

N° d'ordre : **13/2008-D/CH**

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE HOUARI BOUMEDIENE
(ALGER)

FACULTE DE CHIMIE



THESE

Présentée pour l'obtention du diplôme de **DOCTORAT**

En : **CHIMIE**

Spécialité : **Chimie et Physique des Matériaux Inorganiques**

Par: **Sabrina BELAID**

Sujet :

**Complexes de manganèse (II), cobalt (II), nickel (II) et cuivre (II) avec
des bases de Schiff réduites : stabilité en solution, synthèse,
caractérisation et activité biologique**

Soutenue le : 18/06/2008, devant le jury composé de :

M^r M. HAMDI
M^r O. BENALI-BAITICH
M^r R. BELLAL
M^r G. BOUET
M^{me} S. DJEBBAR
M^r H. HACENE

Professeur, U.S.T.H.B.
Professeur, U.S.T.H.B.
Professeur, Université de Blida
Professeur, Université d'Angers
Professeur, U.S.T.H.B.
Professeur, U.S.T.H.B.

Président
Directeur de thèse
Examineur
Examineur
Examineur
Examineur

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire d'hydrométallurgie et chimie inorganique moléculaire de la faculté de chimie à l'U.S.T.H.B., en collaboration avec le laboratoire de chimie de coordination de la faculté de pharmacie de l'université d'Angers, sous la direction de Monsieur Ouassini BENALI-BAITICH, Professeur à l'U.S.T.H.B.

Je tiens à lui exprimer ma profonde reconnaissance pour avoir dirigé mes recherches avec un grand intérêt, pour avoir toujours été disponible pour discuter des problèmes rencontrés et des orientations à suivre, et pour tous les moyens qu'il a mis à ma disposition pour la réalisation de ce travail. Je le remercie vivement pour l'aide scientifique précieuse et tous les conseils qu'il a pu me fournir pendant toute la durée de cette thèse. Je le remercie également pour la grande confiance qu'il m'a toujours témoignée.

Je tiens aussi à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur Gilles BOUET, Professeur à l'Université d'Angers, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire pendant 18 mois, et pour avoir mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour effectuer les différentes caractérisations et l'étude biologique. Je le remercie également pour sa gentillesse et sa bonne humeur quotidienne et surtout pour son humour qui ont fait que mes 18 mois à Angers sont passés très vite. Je le remercie également d'avoir accepté de faire le déplacement pour faire partie du jury.

Monsieur M. HAMDI, Professeur à l'U.S.T.H.B., me fait l'honneur de présider le jury de cette thèse. Je tiens à lui exprimer ma profonde gratitude et je le remercie également pour sa collaboration.

J'adresse mes vifs remerciements à Madame Safia DJEBBAR, Professeur à l'U.S.T.H.B., pour le soutien moral et scientifique qu'elle m'a apporté pendant ces longues années passées au laboratoire, ainsi que pour avoir accepté de faire partie de ce jury.

Je suis très honorée de la participation à ce jury de Monsieur R. BELLAL, Professeur à l'Université de Blida, et de Monsieur H. HACENE, Professeur à l'U.S.T.H.B, je les remercie vivement d'avoir accepté de faire partie du jury.

J'adresse mes remerciements et non les moindres, à Mademoiselle Anne LANDREAU, Maître de Conférence à l'Université d'Angers, pour son encadrement pour l'étude de l'activité biologique, et pour avoir mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour cela. Je tiens à la remercier aussi pour son amitié, son soutien et son écoute tout au long de mon séjour à Angers.

Je remercie Monsieur Mustayeen KHAN, Maître de Conférences à l'Université d'Angers, pour son soutien et tous les précieux conseils qu'il m'a donné pendant mon séjour.

Je voudrai remercier vivement Monsieur Christophe PAYEN, Professeur à l'Université de Nantes, pour m'avoir accueilli très chaleureusement dans son laboratoire pour effectuer les mesures magnétiques et pour m'avoir aidé dans l'exploitation des données.

Je remercie vivement Monsieur Abdelhadi KASSIBA, Professeur à l'Université du Mans, pour avoir eu la patience d'enregistrer tous les spectres RPE, et pour avoir toujours accepté de me recevoir dans son laboratoire pour m'aider à exploiter les résultats.

Je remercie également Monsieur Fabrice PAGNIEZ, Maître de Conférence à l'Université de Nantes, pour la réalisation des tests anti-Leishmania malgré la difficulté et la lenteur de ce type d'expériences. Je ne saurais oublier Madame Marie Christine AUMOND, Ingénieur de laboratoire à l'Université d'Angers pour sa collaboration pour l'évaluation du pouvoir antioxydant.

J'adresse mes vifs remerciements à tous les chercheurs du laboratoire d'hydrométallurgie et chimie inorganique moléculaire de l'U.S.T.H.B. pour leur soutien, particulièrement à : Karima, Sabrina, Hafida, Drifa, Nabila, Achour et Karim.

Je tiens aussi à remercier Madame Jackeline BENOIT et Monsieur Patrick LEROY pour leur amitié et leur soutien. Je remercie également pour leur amitié tous les thésards du SONAS : Kusai, Samuel, Nabila, Amélie et Sylvie.

Je remercie vivement toute ma famille pour leur soutien et leurs encouragements pendant mes très longues années d'études.

Enfin, Belkacem a su faire preuve d'une patience que peu pourraient avoir. Je le remercie ici de son aide, de son soutien et lui dédie ce travail.

SOMMAIRE

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

Chapitre I : Mise au point bibliographique

I. 1. Introduction	4
I. 2. Base de Schiff dérivées d'amines aliphatiques	4
I.3. Base de Schiff dérivées d'amines aromatiques	5
I. 4. Bases de Schiff réduites	9

Chapitre II : Techniques expérimentales

II.1. Techniques utilisées pour l'étude en solution.....	12
II. 2. Techniques utilisées pour l'étude à l'état solide.....	18
II. 3. Techniques utilisées pour l'étude de l'activité antifongique.....	19
II.4. Technique utilisée pour l'évaluation du pouvoir antioxydant.....	22
II.5. Techniques utilisée pour l'étude de l'activité antileishmania	23

Chapitre III : Synthèse des ligands

III. 1. Introduction.....	26
III.2. Synthèse des ligands.....	26
III. 3. Caractérisation des ligands	28

Chapitre IV : Formation et stabilité des complexes en solution

IV. 1. Introduction	35
IV. 2. Titration des ligands et calcul des constantes de protonation	35
IV. 3. Discussion des résultats	37
IV. 4. Titration des complexes	38
IV. 5. Calcul des constantes de stabilité	40
IV. 6. Discussion des résultats	41
IV. 7. Répartition des espèces en fonction du pH	42
IV. 8. Conclusion.....	45

Chapitre V : Synthèse et caractérisation des complexes

V. 1. Complexes du manganèse.....	47
V. 2. Complexes de cobalt.....	60
V. 3. Complexes de nickel.....	70
V. 4. Complexes du cuivre.....	78
V.5. Conclusion.....	91

Chapitre VI : Activité biologique

VI. 1. Activité antifongique.....	93
VI. 2. Pouvoir antioxydant	110
VI. 3. Activité antileishmania.....	113
VI.4. Conclusion	115
<i>Conclusion générale.....</i>	116
<i>Bibliographie.....</i>	118

Introduction générale

Introduction générale

Les bases de Schiff tétradentées constituent une classe de ligands très importante en chimie de coordination car elles ont une grande capacité à complexer les ions métalliques. Leurs complexes présentent plusieurs centres d'intérêt, en raison de la diversité de leurs structures, et de leurs propriétés électroniques et magnétiques. Par ailleurs, ces complexes ont beaucoup d'applications, notamment en biologie, car ils servent de modèles pour mimer des systèmes biologiques naturels.

Les bases de Schiff dérivées d'amines aromatiques ont un caractère spécial, car les différentes positions des atomes d'azote sur le cycle aromatique, permettent de diversifier la nature des complexes formés. Leur faible basicité comparée à celles dérivées d'amines aliphatiques les rend très stables en solution aqueuse, contrairement à ces dernières qui se décomposent par hydrolyse en milieu acide pour redonner l'amine et l'aldéhyde de départ, ce qui limite l'étude de la formation de leurs complexes en solution.

Récemment, un intérêt particulier a été apporté aux bases de Schiff hydrogénées, car la réduction de la fonction imine permet d'obtenir des ligands plus flexibles, qui sont capables d'adopter la conformation la plus favorable en se liant à un cation métallique. Cette réduction permet aussi, de surmonter les problèmes d'hydrolyse en solution aqueuse acide rencontrés avec les bases de Schiff. L'étude de leur comportement en solution est donc aisément réalisée en milieu aqueux, par potentiométrie ou par spectrophotométrie dans un large domaine de pH.

Au cours de la dernière décennie, un grand intérêt d'un point de vue biologique et thérapeutique a été réservé à l'étude des mycoses qui sont des infections causées par les champignons. Ces études font suite à l'apparition de la résistance des souches aux antifongiques les plus communément utilisés et aux complications que ces germes produisent chez des patients.

Ainsi, les mycoses autrefois qualifiées de banales sont maintenant classées parmi les infections graves, pouvant engendrer un taux élevé de mortalité chez les immunodéprimés. Ceci a provoqué un besoin grandissant de développer de nouveaux agents antifongiques.

Les complexes de bases de Schiff et de leurs dérivées réduites sont parmi les composés qui font actuellement l'objet d'études d'activité antifongique. Ces derniers inhibent de façon considérable la croissance de plusieurs champignons pathogènes du genre *Candida* et *Aspergillus* qui causent des infections graves chez les patients immunodéprimés.

Dans notre laboratoire, plusieurs travaux ont été entrepris en vue de la synthèse et la caractérisation de complexes de bases de Schiff réduites dérivées d'amines aliphatiques. Dans ce cadre, nous nous sommes proposés d'étudier une nouvelle famille de bases de Schiff aromatiques réduites dérivées de l'*o*-phénylènediamine. L'étude de la formation de leurs complexes en solution avec les éléments bivalents des métaux de transition d'intérêt biologique en l'occurrence manganèse, cobalt, nickel et cuivre a été effectuée, ainsi que la synthèse et la caractérisation de ces complexes par les méthodes spectrométriques. Enfin, l'activité biologique de ces composés a été réalisée *in vitro*, et comporte une étude antifongique sur plusieurs champignons pathogènes de l'homme, la détermination du pouvoir antioxydant ainsi que l'évaluation de l'activité antileishmania.

Après une mise au point bibliographique sur les travaux effectués antérieurement sur les bases de Schiff présentés dans le premier chapitre, les techniques expérimentales utilisées pour ce travail sont décrites dans le deuxième chapitre. La synthèse et la caractérisation des ligands sont rapportées dans le troisième chapitre.

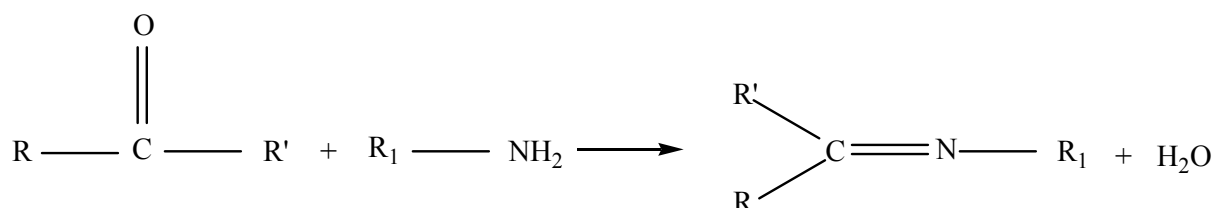
L'étude de la formation des complexes de manganèse (II), cobalt (II), nickel (II) et cuivre (II) en solution et de leur synthèse et caractérisation à l'état solide sont présentées respectivement aux chapitres IV et V.

Le dernier chapitre de ce manuscrit est consacré à l'étude de l'activité biologique *in vitro* des ligands et des complexes.

Chapitre I : Mise au point bibliographique

I. 1. Introduction

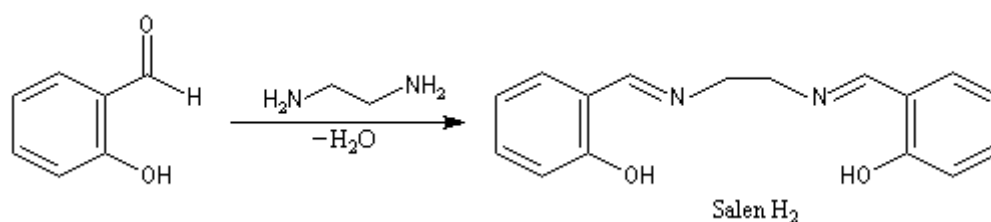
Les bases de Schiff doivent leur nom à Hugo Schiff qui les a synthétisées pour la première fois en 1864. Elles possèdent une double liaison C=N, et elles sont obtenues par condensation d'une amine primaire avec un aldéhyde ou une cétone selon le schéma suivant :



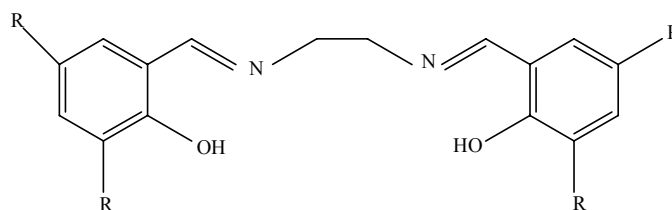
Elles sont très étudiées en chimie de coordination [1-3] car elles constituent une classe importante d'agents chélatants. Elles possèdent également une vaste activité biologique attribuée à leur grande capacité à complexer les ions métalliques pour former des complexes susceptibles de mimer les systèmes biologiques.

I. 2. Base de Schiff dérivées d'amines aliphatiques

Parmi les bases de Schiff dérivant d'amines aliphatiques, la N, N'-éthylènebis (salicylideneimine) nommée salen est la plus connue et la plus étudiée, elle a été synthétisée pour la première fois par P. Pfeiffer en 1933, par condensation de l'éthylène diamine et du salicylaldéhyde :



Depuis, de nombreux dérivés sont obtenus par différentes substitutions :



Les complexes de la salen avec les métaux de transition ont été largement étudiés. Ils peuvent adopter une géométrie carré plane comme c'est le cas pour Ni(salen) [4], et aussi une géométrie octaédrique, ou pseudo octaédrique VO(salen) [5].

Peu de travaux en solution ont été effectués sur l'étude de la stabilité des ligands de type salen et de leurs complexes, car ces ligands s'hydrolysent facilement en milieu acide pour redonner l'amine et l'aldéhyde de départ [6].

I. 2. 1. Principales applications des complexes de la salen

La découverte du pouvoir catalytique du complexe Mn-salen par Kachi-Jacobsen-Katsuki [7] a donné lieu à de multiples travaux sur la catalyse de certaines réactions organiques, notamment, l'oxydation des alcènes et des sulfides, et de la N,N' hydroxylamine substituée en nitroène [8, 9]

D'autres complexes du type M-Salen (M = Ti, V, Cr, Co) se sont révélés être de bons catalyseurs pour l'oxydation des sulfides en sulfoxydes, et de l'aniline en nitrobenzène [10-12].

Les complexes de la salen et ses dérivés présentent aussi une vaste activité biologique. C'est le cas des complexes de l'aluminium qui ont un pouvoir antibactérien important [13]. L'activité antifongique des complexes de la salen avec les métaux de transition bivalents (Cu, Co, Ni) a été étudiée, et il a été montré que ces complexes inhibent la croissance de plusieurs champignons pathogènes [14]. Par ailleurs, une étude sur l'activité anticancéreuse du complexe Co-salen a montré que ce complexe inhibe la croissance des cellules cancéreuses [15].

I.3. Base de Schiff dérivées d'amines aromatiques

Comparés aux ligands dérivés d'amines aliphatiques, ceux dérivés d'amines aromatiques présentent un caractère spécial.

Les différentes positions des atomes d'azote sur le cycle (ortho, méta et para) permettent de diversifier la nature des complexes obtenus avec les ions métalliques : lorsque ces deux atomes d'azote sont en ortho, les complexes obtenus sont principalement des monomères, mais lorsqu'ils sont en position méta ou para, la formation de complexes dimériques ou même polymériques est la plus favorable lorsque les ligands se lient en formant des ponts.

Les amines aromatiques sont moins basiques que les amines aliphatiques à cause de la délocalisation des doublets électroniques sur les cycles. Ainsi, les ligands dérivés d'amines aromatiques et leurs complexes ont des constantes de basicité et de stabilité plus faibles comparées à celles de composés dérivés d'amines aliphatiques. Cette faible basicité procure néanmoins plusieurs avantages à cette famille de ligands :

- L'EDTA et les ligands similaires dérivés d'amines aliphatiques ne sont pas efficaces comme agent chélatants pour certains cations tel que le Fe (III) et le Be (II) à cause de la précipitation de leur hydroxyde en milieu basique [16]. En revanche, les ligands dérivés de l'ortho-phénylènediamine sont de meilleurs agents chélatants pour ces ions [17].
- Les bases de Schiff dérivées d'amines aliphatiques, telle que la salen sont instables en solution acide, elles subissent une hydrolyse et se décomposent en aldéhyde et amine primaire [18]. Le complexe Fe (III)-Salen subit également cette hydrolyse. Mais les bases de Schiff dérivées de l'ortho-phénylènediamine et ses complexes sont complètement stables en milieu acide, ce qui permet leur étude en solution et donc permet la détermination de leurs constantes de protonation et des constantes de stabilité de leurs complexes.

I. 3.1. Etude de la stabilité en solution des bases de Schiff dérivées l'o-phénylènediamine

L'étude en solution des ligands dérivés de l'ortho-phénylènediamine (figure 1) a été entreprise par potentiométrie par A. Mederos et al. [19] en milieu eau-DMSO (20/80 vol./vol.) à 25°C et à force ionique $I = 0,5$ M.

Leurs constantes de protonation ainsi que les constantes de stabilité de leur complexes avec certains métaux de transition ont été calculées pas le programme *Superquad*. Les résultats obtenus sont regroupés dans les tableaux I et II.

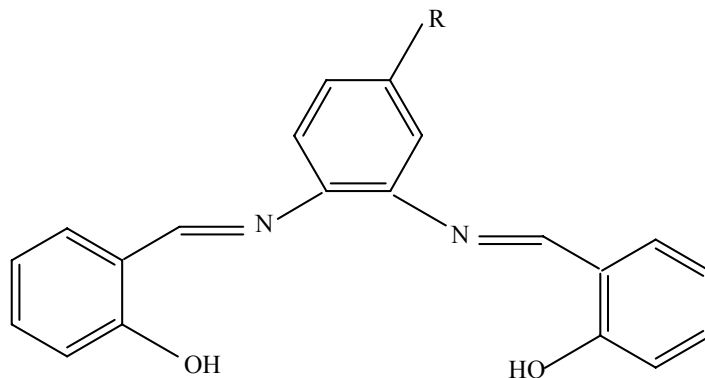


Figure 1 : Formule de la N,N'-o-phénylènebis(salicylideneimine) :

R = H : H₂sal-*o*-phen : N,N'-*o*-phenylenebis(salicylideneimine)

R = CH₃ : H₂sal-3,4-toluen : N,N'-3,4-toluenebis(salicylideneimine)

R = Cl : H₂sal-4 Cl-*o*-phen : N,N'-4-chloro-*o*-phenylenebis(salicylideneimine)

Tableau I : Constantes de protonations (log *K*) des bases de Schiff [19].

Equilibre	H ₂ sal- <i>o</i> -phen	H ₂ sal-3,4-toluen	H ₂ sal-4 Cl- <i>o</i> -phen
L^{-2}/HL^{-}	10,94	11,49	10,26
HL^{-}/H_2L	9,39	9,41	9,20
H_2L/H_3L^{+}	3,46	3,63	2,70

Tableau II : Constantes de stabilité (log *K*) de leurs complexes avec le nickel et le cobalt [19].

Ligands	espèces	Ni (II)	Co (II)
H ₂ sal- <i>o</i> -phen	$[M(HL)]^{+}$	9,08	9,81
	[ML]	14,82	14,64
H ₂ sal-3,4-toluen	$[M(HL)]^{+}$	9,29	9,74
	[ML]	15,76	15,77
H ₂ sal-4 Cl- <i>o</i> -phen	$[M(HL)]^{+}$		9,13
	[ML]		14,41

Après examen de ces résultats, il apparaît que la basicité de ces ligands est directement liée à la nature du substituant R. Elle augmente avec l'augmentation de l'effet donneur du groupement R.

La stabilité des complexes pour un même ion métallique varie dans le même sens que la basicité des ligands : H₂sal-3,4-toluen > H₂sal-*o*-phen > H₂sal-4 Cl-*o*-phen.

I. 3. 2. Structure de quelques complexes avec des ligands dérivés de la H₂sal-*o*-phen

L'étude à l'état solide ainsi que la résolution structurale des complexes des ligands dérivés de la H₂sal-*o*-phen avec les métaux de transition a donné lieu à de très nombreux travaux. Les résultats rapportés ont montré que ces ligands se lient de manière tétradentate par les atomes N et O, sous forme déprotonnée.

Elle forme des complexes de coordination quatre et de géométrie carrée plane, avec le cuivre [20] et le nickel [21] dont les structures ont été rapportées par Y.M. Yang et R. Hernandez-Molina respectivement (figures 2 et 3).

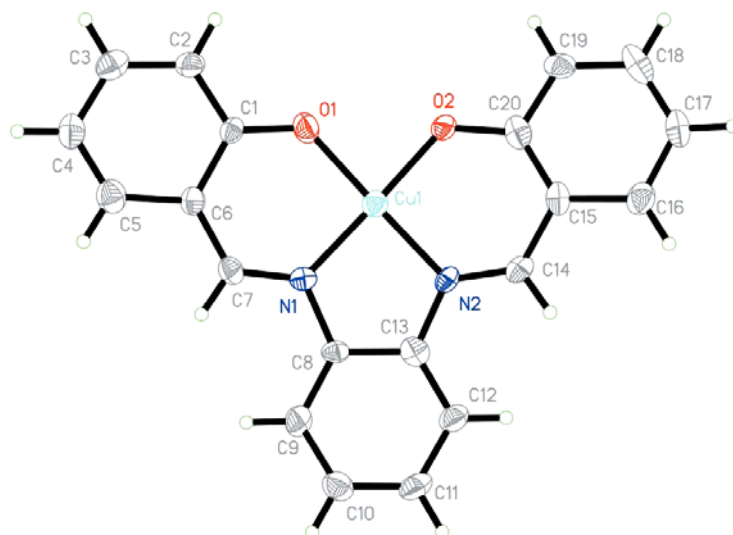


Figure 2 : Structure du complexe Cu(sal-o-phen) [20].

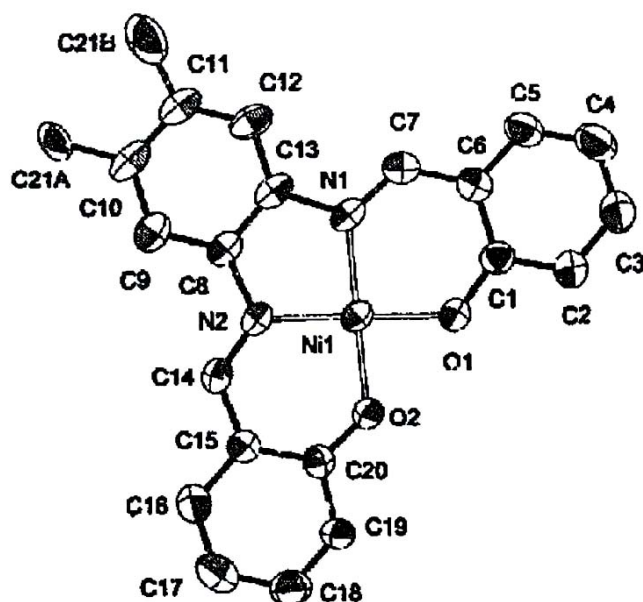


Figure 3 : Structure du complexe Ni(sal-3,4-toluen) [21].

Des complexes octaédriques formés avec le molybdène et la H₂sal-o-phen substituée ont été obtenus par E. Solari [22] où le ligand s'est lié de façon tétradentate par les atomes N et O, et la sphère de coordination est complétée par des ions chlorures.

I. 3. 3. Application des bases de Schiff dérivées d'amines aromatiques

Les bases de Schiff dérivées d'amines aromatiques présentent de nombreuses applications notamment en biologie. Le complexe du cobalt avec la H₂sal-o-phen a été utilisé comme modèle pour mimer le fonctionnement de la vitamine B12 [23].

Des complexes de platine ont fait l'objet d'étude sur certaines bactéries : *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*; quelques champignons : *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*; et quelques levures *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*. Les complexes ont montré une activité importante, et plus prononcée que celle des ligands correspondants [24].

I. 4. Bases de Schiff réduites

Récemment, les travaux [25-34] entrepris sur les bases de Schiff réduites ont tous montrés l'intérêt de cette nouvelle famille de ligands :

- La réduction de la fonction imine permet d'obtenir des ligands plus flexibles qui ne sont pas "contraints" à être plans, ils sont donc plus libres pour adopter la conformation la plus stable en se liant à un cation métallique.
- Cette réduction permet aussi d'avoir des ligands plus basiques qui formeront des complexes plus stables.
- Les amines obtenues ne sont pas susceptibles de s'hydrolyser en solution acide, permettant ainsi l'étude de leur comportement en solution dans un large domaine de pH, et la détermination des constantes de stabilité de leurs complexes.

Dans notre laboratoire, une série de bases de Schiff réduites dérivées de la salen a fait l'objet de plusieurs travaux notamment de synthèse et de caractérisation à l'état solide [35-39].

Des tests anticancéreux réalisés sur le complexe du cuivre avec le N,N'-bis(2-hydroxyacétophényle)-1,2-diaminoéthane, ont montré qu'il inhibe de façon appréciable la croissance des cellules cancéreuses du colon [40-42].

La réactivité des complexes de cobalt (II) avec ces ligands a été étudiée par RPE, et a montré qu'ils réagissent avec l'oxygène moléculaire pour donner des complexes contenant l'entité $\text{Co(III)} : \text{O}_2^-$ [39]. Ce comportement sert de modèle pour mimer le transport de l'oxygène dans les systèmes biologiques.

Enfin, une étude catalytique a montré que le complexe de manganèse (II) avec le N,N'-bis(2-hydroxypropiophényle)-1,2-diaminoéthane, catalyse la réaction de dismutation de l'eau oxygénée [38].

Chapitre II : Techniques expérimentales

II.1. Techniques utilisées pour l'étude en solution

II.1.1. Potentiométrie

Principe de la méthode

La potentiométrie est l'une des méthodes les plus utilisées pour l'étude des complexes en solution. Les données potentiométriques permettent d'aboutir aux constantes de formation ainsi qu'aux concentrations de toutes les espèces présentes à l'équilibre [43].

Son principe repose sur le fait que lors de la complexation il y a consommation ou libération de protons, donc une variation du pH.

L'ionisation du ligand est suivie en faisant varier le pH par addition d'une base. La solution du ligand en présence du métal est titrée de la même façon, elle permet de suivre la formation des complexes.

Il est possible de faire varier le rapport métal/ligand qui va généralement de 0,5 à 4, pour favoriser la formation de toutes les espèces en solution.

Pour avoir une bonne précision, il est recommandé de travailler avec des concentrations très faibles (10^{-3} à 10^{-4} M) limitant ainsi les risques de précipitation qui modifient les concentrations, et rendent leur mesure inaccessible. Un électrolyte support est introduit dans la solution avec une concentration 50 à 100 fois plus élevée que celle du ligand et celle du métal, ce qui permet de maintenir la force ionique constante.

Tous les titrages s'effectuent sous barbotage d'azote pour chasser CO_2 et O_2 de la solution et donc éviter les variations de pH au cours des mesures.

Dans notre cas, pour pouvoir étudier tout le domaine de pH il a fallu acidifier la solution initiale par HCl (0,1 N) pour commencer l'étude à partir de $\text{pH} = 2$.

L'utilisation d'un programme informatique pour l'exploitation des données expérimentales est souvent nécessaire pour le calcul et l'affinement des constantes de stabilité.

Montage expérimental

La solution est introduite dans une cellule à double paroi qui permet une circulation d'eau thermo régulée. Son bouchon est muni d'orifices qui permettent l'introduction :

- D'une électrode de verre combinée.
- D'un système de barbotage d'azote.
- D'une burette graduée contenant la solution titrante et qui permet des ajouts de 0,05 mL.

Les pH sont déterminés à l'aide d'un pH-mètre de type TACUSSEL PN81, avec une précision de 0,02 unités de pH.

L'homogénéité de la solution est assurée par un barreau aimanté entraîné par un agitateur magnétique.

Préparation des solutions

Les solutions des ligands de concentration 0,005 M ont été préparées par dissolution des quantités de produits adéquates dans l'éthanol, compte tenu de leur faible solubilité dans l'eau.

Les solutions des sels métalliques ont été préparées de la même façon par dissolution des chlorures métalliques $[\text{MnCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4]$, $[\text{CoCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]$, $[\text{NiCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]$, et $[\text{CuCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6]$ fournis par Fluka, dans l'eau bidistillée.

La solution d'acide utilisée est une solution standard d'acide chlorhydrique à 0,1 N. Le sel de fond choisi est NaCl et ce pour avoir des ions communs (chlorures) avec le sel métallique. Une solution mère de 0,5 M a été préparée par dissolution de la masse correspondante dans de l'eau bidistillée.

La solution titrante est une solution de soude à 0,1 N préparée par dissolution dans l'eau bidistillée de la quantité de soude adéquate. Sa concentration exacte a été déterminée par simple titrage avec la solution standard de HCl 0,1 N.

La solution à titrer d'un volume initial de 50 mL, est maintenue à force ionique constante $I=0,2$ M, et sous barbotage d'azote, ce qui permet de dégazer la solution. Les mesures sont effectuées dans un domaine de pH allant de 2 à 10,5 à une température constante de $25,0 \pm 0,1$ °C.

Titration des ligands

On introduit dans la solution de mesure : 20 mL de NaCl (0,5 M), 5 mL de HCl (0,1 M), 5 mL de la solution du ligand, et on complète avec de l'eau bidistillée jusqu'à 50 mL.

La solution est titrée par NaOH 0,1 N.

A partir des résultats des mesures, on peut tracer les courbes de titrage et calculer les constantes de protonation des ligands.

Titration des solutions métal-ligand

On introduit dans la solution de mesure : 20 mL de NaCl (0,5 M), 5 mL de HCl (0,1 M), 5 mL de la solution du ligand et 5 mL de celle de l'ion métallique et on complète jusqu'à 50 mL avec de l'eau bidistillée. Le mélange est également titré par NaOH.

Les résultats des mesures nous permettent de tracer les courbes de titrage, ainsi que le calcul des constantes de stabilité des espèces formées.

Titration du mélange eau-éthanol

Le calcul des constantes de protonation des ligands et des constantes de stabilité des complexes par le programme Sirko exige la connaissance de la valeur du produit ionique du solvant. Dans notre cas, le solvant utilisé est un mélange eau-éthanol (90/10 % vol./vol.). Son produit ionique est déterminé par titrage d'un mélange eau-éthanol (90 / 10 % vol./vol.) [44, 45].

Pour cela, on introduit dans la cellule de mesure : 20 mL de NaCl (0,5 M), 5 mL d'éthanol et on complète jusqu'à 50 mL avec de l'eau bidistillée. Ce mélange est titré avec une solution de NaOH (0,01 M).

Les résultats des mesures ont été traités par le programme Sirko. Après affinement, la valeur retenue pour le produit ionique de ce solvant est $pK_e = 13,96$. Cette valeur a été introduite pour tous les calculs qui ont suivis.

Étalonnage du pH-mètre

L'étalonnage du pH-mètre est effectué par des solutions tampons de pH 4, 7 et 10. Notre étude a été réalisée dans un milieu eau-éthanol (90 / 10 % vol./vol.), mais du fait que les solutions tampons utilisées sont des solutions aqueuses, une correction sur les valeurs de pH mesurées est nécessaire.

G.Douheret [46] a déterminé les variations de cette correction dans différents milieux et selon ses résultats, ce terme est de l'ordre de 0,001 unités de pH pour notre milieu. Cette correction s'est donc avérée négligeable car elle est de l'ordre de l'incertitude de mesure.

II. 1 .2. Exploitation des mesures - Programme SIRKO

Ce programme a été développé en 1994 par Vetrogon [47]. Il permet le calcul des constantes des équilibres établis en solution et des concentrations de toutes les espèces qui en dérivent, et ce à partir de données expérimentales.

La particularité de ce programme, c'est son application à trois méthodes expérimentales différentes : la potentiométrie, la spectrophotométrie, et la calorimétrie.

Procédure d'optimisation

L'optimisation consiste à maintenir constant un groupe de variables indépendantes et à faire varier un autre groupe de constantes dépendantes, et à établir une relation entre les deux groupes.

Pour déterminer la relation entre les deux variables, il est nécessaire de construire un modèle mathématique du système chimique en équilibre. Les constantes de stabilité des complexes constituent les paramètres de ce système, ces derniers sont évalués par la méthode des moindres carrés, pour laquelle le meilleur calcul correspond à la plus faible somme des déviations carrées entre les valeurs des variables dépendantes calculées et celles mesurées.

$$U = \sum_i \sum_j W_{ij} (F_{ij}^{\text{exp}} - F_{ij}^{\text{cal}})^2$$

i est le nombre de séries expérimentales.

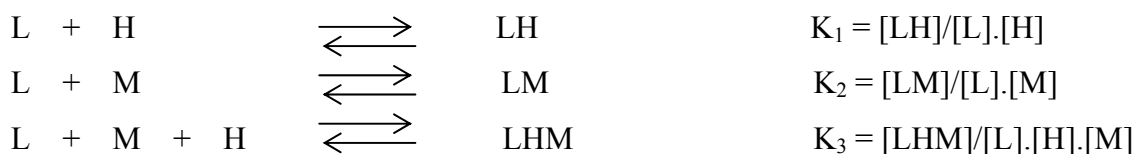
j est le nombre des points expérimentaux dans chaque série.

F_{ij} est la fonction des paramètres.

W_{ij} est le facteur massique.

Modèle mathématique

Le modèle mathématique des équilibres définissant le système chimique est construit sous forme de matrice stœchiométrique. Par exemple, un système constitué d'un ligand, d'un proton, et d'un ion métallique peut être représenté par les trois équilibres suivants :



La matrice correspondante est :

$$\begin{matrix} 1 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \end{matrix}$$

La détermination du meilleur modèle se fait par comparaison des erreurs calculées pour différents modèles. Il est toutefois, important d'optimiser les constantes d'équilibre pour tous les modèles susceptibles de rendre compte de la formation des espèces en solution et de n'en retenir que celui qui donne le meilleur affinement.

Fonction de réponse

Ce programme peut être utilisé pour différentes techniques expérimentales grâce à l'utilisation d'une fonction de réponse universelle F applicable à différentes méthodes physico-chimiques.

$$F = Y_0 + Y_e \cdot \sum_{k=1}^S E_k [C_k] - Y_1 \cdot \log \left(\sum_{k=1}^S E_{h_k} \cdot [C_k] \right)$$

F : est la valeur mesurée.

S : nombre de constituants indépendants.

[C_k] : concentration d'équilibre du k-ième composé.

Y₀ : Une constante pour une méthode donnée, souvent elle reflète les propriétés du solvant.

Y₁ : facteur massique pour les méthodes potentiométriques.

Y_e : facteur massique pour les méthodes additives.

E_k : paramètre physico-chimique du k-ième composé pour les méthodes additives.

E_{h_k} : paramètre du k-ième composé pour la méthode potentiométrique.

Pour les mesures de pH-métrie, nous avons :

Y_e = 0, E_k = 0, Y₀ = 0, Y₁ = 1 et E_{h_k} = α (α est le coefficient d'activité du proton H⁺)

La convergence de la fonction F est vérifiée, lorsque la valeur du facteur Hamiltonien (ou facteur de reliabilité) R converge vers R_{lim}.

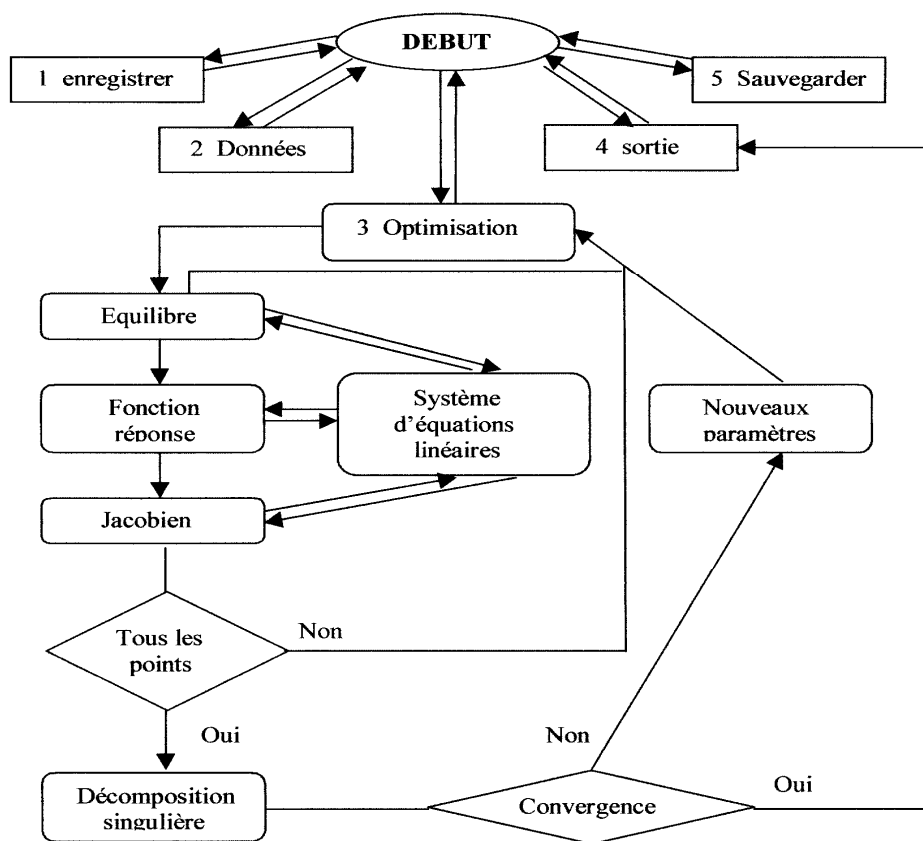
$$R = \left[U / \sum_i W_i (F_i^{\text{exp}})^2 \right]^{1/2}$$

Le facteur R_{lim} est calculé par le programme, il tient compte de toutes les erreurs des mesures expérimentales (concentrations, volumes, valeurs mesurées...), ces dernières sont estimées puis introduites dans le programme.

Le meilleur modèle à retenir doit satisfaire deux conditions :

- Il doit être chimiquement plausible.
- Il doit avoir le facteur R qui converge le plus vers R_{lim} .

L'organigramme suivant résume les différentes étapes d'utilisation du programme SIRKO.



II. 2. Techniques utilisées pour l'étude à l'état solide

Analyse élémentaire

La microanalyse élémentaire du carbone, de l'hydrogène, de l'azote a été réalisée au service central d'analyse ICSN-CNRS, Orsay (France).

Spectrométrie Infra-Rouge

La spectrométrie IR nous a permis de confirmer la formation des complexes et de déterminer les sites qui interviennent dans la complexation.

Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectromètre IR à transformée de Fourier, Perkin Elmer modèle Spectrum-one, de gamme spectrale 4000-400 cm^{-1} .

Les échantillons sont préparés sous forme de pastilles de KBr. Le calibrage de l'appareil a été réalisé au moyen d'un film polystyrène.

Résonance magnétique nucléaire du proton

Les spectres RMN des ligands ont été enregistrés dans le CDCl_3 sur un spectromètre RMN JEOL Gsx 270 MSB (270 MHz), les déplacements chimiques sont donnés en ppm, par rapport au TMS, utilisé comme référence interne.

Spectrométrie électronique d'absorption

Les spectres UV-Visibles nous ont permis de déterminer la coordinence autour de l'ion central, ils ont été enregistrés en solution dans le DMSO à l'aide d'un spectromètre UV-Visible 1601-Shimadzu.

Résonance paramagnétique électronique

Les spectres RPE des complexes ont été enregistrés à température ambiante, à l'état de poudre et en solution dans le DMSO à 250 K et 113K sur un spectromètre Bruker EMX.

Les valeurs des paramètres g et A ont été déterminées par simulation en utilisant le programme Sim Fonia qui est basé sur la théorie des perturbations, il permet le calcul des constantes de couplage hyperfin même lorsque la structure hyperfine n'est pas résolue.

Mesures magnétiques

Les mesures des moments magnétiques ont été effectuées sur un magnétomètre SQUID (Superconducting Quantum Interference Device) dans l'intervalle de température 200-300 K,

avec application d'un champ magnétique de 10000 G. Les corrections diamagnétiques ont été évaluées en utilisant les constantes de Pascal. Les valeurs des moments magnétiques ont été corrigées de la contribution des gélules porte échantillons.

Analyse thermogravimétrie

L'analyse thermogravimétrique a été effectuée dans des creusets en platine à l'aide d'un appareil TGA 2050, sous atmosphère d'azote, dans l'intervalle de température 20-1000°C, à une vitesse de 10°C.min⁻¹.

Analyse conductimétrique

Les mesures de conductivité nous renseignent sur la nature électrolytique des complexes. Elles ont été effectuées à 25°C sur des solutions de concentration 10⁻³ M dans le DMSO à l'aide d'un conductimètre Tacussel type CD 81. La constante de la cellule est de 0.9 cm.

Points de fusion

Les points de fusion ont été mesurés en tubes capillaires à l'aide d'un appareil digital de type Buchi 512.

II. 3. Techniques utilisées pour l'étude de l'activité antifongique

Microorganismes utilisés et conditions de culture

L'activité antifongique des ligands et des complexes a été évaluée sur les souches suivantes obtenues auprès du Laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU d'Angers (LMA):

Des levures du genre *Candida* (*C. albicans* ATCC 66396, *C. glabrata* LMA 90.1085, *C. tropicalis* LMA 91.4959 et *C. parapsilopsis* LMA 93.8558).

Quelques moisissures opportunistes du genre *Aspergillus* (*A. fumigatus* CBS 11326, *A. terreus* LMA 40700121 et *A. flavus* LMA 40110521) ou *Scedosporium* (*S. apiospermum* LMA 90.4595 et *S. prolificans* LMA 40409298).

Des dermatophytes (*Microsporum canis* 50600879, *Microsporum gypseum* 50500961, *Microsporum persicolor* LMA 92.806, *Trichophyton mentagrophytes* LMA 90.406 et *Trichophyton tonsurans* LMA 50600608).

Les souches ont été cultivées à 37°C sur milieu YPDA (extrait de levures-peptone-dextrose-agar) additionné de chloramphénicol (0,5 g/l) en boîtes de Pétri pendant 48 heures pour les levures, pendant 72 heures pour les filamenteux. Quant aux dermatophytes, ils ont été cultivés à 25°C pendant 7 jours sur milieu YPDA additionné de chloramphénicol et de cycloheximide (Actidione® 0,5 g/l) pour éviter une éventuelle contamination par les champignons du genre *Aspergillus*.

Préparation des suspensions

Après incubation, les suspensions ont été préparées de la manière suivante :

Pour les levures, en diluant une colonie de 2 mm de diamètre dans 10 mL d'eau distillée stérile.

Pour les dermatophytes et les *Scedosporium*, le mycélium est récupéré par raclage des géloses avec 2 x 10 mL d'eau distillée stérile. La suspension obtenue est ensuite homogénéisée par broyage au potter mécanique, puis la turbidité est ajustée par étalonnage à une valeur de l'absorbance égale à 0,400 à 450 nm.

Pour les *Aspergillus*, après raclage des géloses en eau distillée, les spores ou conidies sont isolées par filtration sur toile à bluter de 25 µm de porosité, puis la densité du filtrat est ajustée par étalonnage à une absorbance égale à 0,100 à 630 nm.

Détermination de la sensibilité aux antifongiques

En milieu solide : Méthode de diffusion sur gélose

L'activité antifongique a été évaluée par une méthode de diffusion en gélose, déjà approuvée pour les levures, et adaptée pour les champignons filamenteux et les dermatophytes [48].

Dans ce but, des géloses Casitone en boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre sont ensemencées par inondation avec 10 mL de suspension fongique, l'excès de suspension est immédiatement rejeté et les géloses sont séchées pendant 15 min à 37 °C boîtes ouvertes.

Les composés à tester sont solubilisés dans le DMSO à 10 mg/mL. 25 µL de ces solutions sont déposés sur des disques en papier filtre d'un diamètre de 12 mm (rf 710 0223, VWR). Après séchage, les disques sont déposés sur les géloses Casitone préalablement ensemencées par inondation. Puis, les géloses sont incubées à 37 °C pendant 48 heures pour les levures et 72 heures pour les moisissures opportunistes, ou à 25°C pendant 7 jours pour les dermatophytes.

L'activité antifongique est évaluée par mesure du diamètre d'inhibition autour de chaque disque.

Les résultats sont comparés à ceux obtenus pour deux antifongiques de référence, l'Amphotéricine B qui reste aujourd'hui l'antifongique présentant le spectre le plus large, et l'Itraconazole.

L'activité des complexes a été comparée à celle des ligands seuls afin de déterminer l'effet de la complexation sur l'éventuelle activité des ligands. De plus, l'activité réelle des complexes a été déterminée en évaluant l'activité des sels métalliques seuls, et du solvant utilisé. Dans ce but, un contrôle est réalisé en déposant sur les disques 25 μ L de DMSO.

En milieu liquide : Méthode des dilutions

La méthode utilisée est la méthode des macrodilutions en milieu liquide, adaptée en microdilutions sur microplaques [49] et recommandée par le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Le milieu de culture liquide utilisé est constitué de RPMI 1640 additionné de L-glutamine à 2 mM, et tamponné par l'acide 3-(N-morpholino) propane sulfonique (MOPS) à 0,165 M.

Les expériences sont réalisées en triplicate sur des microplaques à 96 puits.

Après 48h d'incubation à 37°C, les spores sont récupérés par raclage des boîtes par 2×10 mL d'eau distillée stérile. La suspension obtenue est homogénéisée par broyage au potter mécanique, après centrifugation pendant 5 min, le culot est repris avec 5 mL d'eau distillée stérile.

L'absorbance de la solution obtenue est ajustée par étalonnage à une valeur de 0,400 à 450 nm de façon à avoir la densité cellulaire de la suspension dans l'intervalle $2,5 - 5.10^6$ cellules/mL.

La solution est ensuite diluée au 1/1000 en milieu RPMI, la densité cellulaire sera donc au final comprise dans l'intervalle $2,5 - 5.10^3$ cellules/mL, elle reflète la densité microbienne au site de l'infection.

Les échantillons à tester sont dissous dans le DMSO à 10 mg/mL, ensuite dilués de demi en demi de telle sorte à avoir les concentrations: 10 ; 5 ; 2,5 ; 1,25 ; 0,62 ; 0,31 ; 0,16 ; 0,08 mg/mL.

On dépose par puits : 195 μ L de milieu RPMIensemencé à $2,5 - 5.10^3$ cellules/mL et 5 μ L du composé à tester aux différentes concentrations. Au final, les concentrations des échantillons sont donc : 250, 125, 62, 31, 16, 8, 4 et 2 μ g/mL.

Des contrôles de croissance sont réalisés en déposant dans un puits 195 μL de milieu RPMIensemencé + 5 μL de DMSO. Et pour les contrôles de stérilité, on dépose 195 μL de milieu RPMI nonensemencé + 5 μL de DMSO.

La concentration minimale inhibitrice CMI est ensuite déterminée. Une très légère croissance est observée à presque toutes les concentrations en milieu liquide, d'où la recommandation de retenir comme concentration limite, celle du premier puits dans lequel on observe une réduction de la croissance de 90% (MIC_{90}) par rapport au témoin de croissance.

II.4. Technique utilisée pour l'évaluation du pouvoir antioxydant

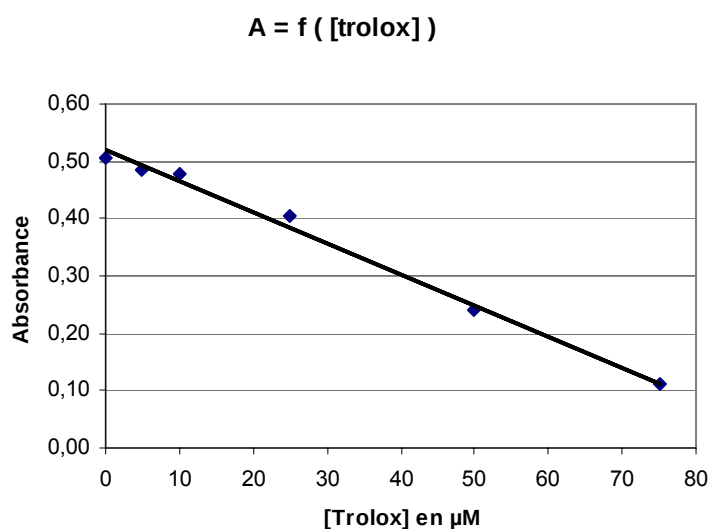
Le pouvoir antioxydant de nos produits a été évalué par la méthode au DPPH (1,1 diphényl-2-picryl-hydrazyl) [50], c'est une méthode simple, rapide et peu coûteuse, c'est en fait un simple procédé de spectrophotométrie.

Le DPPH est un radical stable de couleur mauve qui absorbe à 517 nm, sa couleur passe au jaune lorsque son électron célibataire est apparié en réagissant avec un antioxydant.

L'antioxydant de référence que nous avons utilisé est le Trolox (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman-2-carboxylique). Pour cela, une gamme de solution étalon de Trolox est préparée dans le méthanol absolu.

A 100 μL de chacune de ces solutions sont ajoutées 25 μL d'une solution de DPPH à 1 mM dans une microplaque à 96 puits, l'absorbance est ensuite mesurée après 30 mn à 517 nm.

La courbe d'étalonnage suivante a été tracée, elle servira pour estimer le pouvoir antioxydant des ligands et des complexes qui sera exprimé en équivalent Trolox.



Les solutions des échantillons ont été préparées à 50 µM dans le méthanol absolu, 100 µL de chacune de ces solutions sont ajoutés à 25 µL de DPPH à 1 mM, l'absorbance est mesurée après 30 mn sur microplaques, les mesures sont réalisées en triplicate. L'absorbance de chaque mélange est ensuite exprimée en équivalent Trolox à l'aide de la courbe précédente.

II.5. Techniques utilisée pour l'étude de l'activité antileishmania

Culture des Leishmania

Les promastigotes de *L. mexicana* (MHOM/MX/95/NAN1) et *L. major* (MHOM/SEN/96/NAN2) sont cultivées à 26°C dans un milieu Schneider's insect auquel sont ajoutés 15% de Serum Bovin Fœtal (FBS), de la penicilline G (100 UI/mL) et de la streptomycine (50 µg/mL).

Détermination de l'activité anti-Leishmania sur le stade promastigote

L'activité anti-Leishmania sur le stade promastigote a été évaluée par une méthode de mesure de la viabilité cellulaire par fluorescence [51]. Les expériences sont réalisées en triplicate sur des microplaques à 96 puits. Les suspensions de parasites sont préparées à 10⁶ promastigote/mL.

100 µL de suspension de promastigote sont déposés dans les puits auxquels sont ajoutés 100 µL des différentes concentrations (100 à 0,1 µg/mL) de l'échantillon à tester. Les microplaques sont ensuite incubées à 26°C pendant 96h. 4 h avant la mesure, 10 µL de

Uptiblué sont ajoutées dans chaque puits. La fluorescence est mesurée à 590 nm avec une excitation à 550 nm.

Détermination de l'activité anti-Leishmania sur le stade amastigote

L'activité anti-Leishmania sur le stade amastigote a été évaluée sur des macrophages péritonéaux de souris Balb/c infestés par les parasites [52]. Les macrophages péritonéaux sont prélevés après injection intrapéritonéale de RPMI chez la souris. Ils sont cultivés sur des lamelles de verre dans des plaques à 24 puits (10^5 cellules /puits) pendant 24 h à 37°C dans une atmosphère contenant 5% de CO₂. Puis, $1,5 \cdot 10^6$ promastigotes sont ajoutés dans chaque puits. Après une incubation à 37°C pendant 24 h, les puits sont lavés afin d'éliminer les promastigotes non adhérents.

Ensuite, les échantillons sont ajoutés dans les puits à différentes concentrations (duplicate) allant de 100 à 0,1 µg/mL. Après une incubation pendant 96 h à 37°C, les cellules sont colorées au May-Grunwald-Giemsa.

L'analyse microscopique consiste à compter le nombre d'amastigote par macrophage sur 100 cellules choisies au hasard. Les résultats sont exprimés par la concentration qui produit 50% d'inhibition (CI₅₀).

Chapitre III : Synthèse des ligands

III. 1. Introduction

Dans le cadre des travaux entrepris dans notre laboratoire depuis quelques années [35-39, 53, 54], en vue de la synthèse et la caractérisation de complexes de bases de Schiff réduites d'intérêt biologique, et après la mise au point bibliographique présentée dans le chapitre précédent, il nous a paru intéressant d'étudier les complexes d'une nouvelle série de bases de Schiff réduite comportant un cycle aromatique à la place du groupement saturé de l'éthylène diamine ($\text{CH}_2\text{-CH}_2$).

Beaucoup de travaux ont été rapportés sur les bases de Schiff dérivées de l'*o*-phénylènediamine [19, 21, 23, 26, 29, 55, 56]. Ils ont montré l'intérêt particulier de cette famille de ligand comparé à ceux dérivés des amines aliphatiques. Cependant, leurs homologues réduits n'ont pas été étudiés. Nous avons donc procédé à la synthèse et à la caractérisation de ces derniers dont le schéma structural est présenté sur la figure 4.

Nous présentons dans ce chapitre, la synthèse de ces ligands ainsi que les différentes techniques utilisées pour leur caractérisation.

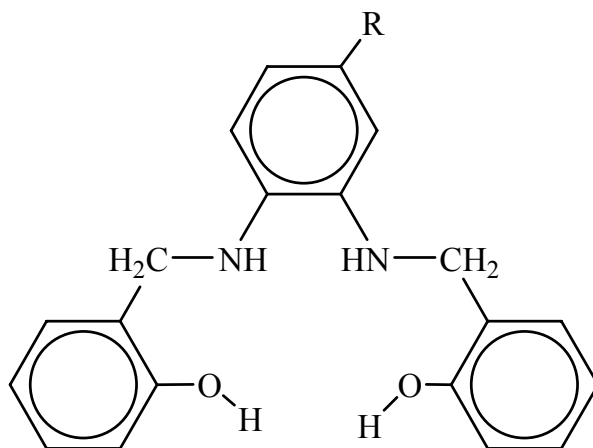


Figure 4: Formule des ligands: H_2L^1 : $\text{R} = \text{H}$, H_2L^2 : $\text{R} = \text{CH}_3$, H_2L^3 : $\text{R} = \text{Cl}$

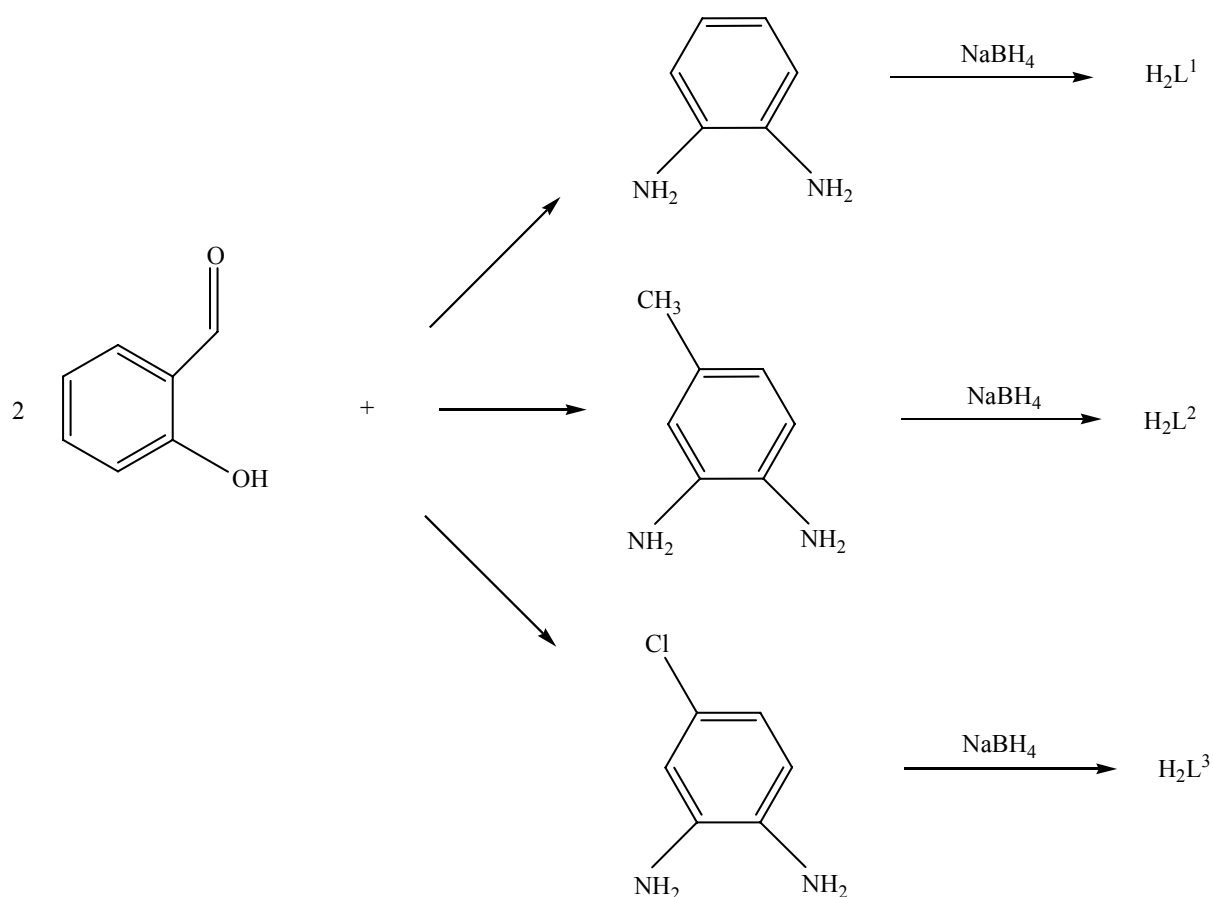
III. 2. Synthèse des ligands

Les ligands H_2L^{1-3} ont été synthétisés en deux étapes [57] : la première étant une réaction de condensation dans l'éthanol entre 2 mmol de salicyaldéhyde et 1 mmol d'*o*-phénylènediamine pour H_2L^1 , de 3, 4- diaminotoluène pour H_2L^2 , de 4-chloro 1, 2, phénylènediamine pour H_2L^3 . Ces mélanges ont été maintenus trois heures sous reflux, les

bases de Schiff résultantes ont été récupérées par filtration, ensuite recristallisées dans l'éthanol et caractérisées par analyse élémentaire, RMN du proton et spectrométrie infra rouge.

La deuxième étape de cette synthèse est la réduction des liaisons imines en amines selon la méthode suivante : à 1 mmol de base de Schiff dissoute dans 30 mL d'éthanol absolu sont ajoutés progressivement par spatulées 3 mmol de NaBH_4 , le mélange est maintenu sous agitation pendant 4 heures durant lesquelles une décoloration de la solution est observée. Ensuite, le mélange est dilué avec de l'eau distillée et acidifié avec 2 mL de HCl dilué. Le nouveau ligand est extrait avec du dichlorométhane, après évaporation, il est lavé avec du diéthyl éther. Le résidu obtenu est maintenu sous agitation constante dans l'hexane jusqu'à obtention d'une poudre, qui est ensuite filtrée et conservée dans un dessiccateur sous vide.

Les étapes de cette synthèse sont représentées par le schéma suivant :



III. 3. Caractérisation des ligands

III. 3. 1. Propriétés physiques et données analytiques

Les ligands obtenus sont insolubles dans l'eau, mais très solubles dans les solvants organiques tels que : l'éthanol, le méthanol, le CHCl_3 et le DMSO.

Les résultats de leur analyse élémentaire donnés ci-dessous montrent que les formules obtenues correspondent bien aux produits attendus.

Tableau III : Analyse élémentaire et propriétés physiques des ligands.

Ligands	Exp. (calc.)			Rendement (%)	Point de fusion (°C)
	C	H	N		
H_2L^1	75,32 (75,00)	6,49 (6,25)	8,28 (8,75)	63	104
H_2L^2	75,56 (75,44)	6,35 (6,58)	8,42 (8,38)	58	106
H_2L^3	67,56 (67,70)	5,49 (5,35)	7,45 (7,89)	65	123

III. 3. 2. Spectrométrie UV-Visible

Les spectres UV-Visible des ligands enregistrés en solution dans le DMSO (figure 5) présentent des bandes intenses dans le domaine $27000\text{-}37000\text{ cm}^{-1}$, attribuées à des transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ [58, 59].

Les caractéristiques de ces bandes sont regroupées dans le tableau IV.

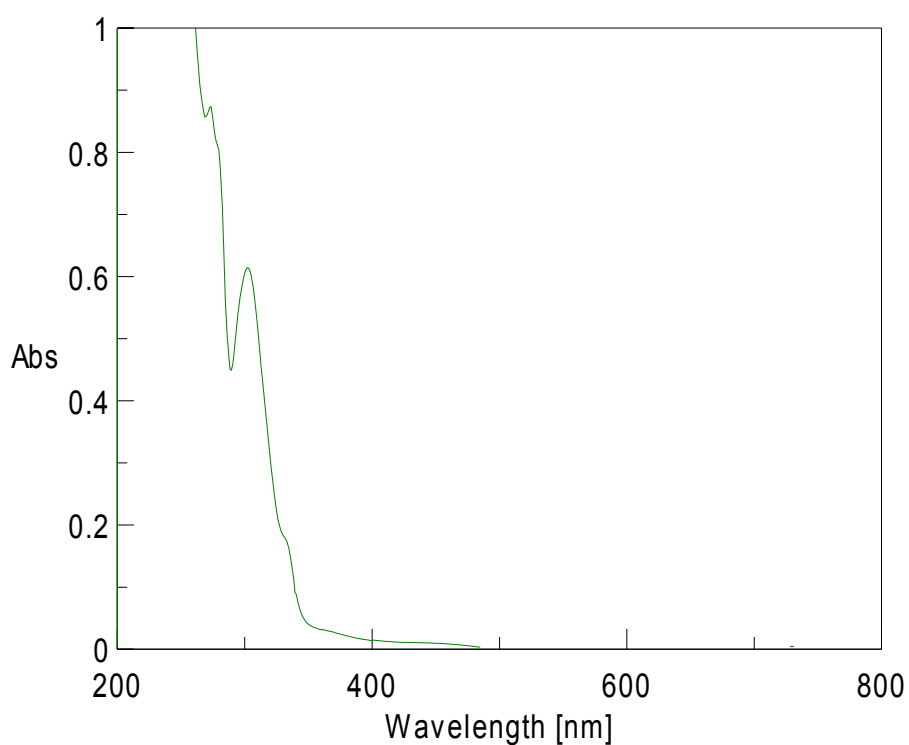


Figure 5 : Spectre électronique d'absorption de H_2L^2 dans le DMSO, $C=10^{-4}M$.

Tableau IV: Spectres électroniques d'absorption des ligands.

Ligands	λ nm (cm^{-1})	ϵ ($l.mol^{-1}.cm^{-1}$)
H_2L^1	322 (30120)	1750
	307 (32573)	5400
	275 (36363)	9850
H_2L^2	333 (30030)	1800
	309 (32362)	6200
	273 (36630)	8750
H_2L^3	367 (27247)	2200
	309 (32362)	6000
	270 (37037)	16500

III. 3. 3. Spectrométrie infra rouge

Les spectres IR des ligands ont été interprétés par comparaison à ceux de leurs bases de Schiff correspondantes.

Comme le montre la figure 6, on observe sur le spectre du ligand H_2L^1 l'apparition de nouvelles bandes vers 3300 cm^{-1} relatives aux vibrations d'élongation des liaisons N-H formées après réduction de la liaison C=N. On observe également la disparition de la bande intense située vers 1620 cm^{-1} due à la liaison C=N [60].

Sur le spectre de la base de Schiff apparaissent deux bandes d'absorption à 1190 et 1287 cm^{-1} dues aux vibrations d'élongation de la liaison C-N entre l'atome d'azote et le carbone du cycle aromatique. Après réduction, ces deux bandes disparaissent et laissent apparaître une seule bande à 1229 cm^{-1} à cause de la disparition de la conjugaison [60].

L'analyse des spectres IR des trois ligands montre que dans le domaine $3200\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$ apparaissent des bandes d'intensité moyenne, elles sont dues aux vibrations d'élongation des liaisons N-H. Vers 3050 cm^{-1} , nous observons une bande de faible intensité attribuée aux vibrations d'élongation des liaisons O-H.

Les bandes relatives aux vibrations de déformation des liaisons N-H et O-H et des vibrations d'élongation des liaisons C=C apparaissent dans l'intervalle $1590\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$.

La région $1300\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ est le domaine des vibrations des liaisons C-N et C-O.

Un pic intense apparaît vers 750 cm^{-1} , il est dû aux vibrations de déformation des liaisons C-H des cycles benzéniques.

Les principales bandes de vibrations des trois ligands sont regroupées dans le tableau V.

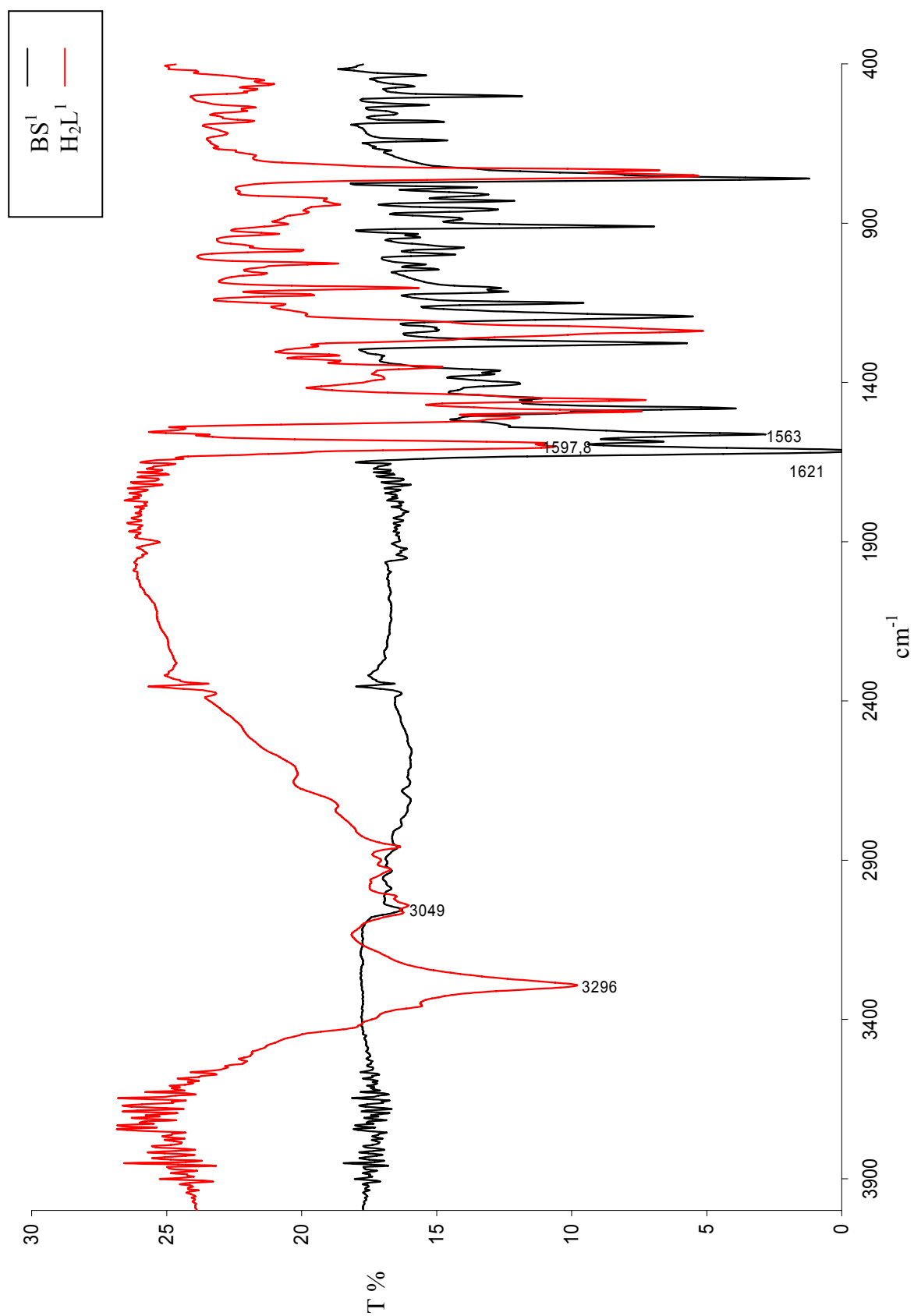


Figure 6 : Spectre IR du ligand H₂L¹ et de la base de Schiff correspondante BS¹.

Tableau V: Principales bandes IR (en cm^{-1}) des ligands.

Ligand	ν (N-H)	ν (O-H)	δ (N-H)	ν (C-N)	ν (C-O)	ν (Φ)
H_2L^1	3296	3049	1587	1229	1106	750
H_2L^2	3288	3040	1585	1235	1105	755
H_2L^3	3314	3030	1595	1265	1100	750

III. 3. 4. Spectrométrie RMN

Les spectres RMN des ligands sont comparés à ceux de leurs bases de Schiff correspondantes (figure 7). Il a été observé principalement : la disparition du pic situé vers 8,7 ppm relatif au groupement azométhine $\text{HC}=\text{N}$, et l'apparition d'un nouveau pic vers 4,3 ppm associé au groupement CH_2 formé.

Ces données confirment bien les résultats de l'infra rouge, elles montrent qu'il y a bien eu réduction totale des bases de Schiff en amine.

Le signal du groupement méthyle du ligand H_2L^2 apparaît à 2,4 ppm. Ceux des hydrogènes des groupements benzéniques apparaissent sous forme de massif entre 6,2 et 7,5 ppm.

Les signaux qui apparaissent à 1,54 et 7,26 ppm sont attribués au solvant (CDCl_3).

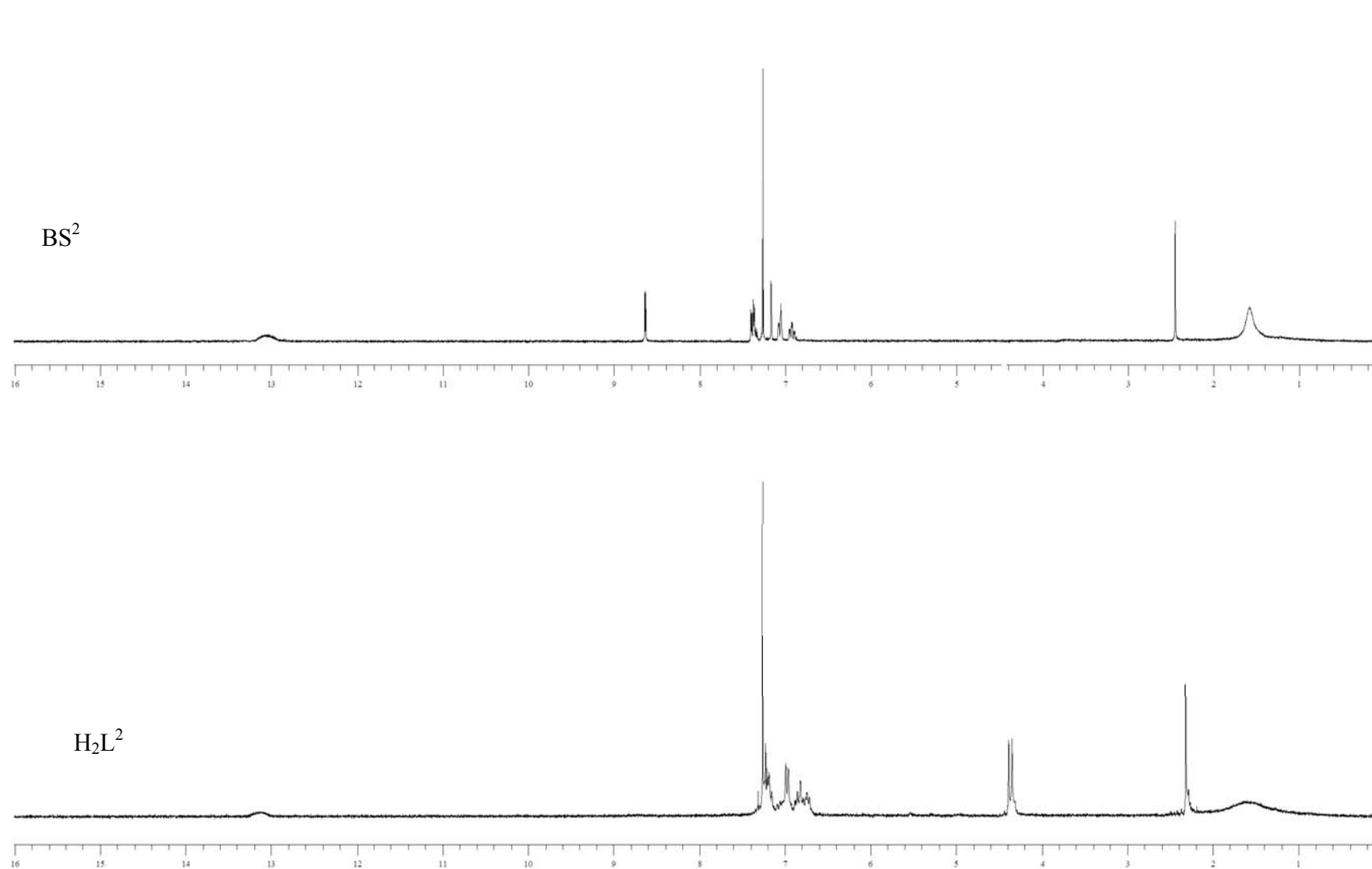


Figure 7 : Spectre RMN du ligand H_2L^2 et de la base de Schiff correspondante BS^2 .

Chapitre IV : Formation et stabilité des complexes en solution

IV. 1. Introduction

Peu de travaux sur la formation et la stabilité des complexes des bases de Schiff en solution ont été menés [33, 54, 56, 61, 62], contrairement à ceux de leurs complexes à l'état solide qui eux ont donné lieu à de très nombreuses publications répertoriées dans plusieurs mises au point [19, 63-65].

Nous présentons dans ce chapitre, l'étude de la formation en solution des complexes des ligands H_2L^{1-3} avec le manganèse (II), le cobalt (II), le nickel (II) et le cuivre (II). Cette étude a été réalisée par potentiométrie, elle a permis la détermination des constantes de protonations des ligands et des constantes de stabilité des complexes à l'aide du programme de calcul Sirko.

Le but de cette étude était d'une part, de vérifier que les ligands H_2L^{1-3} avaient bien un pouvoir complexant sur ces ions métalliques, et d'autre part, de déterminer l'effet de la réduction de la liaison $C=N$ sur l'acidité des ligands et la stabilité des complexes en solution, en comparaison avec celles rapportés dans la littérature des bases de Schiff analogues [21].

IV. 2. Titrage des ligands et calcul des constantes de protonation

Les solutions des ligands seuls ont été titrées à la concentration 5.10^{-3} M dans les conditions données au chapitre II. L'examen de leur courbe de titrage (figure 8) révèle deux points d'inflexion, le premier entre $pH = 4$ et $pH = 5$ correspondant à la neutralisation des groupements amine protonés. Le second se situe vers $pH = 8$ et correspond à la neutralisation des deux groupements phénoliques.

L'affinement des résultats expérimentaux a permis de calculer quatre constantes globales de protonation pour les ligands. Elles sont définies par l'équilibre suivant :



Les valeurs des constantes globales obtenues ainsi que les constantes successives $\log K_i$ correspondantes et leurs facteurs de reliabilité sont regroupées dans le tableau VI.

Les ligands sont des chélatants tétradentés possédant deux groupements phénoliques faiblement acides auxquels correspondent les valeurs les plus élevées des constantes de protonation, et deux groupements amines protonés plus acides pour lesquels sont attribués les deux autres constantes.

Tableau VI : Constantes de protonation ($\text{Log } \beta$) des ligands obtenues en milieu eau-éthanol (90 /10% vol./vol.) T = 25°C, I = 0,2 M dans NaCl.

qr	$\text{Log } \beta_{qr}$			équilibres	$\text{Log } K_i$		
	H_2L^1	H_2L^2	H_2L^3		H_2L^1	H_2L^2	H_2L^3
11	11,30 ($\pm 0,04$)	12,32 ($\pm 0,04$)	10,88 ($\pm 0,04$)	$\text{L}^{-2}/\text{HL}^{-}$	11,30	12,32	10,88
21	21,59 ($\pm 0,04$)	23,08 ($\pm 0,04$)	20,74 ($\pm 0,04$)	$\text{HL}^{-}/\text{H}_2\text{L}$	10,29	10,76	9,86
31	26,71 ($\pm 0,04$)	29,10 ($\pm 0,04$)	25,04 ($\pm 0,04$)	$\text{H}_2\text{L}/\text{H}_3\text{L}^{+}$	5,12	6,02	4,30
41	32,53 ($\pm 0,04$)	35,85 ($\pm 0,04$)	30,00 ($\pm 0,04$)	$\text{H}_3\text{L}^{+}/\text{H}_4\text{L}^{+2}$	5,82	6,75	4,96
R%	0,54	0,43	0,58				
R _{lim}	0,42	0,38	0,61				

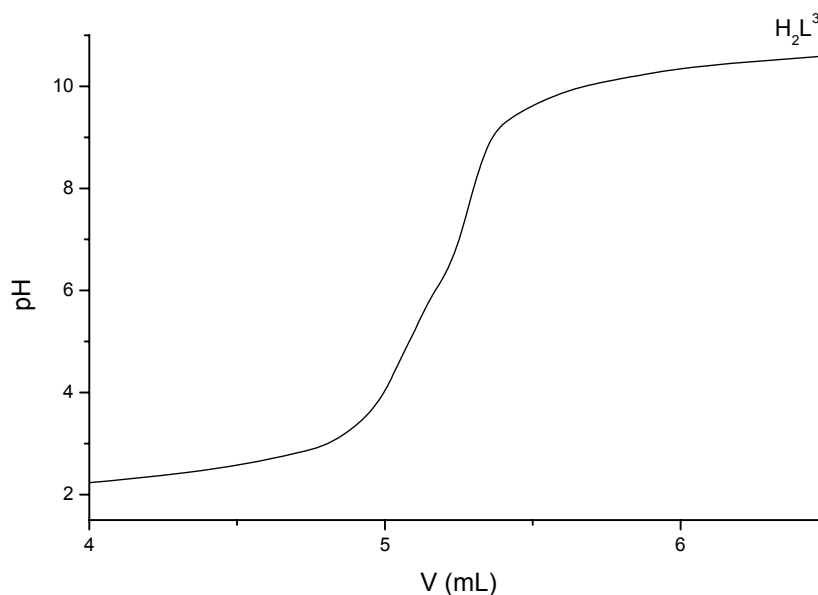


Figure 8 : Courbe de titrage du ligand H_2L^3 , en milieu eau-éthanol (90 /10% vol./vol.) T = 25°C, I = 0,2 M dans NaCl, $[\text{H}_2\text{L}^3] = 0.005 \text{ M}$, $[\text{NaOH}] = 0,1 \text{ M}$.

IV. 3. Discussion des résultats

L'examen des constantes de protonation des ligands montre que le ligand H_2L^2 présente la constante de protonation la plus élevée, tandis que H_2L^3 présente la plus faible. Cela est dû à l'effet donneur du substituant R qui dans le cas de H_2L^2 ($R = CH_3$) renforce la densité électronique des atomes donneurs N et O, alors que dans le cas de H_2L^3 ($R = Cl$) produit l'effet contraire [62]. On peut ainsi établir pour les ligands l'ordre de basicité suivant :

$$H_2L^2 > H_2L^1 > H_2L^3.$$

La comparaison des constantes de protonation de ces ligands à celles rapportées pour leurs bases de Schiff correspondantes [19] montre que ces ligands présentent des constantes de protonation plus élevées, particulièrement celles associées aux atomes d'azote. Cela peut s'expliquer par le fait qu'un azote sp^2 est moins basique qu'un azote sp^3 [16]. En effet, ce dernier permet une meilleure distribution de la charge dans le solvant du fait que son doublet libre est plus disponible. La réduction de la liaison $C=N$ rend donc les ligands plus basiques.

La figure 9 représente la répartition en fonction du pH des différentes espèces protonées du ligand H_2L^1 . Des courbes similaires ont été obtenues pour H_2L^2 et H_2L^3 .

En milieu acide, l'espèce prédominante est H_4L^{2+} , elle commence à se déprotoner à partir de $pH = 4$ pour former successivement H_3L^+ , H_2L , HL^- et L^{2-} . La forme neutre H_2L est l'espèce prédominante dans le domaine de $pH = 7-9$.

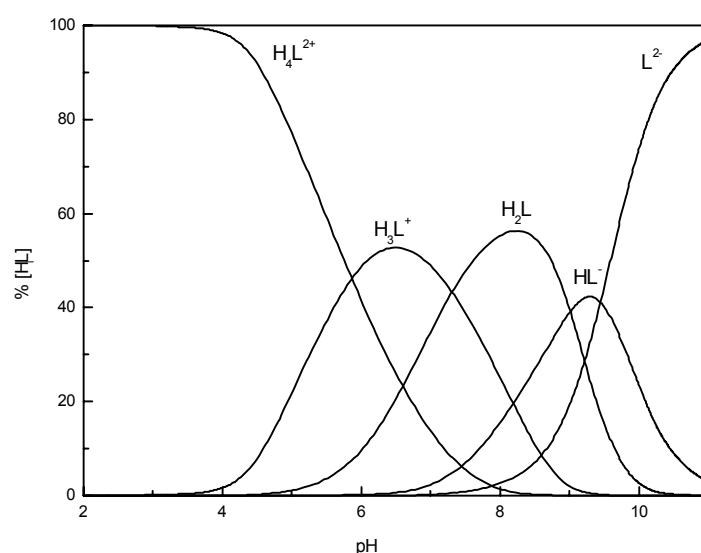


Figure 9 : Courbes de répartition des espèces en solution pour le ligand H_2L^1 .

IV. 4. Titrage des complexes

Le titrage des solutions de ligands en présence de l'ion métallique a été effectué pour un rapport molaire métal : ligand égal à 1 : 1 et $[H_2L] = [M^{2+}] = 10^{-4}$ M. Quelques courbes de titrage des complexes sont représentées sur les figures 10-13, tous les autres systèmes présentent des courbes similaires.

La comparaison des courbes de titrage des complexes à celles de ligands laisse apparaître une divergence des deux courbes à partir de pH= 3. Cette divergence reflète la formation de nouvelles espèces en solution.

Les courbes de titrage des complexes avec les quatre cations métalliques présentent deux points d'inflexion qui peuvent être associés à la formation de deux espèces différentes, la première vers pH = 5 et la seconde vers pH = 8.

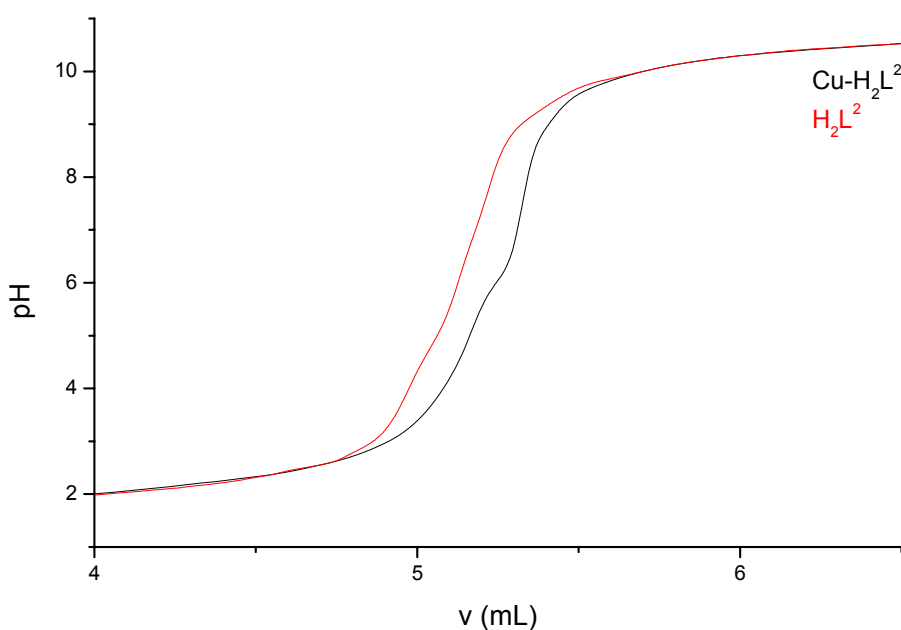


Figure 10 : Courbe de titrage du système $Cu-H_2L^2$, en milieu eau-éthanol (90/10% vol./vol.) $T = 25^\circ C$, $I = 0,2$ M dans NaCl, $[Cu^{2+}] = [H_2L^2] = 10^{-4}$ M, $[NaOH] = 0,1$ M

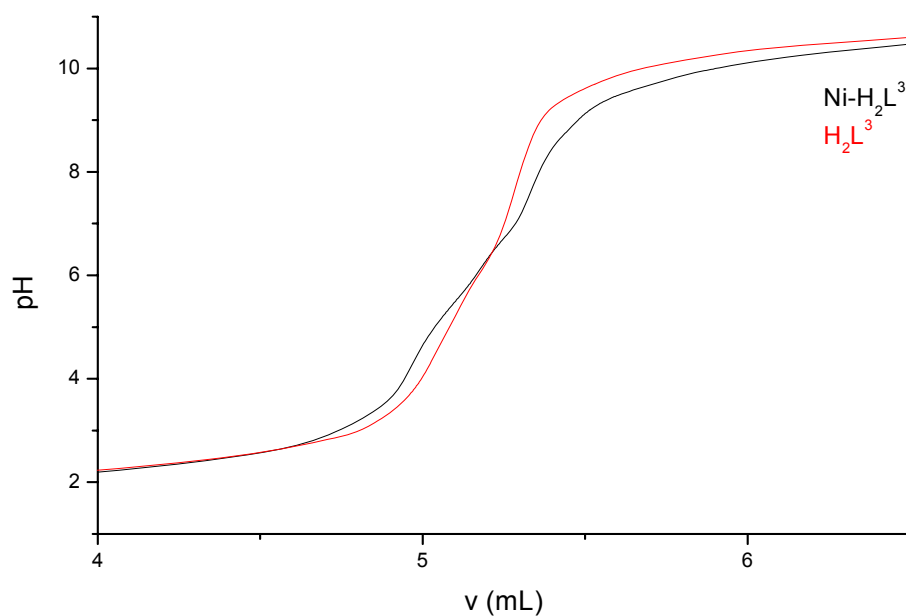


Figure 11 : Courbe de titrage du système $\text{Ni-H}_2\text{L}^3$, en milieu eau-éthanol (90 /10% vol./vol.) $T = 25^\circ\text{C}$, $I = 0,2 \text{ M}$ dans NaCl , $[\text{Ni}^{2+}] = [\text{H}_2\text{L}^3] = 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{NaOH}] = 0,1 \text{ M}$.

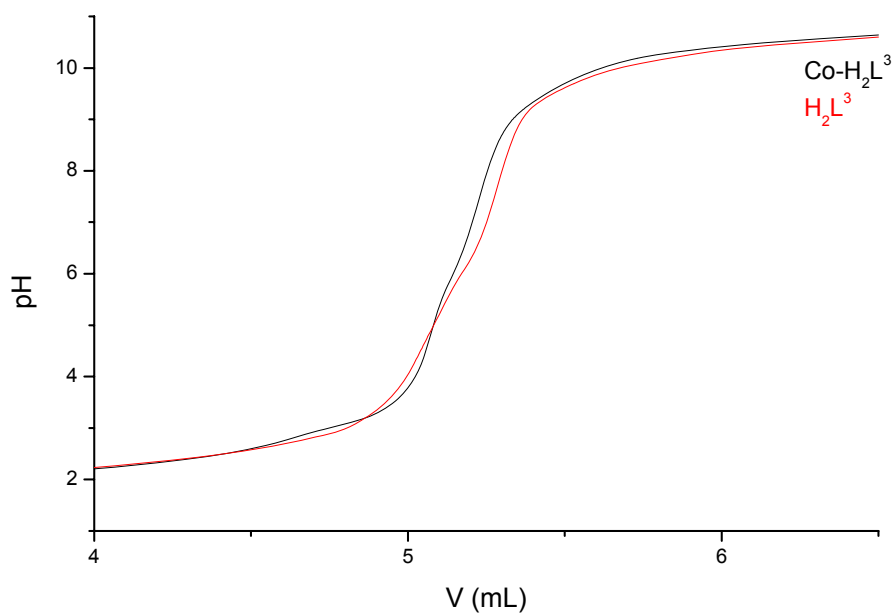


Figure 12 : Courbe de titrage du système $\text{Co-H}_2\text{L}^3$, en milieu eau-éthanol (90 /10% vol./vol.) $T = 25^\circ\text{C}$, $I = 0,2 \text{ M}$ dans NaCl , $[\text{Co}^{2+}] = [\text{H}_2\text{L}^3] = 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{NaOH}] = 0,1 \text{ M}$.

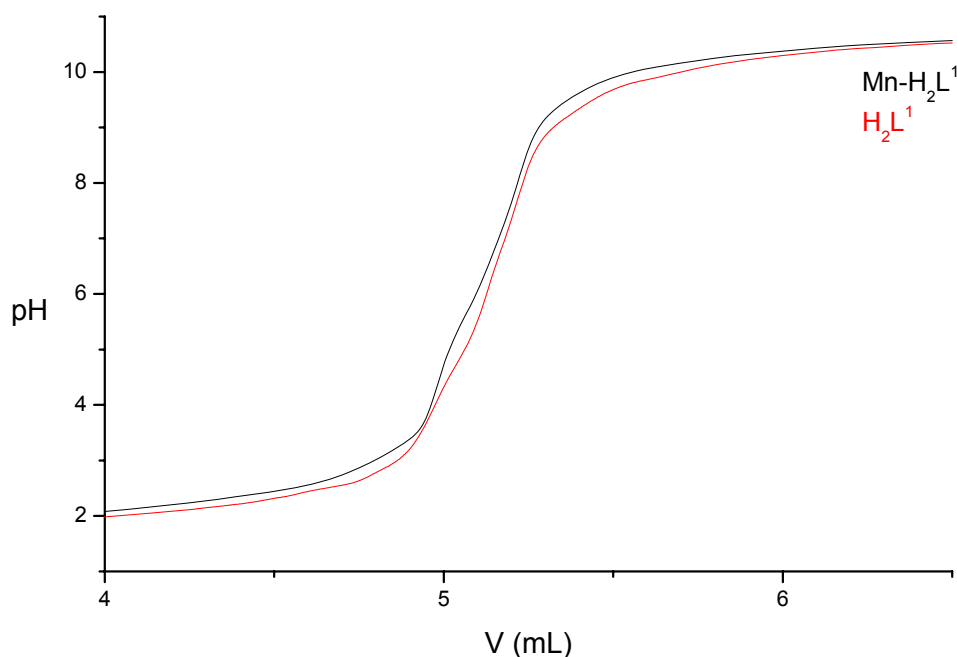
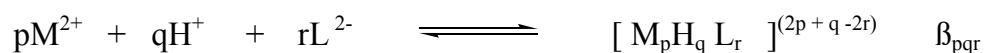


Figure 13 : Courbe de titrage du système $\text{Mn-H}_2\text{L}^1$, en milieu eau-éthanol (90 /10% vol./vol.) $T = 25^\circ\text{C}$, $I = 0,2 \text{ M}$ dans NaCl , $[\text{Mn}^{2+}] = [\text{H}_2\text{L}^1] = 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{NaOH}] = 0,1 \text{ M}$.

IV. 5. Calcul des constantes de stabilité

La formation des complexes est régie par l'équilibre :



La constante de stabilité est donnée par la formule :

$$\beta_{pqr} = [\text{M}_p\text{H}_q\text{L}_r]^{(2p+q-2r)} / [\text{M}^{2+}]^p [\text{H}^+]^q [\text{L}^{2-}]^r$$

Pour le calcul des constantes de stabilité des complexes avec le programme Sirko, il a fallu tester plusieurs modèles d'équilibres susceptibles de modéliser la formation de ces complexes en solution. Le modèle retenu est celui qui correspond au facteur de reliabilité R le plus convergent vers le facteur R_{lim} donné par le programme.

Pour tous les systèmes étudiés, le modèle qui a donné le meilleur affinement est celui de la formation des deux espèces : $[M(HL)]^+$ et $[ML]$ dont les constantes de stabilité obtenues sont regroupées sur le tableau VII.

Le premier complexe $[M(HL)]^+$ se forme en milieu acide par coordination à l'ion central du ligand sous forme HL^- , il se déprotone avec l'accroissement du pH pour former le complexe ML .

Tableau VII : Constantes de stabilité des complexes déterminées dans le milieu eau-éthanol (90 /10% vol./vol.), T = 25°C, I = 0,2 M dans NaCl

Complexes	Mn (II)	Co (II)	Ni (II)	Cu (II)
$[M(HL^1)]^+$	7,94 ($\pm 0,01$)	10,32 ($\pm 0,10$)	10,58 ($\pm 0,08$)	10,95 ($\pm 0,05$)
$[ML^1]$	14,23 ($\pm 0,04$)	16,41 ($\pm 0,06$)	16,85 ($\pm 0,04$)	17,31 ($\pm 0,01$)
$[M(HL^2)]^+$	8,02 ($\pm 0,05$)	10,87 ($\pm 0,04$)	11,05 ($\pm 0,10$)	11,45 ($\pm 0,06$)
$[ML^2]$	14,81 ($\pm 0,06$)	17,20 ($\pm 0,02$)	17,32 ($\pm 0,08$)	17,81 ($\pm 0,04$)
$[M(HL^3)]^+$	6,13 ($\pm 0,01$)	9,81 ($\pm 0,07$)	9,74 ($\pm 0,09$)	10,21 ($\pm 0,07$)
$[ML^3]$	12,48 ($\pm 0,07$)	15,31 ($\pm 0,05$)	15,22 ($\pm 0,03$)	16,10 ($\pm 0,08$)

IV. 6. Discussion des résultats

Après examen des valeurs des constantes de stabilité obtenues, il apparaît que les complexes du système $H_2L^2-M(II)$ ($M(II) = Ni, Cu, Mn, Co$) présentent des constantes de stabilité plus élevées que ceux du système $H_2L^1-M(II)$ ($M(II) = Ni, Cu, Mn, Co$), ce qui est attribué à l'effet donneur du groupement méthyle qui enrichi les atomes d'azotes en électrons et rend donc ce ligand plus complexant [62].

En revanche, le système $H_2L^3-M(II)$ ($M(II) = Ni, Cu, Mn, Co$) donne les complexes les moins stables à cause de l'effet électronique attracteur de l'atome de chlore.

Ainsi, pour un même ion métallique, l'ordre de stabilité des complexes est : $H_2L^2 > H_2L^1 > H_2L^3$, il est en accord avec l'ordre de basicité de ces ligands.

D'autre part, en comparant les complexes formés avec un même ligand, on constate que les complexes formés avec le cuivre sont les plus stables, et l'ordre de stabilité observé en fonction de l'ion métallique est le suivant $\text{Cu} > \text{Ni} > \text{Co} > \text{Mn}$, tout à fait en accord avec la série d'Irving et Williams.

Les complexes formés avec le nickel et le cobalt sont plus stables que ceux rapportés dans la littérature [19] avec les bases de Schiff correspondantes aux ligands H_2L^{1-3} . Ceci montre que la réduction des liaisons $\text{C}=\text{N}$ est favorable pour la complexation, car elle rend le ligand plus flexible, ce qui lui permet d'adopter la conformation la plus stable en se liant aux cations métalliques. Ce résultat est en accord avec des travaux rapportés pour des bases de Schiff réduites [30, 32, 33, 66].

IV. 7. Répartition des espèces en fonction du pH

A partir du calcul des constantes de stabilité des complexes, les courbes de répartition des différentes espèces ont été tracées en fonction du pH à l'aide du programme Sirko. Nous avons représenté sur les figures 14-17 quelques unes de ces courbes.

La figure 14 montre que pour le système $\text{Cu-H}_2\text{L}^2$, la complexation commence à partir de $\text{pH} = 3$ avec la formation de $[\text{CuHL}^2]^+$ qui atteint son maximum de formation (34%) à $\text{pH} = 5$. A partir de $\text{pH} = 6$, l'espèce $[\text{CuL}^2]$ est prédominante, elle atteint son maximum de formation (100%) à $\text{pH} = 10$.

Pour le système $\text{Ni-H}_2\text{L}^3$ (figure 15), l'espèce $[\text{NiHL}^3]^+$ commence à se former à $\text{pH} = 3,5$ et atteint un maximum de 40% de formation à $\text{pH} = 6$. Au-delà, c'est le complexe NiL^3 qui prédomine.

L'examen de la figure 16 montre que le complexe $[\text{CoHL}^3]^+$ se forme à $\text{pH} = 4$ et atteint 50% de formation à $\text{pH} = 6$. A partir de $\text{pH} = 7$, le complexe CoL^3 prédomine et devient la seule espèce présente en solution à partir de $\text{pH} = 10$.

Dans le cas du système $\text{Mn-H}_2\text{L}^1$ (figure 17), la complexation commence dès le début du titrage, le complexe $[\text{MnHL}^1]^+$ se forme en milieu très acide et il atteint son maximum de formation (40%) à $\text{pH} = 4$. Le complexe MnL^1 apparaît en solution dès $\text{pH} = 4$, il se forme à 100% à partir de $\text{pH} = 9,5$.

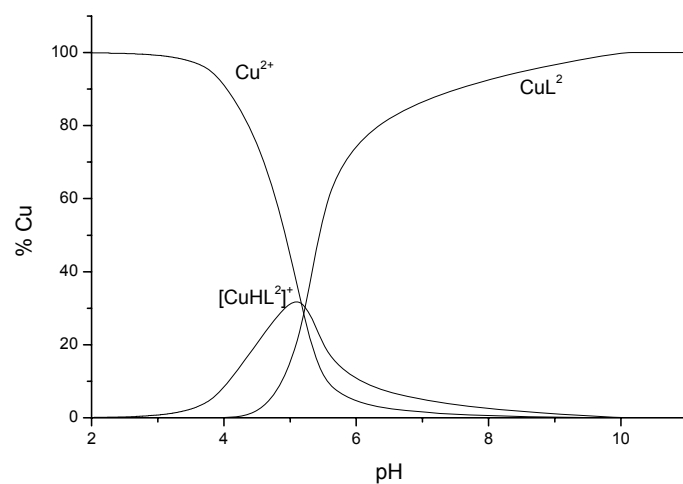


Figure 14 : Courbe de répartition des espèces du système $\text{Cu-H}_2\text{L}^2$, $[\text{Cu}^{2+}] = [\text{H}_2\text{L}^2] = 10^{-4}\text{M}$.

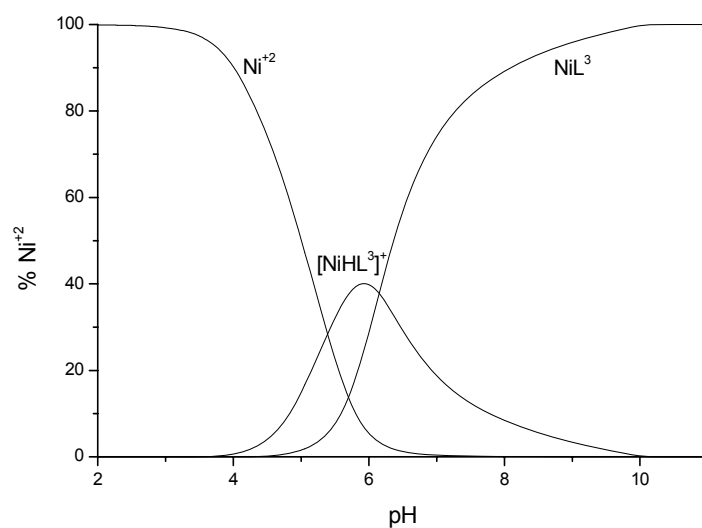
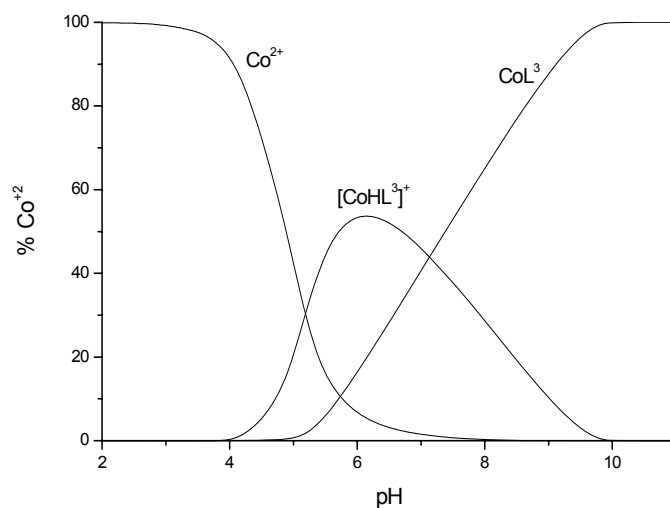
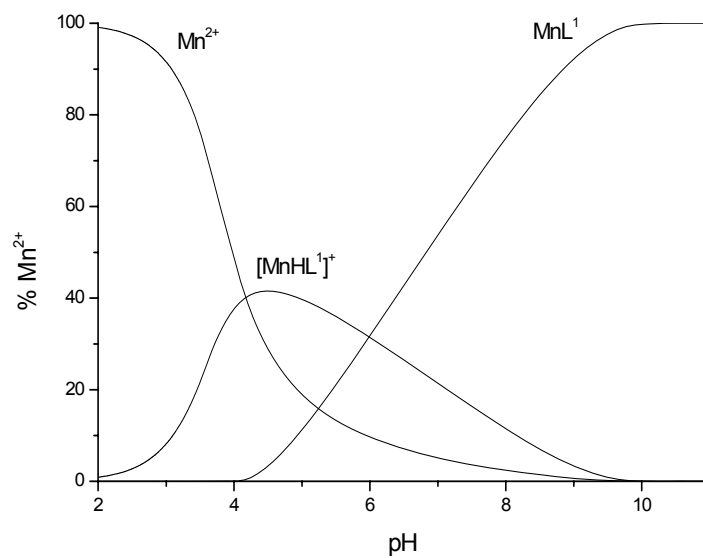


Figure 15 : Courbe de répartition des espèces du système $\text{Ni-H}_2\text{L}^3$, $[\text{Ni}^{2+}] = [\text{H}_2\text{L}] = 10^{-4}\text{M}$.



**Figure 16 : Courbe de répartition des espèces du système Co-H₂L³,
[Co²⁺] = [H₂L³] = 10⁻⁴M.**



**Figure 17 : Courbe de répartition des espèces du système Mn-H₂L¹,
[Mn²⁺] = [H₂L¹] = 10⁻⁴M.**

IV. 8. Conclusion

L'étude de la stabilité en solution des complexes formés avec les ligands H_2L^{1-3} et les ions métalliques : Cu(II), Ni(II), Co(II) et Mn(II) a été entreprise par potentiométrie à 25 °C en milieu eau-éthanol (90 /10% vol./vol.) et à force ionique $I= 0,2$ M dans NaCl.

L'affinement des résultats expérimentaux effectué à l'aide du programme Sirko, a permis de calculer les constantes de protonation des ligands, d'identifier les complexes formés en solution et de calculer leurs constantes de stabilité.

Les résultats obtenus ont permis d'établir l'ordre de basicité suivant pour les ligands :



L'affinement de plusieurs modèles théoriques a montré la formation des deux espèces $[M(HL)]^+$ et $[ML]$.

Les résultats de cette étude ont montré que :

- Pour un même ion métallique, les complexes les plus stables se forment avec le ligand H_2L^2 et l'ordre de stabilité obtenu est en accord avec l'ordre de basicité des ligands.
- Pour un même ligand, les complexes les plus stables se forment avec le cuivre et l'ordre observé : $Cu > Ni > Co > Mn$ est conforme à la série d'Irving et Williams.
- La réduction de la liaison $C=N$ permet d'obtenir des complexes plus stables.

Les courbes de répartition des différentes espèces en fonction du pH ont également été tracées et elles ont permis de déterminer les domaines de prédominances des différentes espèces formées en fonction du pH.

Chapitre V : Synthèse et caractérisation des complexes

V. 1. Complexes de manganèse

V. 1. 1. Introduction

Les complexes de manganèse reçoivent un intérêt considérable en chimie de coordination vu leurs multiples applications en biologie ainsi qu'en catalyse, en plus de leurs propriétés magnétiques très intéressantes.

Le manganèse joue un rôle de premier plan dans la constitution de certaines métallo-enzymes dont la plus importante est la superoxyde dismutase (SOD) qui est une métalloprotéine avec une activité enzymatique : elle protège la cellule contre le superoxyde, en catalysant sa dismutation en dioxygène et peroxyde d'hydrogène [67]. Cette enzyme constitue une partie importante du système de défense contre les radicaux libres.

Le manganèse, par ses différents degrés d'oxydation joue un rôle important dans le photosystème II (PSII). Depuis qu'il a été montré que l'atome de manganèse est entouré par des atomes d'azote et d'oxygène dans le système PSII, les complexes de manganèse avec des bases de Schiff de type N_2O_2 sont utilisées pour mimer ce genre de système [68-71].

Les complexes de manganèse avec la salen sont utilisés comme catalyseur appelés catalyseur de Jacobsen [8], ils sont utilisés dans les réactions d'oxydation des sulfides en sulfoxides [72], la déhydrogénation des hydroxylamines secondaires en nitrones, ils permettent aussi la catalyse hétérogène des oléfines [73].

Antérieurement dans notre laboratoire, une étude sur la catalyse de la dismutation du peroxyde d'hydrogène par des complexes de manganèse avec des bases de Schiff réduites a été entreprise et a donné des résultats intéressants [35].

Dans cette partie, nous présentons la synthèse et la caractérisation des complexes de manganèse (II) avec les ligands H_2L^{1-3} .

V. 1. 2. Synthèse, analyse élémentaire et propriétés physiques des complexes

Les complexes de manganèse ont été synthétisés par reflux, en mélangeant une millimole de ligand dissoute dans 20 mL d'éthanol avec une millimole de chlorure de manganèse tétrahydraté dissoute dans 10 mL d'eau. Quelques gouttes de NaOH sont ajoutées jusqu'à $\text{pH} = 8$, une couleur marron apparaît instantanément, le mélange est maintenu sous reflux pendant 24h, il est ensuite concentré sous vide. Après refroidissement, un précipité marron apparaît, il a été filtré et lavé avec un mélange eau-éthanol à 50%. Les complexes ont été purifiés par recristallisation dans l'éthanol, les nombreux tests de cristallogénèse effectués n'ont pas abouti.

Les complexes de manganèse ont donc été isolés à l'état de poudre, ils sont stables à l'air et à température ambiante. Ils sont insolubles dans l'eau mais très solubles dans les solvants organiques tels que l'éthanol, le méthanol, le DMSO et le DMF.

Les valeurs assez faibles de la conductivité montrent que les complexes formés sont des non électrolytes [74].

Les résultats de l'analyse élémentaire et de l'analyse thermogravimétrique ont permis d'attribuer pour les trois complexes de manganèse isolés la formule brute suivante : $[\text{ML}(\text{H}_2\text{O})_x]$ avec $x = 0$ ou 2.

Les propriétés physiques et les résultats analytiques de ces complexes sont regroupés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Analyse élémentaire et propriétés physiques des complexes de manganèse.

Complexes	Exp (calc) (%)				Point de fusion (°C)	Couleur	rendement %	Λ ($\Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$)	μ_{eff} (M.B)
	C	H	N	H ₂ O*					
$[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$	59,10 (58,67)	5,12 (5,37)	6,43 (6,84)	8,50 (8,80)	185	Brun	65	25	4,78
$[\text{MnL}^2]$	64,91 (65,11)	4,77 (5,16)	7,41 (7,23)	- -	190	Brun foncé	60	10	3,87
$[\text{MnL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$	54,85 (54,11)	4,78 (4,73)	6,52 (6,31)	8,00 (8,11)	292	Brun	68	12	4,27

* déterminé par ATG.

V. 1. 3. Analyse thermogravimétrique

Les résultats de l'analyse thermogravimétrique sont présentés dans le tableau IX. Ils montrent que les complexes $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ et $[\text{MnL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ sont stables jusqu'à 150°C, ils subissent une première perte de masse (8,11 %) dans le domaine 150-250°C qui correspond au départ de deux molécules d'eau qui ne peut être que de l'eau de coordination dans cette gamme de température [24, 75]. Ils se décomposent ensuite à partir de 379°C jusqu'à 1000°C.

Le complexe $[\text{MnL}^2]$ est stable jusqu'à 275°C, il se décompose ensuite en deux étapes dans les domaines de température : 275-380°C et 380-920°C.

La figure 18 représente le thermogramme du complexe $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$.

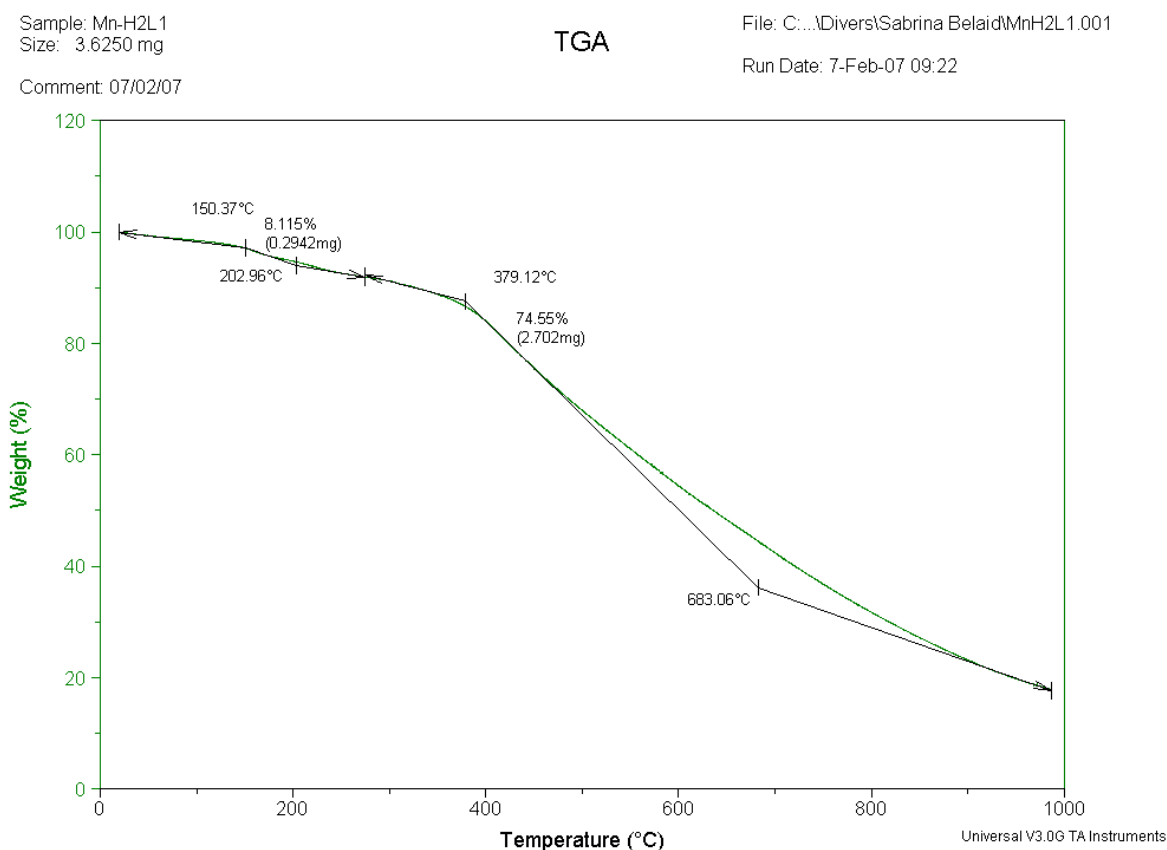


Figure 18 : Thermogramme du complexe $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$.

Tableau IX : Données thermogravimétriques des complexes de manganèse.

Complexes	température	Perte de masse en % Exp. (Calc.)	groupements
[MnL ¹ (H ₂ O) ₂]	151-250	8,11 (8,50)	2 H ₂ O
	379-900	74,55	
	1000	Reste 17,55 (16,78)	MnO
[MnL ²]	275-371	27,04	
	500-920	38,70	
[MnL ³ (H ₂ O) ₂]	150-260	8,11 (8,00)	2H ₂ O
	260-773	78,31 (79,36)	L ³
	773-1000	Reste 14,69 (16,0)	MnO

V. 1. 4. Spectrométrie Infra Rouge

Les spectres IR des complexes de manganèse (figures 19,20) se caractérisent par la disparition de la bande de vibration de la liaison O-H indiquant la déprotonation des ligands après complexation et la formation de complexes neutres.

Les bandes de vibrations des liaisons O-H des molécules d'eau de coordination apparaissent sur les spectres de [MnL¹(H₂O)₂] et [MnL³(H₂O)₂] sous forme de bande large vers 3300 cm⁻¹ [60].

La bande de vibration de la liaison C-O s'est déplacée vers les grandes énergies pour les trois complexes, montrant que l'atome d'oxygène phénolique est impliqué dans la complexation, comme le montre les nouvelles bandes qui apparaissent vers 450 cm⁻¹ et qui sont relatives aux liaisons Mn-O formées [76].

Par ailleurs, les bandes de vibration des liaisons C-N se trouvent déplacées vers les grandes énergies, alors que celles des liaisons N-H se sont déplacées vers les faibles énergies. Ceci montre que les ligands se sont liés également par les atomes d'azote en formant les liaisons Mn-N dont les bandes de vibration se situent dans le domaine 500-580 cm⁻¹ sur les spectres des complexes [76].

Comme attendu, le pic intense situé à 750 cm⁻¹ dû aux vibrations des cycles aromatiques, n'est pas affecté par la coordination [60].

Les principales bandes IR de ces complexes sont regroupées sur le tableau X.

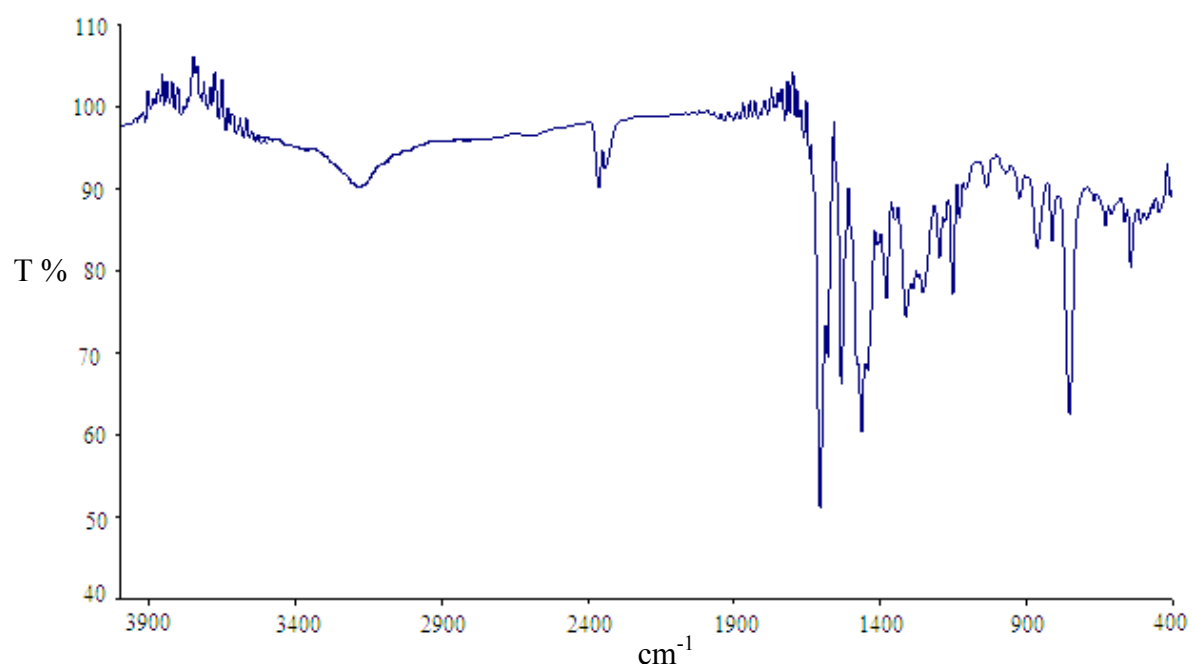


Figure 19 : Spectre IR du complexe $[MnL^2]$.

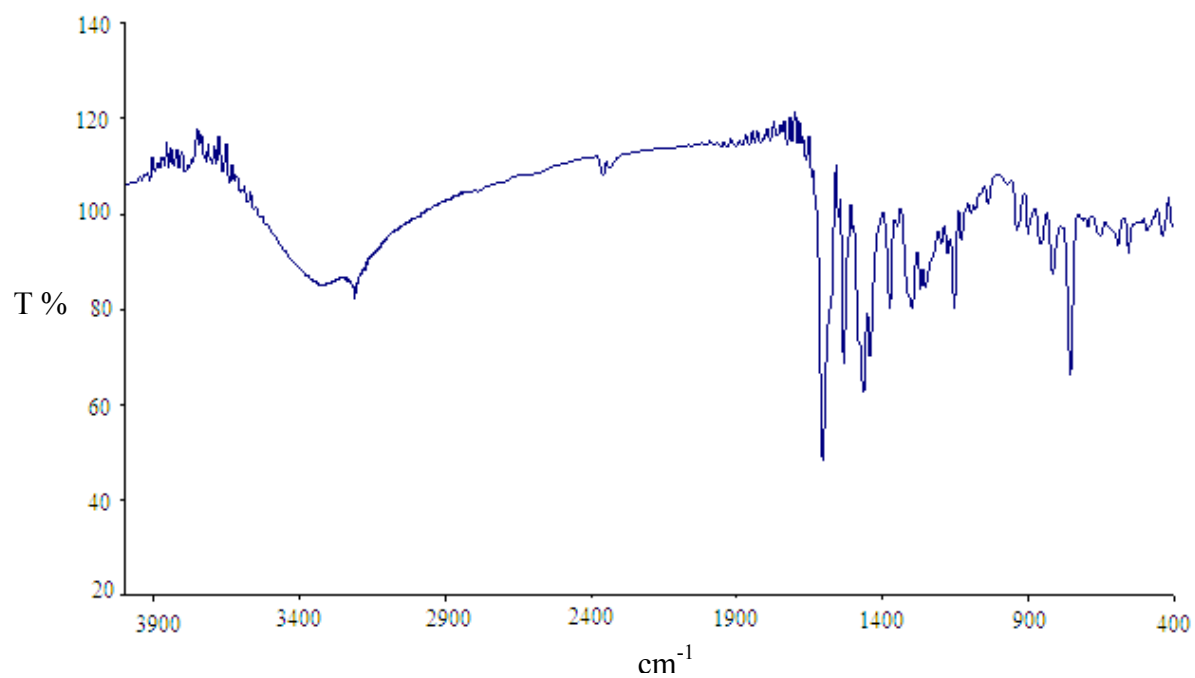


Figure 20: Spectre IR du complexe $[MnL^3(H_2O)_2]$.

Tableau X : Principales bandes IR des ligands et des complexes de manganèse (cm⁻¹).

Composé	ν (OH) ^a	ν (OH) ^b	ν (NH)	ν (C-N)	ν (C-O)	M-N	M-O
H ₂ L ¹	-	3061	3298	1229	1106	-	-
H ₂ L ²	-	3040	3288	1235	1105	-	-
H ₂ L ³	-	3030	3314	1265	1100	-	-
[MnL ¹ (H ₂ O) ₂]	3350	-	3180	1259	1157	558 513	450
[MnL ²]	-	-	3181	1250	1155	565 521	486
[MnL ³ (H ₂ O) ₂]	3372	-	3210	1290	1163	581 534	436

^aH₂O

^bOH phenolic

V. 1. 5. Mesures magnétiques

Le magnétomètre SQUID permet de mesurer le moment magnétique M de l'échantillon en unité emu (système cgs). A partir des valeurs obtenues, on peut déduire la susceptibilité molaire χ à l'aide de la formule suivante :

$$\chi = M / H$$

H : champ magnétique appliqué.

Pour calculer le moment magnétique par atome (μ_{eff}), on considère la formule de la constante de Curie C :

$$C = (N \cdot \mu_B^2 \cdot \mu_{\text{eff}}^2) / 3 k_B$$

N : constante d'Avogadro = $6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$.

μ_B = magnéton de Bohr = $0,9273 \cdot 10^{-20} \text{ cgs}$.

k_B = constante de Boltzman = $1,3804 \cdot 10^{-16} \text{ cgs}$.

μ_{eff} : moment magnétique effectif en magnéton de Bohr.

On déduit la formule du moment effectif :

$$\mu_{\text{eff}} = (C \cdot (3 k_B / N \cdot \mu_B))^{1/2}$$

En remplaçant les constantes par leurs valeurs numériques, on obtient :

$$\mu_{\text{eff}} = (8 C)^{1/2}$$

Pour pouvoir appliquer cette formule, il faut vérifier que le comportement magnétique du complexe suit bien la loi de Curie Weiss :

$$\chi_{\text{para}} = C / (T - \theta)$$

D'où :

$$\frac{1}{\chi_{\text{para}}} = \frac{1}{C} \times T - \frac{\theta}{C}$$

T : température en Kelvin.

θ : température de Curie.

La validité de cette loi est vérifiée si la courbe $1/\chi = f(T)$ est une droite.

La figure 21 représente la variation de $1/\chi$ en fonction de la température des complexes de manganèse, les valeurs des μ_{eff} calculés à partir de ces données sont : 4,78, 3,87 et 4,27 M.B. pour $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{MnL}^2]$ et $[\text{MnL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ respectivement.

Ces valeurs sont inférieures aux valeurs des moments de spin seul du manganèse (II) qui sont de 5,9 M.B. Des résultats similaires ont déjà été obtenus par Luaces et al. [70] elles sont expliquées sur la base d'interactions anti-ferromagnétiques qui abaissent la valeur du moment effectif.

Le moment magnétique du complexe $[\text{MnL}^2]$ est particulièrement faible pour un complexe de Mn (II), la même valeur a été rapportée dans la littérature [77], et a été attribuée à un état de spin intermédiaire où il y aurait deux électrons appariés et trois célibataires qui donnent donc un moment de 3,87 M.B.

Les complexes de manganèse (II) sont en effet très sensibles à l'oxydation par le dioxygène et donnent assez souvent du manganèse (III). Pour les trois complexes isolés, les différentes caractérisations notamment l'analyse élémentaire et la conductimétrie montrent qu'il s'agit de manganèse (II), ce qui est confirmé par les spectres RPE obtenus (figures 23-26) qui sont typiques de complexes de manganèse (II).

Dans le cas de composé de manganèse (III), le temps de relaxation spin-réseau étant très court, ces composés ne donnent pas de signal RPE [77].

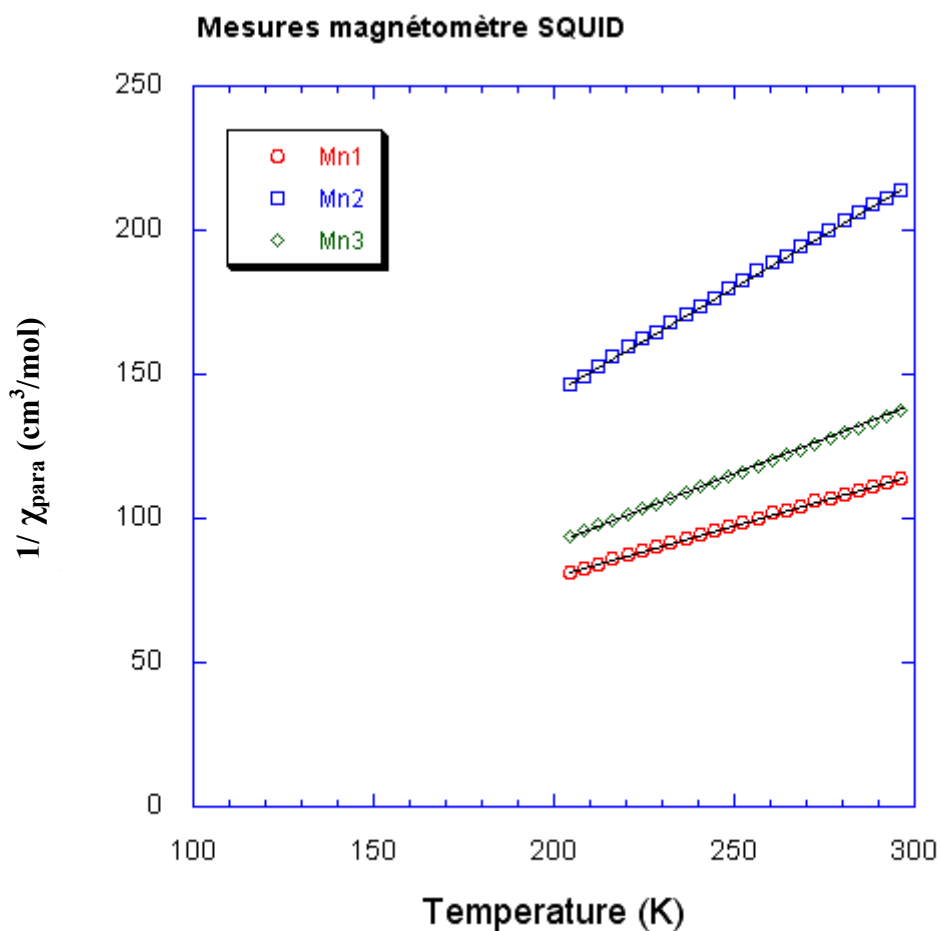


Figure 21 : Variation de la susceptibilité paramagnétique des complexes de manganèse en fonction de la température.

V. 1. 6. Spectrométrie UV-Visible

La configuration électronique fondamentale de l'ion libre d^5 donne lieu à un seul terme sextuplet 6S , et à plusieurs termes excités quadruplets et doublets. Le terme 6S n'est pas décomposé par le champ des ligands et l'état fondamental correspondant dans le complexe est $^6A_{1g}$. Toutes les transitions vers les états quadruplets sont interdites par la règle de sélection de spin, elles peuvent apparaître parfois mais avec une très faible intensité. Les transitions vers les états doublets ($\Delta S = 4$) ne sont pas observées [78].

Les spectres électroniques du manganèse (II) haut spin ne sont donc pas très riches, et ils ne sont pas particulièrement utilisés pour la détermination de la géométrie autour de l'ion central.

On observe sur les spectres des complexes de manganèse isolés (figure 22) , une seule bande dans le visible (18500-22000 cm^{-1}), d'intensité assez importante, elle ne peut donc correspondre qu'à une transition de transfert de charge, probablement de type métal $\rightarrow$ ligand [79, 80].

D'autres bandes sont observées sur les spectres des complexes (figure 22) dans le domaine de l'ultra violet, elles sont dues à des transitions intra-ligands $\pi \rightarrow \pi^*$ [81].

Les données électroniques des ces complexes sont regroupées dans le tableau XI.

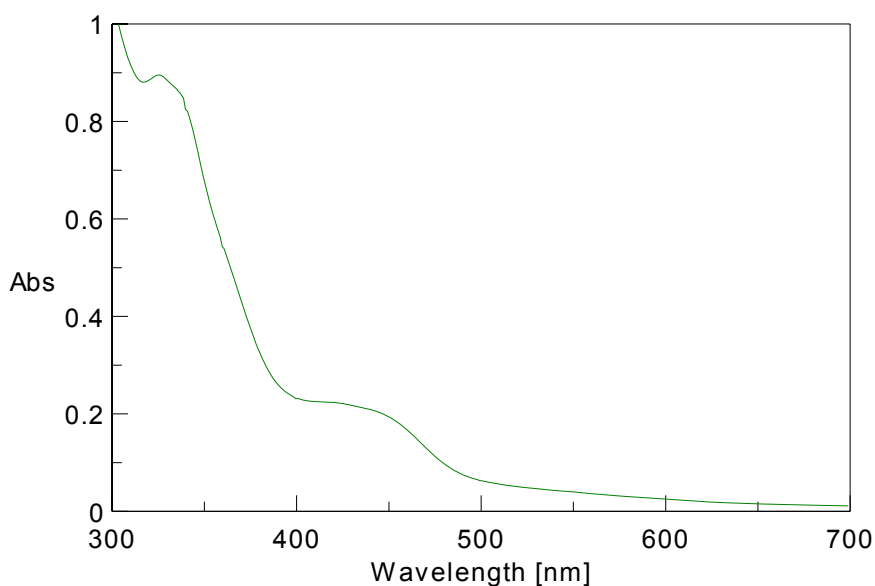


Figure 22 : Spectre électronique d'absorption du complexe $[\text{MnL}^2]$, $C = 2,45 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

Tableau XI : Spectres électroniques d'absorption des complexes de manganèse.

Complexes	λ nm(cm^{-1})	ϵ ($\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)	Transitions électroniques
$[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$	443 (22573) 343 (29154) 296 (33783)	142 675 3576	TC $\pi \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$
$[\text{MnL}^2]$	435 (22988) 325 (30769) 289 (34602)	89 411 2875	TC $\pi \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$
$[\text{MnL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$	537 (18681) 395 (25316) 300 (33333)	134 533 2564	TC $\pi \rightarrow \pi^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$

TC : transfert de charge.

V. 1. 7. Résonance paramagnétique électronique

Les spectres RPE des complexes de manganèse enregistrés à l'état de poudre montrent un signal intense avec une valeur de $g = 2$ (figure 23).

En solution dans le DMSO à 250 K (figures 24, 25), apparaît une structure hyperfine à six raies caractéristiques des complexes monomères de manganèse (^{55}Mn , $I = 5/2$) [71, 82, 83]. Les valeurs de la constante du couplage hyperfin A calculées à l'aide du programme Sim Fonia sont : 96, 96 et 97 Gauss pour $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{MnL}^2]$ et $[\text{MnL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ respectivement.

A 113 K on observe pour $[\text{MnL}^2]$ une résolution partielle de la structure super hyperfine (figure 26) qui est attribuée à l'interaction du manganèse (II) avec le noyau de l'atome d'azote ($I_N = 1$) [84, 85], confirmant la coordination du ligand par les atomes d'azote [86].

Pour les deux autres complexes, cette structure n'est pas résolue.

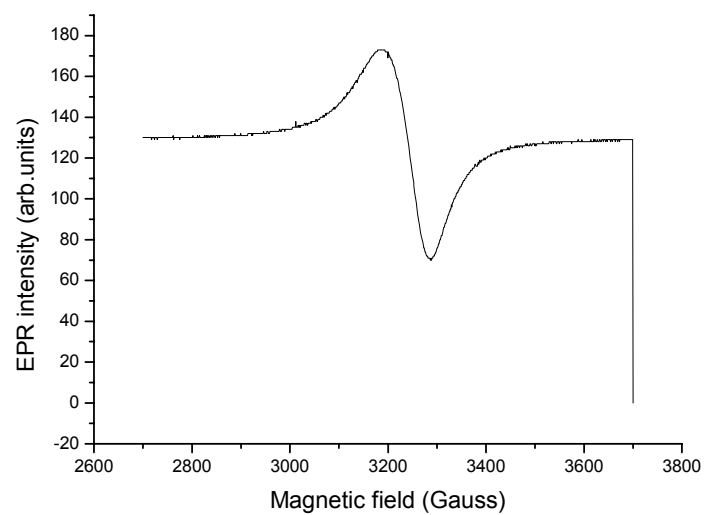


Figure 23 : Spectre RPE du complexe $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ à l'état de poudre et à température ambiante.

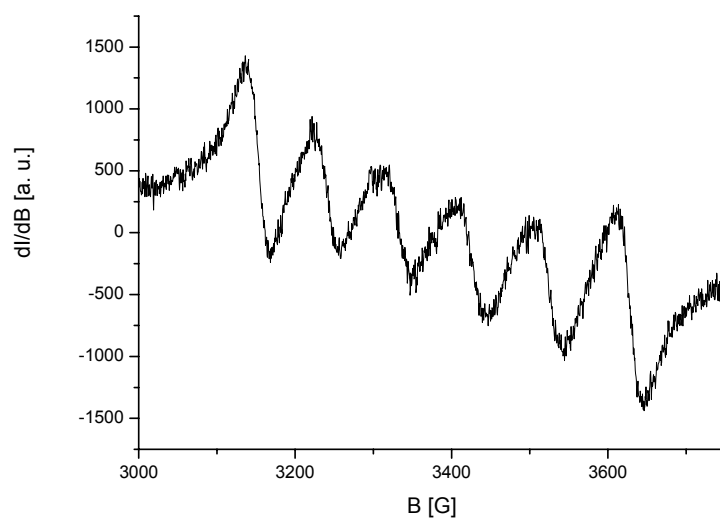


Figure 24 : Spectre RPE du complexe $[\text{MnL}^2]$ en solution dans le DMSO à 250 K.

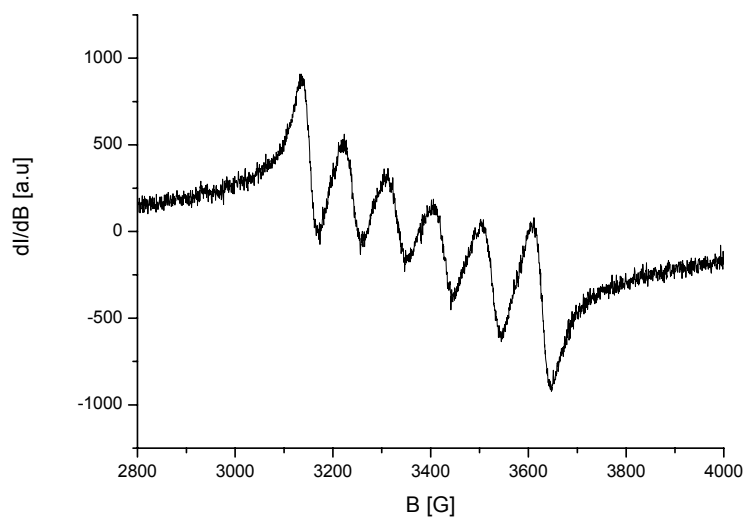


Figure 25 : Spectre RPE du complexe $[\text{MnL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ en solution dans le DMSO à 250 K.

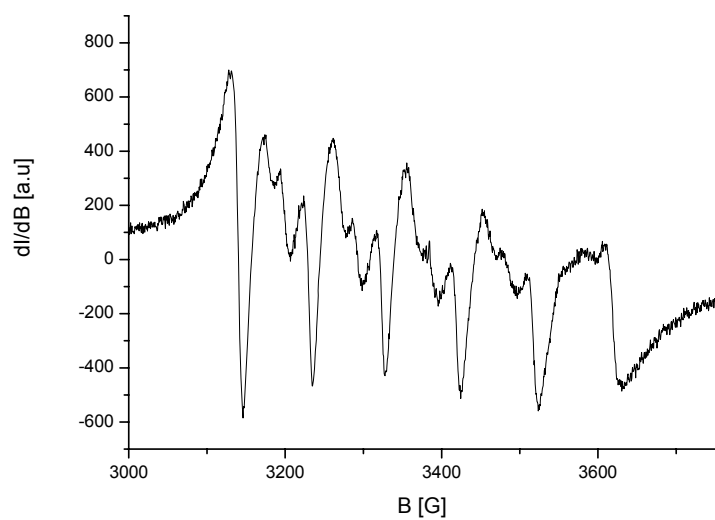


Figure 26 : Spectre RPE du complexe $[\text{MnL}^2]$ en solution dans le DMSO à 113 K.

V. 1. 8. Schémas structuraux proposés

Les différentes caractérisations ont permis d'attribuer une coordinence six pour l'ion central dans les complexes formés avec les ligands H_2L^1 et H_2L^3 (figure 27). Les ligands se sont liés de manière tétradentée par les atomes d'azote et d'oxygène, la sphère de coordination est complétée par deux molécules d'eau comme cela a été vérifié par spectrométrie IR et analyse thermogravimétrie.

Le complexe formé avec H_2L^2 a une géométrie tétraédrique représentée sur la figure 27. Cette différence avec les deux autres complexes peut être attribuée à une gêne stérique causée par le substituant CH_3 dans le cas de H_2L^2 .

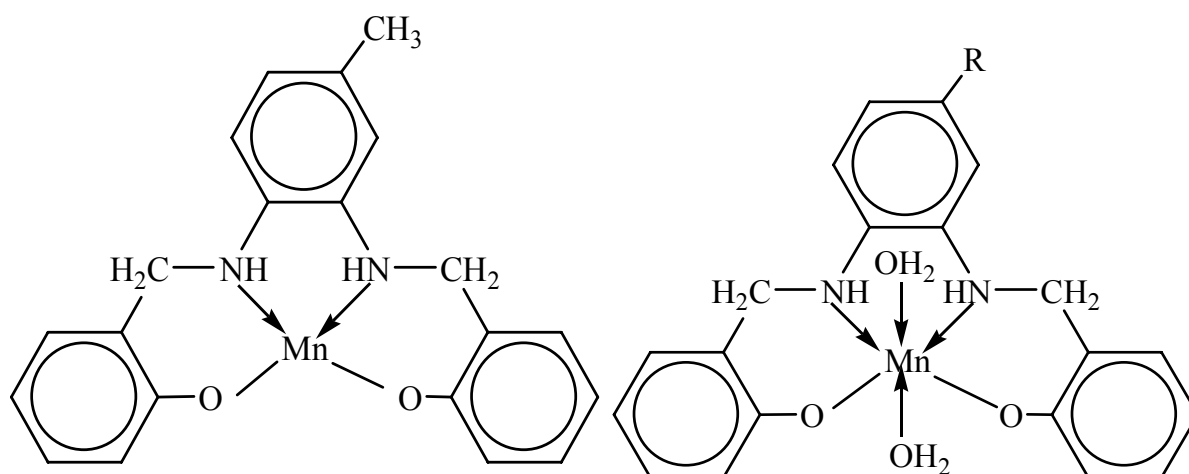


Figure 27 : Schéma structuraux des complexes de manganèse (R = Cl ou H).

V. 2. Complexes de cobalt

V. 2. 1. Introduction

Le cobalt est un élément présent naturellement dans l'environnement: l'air, l'eau, la terre, les roches et les plantes. Il présente certains bienfaits pour l'homme, cependant, des concentrations trop importantes de cobalt peuvent être nocives.

L'ion cobalt fait partie intégrante de la molécule de vitamine B12 qui a un rôle primordial dans la maturation des globules rouges, le nom chimique de cette vitamine, cobalamine évoque d'ailleurs l'importance du cobalt qui y est présent à 4 % [87].

Le cobalt (II) est capable de fixer le dioxygène, il est donc utilisé pour modéliser les systèmes biologiques qui fixent, relarguent ou stockent l'oxygène moléculaire de façon réversible, comme l'hémoglobine [88].

Les complexes de cobalt (II) avec les bases de Schiff ont fait l'objet de plusieurs travaux dans lesquels, il a été montré qu'ils réagissent avec l'oxygène moléculaire pour former du cobalt (III) [39]. Le complexe avec la salen est le plus étudié dans ce domaine [89].

Les complexes de cobalt ont également des applications en biologie, une étude a montré qu'ils ont une forte activité antifongique vis-à-vis des champignons du genre *Candida* et *Aspergillus* et aussi sur certaines bactéries du genre *Staphylococcus* [90]. Une étude de toxicité sur des cellules cancéreuses a été effectuée avec des complexes de cobalt, et a montré que ces derniers inhibent de façon appréciable la croissance de ces cellules [91].

Nous présentons dans cette partie, la synthèse et la caractérisation par les méthodes spectroscopiques des complexes de cobalt (II) obtenus avec les ligands H_2L^{1-3} .

V. 2. 2. Synthèse, analyse élémentaire et propriétés physiques des complexes

Les complexes de cobalt ont été isolés par reflux à pH = 8, en mélangeant une millimole de chlorure de cobalt hexa hydraté dissoute dans 10 mL d'eau avec une millimole de ligand dissoute dans 20 mL d'éthanol, quelques gouttes de NaOH sont ajoutées pour ajuster le pH. Le mélange est maintenu sous reflux pendant une journée, au cours de laquelle les complexes précipitent sous forme de poudre. Le mélange a ensuite été filtré et lavé plusieurs fois avec un mélange eau-éthanol à 50%. Les complexes ont été recristallisés dans l'éthanol, et séchés sur P₄O₁₀ dans un dessiccateur sous vide.

Les complexes isolés à l'état de poudre sont stables à l'air et à température ambiante. Ils sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les solvants organiques tels que le DMSO et le DMF.

Les valeurs de leurs conductivités molaires indiquent qu'il s'agit de complexes non électrolytes [74].

Le tableau XII regroupe les résultats de leur analyse élémentaire et leurs propriétés physiques.

Les différentes caractérisations ont permis d'attribuer la formule brute suivante pour ces trois complexes : [ML(H₂O)₂].

Tableau XII : Analyse élémentaire et propriétés physiques des complexes de cobalt.

Complexes	Exp (calc) (%)			Point de fusion (°C)	Couleur	rendement %	Λ ($\Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$)	μ_{eff} (M.B)
	C	H	N					
[CoL ¹ (H ₂ O) ₂]	58,44 (58,11)	5,42 (5,32)	6,52 (6,77)	205	Vert foncé	63	32	5,08
[CoL ² (H ₂ O) ₂]	59,56 (59,01)	5,32 (5,62)	7,01 (6,55)	277	Marron	67	11	1,76
[CoL ³ (H ₂ O) ₂]	53,10 (53,63)	4,88 (4,69)	6,73 (6,25)	256	Marron	58	15	1,82

V. 2. 3. Spectrométrie Infra Rouge

Les spectres infra rouge de ces trois complexes sont caractérisés par l'apparition d'une bande large vers 3400 cm^{-1} attribuée aux molécules d'eau de coordination [76].

La bande de vibration d'élongation du groupement OH phénolique situé dans le ligand seul vers 3050 cm^{-1} n'apparaît pas sur les spectres de ces complexes, indiquant que les ligands se sont liés sous forme déprotonnée pour former des espèces neutres comme le suggèrent les valeurs de la conductivité molaire.

Les bandes de vibrations d'élongation des liaisons C-O et C-N se sont déplacées dans les spectres des complexes, indiquant que la coordination des ligands s'est effectuée par les atomes d'azote et d'oxygène.

De nouvelles bandes relatives aux liaisons M-N et M-O apparaissent dans les domaines $450\text{-}530$ et $400\text{-}440\text{ cm}^{-1}$ respectivement [76].

Les principales bandes IR sont regroupées dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Principales bandes IR des ligands et des complexes de cobalt (cm^{-1}).

Composé	$\nu(\text{OH})^a$	$\nu(\text{OH})^b$	$\nu(\text{NH})$	$\nu(\text{C-N})$	$\nu(\text{C-O})$	M-N	M-O
H_2L^1	-	3061	3298	1229	1106	-	-
H_2L^2	-	3040	3288	1235	1105	-	-
H_2L^3	-	3030	3314	1265	1100	-	-
$[\text{CoL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$	3380	-	3309	1242	1156	521 475	418 408
$[\text{CoL}^2(\text{H}_2\text{O})_2]$	3350	-	3215	1267	1149	500 455	433 422
$[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$	3375	-	3204	1250	1149	530 468	439 416

V. 2. 4. Mesures magnétiques

La figure 28 montre que la variation de la susceptibilité paramagnétique des complexes de cobalt en fonction de la température est linéaire. Les valeurs des moments magnétiques calculées à partir de ces courbes sont : 5,08 M.B. pour $[\text{CoL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ correspondant à un complexe octaédrique haut spin, et 1,76 ; 1,82 M.B. pour $[\text{CoL}^2(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ respectivement, correspondant à des complexes octaédriques à bas spin.

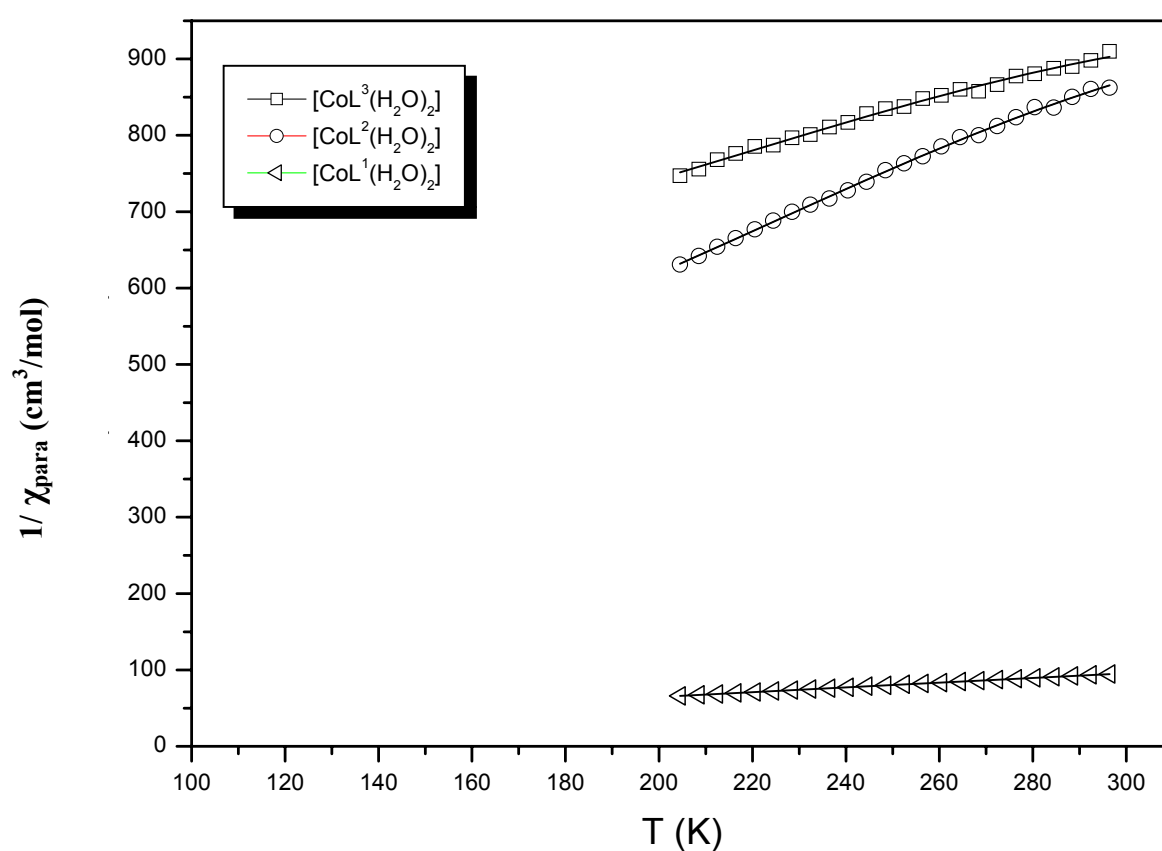


Figure 28 : Variation de la susceptibilité paramagnétique des complexes de cobalt en fonction de la température.

V. 2. 5. Spectrométrie UV-Visible

Les spectres électroniques de ces complexes ont été enregistrés dans le DMSO, et les résultats sont regroupés dans le tableau XIV.

On observe sur les spectres des trois complexes deux bandes intenses dans l'ultra violet dues à des transitions intra ligands $\pi \rightarrow \pi^*$.

Le spectre du complexe $[\text{CoL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ présente dans le domaine du visible trois bandes d'absorption à 10593, 14641 et 21505 cm^{-1} (figures 29-31) caractéristiques de complexes de cobalt (II) à haut spin, elles sont attribuées aux transitions : ${}^4\text{T}_{1g} \rightarrow {}^4\text{T}_{2g}$, ${}^4\text{T}_{1g} \rightarrow {}^4\text{A}_{2g}$ et ${}^4\text{T}_{1g} \rightarrow {}^4\text{T}_{1g}$ respectivement [39, 79, 92].

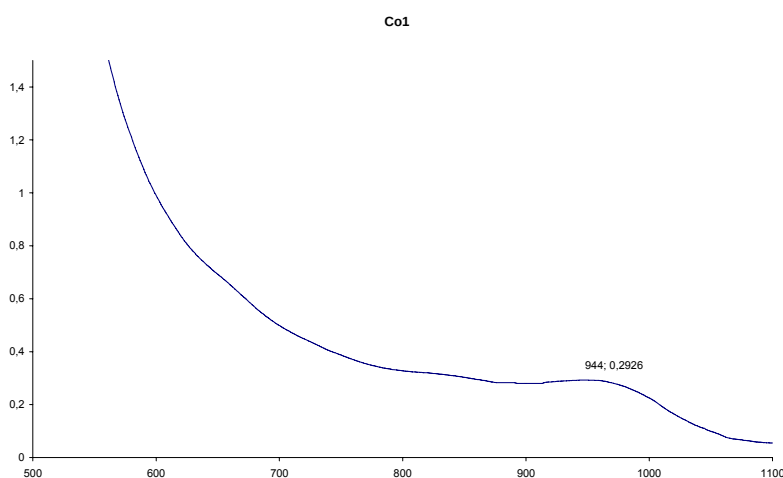


Figure 29 : Spectre électronique d'absorption du complexe $[\text{CoL}^1(\text{H}_2\text{O})_2] = 6,7 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

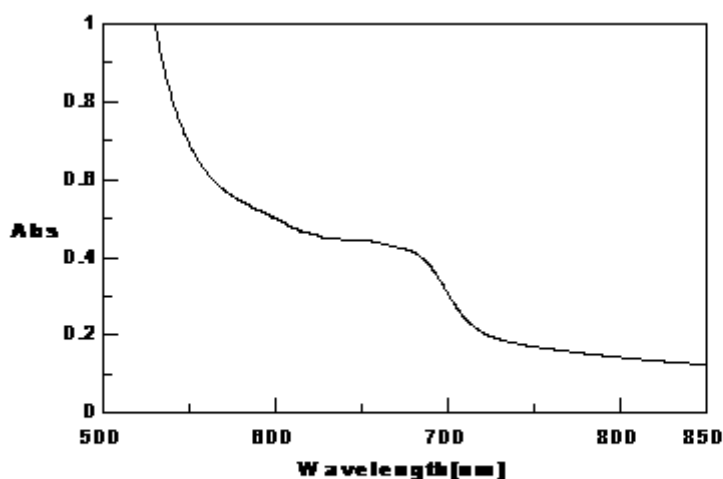


Figure 30 : Spectre électronique d'absorption du complexe $[\text{CoL}^1(\text{H}_2\text{O})_2] = 1,3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

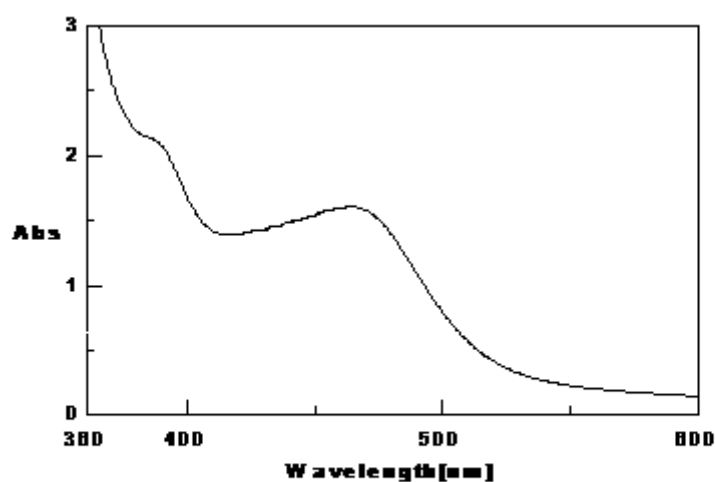


Figure 31 : Spectre électronique d'absorption du complexe $[\text{CoL}^1(\text{H}_2\text{O})_2] = 3,2 \cdot 10^{-3} \text{M}$.

Sur les spectres des complexes $[\text{CoL}^2(\text{H}_2\text{O})_2]$ et $[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ apparaissent deux bandes (figures 32, 33) dans le domaine du visible vers 10000 et 20000 cm^{-1} dues aux transitions ${}^2\text{E}_g \rightarrow {}^2\text{T}_{1g}, {}^2\text{T}_{2g}$; ${}^2\text{E}_g \rightarrow {}^2\text{A}_{1g}$ [79, 85, 89], ces deux bandes sont typiques de complexes de cobalt (II) bas spin.

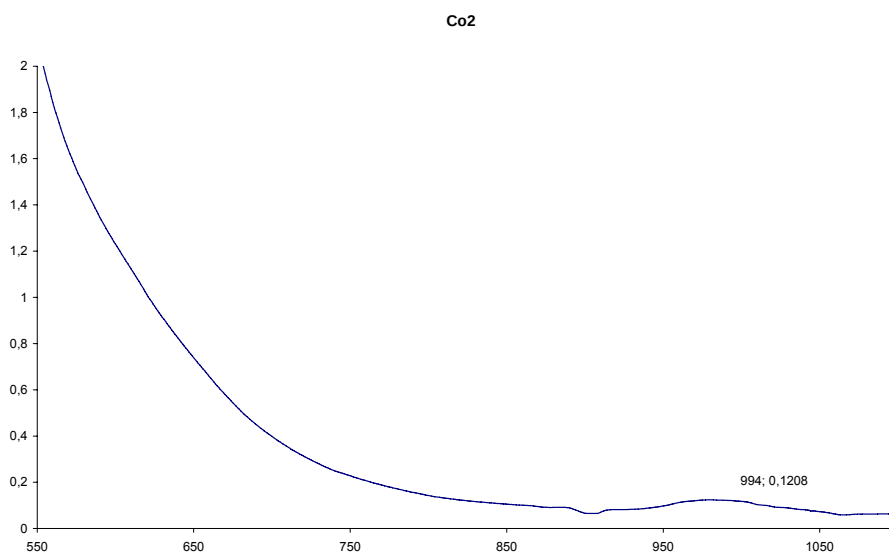


Figure 32 : Spectre électronique d'absorption du complexe $[\text{CoL}^2(\text{H}_2\text{O})_2] = 6,7 \cdot 10^{-3} \text{M}$.

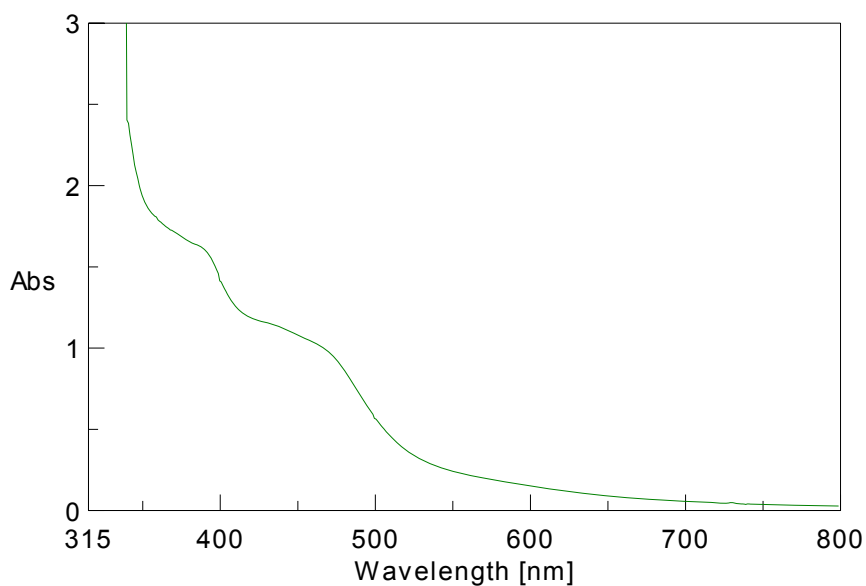


Figure 33 : Spectre électronique d'absorption du complexe $[\text{CoL}^2(\text{H}_2\text{O})_2] = 1,25 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

Tableau XIV : Spectres électroniques d'absorption des complexes de cobalt.

Complexes	$\lambda \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	$\varepsilon \text{ (l.mol}^{-1}\text{.cm}^{-1}\text{)}$	Transitions électroniques
$[\text{CoL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$	10593	45	$^4\text{T}_{1g} \rightarrow ^4\text{T}_{2g}$
	14641	344	$^4\text{T}_{1g} \rightarrow ^4\text{A}_{2g}$
	21505	490	$^4\text{T}_{1g} \rightarrow ^4\text{T}_{1g}$
	26315	659	$\pi \rightarrow \pi^*$
	32170	4357	$\pi \rightarrow \pi^*$
$[\text{CoL}^2(\text{H}_2\text{O})_2]$	10060	18	$^2\text{E}_g \rightarrow ^2\text{T}_{1g}, ^2\text{T}_{2g}$
	21052	852	$^2\text{E}_g \rightarrow ^2\text{A}_{1g}$
	25641	1309	$\pi \rightarrow \pi^*$
	32258	5807	$\pi \rightarrow \pi$
$[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$	10131	19	$^2\text{E}_g \rightarrow ^2\text{T}_{1g}, ^2\text{T}_{2g}$
	21186	425	$^2\text{E}_g \rightarrow ^2\text{A}_{1g}$
	25189	1107	$\pi \rightarrow \pi^*$
	27777	3612	$\pi \rightarrow \pi^*$

V. 2. 6. Résonance paramagnétique électronique

Le complexe $[\text{CoL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ à haut spin ne donne aucun signal RPE ni à l'état solide ni en solution. Ce comportement est attribué aux phénomènes de relaxation (temps de relaxation très court) [93, 94].

Les complexes $[\text{CoL}^2(\text{H}_2\text{O})_2]$ et $[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ à bas spin donnent à l'état solide et à température ambiante, un spectre isotrope (figure 34). Les valeurs de g_{iso} sont 2,003 et 2,008 respectivement.

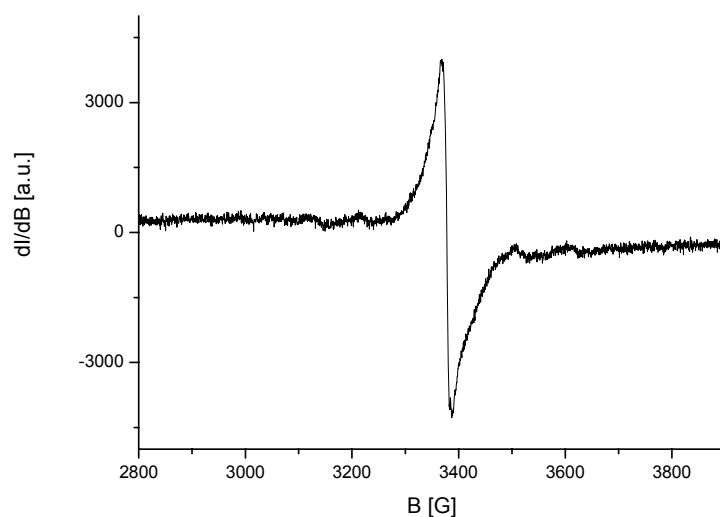


Figure 34 : Spectre RPE du complexe $[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ à l'état de poudre et à température ambiante.

En solution dans le DMSO à 113K, une structure hyperfine apparaît (figures 35, 36) avec huit raies attribuées à l'interaction de l'électron célibataire avec le noyau du ^{59}Co ($I=7/2$).

Les paramètres g et les constantes de couplage hyperfin obtenus par simulation sont :
Pour $[\text{CoL}^2(\text{H}_2\text{O})_2]$: $A_x = 113 \text{ G}$; $A_y = 70 \text{ G}$; $A_z = 150 \text{ G}$; $g_x = 2,28$; $g_y = 2,28$; $g_z = 2,05$.
Pour $[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$: $A_x = 120 \text{ G}$; $A_y = 40 \text{ G}$; $A_z = 140 \text{ G}$; $g_x = 2.28$; $g_y = 2.20$; $g_z = 2.02$.
Ces valeurs montrent l'absence de symétrie axiale, et suggèrent que les deux molécules d'eau sont en position *cis* [95].

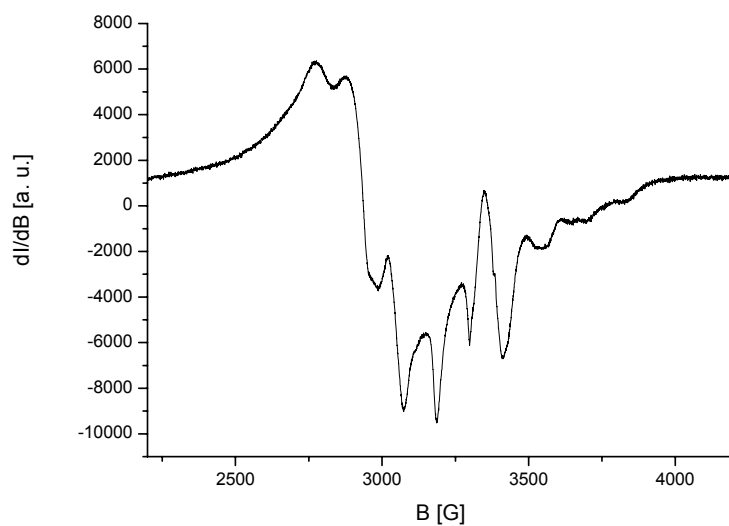


Figure 35 : Spectre RPE du complexe $[\text{CoL}^2(\text{H}_2\text{O})_2]$ dans le DMSO à l'état vitreux à 113K.

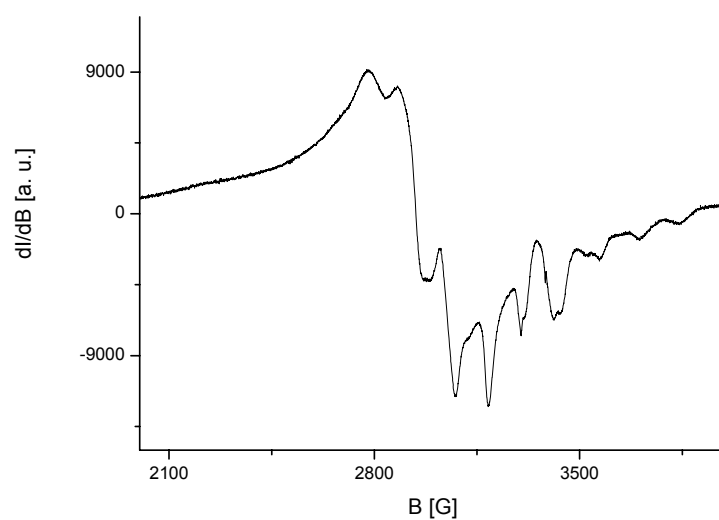


Figure 36 : Spectre RPE du complexe $[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ dans le DMSO à l'état vitreux à 113K.

V. 2. 7. Schémas structuraux proposés

Les différentes caractérisations effectuées ont montré que le cobalt est hexacoordiné dans les trois complexes. La spectrométrie infra rouge a montré que les ligands se sont liés de façon tétradentée par les atomes d'azote et d'oxygène, et que la sphère de coordination est complétée par deux molécules d'eau. Ces dernières sont probablement en position *cis* comme le suggèrent les spectres RPE obtenus à l'état vitreux.

Sur la base de ces résultats, nous proposons les schémas structuraux suivants pour ces trois complexes :

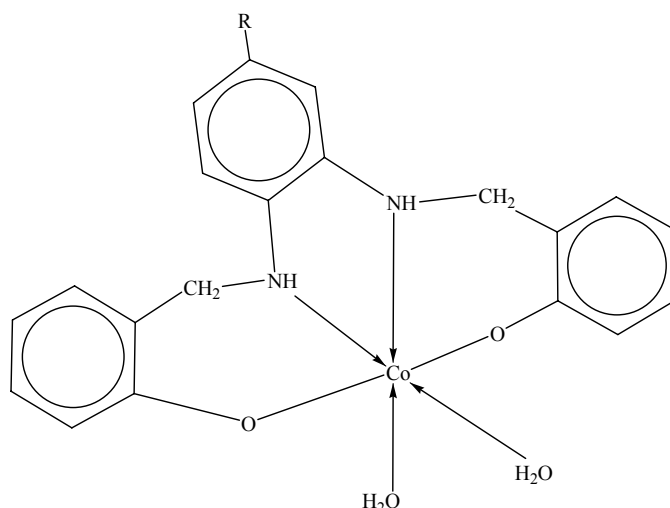


Figure 37 : Schéma structuraux des complexes de cobalt.

V. 3. Complexes de nickel

V. 3. 1. Introduction

Durant de longues années, le nickel était considéré comme un élément toxique et aucun intérêt biologique n'a été établi pour cet élément. Il est le plus allergisant de tous les métaux. Plus de 12% de la population y est allergique [96, 97].

Ce n'est qu'en 1975 qu'il a été montré que le nickel était présent dans l'uréase qui est une enzyme contenue dans certaines plantes [98]. Depuis, un intérêt considérable a été apporté au rôle biologique du nickel, et les études ne cessent de montrer son importance dans la formation de sites actifs dans différentes métalloprotéines telles que : hydrogénase, carbone monoxide déhydrogenase, méthyl-S-coenzyme-M méthyl réductase et uréase [96, 98, 99].

Dans ces enzymes, le nickel est souvent entouré d'atomes d'azote et d'oxygène. Les complexes avec des ligands ayant pour atomes donneurs l'oxygène et l'azote constituent de bons modèles pour étudier ces systèmes, les bases de Schiff sont parmi les composés les plus étudiées dans ce domaine [100].

Dans les travaux antérieurs, il apparaît peu d'études sur le comportement biologique des complexes de nickel. Assez récemment, plusieurs applications ont été réalisées dans ce domaine, une étude *in vitro* et *in vivo* de l'activité d'un complexe de nickel (II) avec les thiosemicarbazones sur le cancer du colon [101-104] a montré que celui ci a un effet cytotoxique important. Ce complexe de nickel agit sur le métabolisme des cellules cancéreuses, et l'étude *in vivo* réalisée sur des rats a révélé des résultats intéressants sur le plan anatomique.

Nous présentons dans cette partie, la synthèse et la caractérisation des complexes de nickel (II) avec les ligands H_2L^{1-3} .

V. 3. 2. Synthèse, analyse élémentaire et propriétés physiques des complexes

Les complexes de nickel ont été synthétisés par reflux à pH = 8, en mélangeant une millimole de ligand dissoute dans l'éthanol et une millimole de chlorure de nickel dissoute dans l'eau, les complexes précipitent rapidement sous forme d'une poudre de couleur orange, le mélange est maintenu sous reflux pendant quatre heures, ensuite filtré et lavé plusieurs fois avec un mélange eau-éthanol à 50%. Les complexes obtenus sont recristallisés dans l'éthanol.

Les composés obtenus sont stables à l'air et à température ambiante. Ils sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les solvants organiques tels que le DMSO et le DMF.

Les valeurs faibles des conductivités molaires (tableau XV) montrent qu'il s'agit de complexes non électrolytes [74].

Le tableau XV regroupe les résultats de l'analyse élémentaire et les propriétés physiques de ces trois complexes.

La formule brute $[\text{NiL}]$ a été attribuée à ces complexes à l'aide des différentes caractérisations.

Tableau XV : Analyse élémentaire et propriétés physiques des complexes de nickel.

Complexes	Exp (calc) (%)			Point de fusion (°C)	Couleur	rendement %	Λ ($\Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$)	μ_{eff} (M.B)
	C	H	N					
$[\text{NiL}^1]$	62,49 (62,70)	4,98 (4,77)	7,28 (7,43)	242	Orange	58	18	2,32
$[\text{NiL}^2]$	64,32 (64,91)	4,22 (4,77)	7,28 (7,41)	261	Orange	72	24	2,56
$[\text{NiL}^3]$	55,09 (54,85)	5,04 (4,78)	6,70 (6,52)	257	Orange	65	21	2,39

V. 3. 3. Spectrométrie Infra Rouge

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

Les bandes de vibration des liaisons C-O et C-N se sont déplacées vers les grandes énergies, et la bande de vibration de la liaison N-H s'est déplacée vers les faibles énergies. Ce qui indique que les ligands se sont liés par les atomes d'azote et d'oxygène.

Ceci est confirmé par l'apparition de nouvelles bandes dans le domaine des faibles énergies vers 400 et 500 cm^{-1} relatives aux liaisons Ni-O et Ni-N respectivement [76].

La disparition de la bande de vibration d'élongation de la liaison O-H sur les spectres des trois complexes montre que les ligands se sont liés de façon déprotonnée en formant des espèces neutres comme le suggère les valeurs de leur conductivité molaire.

Tableau XVI : Principales bandes IR des ligands et des complexes de nickel (cm^{-1}).

Composé	ν (OH)	ν (NH)	ν (C-N)	ν (C-O)	M-N	M-O
H_2L^1	3061	3298	1229	1106	-	-
H_2L^2	3040	3288	1235	1105	-	-
H_2L^3	3030	3314	1265	1100	-	-
$[\text{NiL}^1]$	-	3223	1264	1158	585 523	420 408
$[\text{NiL}^2]$	-	3282	1268	1113	545 503	453 413
$[\text{NiL}^3]$	-	3260	1266	1116	525 492	450 416

5. 3. 4. Mesures magnétiques

La variation de la susceptibilité paramagnétique en fonction de la température pour les trois complexes de nickel est représentée sur la figure 38. La variation linéaire indique que le comportement de ces complexes suit la loi de Curie Weiss, les valeurs des moments magnétiques calculées à partir de ces courbes sont : 2,32 ; 2,56 ; 2,39 M.B pour NiL^1 , NiL^2 et NiL^3 respectivement. Ces valeurs sont caractéristiques de complexes de nickel tétraédriques, les complexes octaédriques ayant des valeurs de moment plus élevées [105, 106].

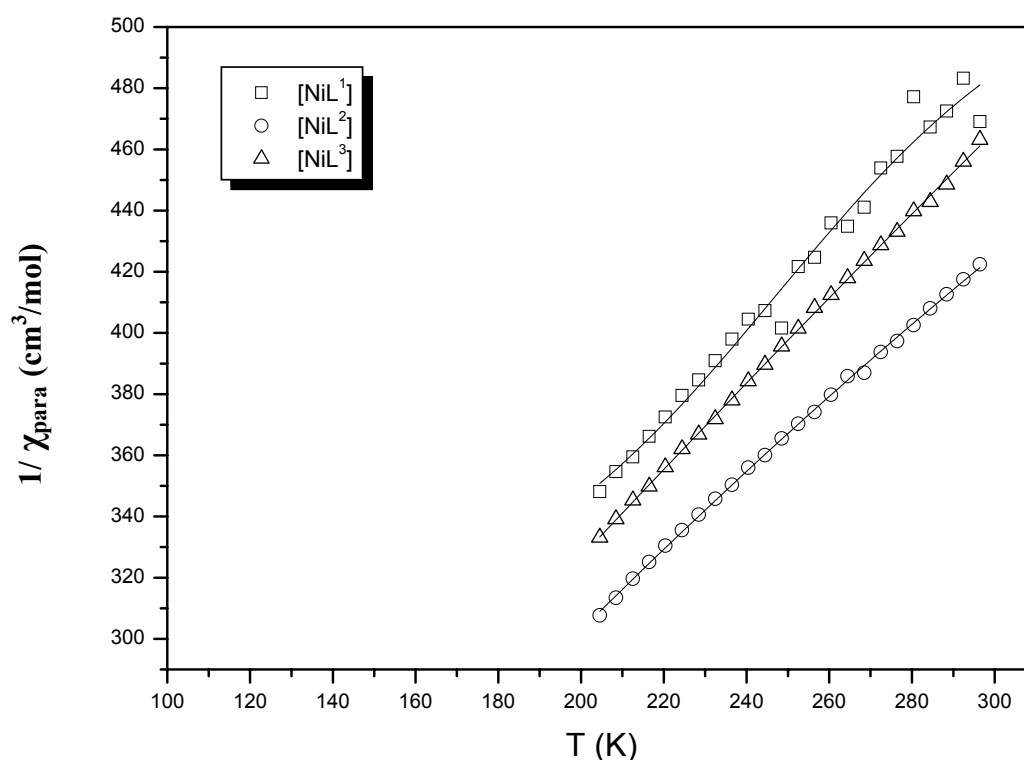
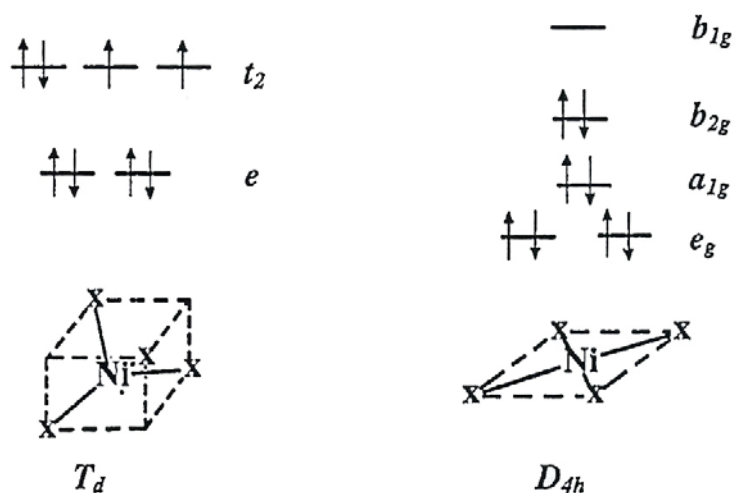


Figure 38 : Variation de la susceptibilité paramagnétique des complexes de nickel en fonction de la température.

Les complexes de nickel de coordination quatre paramagnétiques, sont forcément de géométrie tétraédrique. En symétrie D_{4h} les complexes carrés plans sont diamagnétiques [79], comme le montre le schéma ci dessous :



V. 3. 5. Spectrométrie UV-Visible

Les spectres électroniques des trois complexes font apparaître deux bandes intenses dans le domaine de l'ultra violet dues à des transitions intra ligand $\pi \rightarrow \pi^*$.

Dans le domaine du visible, apparaissent trois bandes vers 15000, 17000 et 20000 cm^{-1} (figures 39, 40).

Dans le cas du nickel (II), pour une géométrie tétraédrique, trois transitions sont attendues : $^3T_1 \rightarrow ^3T_2$; $^3T_1 \rightarrow ^3A_2$; $^3T_1 \rightarrow ^3T_1$, la première apparaît dans le proche infra rouge vers 8000 cm^{-1} , et les deux dernières apparaissent dans le visible vers 15000 et 18000 cm^{-1} respectivement [79].

Pour des raisons techniques, nous n'avons pas pu enregistrer les spectres dans le domaine du proche infra rouge.

A l'aide des diagrammes de Tanabé-Sugano [79], nous avons attribués les bandes observées comme suit :

La bande à 15000 cm^{-1} est assignée à la transition $^3T_1 \rightarrow ^3A_2$.

Les deux bandes à 17000 et 20000 cm^{-1} sont attribuées à la transition du niveau $^3T_1(^3F)$ vers les deux niveaux résultant du dédoublement du terme $^3T_1(^3P)$ dans un champs cristallin de plus basse symétrie probablement C_{2v} [95].

Les résultats des spectres électroniques d'absorption de ces complexes sont regroupés dans le tableau XVII.

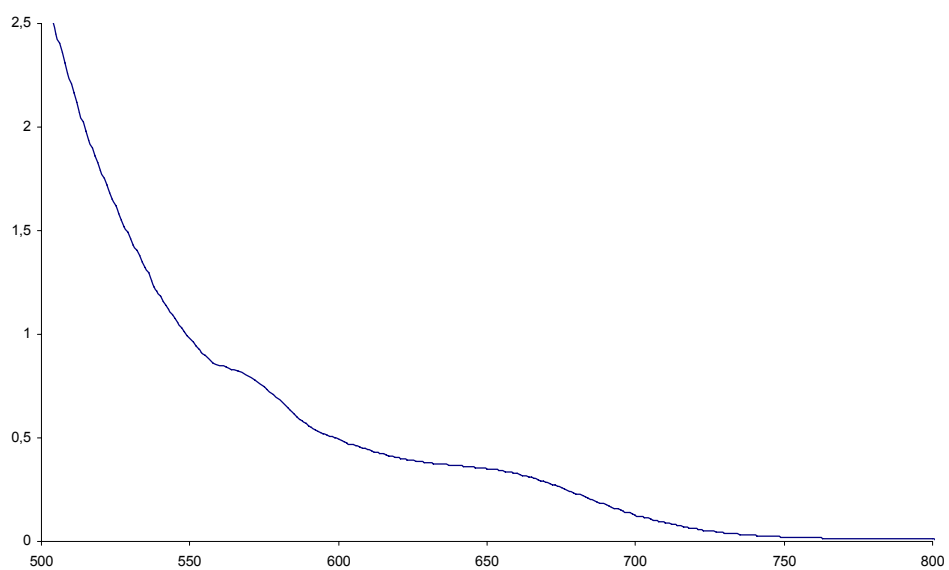


Figure 39 : Spectre électronique d'absorption du complexe $[\text{NiL}^1] = 1,95. 10^{-3}\text{M}$.

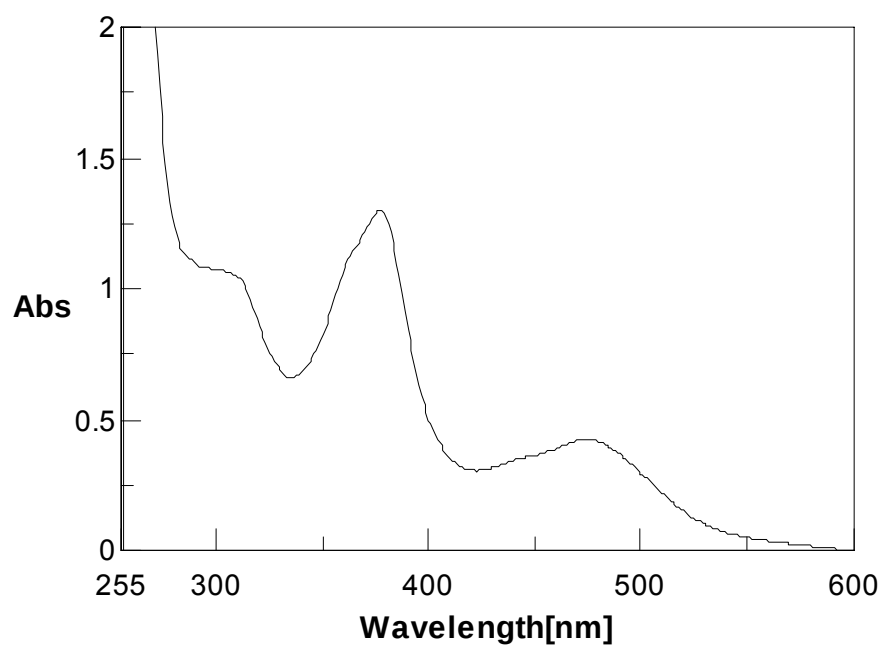


Figure 40 : Spectre électronique d'absorption du complexe $[\text{NiL}^2] = 9,5. 10^{-4}\text{M}$.

Tableau XVII : Spectres électroniques d'absorption des complexes de nickel.

Complexes	λ (cm ⁻¹)	ε (l.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	Transitions électroniques
[NiL ¹]	15037	157	${}^3T_1 \rightarrow {}^3A_2$
	17667	210	} ${}^3T_1({}^3F) \rightarrow {}^3T_1({}^3P)$
	20833	446	
	26595	1362	
	32258	1094	
			$\pi \rightarrow \pi^*$
			$\pi \rightarrow \pi^*$
[NiL ²]	15250	84	${}^3T_1 \rightarrow {}^3A_2$
	17667	144	} ${}^3T_1({}^3F) \rightarrow {}^3T_1({}^3P)$
	21141	766	
	26666	2147	
	33333	2515	
			$\pi \rightarrow \pi^*$
			$\pi \rightarrow \pi^*$
[NiL ³]	15400	110	${}^3T_1 \rightarrow {}^3A_2$
	17420	209	} ${}^3T_1({}^3F) \rightarrow {}^3T_1({}^3P)$
	21052	760	
	27027	2670	
	37037	3802	
			$\pi \rightarrow \pi^*$
			$\pi \rightarrow \pi^*$

V. 3. 6. Schémas structuraux proposés

Les résultats de l'analyse élémentaire et de l'infra rouge ont permis d'attribuer une coordinence quatre pour ces complexes de nickel, ce qui a été confirmé par les spectres électroniques d'absorption obtenus.

Les valeurs de leurs moments magnétiques ont permis de déduire sans ambiguïté que la géométrie est tétraédrique autour du nickel (II).

Sur la base de ces résultats, nous avons attribué le schéma structural suivant pour ces trois complexes :

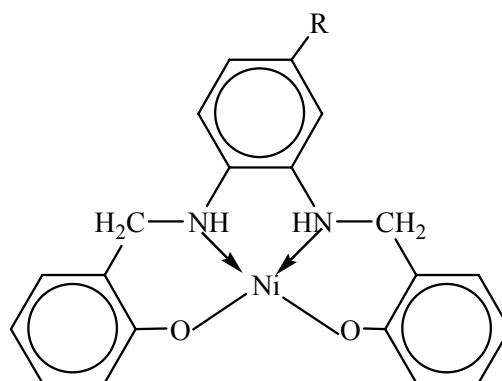


Figure 41 : Schéma structural des complexes de nickel.

V. 4. Complexes de cuivre

V. 4. 1. Introduction

Le cuivre à très faible dose est un oligo-élément indispensable à la vie, il est nécessaire au bon fonctionnement des enzymes ayant un rôle dans la protection contre certaines substances toxiques (radicaux libres). Il rentre également dans la composition de plusieurs enzymes, et joue un rôle dans la synthèse de l'hémoglobine (protéine permettant le transport de l'oxygène dans le sang), il remplace même le fer pour le transport de l'oxygène chez une espèce d'arthropode [107] . Il intervient également dans la synthèse des cytochromes présents dans la cellule et ayant un rôle essentiel dans la respiration cellulaire.

Le cuivre, par sa présence dans l'enzyme superoxyde dismutase, a des propriétés anti-inflammatoires intéressantes et participe au processus de défense de l'organisme dans les états infectieux, il est également impliqué dans la défense immunitaire et la production d'anticorps.

Les études ont montré que le cuivre conserve ses propriétés même à l'état complexé. En effet, les complexes de cuivre ont montré des propriétés pharmacologiques très intéressantes notamment, anticancéreuse [108, 109], antibactérienne [75, 110] et antifongique [111], ils servent également de modèles pour mimer les systèmes biologiques du cuivre.

Antérieurement dans notre laboratoire, l'étude des complexes de cuivre avec des bases de Schiff tétradentates de type N_2O_2 et de leurs formes réduites a donné lieu à plusieurs travaux [35, 36, 54, 112-114].

Le complexe de cuivre (II) avec la N,N' -bis(2-hydroxyacétophényle)-1,2-diaminoéthane a fait l'objet d'études de toxicité sur des souris et de cytotoxicité sur des cellules cancéreuses qui ont donné des résultats assez intéressants [40-42].

Nous présentons dans cette partie, la synthèse et la caractérisation des complexes de cuivre avec les ligands H_2L^{1-3} .

V. 4. 2. Synthèse, analyse élémentaire et propriétés physiques des complexes

Les complexes de cuivre ont été synthétisés en mélangeant une millimole de chlorure de cuivre hexa hydraté dissoute dans 10 mL d'eau, avec une millimole de ligand dissoute dans 20 mL d'éthanol. Le pH de la solution est ajusté à la valeur 8 en ajoutant quelques gouttes de NaOH. Le mélange est maintenu sous reflux pendant 4h, après refroidissement, le complexe précipite sous forme d'une poudre de couleur verte. Il est récupéré par filtration et lavé ensuite avec un mélange eau-éthanol à 50%. Les complexes ont été recristallisés dans l'éthanol puis séchés sur P_4O_{10} dans un dessiccateur sous vide.

Plusieurs méthodes de cristallisations ont été effectuées mais il n'a malheureusement pas été possible d'obtenir des monocristaux susceptibles de donner lieu à une résolution structurale par RX. Nous nous sommes donc basé sur les données fournies par les méthodes spectroscopiques pour tenter de déterminer la structure de ces complexes.

Les composés isolés à l'état de poudre sont stables à l'air et à température ambiante. Ils sont insolubles dans l'eau, moyennement solubles dans l'éthanol et le méthanol, et très solubles dans le DMSO et le DMF.

Les valeurs de conductivité molaire suggèrent une nature non électrolytique pour ces complexes [74].

Les résultats de l'analyse élémentaire et les propriétés physiques de ces complexes sont regroupés dans le tableau XVIII.

Les différentes caractérisations ont permis d'attribuer la formule $[ML](H_2O)_x$; (x=1 ou 2) pour les trois complexes.

Tableau XVIII : Analyse élémentaire et propriétés physiques des complexes de cuivre.

Complexes	Exp (calc) (%)				Point de fusion (°C)	Couleur	rendement %	Λ ($\Omega^{-1}cm^2mol^{-1}$)	μ_{eff} (M.B)
	C	H	N	H ₂ O*					
$[CuL^1](H_2O)$	59.58 (60.07)	5.06 (5.00)	6.62 (7.00)	4.32 (4.50)	198	Vert	45	35	1.68
$[CuL^2](H_2O)_2$	57.08 (58.40)	4.74 (5.56)	6.63 (6.48)	8.58 (8.34)	182	Vert	59	17	1.66
$[CuL^3](H_2O)$	55.17 (55.29)	4.93 (4.37)	6.52 (6.45)	4.28 (4.14)	205	Vert	63	12	1.69

* déterminé par ATG.

V. 4. 3. Analyse thermogravimétrique

Les résultats de l'analyse thermogravimétrique des complexes de cuivre sont regroupés dans le tableau XIX.

Ils montrent que les complexes sont stables jusqu'à 76°C, où on observe la première perte de masse qui correspond au départ des molécules d'eau d'hydratation [115]. Les calculs ont permis de déterminer le nombre de molécules d'eau pour chaque composé et de confirmer les formules proposées par l'analyse élémentaire.

Les complexes se décomposent ensuite en deux étapes. La première a lieu dans le domaine de température 200-500°C et la seconde dans l'intervalle 573-1000°C. Cependant, il est difficile d'interpréter et d'attribuer ces deux étapes en se basant uniquement sur le pourcentage de perte de masse.

La figure 42 représente le thermogramme du complexe $\text{Cu-H}_2\text{L}^1$.

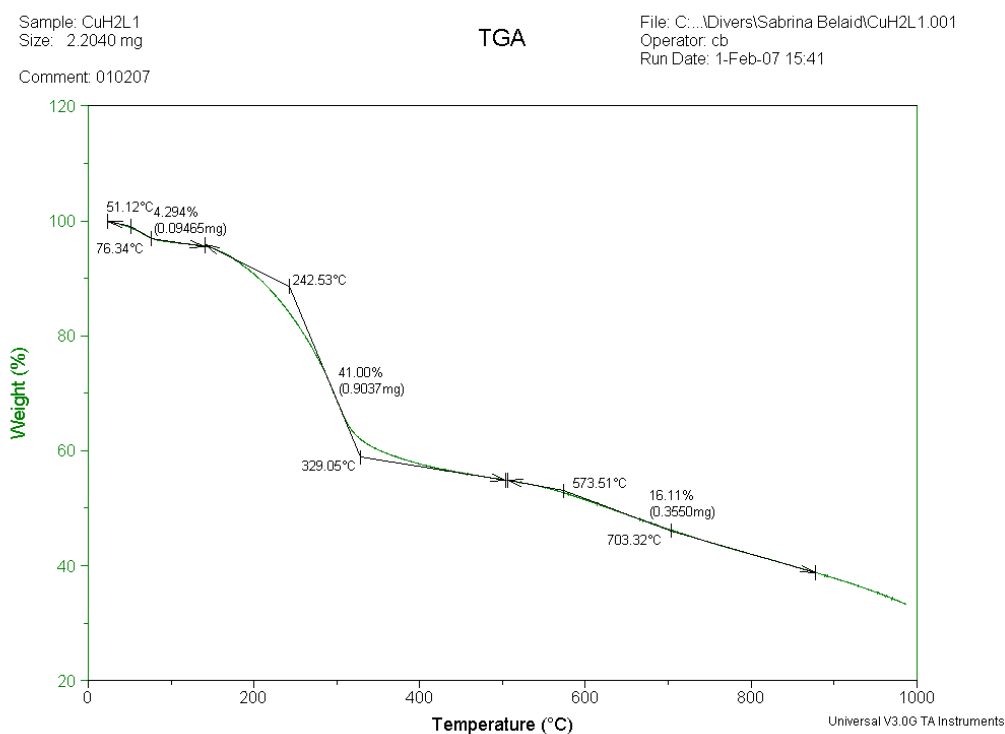


Figure 42 : Thermogramme du complexe $[\text{CuL}^1](\text{H}_2\text{O})$.

Tableau XIX : Données thermogravimétriques des complexes de cuivre.

Complexes	température	Perte de masse en % Exp. (Calc.)	groupements
[CuL ¹](H ₂ O)	51-124	4,29 (4,40)	H ₂ O
	200-500	41,00	
	573-1000	19,71	
[CuL ²](H ₂ O) ₂	77-103	8,34 (8,58)	2 H ₂ O
	234-425	52,35	
	500-1000	15,00	
[CuL ³](H ₂ O)	77-105	4,28 (4,14)	H ₂ O
	250-383	32,21	
	440-900	56,36	

V. 4. 4. Spectrométrie Infra Rouge

L'analyse des spectres IR s'est effectuée par comparaison des spectres des complexes avec ceux des ligands correspondants, afin de déterminer les changements qui ont eu lieu après complexation et identifier les atomes donneurs impliqués dans la coordination.

Les principales bandes IR sont regroupées dans le tableau XX.

Dans le domaine des grands nombres d'onde 3480-3600 cm⁻¹ apparaît une bande large attribuée aux vibrations des liaisons O-H des molécules d'eau d'hydratation [60].

Les bandes de vibration d'élongation des liaisons N-H situées dans les spectres des ligands seuls dans le domaine 3200-3314 cm⁻¹ ont subi un déplacement vers les faibles nombres d'onde, indiquant que les atomes d'azotes sont impliqués dans la coordination. En outre, de nouvelles bandes sont observées sur les spectres des complexes vers 500 cm⁻¹, elles sont dues aux vibrations d'élongation des liaisons Cu-N formées après complexation [76].

Les liaisons C-O vibrent dans les ligands seuls dans le domaine 1100-1190 cm⁻¹. Sur les spectres des complexes, ces bandes se trouvent déplacées, ce qui implique une coordination des ligands par les oxygènes phénoliques. Les bandes de vibration des liaisons Cu-O formées apparaissent dans le domaine 430-450 cm⁻¹ [76].

Le pic intense situé à 750 cm⁻¹ dû aux vibrations des hydrogènes des cycles aromatiques, n'est pas affecté par la coordination [60].

On observe également sur le spectre des trois complexes, la disparition de la bande de vibration de la liaison O-H indiquant que les ligands se sont liés sous forme déprotonnée en formant des espèces neutres, confirmant ainsi les résultats de la conductimétrie.

Tableau XX : Principales bandes IR des ligands et des complexes de cuivre (cm⁻¹).

Composé	ν (OH) ^a	ν (OH) ^b	ν (NH)	ν (C-N)	ν (C-O)	M-N	M-O
H ₂ L ¹	-	3061	3298	1229	1106	-	-
H ₂ L ²	-	3040	3288	1235	1105	-	-
H ₂ L ³	-	3030	3314	1265	1100	-	-
[CuL ¹](H ₂ O)	3627	-	3198	1297	1180	500 546	453
[CuL ²](H ₂ O) ₂	3485	-	3130	1278	1191	577 517	439
[CuL ³](H ₂ O)	3453	-	3170	1290	1163	554 500	436

^aH₂O

^bOH phénolique

V. 4. 5. Mesures magnétiques

Les mesures ont été effectuées dans l'intervalle de température 200-300 K, les résultats obtenus nous ont permis de tracer la courbe $1/\chi = f(T)$ qui est représentée sur la figure 43.

La variation est bien linéaire pour les trois complexes. Les complexes suivent bien la loi de Curie Weiss. Les valeurs de leur moment magnétique sont donc calculées à partir des formules précédentes.

Elles sont comprises dans l'intervalle 1,66-1,69 M.B. Ces valeurs sont essentiellement dues au moment de spin seul ($S = 1/2$), elles sont caractéristiques de complexes monomériques de cuivre.

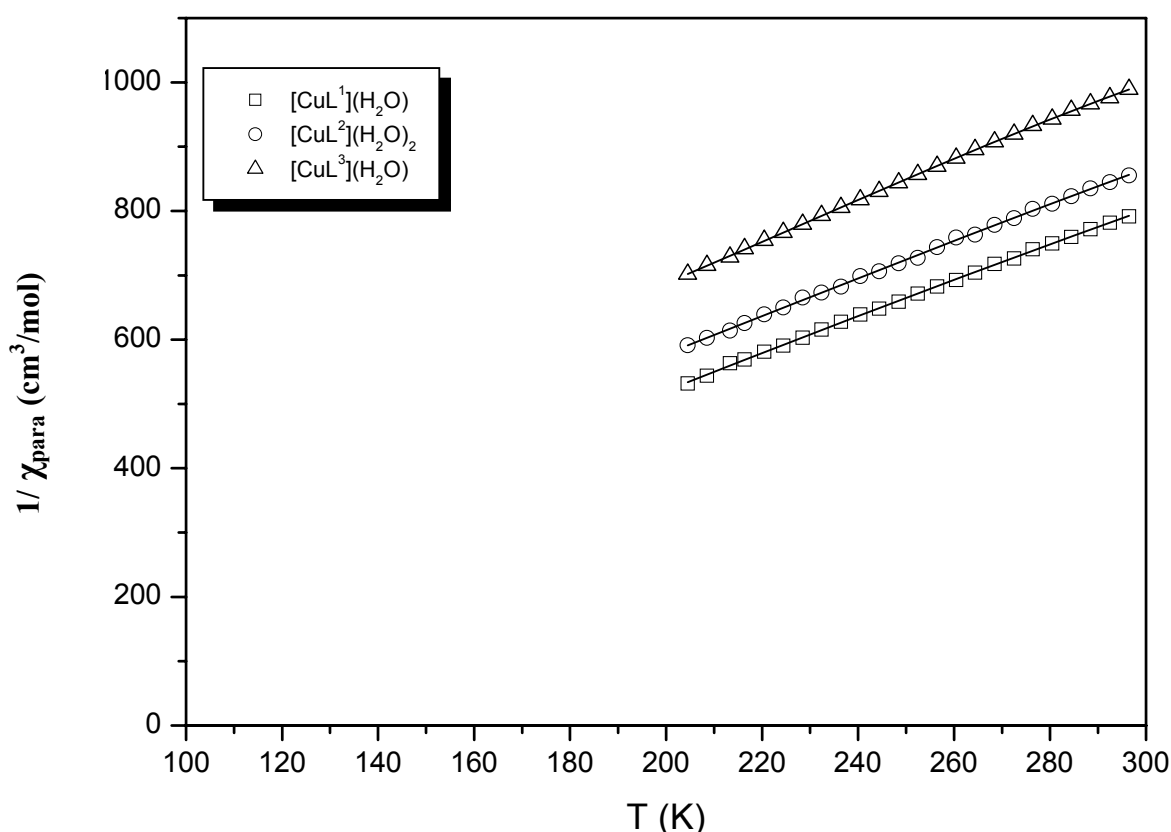


Figure 43 : Variation de la susceptibilité paramagnétique des complexes de cuivre en fonction de la température.

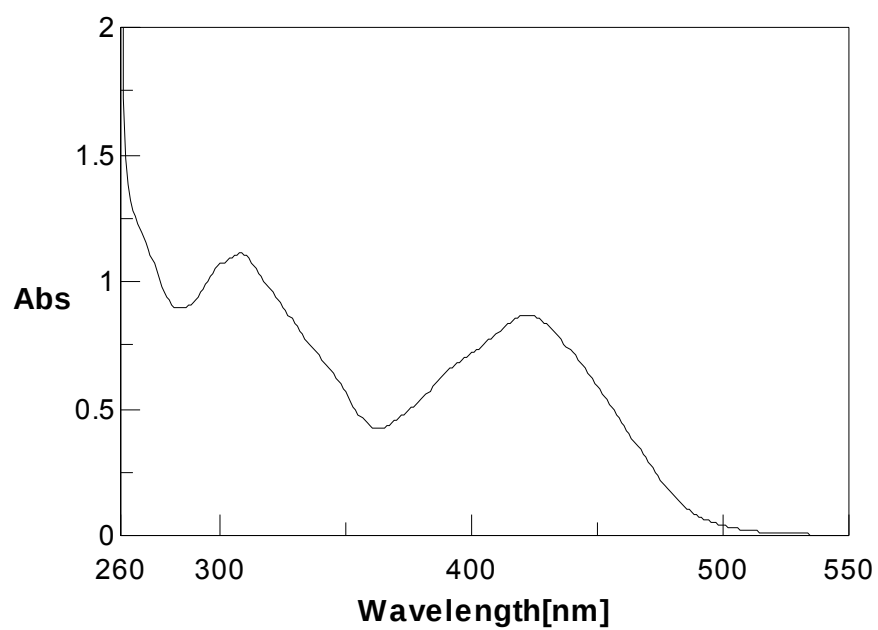
V. 4. 6. Spectrométrie UV-Visible

Les spectres électroniques d'absorption des complexes de cuivre enregistrés dans le DMSO (figures 44, 45) laissent apparaître deux bandes dans le domaine du visible : la première dans le domaine $16000\text{-}16500\text{ cm}^{-1}$ de moyenne intensité, elle est attribuée à la transition ${}^2B_{1g} \rightarrow {}^2B_{2g}$. La seconde de plus forte intensité située autour de 23000 cm^{-1} est due à la transition ${}^2B_{1g} \rightarrow {}^2E_g$ [79].

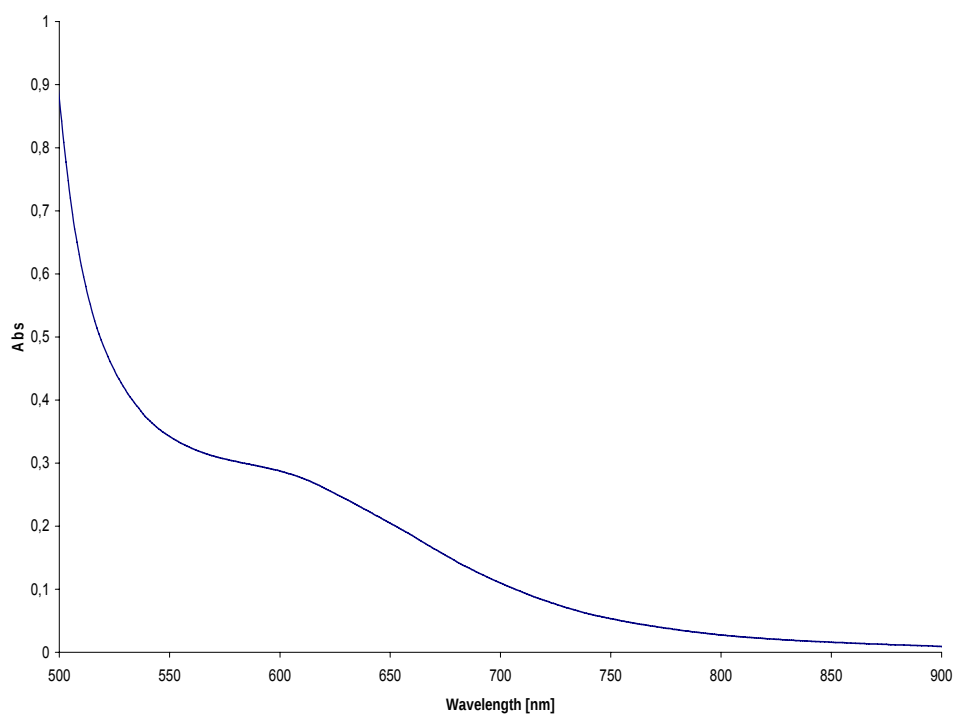
Ces transitions sont caractéristiques d'une géométrie carrée plane autour du Cu (II).

Dans le domaine de l'ultra violet, apparaissent deux bandes de forte intensité qui sont attribuées à des transitions intra ligands $\pi \rightarrow \pi^*$ [81].

Les données électroniques de ces spectres sont regroupées dans le tableau XXI.



**Figure 44 : Spectre électronique d'absorption du complexe $[\text{CuL}^1](\text{H}_2\text{O})$,
 $C = 2,16 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.**



**Figure 45 : Spectre électronique d'absorption du complexe $[\text{CuL}^1](\text{H}_2\text{O})$,
 $C = 5,72 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.**

Tableau XXI : Données électroniques des complexes de cuivre.

Complexes	λ nm(cm^{-1})	ε ($\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)	Transitions électroniques
$[\text{CuL}^1](\text{H}_2\text{O})$	611 (16366)	48	${}^2\text{B}_{1g} \rightarrow {}^2\text{B}_{2g}$
	422 (23696)	393	${}^2\text{B}_{1g} \rightarrow {}^2\text{E}_g$
	307 (32573)	536	$\pi \rightarrow \pi^*$
	260 (38461)	6324	$\pi \rightarrow \pi^*$
$[\text{CuL}^2](\text{H}_2\text{O})_2$	613 (16313)	27	${}^2\text{B}_{1g} \rightarrow {}^2\text{B}_{2g}$
	422 (23696)	311	${}^2\text{B}_{1g} \rightarrow {}^2\text{E}_g$
	300 (33333)	544	$\pi \rightarrow \pi^*$
	260 (38461)	4595	$\pi \rightarrow \pi^*$
$[\text{CuL}^3](\text{H}_2\text{O})$	605 (16528)	35	${}^2\text{B}_{1g} \rightarrow {}^2\text{B}_{2g}$
	425 (23529)	785	${}^2\text{B}_{1g} \rightarrow {}^2\text{E}_g$
	300 (33333)	3452	$\pi \rightarrow \pi^*$
	260 (38461)	5647	$\pi \rightarrow \pi^*$

V. 4. 7. Résonance paramagnétique électronique

Les spectres RPE des complexes de cuivre ont été enregistrés à l'état de poudre et à l'état vitreux dans le DMSO.

Les paramètres $g_{//}$, $g_{\perp}$, $A_{//}$, $A_{\perp}$ calculés par simulation à l'aide du programme Sim Fonia sont regroupés dans le tableau XXII. Les spectres des complexes $\text{Cu-H}_2\text{L}^1$ et $\text{Cu-H}_2\text{L}^2$ à l'état de poudre sont anisotropes avec une symétrie axiale et une structure hyperfine partiellement résolue (figure 46).

Le complexe $\text{Cu-H}_2\text{L}^3$ à l'état de poudre donne un signal isotrope (figure 47) pour lequel, l'affinement des valeurs expérimentales a donné les valeurs : $g_0 = 2,0042$ et $A_0 = 93$ G.

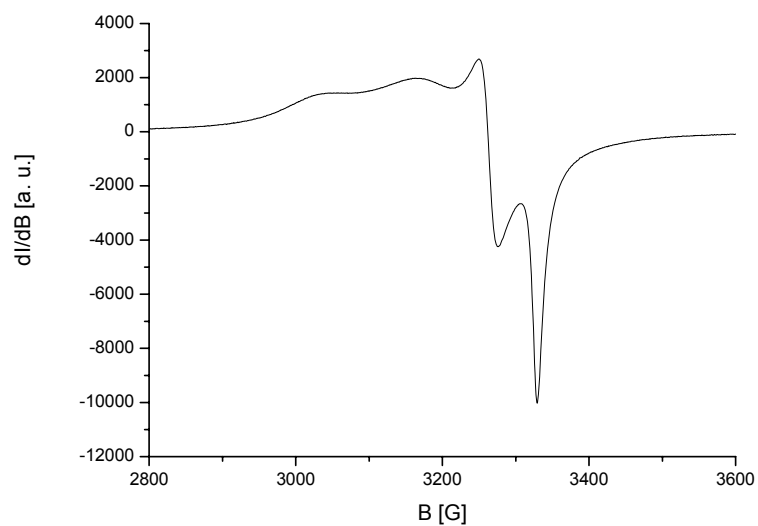


Figure 46 : Spectre RPE du complexe $[\text{CuL}^2](\text{H}_2\text{O})_2$ à l'état de poudre et à température ambiante.

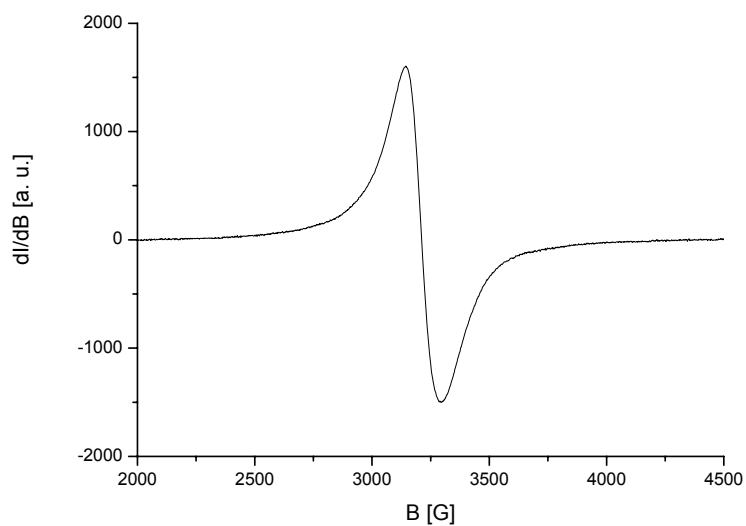


Figure 47 : Spectre RPE du complexe $[\text{CuL}^3](\text{H}_2\text{O})$ à l'état de poudre et à température ambiante.

Dans le DMSO à 250 K et à 113 K, la structure hyperfine est bien résolue pour les trois complexes (figures 48, 49). Elle est constituée de quatre raies hyperfines attribuées à l'interaction de l'électron célibataire avec le noyau du Cu ($I = 3/2$).

Les valeurs obtenues pour tous les paramètres montre que les spectres des trois complexes présentent une symétrie axiale avec : $A_{//} = A_{zz} \gg A_{\perp} = A_{xx} = A_{yy}$ et $g_{zz} = g_{//} \gg g_{\perp} = g_{xx} = g_{yy} > 2,0023$, cet ordre est typique de complexes monomériques de Cu (II) tétracoordinés et il indique que l'électron célibataire est localisé sur l'orbitale $d_{x^2-y^2}$ de l'ion Cu (II) [116].

L'examen des valeurs des constantes de couplage hyperfin montre que la valeur de $A_{\perp}$ est très faible pour les complexes $\text{Cu-H}_2\text{L}^2$ et $\text{Cu-H}_2\text{L}^3$, cela peut s'expliquer par le fait que pour ces deux complexes, la contribution de contact de Fermi A_{iso} est du même ordre de grandeur que la contribution A_{aniso} . Pour la symétrie axiale, les relations entre ces deux grandeurs sont : $A_{\perp} = A_{\text{iso}} - A_{\text{aniso}}$ et $A_{//} = A_{\text{iso}} + 2A_{\text{aniso}}$ [117].

Il a été rapporté que le niveau de déformation de la géométrie carrée plane autour de l'ion Cu (II) croît avec l'augmentation de $g_{//}$ et la diminution de $A_{//}$ [30]. La valeur du rapport $g_{//}/A_{//}$ est donc une bonne estimation de ce niveau de déformation. Pour les complexes $\text{Cu-H}_2\text{L}^1$, $\text{Cu-H}_2\text{L}^2$ et $\text{Cu-H}_2\text{L}^3$ les valeurs du rapport $g_{//}/A_{//}$ trouvées sont 112, 114 et 110 cm respectivement [118].

Ces valeurs sont caractéristiques d'une légère déformation de la géométrie plane, et sont comparables à celles rapportées pour des complexes de cuivre avec des bases de Schiff réduites, tandis que les mêmes complexes avec les bases de Schiff sont parfaitement plans [19].

Les valeurs du paramètre $g_{//} < 2,3$ pour les trois complexes suggèrent la présence de liaisons Cu-O et Cu-N dans ces chélates et une nature covalente pour ces complexes. Cependant, pour mieux définir la nature des liaisons formées, plusieurs paramètres de liaison ont été calculés à partir des formules suivantes :

$$\alpha^2\beta^2 = [(g_{//} - 2.0023)\Delta_{//}] / 8\lambda_0$$

$$\alpha^2\gamma^2 = [(g_{\perp} - 2.0023)\Delta_{\perp}] / 2\lambda_0$$

Où λ_0 représente la constante de couplage spin-orbite, pour le cuivre (II) : $\lambda_0 = - 828 \text{ cm}^{-1}$, $\Delta_{//}$ et $\Delta_{\perp}$ sont les énergies des transitions $^2B_{1g} \rightarrow ^2B_{2g}$ et $^2B_{1g} \rightarrow ^2E_g$ respectivement.

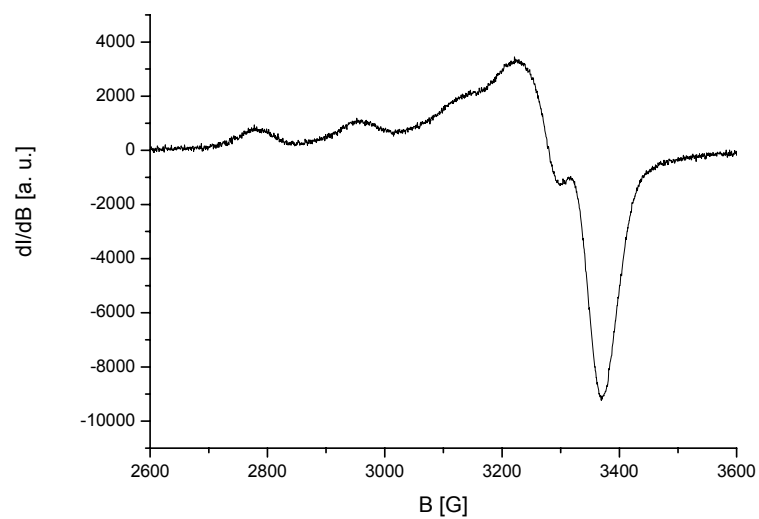


Figure 48 : Spectre RPE du complexe $[\text{CuL}^2](\text{H}_2\text{O})_2$ à l'état vitreux et à 113 K.

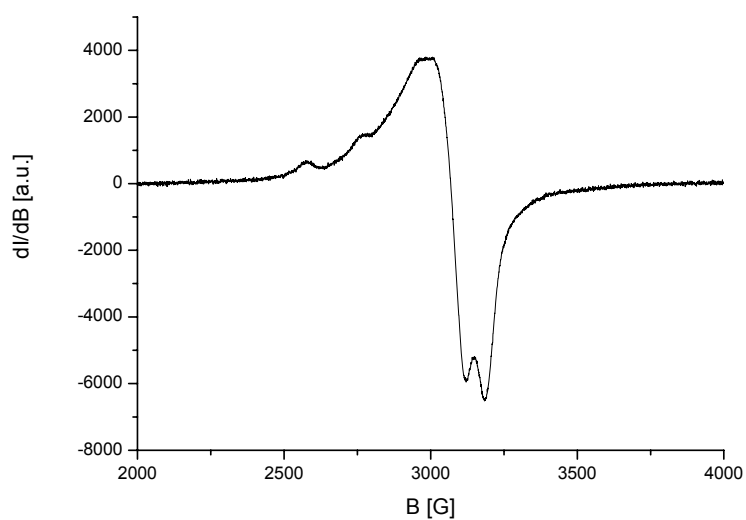


Figure 49 : Spectre RPE du complexe $[\text{CuL}^3](\text{H}_2\text{O})$ à l'état vitreux et à 113 K.

α et β représentent respectivement les paramètres de liaison métal-ligand σ et π dans le plan, et γ représente le paramètre de liaison π hors du plan. Les valeurs des produits $\alpha^2\beta^2$ et $\alpha^2\gamma^2$ mesurent la covalence des liaisons σ et π combinées. Elles sont comprises entre 1,0 et 0,25, la première valeur correspond à un caractère 100% ionique et la seconde à un caractère 100% covalent [85, 119].

Les valeurs obtenues pour nos complexes (tableau XXII) montrent un caractère covalent important pour les liaisons métal-ligand dans le plan mais très faible en dehors du plan.

En comparant les valeurs du produit $\alpha^2\beta^2$ des trois complexes, on a noté que le caractère covalent augmente dans l'ordre $\text{Cu-H}_2\text{L}^3 < \text{Cu-H}_2\text{L}^1 < \text{Cu-H}_2\text{L}^2$, cet ordre est en corrélation avec l'augmentation de l'effet donneur du substituant R [86].

Tableau XXII : Paramètres RPE et paramètres de liaison pour les complexes de cuivre.

Paramètres	$[\text{CuL}^1](\text{H}_2\text{O})$	$[\text{CuL}^2](\text{H}_2\text{O})_2$	$[\text{CuL}^3](\text{H}_2\text{O})$
$g_{\perp}$	2,055	2,070	2,080
$g_{//}$	2,243	2,240	2,240
g_{av}	2,117	2,126	2,133
$A_{//}$ (gauss)	187	185	190
$A_{\perp}$ (gauss)	75	15	15
$\alpha^2\beta^2$	0,592	0,584	0,605
$\alpha^2\gamma^2$	0,753	0,968	1,003

V. 4. 8. Schémas structuraux proposés

A la lumière de tous ces résultats, il apparaît que pour les trois complexes, le cuivre est tétra coordonné étant donné que les molécules d'eau sont des molécules d'hydratation. Les ligands se sont liés sous forme déprotonnée, ils forment donc des complexes neutres non électrolytes comme le suggèrent les valeurs de leur conductivité molaire. Les paramètres RPE ont montré que la géométrie autour du cuivre n'est pas parfaitement carrée plane mais plutôt tétraédriques aplatie. Les schémas présentés sur la figure 50 sont proposés pour ces complexes.

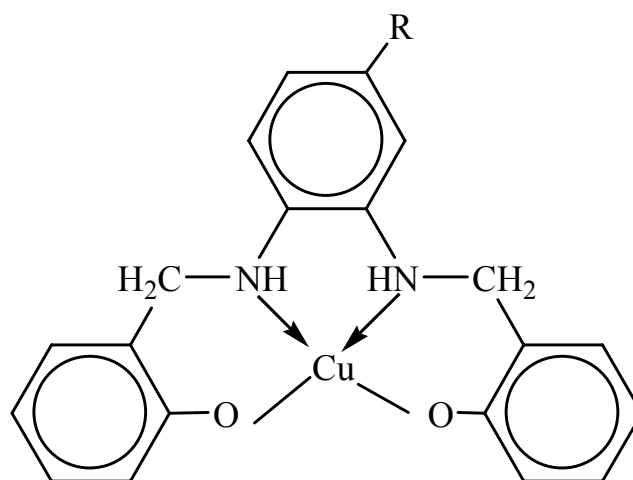


Figure 50 : Schéma structuraux des complexes de cuivre.

V.5. Conclusion

Les complexes de manganèse (II), cobalt (II), nickel (II) et cuivre (II) avec les ligands H_2L^{1-3} ont été synthétisés par des réactions de précipitation et caractérisés par les méthodes spectrales.

Les ligands se sont liés dans tous les cas sous forme déprotonnée et de façon tétradentate par les atomes d'azote et d'oxygène. Les structures des complexes obtenus sont similaires, quelques différences ont été relevées en fonction du ligand et du métal :

- Les complexes de manganèse (II) obtenus avec les ligands H_2L^1 et H_2L^3 sont octaédriques, celui formé avec H_2L^2 est tétraédrique, cette différence a été attribuée à une gêne stérique due au groupement méthyle sur le ligand H_2L^2 .
- Les trois complexes de cobalt sont octaédriques, à bas spin avec les ligands H_2L^2 et H_2L^3 , et à haut spin avec H_2L^1 , ce qui montre que dans le cas du cobalt le champ des ligands est lié à la nature du radical R.
- Les complexes de nickel formés sont de coordinence quatre, leur géométrie tétraédrique a été mise en évidence par la mesure de leur moment magnétique.
- Les complexes de cuivre sont également de coordinence quatre, la spectrométrie RPE a permis de déterminer différents paramètres de liaisons pour mieux définir la nature des liaisons métal-ligand. Les paramètres RPE ont confirmé la géométrie carrée plane déformée de ces trois complexes.

Chapitre VI : Activité biologique

VI. 1. Activité antifongique

VI. 1. 1. Introduction

Les champignons sont des organismes vivants présents dans le sol, l'air, l'eau ou encore dans des êtres vivants. Ils regroupent un nombre considérable d'espèces, estimé entre 100000 et 250000, largement répandues dans la nature, dont environ 300 sont impliqués dans la pathologie humaine et vétérinaire et sont donc capables de provoquer des infections communément appelées mycoses [120].

Contrairement aux végétaux, ils sont dépourvus de chlorophylle et sont donc incapables d'effectuer la photosynthèse qui permet de transformer l'énergie lumineuse en énergie chimique et de produire eux-mêmes les matières organiques dont ils ont besoin. Les champignons sont en fait de simples consommateurs, qui prélèvent le carbone qui leur est indispensable sur d'autres organismes [121].

Ils sont ainsi capables de se développer dans des milieux variés et de persister dans des milieux qui leurs sont parfois hostiles. Chez l'homme, certains champignons vivent en commensal de l'organisme sans pour autant devenir pathogènes, tel que *C. albicans*. D'autres s'installent lors d'une ingestion ou par blessure et sont donc exogènes, tel que *A. fumigatus* [120, 121].

En état de latence dans l'organisme, la majorité des champignons sont opportunistes et ne deviennent pathogènes que lorsque des conditions favorables sont réunies. Ces conditions sont très variées et vont d'un état de fatigue global à une grave immunodépression (VIH, cancer, chirurgie ...). Ils profitent de ces conditions pour développer et provoquer ainsi des mycoses. Celles-ci peuvent être superficielles et atteindre la peau ou les muqueuses, ou bien profondes (l'œil, le cœur, les os ...) ou encore systématiques pour évoluer dans l'organisme entier.

Le traitement des mycoses bénéficie actuellement de nombreux antifongiques actifs et efficaces. Malgré cela, le problème des résistances de plus en plus nombreuses à un ou plusieurs antifongiques persiste encore, car les champignons s'adaptent en développant différents mécanismes tel que : modification de la membrane cellulaire, mutation du gène codant pour l'enzyme cible. Cette évolution dans les infections fongiques a provoqué un besoin grandissant de nouveaux agents antifongiques.

VI. 1. 2. Les différents types de champignons

Les champignons pathogènes sont classés en fonction de leur morphologie, on distingue :

Les champignons filamenteux : ils ont une structure multicellulaire avec des cellules qui s'allongent pour former des filaments plus ou moins ramifiées. Les plus répandus sont : *Trichophyton*, *Microsporum*, *Aspergillus*, ils se reproduisent en formant des spores de petite taille qui peuvent pénétrer le tractus respiratoire jusqu'aux alvéoles pulmonaires.

Les levures : elles possèdent une structure unicellulaire de forme arrondie, elles s'allongent puis bourgeonnent en restant attachées les unes aux autres. Les principaux genres de levures sont : *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*.

Les champignons dimorphiques : Ils adaptent la morphologie la plus adaptée à leur survie, ils se présentent dans le sol dans certaines conditions sous forme filamenteuse. Cependant dans les tissus humains, ils ont un aspect de levure.

VI. 1. 3. Principales pathologies causées par les champignons étudiés

Nous avons testé *in vitro* l'activité antifongique de nos ligands et de nos complexes sur différentes souches :

- Des levures du genre *Candida*, qui induisent des infections graves des muqueuses appelées candidoses qui engendrent actuellement un taux élevé de mortalité chez l'homme. L'espèce la plus connue et redoutable est *C. albicans*. Cette levure est d'origine endogène, elle vit principalement dans le tube digestif, et exerce son pouvoir pathogène dès que le corps est dans un état d'immunodépression [120]. D'autres espèces pathogènes du genre *Candida* se rencontrent en commensal comme *C. glabrata*, *C. tropicalis* et *C. parapsilopsis*.

- Des champignons filamenteux opportunistes du genre *Aspergillus*, qui sont responsables de pathologies appelées aspergilloses, essentiellement dues chez l'homme à l'espèce *A. fumigatus*, qui est de nature exogène généralement véhiculé par l'air et les poussières, la petite taille de ses spores lui permet de se loger facilement dans les alvéoles pulmonaires en causant des infections fatales chez le patient immunodéprimé [120].

- Des champignons filamenteux du genre *Scedosporium*, qui sont rencontrés chez les patients atteints de mucoviscidose et qui causent de sérieux problèmes de résistance en thérapeutique [121].

La mucoviscidose est une maladie génétique, qui touche en France un nouveau né sur 2500 environ, les symptômes de la maladie sont des anomalies respiratoires et digestives et une infertilité chez l'homme. Cette maladie n'a pas de traitement curatif mais les progrès de la prise en charge permettent d'allonger l'espérance de vie qui peut aller jusqu'à 30 ans en France.

Dans notre pays, la mucoviscidose a longtemps était considérée comme rare et exceptionnelle, mais elle est malheureusement très fréquemment diagnostiquée actuellement, la fréquence exacte n'est pas connue [122].

- Quelques dermatophytes qui causent généralement des mycoses superficielles appelées dermatophytoses, qui peuvent atteindre la peau, les cheveux et les ongles car ils sont capables de se nourrir de la kératine.

VI. 1. 4. Résultats et discussion

L'activité antifongique a été évaluée pour les ligands et les complexes ainsi que pour les sels métalliques et le solvant seul, et comparée à celle de deux antifongiques de référence : l'Amphotéricine B et l'Itraconazole.

Aucune zone d'inhibition n'a été observée pour le solvant et les sels métalliques, indiquant que ces derniers ne sont pas impliqués dans l'activité des ligands et des complexes.

a) Détermination des diamètres d'inhibition

Les ligands

Les trois ligands sont actifs sur les deux espèces de *Scedosporium* testées : *S. apiospermum* qui est classé 2^{ème} après *Aspergillus terreus* parmi les champignons filamenteux qui colonisent les voies respiratoires des patients atteints de mucoviscidose, et *S. prolificans* qui cause de sévères infections chez les leucémiques [123]. Les diamètres d'inhibition obtenus avec ces deux souches varient entre 14 et 30 mm, ce résultat est très intéressant du fait que ces deux souches sont particulièrement résistantes à tous les antifongiques utilisés en thérapeutique, notamment à l'Amphotéricine B et l'Itraconazole utilisés comme référence dans cette étude (voir tableau XXIII).

Les ligands présentent également une activité moyenne sur certains dermatophytes (diamètres d'inhibition entre 14-20 mm). Et une faible activité sur *C. tropicalis* et *C. glabrata*.

Tableau XXIII : Activité anti fongique des ligands (les valeurs correspondent aux diamètres d'inhibition en mm).

Microorganismes	H ₂ L ¹	H ₂ L ²	H ₂ L ³	Amphotericine B	Itraconazole
<i>A. flavus</i>	0	0	0	14	18
<i>A. fumigatus</i>	0	0	0	30	0
<i>A. terreus</i>	0	0	0	11	0
<i>C. albicans</i>	0	0	0	30	22
<i>C. glabrata</i>	0	14	0	25	20
<i>C. parapsilopsis</i>	0	0	0	25	35
<i>C. tropicalis</i>	0	16	13	15	27
<i>M. canis</i>	0	0	14	25	40
<i>M. gypseum</i>	0	18	15	25	25
<i>M. persicolor</i>	20	18	15	20	30
<i>S. apiospermum</i> 4595	23	22	18	14	20
<i>S. apiospermum</i> 14358	25	22	15	10	30
<i>S. prolificans</i> 1644	30	22	14	0	0
<i>S. prolificans</i> 9298	22	20	14	0	0
<i>T. mentagrophytes</i>	0	15	16	24	30
<i>T. tonsurans</i>	0	0	16	25	25

Les Complexes de manganèse

Les résultats obtenus pour les complexes de manganèse sont représentés sur le tableau XXIV. A titre de comparaison, les résultats des ligands et des antifongiques de référence sont rappelés à chaque fois.

L'examen des résultats nous a permis de relever les points suivants :

Les résultats les plus intéressants sont ceux obtenus pour les champignons du genre *Scedosporium* compte tenu des problèmes que posent ces derniers en thérapeutique. Le *S. prolificans* est complètement résistant, aucune inhibition de croissance n'a été observée avec l'Itraconazole et l'Ampho. B, alors que des diamètres allant de 20 à 32 mm sont obtenus pour les trois complexes de manganèse.

Un exemple est représenté sur la figure 51, où on compare l'activité de $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ et de l'Itraconazole sur *S. prolificans* 1644.

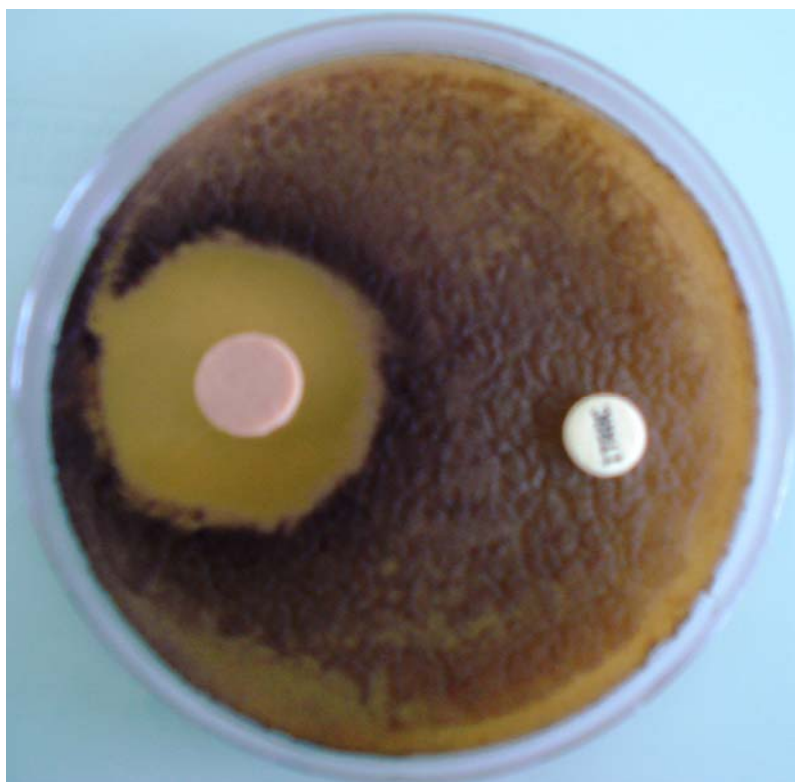


Figure 51 : Sensibilité in vitro de la souche *Scedosporium prolificans* 1644 au complexe $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ et à l'Itraconazole.

Avec le *S. apiospermum*, on obtient des diamètres allant de 10 à 30 mm avec les antifongiques de référence, alors que 35 mm sont obtenus avec $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$.

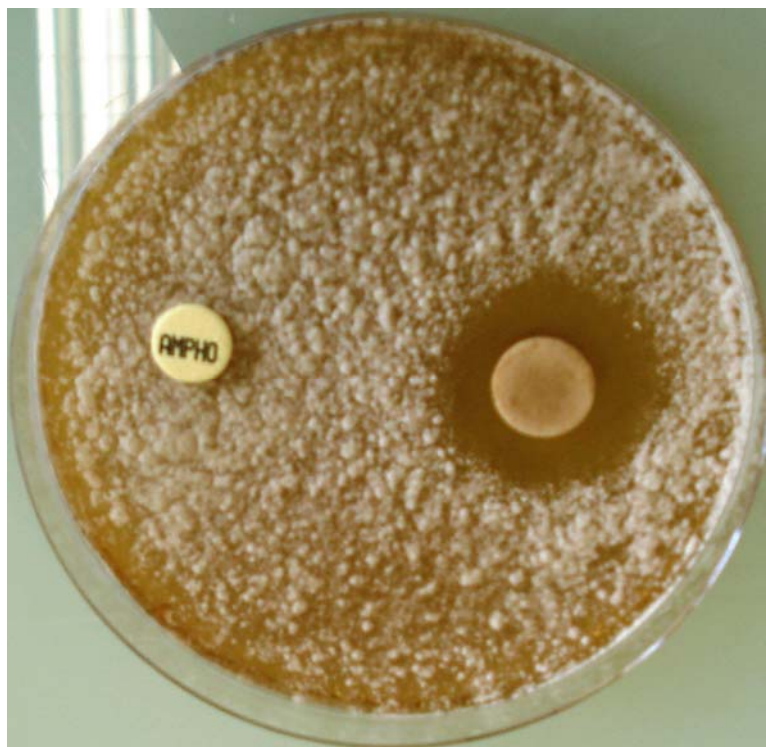


Figure 52 : Sensibilité in vitro de la souche *Scedosporium apiospermum* 14358 au complexe $[MnL^3(H_2O)_2]$ et à l'Amphotéricine B.

Le complexe $[MnL^1(H_2O)_2]$ présente une activité vis-à-vis des *Aspergillus*, la meilleure activité est observée pour *A. terreus* avec un diamètre d'inhibition de 22 mm, alors qu'il est complètement résistant à l'Itraconazole et il est légèrement inhibé par l'Ampho. B (11 mm).

Les complexes présentent une bonne activité sur tous les dematophytes testés avec des diamètres d'inhibition allant de 22 à 30 mm. Ils sont dans certains cas aussi actifs que les antifongiques de référence utilisés, et parfois même plus actifs comme c'est le cas pour *M. gypseum* où le complexe $[MnL^1(H_2O)_2]$ a un diamètre d'inhibition de 30 mm contre 25 mm pour l'Itraconazole et l'Ampho. B.

Tout comme les ligands, les complexes de manganèse ne sont pas actifs sur les levures du genre *Candida*.

Tableau XXIV : Activité anti fongique des ligands et des complexes de manganèse (les valeurs correspondent aux diamètres d'inhibition en mm).

Microorganismes	H ₂ L ¹	H ₂ L ²	H ₂ L ³	[MnL ¹ (H ₂ O) ₂]	[MnL ²]	[MnL ³ (H ₂ O) ₂]	Amphotericin B	Itraconazole
<i>A. flavus</i>	0	0	0	13	0	0	14	18
<i>A. fumigatus</i>	0	0	0	18	0	0	30	0
<i>A. terreus</i>	0	0	0	22	0	0	11	0
<i>C. albicans</i>	0	0	0	25	0	15	30	22
<i>C. glabrata</i>	0	14	0	18	0	0	25	20
<i>C. parapsilopsis</i>	0	0	0	15	0	0	25	35
<i>C. tropicalis</i>	0	16	13	0	0	18	15	27
<i>M. canis</i>	0	0	14	30	20	25	25	40
<i>M. gypseum</i>	0	18	15	30	20	23	25	25
<i>M. persicolor</i>	20	18	15	30	18	20	20	30
<i>S. apiospermum</i> 4595	23	22	18	25	22	25	14	20
<i>S. apiospermum</i> 14358	25	22	15	35	25	30	10	30
<i>S. prolificans</i> 9298	22	20	14	32	20	23	0	0
<i>S. prolificans</i> 1644	30	22	14	30	22	22	0	0
<i>T. mentagrophytes</i>	0	15	16	30	22	26	24	30
<i>T. tonsurans</i>	0	0	16	25	16	20	25	25

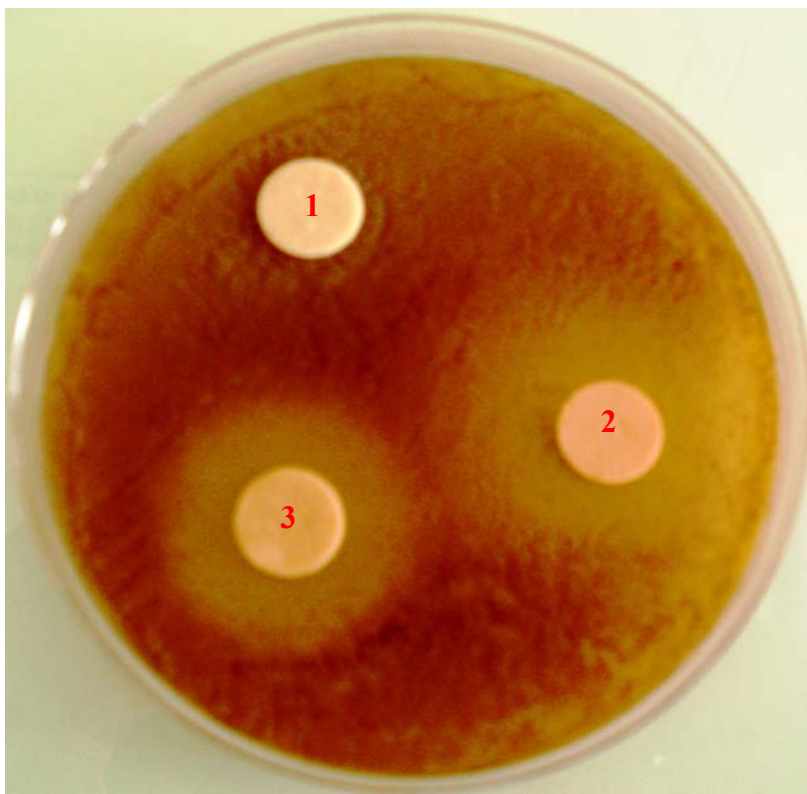
Les ligands sont impliqués dans l'activité des complexes vis-à-vis des dermatophytes et du *Scedosporium* car ils présentent aussi une inhibition de la croissance des champignons. Mais celle-ci est toujours inférieure à celle des complexes correspondants (figures 53, 54) démontrant que la complexation avec le manganèse favorise l'activité antifongique.

Ce qui peut être expliqué par la théorie de la chélation: la chélation réduit la polarité de l'ion métallique à cause de la neutralisation de sa charge positive par les atomes donneurs du ligands, et elle augmente son caractère lipophile, ce qui lui facilite la pénétration à travers la membrane lipidique de la cellule [124, 125].

En comparant l'activité des trois complexes, on constate que $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ est le plus actif. Il est actif sur toutes les souches testées excepté *C. tropicalis*. Il est donc clair que dans ce cas l'activité antifongique n'est pas reliée à la stabilité des complexes.



**Figure 53 : Sensibilité in vitro de la souche *Scedosporium apiospermum* 14358 à :
(1) : MnCl_2 , (2) : H_2L^3 et (3) : $[\text{MnL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$.**



**Figure 54 : Sensibilité in vitro de la souche *Scedosporium prolificans* 9298 à :
(1) : MnCl_2 , (2) : H_2L^1 et (3) : $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$.**

Les complexes de cobalt

Les complexes de cobalt ont révélé une activité importante sur les levures testées, spécialement sur *C. parapsilopsis* (figure 55) où un diamètre d'inhibition de 36 mm a été obtenu avec le complexe $[\text{CoL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$.



Figure 55 : Sensibilité in vitro de la souche *Candida parapsilopsis* à : $[\text{CoL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$.

Ces complexes ont révélé également une inhibition de la croissance importante des *Aspergillus*, les diamètres varient entre 13 et 20 mm, ces valeurs sont considérées importantes pour des *Aspergillus*, comparées à celles obtenues avec les antifongiques de référence (voir tableau XXV).

Les ligands ne sont pas impliqués dans cette activité car ils ne présentent aucune zone d'inhibition vis-à-vis des levures et des *Aspergillus*. L'activité obtenue est donc principalement due aux complexes de cobalt.

Tableau XXV : Activité anti fongique des ligands et des complexes de cobalt (les valeurs correspondent aux diamètres d'inhibition en mm).

	H ₂ L ¹	H ₂ L ²	H ₂ L ³	[CoL ¹ (H ₂ O) ₂]	[CoL ² (H ₂ O) ₂]	[CoL ³ (H ₂ O) ₂]	Ampho.B	Itraconazole
A. flavus	0	0	0	14	0	16	14	18
A. fumigatus	0	0	0	18	14	16	30	0
A. terreus	0	0	0	13	0	20	11	0
C. albicans	0	0	0	23	14	22	30	22
C. glabrata	0	14	0	25	15	27	25	20
C. parapsilopsis	0	0	0	36	28	33	25	35
C. tropicalis	0	16	13	23	18	17	15	27
M. canis	0	0	14	0	0	18	25	40
M. gypseum	0	18	15	0	0	0	25	25
M. persicolor	20	18	15	0	0	16	20	30
S. apiospermum 4595	23	22	18	35	23	40	14	20
S. apiospermum 14358	25	22	15	30	16	35	10	30
S. prolificans 9298	22	20	14	38	23	27	0	0
S. prolificans 1644	30	22	14	26	20	26	0	0
T.mentagrophytes	0	15	16	0	0	35	24	30
T. tonsurans	0	20	16	0	0	13	25	35

Comme attendu, ces complexes sont totalement inefficaces vis-à-vis des dermatophytes testés. En effet, l'expérience a montré que lorsqu'une espèce est active sur les levures et les *Aspergillus*, elle ne l'est pas sur les dermatophytes et inversement. C'est probablement dû à une spécificité d'action des dermatophytes d'une part et des levures et *Aspergillus* d'autre part.

Ceci concorde bien avec les résultats obtenus pour les complexes de manganèse qui sont efficaces sur les dermatophytes mais pas du tout sur les levures et les *Aspergillus*.

Les complexes de cobalt présentent une forte activité vis-à-vis des souches de *Scedosporium* testées, les diamètres d'inhibition se situent entre 20 et 40 mm (figure 56).



Figure 56 : Sensibilité in vitro de la souche *Scedosporium apiospermum* 4595 à : $[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$.

Les figures suivantes illustrent l'intérêt particulier de ces complexes qui inhibent assez bien la croissance des *Scedosporium* qui sont particulièrement résistantes à l'Ampho. B et à l'Itraconazole.

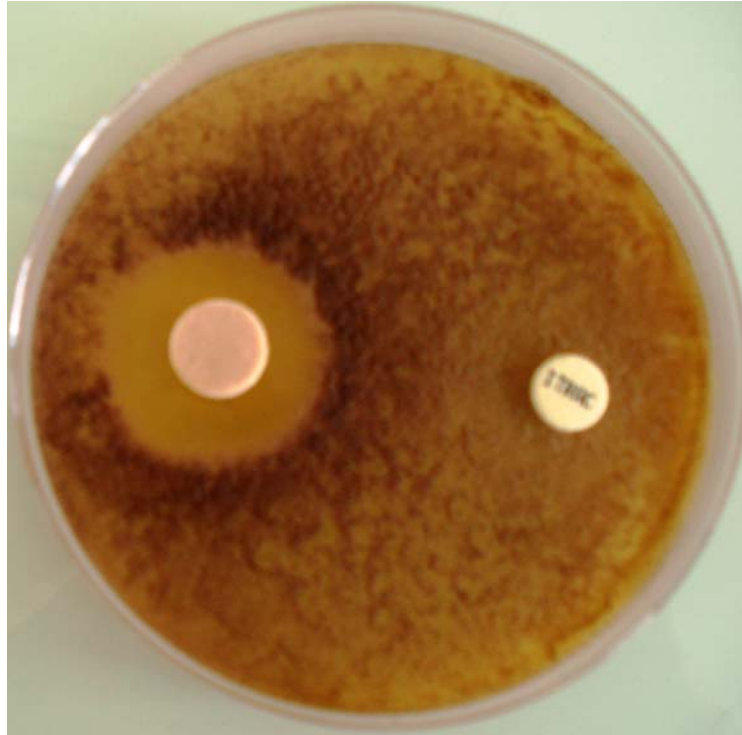


Figure 57 : Sensibilité in vitro de la souche *Scedosporium proliferans* 1644 à : $[\text{CoL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ et à l'Itraconazole.

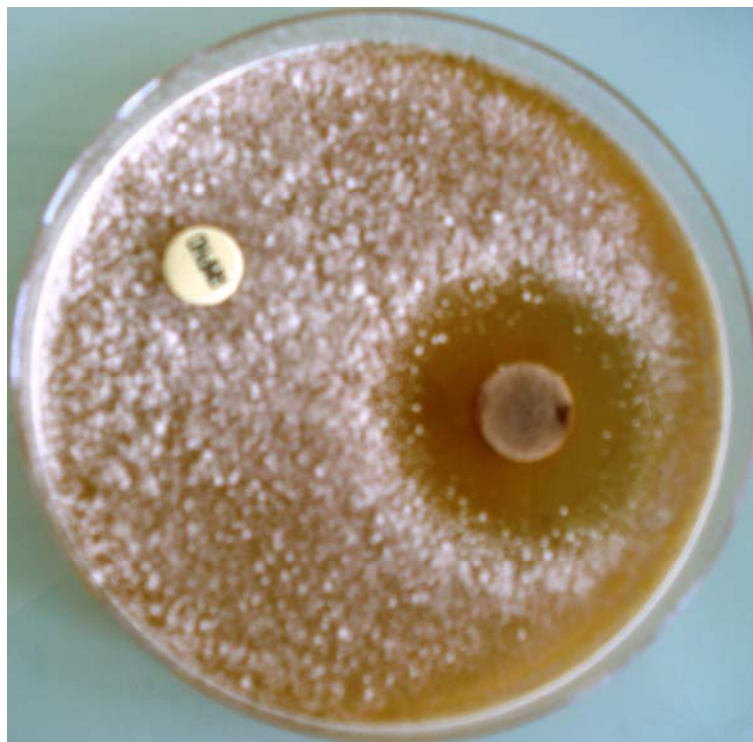


Figure 58 : Sensibilité in vitro de la souche *Scedosporium apiospermum* 14358 à : $[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ et à l'Amphotericine B.

Dans ce cas les ligands sont impliqués dans l'activité, et comme dans le cas des complexes de manganèse, l'activité antifongique est renforcée par la complexation, comme cela est représenté sur la figure suivante, qui compare l'activité du complexe $[\text{CoL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ à son ligand correspondant ainsi qu'au chlorure de cobalt :



**Figure 59 : Sensibilité in vitro de la souche *Scedosporium apiospermum* 14358 à :
(1) : CoCl_2 , (2) : H_2L^1 et (3) : $[\text{CoL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$.**

Les complexes de nickel

Les complexes de nickel se sont révélés inactifs sur la majorité des souches testées. Une faible inhibition de la croissance a été observée sur *C. tropicalis* (14-24 mm), ainsi qu'une légère activité sur les souches *Scedosporium* (13-25 mm).

Les complexes de cuivre

Les complexes de cuivre sont également inactifs sur la plupart des champignons testés. Une légère activité a été obtenue vis-à-vis des *Scedosporium* avec des diamètres d'inhibition allant de 13 à 20 mm.

b) Détermination des concentrations minimales d'inhibition

Afin de confirmer que la complexation favorise bien l'activité antifongique, nous avons évalué celle-ci en solution par la méthode des dilutions décrite au chapitre II. Cette méthode est plus précise car elle permet de surmonter les problèmes de diffusion qui peuvent se présenter sur certains produits par la méthode de diffusion sur gélose. Les résultats sont exprimés en CMI₉₀ qui correspond à la concentration minimale de l'échantillon qui produit 90% d'inhibition de croissance.

Nous présentons dans le tableau les résultats des complexes $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ et $[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ et de leur ligands correspondants sur les souches : *C. albicans*, *S. apiospermum* 4595 et *S. prolificans* 9298, les autres souches étant en cours d'étude.

Tableau XXVI : Concentrations minimales d'inhibition CMI₉₀ (µg/mL) des complexes $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ et $[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ et de leurs ligands correspondants.

Composé	MnCl ₂	H ₂ L ¹	$[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$	CoCl ₂	H ₂ L ³	$[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$
<i>C. albicans</i>	> 250	62	16	62	62	< 2
<i>S. apiospermum</i> 4595	> 250	125	62	125	62	16
<i>S. prolificans</i> 9298	> 250	31	16	> 250	8	1

Ces résultats confirment les conclusions obtenues par la méthode de diffusion, et montrent que la complexation favorise bien l'activité antifongique.

Les valeurs des CMI₉₀ concordent avec les diamètres d'inhibition obtenus, leurs faibles valeurs montrent que ces produits ont un effet fongistatique important qui consiste en l'inhibition de la croissance des champignons.

c) Effet fongicide

Nous avons évalué l'effet fongicide de la manière suivante : on reprend le puits qui correspond à la CMI₉₀ ainsi qu'un puits en dessous et un autre en dessus, on les dilue au 200^{ème} dans le cas de *C. albicans* et au ½ pour *S. apiospermum* 4595 et *S. prolificans* 9298 avec de l'eau distillée stérile. On dépose 10 µL de la suspension obtenue sur un milieu YPDA pour *C. albicans* et *S. apiospermum* 4595, sur un milieu actidione dans le cas de *S. prolificans*

9298, et on ensemence en étoile. Après 48h d'incubation, on compte le nombre de colonies qui ont repoussées, et on retient la CMF qui est la concentration minimale fongicide qui correspond à la concentration à laquelle aucune repousse n'est observée.

Tableau XXVII : Concentrations minimales fongicide CMF ($\mu\text{g/mL}$) des complexes $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ et $[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ et de leurs ligands correspondants.

Composé	MnCl_2	H_2L^1	$[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$	CoCl_2	H_2L^3	$[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$
<i>C. albicans</i>	> 250	62	31	125	125	2
<i>S. apiospermum</i> 4595	> 250	-	250	> 250	31	16
<i>S. prolificans</i> 9298	> 250	31	62	> 250	31	4

Les résultats montrent que les complexes $[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$ et $[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ et ligands H_2L^1 et H_2L^3 ont bien un effet fongicide à des concentration plus élevées que les CMI₉₀ correspondantes. Les résultats les plus intéressants sont obtenus avec le complexe $[\text{CoL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$ pour lequel aucune repousse n'est observée pour *C. albicans* et *S. prolificans* 9298 même à des concentration relativement faible : 2 et 4 $\mu\text{g/mL}$ respectivement.

d) Lipophilie

La lipophilie d'une molécule représente son affinité pour les corps gras, elle est mesurée par le paramètre log P qui représente le partage entre une phase aqueuse et une phase lipidique. Ce paramètre conditionne en partie les propriétés biologiques d'une molécule en particulier son passage à travers les membranes cellulaires lipidiques [126, 127].

Expérimentalement, log P est mesuré dans le système n-octanol/eau qui est reconnu pour sa faculté à mimer le passage à travers les membranes biologiques. Il est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanol et dans l'eau lorsque le système biphasique est en équilibre. Lorsque log P est positif et élevé, cela exprime que la molécule est plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile.

Actuellement, il existe plusieurs logiciels qui permettent d'estimer log P par simulation, ils ne sont malheureusement pas paramétrés pour les ions métalliques.

Nous avons calculé les valeurs de log P pour les ligands à l'aide de deux programmes.

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau XXVIII : Valeurs de log P pour les ligands.

Programmes	H ₂ L ¹	H ₂ L ²	H ₂ L ³
JME	4,18	4,65	4,70
ChemAxon	4,28	4,70	4,93

L'examen de ces résultats montre que les ligands les plus lipophiles sont H₂L² et H₂L³, ceci est en corrélation avec les résultats précédents, ces deux ligands sont en effet actifs sur une dizaine de souches, alors que H₂L¹ ne l'est que sur cinq souches (tableau XXIII). Cependant, les plus grands diamètres d'inhibition sont obtenus avec H₂L¹.

On peut conclure que la lipophilie joue un rôle important dans l'activité biologique en favorisant la pénétration à travers les membranes cellulaires, mais beaucoup d'autres paramètres interviennent dans le mécanisme d'action.

VI. 2. Pouvoir antioxydant

VI. 2. 1. Introduction

Un radical libre est une espèce chimique possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe. La présence d'un électron célibataire confère à ces molécules, la plupart du temps, une grande instabilité, elles ont la possibilité de réagir avec de nombreux composés dans des processus le plus souvent non spécifiques.

En biologie, les radicaux libres sont des espèces chimiques à très forte réactivité capables d'oxyder les protéines, l'ADN et les membranes des cellules, et qui ne sont pas forcément radicaux au sens chimique comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 .

Ces espèces, dont la production est un phénomène physiologique naturel lié à la vie peuvent alors s'attaquer aux composés vitaux des cellules. Elles peuvent s'attaquer à l'ADN en perturbant sa réplication, entraînant des mutations et des cancers. Elles peuvent aussi s'attaquer aux membranes cellulaires et aux protéines. Les conséquences sont, au niveau cellulaire, la mort des cellules, au niveau tissulaire, le durcissement des artères, la détérioration du collagène et donc la rigidité des tissus ainsi que des problèmes cardiovasculaires [128].

Les radicaux libres sont l'une des causes du vieillissement, il est donc proposé que des médicaments réduisant la concentration *in vivo* de ces espèces pourraient prolonger l'espérance de vie.

La formation de radicaux libres dans l'organisme est constante et indissociable de la vie dans une atmosphère oxydante, mais les excès dépendent de facteurs extérieurs tels que le stress, la fatigue, l'exercice physique intensif, la consommation de tabac, d'alcool et les pollutions atmosphériques.

L'organisme possède un certain nombre de moyens de défense contre les atteintes des radicaux libres mettant en jeu des enzymes comme les superoxydes dismutases, les catalases, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase. Lorsque ce système est submergé, l'organisme est dans une situation de stress oxydant [128].

Actuellement, de nombreux travaux de recherche sont axés sur la synthèse de nouveaux produits antioxydants. Des complexes de cuivre avec des bases de Schiff ont montré un pouvoir antioxydant important [129-131] qui est certainement lié à la présence du cuivre dans les enzymes superoxyde dismutase.

VI.2.2. Résultats et discussion

Nous avons testé le pouvoir antioxydant des ligands seuls, des sels métalliques et des complexes, par la méthode du DPPH décrite au chapitre II. Les résultats sont comparés à l'acide chlorogénique qui est un antioxydant naturel qu'on trouve dans les légumes (carotte, pomme de terre) mais il est particulièrement présent dans le café, il a un fort pouvoir antioxydant et il préserve nos cellules saines contre le processus d'évolution en cellules cancéreuses.

Le pouvoir antioxydant de l'acide chlorogénique est mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons, il est égal à 51 Eq Trolox.

On considère donc qu'un échantillon a un pouvoir antioxydant si celui-ci est supérieur ou égal à 50 Eq. Trolox. Les résultats obtenus pour tous nos produits sont regroupés dans le tableau XXIX.

Comme attendu, parmi les sels métalliques testés, seul le chlorure de cuivre possède un pouvoir antioxydant. En effet, de nombreuses études ont montré l'implication des composés du cuivre comme agent antioxydant, ce qui est attribué à sa présence dans l'enzyme superoxyde dismutase qui aide l'organisme à se défendre contre les radicaux libres.

Les trois ligands se sont révélés très actifs aussi, principalement H_2L^3 , ça peut être relié à l'acidité de ce dernier qui libère plus facilement un proton qui va réagir avec le DPPH.

Les complexes ont également montré un important pouvoir antioxydant, spécialement ceux du cobalt. Cela peut s'expliquer par la coordination du DPPH aux ions métalliques, ce qui permet d'apparier l'électron célibataire.

Cette première approche a révélé une bonne activité pour nos composés, cependant, une autre technique est nécessaire pour mieux comprendre le mécanisme d'action.

Tableau XXIX : Pouvoir antioxydant des ligands, des sels métalliques et complexes, exprimé en équivalent Trolox.

Echantillons à 50µM	Eq trolox en µM (moyenne sur triplicate)	Ecart-type
H ₂ L ¹	135	2
H ₂ L ²	187	0
H ₂ L ³	307	3
MnCl ₂ (H ₂ O) ₄	3	2
[MnL ¹ (H ₂ O) ₂]	99	3
[MnL ²]	100	4
[MnL ³ (H ₂ O) ₂]	69	7
CuCl ₂ (H ₂ O) ₆	171	1
[CuL ¹](H ₂ O)	8	0
[CuL ²](H ₂ O) ₂	50	2
[CuL ³](H ₂ O)	198	3
CoCl ₂ (H ₂ O) ₆	3	2
[CoL ¹ (H ₂ O) ₂]	293	8
[CoL ² (H ₂ O) ₂]	206	5
[CoL ³ (H ₂ O) ₂]	396	15
NiCl ₂ (H ₂ O) ₆	2	1
NiL ¹	142	5
NiL ²	29	2
NiL ³	50	1
<i>Acide chlorogénique</i>	51	3

VI. 3. Activité antileishmania

VI. 3. 1. Introduction

La leishmaniose est une maladie parasitaire dont l'agent pathogène est un protozoaire appartenant au genre leishmania. Elle est transmise par la piqûre d'un insecte infecté, le phlébotome femelle, qui est généralement infecté par une espèce protozoaire. Le développement des leishmanies chez leur hôte présente deux stades successifs :

- Promastigote : parasite extracellulaires vivant dans le tube digestif du phlébotome (15-25 μm).
- Amastigote : situé à l'intérieur de macrophages de mammifères (2-6 μm).

Lorsque le phlébotome pique un hôte, les promastigotes qui encombrant ses parties buccales vont être relargués dans le derme des mammifères pour se fixer sur les macrophages dermiques, ils se retrouvent alors en intracellulaire et ils se transforment en amastigotes. Les macrophages hôtes finissent par éclater, libérant les parasites qui pénètrent aussitôt dans de nouvelles cellules.

Selon la forme dont est atteint le malade, les manifestations cliniques sont variées, on distingue :

- La leishmaniose viscérale, forme la plus grave de la maladie avec une mortalité de 100% en l'absence de traitement. Elle se caractérise par des poussées de fièvre irrégulières, une perte de poids importante, de l'anémie ainsi qu'un gonflement de la rate et du foie.
- La leishmaniose cutanée provoquant des lésions pouvant conduire à une destruction des muqueuses du nez, de la bouche et de la gorge, et aussi à des ulcérations dermiques sur les parties exposées du corps, comme le visage, les bras ou les jambes, ce qui entraîne un grave handicap et laisse au malade des cicatrices indélébiles.

En Algérie 200 personnes par an sont atteintes de leishmaniose viscérale dans le nord du pays spécialement en Kabylie. La forme cutanée est la plus fréquente, avec 40000 nouveaux cas par an, répandus principalement au nord du sahara.

Pour le moment, il n'existe aucun vaccin contre cette maladie, et le seul moyen de prévention est l'utilisation de moustiquaires imprégnées de produit répulsif. Il en résulte un besoin évident de développer de nouveaux remèdes pour lutter contre cette maladie.

VI. 3. 2. Résultats et discussion

Il existe une vingtaine de souches de leishmania, mais nous ne présentons ici que les résultats de tests préliminaires des complexes de manganèse sur les souches *L. mexicana* et *L. major*. D'autres tests sont en cours pour compléter cette étude.

Tableau XXX : Activité antileishmania dans le stade promastigote des complexes de Manganèse, CI50 (µg/mL).

	Leishmania mexicana	Leshmania major
$[\text{MnL}^1(\text{H}_2\text{O})_2]$	2,8 (± 0,2)	2,6 (± 0,4)
$[\text{MnL}^2]$	4,2 (± 0,3)	2,6 (± 0,2)
$[\text{MnL}^3(\text{H}_2\text{O})_2]$	3,8 (± 0,2)	2,7 (± 0,4)
Allopurinol	21	37
Ketoconazole	32	11

Les résultats obtenus montrent que ces complexes ont une grande activité sur les souches testées, ils sont plus actifs que les références choisies (Allopurinol et Ketoconazole).

Ces résultats nous ont encouragés à continuer cette étude en testant les complexes de manganèse sur ces mêmes souches mais dans le stade amastigote, c'est-à-dire telles qu'elles se trouvent dans le corps humain des personnes atteintes de leishmaniose.

Pour les trois complexes de manganèse, il y a disparition totale des amastigotes lorsque l'on traite avec 10 µg/mL. D'autres expériences sont en cours pour déterminer la CI50.

VI.4. Conclusion

L'activité biologique des ligands et des complexes a été testée *in vitro* et a révélée un grand potentiel biologique pour ces produits.

Les ligands ont une activité antifongique moyenne vis-à-vis de certains dermatophytes et des souches de *Scedosporium* testées.

Les complexes de manganèse inhibent de façon considérable la croissance des champignons filamenteux testés, notamment les dermatophytes et le *Scedosporium*, ce dernier est impliqué dans plusieurs maladies graves comme la mucoviscidose et il pose de sérieux problèmes de résistance en thérapeutique, d'où l'intérêt particulier de ces résultats.

Les complexes de cobalt sont également très actifs sur ces souches. Ils le sont aussi sur les levures du genre *Candida* et également sur les *Aspergillus* testés.

La complexation favorise l'activité antifongique des ligands. En effet, l'activité des complexes est toujours supérieure à celle des ligands correspondants.

Aucune activité antifongique n'a été observée pour les complexes de cuivre et de nickel.

Les tests antioxydants sur le DPPH ont montré que les ligands ont un grand pouvoir antioxydant comparé au Trolox utilisé comme référence, les complexes également spécialement ceux du cobalt.

Les tests antileishmania ont été réalisés sur les complexes de manganèse, qui ont montré une grande diminution des cellules infectées aussi bien sur le stade promastigote que sur le stade amastigote. L'activité de ces complexes est nettement supérieure à celle des références utilisées en thérapeutique.

Cette étude nous a permis de révéler le pouvoir biologique de nos produits, et de renforcer les nombreuses références bibliographiques qui traitent sur l'activité biologique des bases de Schiff et de leurs complexes.

Cependant, une étude de la toxicité de ces composés s'impose avant de poursuivre nos travaux en vue d'une éventuelle application.

Conclusion générale

Conclusion générale

Au cours de ce travail, nous avons synthétisé une série de trois bases de Schiff réduites dérivées de l'ortho-phénylènediamine. L'étude de leur complexation avec certains métaux de transition a été effectuée en solution et à l'état solide, leur activité biologique a été évaluée *in vitro*.

L'étude en solution a été réalisée par potentiométrie en milieu eau-éthanol (90/10 vol./vol.), le calcul des constantes de protonation des ligands et des constantes de stabilité des complexes effectuée par le programme Sirko.

L'ordre de basicité obtenu pour les ligands : $H_2L^2 > H_2L^1 > H_2L^3$ est en accord avec l'effet donneur du substituant R. Pour un même ion métallique, le même ordre de stabilité des complexes a été obtenu.

Et pour un même ligand, l'ordre de stabilité des complexes observé est $Cu > Ni > Co > Mn$ conformément à la série d'Irving et Williams.

Les complexes obtenus sont plus stables que ceux rapportés dans la littérature pour les bases de Schiff analogues. La réduction de la liaison $C=N$ permet donc d'avoir des complexes plus stables.

Les complexes ont été isolés à l'état solide par des réactions de précipitation, ensuite caractérisés par analyse élémentaire, conductimétrie, analyse thermogravimétrique, spectrométrie IR, mesures magnétiques, spectrométrie UV-Visible et RPE.

L'analyse élémentaire et la conductimétrie ont permis de proposer des formules brutes pour ces composés et ont montré que seuls des complexes monomères se sont formés.

L'analyse thermogravimétrique a permis de déterminer la nature et le nombre de molécules d'eau éventuellement présentes.

Le mode de coordination des ligands a été déterminé par infrarouge, en comparant les spectres des complexes à ceux des ligands correspondants. Dans tous les cas, les ligands se sont liés sous forme déprotonnée et d'une manière tétradentée par les atomes d'azote et d'oxygène.

Les mesures magnétiques ont permis de confirmer la nature monomérique de ces complexes et de déterminer l'état d'oxydation des ions métalliques, pour ainsi attribuer correctement les transitions électroniques.

La géométrie autour de l'ion central a été déterminé par UV-Visible, et confirmée par RPE qui a permis de confirmer également les états d'oxydation des ions métalliques.

La nature covalente des liaisons métal-ligand des complexes de cuivre a été déterminée grâce aux paramètres g et A des spectres RPE.

Toutes ces techniques spectrales ont permis de proposer des schémas structuraux pour tous les complexes isolés.

La dernière partie de ce travail a été consacrée à l'étude de l'activité biologique des ligands et des complexes.

L'activité antifongique vis-à-vis de plusieurs champignons pathogènes de l'homme a été évaluée, et comparée à celle de deux antifongiques de référence (l'Amphotéricine B et l'Itraconazole). Elle a montré que les ligands et les complexes de manganèse et de cobalt inhibent de façon remarquable la croissance de ces champignons.

Le pouvoir antioxydant de ces composés a été testé sur le DPPH et a révélé une forte activité pour les ligands et pour certains complexes.

Les complexes de manganèse ont été testés en antileishmania sur les deux stades promastigote et amastigote. Ils diminuent de façon considérable le nombre de cellules infectées.

Les premières approches de l'étude de l'activité biologique de ces composés sont très encourageantes. En perspective, nous envisageons d'étudier la toxicité de tous nos produits afin de pouvoir aller plus loin dans l'étude de leur activité biologique. Il serait intéressant de marquer ces complexes par des composés fluorescents afin de pouvoir suivre leur pénétration dans la cellule et étudier leur mécanisme d'action. Ces composés ouvrent donc la voie à un important domaine de recherche que nous espérons pouvoir développer dans l'avenir.

D'autres part, il serait intéressant de synthétiser de nouveaux complexes avec d'autres ions métalliques tels que le vanadium (IV) et (V) et le molybdène (V) et (VI), autres éléments métalliques d'intérêt biologique.

Bibliographie

1. R.H. Holm, *Progress in Inorganic Chemistry*, **1966**, 7, 83-214.
2. J. Costamagna, J. Latorre, A. Alvarado and G. Mena, *Coord. Chem. Rev.*, **1992**, 119, 67-88.
3. J.A. McCleverty and T.J. Meyer, *Comprehensive Coordination Chemistry II, from Biology to Nanotechnology*, **2004**, Vol. 1, Pergamon Press: Oxford.
4. A.G. Manfredotti and C. Guastini, *Acta Cryst. C*, **1983**, C39, 863-865.
5. V.L. Pecoraro and W.M. Butler, *Acta Cryst. C*, **1986**, C42, 1151-1154.
6. F. Lloret, M. Mollar, J. Faus, M. Julve and I. Castro, *Inorg. Chim. Acta*, **1991**, 189(2), 195-206.
7. G. Wilkinson, F.G.A. Stone, E.W. Abel and L.S. Hegedus, in *Comprehensive Organometallic Chemistry II*, **1995**, Pergamon: New York.
8. E.N. Jacobsen, J.F. Larrow, Y. Gao, Y. Hong, X. Nie and C.M. Zepp, *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 1939-1942.
9. N.S. Venkataramanan, G. Kuppuraj and S. Rajagopal, *Coord. Chem. Rev.*, **2005**, 249, 1249-1268.
10. S. Foerster, A. Rieker, K. Maruyama, K. Murata and A. Nishinga, *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 3320-3326.
11. B. Saito and T. Katsuki, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 8333-8336.
12. E.M. Garrigle, D.M. Murphy and D.G. Gilheany, *Tetrahedron-Asymmetr.*, **2004**, 15, 1343-1354.
13. C.J. Magesh, S.V. Makesh and P.T. Perumal, *Bioorgan. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14(9), 2035-2040.
14. R. Wajid, B. Amin, M. Kaleen, A. Saqib, H. Gulzar and K. Khalid, *J. Chin. Chem. Soc.*, **2004**, 51, 923-934.
15. R. Gust, I. Ott, D. Posselt and K. Sommer, *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 5837-5846.
16. A.E. Martell and R.D. Hancock, *Metal Complexes in Aqueous Solutions, Modern Inorganic Chemistry*, **1996**, Plenum Press: New York.
17. J. Sanchiz, S. Dominguez, A. Mederos, F. Brito and J.M. Arrieta, *Inorg. Chem.*, **1997**, 36, 4108-4114.
18. F. Lloret, J. Moratal and J. Faus, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1983**, 1743-1748.
19. A. Mederos, S. Dominguez, R. Hernandez-Molina, J. Sanchiz and F. Brito, *Coord. Chem. Rev.*, **1999**, 193-195, 857-911.

20. Y.-M. Yang, *Acta Cryst. E*, **2005**, 61, m1425-m1426.
21. R. Hernandez-Molina, A. Mederos, P. Gili, S. Dominguez, P. Nunez, G. Germain and T. Debaerdemaeker, *Inorg. Chim. Acta*, **1997**, 256, 319-325.
22. E. Solari, C. Maltese, M. Latronico, C. Floriani, A. Chiesi-Villa and C. Rizzoli, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1998**, 2395-2400.
23. S.D. Angelis, E. Solari, E. Gallo, C. Floriani, A. Chiesi-Villa and C. Rizzoli, *Inorg. Chem.*, **1996**, 35, 5995-6003.
24. A.S. Gaballa, M.S. Asker, A.S. Barakat and S.M. Teleb, *Spectrochim. Acta A*, **2007**, 67, 114-121.
25. A. Bottcher, H. Elias, E.G. Jager, H. Langlelderova, M. Mazur, L. Muller, H. Paulus, P. Pelikan, M. Rudolph and M. Valko, *Inorg. Chem.*, **1993**, 32, 4131-4138.
26. D.A. Atwood, J.A. Jeigier, N.F. Lindhom, K.J. Martin and D. Rutherford, *J. Coord. Chem.*, **1996**, 38, 305-318.
27. D.A. Atwood and D. Rutherford, *Organometallics*, **1995**, 14, 2880-2886.
28. L.L. Koh, J.O. Ranford, W.T. Robinson, J.O. Svensson, A.L.C. Tau and D. Wu, *Inorg. Chem.*, **1996**, 35, 6466-6472.
29. D.A. Atwood, M.P. Remington and D. Rutherford, *Organometallics*, **1996**, 15, 4763-4769.
30. R. Klement, F. Stock, H. Elias, H. Paulus, P. Pelikan, M. Valko and M. Mazur, *Polyhedron*, **1999**, 18, 3617-3628.
31. L.T. Yildirim and O. Atakol, *Cryst. Res. Technol*, **2002**, 37, 1352-1359.
32. C.T. Yang, B. Moubaraki, K.S. Murray and J.J. Vittal, *Dalton trans.*, **2003**, 880-889.
33. P.D. Bernardo, P.L. Zanonato, S. Tamburini, P. Tomasin and P.A. Vigato, *Dalton Trans.*, **2006**, 4711-4721.
34. J. Reglinsky, M.K. Taylor and A.R. Kennedy, *Inorg. Chem. Commun.*, **2006**, 9, 736-739.
35. S. Djebbar-Sid, *Thèse de Doctorat d'Etat*, **1997**, USTHB, Alger.
36. S. Djebbar-Sid, O. Benali-Baitich and J.P. Deloume, *Polyhedron*, **1997**, 16, 2175-2182.
37. S. Djebbar-Sid, O. Benali-Baitich, M.A. Khan and G. Bouet, *Synth. React. Inorg. Met-Org. Chem*, **1997**, 27, 1219-1233.
38. S. Djebbar-Sid, O. Benali-Baitich and J.P. Deloume, *Transition Met. Chem.*, **1998**, 23, 443-447.
39. S. Djebbar-Sid, O. Benali-Baitich and J.P. Deloume, *J. Mol. Struct.*, **2001**, 569, 121-128.

40. H. Hall, C.B. Lackey, T.D. Kistler, R.W. Durham, E. Jouad, M. Khan, X.D. Thanh, S. Djebbar-Sid, O. Benali-Baitich and G. Bouet, *Die Pharmazie*, **2000**, 55, 937-941.
41. X.D. Thanh, S. Djebbar-Sid, O. Benali-Baitich, G. Pehu, M.A. Khan and G. Bouet, *Anticancer Res.*, **2000**, 20, 4639-4642.
42. X.D. Thanh, S. Djebbar-Sid, S. Duchemme, O. Benali-Baitich, G. Bouet and M.A. Khan, *Biol. Rhythm. Res.*, **2001**, 32, 423-429.
43. J. Inczedy, *Analytical Application of Complex Equilibria*, **1976**, J. Wiley: New York.
44. A.L.R. Merce, B. Szpoganiez, R.C. Dutra, M.A. Khan, X.D. Than and G. Bouet, *J. Inorg. Biochem.*, **1998**, 71, 87-91.
45. A.L.R. Merce, B. Szpoganiez, R.C. Dutra, M.A. Khan, X.D. Than and G. Bouet, *J. Inorg. Biochem.*, **1999**, 73, 167-172.
46. G. Douheret, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1967**, 1412-1419.
47. V.I. Vetrogon, N.G. Lukyanenko, M.J. Schwing-Weill and F. Arnaud-Neu, *Talanta*, **1994**, 41, 2105-2112.
48. A.L. Barry and S.D. Brown, *J. Clin. Microbiol.*, **1996**, 2154-2157.
49. A. Espinel-Ingroff, T.M. Kerkering, P.R. Goldson and S. Shadomy, *J. Clin. Microbiol.*, **1991**, 29, 1089-1094.
50. A.A. Lateff, G.M. Konig, U. Holler, P.G. Jones and A.D. Wright, *J. Nat. Prod.*, **2002**, 65, 1605-1611.
51. P. LePape, F. Pagniez and H. Abdala-Valencia, *Acta Parasitologica*, **2002**, 41, 79-81.
52. F. Pagniez, H. Abdala-Valencia, P. Marchand, M. LeBorgne, G. LeBaut, S. Robert-Piessard and P. LePape, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2006**, 21, 277-283.
53. S. Belaid, *Thèse de Magister*, **2002**, USTHB, Alger.
54. S. Belaid, S. Djebbar, O. Benali-Baitich, S. Ghalem, M. Khan and G. Bouet, *Asian J. Chem.*, **2005**, 17, 811-821.
55. A. Mederos, A. Medina, P. Gili, F.G. Manrique and P. Nunez, *Annales de Quimica*, **1985**, 82, 338-340.
56. R. Hernandez-Molina, A. Mederos, P. Gili, S. Dominguez and P. Nunez, *Polyhedron*, **1997**, 16(24), 4191-4196.
57. R. Bastida, A.D. Blas, D.E. Fenton, C. Rial, T. Rodriguez and A. Sousa, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1993**, 265-268.
58. Z. Travnicek, R. Pastorek, Z. Sindelar, J. Kamenicek and J. Marek, *Polyhedron*, **1996**, 15, 2975-2981.
59. X.S. Than, W.X. Tang, J. Chen and P.J. Zheng, *Polyhedron*, **1996**, 15, 2087-2091.

60. L.J. Bellamy, *The Infrared Spectra of Complex Molecules*, Second ed, **1964**, J. Wiley: New York.
61. D. Kong, A.E. Martell, R.J. Motekaitis and J.H. Reibenspies, *Inorg. Chim. Acta*, **2001**, 317, 243-251.
62. S. Belaid, S. Djebbar, O. Benali-Baitich, M. Khan and G. Bouet, *C.R. Chimie*, **2007**, 10, 568-572.
63. D.A. Atwood, *Coord. Chem. Rev.*, **1998**, 176, 407-430.
64. Y. Sunatsuki, Y. Motoda and N. Matsumoto, *Coord. Chem. Rev.*, **2002**, 226(1-2), 199-209.
65. A.D. Garnovskii, A.L. Nivorozhkin and V.I. Minkin, *Coord. Chem. Rev.*, **1993**, 126(1-2), 1-69.
66. V.K. Muppidi, P.S. Zacharias and S. Pal, *Inorg. Chem. Commun.*, **2005**, 8, 543-547.
67. B. Halliwell and J. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, **1999**, Oxford University: USA.
68. N. Aurangzeb, C.E. Hulme, C.A. McAuliffe, R.G. Pritchard, M. Watkinson, M.R. Bermejo, A. Garcia-Deibe, M. Rey, J. Sanmartin and A. Sousa, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 1153-1155.
69. N. Aurangzeb, C.E. Hulme, C.A. McAuliffe, R.G. Pritchard, M. Watkinson, M.R. Bermejo and A. Sousa, *J. Chem. Soc., Chem. Com.*, **1994**, 2193-2195.
70. L. Luaces, M.R. Bermejo, J.A. Garcia-Vasquez, J. Romero, A. Sousa, R.G. Pritchard, C.A. McAuliffe and Y. Mugnier, *Polyhedron*, **1996**, 15, 3717-3724.
71. A. Deroche, I. Morgenstern-Badarau, M. Cesario, J. Guilhem, B. Keita, L. Nadjio and C. Houe-Levin, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 4567-4573.
72. N.H. Lee, C.S. Lee and D.S. Jung, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 1385-1388.
73. K.B.M. Janssen, I. Laquiere, W. Dehaen, R.F. Parton, I.F.J. Vankelekom and P.A. Jacobs, *Tetrahedron-Asymmetr.*, **1997**, 8, 3481-3487.
74. J.W. Geary, *Coord. Chem. Rev.*, **1971**, 7, 81-122.
75. G.G. Mohamed, *Spectrochim. Acta A*, **2006**, 64, 188-195.
76. K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, Fifth ed, **1997**, J. Wiley: New York.
77. G. Wilkinson, *Comprehensive Coordination Chemistry*, **1987**, Vol. 4, Pergamon Press: Oxford.
78. D.F. Shriver and P.W. Atkins, *Chimie Inorganique*, **2001**: Paris.

79. A. B. P. Lever, *Inorganic Electronic Spectroscopy*, Second ed, **1997**, Elsevier: Amsterdam.
80. S. Biswas, K. Mitra, C.H. Schwalbe, C.R. Lucas, S.K. Chattopadhyay and B. Adhikary, *Inorg. Chim. Acta*, **2005**, 358, 2473-2481.
81. B. Bosnich, *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, 90, 627-632.
82. D.M. Hong, H.H. Wei, L.L. Gan, G.H. Lee and Y. Wang, *Polyhedron*, **1996**, 15, 2335-2340.
83. R. Rajan, R. Rajaram, B.U. Nair, T. Ramasani and S.K. Mandal, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, **1996**, 2019-2021.
84. M. McCann, R.M.T. Casey, M. Devereux, M. Curran and V. Mcekee, *Polyhedron*, **1996**, 15, 2321-2325.
85. R.C. Chikate and S.B. Padhye, *Polyhedron*, **2005**, 24, 1689-1700.
86. S. Belaid, A. Landreau, S. Djebbar, O. Benali-Baitich, G. Bouet and J.P. Bouchara, *J. Inorg. Biochem.*, **2008**, 102(1), 63-69.
87. F.A. Cotton and G. Wilkinson, *Advanced Inorganic Chemistry*, Fifth edition ed, **1988**, John Wiley: New York.
88. C.S. Alexander, *Am. J. Med*, **1972**, 53(4), 395-417.
89. B.B. Wayland, M.E. Abd-Elmageed and L.F. Mehne, *Inorg. Chem.*, **1975**, 14(7), 1456-1460.
90. S. Sunita, *Himalayan Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **1998**, 15, 1-4.
91. P. Kamalakannan and D. Venkappayya, *J. Inorg. Biochem*, **2002**, 90, 22-37.
92. M.C.R. Symons, T.Taiwo, A.M. Sargeson, M.M. Ali and A.S. Tabl, *Inorg. Chim. Acta*, **1996**, 241, 5-8.
93. M. Venter, I. Haiduc, L. David and O. Cozar, *J. Mol. Struct.*, **1997**, 408/409, 483-486.
94. R. March, W. Clegg, R.A. Coxall, L. Curcurull-Sanchez, L. Lezama, T. Rojo and P. Gonzalez-Duarte, *Inorg. Chim. Acta*, **2003**, 353, 129-138.
95. S. Belaid, A. Landreau, S. Djebbar, O. Benali-Baitich, M. Khan and G. Bouet, *Transition Met. Chem.*, **2008**, 33, 511-516.
96. R.J.P. Williams, *Bioinorganic Chemistry Trace Element : Evolution from Anaerobes to Aerobes*, **1998**, Springer-Verlag: New York.
97. W. Kaim and B. Schwederski, *Bioinorganic Chemistry : Inorganic Elements in the Chemistry of Life. An Introduction and Guide*, **1994**, John Wiley: Chichester.
98. J.J. FrastodaSilva and R.J.P. Williams, *The biological Chemistry of the Elements. The Inorganic Chemistry of Life*, **1993**, Clarendon Press: Oxford.

99. T. Pandiyan, M.A.R. Enriquez, S. Bernès and C.D.d. Bazua, *Polyhedron*, **1999**, 18, 3383-3390.
100. G. Foulds, *Coord. Chem. Rev.*, **1998**, 169, 3-127.
101. E.M. Jouad, S.D. Thanh, G. Bouet, S. Bonneau and M.A. Khan, *Anticancer Res.*, **2002**, 22, 1713-1716.
102. E.M. Jouad, G. Larcher, M. Allain, A. Riou, G.M. Bouet, M.A. Khan and X.D. Thanh, *J. Inorg. Biochem.*, **2001**, 86, 565-571.
103. E.M. Jouad, X.D. Thanh, G. Bouet, S. Bonneau and M.A. Khan, *Anticancer Res.*, **2002**, 22(3), 1713-1716.
104. E.M. Jouad, X.D. Thanh, G. Bouet, G. Menard and M.A. Khan, *Biol. Rhythm. Res.*, **2002**, 33, 513-520.
105. M.S. Elder, G.M. Prinz, P. Thornton and D.H. Busch, *Inorg. Chem.*, **1968**, 11(7), 2426-2430.
106. R.K. Agarwal, D. Sharma, L. Singh and H. Agarwal, *Bioinorg. Chem. and Application*, **2006**, 1-9.
107. J.M. Gorell, C.C. Johnson and B.A. Rybick, *Neurotoxicology*, **1999**, 20, 239-247.
108. R. Venugopal, K. Ramasamy, P. Mallayan, S.E. Helen, P.V. Subbarayan, A.M. Abdulkader, S.B. Suresh and K. Hanumanthappa, *Inorg. Chem.*, **2007**, 46(20), 8208-8221.
109. R. Cini, G. Tamasi, S. Defazio and M.B. Hursthouse, *J. Inorg. Biochem.*, **2007**, 101(8), 1140-1152.
110. M.C. Rodriguez-Arguelles, E.C. Lopez-Silva, J. Sanmartin, P. Pelagatti and F. Zani, *J. Inorg. Biochem.*, **2005**, 99, 2231-2239.
111. B. Dudova, D. Hudecova, R. Pokorny, M. Mickova, M. Palicova, P. Segl'a and M. Melnik, *Folia Microbiol.*, **2002**, 47(3), 225-229.
112. N. Tidjani-Rahmouni, S. Djebbar-Sid, N. Chenah and O. Benali-Baitich, *Synth. React. Inorg. Met-Org. Chem.*, **1999**, 29, 979-994.
113. H. Hamrit, S. Djebbar-Sid, O. Benali-Baitich, M.A. Khan and G. Bouet, *Synth. React. Inorg. Met-Org. Chem.*, **2000**, 30, 1835-1848.
114. K. Si-Larbi, *Thèse de Magister*, **2003**, USTHB, Alger.
115. A.S. Al-Shihri, *Spectrochim. Acta part A*, **2004**, 60, 1189-1192.
116. V.T. Kasumov, I. Kartal and F. Koksall, *Spectrochim. Acta A*, **2000**, 56, 841-850.
117. S. Charpentier, *Thèse de Doctorat*, **1998**, Université du Maine,
118. M. Valko, R. Boca, R. Klement, J. Kozisek, M. Mazur, P. Pelikan, H. Morris, H. Elias and L. Muller, *Polyhedron*, **1997**, 16, 903-908.

119. R.C. Chikate, S.B. Belapure, S.B. Padhye and D.X. West, *Polyhedron*, **2005**, 24, 889-899.
120. P. Bouchet, J.L. Guignard, G. Madulo-Leblond and P. Régli, *Mycologie générale et médicale*, **1989**, Masson: Paris.
121. D. Chabasse, C. Guigen and N. Contet-Audonneau, *Mycologie Médicale*, **1999**, Masson: Paris.
122. R. Boukari, L. Smati-Bourtel, K.N. Benhalla-Djadoun, O. Redjala, A. Boufersaoui, D. Douiri, F. Benhassine and M. Baghriche, *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, **2005**, 45, 565-570.
123. A.A. Panackal and K.A. Marr, *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, **2004**, 25, 171-181.
124. N. Fahmi, I.J. Gupta and R.V. Singh, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **1998**, 132, 1-8.
125. A. Chaudhaery and R.V. Singh, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **2003**, 178, 603-613.
126. N.T.D. Nguyen, E. Kummer, J.P. Dubost, T. Convard, J. Barbanton and A. Capry, *Analisis*, **1999**, 27(1), 29-32.
127. A. Carpy, *Analisis*, **1999**, 27(1), 3-6.
128. J. Delattre, J.L. Beaudeau and D. Bonnefont-Rousselot, *Radicaux Libres et Stress Oxydant: Aspects Biologiques et Pathologiques*, **2005**, Lavoisier: Paris.
129. A. Geronikaki, D. Hadjipavlou-Litina and M. Amourgianou, *Il Farmaco*, **2003**, 58, 489-495.
130. E. Pontiki, D. Hadjipavlou-Litina, A.T. Chaviara and C.A. Bolos, *Bioorgan. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 2234-2237.
131. Y. Li, Z. Yang and B. Wang, *Transition Met. Chem.*, **2006**, 31, 598-602.