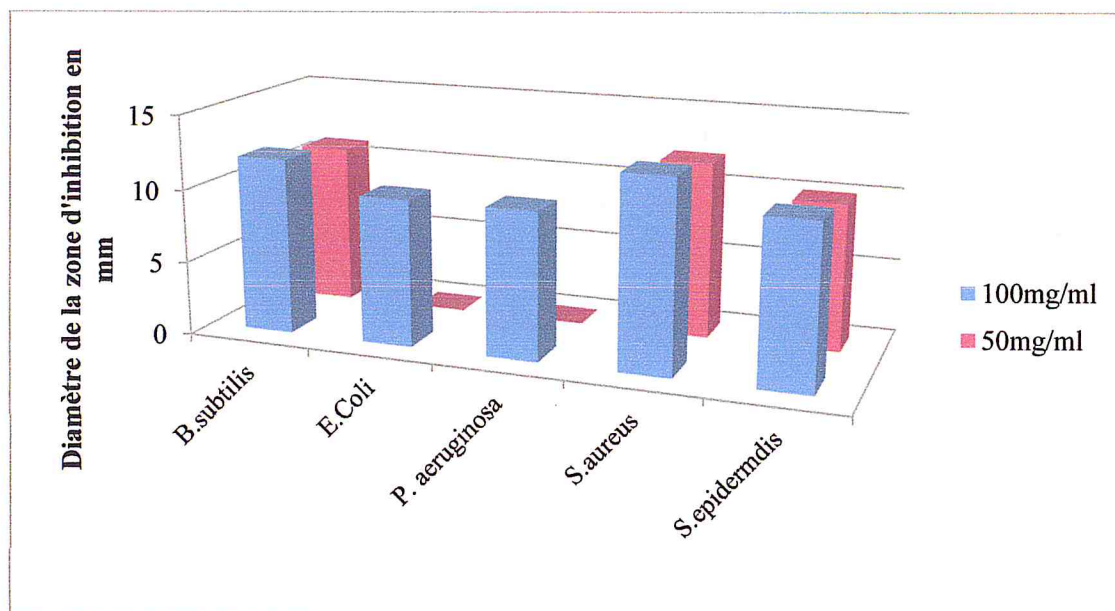
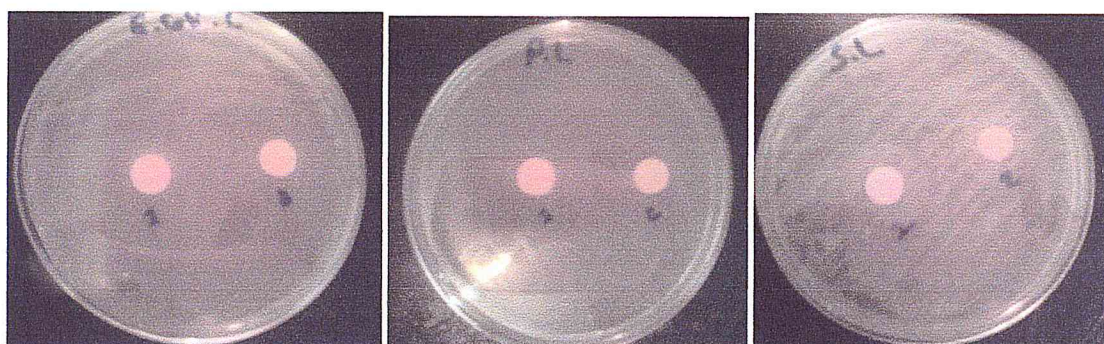


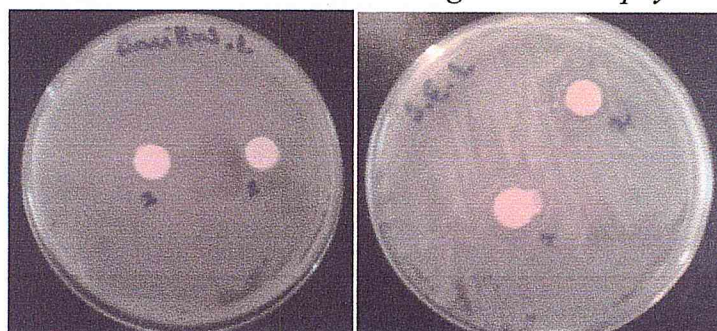
Figure 29 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de ligand relatif aux différentes souches bactériennes



Escherichia coli

Pseudomonas aeruginosa

Staphylococcus epidermidis



Bacillus subtilis

Staphylococcus aureus

Figure 30 : Zones d'inhibition de ligand testé pour les cinq souches

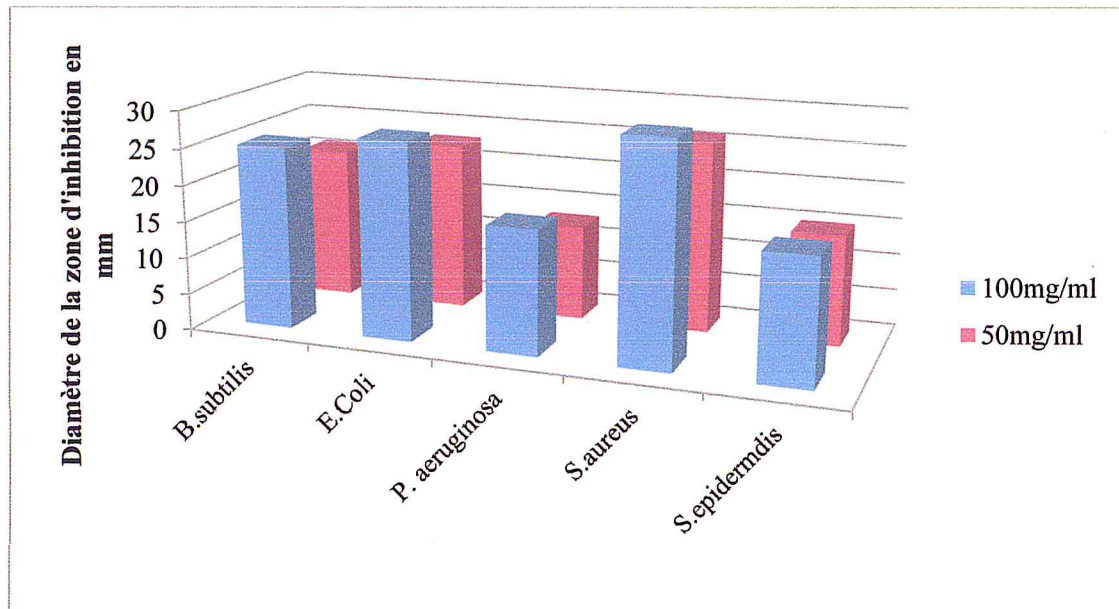


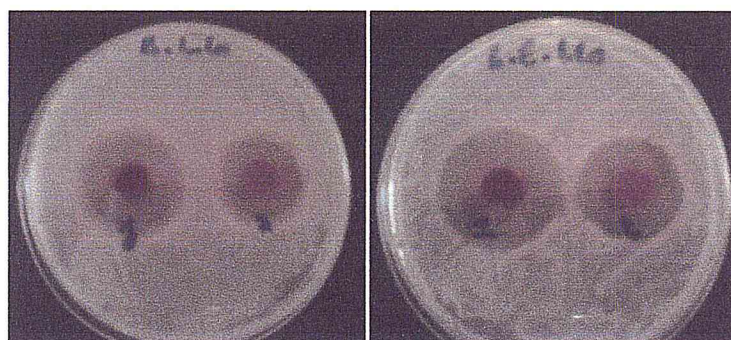
Figure 31 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de complexe Co(II) relatif aux différentes souches bactériennes



Escherichia coli

Pseudomonas aeruginosa

Staphylococcus epidermdis



Bacillus subtilis

Staphylococcus aureus

Figure 32 : Zones d'inhibition de complexe L-Co(II) testé pour les cinq souches

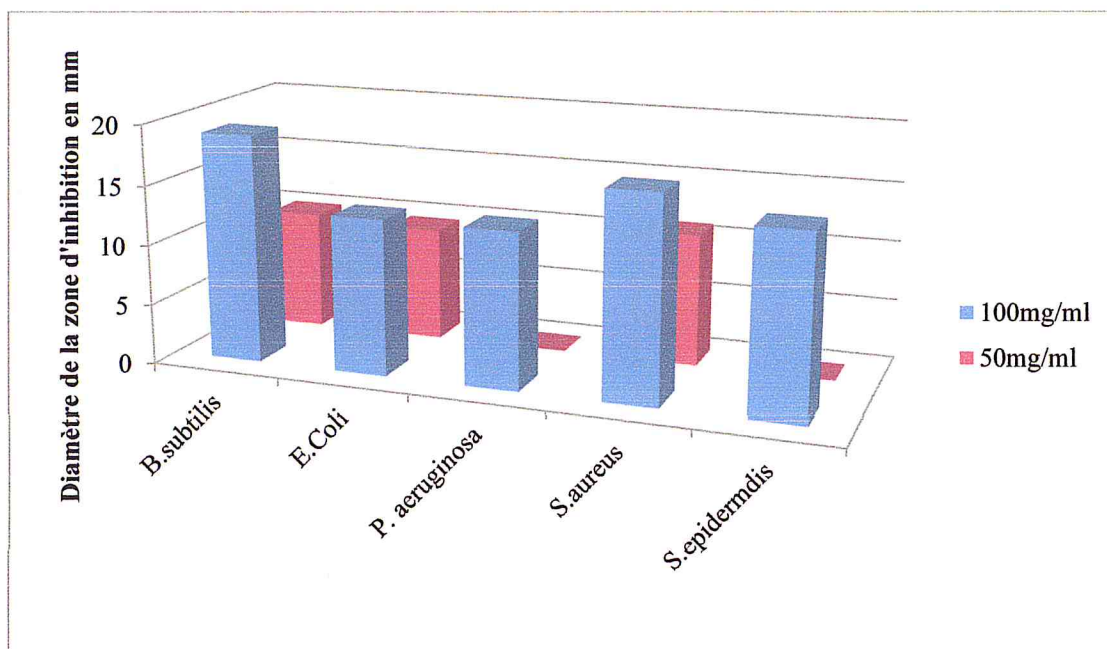


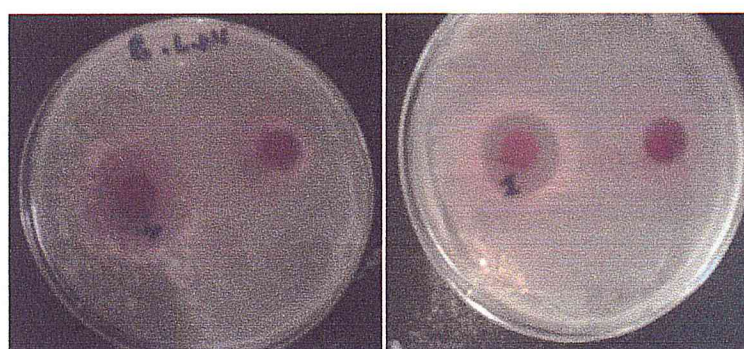
Figure 33 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de complexe L-Ni(II) relatif aux différentes souches bactériennes



Escherichia coli

Pseudomonas aeruginosa

Staphylococcus epidermidis



Bacillus subtilis

Staphylococcus aureus

Figure 34 : Photographe des zones d'inhibition de complexe L-Ni(II) testé pour les cinq souches

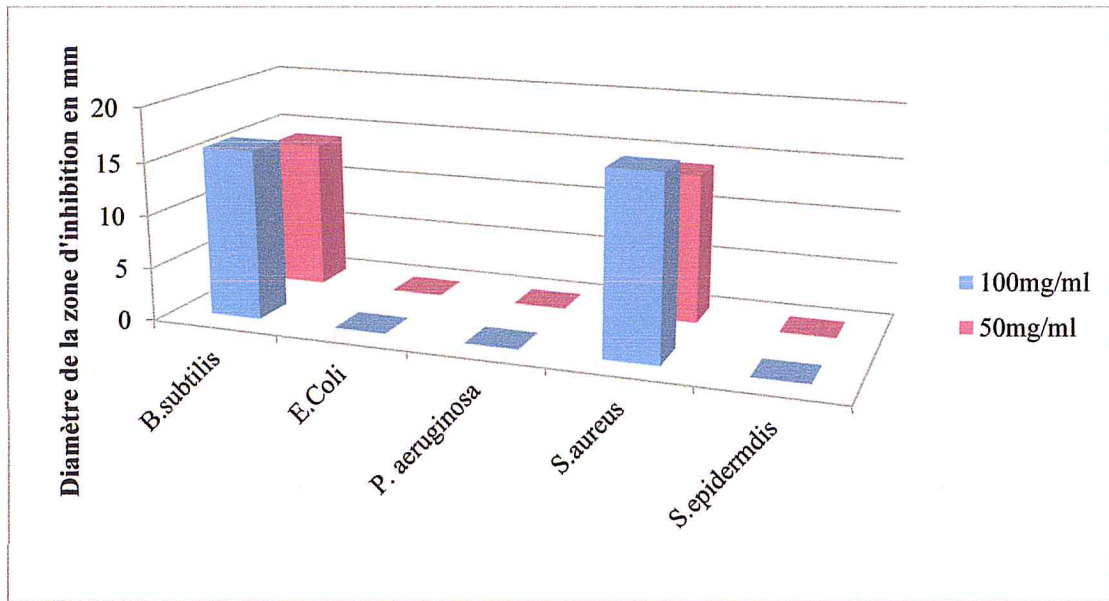
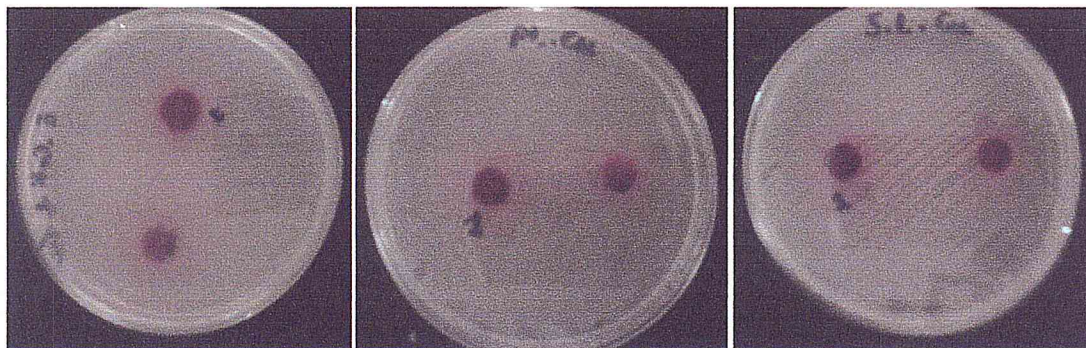


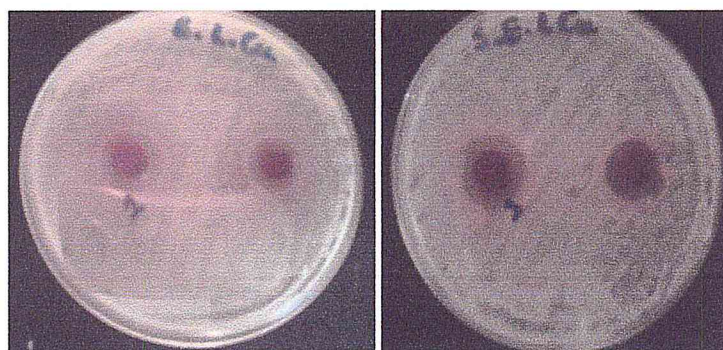
Figure 35 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition de complexe L-Cu(II) relatif aux différentes souches bactériennes



Escherichia coli

Pseudomonas aeruginosa

Staphylococcus epidermidis



Bacillus subtilis

Staphylococcus aureus

Figure 36 : photographie des zones d'inhibition de complexe L-Cu(II) testé pour les cinq souches

L'estimation de l'activité antibactérienne est basée sur une échelle de mesure, ils ont classé le pouvoir antibactérien, en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne en quatre classes :

- Fortement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition ≥ 28 mm.
- Modérément inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 16 et 28 mm.
- L'égerment inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 10 et 16 mm.
- Non inhibitrice lorsque le diamètre le diamètre de la zone d'inhibition < 10 mm.

Selon l'échelle de mesure de l'activité antibactérienne on constate que :

La figure 29 montre que le ligand BIM présente des diamètres d'inhibition inférieurs à 14mm. Ce qui nous amène à dire que notre ligand a un faible effet inhibiteur vis-à-vis de ces bactéries et par conséquence les souches *E.Coli* et *P. aeruginosa* sont moins sensibles au ligand par rapport aux autres souches.

D'après l'histogramme représenté par la figure 31, à la concentration 100mg/ml, le complexe L-Co(II) a une action bactéricide puissante sur la souche *S.aureus*. Contrairement à *B.subtilis* et *E.Coli* qui se sont avérées modérément résistantes. Cependant les souches *P. aeruginosa* et *S.epidermdis* apparaissent légèrement résistantes. A la concentration 50mg/ml, ce complexe est modérément inhibiteur vis-à-vis de *B.subtilis*, *E.Coli* et *S.aureus* avec un diamètre qui varie entre 21 et 26 mm. Par contre les souches *P. aeruginosa* et *S.epidermdis* ont des diamètres inférieurs à 16 mm, ce qui indique que ce complexe présente une légère inhibition.

Le complexe L-Ni(II), à la concentration de 100 mg/ml est modérément inhibiteur vis-à-vis de *B.subtilis* et *S.aureus*, présentant des zones d'inhibition de 19 mm et 17 mm respectivement, et a une action légèrement inhibitrice contre les bactéries *E.Coli*, *P. aeruginosa* et *S.epidermdis*. A la concentration de 50 mg/ml, il présente une faible activité contre les bactéries *B.subtilis*, *E.Coli* et *S.aureus*, par contre son effet antibactérien est nul contre les bactéries *P. aeruginosa* et *S.epidermdis*.

Les résultats présentés dans la figure 35 révèlent que le complexe L-Cu(II) exerce un effet antibactérien considérable seulement contre *B.subtilis* et *S.aureus* avec des zones

d'inhibition de 16 mm et 17 mm respectivement à la concentration de 100mg/ml. Tandis qu'à la concentration de 50 mg/ml a donné un diamètre moins important de 14 mm vis-à-vis des mêmes souches.

V.2. L'étude du pouvoir antioxydant :

Les méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant peuvent être qualitatives ou quantitatives. Les méthodes qualitatives, utilisées pour repérer l'activité antioxydante des composés, sont relativement peu nombreux et font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants.

Le ligand et leurs complexes sont testés pour leur pouvoir antioxydant selon deux méthodes :

V.2.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH :

Le DPPH \cdot (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH \cdot est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH \cdot , qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon (Figure 37) [153].

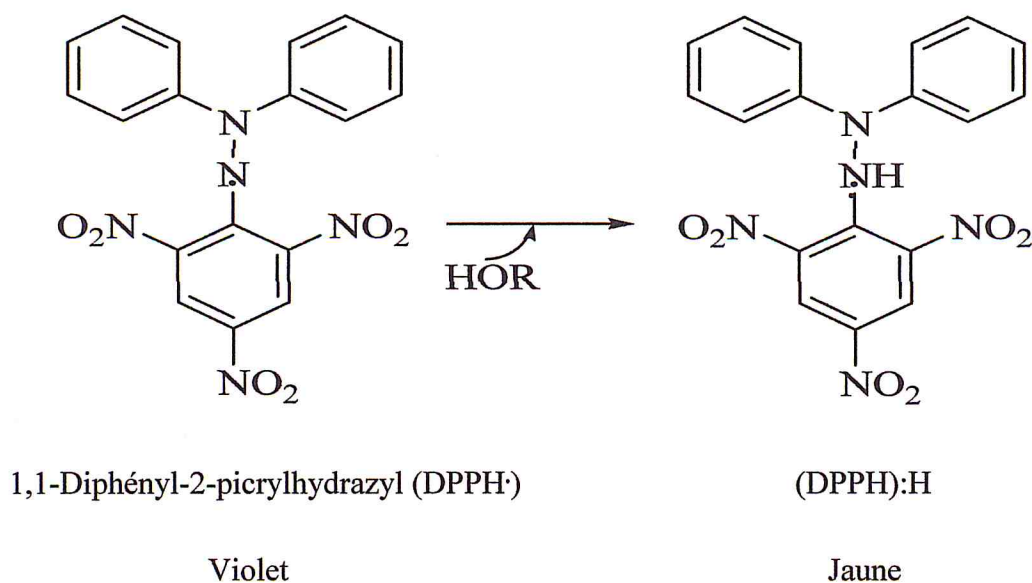


Figure 37 : Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH \cdot

Pour évaluer l'activité antioxydant, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) selon le protocole suivant [154]:

La solution de DPPH est préparée par la solubilisation de 6 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Un volume de 3 ml de différentes concentrations de chaque échantillon est ajouté à 1 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,06 mg/ml) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 3 ml du méthanol avec 1 ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée.

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517nm à l'aide d'une spectrophotométrie de type SHIMADZU UV-1700 après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

Les concentrations du l'antioxydant standard (acide ascorbique), du ligand et des complexes synthétisés sont compris entre 1-50 µg/ml.

Expression des résultats :

Calcul des pourcentages d'inhibitions :

$$\text{D'inhibition I\%} = \frac{(\text{Abs c} - \text{Abs e})}{\text{Abs c}} \times 100$$

Abs c : Absorbance du contrôle

Abs e : Absorbance de l'échantillon testé

Pour chaque échantillon nous avons déterminé la valeur IC₅₀ qui est la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH [155]. Ces IC₅₀ sont déterminées graphiquement par la droite de régression dont l'abscisse représente la concentration des échantillons et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage.

Les résultats peuvent être aussi exprimés en puissance anti-radicalaire [156].

$$ARP = 1 / IC_{50}$$

ARP : Puissance anti radicalaire

IC₅₀ : Concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50% la concentration initiale du radical DPPH.

V.2.2. Test sur CCM par réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl DPPH [157] :

La révélation de la plaque par la solution méthanolique de DPPH est une CCM de criblage qui permet l'obtention de renseignements supplémentaires sur l'activité antioxydante des composés étudiés.

Nous avons déposé nos produits dissous dans MeOH sur des plaques de CCM d'aluminium Al₂O₃ et nous avons utilisé MeOH comme éluant. Le chromatogramme est giclé après séchage avec une solution méthanolique à 0.12 mg/ml de DPPH. Les activités antiradicalaires apparaissent sous formes de spots de couleur jaune-blanc sur un fond violet.

V.2.3. Résultats et discussion :

V.2.3.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH :

Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydante des différents composés synthétisés afin de juger et localiser le composé le plus actif.

Au cours de la réaction d'oxydation nous n'avons observé aucun virage de couleur violet vers le jaune avec les complexes. Par contre, le contrôle positif (acide ascorbique) et le BIM présentent une décoloration vers le jaune.

Notre observation a été confirmée par la mesure de l'absorbance. Le standard (acide ascorbique) et le BIM présentent une diminution de l'absorbance observable. Par ailleurs, tous les complexes étudiés n'ont provoqué aucune diminution de l'absorbance à 517nm à différentes concentrations.

Les résultats trouvés pour cette analyse sont regroupés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Valeurs des absorbances et des pourcentages d'inhibition des composés étudiés

Concentration µg/ml	Absorbance						% d'inhibition	
	Acide ascorbique	L (BIM)	L-Co(II)	L-Cu(II)	L-Ni(II)	Acide ascorbique	L (BIM)	
1	0,481	0,480	0,281	0,276	0,282	26,00	26,15	
3	0,335	0,365	0,380	0,350	0,343	48,46	43,84	
6	0,253	0,276	0,426	0,474	0,493	61,07	57,53	
12	0,170	0,220	0,561	0,544	0,595	73,80	66,15	
25	0,113	0,155	0,672	0,692	0,813	82,60	76,15	
40	0,096	0,134	0,890	0,967	1,137	85,20	79,40	
50	0,086	0,124	1,344	1,593	1,849	86,70	80,92	

Pour explorer les résultats obtenus, la manière la plus commune utilisée par la majorité des auteurs est de tracer les graphes des pourcentages d'inhibition calculés en fonctions des différentes concentrations utilisées pour les différents produits étudiés.

Afin de comparer cette activité antioxydante avec celle de l'acide ascorbique, une courbe d'étalonnage réalisée par ce dernier a été tracée (figure 38).

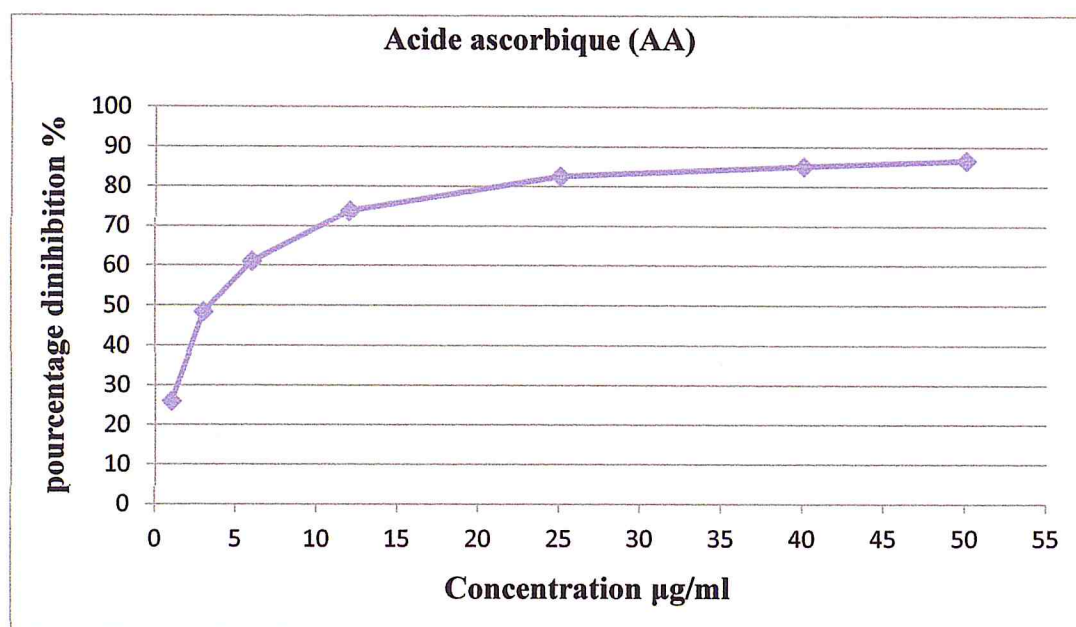


Figure 38 : Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

La figure 39 illustre le résultat du pouvoir antioxydant du ligand BIM par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

Cette figure montre que le ligand BIM présente une bonne activité comme un capteur de radicaux par rapport à l'acide ascorbique avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 80,92% à la concentration 50 µg/ml.

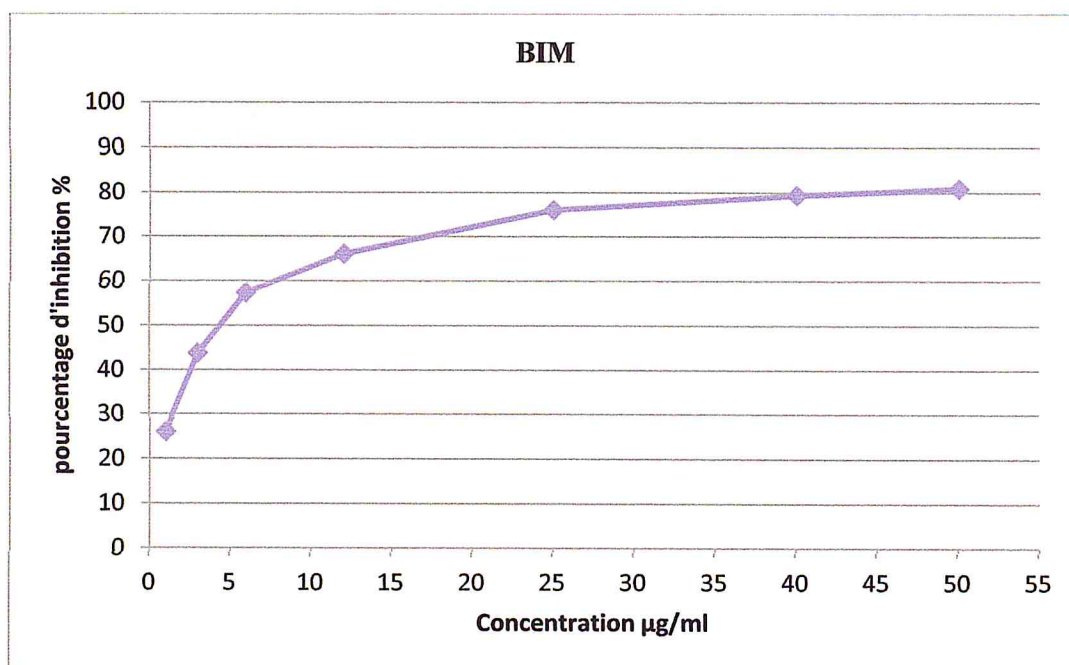


Figure 39 : Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations du BIM

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit deux paramètres :

- La concentration efficace du substrat qui cause la réduction de 50% du DPPH en solution (IC_{50}).
- Le pouvoir antiradicalaire (APR) qui est inversement proportionnel à l' IC_{50} .

La valeur de IC_{50} et APR trouvées pour l'acide ascorbique et le ligand BIM sont représentées dans le tableau 13 et dans la figure 40 sous forme d'histogramme.

Tableau 13 : Valeur de IC_{50} et du pouvoir antiradicalaire (APR) de l'acide ascorbique et du ligand BIM.

Composés	IC_{50} ($\mu\text{.ml}^{-1}$)	APR
Acide ascorbique	3,5	0,285
BIM	4,43	0,225

La capacité antioxydante des différents composés a été déterminée à partir des IC_{50} . Plus la valeur d' IC_{50} est petite, plus l'activité du composé étudié est grande.

A des fins comparatives, un antioxydant standard est utilisé l'acide ascorbique. Il a montré une activité anti-radicalaire très puissante avec IC_{50} de l'ordre de $3,5 \mu\text{g/ml}$ et d'ARP de l'ordre de $0,285$.

En comparant le IC_{50} de ligand BIM par rapport à celle de l'acide ascorbique, nous avons remarqué que le ligand BIM présente une bonne activité anti-radicalaire presque similaire et intéressante par rapport au standard avec une IC_{50} de l'ordre de $4,43 \mu\text{g/ml}$ et un ARP de l'ordre de $0,225$.

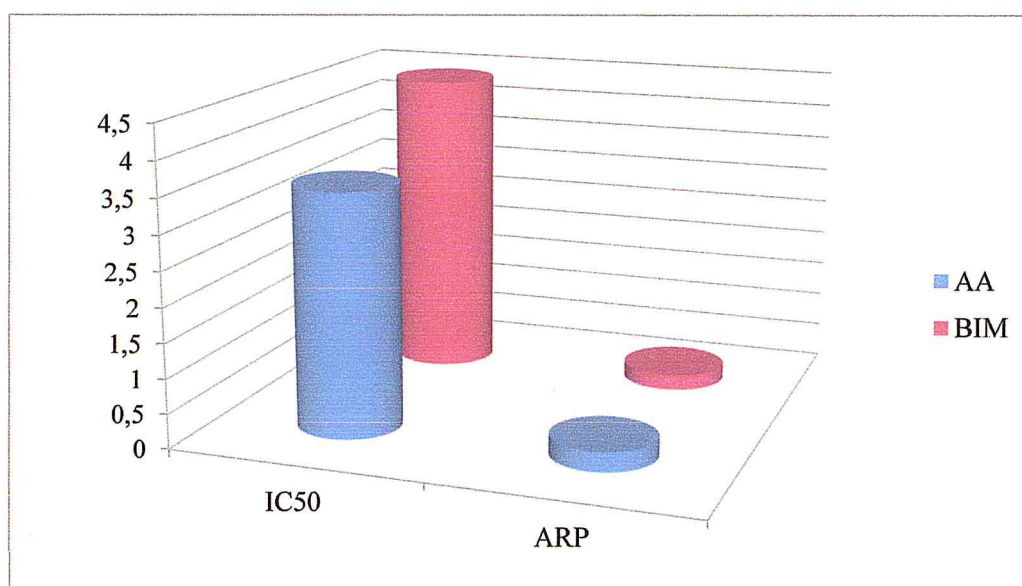


Figure 40 : Les IC_{50} et les pouvoirs antiradicalaires du BIM et du contrôle positif

V.2.3.2. Test sur CCM par réduction du radical 2.2-diphényl-1-picrylhydrazyl DPPH :

Cette méthode est faite seulement pour confirmer nos résultats obtenus par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

Le chromatogramme du ligand et du complexe Co(II), révélés par une solution de DPPH à la concentration de $0,12 \text{ mg/ml}$ dans le méthanol, présente une seule tâche jaune sur un fond violet pour le ligand BIM. C'est un constituant capable de réduire le radical DPPH oxydante.

Tableau 14: Résultats du test antioxydant DPPH sur le ligand et le complexe métallique L-Co(II).

	Composé	R _f
1	L (BIM)	0,45
2	L-Co(II)	-

Seulement le ligand BIM montre une activité antioxydante qui s'est manifestée par une tache jaune sur fond violet à R_f indiqué.

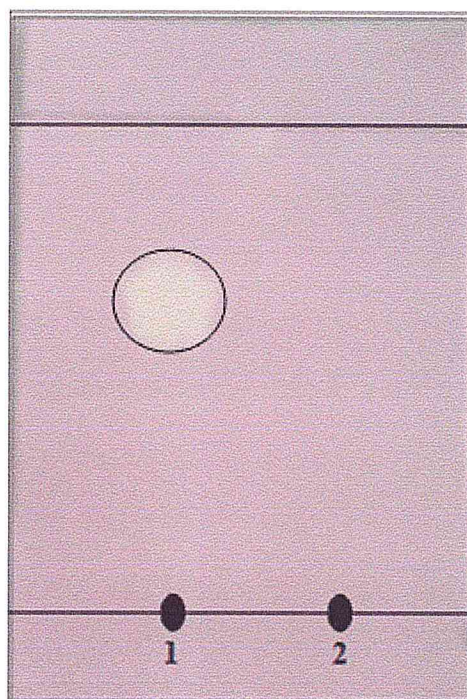


Figure 41: Chromatogramme du BIM et du complexes Co(II) révélé par DPPH

D'après les résultats obtenus par les deux méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant, nous avons constaté que la complexation du BIM est faite au niveau de groupement OH.

Conclusion générale

Au cours de ce travail, nous avons synthétisé des complexes de Co(II), Cu(II) et Ni(II) avec le Bis (indolyl) méthane ayant un motif p-vanilline.

Le ligand BIM et ses complexes synthétisés ont été caractérisés par diverses techniques analyse élémentaire, thermique et conductimétrique ainsi que par RMN, IR et UV-Visible.

Les complexes synthétisés sont solides et stables à température ambiante, ils montrent des couleurs différentes. Leurs points de fusion sont élevés. Les mesures de la conductivité molaire indiquent que tous les complexes sont des non électrolytes.

Les données spectrales ainsi que l'analyse élémentaire ont permis de déterminer la structure du BIM et du L-Co(II).

D'après RMN ^1H , on peut penser que le ligand est coordonné aux cations métalliques (Co(II), Ni(II) et Cu(II)) par OH et OMe phénolique et par NH pour le cation Cu(II).

L'étude par spectrométrie UV-Visible a permis de déterminer le mode de coordination et de proposer un environnement octaédrique pour les complexes formés avec le ligand BIM. Les spectres UV-Visible des différents complexes ont montré qu'ils absorbent tous dans le visible. Elle a permis aussi d'observer les différentes transitions d-d qui sont caractéristiques des complexes à géométrie octaédrique.

Tous fois pour lever toute ambiguïté consternant la structure des complexes une étude aux RX est nécessaire.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage de radical libre DPPH et celle de la CCM par réduction du radical DPPH du ligand BIM et des complexes synthétisés Co(II), Cu(II) et Ni(II) ont montré que seul le ligand BIM possède un pouvoir antioxydant. Les complexes ne provoquent aucune activité.

Le résultat confirme que la complexation se fait au niveau de OH phénolique.

D'autre part, la valeur de IC_{50} et le pouvoir antiradicalaire APR du ligand BIM est respectivement 4,43 $\mu\text{g/ml}$ et 0,225.

La comparaison de ces valeurs avec celle de l'antioxydant standard l'acide ascorbique ($IC_{50} = 3,5 \mu\text{g/ml}$, $APR = 0,225$), nous a permis de déduire que le pouvoir antioxydant du ligand présente une assez bonne activité antiradicalaire.

Les complexes des métaux de transition montrent une activité antibactérienne plus élevée que celle du ligand BIM vis-à-vis des souches à savoir : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* et *Bacillus subtilis*

*Références
bibliographique*

- [1]. R.H. Holm and M. Connor, The stereochemistry of bis-chelate metal (II) complexes. *Prog. Inorg. Chem*, **14**, **1971**, 241-401.
- [2]. R.H. Holm, G.W Evert and A. Chakravorty, Metal Complexes of Schiff Bases and β -Ketoamines. *Prog. Inorg. Chem*, **7**, **1966**, 83-214.
- [3]. S.J. Coles, M.B. Hursthouse, D.G. Kelly, A.J. Toner and N.M. Walker, Halide titanium(IV) Schiff base complexes; fluoride and bromide derivatives and evidence for a new seven-coordinate chloride intermediate. *J. Chem. Soc, DaltonTrans*. **1998**, 3489-3494.
- [4]. H. Miyasaka, H. Ieda, N. Matsumoto, R. Crescenzi and C. Floriani, Assembling Bi-, Tri- and Pentanuclear Complexes into Extended Structures Using a Desolvation Reaction: Synthesis, Structure, and Magnetic Properties of Manganese(III)-Schiff Base-Hexacyanoferrate Polymeric Compounds and Their Derived Extended Structures. *Inorg. Chem*, **37**, **1998**, 255-263.
- [5]. C.O. Bailey, N.A. Fenton and D.E. He, Zinc(II) complexes derived from potentially hexadentate (N_4O_2) acyclic ligands containing pyridinyl and phenolic groups. *J. Chem. Soc. Dalton Trans*, **1997**, 161-166.
- [6]. M. Kato and Y. Muto, Factors affecting the magnetic properties of dimeric copper(II) complexes. *Coord. Chem. Rev*, **92**, **1988**, 45-83.
- [7]. T. Matsushita, H. Asada, T. Nakamura, S. Negoro, Y. Yaguchi, S. Sugino and M. Fujiwara, Abstracts Poster Presentations (U). *J. Inorg. Biochem*, **86**, **2001**, 321-330.
- [8]. R. Iglesias, M. Marcos, J.L. Serano and T. Sierra, Ferroelectric Behavior of Chiral Bis(salicylideneaniline) Copper(II), Vanadium(IV), and Palladium(II) Liquid Crystals. *Chem. Mater*, **8**, **1996**, 2611-2617.
- [9]. M. Cano, L. Oriol, M. Pinol and J.L. Serano, Photopolymerization of Reactive Mesogenic Schiff Bases and Related Metallomesogens. *Chem. Mater*, **11**, **1999**, 94-100.
- [10]. A.A. Baba, A. Folahan, F.A. Adekola. *Hydrometallurgy*, **109**, **2011**, 187.
- [11]. Y. Zhang, X. Yu, X. Li, *Hydrometallurgy*, **109**, **2011**, 211.
- [12]. A.J. Manhique, W.W. Focke, C. Madivate, *Hydrometallurgy*, **109**, **2011**, 230.

- [13]. L. Hartinger, Handbook of effluent treatment and recycling for the metal finishing industry. 2nd Edition, ISBN 0-904477-14-2, *Finishing publications LTD*. 1994.
- [14]. A. Prakash, B.K. Singh, N. Bhojak and D. Adhikari, Synthesis and characterization of bioactive zinc(II) and cadmium(II) complexes with new Schiff bases derived from 4-nitrobenzaldehyde and acetophenone with ethylenediamine. *Spectrochim. Acta*, 76, 2010, 356–362.
- [15]. S.K. Bharti, G. Nath, R. Tilak and S.K. Singh, Synthesis, anti-bacterial and anti-fungal activities of some novel Schiff bases containing 2,4-disubstituted thiazole ring. *Eur. J. Med. Chem*, 45, 2010, 651–660.
- [16]. B.G. Kalagouda, S.P. Manjula, S.V. Ramesh, V.S. ashmi and A.P. Siddappa, X-ray crystal structure of the *N*-(2-hydroxy-1-naphthalidene)phenylglycine Schiff base. Synthesis and characterization of its transition metal complexes. *Trans. Met. Chem*, 31, 2006, 580–585.
- [17]. A. Cukurovali, İ. Yilmaz and S. Kirbag, Spectroscopic characterization and biological activity of salicylaldehyde thiazolyl hydrazone ligands and their metal complexes. *Trans. Met. Chem*, 31, 2006, 207–213.
- [18]. A. Tansir, N. Nahid and P. Shadma, Synthesis, characterization and antimicrobial studies of newly developed polymeric schiff base and its metal-polychelates. *J. Coord. Chem*, 61, 2008, 1963–1972.
- [19]. F. Manabu, W. Hisanobu, M. Takayuki and S. Toshiyuki, Preparation of 14-, 18-, and 22-membered tetraaza macrocycles and their complexing ability for copper(II) and nickel(II) ions. *Bull. Chem. Soc. Jpn*, 63, 1990, 3443–3449.
- [20]. S.N. Pandeya, D. Sriram, G. Nath and E. DeClercq, Synthesis, antibacterial, antifungal and anti HIV activities of Schiff and Mannich bases derived from isatin derivatives and *N*-[4-(4-chlorophenyl)thiazol-2-yl]thiosemicarbazide. *Eur. J. Pharm. Sci*, 9, 1999, 25–31.
- [21]. J.A. Zhang, M. Pan, J.Y. Zhang, B.S. Kang and C.Y. Su, Syntheses, structures and bioactivities of cadmium (II) complexes with a tridentate heterocyclic N- and S-ligand. *Inorg. Chim. Acta*, 362, 2009, 3519–3525.

- [22]. S. Mandal, T.K. Karmakar, A. Ghosh, M. Fleck and D. Bandyopadhyay, Synthesis, crystal structure and antibacterial activity of a group of mononuclear manganese(II) Schiff base complexes. *Polyhedron*, **30**, **2011**, 790–795.
- [23]. J. Yusnita, S. Puvaneswary, H.M. Ali, W.T. Robinson and T.K. Lin, Synthesis, structural characterization and antibacterial activity of 2,6-diacetylpyridine bis(benzenesulfonohydrazide) Schiff bases and their copper(II) complexes. *Polyhedron*, **28**, **2009**, 3050–3054.
- [24]. R. Pignatello, A. Panico, P. Mazzone, M.R. Pinizzotto, A. Garozzo and P.M. Fumeri, Schiff bases of *N*-hydroxy-*N'*-aminoguanidines as antiviral, antibacterial and anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem*, **29**, **1994**, 781–785.
- [25]. G. Ceyhan and C. Çelik, Antioxidant, electrochemical, thermal, antimicrobial and alkane oxidation properties of tridentate Schiff base ligands and their metal complexes. *Spectrochim. Acta*, **81**, **2011**, 184–198.
- [26]. S.S. Tajudeen and E. Radha, Synthesis, characterization and antimicrobial activity of transition metal complexes of schiff base derivatives from isonicotinic acid hydrazide. *Asian J. Chem*, **21**, **2009**, 313–316.
- [27]. G.B. Bagihalli and P.G. Avaji, Synthesis, spectral characterization, in vitro antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes with 1,2,4-triazole Schiff bases. *Eur. J. Med. Chem*, **43**, **2008**, 2639–2649.
- [28]. E. Ispir, S. Toroglu and A. Kayraldrz, Syntheses, characterization, antimicrobial and genotoxic activities of new Schiff bases and their complexes. *Transit. Met Chem*, **33**, **2008**, 53–960.
- [29]. a) Z. Liefschitz. *Physic, chem.*, **1914**, 114-485. b) M. M. Alam, S. M. M. Rahman, M. M. Rahman, and S. M. S. Islam. *J. Sci. Res*, **2**, **2010**, 91- 98.
- [30]. a) O. Z. Yesilel, H. Olmez and C.Arıcı. *Polyhedron*, **26**, **2007**, 3669-3674. b) R. L. Fanshave, A. Mobinikhaldi, C. R. Clark and A. G. Blackman. *J. I. Chimica*, **307**, **2000**, 26-31.
- [31]. O. Olmez, Z. Yesilel and H. Icbudak. *J. Therm. Analy, Calorimetry*, **63**, **2001**, 105-116.

- [32]. a) A. P. Mishra, H. Purwar, R. K. Jain, Microwave synthesis, spectral, thermal and antimicrobial activities of Co(II), Ni(II) and Cu(II) metal complexes with Schiff base ligand. *Biointerface. Res. Appl. Chem*, 2, **2012**, 291-299. b) R. Arab Ahmadi and A. Saeid, Synthesis, Spectroscopy, Thermal Analysis, Magnetic Properties and Biological Activity Studies of Cu(II) and Co(II) Complexes with Schiff Base Dye Ligands. *J. Mol*, 17, **2012**, 6434-6448.
- [33]. A. K. Mahapatra, G. Hazra, N. K. Das, S. Goswami. *Sensors and Actuators, B. Chem*, 156, **2011**, 456-462.
- [34]. R. Nagar, Structural and microbial studies of some transition metal complexes *J. Inorg. Biochem*, 37, **1989**, 193-200.
- [35]. C. R. Saha and N. K. Roy, Synthesis and structural investigation of metal complexes of 1-amidino-2-thiourea. *J. Coord. Chem*, 12, **1983**, 163.
- [36]. P. Anais, Synthèse et étude de nouveaux chélateurs sélectifs du cuivre(I) pour les maladies de type Wilson. *Thèse de doctorat en Chimie Inorganique et Bio inorganique*, **2011**.
- [37]. B. Stephanie, D. Zaid, D. Laurent, B. Jean-Bernard and G. Emmanuel. *J. Inorg. Biochem*, 102, **2008**, 1514-1522.
- [38]. E.A. Lewis and W.B. Tolman. *Chem. Rev*, 104, **2004**, 1047-1076.
- [39]. W. Kaim and B. Schwerderski, Inorganic Elements in the Chemistry of life, Wiley, England. *Bioinorg. Chem*, **1991**.
- [40]. E. Gaggelli, N. D'Amello, N. Gaggelli and G. Valensin. *Chem. BioChem*, 2, **2001**, 524-529.
- [41]. D.A. Phipps. *Metals and Metabolisme*, **1976**, 80.
- [42]. W.R. Walker, CSIRO Symposium on the Importance of Copper in Biology and Medicine. *CSIRO. Nat. Measur*, **1980**.
- [43]. A. Rigo, A. Corazza, M.L. Di Paolo, M. Rossetto, R. Ugolini, and M. Scarpa. *J. Inorg. Biochem*, 98, **2004**, 1459-1501.
- [44]. F. A. Cotton, G. Wilkinson. *Adv. Inorg. Chem. 5th edition*, J. Wiley and sons, **1988**.

- [45]. H. A. Jahn, E. Teller, Stability of polyatomic molecules in degenerate electronic states. I-Orbital Degeneracy. *Proc. R. Soc. London*, 161, 1934, 220-235.
- [46]. O. Horvath, *Coord. Chem. Rev.*, 135, 1994, 303.
- [47]. J. Sykora. *Coord. Chem. Rev.*, 159, 1997, 95.
- [48]. T. Iman, J. Ahmed, *Anal. Appl. Pyrolysis*, 80, 2007, 383-388.
- [49]. A.A. Dakhel, Y. Ali-mohamed and F.Z. Henrari. *Optic. Mater.*, 28, 2006, 925-929.
- [50]. D.A. House, in: G. Wilkinson, R.D. Gillard and J.A. Mc Cleverty. *Compr. Coord. Chem*, 2, 1987, 23.
- [51]. V. P. Pfeifer, B. Lubbe and T. Tsumaki. *Ann. Chem. Pharm*, 503, 1931, 84.
- [52]. Katsuki. *Coord. Chem. Rev.*, 140, 1995, 189.
- [53]. P. J. Pospisil. D.H. carsten and E.N. Jacobsen. *J. Chem. Eur*, 2, 1996, 974.
- [54]. R. Neumann and M. Dahan. *Nature*, 388, 1997, 353.
- [55]. L. Canali and D. C. Sherrington. *Chem. Soc. Rev.*, 28, 1999, 85.
- [56]. A. F. Kolodziej. *Prog. Inorg. Chem*, 41, 1994, 493.
- [57]. J. P. Anselme, In 'The Chemistry of the carbon-Nitrogen Double Bond' ed. S. Patai, *Interscience, New York*, 1970, 299.
- [58]. P. Pfeifer, E. Buchholz and O. Bauer. *J. Pract. Chem*, 129, 1931, 163.
- [59]. P. Pfeifer, W. Chriseliet, T. Hesse, H. Pftzinger and H. Theilert. *J. Pract. Chem*, 150, 1938, 261.
- [60]. S.M. Abdallah, M.A. Zayed and G.G. Mohamed, *Arabian J. Chem*, 3, 2010, 103-113.
- [61]. S. Ershad, L.A. Sagathforoush, G. Karim-nezhad, S. Kangari. *Int. J. Electrochem*, 4, 2009, 846-854.
- [62]. S. Chandra and R. Kumar. *Trans. Met. Chem*, 29, 2004, 269-275.

- [63]. N. Raman, S.J. Raja, J. Joseph and J.D. Raja. *J. Chil. Chem. Soc*, 52, **2007**, 1138-1141.
- [64]. R.R. Coombs, M.K. Ringer, J.M. Blacquiere, J.C. Smith, J.S. Neilsen, Uh. Yoon-Seo, J.B. Gilbert, L.J. Leger, H. Zhang, A.M. Irving, S.L. Wheaton, C.M. Vogles, S.A. Westcott, A. Decken and F.J. Baerlocher. *Trans. Met. Chem*, 30, **2005**, 411-418.
- [65]. M.A. Neelakantan, S.S. Marriappan, J. Dharmaraja, T. Jeyakumar and K. Muthukumar. *Spectrochim. Acta. Part A*, 71, **2008**, 628-635.
- [66]. R. P. Sharma, R. Sharma, R. Bala and P. Venugopalam. *J. Chem. Crystallog*, 35, **2005**, 595.
- [67]. M. A. EL. Gahami, Z. A. Khafagy, A. M. M. Ali, and N. M. Ismail, *J. Inorg. Organometallic. polymers*, 14, **2004**, 117-129.
- [68]. P. Rabinda Reddy, M. Radhika and P. Manjula. *J. Chem. Sci*, 117, **2005**, 239-246.
- [69]. C.A. Mc Auliffe, J.V Quagliano and L.M. Vallarino. *Inorg. Chem*, 5, **1966**, 1996.
- [70]. M. Nath. S. Pokharia and R. Yadar. *Coord. Chem. Rev*, 215, **2001**, 99.
- [71]. N. Azizi, E. Gholibeghlo and Z. Manocheri, Green procedure for the synthesis of bis(indolyl)methanes in water. *Scientia Iranica*, 19, **2012**, 574–578.
- [72]. C. Nemaï Ganguly, R. Sushmita, S. Rajat and M. Pallab, An efficient one-pot organocatalytic synthesis of 9-(1H-indol-3-yl)-xanthen-4- (9H)-ones under mild aqueous micellar conditions. *Tetrahedron Lett*, **2012**.
- [73]. H. Hua-Feng, D. Sheng, C. Yi, Y. Yang and L. Yueqin, Synthesis of 6H-isoindolo[2,1-a]indol-6-ones through a sequential copper-catalyzed C-N coupling and palladium-catalyzed CeH activation reaction Weiliang Bao. *Tetrahedron Letters*, 68, **2012**, 3112-3116.
- [74]. A. Semov, L. Iourtchenko, L. F. Liu, L. Shengmin, X. Yan, S. Xiaoxue, E. Muijnek, V. Kiselev and V. Alakhov, Diindolylmethane (DIM) selectively inhibits cancer stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Communic*, 424, **2012**, 45–51.
- [75]. A. R. Karimi and A. Khodadadi, Synthesis and solution properties of new metal-free and metallo-phthalocyanines containing four bis(indol-3-yl)methane groups. *Tetrahedron Lett*, 53, **2012**, 5223–5226.

- [76]. P. Kalita and R. Kumar, Ordered organo-inorganic hybrid mesoporous solid acid catalysts (Zr-TMS-TFA) for Michael addition of indoles with α,β -unsaturated carbonyl compounds under environmentally benign solvent free conditions. *Microporous and Mesoporous Mater*, 164, **2012**, 232–238.
- [77]. W. Peng, M. Świtalska, L. Wang, Z. Mei, Y. Edazawa, C. Pang, I. E. El-Sayed, J. Wietrzyk and T. Inokuchi, Synthesis and in vitro antiproliferative activity of 11-New-aminoalkylamino Substituted chromeno [2, 3-b] indoles. *Eur. J. Med. Chem*, 5, **2012**, 223-626.
- [78]. S. Katherine, R. Catherine and L. Drennan, Divergent Pathways in the Biosynthesis of Bisindole Natural Products. *Chem. Bio. Rev*, 10, **2009**, 1016.
- [79]. K. Bartik, J.C. Braekman, D. Dalozé, C. Stoller, J. Huysecom, G. Vandevyver and R. Ottinger. *Can. J. Che*, 65, **1987**, 2118.
- [80]. S. Tsujii, K. L. Rinehart, S. P. Gunasekera, Y. Kashman, S. S. Cross, M. S. Lui, S. A. Pomponi, M. C. Diaz. *J. Org. Chem*, 53, **1988**, 5446.
- [81]. A. Bruel, C. Logé, M. Ludivine Tautzia, M. Ravache, R. Le Guevel, C. Guillouzo and al. *J. Med. Che*, 57, **2012**, 225-233.
- [82]. S. K. Sharma, P. Kumar, B. Narasimhan, K. Ramasamy, V. Mani and R. K. Mishra, antimicrobial, anticancer evaluation and QSAR studies of 6-methyl-4- [1-(2-substituted-phenylamino-acetyl)-1H-indol-3-yl]-2-oxo/thioxo-1,2,3,4- tetrahydropyrimidine-5-carboxylic acid ethyl esters. *Eur. J. Med. Chem*, 48, **2012**, 16-25.
- [83]. G.S. Suresh Kumar, S. Kumaresan, A. Antony Muthu Prabhu, N. Bhuvanesh and P.G. Seethalakshmi, An efficient one pot syntheses of aryl-3,3' bis(indolyl)methanes and studies on their spectral characteristics, DPPH radical scavenging-, antimicrobial-, cytotoxicity-, and antituberculosis activity. *Mol. Biomol. Spectroscopy*, 101, **2013**, 254–263.
- [84]. S. Singh Giriya, M. S. A. Al-kahraman Yasser, M. Disah, Y. Masoom. *Bioorg*, Synthesis of N-(1-methyl-1H-indol-3-yl)methyleneamines and 3,3-diaryl-4-(1-methyl-1H-indol-3-yl)azetid-2-ones as potential antileishmanial agent. *Med. Chem. Lett*, 22, **2012**, 5704–5706.

- [85]. T. Beckers, A. Sellmer, E. Eichhorn, H. Pongratz, C. Schächtele, F. Totzke, G. Kelter, R. Krumbach, H. H. Fiebig, F. D. Böhmer and S. Mahboobi, Novel inhibitors of epidermal growth factor receptor: (4-(Arylamino)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-6-yl)(1H-indol-2-yl)methanones and (1H-indol-2-yl) (4-(phenylamino)thieno[2,3-d]pyrimidin-6-yl)methanones. *Bioorganic and Med. Chem*, 20, **2012**, 125–136.
- [86]. F. Ziedan, S. Stefanelli, S. Fogli and D. Andrew. *J. Med. Chem*, 56, **2012**, 263-270.
- [87]. A. S. Gurkan-Alp, M. Mumcuoglu, A. C. Andac, E. Dayanc, R. Atalay and E. Buyukbingol. *J. Med. Chem*, 2, **2012**, 223-616.
- [88]. G. Broggin, M. B. Egle, A. Fasana¹, S. Gazzola¹, Palladium-catalyzed dual C–H or N–H functionalization of unfunctionalized. *Beilstein J. Org. Chem*, 8, **2012**, 1730–1746.
- [89]. L. Chiumminto, M. Funicello, P. Lupattelli, F. Tramutola and P. Campaner. *Tetrahedron*, 65, **2009**, 5984-5989.
- [90]. M. Catto, R. Aliano, A. Carotti, S. Cellamare, F. Palluotto, R. Purgatorio, A.D. Stradis and F. Campagna, Synthesis and biological evaluation of indane-2-arylhydrazinylmethylene-1,3-diones and indol-2-aryldiazenylmethylene-3-ones as β -amyloid aggregation inhibitors. *J. Med. Chem*, 45, **2010**, 1359-1366.
- [91]. J. W. Blunt, B. R. Copp, M. H. G. Munro, P. T. Northcote and M. R. Prinsep. *Nat. Prod. Rep*, 1, **2004**, 21.
- [92]. (a). M.S. Laport, O.C.S. Santos and G. Muricy, Potential Sources of New Antimicrobial Drugs. *Curr. Pharma. Biotech*, 10, **2009**, 86-105, (b). R. Zoraghi, L. Worrall and al, Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pyruvate Kinase as a Target for Bis-indole Alkaloids with Antibacterial Activities. *J. Boi. Chem*, 286, **2011**, 44716–44725.
- [93]. F. I. Sengul, K. Wood, N. Kumar and D. StC. *Black Tetrahedron*, 68, **2012**, 9050-9055.
- [94]. J. Shin, Y. Seo, K. W. Cho, J. R. Rho and C. J. Sim. *J. Nat. Prod*, 62, **1999**, 647.
- [95]. A. Casapullo, G. Bifulco, I. Bruno and R. Riccio. *J. Nat. Prod*, 63, **2000**, 447.
- [96]. Morris, S. Anne, Novel secondary metabolites isolated from selected marine invertebrates. *University of British Columbia Vancouver, Canada*, **1990**.

- [97]. M. Ikoma, M. Oikawa and M. Sasaki. *Tetrahedron Lett*, 49, **2008**, 7197–7199.
- [98]. P. Mccarthy and P. J. Kelly-Borges. *J. Nat. Prod*, 57, **1994**, 1437.
- [99]. K. B. Oh, W. Mar, Sanghee Kim, J.Y. Kim, M.N. Oh, J. G. Kim, J.G. Shin, D. Sim and C. J. Shin. Bis(indole) alkaloids as sortase A inhibitors from the sponge *Spongosorites sp.* *Bioorg. Med. Chem*, 15, **2005**, 4927–4931.
- [100]. O. Talaz and N. Saracoglu. *Tetrahedron*, 66, **2010**, 1902–1910.
- [101]. L. Gupta, A. Talwar, Nishi, S. Palne, S. Guptac and P. M. S. Chauhan. *Bioorg. Med. Chem*, 17, **2007**, 4075–4079.
- [102]. R. Bokesch Heidi, K. Pannell Lewis, C. McKee Tawnya and R. Boyd Michael, *Tetrahedron Lett*, 41, **2000**, 6305-6308.
- [103]. G. Beedesseea, A. Ramanjoolooa, G. Aubertc, L. Eloyc, R. Surnam-Boodhuna and Rob W.M. van Soestb. , Cytotoxic activities of hexane, ethyl acetate and butanol extracts of marine sponges from Mauritian Waters on human cancer cell lines. *Envir. Toxic. Pharm*, 34, **2012**, 397–408.
- [104]. S. K. Maushmi, S. N. Pandita, K. Asim. LC-MS/MS as a tool for identification of bioactive compounds in marine sponge *Spongosorites halichondriodes*. *Pal Toxicon*. 60, **2012**, 1135–1147.
- [105]. G. Babu, N. Sridhar, P. Perumal, T. Synth. *Commun*, 30, **2000**, 1609.
- [106]. P. Loh, L.L. Wei, *Synlett*, 75, **1998**.
- [107]. J. S. Yadav, B. V. S. Reddy, Ch. V. S. R. Murthy, G. M. Kumar and Ch. Madan. *catal. Synth*, 5, **2001**, 783.
- [108]. B. P. Bandgar and K. A. Shaikh. *Tetrahedron Lett*, 44, **2003**, 1959.
- [109]. M. Karthik, A. K. Tripathi, N. M. Gupta, M. Palanichamy and V. Murugesan. *Commun*, 5, **2004**, 371.
- [110]. C. Ramesh, N. Ravindranath and B. Das, *J.Chem. Res. Syn*, 19, **2003**, 72–74.

- [111]. B.P. Bandgar, S.V. Bettigeri and N.S. Joshi, *Monatshefte fur Chemie*, 135, **2004**, 1265–1273.
- [112]. S. Kobayashi, M. Araki and M. Yasuda, *Tetrahedron Lett*, 36, **1995**, 5773.
- [113]. J.S. Yadav, B.V.S. Reddy, Ch.V.S.R. Murthy, G.M. Kumar and Ch. Madan, *Catal. Synth.* 5, **2001**, 783–788.
- [114]. R. Nagrajan and P.T. Perumal, *Chem. Lett*, 33, **2004**, 288–289.
- [115]. C. Ramesh, J. Banerjee, R. Pal and B. Das, *Adv. Synth. Catal*, 345, **2003**, 557–559.
- [116]. D. Chen, L. Yu and P.G. Wang, *Tetrahedron Lett*, 37, **1996**, 4467–4470.
- [117]. A.V. Reddy, K. Ravinder, V.L.N. Reddy, T.V. Goud, V. Ravikant and Y. Venkateswarlu, *Synth. Commun*, 33, **2003**, 3687–3694.
- [118]. L. Wang, J. Han, H. Tian, J. Sheng, Z. Fan and X. Tang, *Syn.lett*, 2, **2005**, 337–340.
- [119]. M. Kalantari, Synthesis of 1,8-dioxo octahydroxanthenes and bis(indolyl)methanes catalyzed by [Et₃NH][H₂PO₄] as a cheap and mild acidic ionic liquid. *Arab. J. Chem*, 5, **2012**, 319–323.
- [120]. M. Jafarpour, A. Rezaeifard and G. Gorzin, Enhanced catalytic activity of Zr(IV) complex with simple tetradentate Schiff base ligand in the clean synthesis of indole derivatives. *Chem. Commun*, 14, **2011**, 1732–1736.
- [121]. K. Changiz, H. Ahmadian, M. Nouri, F. Jamshidi, H. Mohammadi, K. Ghodrati, A. Farrokhi and Z. Hamidi, A novel method for synthesis of cobalt manganese oxide nano catalysts as a recyclable catalyst for the synthesis of some bis (indolyl) methane derivatives. *Catal. Commun*, 27, **2012**, 92–96.
- [122]. A. S. Sandip, H. K. Amol, B. L. Vilas and S. S. Murlidhar, *Chin. Chem. Lett*, 21, **2010**, 39–42.
- [123]. K. P. Boroujeni and K. Parvanak, Synthesis of bis(indolyl) methanes using aluminium oxide (acidic) in dry media. *Chin. Chem. Lett*, 22, **2011**, 939–942.

- [124]. G. Bai, Z. Ma, L. Shi, X. Lan, Y. Wang, J. Han, M. Qiu, H. Fu and P. Liu. *Appl. Catal. A: General*, 427– 428, **2012**, 114– 118.
- [125]. R. M. Samuel, S. Thurow, P. F. Margiani, F. Penteado, J. L. Eder, D. Alves and G. Perin. Synthesis of bis(indolyl)methanes using silica gel as an efficient and recyclable surface. *Tetrahedron. Lett*, 53, **2012**, 5402–5406.
- [126]. A.W. Czarnik (Ed.), *Fluorescent Chemosensors for Ion and Molecule Recognition*. American Chemical Society, Washington, 358, **1993**.
- [127]. J.R. Lakowicz (Ed.), *Plenum, New York*, 4, **1994**.
- [128]. B. Valeur, E. Bardez, *Chem*, 31, **1995**, 216.
- [129]. L. Fabbrizzi, A. Poggi, *Chem. Soc. Rev*, 24, **1995**, 197.
- [130]. G. Marcu. *Chimia modernă a elementelor metalice*, Editura Tehnică, București, **1993**.
- [131]. L. Ghizdavu. *Chimie bioanorganică*, Ed. Poliam, Cluj-Napoca, **2000**.
- [132]. C. Popa, A. Popescu, E. Trutia, V. Dinu, *Tratat de biochimie medicală*, Ed. Medicala, București, **1991**.
- [133]. P.R. Gregoire. *Biochimie patologique*, Academic Press, Libr.Maloine, Paris, **1971**, 30.
- [134]. V. Chiș, O. Cozar, L. David, *Simetrie moleculară*, Editura Napoca Star. **2007**.
- [135]. B.H. Brandsen, C.J. Joachain, *Fizica atomului și a moleculei*, Editura Tehnică București, **1998**.
- [136]. K. Randerath, *Chromatographie sur couche mince*. Ed. G. Villars. **1971**.
- [137]. H. Günther, *La spectroscopie de RMN. Principes de base, concepts et applications de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone-13 en chimie*, **1994**.
- [138]. W. W.M. Wendlandt, *Thermal methods of analysis*. John Wiley, New York, **1992**.
- [139]. M.J.D. Low, *Infrared Fourier transforms spectroscopy*. *anl.chem*, 41, **1969**, 97-108

[140]. C. Rao. Butterworth, Ultraviolet and visible spectroscopy chemical application. 3th Ed, London 1975.

[141]. M. S. Massoud, *Spectrochimica Acta Part A*, 69, 2008, 230-238.

[142]. a). M. Gaber, H.E. Mabrouk and S. Al-Shihry, Complexing behaviour of naphthylidene-sulfa methazine Schiff base ligand towards some metal ions. *Egyptian J. Chem*, 44, 2001, 191-200.

b). M. Mounir, K.A Darwish, A.I. El-Ansary and H.B. Hassib. Electrical properties of some 2-aminopyrimidine and 2-aminopyrazine Schiff bases. *Thermo. Chem. Acta*, 114, 1987, 257-263.

[143]. A.A. Osowole, R. Kempe and R. Schobert. Synthesis, Spectral, Thermal, *In-vitro* Antibacterial and Anticancer Activities of some Metal (II) Complexes of 3-(1-(4-methoxy-6-methyl)-2-pyrimidinylimino)methyl-2-naphthol. *Int. Res. J. Pure. Appl. Chem*, 2, 2012, 105-129.

[144]. W.J. Geary, *Use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds*. *Coord. Chem. Rev*, 7, 1971, 81.

[145]. J. Rajendra, A.P. Mishra, A. Tiwari and S.K. Gupta, Microwave synthesis, spectral, thermal and antimicrobial activities of Co(II), Ni(II) and Cu(II) schiff base metal complexes. *Synth. Inorg. Coord. Chem. Labo*, 12, 2012, 18.

[146]. B. Falguni, D.K. Anjan, M. Golam, P. Shie-Ming and B. Samaresh. *Polyhedron*, 19, 2000, 1663.

[147]. F. Arjmand, B. Mohani, S. Ahmed, Synthesis, antibacterial, antifungal activity and interaction of CT-DNA with a new benzimidazole derived Cu (II) complex. *Eur. J. Med. Chem*, 40, 2005, 1103.

[148]. A. B. Fatma, M.A. Sherifa, H.H. Khaled, E. Wafaa, A.E. Ahmed and E.A. Mohamed, Synthesis of new transition metal complexes of 1H-perimidine derivatives having antimicrobial and anti-inflammatory activities. *Res. Chem. Inter*, 9, 2012, 482.

[149]. A.P. Mishra and D.K. Mishra. Synthesis, structural characterization and antimicrobial activities of some transition metal complexes containing 2- acetonaphthone, *Int. J. Pharma. Bio Sciences*, 2, 2011, 3.

[150]. A.A. Al-Amiery, K. Al-Majedy, S.A. Abdulhadi. Synthesis and bioassay of novel metal complexes of 3-amino-2-methylquinazolin-4(3H)-one. *Afr. J. Pure Appl. Chem.* 3, 2009, 218-227.

[151]. H.K. Abdul Amir, M. Abu Bakar, A.A. Ahmed and Mohd S. Takriff, Antimicrobial and Antioxidant Activities of New Metal Complexes Derived from 3-Aminocoumarin. *Molecules*, 16, 2011, 6969-6984.

[152]. A.A. Al-Amiery, A. Mohammed, H. Ibrahim and A. Abbas, Study the biological activities of tribulus terrestris extracts. *World Acad. Sci. Eng. Technol*, 57, 2009, 433-435.

b). Daw, Z.Y.; EL-Baroty, G.S.; Mahmoud, A.E. Inhibition of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production by some essential oils. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm*, 16, 1994, 129-135.

[153]. I. Parejo, F. Viladomat, J. Bastida, A. Rosas-Romero, N. Flerlage, J. Burillo and C. Codina. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J. Agric. Food. Chem*, 50, 2002, 6882-90.

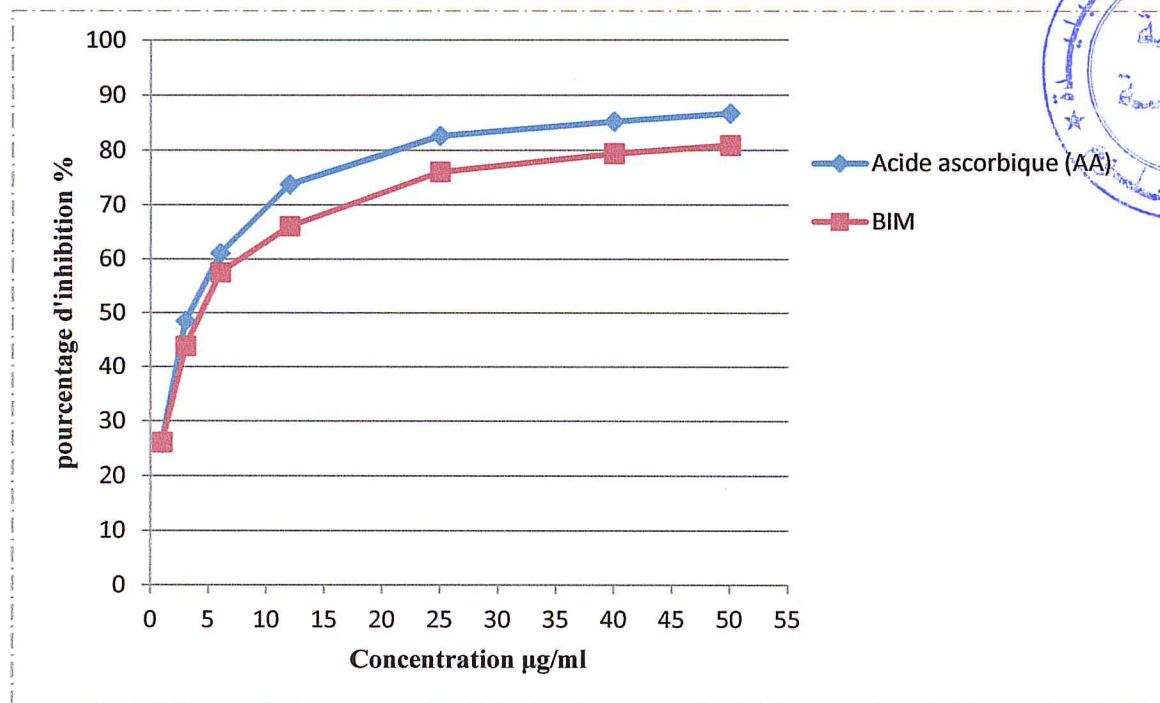
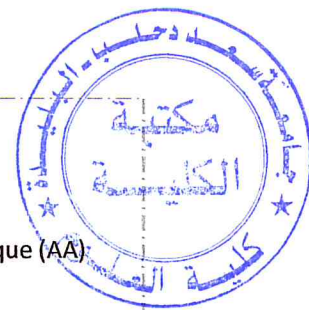
[154]. C. Sanchez-Moreno, J.A Larrauri and F. Saura-calixto, A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Techno. Inter*, 8, 1998, 121-137.

[155]. R.M. Samarth, M. Panwar, A. Soni, M. Kumar and A. Kumar, Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant Extract. *Food. Chem*, 106, 2008, 868-873.

[156]. W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier and C. Berset, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel- Wissenschaft and Technology*, 28, 1995, 25-30.

[157]. T. Takao, F. Kitatani, N. Watanabe, A. Yagi and K. Sakata, A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shell fish. *Brusci. Brotech-Brochem*, 58, 1994, 1780-1783.

ANNEXES



Courbe de Pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique et du BIM



Dispositif de synthèse des complexes