

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

BADJI MOKHTAR- ANNABA UNIVERSITY
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR- ANNABA



جامعة باجي مختار - عنابة

Année 2021

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

THESE

Pour l'obtention du diplôme de doctorat LMD

Option : Chimie Organique Fine

**Synthèse éco-compatible de molécules bioactives :
caractérisation structurale de complexes et ligands dérivés
de l'acide déhydroacétique. Etude de propriétés
biologiques et catalytique.**

Présenté par: **M^{me} MARIR Amel**

Devant le jury composé de :

| | | |
|-----------------------------|------------------------|-------------------|
| Pr. MERABET-KHELASSI Mounia | Présidente | U. B.M. Annaba |
| Pr. ZEROR Saoussen | Directrice de thèse | U. B.M. Annaba |
| Pr. DJEDOUANI Amel | Co-Directrice de thèse | E.N.S.Constantine |
| Pr. BOULCINA Raouf | Examineur | U. BATNA |
| Pr. ATTOUI-YAHIA Ouassila | Examinatrice | U. B.M. Annaba |

Remerciements

Le travail faisant l'objet de cette thèse a été proposé par le *Laboratoire de Catalyse Asymétrique Eco-Compatible* « **L.C.A.E** », Université Badji Mokhtar d'Annaba (Algérie) en co-encadrement avec l'université de Constantine.

Je tiens à remercier Madame le professeur **Louisa ARIBI-ZOUIOUECHE** pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire, dans son équipe.

Toute ma reconnaissance et mes vifs remerciements vont à Madame **Saoussen ZEROR** professeur à l'université Badji Mokhtar Annaba pour avoir pris en charge la direction de la finalisation de la thèse.

Toute ma gratitude et mes plus vifs remerciements s'adressent également à ma codirectrice de thèse Madame le professeur **Amel DJEDOUANI**, qui a bien su me guider, m'orienter, me conseiller dans nos travaux, son aide inestimable, ses remarques fructueuses, sa disponibilité permanente nous a permis de mener à bien notre tâche, son inconditionnel et constant soutien, ses riches discussions ont contribué à l'aboutissement de ce travail qu'elle trouve ici le témoignage de toute ma reconnaissance.

J'adresse mes chaleureux remerciements à Monsieur le professeur **Erwann JEANNAU**, pour m'avoir accueilli au sein de son équipe au

Centre de Diffractométrie Henri Longchambon, Université Lyon 1 en 2018 puis en 2019 pour m'avoir permis d'accéder à l'élucidation et la caractérisation de nos échantillons, de sa patience, sa grande disponibilité et sa précieuse implication dans l'interprétation de nos résultats au cours de ma période de stage.

Je tiens également à témoigner ma reconnaissance à Madame **Corine MENNAN** et Monsieur le **Dr Ruben VERA** du *Centre de Diffractométrie Henri Longchambon*, Université Lyon 1 pour son aide lors de l'exploitation des DRX je leur exprime également toute mon estime pour leur présence amicale.

Je remercie Madame le Dr **Nardjes MOUAS** de l'université de Constantine 1 d'avoir contribué efficacement à l'étude biologique de nos produits ainsi que Madame le Dr **Barkahom ANAK** de l'université de Constantine 1 pour sa contribution théorique.

Je tiens aussi à témoigner tout particulièrement ma profonde reconnaissance à Monsieur le professeur **Ammar AZIOUNE** pour m'avoir permis d'accéder au *Centre de Recherche de Bio Technologie* de Constantine pour effectuer des tests d'activité biologiques sous la direction de Monsieur **Ali DEBI**.

Je remercie Madame **MERABET-KHELASSI Mounia**, professeur à l'université Badji Mokhtar Annaba d'avoir accepté la présidence du jury

de cette thèse.

Je suis très honorée de la présence à mon jury de Monsieur le professeur ***Raouf BOULCINA*** de l'université de Mustapha Ben Boulaid Batna 2 que je remercie fortement.

Je tiens à remercier également Madame ***ATTOUI-YAHIA Ouassila*** professeur à l'université de Badji Mokhtar de Annaba pour avoir accepté de siéger à la commission d'examen.

Je voudrais remercier également ma sœur ***Marir Souad*** pour avoir effectué la mise en forme de cette thèse.

Je tiens à remercier particulièrement tout les membres du laboratoire de Annaba et de Constantine pour leurs soutien amical et pour leur sympathie qu'ils m'ont toujours témoigné ***Samra Razi, Nour Benamara , Rym Aissa*** et ***Ikram***, ainsi que ***Yasmina Benrabah, Zineb Fellah, Khadidja Bouchemla*** et ***Amira Labed***.

Je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette thèse.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à,

ma mère qui m'a soutenue, aidé et épaulé tout le long de mes dures
épreuves,

ma sœur qui m'est d'une grande aide au quotidien, mon frère qui m'a
toujours bien conseillé,

mon époux et ma fille Mayssa qui a été d'un très grand confort moral
pour moi,

toutes les personnes qui m'ont aidé à atteindre mon rêve,

tous les proches qui me sont chers, à tout les miens.

à la mémoire de mon père en ayant, je l'espère, exaucés son vœux le plus
cher.

It always seems impossible until it's done. Nelson Mandela

Sommaire

| | |
|---|----------|
| Liste des Figures | x |
| Liste des Schémas | xiv |
| Liste des Tableaux | xvi |
| Liste des Abréviations | xviii |
| Introduction générale | 1 |
| I Analyse bibliographique | 4 |
| I.1 Généralités sur l'acide déhydroacétique | 5 |
| I.1.1 Introduction | 5 |
| I.1.2 Structure de l'Acide dehydroacetique | 6 |
| I.2 Généralité sur les complexes | 10 |
| I.2.1 Métaux de transition | 11 |
| I.2.2 Quelques complexes de DHA et ses dérivées | 12 |
| I.3 Les Benzodiazépines : propriétés et domaines d'applications | 17 |
| I.3.1 Introduction | 17 |
| I.3.2 Historique | 18 |
| I.3.3 Structure des benzodiazépines | 19 |
| I.3.4 Domaines d'utilisation des benzodiazépines | 20 |
| I.3.5 Synthèse des benzodiazépines | 24 |
| I.4 Conclusion | 30 |

| | |
|---|-----------|
| II Synthèse, caractérisation structurale et analytique de complexes dérivés du DHA | 31 |
| II.1 Introduction | 32 |
| II.2 Synthèse des complexes | 32 |
| II.2.1 Synthèse du complexe de cobalt | 32 |
| II.2.2 Synthèse du complexe de nickel | 32 |
| II.2.3 Synthèse du complexe de zinc | 33 |
| II.2.4 Synthèse du complexe de Manganèse | 33 |
| II.3 Caractérisation par diffraction RX de $[Co(DHA)_2 \cdot 2DMSO]$ | 35 |
| II.4 Etude cristallographique du complexe $Ni(DHA)_2 \cdot 2DMF$ | 40 |
| II.5 Étude structurale du complexe $Zn(DHA)_2 \cdot 2DMF$ | 44 |
| II.6 Étude spectrale des complexes | 47 |
| II.7 Conclusion | 50 |
| III Activité Biologique | 52 |
| III.1 Criblage biologique des complexes organo-métalliques dérivés du DHA . . | 53 |
| III.1.1 Introduction | 53 |
| III.1.2 Techniques d'études <i>in vitro</i> du pouvoir antimicrobien | 53 |
| III.1.3 Technique d'étude sur milieu solide | 54 |
| III.1.4 Les micro-organismes (Bactéries) | 55 |
| III.1.5 Tests antibactérien : résultats et discussion | 61 |
| III.2 Évaluation <i>in-vitro</i> de l'activité antifongique : | 63 |
| III.2.1 Évaluation <i>in vitro</i> du pouvoir antifongique : résultats et discussion | 66 |
| III.3 Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité antioxydante | 69 |
| III.3.1 Activité de piégeage du radical d'ABTS | 70 |
| III.3.2 Activité de blanchiment du β -carotène | 71 |
| III.3.3 Activité de chélation du fer par UV-Visible | 71 |
| III.3.4 Évaluation de l'activité enzymatique anti-uréase | 73 |
| III.3.5 Protocole de l'activité de piégeage du radical ABTS | 76 |
| III.3.6 Protocole de l'activité de blanchiment du β -carotène | 77 |
| III.3.7 Protocole de la capacité de chélation du fer par UV-Vis | 77 |

| | | |
|-----------|---|------------|
| III.4 | Protocole de l'activité anti-uréase | 79 |
| III.5 | Résultats et discussion des activités anti oxydantes | 79 |
| III.6 | Activité antioxydante | 95 |
| III.7 | Activité enzymatique | 98 |
| III.8 | Conclusion | 102 |
| | | |
| IV | Synthèse, caractérisation et activité biologique de quelques BZD : | |
| | étude préliminaire | 104 |
| IV.1 | Introduction | 105 |
| IV.2 | Synthèse des BZD | 105 |
| | IV.2.1 Synthèse de la base de Schiff | 105 |
| | IV.2.2 Synthèse des benzodiazépines | 106 |
| IV.3 | Étude Spectroscopique | 107 |
| IV.4 | Evaluation des activités biologiques des composés BZD synthétisés | 109 |
| | IV.4.1 Protocole de l'activités antioxydantes | 109 |
| | IV.4.2 Activité antimicrobienne | 110 |
| IV.5 | Résultats et discussion des activités biologiques <i>in vitro</i> | 112 |
| | IV.5.1 Activités antioxydantes | 112 |
| | IV.5.2 Activités antimicrobiennes | 120 |
| IV.6 | Conclusion | 123 |
| | | |
| V | Étude catalytique des benzodiazépines | 125 |
| V.1 | Introduction | 126 |
| V.2 | Généralité sur l'étude catécholase | 127 |
| | V.2.1 Définition du catéchol | 127 |
| | V.2.2 Définition de la quinone | 127 |
| | V.2.3 Propriétés des enzymes | 128 |
| V.3 | Fonction de la CO (Catéchol Oxydase) | 129 |
| | V.3.1 Activité catalytique | 130 |
| | V.3.2 Mécanisme réactionnel des enzymes | 130 |
| V.4 | Rappels bibliographiques | 130 |
| | V.4.1 Importance du métal et le dioxygène (oxygène moléculaire) | 131 |

| | | |
|---|--|------------|
| V.4.2 | Importance du Catéchol oxydase | 132 |
| V.4.3 | Applications catalytiques | 132 |
| V.5 | Étude catalytique | 133 |
| V.5.1 | Objectif | 133 |
| V.5.2 | Protocole expérimental général | 133 |
| V.6 | Résultats | 134 |
| V.6.1 | Étude cinétique de l'oxydation du catéchol seul | 134 |
| V.6.2 | Étude cinétique de l'oxydation du catéchol en présence des sels métalliques | 134 |
| V.6.3 | Oxydation du catéchol en présence des complexes formés avec le composé (3a) | 135 |
| V.6.4 | Oxydation du catéchol en présence des complexes formés avec (3b) | 136 |
| V.6.5 | Oxydation du catéchol en présence des complexes formés avec (3c) | 136 |
| V.6.6 | Oxydation du catéchol en présence des complexes formés avec (3d) | 137 |
| V.6.7 | Vitesses d'oxydation du catéchol en présence du catalyseur | 137 |
| V.7 | Conclusion | 139 |
| Conclusion Générale | | 140 |
| Bibliographie | | 144 |
| Annexes | | 164 |
| I Caractérisation et détermination structurale | | 165 |
| 1 | Annexe 1 | 167 |
| 2 | Annexe 2 | 172 |
| 3 | Annexe 3 | 179 |
| II Activité biologique | | 190 |

Liste des Figures

| | | |
|-------|--|----|
| I.1 | Structure des complexes de cuivre : $[Cu(DHA)_2 \cdot 2DMF]$, $[Cu(DHA)_2 \cdot 2DMSO]$. | 14 |
| II.1 | Vue en perspective du complexe de $[Co(DHA)_2] \cdot 2DMSO$. | 36 |
| II.2 | Vue en Perspective du contenu de la maille suivant l'axe b. | 38 |
| II.3 | Projection de $[Co(DHA)_2] \cdot 2DMSO$ sur le plan (010). | 39 |
| II.4 | Vue en perspective du complexe de $[Ni(DHA)_2] \cdot 2DMF$. | 40 |
| II.5 | Enchaînement des octaèdres NiO_6 dans la structure de $[Ni(DHA)_2] \cdot 2DMF$. | 43 |
| II.6 | Répartition des liaisons hydrogène dans le réseau cristallin de $[Ni(DHA)_2] \cdot 2DMF$. | 43 |
| II.7 | Vue en perspective du complexe $[Zn(DHA)_2] \cdot 2DMF$. | 44 |
| II.8 | Figure représentant (1) La projection de $[Zn(DHA)_2] \cdot 2DMF$ sur le plan (100). | 47 |
| II.9 | Les liaisons hydrogène entre les entités $[Zn(DHA)_2] \cdot 2DMF$. | 47 |
| II.10 | Spectre UV-Visible dans le DMF. | 49 |
| II.11 | Structure proposée pour le complexe de $Mn(DHA)_2 \cdot 2H_2O$. | 50 |
| III.1 | Illustration de la méthode de diffusion sur boîte Pétri. | 54 |
| III.2 | : (a) Introduction de l'écouvillon dans la suspension bactérienne. b Ensemencement de la gélose MH | 58 |
| III.3 | Mesure des zones d'inhibition | 60 |
| III.4 | Histogramme correspondant aux concentrations minimales inhibitrices de la DHA et de ses dérivés en fonction du Nalidixique et de la Gentamicine (antibiotiques). | 62 |
| III.5 | Sensibilité <i>in vitro</i> de la souche FOL 4287 vis a vis de nos Complexes | 66 |
| III.6 | Sensibilité <i>in vitro</i> de la souche <i>Alternaria</i> -sp vis a vis des Complexes dérivés du DHA | 66 |

| | |
|--|-----|
| III.7 Croissance du mycélium des deux agents phytopathogènes en présence du DHA et ses complexes de Co, Zn, Ni, Mn | 67 |
| III.8 Seuil d'efficacité du DHAZn en présence de la souche <i>Alternaria sp</i> | 68 |
| III.9 la croissance du mycélium <i>Alternaria sp</i> en présence du complexe DHAZn à des concentrations variables entre 0,5 à 0,3 mg/ml | 69 |
| III.10 Oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium et génération de ABTS+• | 70 |
| III.11 Structure de la ferrozine. | 72 |
| III.12 Action de l'uréase sur l'urée. | 74 |
| III.13 Courbes des pourcentages d'inhibition de l'activité de piégeage du radical ABTS. | 80 |
| III.14 Valeurs des CI50 exprimées en $\mu\text{g} / \text{mL}$ pour l'activité de piégeage du radical ABTS. | 82 |
| III.15 Courbes des pourcentages d'inhibition de l'activité de blanchiment du β - carotène. | 84 |
| III.16 Valeurs des CI50 exprimées en $\mu\text{g} / \text{mL}$ pour l'activité de blanchiment du β -carotène. | 85 |
| III.17 Résultats de l'activité chélatrice du fer par UV-Vis. | 86 |
| III.18 Courbes des pourcentages d'inhibition de l'activité de chélation du fer. | 88 |
| III.19 Valeurs des CI50 exprimées en $\mu\text{g} / \text{mL}$ pour l'activité de chélation du fer. | 89 |
| III.20 Courbes des pourcentages d'inhibition de l'activité de chélation du cuivre. | 91 |
| III.21 Valeurs des CI50 exprimées en $\mu\text{g} / \text{mL}$ pour l'activité de chélation du cuivre. | 91 |
| III.22 Courbes des pourcentages d'inhibition de l'activité inhibitrice de l'uréase. | 94 |
| III.23 Valeurs des CI50 exprimées en $\mu\text{g} / \text{mL}$ pour l'activité inhibitrice de l'uréase. | 94 |
| III.24 Site actif de l'uréase selon le modèle de Zerner | 100 |
| III.25 Réaction de complexation de l'enzyme (E) avec l'inhibiteur (I) : $E \bullet I =$ Com- plexe Enzyme-inhibiteur , $E \bullet I^* =$ complexe enzyme-inhibiteur stable. | 100 |

| | | |
|--------|---|-----|
| III.26 | Modèle de Stemmler de conversion structurelle pour l'inhibition biphasique de l'uréase par l'acide hydroxamique. a) centre binucléaire Ni de l'enzyme hydrolytique : où les deux ions Ni sont liés par des atomes d'azote de quatre His imidazoles, un groupe COO ⁻ du résidu Lys carbamylé, un autre groupe COO ⁻ issu d'un résidu Asp et une molécule H ₂ O. b) liaison bidentée de l'acide acétohydroxamique au Ni par l'intermédiaire des oxygènes d'hydroxamate et de carbonyle | 101 |
| IV.1 | Courbes des absorbances de l'activité de piégeage du radical hydroxyle. | 114 |
| IV.2 | Courbe d'absorbance de l'acide ascorbique de l'activité de piégeage du radical hydroxyle. | 114 |
| IV.3 | Valeurs des A 0,5 exprimées en µg/mL pour l'activité du piégeage du radical hydroxyle. | 115 |
| IV.4 | Courbe des absorbances de l'activité de réduction de fer | 117 |
| IV.5 | Courbe d'absorbance de l'acide ascorbique de l'activité de réduction de fer. | 117 |
| IV.6 | Valeurs des A 0,5 µg/mL pour l'activité de réduction de fer. | 117 |
| IV.7 | Courbes des pourcentages d'inhibitions de l'activité du peroxyde d'hydrogène. | 119 |
| IV.8 | Courbe de pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique de l'activité peroxyde d'hydrogène. | 120 |
| IV.9 | Valeurs des A 0,5 µg/mL pour l'activité peroxyde d'hydrogène. | 120 |
| IV.10 | Histogrammes des zones d'inhibition montrant l'activité antibactérienne des ligands synthétisés. | 121 |
| IV.11 | Histogrammes des zones d'inhibition montrant l'activité antifongique des composés synthétisés. | 123 |
| V.1 | Oxydation du catéchol seul. | 134 |
| V.2 | Oxydation du catéchol en présence des sels métalliques. | 135 |
| V.3 | Oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de 3a et deux équivalents de sel métallique. | 135 |
| V.4 | Oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de 3b et deux équivalents de sel métallique. | 136 |

| | | |
|-----|---|-----|
| V.5 | Oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de 3c et deux équivalents de sel métallique. | 136 |
| V.6 | Oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de 3d et deux équivalents de sel métallique. | 137 |
| V.7 | Oxydation du catéchol en présence de différentes équivalences de 3c et $Cu(CH_3COO)_2$ | 138 |
| V.8 | Oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de 3c et différents métaux. | 138 |
| V.9 | Oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de 3c et deux équivalents de $Cu(CH_3COO)_2$ dans différents solvants. | 139 |

Liste des Schémas

| | | |
|------|---|----|
| I.1 | Structure du DHA. | 7 |
| I.2 | Principales formes tautomères de l'acide dehydroacetique. | 7 |
| I.3 | Principaux sites d'attaques du DHA | 8 |
| I.4 | Réaction d'amination en présence du DHA. | 9 |
| I.5 | structure de la pogostérone et de ses analogues. | 10 |
| I.6 | Synthèse d'un complexe d'hémoglobine. | 11 |
| I.7 | Structure de complexe de $[Cd(DHA)_2.2DMSO]$ | 13 |
| I.8 | Structure de complexe de $[Cd(DHA)_2.2DMSO]$ | 14 |
| I.9 | Réactions de formation de $RuX(CO)(EPh_3)_2$ et $RuX_2(EPh_3)_2L$ | 15 |
| I.10 | Complexation de quelques dérivés du DHA. | 16 |
| I.11 | Réactions de formation de $RuHCl(CO)(B)(EPh_3)_2$ | 17 |
| I.12 | Réaction de synthèse des complexes Cu(II), Co(II) et Ni(II). | 17 |
| I.13 | Structure générale de quelques benzodiazépines. | 19 |
| I.14 | Structure chimique de base des benzodiazépines. | 20 |
| I.15 | Synthèse d'un 1,5-benzodiazépine à partir d' o-PDA et de 1,3-dicétone | 25 |
| I.16 | Synthèse de 2,4-disubstitués-1,5-Benzodiazépines de chalcones. | 26 |
| I.17 | Synthèse de dérivés Benzodiazépines | 26 |
| I.18 | Synthèse de benzimidazole assemblé 1,5-Benzodiazépine. | 27 |
| I.19 | Synthèse de 2,3-di hydro-1H-1,5-Benzodiazépines. | 27 |
| I.20 | Synthèse de benzodiazépine à partir de diamine. | 28 |
| I.21 | Synthèse de benzodiazépine à partir de Pyrone. | 28 |
| I.22 | Synthèse de <i>Heshmotollah</i> | 29 |
| I.23 | synthèse de <i>Wamhoff</i> | 29 |
| I.24 | synthèse d' <i>Essassi et coll.</i> | 30 |

| | | |
|------|--|-----|
| II.1 | Structure générale des complexes de l'acide déhydroacétique. | 34 |
| IV.1 | Synthèse des 1,5 Benzodiazépines. | 106 |
| V.1 | Exemple de synthèse d'une benzodiazépine. | 127 |
| V.2 | Structure chimique du catéchol et ses dérivés. | 127 |
| V.3 | Structure chimique de quelques dérivés de la quinone | 128 |
| V.4 | Réactions de transformation du phénol en o-quinone. | 128 |
| V.5 | Réaction d'oxydation du catéchol en o-quinone. | 133 |

Liste des Tableaux

| | | |
|-------|--|----|
| I.1 | Quelques exemples d'activité biologique de composés hétérocyclique azoté . . . | 22 |
| II.1 | Données analytiques des complexes dérivés de l'acide déhydroacétique. . . . | 34 |
| II.2 | Conditions d'enregistrement et résultats d'affinements pour le complexe $[Co(DHA)_2].2DMSO$ | 37 |
| II.3 | paramètres des liaisons hydrogènes dans $[Co(DHA)_2].2DMSO$ | 39 |
| II.4 | Conditions d'enregistrement et résultats des affinements pour le complexe $[Ni(DHA)_2].2DMF$ | 41 |
| II.5 | paramètres des liaisons hydrogène dans $[Ni(DHA)_2].2DMF$ | 44 |
| II.6 | Conditions d'enregistrement et résultats des affinements pour le complexe $[Zn(DHA)_2].2DMF$ | 45 |
| II.7 | paramètres des liaisons hydrogène dans $[Zn(DHA)_2].2DMF$ | 47 |
| II.8 | Nombres d'ondes (cm^{-1}) des bandes d'absorptions dans l'IR et UV-Vis du DHA et ces complexes. | 48 |
| II.9 | longueur d'onde du spectre UV-Vis des quatre complexes | 50 |
| III.1 | Technique de dilution en milieu liquide | 59 |
| III.2 | Zone d'inhibition antibactérienne (mm) du DHA et de ses dérivés | 61 |
| III.3 | Valeurs des CMI et de CMB (mg / ml) de la DHA et de ses dérivés. | 62 |
| III.4 | Activité antifongique des complexes Co Ni Mn Zn (les valeurs correspondent à la croissance radiale de l'agent phytopathogène en mm sur milieu PDA) . . | 65 |
| III.5 | Définition du seuil d'efficacité DHAZn | 68 |
| III.6 | Résultats de l'activité de piégeage du radical ABTS. | 81 |
| III.7 | Résultats de l'activité de blanchiment du β -carotène. | 83 |
| III.8 | Résultats de l'activité de chélation des ions de fer. | 87 |

| | |
|---|-----|
| III.9 Résultats de l'activité de chélation du cuivre. | 90 |
| III.10 Résultats de l'activité inhibitrice de l'uréase. | 93 |
| III.11 Configuration électronique des différents métaux de transition chélatés. | 98 |
| IV.1 Données analytiques des Benzodiazépines synthétisées. (Annexes) | 107 |
| IV.2 Données IR des benzodiazépines. | 108 |
| IV.3 Résultats de l'activité du piégeage du radical hydroxyle. | 113 |
| IV.4 Résultats du témoin positif acide ascorbique pour l'activité du piégeage du radical hydroxyle. | 113 |
| IV.5 Résultats de l'activité de la réduction de fer (FRAP). | 115 |
| IV.6 Résultats du témoin positif acide ascorbique pour l'activité de la réduction de fer (FRAP). | 116 |
| IV.7 Résultats de l'activité de peroxyde d'hydrogène. | 118 |
| IV.8 Résultat du témoin positif acide ascorbique pour l'activité de peroxyde d'hydrogène. | 118 |
| IV.9 Zone d'inhibition bactérienne (mm) du DHA et de ses dérivés Benzodiazépines (3a-3d). | 121 |
| IV.10 Zone d'inhibition fongique (mm) du DHA et de ses dérivés Benzodiazépines (3a-3d). | 122 |
| V.1 Vitesses d'oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de ligand et deux équivalents de sel métallique. | 137 |

Liste des Abréviations

δH_i : Déplacement chimique du proton

σ : Écart type

a : Antisymétrique

d : Décomposition

(d) : Doublet

dd : Doublet doublets

DHA : Acide déhydroacétique

DMF : Diméthylformamide.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

Et : Éthyle

Me : Méthyle

Rdt : Rendement.

$T^{\circ}\mathbf{f}$: Température de fusion.

G.O.F : Estimé de la variance (Goodness of Fit)

m : Multiplet

(m) : Moyenne

ppm : Partie par millions.

R : Facteur de reliabilité

Rw : Facteur de reliabilité

s : Symétrie

(s) : Singulet

A 0,5 : Absorbance à 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGPI : Acide gras polyinsaturé

BZ : Benzaldéhyde

BZD : Benzodiazépine

CI50 : Concentration inhibitrice à 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$

DHA : Acide déhydroacétique

DMSO : Diméthylsulfoxyde

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FRAP : Réduction du pouvoir antioxydant du fer

GABA : L'acide γ -aminobutyrique

GN : Gentamicine

NA : Acide nalidixique

OPDA : Orthophénylènediamine

PL : Peroxydation lipidique

PR : Pouvoir réducteur

R : Radical

SOD : Superoxyde dismutase

TCA : Acide trichloroacétique

TPTZ : Tripyridyl-s-triazine

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique

BHA : Hydroxyanisol butylé

BHT : Butylhydroxytoluène

EDTA : Éthylènediaminetétraacétique

EOA : Espèces oxygénées activées

ERO : Espèce réactive de l'oxygène

IC50 : Concentration d'inhibition 50

IR : Infrarouge

LDL : Lipoprotéines de basse densité

RX : Rayons X

UV-vis : Ultraviolet-visible

°C : Degrés Celsius

PGE2 : La prostaglandine E2

NP-SH : Non-Protein Sulfhydryl

TCT : 2,4,6trichloro-1,3,5-triazine

OPDA : Ortho Phénylène Di Amine

TGA : est une technique d'analyse thermique qui consiste en la mesure de la variation de masse d'un échantillon en fonction du temps, pour une température ou un profil de température donné.

Introduction générale

La chimie de coordination est une discipline qui associe le plus souvent la chimie inorganique et la chimie organique : les molécules organiques comme ligands et un ion inorganique comme élément central. Elle a connu un développement important, non seulement dans le domaine de la chimie structurale, des applications analytiques, mais également en raison des propriétés biologiques ou thérapeutiques d'un certain nombre de complexes¹.

Les complexes, sont largement étudiés à cause de la flexibilité synthétique, sélectivité et sensibilité envers une grande variété de métaux. Ils se sont révélés très utiles dans plusieurs domaines : la catalyse, la biologie, la médecine comme antibiotiques, agents anti-inflammatoires et également dans l'industrie comme composés possédant des propriétés anti-corrosives... Pour cela, il faut noter que la littérature est très abondante quant aux études des propriétés physico-chimiques de divers complexes².

L'acide déhydroacétique ou le (DHA = 3-acetyl-4-hydroxy-6-methyl-2*H*-pyran-2-one) est un produit commercialisé utilisé comme matière première très importante dans la synthèse organique, Il peut être également un agent complexant, dans le but d'obtenir de composés de coordination qui sont sujets à de nombreuses applications³.

De nos jours, les composés hétérocycliques connaissent une extension de plus en plus

1. Sidney FA KETTLE. *Physico-chimie inorganique : Une approche basée sur la chimie de coordination*. De Boeck Supérieur, **1999**.

2. Y BIZRI et al. « Constantes de stabilité de complexes organo-minéraux. Interactions des ions plombés avec les composés organiques hydrosolubles des eaux gravitaires de podzol ». In : *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48.2 (**1984**), p. 227-234.

3. Omar BOUAZIZ et al. « Réactivité de l'acide déhydroacétique hydrogené en c5-c6 : obtention des pyrano-1, 5-benzodiazépines différemment substituées et de la structure enamino ». In : *Comptes Rendus Chimie* 15.9 (**2012**), p. 774-778.

importante, aussi bien sur le plan théorique que pratique. La mise en évidence des activités, très variées, de la majorité de ces composés, motive les chercheurs à synthétiser de nouvelles séries. La synthèse de nouveaux benzodiazépines (BZD) et l'évaluation de leur potentiel biologique à des fins thérapeutiques, a connu un grand essor ces dernières décennies.

Les (BZD) sont des molécules de découverte ancienne, ce sont des composés largement exploités en chimie médicale depuis leur apparition sur le marché pharmaceutique en 1950, et cela revient à la simplicité de leur préparation. Ces composés présentent des intérêts potentiels très variés pour un grand nombre de domaines interdisciplinaires tels que la médecine, la lutte contre la corrosion, la catalyse, le traitement des eaux ... etc ⁴ .

Dans le cadre de nos travaux entrepris depuis quelques années, en vue de la synthèse et la caractérisation de nouveaux complexes, il nous a semblé intéressant d'étudier la complexation de l'acide déhydroacétique avec différents métaux de transition (Co (II), Ni (II), Zn (II), Mn (II)), ainsi que la synthèse de nouvelles benzodiazépines.

Le plan adopté pour la présentation de nos résultats, est organisé comme suit :

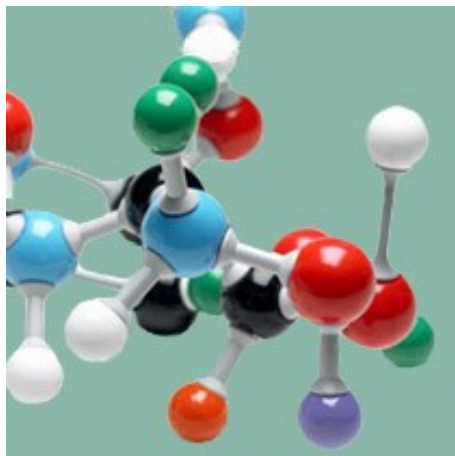
- Chapitre I Analyse bibliographique : Présente des généralités sur l'acide déhydroacétique, des généralités sur les benzodiazépines et complexes issus du DHA d'après les travaux antérieurs.
- Chapitre II Caractérisation structurale et analytique de complexes dérivés du DHA : Il est consacré à la synthèse caractérisation structurale et analytique de complexes dérivés de l'acide déhydroacétique, il présente également les structures de trois complexes résolus par diffraction des rayons X.
- Chapitre III Activité Biologique : Dans ce chapitre, nous décrivons l'activité biologique : activité anti bactérienne ainsi que l'activité anti fongique, des quatre complexes synthétisés.

4. Nouredine Hamou AHABCHANE et al. « Synthèse et propriétés biologiques des pyrazolo [4, 3-c] triazolo [4, 3-a][1, 5] benzodiazépines ». In : *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series IIC-Chemistry* 4.12 (2001), p. 917-924.

- Chapitre IV Synthèse, caractérisation et activité biologique de quelques BZD : Ce chapitre présente la synthèse et la caractérisation de quelques benzodiazépines ainsi que leur étude biologique : antimicrobienne et antifongique plus l'étude anti oxydante.
- Chapitre V Etude catalytique des benzodiazépines : C'est un chapitre consacré à l'étude catalytique des benzodiazépines le but de cette étude est de tester les potentialités des complexes de quelques métaux de transition préparé *in situ* en tant que catalyseurs de la réaction d'oxydation du catéchol en o-quinone en présence d'oxygène de l'air.

Chapitre I

Analyse bibliographique



I.1 Généralités sur l'acide déhydroacétique

I.1.1 Introduction

L'acide déhydroacétique, commercialement abrégé en DHA, est un composé monocyclique oxygéné, dérivé de pyrone, sous la formule moléculaire $C_8H_8O_4$ ¹. Il peut être isolé de sources naturelles (solandranitida)^{2,3}. C'est une poudre cristalline incolore à blanche⁴, inodore⁵, instable lorsqu'elle est chauffée (il émet une fumée âcre et des fumées irritantes), L'acide déhydroacétique est un acide faible (pKa = 5,26 dans l'eau)^{6,7}, presque insoluble dans l'eau et joue un rôle important dans la préparation de nouveaux composés biologiquement actifs^{8,9}.

Le DHA est absorbé, rapidement et complètement, par le corps humain¹⁰, utilisé comme additif alimentaire, il est employé sous la dénomination E265 en alimentaire^{11,12}. Comme stabilisant pour les produits cosmétiques et pharmaceutiques ayant des activités

-
1. J Norman COLLIE et HR LE SUEUR. « XXVI.—Salts of dehydracetic acid ». In : *Journal of the Chemical Society, Transactions* 65 (1894), p. 254-262.
 2. C RIVERA, E PINEYRO et F GIRAL. « Dehydroacetic acid in anthers of Solandra nitida (Solana-ceae) ». In : *Experientia* 32.12 (1976), p. 1490-1490.
 3. Alan TOWNSHEND et al. *Dictionary of analytical reagents*. CRC Press, 1993.
 4. AB BOESE. « Diketene A New Industrial Chemical ». In : *Industrial & Engineering Chemistry* 32.1 (1940), p. 16-22.
 5. Rui CAI et al. « Effects of preservatives on Alicyclobacillus acidoterrestris growth and guaiacol production ». In : *International journal of food microbiology* 214 (2015), p. 145-150.
 6. Sau-Fun TAN, Kok-Peng ANG et Harilakshmi JAYACHANDRAN. « Ionization constants of some hydroxypyrones in water and in 80%(w/w) dimethyl sulphoxide-water at 25° C ». In : *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* 4 (1983), p. 471-473.
 7. Sergio SITRAN, Dolores FREGONA et Giuseppina FARAGLIA. « Lanthanide complexes of 3-acetyl-4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one ». In : *Journal of coordination chemistry* 22.3 (1990), p. 229-235.
 8. Akitami ICHIHARA et al. « Synthesis of (±)-solanapyrone A ». In : *Tetrahedron letters* 28.11 (1987), p. 1175-1178.
 9. H TABUCHI et al. « Total synthesis and stereochemistry of alternaric acid ». In : *The Journal of Organic Chemistry* 59.17 (1994), p. 4749-4759.
 10. Wilfried PAULUS. *Directory of microbicides for the protection of materials : a handbook*. Springer Science & Business Media, 2005.
 11. Harold William ROSSMOORE. *Handbook of biocide and preservative use*. Springer Science & Business Media, 2012.
 12. US YOUSEF. « A novel conducting polymer film by electrochemical oxidation of 3-[1-(2-aminophenylimino)-ethyl]-6-methylpyran-2, 4-dione schiff base in aqueous medium ». In : *European Polymer Journal* 36.8 (2000), p. 1629-1644.

fongicides et bactéricides^{13,14}, et également utilisé comme agent antiseptique^{15,16}, herbicide¹⁷, conservateur antimicrobien, puissant contre les bactéries, les levures et les moules¹⁸ et comme plastifiant dans une variété de résines synthétiques¹⁹. Comme il est biodégradable, ce produit chimique ne pose pas de problème pour l'environnement, et les risques pour la santé restent assez faibles. Cette 2-pyrone est aussi utilisée dans la fabrication de gelée pour crèmes glacées²⁰, dans la fabrication de fibres à faible pH, comme réactif pour détecter l'activité de la créatine kinase MB isoenzyme (CK-MB).

I.1.2 Structure de l'Acide dehydroacétique

$C_8H_8O_4$ est la formule moléculaire de plus de 180 isomères du DHA, qui peut être cyclique ou linéaire, donc la détermination de la structure correcte de l'isomère de l'acide déhydroacétique est devenu très importante en raison de la grande variété de composés importants qui peuvent être facilement préparés à partir de cet acide. Cependant, il a fallu plus de 70 ans, de 1882 à 1952, afin de mettre une structure finale à l'acide déhydroacétique, après de nombreuses propositions^{21,22} pour arriver aux hypothèses

13. P Venkateswar RAO et A Venkata NARASAI AH. « Synthesis, characterization and biological studies of oxovanadium (IV), manganese (II), iron (II), cobalt (II), nickel (II) and copper (II) complexes derived from a quadridentate ligand ». In : (2003).

14. L ZEMA et al. « Active packaging for topical cosmetic/drug products : A hot-melt extruded preservative delivery device ». In : *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 75.2 (2010), p. 291-296.

15. U KUNIGISHI. « Synthesis of dehydroacetic acid isonicotinyl hydrazone sodium-salt. Its antitubercular effect on clinical tuberculosis ». In : *Chemotherapy* 6.5 (1958), p. 336-341.

16. Abdulla Al KUBAISI et Kamal Z ISMAIL. « Nickel (II) and palladium (II) chelates of dehydroacetic acid Schiff bases derived from thiosemicarbazide and hydrazinecarbodithioate ». In : *Canadian journal of chemistry* 72.8 (1994), p. 1785-1788.

17. SM JADHAV et al. « Synthesis, Potentiometric, Spectral Characterization and Microbial Studies of Transition Metal Complexes with Tridentate Ligand ». In : *Journal of the Korean Chemical Society* 54.5 (2010), p. 515-522.

18. Mônica Zucolotto CHALAÇA et al. « Synthesis and structure of cadmium and zinc complexes of dehydroacetic acid ». In : *Inorganica chimica acta* 328.1 (2002), p. 45-52.

19. AB BOESE. « Diketene A New Industrial Chemical ». In : *Industrial & Engineering Chemistry* 32.1 (1940), p. 16-22.

20. Rui CAI et al. « Effects of preservatives on Alicyclobacillus acidoterrestris growth and guaiacol production ». In : *International journal of food microbiology* 214 (2015), p. 145-150.

21. Sergio SITRAN, Dolores FREGONA et Giuseppina FARAGLIA. « Lanthanide complexes of 3-acetyl-4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one ». In : *Journal of coordination chemistry* 22.3 (1990), p. 229-235.

22. N N MELNIKOV. *Chemistry of pesticides*. Sous la dir. de Gunther F.A et Gunther J.D. Springer Science & Business Media, 1971.

de Feist²³ et Collie^{24, 25} basées sur le fait que l'acide déhydroacétique soit une lactone (Schéma I.1).

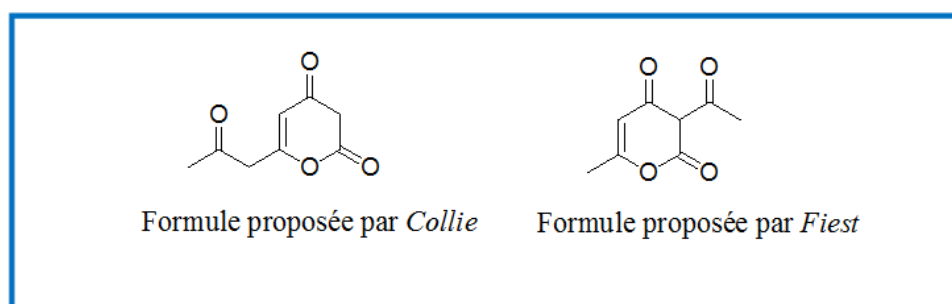


Schéma I.1 – Structure du DHA.

Le DHA a quatre tautomères principaux dont le 3-acétyl-4-hydroxy-6-méthyl- 2H-pyran-2-one **1** est la forme la plus stable²⁶. Ce système étant le plus conjugué de tous les tautomères, il ne contient pas de doubles liaisons carbone-carbone éxo-cyclique, connue pour être moins stables dans les cycles à six membres que les doubles liaisons endo-cycliques (Schéma I.2).

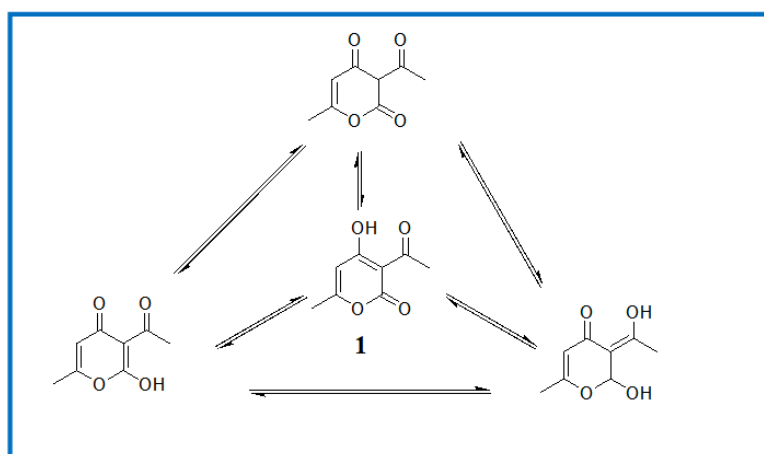


Schéma I.2 – Principales formes tautomères de l'acide dehydroacétique.

23. G SCHIBBYE. « Zur Geschichte der Dehydracetsäure ». Thèse de doct. Verlag nicht ermittelbar, **1882**.

24. A OPPENHEIM et H PRECHT. « Über Derivate der DehydroacetsSure ». In : *Ber. Chem. Gesel. in Berlin* 9 (**1876**), p. 1099-1102.

25. L HAITINGER. « Ueber die Dehydracetsäure ». In : *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 18.1 (**1885**), p. 452-453.

26. L HAITINGER. « Über die Dehydracetsäure ». In : *Monatshefte für Chemie und verwandte Teile anderer Wissenschaften* 6.1 (**1885**), p. 103-106.

Réactivité de l'acide déhydroacétique

L'acide déhydroacétique possède de nombreux sites réactifs. Les atomes de carbone C2, C4, C6 et C3a sont des centres électrophiles^{27, 28}. Cependant, les carbones C3 et C5 ont des propriétés nucléophiles. (Schéma I.3)²⁹.

On observe la position privilégiée de l'hydrogène en position 3, qui est entre trois groupements carbonyles ce qui permet d'envisager trois énolisations possibles, les protons des hydroxydes peuvent alors se ioniser et donner à ce composé un caractère acide.

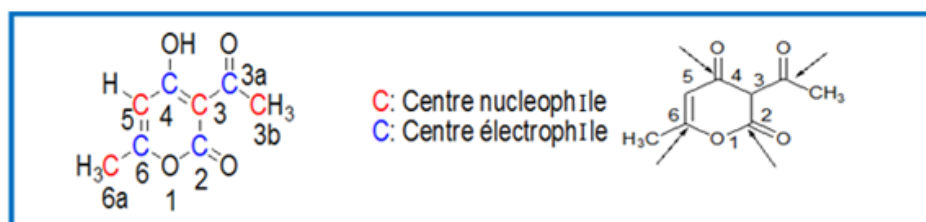


Schéma I.3 – Principaux sites d'attaques du DHA

Les réactions avec les nucléophiles en C2 et C6 provoquent l'ouverture de l'anneau pyranique qui, en général, est suivie d'une cyclisation pour donner un nouveau système hétérocyclique ou carboxylique. D'autre part, l'introduction de réactifs électrophiles en C3 et C5 maintient la structure pyranique. Les positions C4 et C3a subissent, en général, une réaction de substitution, les groupes méthyle en C6 et C3a peuvent être alkylés de différentes manières.

Amination

Généralement, le traitement du DHA(1) avec des amines primaires donne des dérivés de pyridine^{30, 31}, première étape, l'atome d'azote attaque le groupe carbonyle de la fon-

27. J F STEPHEN et E MARCUS. « Reactions of dehydroacetic acid and related pyrones with secondary amines ». In : *The Journal of Organic Chemistry* 34.9 (1969), p. 2527-2534.

28. R AGGARWAL et al. « Synthesis of new bi (pyrazolo [1, 5-a] pyrimidinyl)-7-one derivatives from dehydroacetic acid and its analogues as antibacterial agents ». In : *Arkivoc* 2 (2014), p. 120-134.

29. G KUMAR GUPTA, A MITTAL et V KUMAR. « DHA : an excellent source of bioactive heterocycles ». In : *Letters in Organic Chemistry* 11.4 (2014), p. 273-286.

30. Frank WÜRTHNER et al. « Hydrogen-Bond-Directed Head-to-Tail Orientation of Dipolar Merocyanine Dyes : A Strategy for the Design of Electrooptical Materials ». In : *Angewandte Chemie* 118.23 (2006), p. 3926-3930.

31. EM RAKIB et al. « Reactions of 2-Pyrones with 7-Aminoindazole : The First Synthesis of N-(1-H-7-Indazolyl)-pyridinones ». In : *Synthetic Communications®* 38.20 (2008), p. 3523-3529.

tion acétyle de DHA pour former la base de Schiff (2)^{32, 33}. Cette nouvelle base transformée après l'attaque par un autre équivalent de l'amine primaire (ou avec de l'ammoniac) en position C6, en diamine (3) ou en composé aminé (3'), qui se transforme avec chauffage, désamination ou déshydratation, en dérivés de lutidone (4)³⁴. D'autres études ont montré que l'amine attaque les groupes carbonyles (2 ou 4) pour former un nouveau système 2-aminopyrone (5)^{35, 36} ou 4-aminopyrone (6)³⁷. Il peut aussi se condenser avec du N, N-diméthyl formamide diméthyl acétal pour donner des énamines (7)^{38, 39} (Schéma I.4).

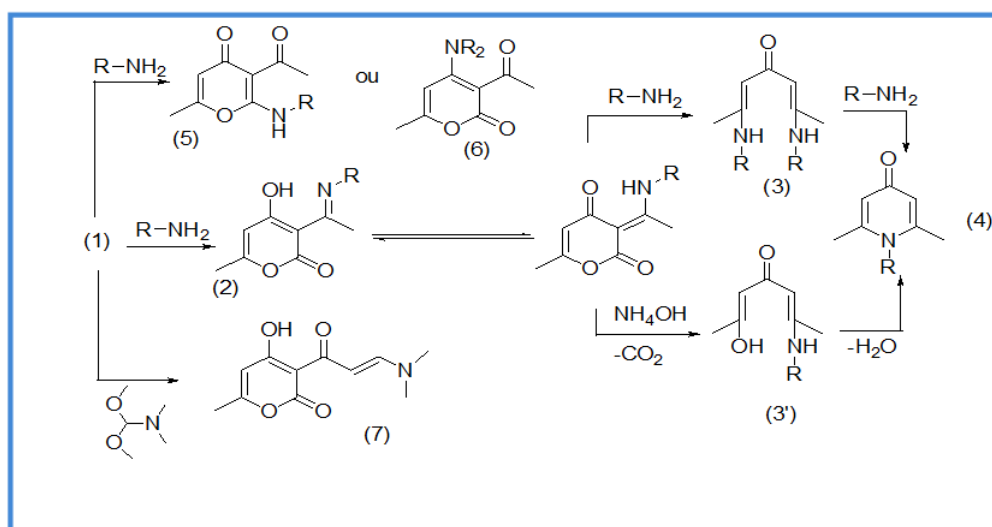


Schéma I.4 – Réaction d'amination en présence du DHA.

La pogostone (PO) et ses analogues (1-3) sont considérés comme des agents antimicrobiens, l'activité est liée à la longueur de la chaîne latérale du cycle pyranoïde cétone et le

32. S GOTO, A KONO et S IGUCHI. « Kinetics of reaction of dehydroacetic acid II. Reaction with primary amines ». In : *Journal of pharmaceutical sciences* 57.5 (1968), p. 791-795.

33. Benkheira FATIMA ZOHRA et Mohamed AMARIA. « Etude spectroscopique de l'équilibre enaminone-iminenol de la réaction de l'acide dehydroacétique avec les amines primaires . » In : *Moroccan Journal of Heterocyclic Chemistry* 15.1 (2016), p. 85-91.

34. Sheila GARRATT. « The mechanism of the reaction between dehydroacetic acid and alkylamines ». In : *The Journal of Organic Chemistry* 28.7 (1963), p. 1886-1888.

35. Bhim C MAITI et SK MAITRA. « Reaction of Dehydroacetic Acid with Aliphatic, Aromatic and Heterocyclic Amines. » In : *ChemInform* 29.48 (1998).

36. VA YANCHENKO et al. « Unexpected destruction of triazole ring by the action of dehydroacetic acid ». In : *Chemistry of Heterocyclic Compounds* 3.39 (2003), p. 402-403.

37. AA AKHREM, AM MOISEENKOV et FA LACHWICZ. « Application of a biogenetic-type scheme for resorcinol amino derivative synthesis ». In : *Tetrahedron* 29.8 (1973), p. 1083-1088.

38. Werner LÖWE. « (Hydroxyphenyl)-äthanone aus Dehydracetsäure ». In : *Archiv der Pharmazie* 310.11 (1977), p. 931-935.

39. Werner LÖWE. « 4-Hydroxy-5-oximino-7-methyl-5H-pyrano [2, 3-b] pyridin-8-oxid ». In : *Archiv der Pharmazie* 311.5 (1978), p. 414-420.

composé montre une forte activité antifongique. Cependant, lorsque le carbone terminal du côté de la chaîne est lié au benzène, l'activité disparaît (**Schéma I.5**)^{40, 41} .

Les résultats indiquent que l'OP pourrait exercer un effet gastro-protecteur contre l'ulcération gastrique, et le mécanisme sous-jacent pourrait être associé à la stimulation de la PGE2 et à l'amélioration de statut d'antioxydant et d'anti-inflammatoire, ainsi que la préservation du NP-SH⁴² .

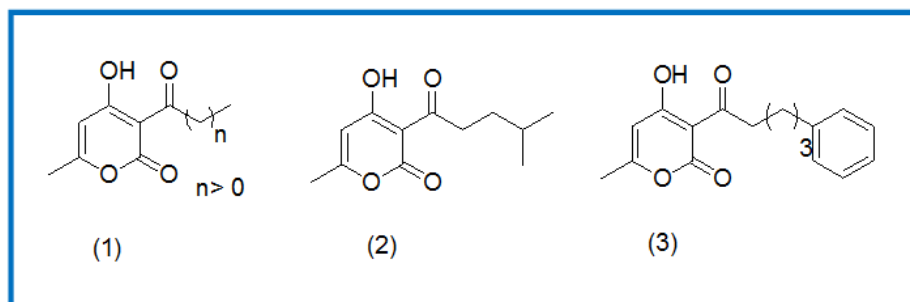


Schéma I.5 – structure de la pogostérone et de ses analogues.

I.2 Généralité sur les complexes

La chimie de coordination moderne a vu le jour et s'est établie comme un important domaine de recherche qui apporte des solutions pratiques nécessaires pour répondre aux plus grands défis de l'humanité : l'énergie, l'eau, l'alimentation, l'environnement et les maladies.

Un complexe est un édifice poly-atomique constitué d'un ou de plusieurs identités indépendantes (soient ions ou molécules). Il s'agit souvent d'un cation métallique entouré de plusieurs ligands, qui délocalisent une partie de leur densité électronique sur le cation. Les amines sont des bases de Lewis et à ce titre, forment de nombreux complexes avec les

40. Yu-Yang YI et al. « Synthesis and antimicrobial evaluation of pogostone and its analogues ». In : *Fitoterapia* 84 (2013), p. 135-139.

41. Naoki TAKEUCHI, Hideo NAKAGAWA et Seisho TOBINAGA. « Intra-and Intermolecular Condensation Reactions of 8-Phenyl-7-octene-2, 4, 6-trione and 8-Phenyl-2, 4, 6-octanetrione (Studies on the β -Carbonyl Compounds connected with the β -Polyketides. IV) ». In : *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 28.10 (1980), p. 3002-3006.

42. Hitoshi TAKESHITA, Ryoko KIKUCHI et Yoshikazu SHOJI. « synthetische photochemie 2. mitt. cycloadditionsrk. von dehydroacetsaeure mit olefinen ». In : *Chemischer Informationsdienst* 4.18 (1973), p. 46.

ions métalliques, comme exemple de complexe naturel, l'hémoglobine ou la myoglobine (Schéma I.6).

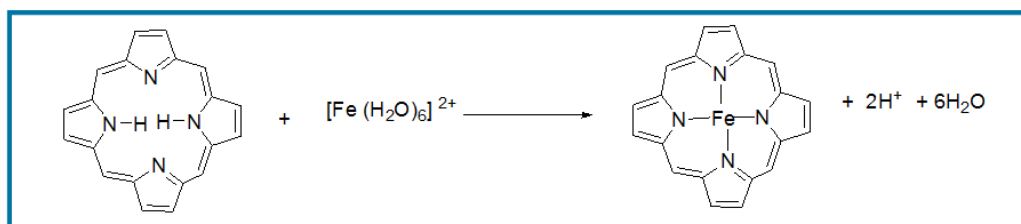


Schéma I.6 – Synthèse d'un complexe d'hémoglobine.

Les complexes de coordination sont idéalement placés du point de vue de leurs propriétés photophysiques, photochimiques, électrochimiques et magnétiques pour être utilisés dans des applications comme : des colorants et des pigments des extractants pour l'industrie de l'extraction et l'hydrométallurgie des catalyseurs dans des procédés catalytiques homogènes d'importance industrielle des médicaments pour la thérapie anti cancer, la thérapie de chélation le traitement de la polyarthrite rhumatoïde et des agents de diagnostique en médecine^{43, 44}.

I.2.1 Métaux de transition

Les métaux de transition ont été ainsi appelés parce qu'ils semblaient assumer la transition entre les éléments à caractères métalliques très prononcés et les non-métaux. Dans le tableau périodique, ils constituent un pont entre les deux classes d'éléments^{45,43}.

Les 30 éléments chimiques de numéro atomique de 21 à 30, de 39 à 48 et de 71 à 80 constituent les métaux de transition, ce nom provient de leur position dans le tableau périodique des éléments qui représente l'addition successive d'un électron dans l'orbitale *d* des atomes lorsqu'on passe de l'un à l'autre à travers la période. Les métaux de transition

43. M GERLOCH et EC CONSTABLE. « Transition metal chemistry, Editions VCH ». In : *Weinheim, New York, Tokyo* 211 (2000), p. 15.

44. Carol DEBY et G DEBY-DUPONT. « Métaux de transition et activation de l'oxygène ». In : *L'oxygène et la vie : tome1* (2000).

45. Werner LÖWE. « 4-Hydroxy-5-oximino-7-methyl-5H-pyrano [2, 3-b] pyridin-8-oxid ». In : *Archiv der Pharmazie* 311.5 (1978), p. 414-420.

sont chimiquement définis comme « les éléments qui forment au moins un ion avec une sous-couche d partiellement remplie ».

Propriétés des métaux de transition

- Les éléments de transitions possèdent des propriétés métalliques caractéristiques, comme la malléabilité, la ductilité, une grande conductibilité thermique et électrique et un aspect métallique, ils présentent des propriétés magnétiques et peuvent former des liaisons ioniques et covalentes avec les anions, ces composés étant vivement colorés.
- Les éléments de transition ont en général une forte densité, une température de fusion et de vaporisation élevée, ces propriétés proviennent de la capacité des électrons de la couche d de se délocaliser dans le réseau métallique. Dans les substances métalliques, plus le nombre d'électrons partagés entre les noyaux est grand plus le métal est fort.
- Les éléments de transition ont plusieurs valences ou nombre d'oxydation de +1 à +8. Dans les composés organométalliques, caractérisés par des liaisons entre les métaux et les groupes organiques, les métaux de transitions peuvent parfois avoir des degrés d'oxydation négatifs.

Une caractéristique des métaux de transition est la facilité à former des **complexes** avec des molécules porteuses de paires d'électrons, les **ligands**, ceux-ci s'unissent aux métaux de transition par un type de liaison particulière, dite de coordination (ou liaison dative) nettement plus faible que la liaison de covalence.

I.2.2 Quelques complexes de DHA et ses dérivées

Plusieurs études ont été rapportées sur la complexation de l'acide déhydroacétique. On note, par exemple, la complexation avec le bore, le magnésium, le scandium, Vanadium, Chrome, Manganèse, Fer, Cuivre, Zinc, Ruthénium, Palladium, Cadmium ... etc

(Schéma I.7)^{46, 47, 48}.

Monica Zucolotto Chalça et coll.⁴⁹ ont préparés et caractérisés de nouveaux complexes de $[Cd(DHA)_2 \cdot 2H_2O]$, $[Cd(DHA)_2 \cdot 2DMSO]$, (Schéma I.7).

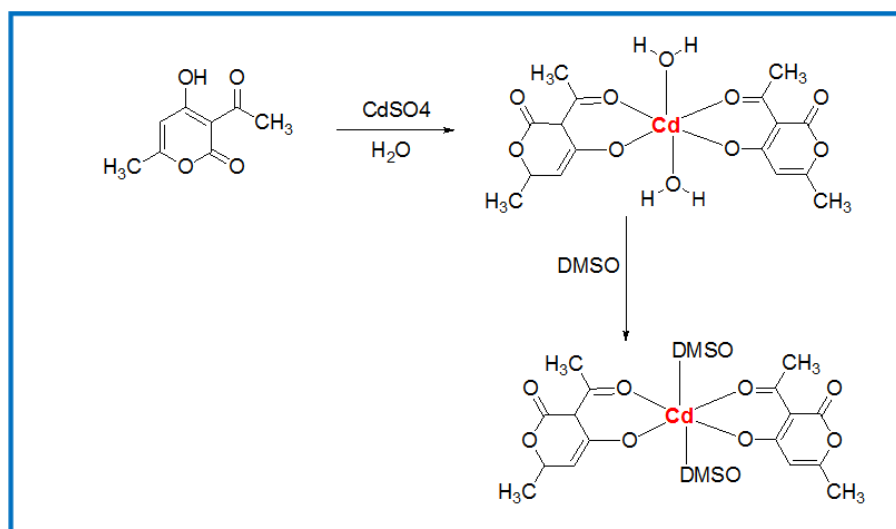


Schéma I.7 – Structure de complexe de $[Cd(DHA)_2 \cdot 2DMSO]$.

Kumar, Naveen, et coll ont fait réagir le DHA (1) et l'acétate de zinc en quantité stoechiométrique dans le méthanol pour donner un complexe de zinc sous forme d'une poudre de formule $[Zn(DHA)_2(H_2O)_2]$ (D1), ce dernier a été synthétisé par addition goutte à goutte de Acétonitrile au complexe de zinc solide, mis en suspension dans $CHCl_3$ à température ambiante.

De la même manière, deux autres complexes de Zn(II) (D3-D4) et un complexe de Co (II) (D2) ont été synthétisés. Tous les complexes ont été caractérisés par diffraction aux rayons X, FT-IR, TGA et UV-Vis)⁵⁰ (Schéma I.8).

46. Y RACHEDI et al. « Reaction of 4-Hydroxy-6-Methyl-3- β -arylpropionyl-2-Pyrones with Phenylhydrazine-Synthesis of a New Pyrazole Series ». In : *Synthetic communications* 21.10-11 (1991), p. 1189-1199.

47. Wen-Yuan HSIEH et al. « Mn (II) complexes of monoanionic bidentate chelators : X-ray crystal structures of $Mn(dha)_2(CH_3OH)_2$ (Hdha= dehydroacetic acid) and $[Mn(ema)_2(H_2O)]_2 \cdot 2H_2O$ (Hema= 2-ethyl-3-hydroxy-4-pyrone) ». In : *Inorganica chimica acta* 359.1 (2006), p. 228-236.

48. RC MAURYA et al. « Oxidovanadium (IV) complexes involving dehydroacetic acid and β -diketones of bioinorganic and medicinal relevance : their synthesis, characterization, thermal behavior and DFT aspects ». In : *Journal of Molecular Structure* 1083 (2015), p. 343-356.

49. Mônica Zucolotto CHALÇA et al. « Synthesis and structure of cadmium and zinc complexes of dehydroacetic acid ». In : *Inorganica chimica acta* 328.1 (2002), p. 45-52.

50. Naveen KUMAR et al. « Synthesis, Crystal and DFT studies of Zn/Co complexes of Dehydroacetic acid using ligand exchange approach ». In : *Inorganic Chemistry Communications* 122 (2020), p. 108280.

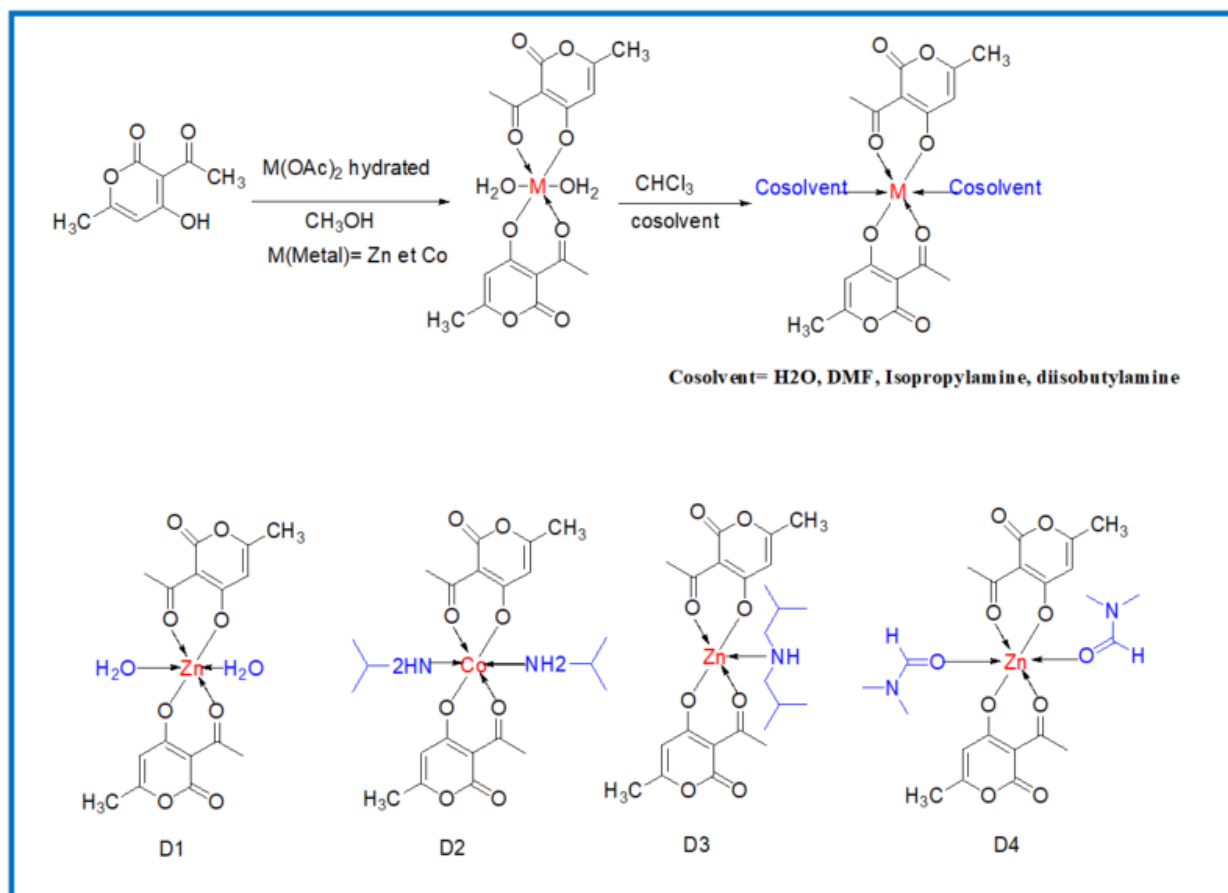


Schéma I.8 – Structure de complexe de $[Cd(DHA)_2 \cdot 2DMSO]$.

Parmi les chercheurs intéressés par la complexation de molécules de l'acide déhydroacétique A. Djedouani et coll.^{51, 52} ont préparé et caractérisé par RX les complexes de $[Cu(DHA)_2 \cdot 2DMF]$, $[Cu(DHA)_2 \cdot 2DMSO]$, (**Figure I.1**) .

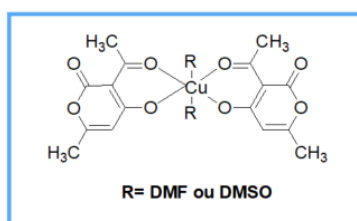


FIGURE I.1 – Structure des complexes de cuivre : $[Cu(DHA)_2 \cdot 2DMF]$, $[Cu(DHA)_2 \cdot 2DMSO]$.

51. Amel DJEDOUANI et al. « Bis [3-acetyl-6-methyl-2H-pyran-2, 4 (3H)-dionato] bis (dimethyl sulfoxide) copper (II) ». In : *Acta Crystallographica Section E : Structure Reports Online* 62.1 (2006), p. m133-m135.

52. Amel DJEDOUANI et al. « Bis (3-acetyl-6-methyl-2-oxo-2H-pyran-4-olato) bis (dimethyl sulfoxide) nickel (II) ». In : *Acta Crystallographica Section E : Structure Reports Online* 65.10 (2009), p. m1205-m1206.

Une série de complexes de Ru(II) et Ru(III) de type $\{RuX(CO)(EPh_3)_2L\}$ ($X = H$, $E = P$; $X = Cl$, $E = P$ ou As) et $\{RuX_2(EPh_3)_2L\}$ ($X = Cl$, $E = P$ ou As ; $X = Br$, $E = As$), $L =$ monoanion de l'acide déhydroacétique ont été synthétisés⁵³ afin d'explorer leurs activités biologiques, tel que l'influence sur l'ADN et l'activité antibactérienne, ces complexes sont testés contre cinq bactéries pathogènes, ils peuvent être utilisés pour sonder la structure de l'ADN (Schéma I.9).

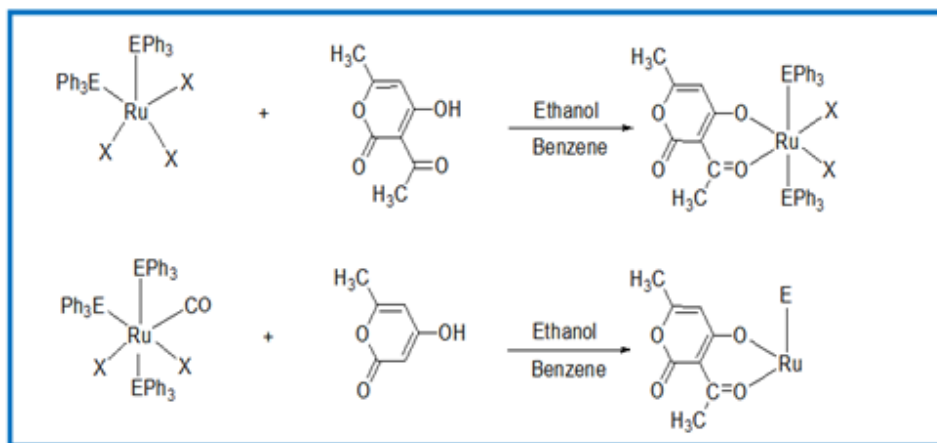


Schéma I.9 – Réactions de formation de $RuX(CO)(EPh_3)_2L$ et $RuX_2(EPh_3)_2L$.

La réaction entre $[RuHCl(CO)(B)(EPh_3)_2]$ où ($E = As$, $B = As$ Ph_3 ; $E = P$, $B = PPh_3$, Py , PiP) et le DHA dans le benzène conduit à une série de complexes de Ru(II) de formule générale $[RuDHATsc(CO)(B)(EPh_3)_2]$ (**Schéma I.10**) ou DHATSC = déhydroacétique thiosemicarbazone, ces complexes sont détectés comme des antibactériens et antifongiques et montre une activité dans l'inhibition de la croissance des bactéries *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Champignon de *Albicanscandida* et *Aspergillus de Niger*, cette étude est faite par Sethuraman Kannan et coll.⁵⁴

Les composés carbonyle α , β insaturé et leurs complexes métalliques possèdent des propriétés biochimiques intéressantes. Aussi le ligand et ses complexes métalliques ont été criblés pour l'activité antibactérienne *in vitro*. Les résultats antibactériens, ont montré que le ligand présentait une faible activité antibactérienne, mais ses complexes ont montré

53. N CHITRAPRIYA et al. « Synthesis, crystal structure and biological activities of dehydroacetic acid complexes of Ru (II) and Ru (III) containing $PPh_3/AsPh_3$ ». In : *Polyhedron* 27.3 (2008), p. 939-946.

54. Sethuraman KANNAN et al. « Ruthenium (II) carbonyl complexes of dehydroacetic acid thiosemicarbazone : synthesis, structure, light emission and biological activity ». In : *Journal of Organometallic Chemistry* 693.13 (2008), p. 2251-2257.

une activité modérée contre les bactéries, on sait que la chélation a tendance à faire agir les ligands comme des agents bactéricides plus puissants, tuant ainsi plus de bactéries que le ligand non chélaté.

Ici, les résultats antifongiques ont montré que le ligand présentait une activité antifongique modérée et ses complexes métalliques présentent une activité antifongique importante à la même concentration contre les champignons.

Les complexes du (**Schéma I.10**) (2-3) sont biologiquement actifs et présentent une activité antibactérienne renforcée, par rapport au ligand parent (1). L'activité croissantes des chélates peuvent être expliqués sur la base de la théorie de la chélation de Tweedy⁵⁵.

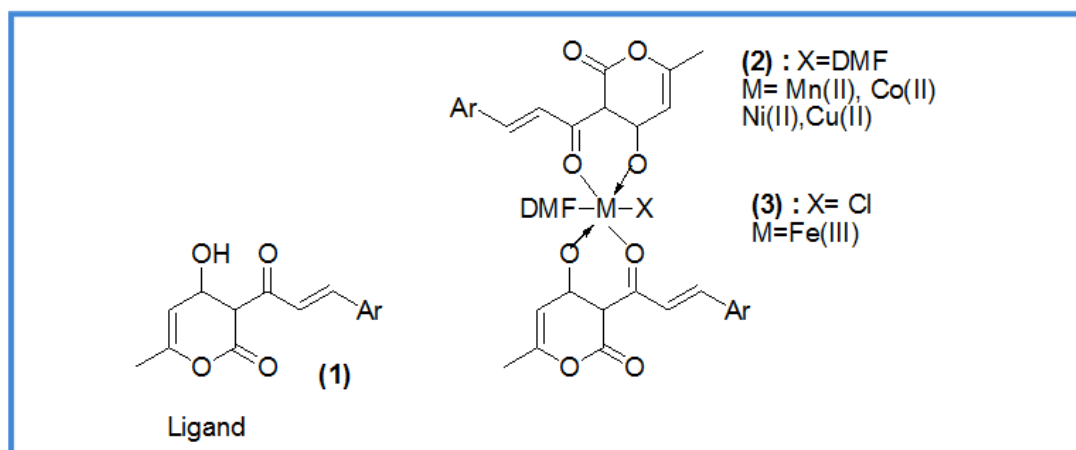


Schéma I.10 – Complexation de quelques dérivés du DHA.

S. Tabti et coll se sont intéressés à la synthèse, caractérisation et au comportement électrochimique d'une nouvelle série de complexe métalliques dérivés de 4-hydroxy-6-méthyl-3-[(2E)-3-(4- (diméthylamino) phényl) prop-2-énoyl]-2H-pyran-2-one (**Schéma I.11**)⁵⁶.

55. Mohamed Said MINNIH, Youssef Kandri RODI et El Mokhtar ESSASSI. « Synthèse et Réactivité de la Z-4-(2-oxopropylidène)-4, 5-dihydro-1H-1, 5-benzodiazépin-2 (3H)-one et de ses dérivés ». In : *Moroccan Journal of Heterocyclic Chemistry* 13.1 (2014).

56. S TABTI et al. « Synthesis, characterization and electrochemical behavior of new transition metal complexes derivatives of 4-hydroxy-6-méthyl-3-[(2E)-3-(4-(diméthylamino) phényl) prop-2-énoyl]-2H-pyran-2-one ». In : *J Mater Environ Sci* 9.9 (2018), p. 2624-30.

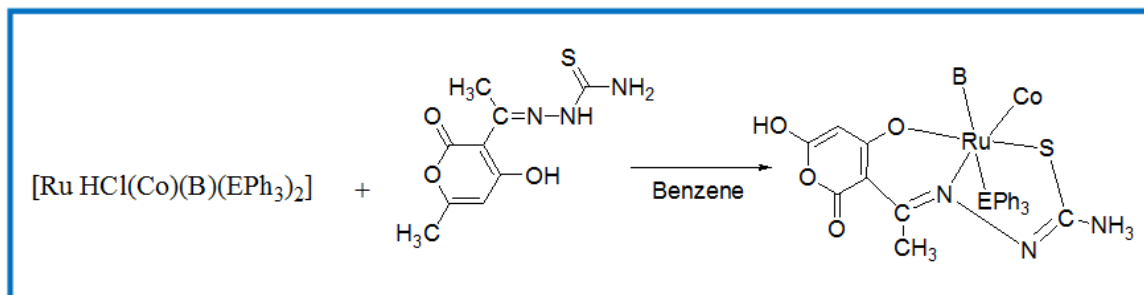


Schéma I.11 – Réactions de formation de $RuHCl(CO)(B)(EPH_3)_2$.

Ils se sont aussi intéressés à la synthèse, structure cristalline, propriétés électrochimique et études de calcul DFT de nouveaux complexes de Cu(II), Co(II) et Ni(II) dérivé de chalcone (Schéma I.12) ⁵⁷.

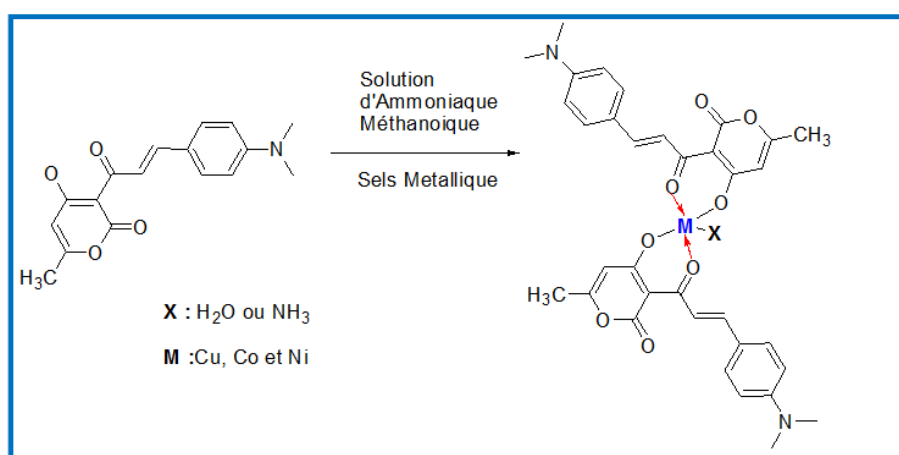


Schéma I.12 – Réaction de synthèse des complexes Cu(II), Co(II) et Ni(II).

I.3 Les Benzodiazépines : propriétés et domaines d'applications

I.3.1 Introduction

Les Benzodiazépines constituent une classe importante de composés bioactifs. Elles sont les substances les plus largement prescrites du groupe des hypnotiques et anxiolytiques. Ils ont été considérés pendant longtemps comme étant la thérapie de choix

57. Salima TABTI et al. « New Cu (II), Co (II) and Ni (II) complexes of chalcone derivatives : Synthesis, X-ray crystal structure, electrochemical properties and DFT computational studies ». In : *Journal of Molecular Structure* 1155 (2018), p. 11-20.

dans maints troubles neuro-psychiatriques. Elles sont utilisées dans un grand nombre de domaines médicaux, elles présentent des propriétés anti-convulsivantes, myorelaxantes, sédatives⁵⁸, anti-inflammatoires, analgésique⁵⁹ et inhibitrices de synthèse des prostaglandines⁶⁰ ainsi que des activités antibiotiques⁶¹ et d'autres ont été utilisées dans l'industrie comme colorants pour les fibres acryliques⁶².

Les 1,5- benzodiazépines sont utilisées en tant qu'agents anti-convulsifs⁶³ anti inflammatoires, analgésiques⁶⁴, anti-dépresseurs du système nerveux central⁶⁵ et anti-bactériens⁶⁶. Généralement bien tolérées, elles sont aujourd'hui plus controversées, notamment parce qu'elles peuvent être à l'origine d'abus, voire de tolérance et de dépendance. Elles font l'objet de nombreuses recherches dans différents domaines d'applications^{67, 68}
⁶⁹.

I.3.2 Historique

Les BZD voient le jour au début des années 60, créant une véritable révolution dans le domaine des molécules anxiolytiques. Elles sont considérées dès lors comme des

58. Alan Roy KATRITZKY et Charles Wayne REES. *Comprehensive organic chemistry*. Pergamon Oxford, **1982**.

59. K SATYANARAYANA et MNA RAO. « Antiinflammatory, analgesic and antipyretic activities of 3-[4-[3-(4-dimethylaminophenyl)-1-oxo-2-propenyl] phenyl] sydnone ». In : *Indian Drugs* 30.7 (**1993**), p. 313-318.

60. Wanda NAWROCKA et al. « Synthesis and antiproliferative activity in vitro of 2 - aminobenzimidazole derivatives ». In : *Il Farmaco* 59.2 (**2004**), p. 83-91.

61. Ahmed KAMAL et al. « Synthesis of novel non-cross-linking pyrrolobenzodiazepines with remarkable DNA binding affinity and potent antitumour activity ». In : *Chemical Communications* 5 (**2001**), p. 437-438.

62. RC HARRIS et JM STRALEY. « US Patent, 1968, 1, 537, 757 ». In : *Chem. Abstr.* T. 73. **1970**, 100054w.

63. G DE SARRO et al. « 5H-[1, 2, 4] Oxadiazolo [5, 4-d][1, 5] benzothiazepines as anticonvulsant agents in DBA/2 mice ». In : *European journal of medicinal chemistry* 30.12 (**1995**), p. 925-929.

64. K SATYANARAYANA et MNA RAO. « Synthesis of 3-[4-[2, 3-dihydro-2-(substituted aryl)-1, 5-benzothiazepin-4-yl] phenyl] sydnones as potential antiinflammatory agents ». In : *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 55.6 (**1993**), p. 230-233.

65. H KATO, M NISHIKAWA et E KOSHINAKA. « Ger Offen., 1978, 2, 722,189 ». In : *Chem. Abstr.* T. 88. **1978**, p. 152675d.

66. KP JADHAV et DB INGLE. « Synthesis of 2, 4-diaryl-2, 3-dihydro-1, 5-benzothiazepines and their 1, 1-dioxides as antibacterial agents ». In : *Chemischer Informationsdienst* 14.33 (**1983**).

67. RC HARIS et JM STRALEY. « US Patent 1,537,757, 1968 ». In : *Chem. Abstr.* T. 73. 100,054. **1970**.

68. C BELLANTUONO et al. « Benzodiazepines : clinical pharmacology and therapeutic use ». In : *Drugs* 19.3 (**1980**), p. 195-219.

69. A GRINGAUZ et G MULLER. « Introduction to Medicinal Chemistry-How Drugs Act and Why ». In : *Angewandte Chemie-German Edition* 109.21 (**1997**), p. 2484-2484.

« médicaments miracles » du fait du soulagement rapide qu'elles procurent sur les états d'anxiété. Elles constituaient des produits présentant un rapport bénéfice/risque plus favorable que les barbituriques et le méprobamate utilisés jusque-là. Toutefois, elles perdent leur statut de « médicaments miracles » dès lors que l'on remarque un effet de dépendance et tolérance, de l'incidence d'effets secondaires sur certaines fonctions cognitives, et des phénomènes de mésusage, tant dans un contexte médical⁷⁰.

I.3.3 Structure des benzodiazépines

Leur nom est dû à leur structure chimiques comme : le noyau benzodiazépine telle qu'associé par un motif de benzène (benzo-) plus un hétérocycle dont deux atomes sont des azotes (-diaz), présents en position 1,2; 1,3; 1,4; 1,5; 2,3 et 2,4. Les 1,4 et 1,5-benzodiazépine.

Ces structures acceptent des modifications importantes sans perte sensible de leur activité pharmacologique, ce qui permet de comprendre la multiplication des produits commercialisés⁷¹ (**Schéma I.13**).

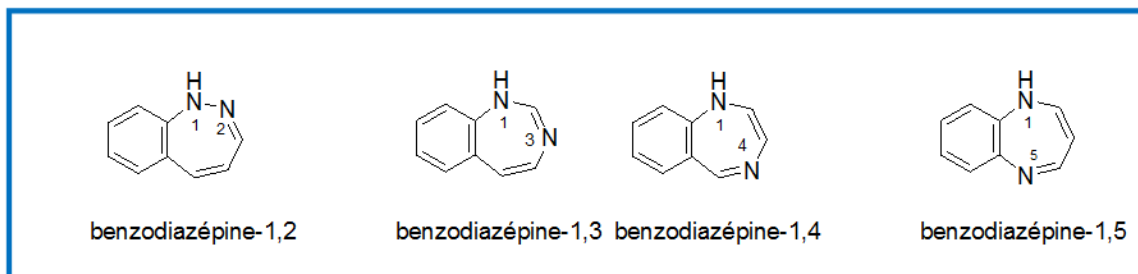


Schéma I.13 – Structure générale de quelques benzodiazépines.

Pratiquement toutes ont un anneau aryle annexe en position 5 qui lui peut être porteur d'un hétéroatome halogène (fluor ou chlore), (**Schéma I.14**)⁷².

70. Kieron O'CONNOR, Lynda BÉLANGER et Yves LECOMTE. « Benzodiazépines : santé mentale et santé sociale ». In : *Santé mentale au Québec* 28.2 (2003), p. 15-21.

71. Y LANDRY et JP GIES. *Pharmacologie, des cibles à la thérapeutique [Internet]. 3ème édition. Dunod; 2014 [cited 2016 Jun 17].*

72. M ANSSEAU. « Les benzodiazepines ». In : *RMLG. Revue médicale de Liège* 51.1 (1996), p. 70-77.

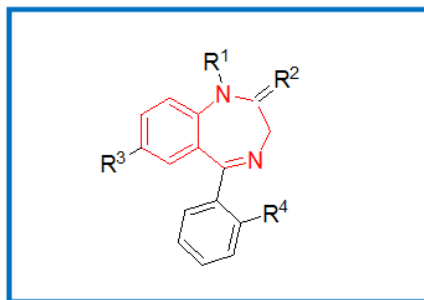


Schéma I.14 – Structure chimique de base des benzodiazépines.

I.3.4 Domaines d'utilisation des benzodiazépines

Les benzodiazépines et leurs dérivées sont largement utilisées pour traiter les troubles suivants :

- **Les différents troubles anxieux** : Les benzodiazépines sont classiquement prescrites dans le cadre des troubles anxieux généralisés⁷³ ; phobie sociale ; trouble de stress post-traumatique (TSPT) ; attaque de panique ou trouble panique, anxiété excessive avant une intervention chirurgicale⁷⁴ .
- **Troubles du sommeil** : Les anxiolytiques permettent de réduire la composante anxieuse et les troubles du sommeil associés à la dépression ; somnambulisme⁷³ .
- **Troubles épileptiques (épilepsie)**.
- **Sevrage alcoolique**.
- **Les autres indications psychiatriques** : Les BZD sont habituellement inactives sur l'angoisse psychotique. Toutefois plusieurs auteurs ont montré l'intérêt des BZD lors des phases aiguës de psychose schizophrénique. Les BZD représentent le traitement de choix des états confusionnels, seules ou en association à un neuroleptique⁷³ .

D'autres exemples de BZD actives biologiquement sont présentes dans le (**Tableau**

73. Frédérique DUVAL. « La consultation au SAU peut-elle être un moment privilégié de détection et d'information sur le problème de dépendance aux benzodiazépines ? » Thèse de doct. Médecine Générale ; faculté de médecine de Créteil ; université Paris Val-de-Marne., **2011**.

74. Kieron O'CONNOR, Lynda BÉLANGER et Yves LECOMTE. « Benzodiazépines : santé mentale et santé sociale ». In : *Santé mentale au Québec* 28.2 (**2003**), p. 15-21.

I.1). En effet, ce tableau présente les différentes activités antihistaminique^{75, 76}, anti-tuileuse^{77, 78}, anticancéreuse^{79, 80, 81}, antibactérienne^{82, 83, 84}, antivirale⁸⁵, anti-inflammatoire⁸⁶, anti oxydante⁸⁷, anti parasitaire⁸⁸, anti diabétique⁸⁹ et leurs structures respectives. En dehors des applications qui résultent de l'activité biologique, des travaux récents ont montré que ces composés peuvent révéler des propriétés dans le domaine de l'optique non linéaire, Ou dans la corrosion⁹⁰.

75. Lindsay B HOUGH. « Genomics meets histamine receptors : new subtypes, new receptors ». In : *Molecular Pharmacology* 59.3 (2001), p. 415-419.

76. Mike E PARSONS et C Robin GANELLIN. « Histamine and its receptors ». In : *British journal of pharmacology* 147.S1 (2006), S127-S135.

77. G SACHS et al. « The energy source for gastric H+ secretion ». In : *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 162.2 (1968), p. 210-219.

78. G SACHS et B WALLMARK. « The gastric H+, K+-ATPase : the site of action of omeprazole ». In : *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 24.sup166 (1989), p. 3-11.

79. Manohar Sharma VEDULA et al. « New styryl sulfones as anticancer agents ». In : *European journal of medicinal chemistry* 38.9 (2003), p. 811-824.

80. Mostafa M RAMLA et al. « Synthesis and inhibitory activity of new benzimidazole derivatives against Burkitt's lymphoma promotion ». In : *Bioorganic & medicinal chemistry* 15.19 (2007), p. 6489-6496.

81. Marijana HRANJEC et al. « Synthesis, spectroscopic characterization and antiproliferative evaluation in vitro of novel Schiff bases related to benzimidazoles ». In : *European Journal of Medicinal Chemistry* 46.6 (2011), p. 2274-2279.

82. Yun HE et al. « 2-Piperidin-4-yl-benzimidazoles with broad spectrum antibacterial activities ». In : *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 13.19 (2003), p. 3253-3256.

83. JT LEONARD et al. « Synthesis, antiinflammatory and antibacterial activities of 4-substituted phenyl benzimidazoles ». In : *Asian Journal of Chemistry* 18.2 (2006), p. 1104-1108.

84. KM GHONEIM et al. « Study on the Formation of Thiazolopyrimidinediones and Pyrimidothiazinediones from 6-Methyl-2-thiouracil ». In : *Polish Journal of Chemistry* 72.7 (1998), p. 1173-1177.

85. G VITALE et al. « 2-Arylbzimidazoles as antiviral and antiproliferative agents-Part 1 ». In : *Medicinal chemistry* 4.6 (2008), p. 605-615.

86. JT LEONARD et al. « Synthesis, antiinflammatory and antibacterial activities of 4-substituted phenyl benzimidazoles ». In : *Asian Journal of Chemistry* 18.2 (2006), p. 1104-1108.

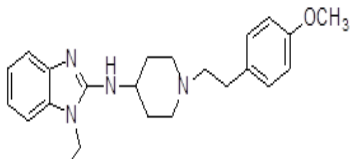
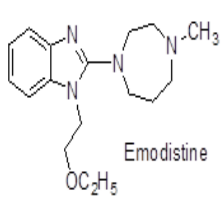
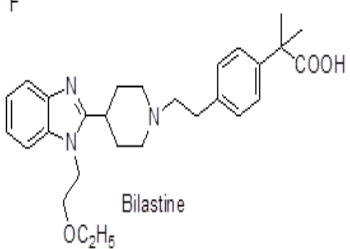
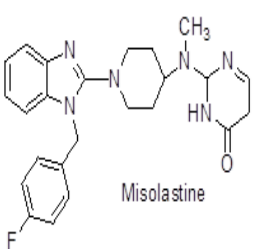
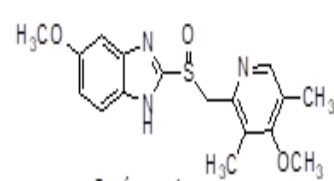
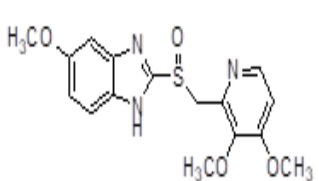
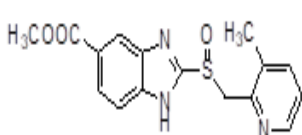
87. ZA ALAGOZ, C KUS et T COBAN. « Synthesis and antioxidant properties of novel benzimidazoles containing substituted indoles ». In : *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 20.4 (2004), p. 325-331.

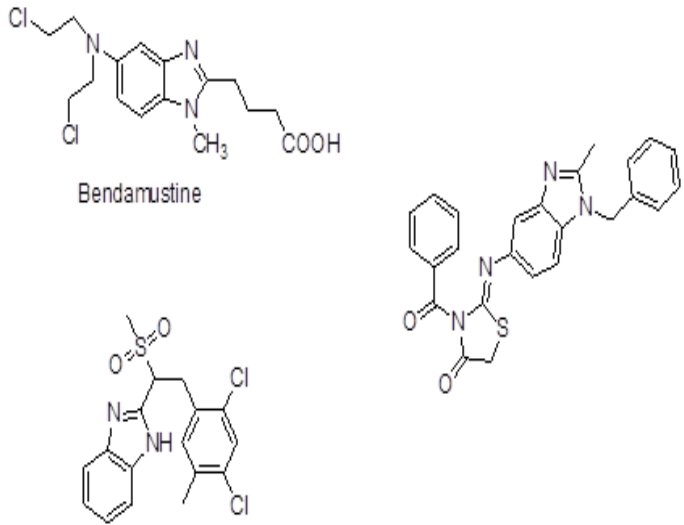
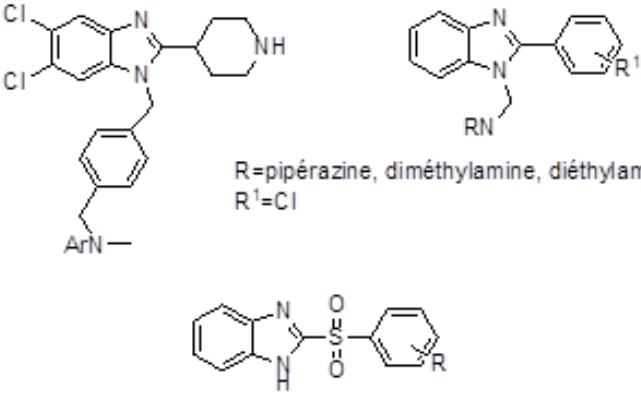
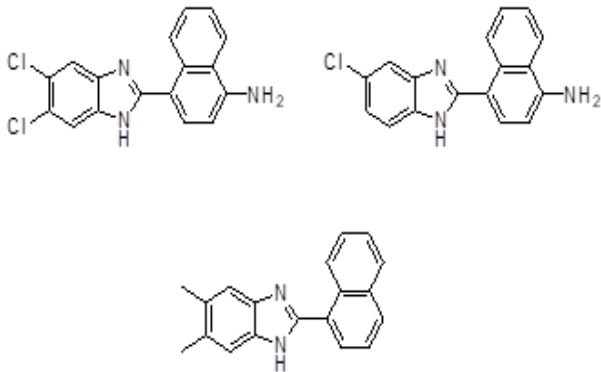
88. TS SOLOMINOVA et al. « Targeted Search for New Anthelmintics Among 5 (6) - Aminophenylthio (oxy)-2-aminobenzimidazole Derivatives. Part I. Quantitative Structure-Activity Relationship ». In : *Pharmaceutical Chemistry Journal* 38.8 (2004), p. 425-430.

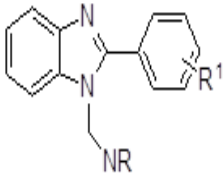
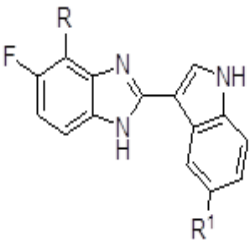
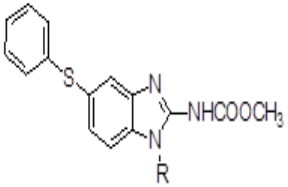
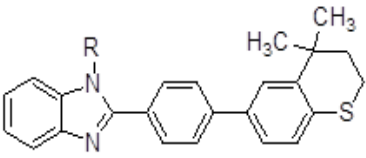
89. BB KUMAR et PV RAO. « Synthesis and structural studies on transition metal complexes derived from 1-(2-thienyl)-1-ethanole-1H-benzimidazole ». In : *Asian J. Chem* 18 (2006), p. 3060-3064.

90. T LAABAISI et al. « Benzodiazepine derivatives as corrosion inhibitors of carbon steel in HCl media : electrochemical and theoretical studies ». In : *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces* 55.5 (2019), p. 986-1000.

Tableau I.1 – Quelques exemples d'activité biologique de composés hétérocyclique azoté

| Intérêts biologiques | Structures |
|----------------------------------|---|
| <p>Activité Antihistaminique</p> | <div style="display: flex; flex-wrap: wrap; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center; margin: 10px;">  <p>Astemizole</p> </div> <div style="text-align: center; margin: 10px;">  <p>Emodistine</p> </div> <div style="text-align: center; margin: 10px;">  <p>Bilastine</p> </div> <div style="text-align: center; margin: 10px;">  <p>Misolastine</p> </div> </div> |
| <p>Activité Antiulcéreuse</p> | <div style="display: flex; flex-wrap: wrap; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center; margin: 10px;">  <p>Omeprazole</p> </div> <div style="text-align: center; margin: 10px;">  <p>Pantoprazole</p> </div> <div style="text-align: center; margin: 10px;">  <p>Piaprazole</p> </div> </div> |

| | |
|-------------------------------------|---|
| <p>Activité Anticancéreuse</p> |  <p>Bendamustine</p> |
| <p>Activité Antibactérienne</p> |  <p>R=pipérazine, diméthylamine, diéthylamine R¹=Cl</p> <p>R=4-NH₂, 2,4-diNH₂</p> |
| <p>Activité Antivirale</p> |  |

| | |
|------------------------------|--|
| <p>Anti Inflamatoire</p> |  <p>R=morphine, diphenylamin, diméthylamine, imidazole R¹=Cl</p> |
| <p>Anti Oxydante</p> |  <p>R=<i>p</i>-C₆H₅, C₄H₉N₂, R¹=H, Br, OCH₃</p> |
| <p>Anti Parasitaire</p> |  <p>R=COOCH₂CH₂OCH₃, CONHCH₂CH₂COOCH₃</p> |
| <p>Anti Diabétique</p> |  <p>R=H, CH₂CH₂CH₂CH₃</p> |

I.3.5 Synthèse des benzodiazépines

La synthèse des 1,5-benzodiazépines consiste généralement en l'action de l'*o*-phénylène diamine sur des composés dicarbonylés (1,3-Dicétones)⁹¹, des composés carbonylés α , β -

91. Eberhard MÜLLER, Rolf HALLER et Kurt Walther MERZ. « Synthèse und Struktur substituierter 1,5-Benzodiazepinone-(4) ». In : *Justus Liebigs Annalen der Chemie* 697.1 (1966), p. 193-200.

éthyléniques (Chalcones)⁹² ou acétyléniques⁹³, les acétals⁹⁴ et les imidates⁹⁵.

Le premier exemple de la synthèse des 1,5- benzodiazépines a été réalisé en 1907 par Theine et Steimmig, en faisant réagir l'ortho-phénylène diamine (o-PDA) avec les 1,3-dicétones dans l'éthanol en présence de l'acide acétique⁹⁶. (**Schéma I.15**)

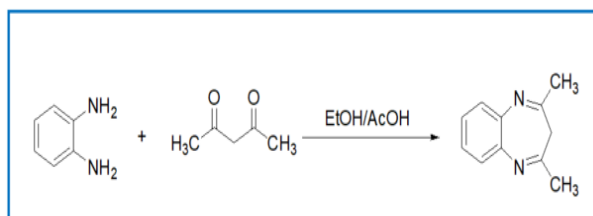


Schéma I.15 – Synthèse d'un 1,5-benzodiazépine à partir d' o-PDA et de 1,3-dicétone

Depuis, d'autres méthodes de synthèses ont été élaborées, comme par exemple, la réaction de l'o-phénylènediamine avec les composés carbonyles α, β – insaturés (Chalcones) ou les cétones β -halogénées⁹⁷.

Dans ce qui suit, quelques méthodes de synthèse des Benzodiazépines.

Chalcones

Synthèse de 2,4-disubstitués-1,5-Benzodiazépines de chalcones, avec un bon rendement (70 à 88 %) ⁹⁸ (**Schéma I.16** ⁹⁸).

92. Giles A ARCHER et Leo H STERNBACH. « Chemistry of benzodiazepines ». In : *Chemical Reviews* 68.6 (1968), p. 747-784.

93. ZF SOLOMKO et AN KOST. « 1, 5-Benzodiazepines ». In : *Chemistry of Heterocyclic Compounds* 11.11 (1975), p. 1231-1248.

94. Akiko FURUHASHI, Koji AOKI et Morihito SUGIMOTO. « The Reaction of 2, 4, 6-Heptanetrione with o-Phenylenediamine ». In : *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 52.7 (1979), p. 2157-2158.

95. EM ESSASSI. « Ph. Viallefont et R. Zniber ». In : *Bull. Soc. Chim. Fr* 797 (1986).

96. J THEINE et G STEIMMIG. « Ber ». In : *Ber* 40 (1907).

97. Walter RIED et Paul STAHLHOFEN. « Über heterocyclische Siebenringsysteme, IV. Mitteil.) : Synthesen und Eigenschaften von 4.5-Benzo-[hept-1.2. 6-oxdiazinen] ». In : *Chemische Berichte* 87.12 (1954), p. 1814-1824.

98. Manish S BHATIA et al. « Synthesis, screening and QSAR studies of 2, 4-disubstituted 1, 5-benzodiazepine derivatives ». In : *Oriental Journal of Chemistry* 24.1 (2008), p. 147-1532.

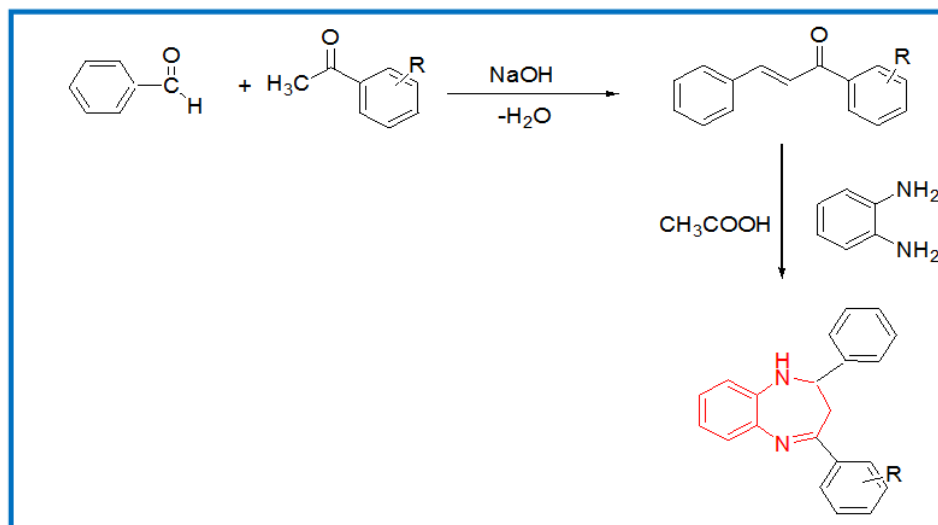


Schéma I.16 – Synthèse de 2,4-disubstitués-1,5-Benzodiazépines de chalcones.

Une nouvelle série de 2,4-disubstitués-2,3dihydrosubstitué-1,5-dérivés des Benzodiazépines de divers chalcones substituées a été synthétisée sous irradiations micro-ondes (Schéma I.17)⁹⁹.

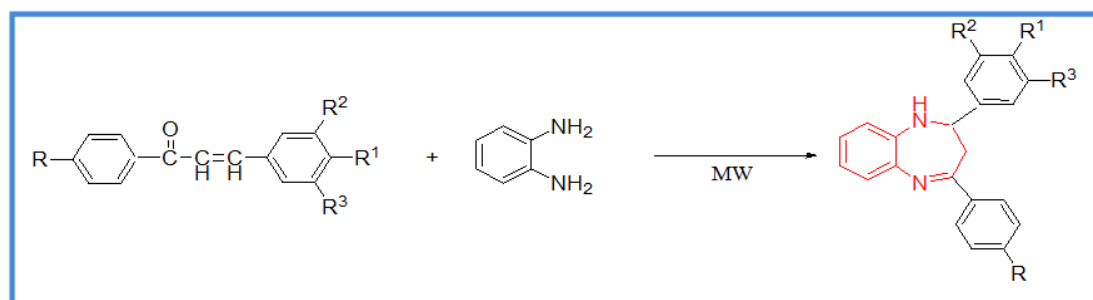


Schéma I.17 – Synthèse de dérivés Benzodiazépines

Synthèse de quelques nouveaux benzimidazoles assemblés 1,5-Benzodiazépines dérivées de chalcones substituées (**Schéma I.18**)¹⁰⁰.

99. N SHARMA et YC JOSHI. « Synthesis of Some Novel 2, 4-Disubstituted-1, 5-benzodiazepine Derivatives under Solvent-free Microwave Irradiation Conditions and their Antimicrobial Evaluation ». In : *Int. J. Pharm. Biomed. Sci* 3 (2012), p. 55-59.

100. Janardan Singh YADAV et YK SRIVASTAVA. « Microwave assisted rapid and efficient synthesis, characterization and pharmacological evaluation of some novel benzimidazole assembled 1, 5-benzodiazepine and 1, 5-benzothiazepine derivatives ». In : *Der Pharmacia Lettre* 3.2 (2011), p. 284-291.

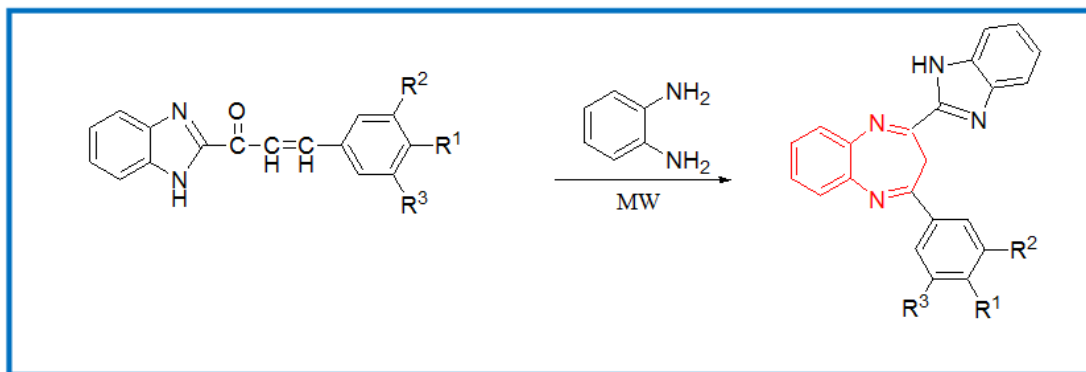


Schéma I.18 – Synthèse de benzimidazole assemblé 1,5-Benzodiazépine.

Cétones

La synthèse de 2,3-di hydro-1H-1,5-Benzodiazépines de diverses cétones a été effectuée en présence d'un catalyseur solide super acide polyvalent, et les rendements obtenus étaient de 80 à 96 %¹⁰¹ (**Schéma I.19**).

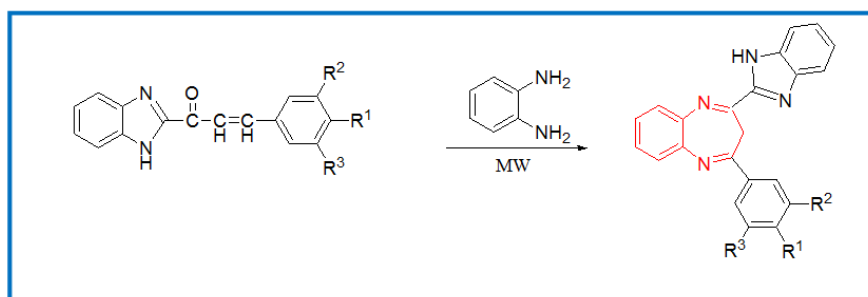


Schéma I.19 – Synthèse de 2,3-di hydro-1H-1,5-Benzodiazépines.

La synthèse de 1,5-Benzodiazépines dérivés de cétones énolisables en utilisant 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine comme catalyseur. Les produits ont été obtenus avec d'excellents rendements à travers les conditions de la réaction simples et douces¹⁰² (**Schéma I.20**).

101. Benjaram M REDDY et Pavani M SREEKANTH. « An efficient synthesis of 1, 5-benzodiazepine derivatives catalyzed by a solid superacid sulfated zirconia ». In : *Tetrahedron letters* 44.24 (2003), p. 4447-4449.

102. Chun-Wei KUO et al. « Efficient TCT-catalyzed synthesis of 1, 5-benzodiazepine derivatives under mild conditions ». In : *Molecules* 13.9 (2008), p. 2313-2325.

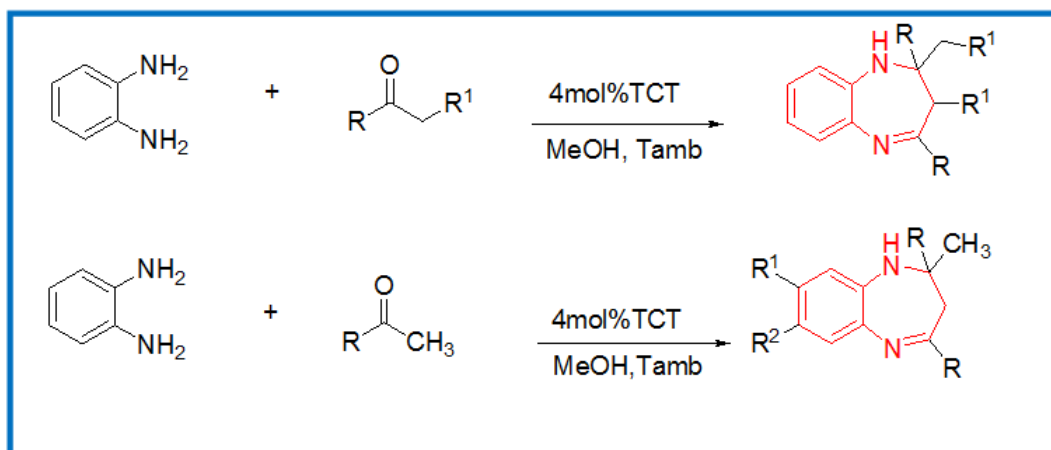


Schéma I.20 – Synthèse de benzodiazépine à partir de diamine.

Pyrones

Une méthode originale de synthèse de la Benzodiazépine a été mise au point en utilisant comme précurseur les dérivés de la pyrone (DHA) et l'OPDA ¹⁰³ (Schéma I.21).

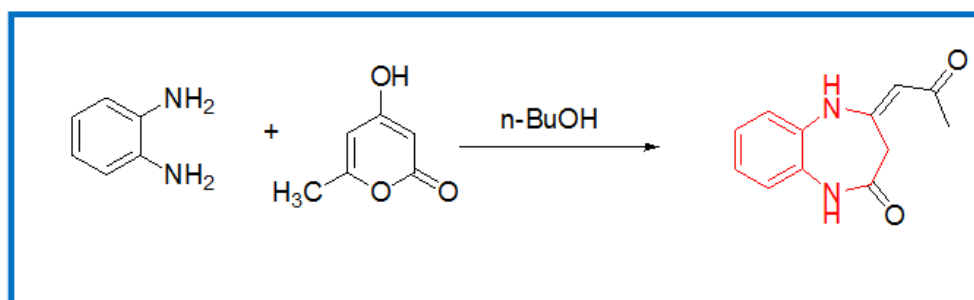


Schéma I.21 – Synthèse de benzodiazépine à partir de Pyrone.

Le développement de nouvelles méthodes de synthèses de BZD a amené à transposer les synthèses en phase solide ¹⁰⁴. Ce qui en fait les premières petites molécules à être synthétisées sur support solide. Depuis cette première synthèse, les méthodologies de synthèses sur support solide de BZD ont évolué avec de nouvelles méthodologies et l'utilisation de différentes résines en utilisant principalement une cyclisation intramoléculaire.

103. Daouda BALLO. « Recherche en série, benzodiazépine, benzimidazole, quinoxaline : Synthèse, réactivité et étude biologique ». In : *Université Mohammed V-Agdal, Faculté des Sciences, Rabat* (2013).

104. Barry A BUNIN et Jonathan A ELLMAN. « A general and expedient method for the solid-phase synthesis of 1, 4-benzodiazepine derivatives ». In : *Journal of the American Chemical Society* 114.27 (1992), p. 10997-10998.

Heshmotollah et coll¹⁰⁵ ont obtenu la 1,5-benzodiazépines par action l'o-phénylène diamine sur la cétone en présence d'un catalyseur, le 2-méthylpyridinium trifluorométhane avec des rendements élevés et des temps de réaction courts. Le catalyseur est réutilisable (**Schéma I.22**).

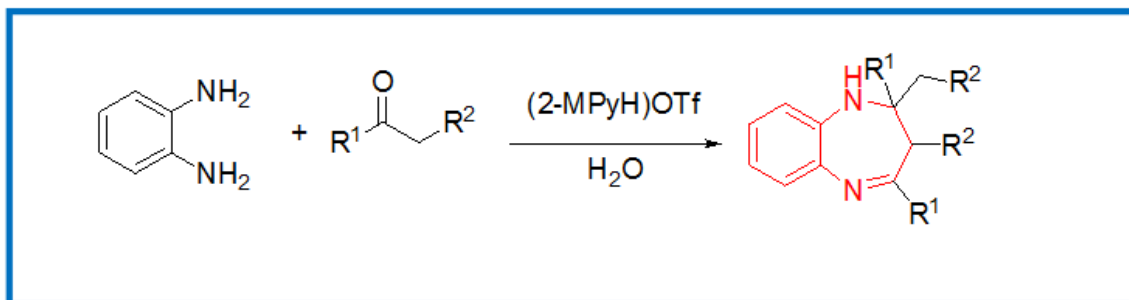


Schéma I.22 – Synthèse de *Heshmotollah*

Wamhoff¹⁰⁶ a préparé la 4-méthyl-3-prolamine-1,5-benzodiazépine-2-one par action de l' α -phénylènediamine sur un l' α -acétylpyridione (**Schéma I.23**).

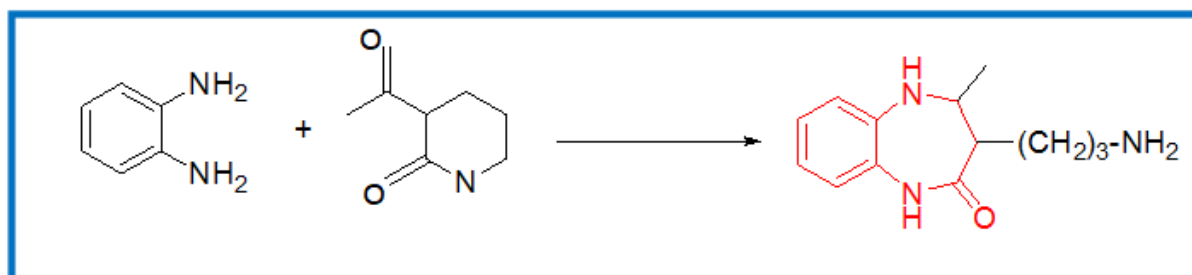


Schéma I.23 – synthèse de *Wamhoff*

Essassi et coll^{107, 108} ont mis au point une méthode originale de synthèse de la Benzodiazépine en utilisant comme précurseur les Dérivés de la γ -pyrone et l'o-phénylènediamine (**Schéma I.24**).

105. Heshmatollah ALINEZHAD et al. « An efficient and green protocol for the synthesis of 1, 5-benzodiazepine and quinoxaline derivatives using protic pyridinium ionic liquid as a catalyst ». In : *World Appl Sci J* 22.12 (2013), p. 1711-1717.

106. Heinrich WAMHOFF, Gerhard SCHORN et Friedhelm KORTE. « Acyl-lacton-Umlagerung, XXXVII. Zur Synthese und Umlagerung bi- und tricyclischer α -Acyl- δ -lactone ». In : *Chemische Berichte* 100.4 (1967), p. 1296-1304.

107. M EL ABBASSI, EM ESSASSI et J FIFANI. « Nouvelle synthèse des benzodiazépines-1, 5 a partir de la γ -pyrone ». In : *Tetrahedron letters* 28.13 (1987), p. 1389-1392.

108. M EL ABBASSI et al. « L'acide dehydracétique, précurseur de synthèse de benzodiazépines ». In : *Tetrahedron letters* 30.50 (1989), p. 7069-7070.

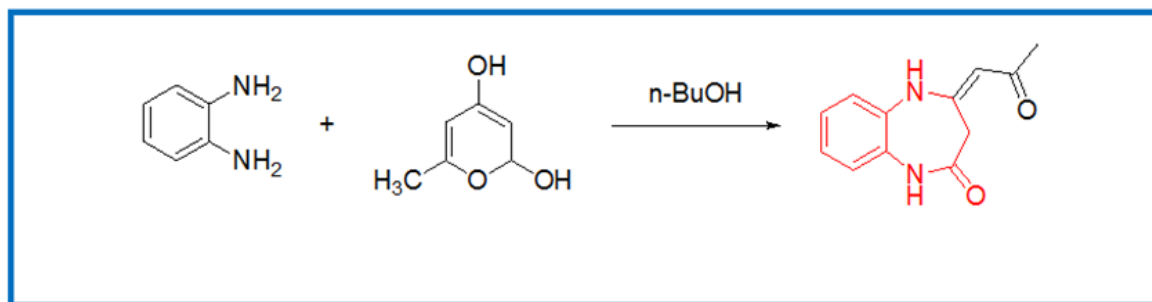


Schéma I.24 – synthèse d'*Essassi et coll.*

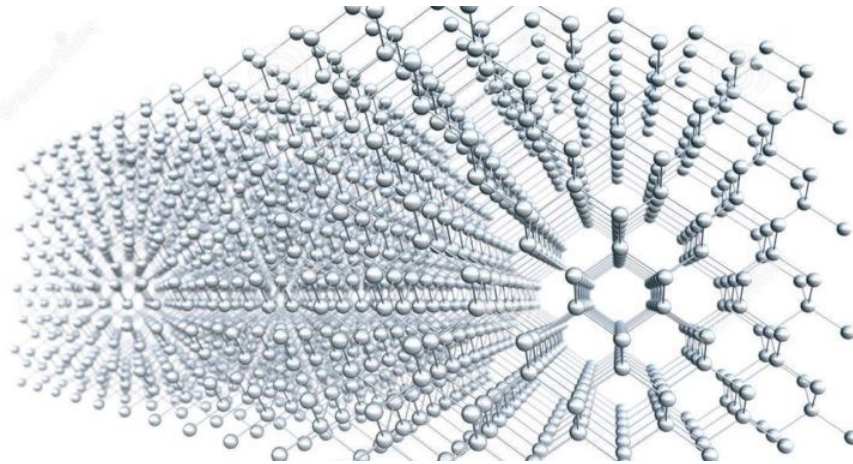
I.4 Conclusion

Dans ce premier chapitre, On a donné des généralité sur l'acide déhydroacétique comme molécule de base dans la synthèse de différentes composés qui possèdent un grand intérêt pour la recherche dans différents domaines. L'analyse des travaux réalisés sur le DHA et ses complexes nous a montré que le comportement de ces groupements fonctionnels, vis-à-vis de la complexation de cations métalliques, est très variée.

Nous avons aussi réalisé une mise au point bibliographique qui présente les différentes voies de synthèses de molécules à intérêt thérapeutique, plus précisément, la synthèse des benzodiazépines (BDZ). Etant donné le peu d'articles relatant les potentialités biologiques et anti oxydante du DHA et ses complexes, ainsi que les BDZ dans la littérature, nous examinons les propriétés biologiques et anti oxydantes dans les chapitres III et IV.

Chapitre II

Synthèse, caractérisation structurale et analytique de complexes dérivés du DHA



II.1 Introduction

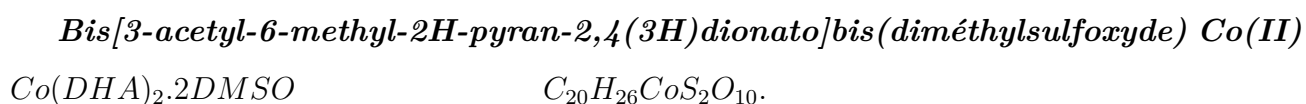
La complexation de deux équivalents de DHA avec différents sels métalliques nous a permis d'obtenir trois complexes à l'état cristallin, par conséquent nous avons pu identifier leurs structures cristallines et la nature des atomes coordinateurs, ainsi que la structure du ligand après la complexation.

Dans ce chapitre, nous présentons et discutons la résolution structurale de trois complexes dérivés de l'acide déhydroacétique ayant donné des monocristaux. Les résultats obtenus nous permettent de confirmer la proposition structurale d'un quatrième complexe qui est étudié par les différentes techniques spectroscopiques classiques.

II.2 Synthèse des complexes

II.2.1 Synthèse du complexe de cobalt

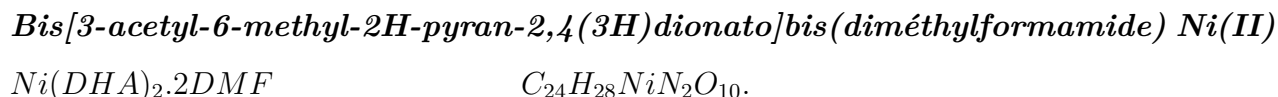
Dans un ballon on a fait réagir une solution de 9.7 mmol d'acide déhydroacétique dans un minimum d'acetone avec 4.85 mmol de $CoCl_2, 6H_2O$ dissous dans un peu d'eau distillé et placé sous agitation à température ambiante, une poudre rose se dépose après 1h 30.¹ Le produit a été recristallisé dans le DMSO pour donner :



II.2.2 Synthèse du complexe de nickel

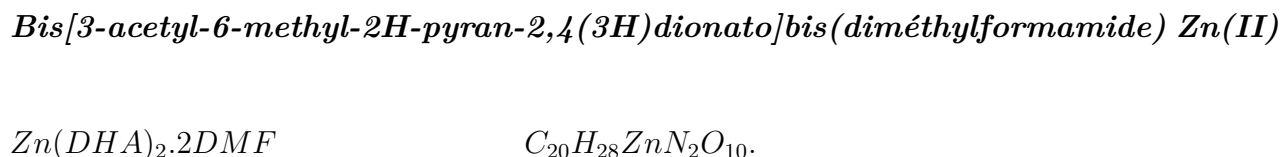
9mmol de DHA est dissoute dans 15 ml d'éthanol ; on lui ajoute 4.5 mmol d'une solution de chlorure de nickel $NiCl_2, 6H_2O$, le tout sous agitation magnétique, le complexe précipite après 4 heures, sous forme de poudre verte. La recristallisation du complexe du nickel s'est faite dans le DMF pour donner :

1. Djedouani AMEL. « Synthèse, Caractérisation Structurale Et Analytique De Complexes Métalliques Et Ligands Dérivés De L'acide Déhydroacétique ». Thèse de doct. Université Ferhat Abbas - Sétif 1, 2007.



II.2.3 Synthèse du complexe de zinc

Ce complexe est obtenu par l'addition de 6.7 mmol d'une solution d'acide déhydroacétique dans 20 ml d'éthanol) à 3.36 mmol d'une solution du sel métallique $Zn(OAc)_2 \cdot 2H_2O$ dans 20 ml d'éthanol sous agitation et à reflux pendant 6 heures. Après refroidissement une poudre blanche se forme. Le produit est recristallisé dans le DMF.



II.2.4 Synthèse du complexe de Manganèse

A une quantité d'acide déhydroacétique préalablement dissoute dans de l'éthanol est rajoutée du $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ dissout également dans un minimum d'éthanol avec une stœchiométrie 2 : 1, la solution est laissée sous agitation après 8h le complexe se dépose sous forme de poudre jaune.

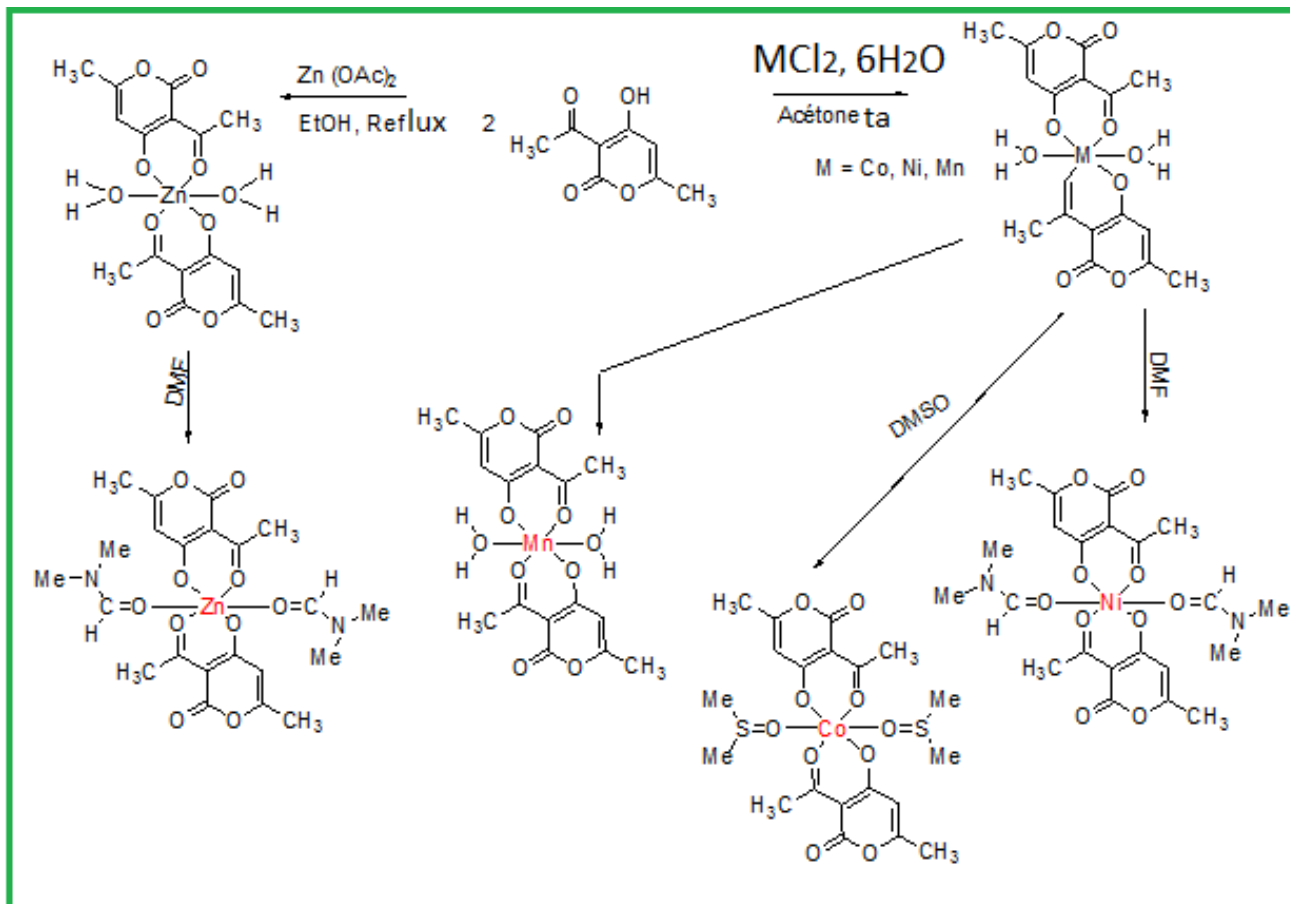


Schéma II.1 – Structure générale des complexes de l'acide déhydroacétique.

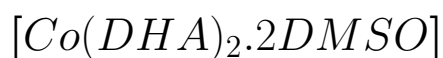
Le (Tableau II.1²) rassemble les données analytiques du DHA et ces complexes.

Tableau II.1 – Données analytiques des complexes dérivés de l'acide déhydroacétique.

| Composé | Couleur | Rdt % | T f (°C) |
|-------------------------|--------------|-------|----------|
| DHA | Jaune claire | - | 109-111 |
| $Co(DHA)_2 \cdot 2H_2O$ | Rose | 81 | 260 |
| $Ni(DHA)_2 \cdot 2H_2O$ | Vert | 72 | 243 |
| $Zn(DHA)_2 \cdot 2H_2O$ | Blanc | 91 | 178 |
| $Mn(DHA)_2 \cdot 2H_2O$ | Jaune | 43 | 270 |

2. Djedouani AMEL. « Synthèse, Caractérisation Structurale Et Analytique De Complexes Métalliques Et Ligands Dérivés De L'acide Déhydroacétique ». Thèse de doct. Université Ferhat Abbas - Sétif 1, 2007.

II.3 Caractérisation par diffraction RX de



Enregistrement des intensités

Les intensités diffractées ont été collectées à 150 K° sur diffractomètre à géométrie GeminiKappa équipé d'un détecteur bidimensionnel de type CCD, muni d'une anticathode en molybdène ($\lambda_{K\alpha} = 0.71073 \text{ \AA}$) et d'un monochromateur à lame de graphite selon le mode de balayage $\omega/2\theta$. dans un domaine angulaire en θ allant de 3.496° à 29.658° sur un monocristal de dimensions $0.61 \times 0.16 \times 0.06 \text{ mm}^3$. Les résultats de l'affinement ainsi que les données cristallographiques et physiques sont rassemblés dans le (Tableau II.1).

Résolution et affinement de la structure

La structure a été résolue par le programme SheLXT-97.³ Le modèle a été affiné avec la version 2018/3 de ShelXL⁴ en utilisant la méthode des moindres carrés, une Fourier différence ne révèle aucun pic significatif ($\Delta\rho_{max} = 0.122e \text{ \AA}^{-3}$). Les atomes d'hydrogène ont été placés par calcul géométrique.

Les positions atomiques, facteurs d'agitation thermique, distances inter-atomiques et angles de liaisons sont donnés dans les Tableaux 1, 2, 3 et 4 de l'(Annexe I). La (Figure II.1) montre la structure cristalline en perspective avec la numérotation des atomes.

3. George M SHELDRIK. « SHELXT—Integrated space-group and crystal-structure determination ». In : *Acta Crystallographica Section A : Foundations and Advances* 71.1 (2015), p. 3-8.

4. George M SHELDRIK. « Crystal structure refinement with SHELXL ». In : *Acta Crystallographica Section C : Structural Chemistry* 71.1 (2015), p. 3-8.

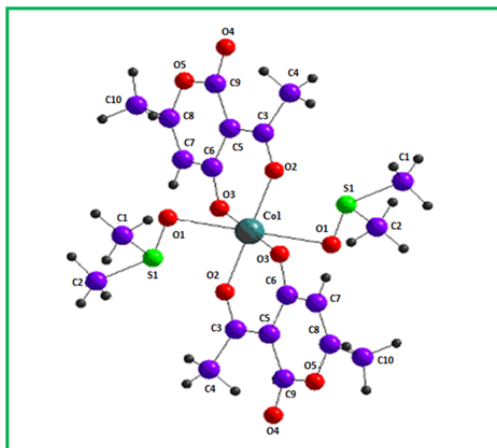


FIGURE II.1 – Vue en perspective du complexe de $[Co(DHA)_2].2DMSO$.

Description structurale

Le complexe de $Co(DHA)_2.2DMSO$ cristallise dans un système monoclinique avec un groupe d'espace $P2_1/netZ = 4$ motifs par maille. La structure est centrosymétrique et constituée de molécules neutres de $[Co(DHA)_2].2DMSO$. Dans ce complexe, le ligand est neutre et bidenté (**Figure II.1**).

Polyèdre de coordination

L'unité asymétrique de ce complexe est constituée d'un cation métallique, d'un ligand organique de l'acide déhydroacétique et d'une molécule de dimethylsulfoxide (DMSO). Le cation métallique présente une géométrie octaédrique de type MO₆, mettant en jeu quatre atomes d'oxygène issue des deux ligands du DHA formant le plan équatorial et deux atomes d'oxygène provenant des molécules du solvant DMSO en position axiale, présentant une bonne régularité et forment des octaèdres légèrement déformés (**Tableau 2 Annexe I**).

La distance $Co-O1 = 2.1427(19)$ Å concorde avec la distance de cette même liaison dans le complexe de cobalt (II) décrits par Castiñeiras et coll⁵, mais les distances, Co-

5. A CASTINEIRAS et al. « Diaqua (1, 8-di-2-pyridyl-3, 6-dithiaoctan-N, S, S', N') cobalt (II)-diperchlorat, $[Co(C_{16}H_{20}N_2S_2)(H_2O)_2](ClO_4)_2$ ». In : *Acta Crystallographica Section C : Crystal Structure Communications* 41.1 (1985), p. 41-43.

Tableau II.2 – Conditions d'enregistrement et résultats d'affinements pour le complexe $[Co(DHA)_2].2DMSO$.

| Données cristallographique et physiques | |
|--|--|
| Composé | DHA, $[Co(DHA)_2.2DMSO]$ |
| Formule brute | $C_{20}H_{26}CoO_{10}S_2$ |
| Masse molaire : $g.mol^{-1}$ | 549.46 |
| Système cristallin | monoclinique |
| Groupe d'espace | P 21/n |
| a ; Å | 11.2686(13) |
| b ; Å | 6.2346(9) |
| c ; Å | 16.412(2) |
| α ; deg | 90 |
| β ; deg | 92.966(11) |
| γ ; deg | 90 |
| V ; Å ³ | 1151.48 |
| Z | 2 |
| Densité calculée ; $g.cm^{-3}$ | 1.585 |
| Dimensions du cristal ; mm^3 | $0.61 \times 0.16 \times 0.06$ |
| Coefficient d'absorption (MoK α) ; mm^{-1} | 0.981 |
| Conditions d'enregistrement des intensités diffractées | |
| Radiation | MoK α |
| Monochromateur | Graphite |
| Mode de balayage | ω scans |
| Limites des h k l | $-15 \leq h \leq 14$ $-7 \leq k \leq 8$ $-22 \leq l \leq 20$ |
| limites d'enregistrement en θ ; deg | 3.496 / 29.658 |
| Condition pour les affinements structuraux | |
| Nombre de réflexions enregistrées | 2442 |
| Avec $I > 3\sigma(I)$ | |
| Nombre de variables | 155 |
| R | 0.0515 |
| Rw | 0.1253 |
| Premier pic de densité électronique | 0.122 et -1.171 |
| Résiduelle, $e^{-\text{Å}^{-3}}$ | |
| G.O.F | 1.086 |

O2= 2.0506(17), et Co-O3= 2.0080(19) Å respectivement, sont courtes. Cependant toutes les dimensions sont en bonne accord avec les valeurs de complexes de cobalt décrit par Florencio, et coll⁶. Il s'agit des complexes de Co(II) benzène sulphonate-ethanol et Co(II) benzène sulphonate hexahydraté.

Géométrie du complexe

Les deux cycles du DHA, avec le cobalt, forment un seul plan qui est considéré comme le plan principal de la molécule. Les deux cycles de l'acide déhydroacétique présentent une légère déviation par rapport à ce plan et apparaissent de part et d'autre de celui-ci formant un angle de 1.40° avec le plan du complexe.

Réseau cristallin

L'organisation géométrique de la structure de $Co(DHA)_2 \cdot 2DMSO$ peut être décrite par un enchaînement ordonné selon les trois directions de l'espace.

La représentation en perspective du contenu de la maille montre la disposition dans l'espace des molécules occupant des positions spéciales (**Figure II.2**)

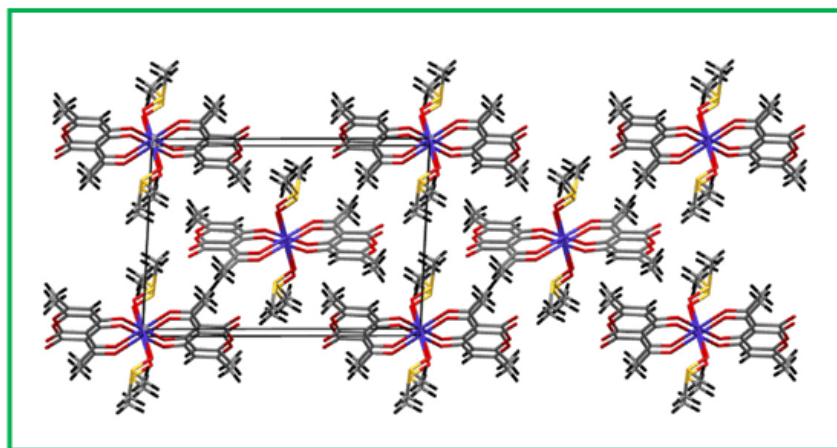


FIGURE II.2 – Vue en Perspective du contenu de la maille suivant l'axe b.

La (**Figure II.2**) montre une légère perspective selon le plan (a,c), on distingue un agencement de l'entité $Co(DHA)_2 \cdot 2DMSO$ selon deux couches distinctes situées respec-

6. Jaume CASABÓ et al. « Transition-metal complexes with dehydroacetic acid : crystal structure of bis (3-acetyl-4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone) cobalt (II) bis (dimethylformamide) ». In : *Polyhedron* 6.6 (1987), p. 1235-1238.

tivement à $y = 0$ et $y = 1/2$, parallèles au plan (a,c), qui se déploient en zigzag le long de l'axe b; ces dernières se déduisent l'une de l'autre par les deux opérations de symétrie relativement aux éléments de symétrie du groupe d'espace $P 2_1/n$.

La projection sur le plan (010) (**Figure II.3**) montre la distribution des octaèdres des entités $[Co(DHA)_2].2DMSO$, cette disposition est assurée par des liaisons hydrogène intramoléculaires reliant ces entités.

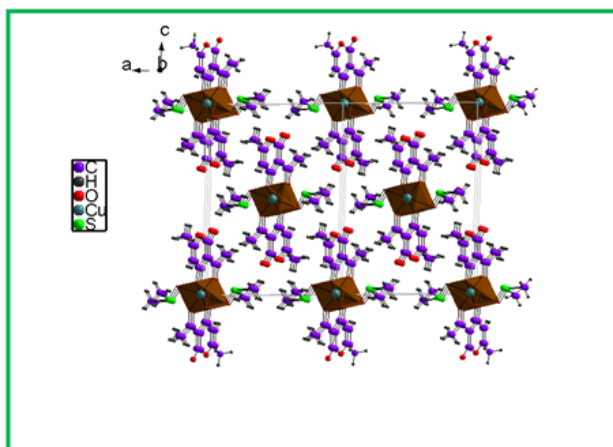


FIGURE II.3 – Projection de $[Co(DHA)_2].2DMSO$ sur le plan (010).

Les molécules de diméthylsulfoxyde (DMSO) servent de liens entre les molécules de $Co(DHA)_2.2DMSO$ à travers trois liaisons hydrogène afin d'assurer la cohésion du cristal, en formant un enchaînement tridimensionnel. Les paramètres de ces liaisons sont présentés dans le (**Tableau II.3**).

Tableau II.3 – paramètres des liaisons hydrogènes dans $[Co(DHA)_2].2DMSO$.

| D-H...A | d(D-H) | d(H...A) | d(D-A) | D-H-A |
|-------------|--------|----------|----------|-------|
| C1-H1A...O3 | 0.96 | 2.48 | 3.387(4) | 160 |
| C1-H1B...O4 | 0.96 | 2.59 | 3.334(4) | 145 |
| C2-H2B...O4 | 0.96 | 2.39 | 3.328(4) | 144 |

* d =distance entre l'atome donneur et l'hydrogène.

II.4 Etude cristallographique du complexe

$\text{Ni}(\text{DHA})_2 \cdot 2\text{DMF}$

Le (Tableau II.4) regroupe les données cristallographiques et les conditions d'enregistrement et d'affinement pour le complexe de nickel. Les atomes non hydrogénés sont affinés d'une façon anisotrope. Les positions des atomes d'hydrogène ont été placés par calcul géométrique, et ils sont affinés d'une façon isotrope. Les positions atomiques avec leur coefficients d'agitation thermiques, les facteurs d'agitation thermiques anisotropes, les distances inter-atomiques, et les angles de liaisons sont regroupés dans l'Annexe II.

La structure cristalline en perspective avec la numérotation des atomes est présentée par la (Figure II.4).

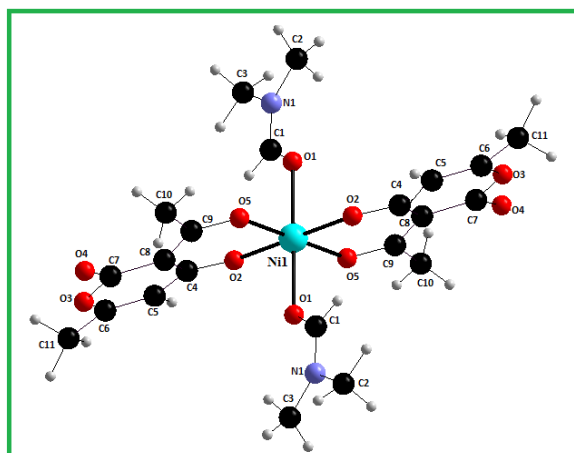


FIGURE II.4 – Vue en perspective du complexe de $[\text{Ni}(\text{DHA})_2] \cdot 2\text{DMF}$.

Description structurale

Le complexe de $[\text{Ni}(\text{DHA})_2] \cdot 2\text{DMF}$, cristallise dans un système triclinique avec un groupe d'espace P-1 et un nombre de motif par maille $Z = 2$. Comme dans les autres complexes, la structure est constituée de molécules neutres centrosymétriques, avec l'atome de nickel qui se situe au centre de symétrie.

Tableau II.4 – Conditions d’enregistrement et résultats des affinements pour le complexe $[Ni(DHA)_2].2DMF$.

| Données cristallographique et physiques | |
|--|--|
| Composé | DHA, $[Ni(DHA)_2].2DMF$ |
| Formule brute | $C_{22}H_{28}N_2NiO_{10}$ |
| Masse molaire : $g.mol^{-1}$ | 539.17 |
| Système cristallin | Triclinique |
| Groupe d’espace | P -1 |
| a ; Å | 7.764(2) |
| b ; Å | 8.227(2) |
| c ; Å | 9.549(2) |
| α ; deg | 85.03(2) |
| β ; deg | 85.99(2) |
| γ ; deg | 78.23(2) |
| V ; Å ³ | 594.0(2) |
| Z | 2 |
| Densité calculée ; $g.cm^{-3}$ | 1.507 |
| Dimensions du cristal ; mm^3 | $0.33 \times 0.23 \times 0.15$ |
| Coefficient d’absorption (MoK α) ; mm^{-1} | 0.876 |
| Conditions d’enregistrement des intensités diffractées | |
| Radiation | MoK α |
| Monochromateur | Graphite |
| Mode de balayage | ω scans |
| Limites des h k l | $-9 \leq h \leq 9$ $-10 \leq k \leq 10$ $-11 \leq l \leq 11$ |
| limites d’enregistrement en Θ ; deg | 2.14 /26.08 |
| Condition pour les affinements structuraux | |
| Nombre de réflexions enregistrées | 2167 |
| Avec $I > 3\sigma(I)$ | |
| Nombre de variables | 217 |
| R | 0.0515 |
| Rw | 0.1211 |
| Premier pic de densité électronique | 0.508 et -0.696 |
| Résiduelle, $e^{-\text{Å}^{-3}}$ | |
| G.O.F | 1.049 |

Polyèdre de coordination

La complexation a mis en évidence un octaèdre de coordination de type MO_6 un peu déformé dont les liens entre les ligands et le centre coordinateur Ni (II) sont réalisés à travers l'oxygène phénolique, et l'oxygène du groupement acétyle de chaque ligand et les deux oxygènes du DMF. Cette géométrie est confirmée par les valeurs des angles de valence O(1)-Ni-O(5) et O(2)-Ni-O(1) qui sont égales à 88.73(12) et 87.63(11) respectivement. Le ligand est déprotoné.

Le même type de complexe qui possède le même environnement et qui cristallise avec des molécules de DMF est observé dans le *Bis(N, N-dimethylformamide- κ O)bis[1-phenyl-3-methyl-4-benzoyl-1H-pyrazol-5(4H)-onato- κ 2O, O']nickel (II)*.⁷

Une étude comparative des distances de liaisons de Ni-O, des deux composés, montre que les longueurs des distances des positions axiales du complexe $[Ni(DHA)_2] \cdot 2DMF$ sont légèrement inférieures, par contre les distances des liaisons des positions équatoriales sont supérieures.

Géométrie du complexe

Comme c'est déjà décrit pour les autres complexes, les cycles de l'acide déhydroacétique et l'atome de nickel forment le plan principal de la molécule. La légère déviation à ce plan qui apparaît de part et d'autre de celui-ci forme un angle de 14.56° avec le plan du complexe.

Réseau cristallin

Dans la structure cristalline les molécules sont empilées les unes sur les autres le long de l'axe c de façon à ce que leurs plans principaux soient parallèles et que les atomes de nickel occupent les nœuds de la maille.

7. X-P SHEN et A-H YUAN. « Bis (N, N-dimethylformamide- κ O) bis [1-phenyl-3-methyl-4-benzoyl-1H-pyrazol-5 (4H)-onato- κ 2O, O'] nickel (II) ». In : *Acta Crystallographica Section E : Structure Reports Online* 60.9 (2004), p. m1228-m1230.

La projection sur le plan (a,b) (**Figure II.5**), montre la distribution des octaèdres de l'entité $[Ni(DHA)_2].2DMF$ le long de l'axe a, cette disposition est assurée par des liaisons hydrogène intramoléculaires.

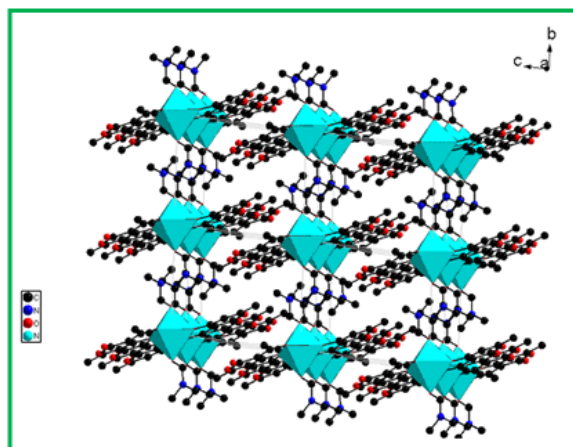


FIGURE II.5 – Enchaînement des octaèdres NiO_6 dans la structure de $[Ni(DHA)_2].2DMF$.

les molécules de $[Ni(DHA)_2].2DMF$ sont connectées le long de l'axe c (**Figure II.6**) par une liaison hydrogène entre l'hydrogène du groupement méthyle du (DMF) et l'oxygène du pyrone, donnant ainsi naissance à des files infinies parallèles à l'axe c. Les paramètres de cette liaison sont présentés dans le (**Tableau II.5**).

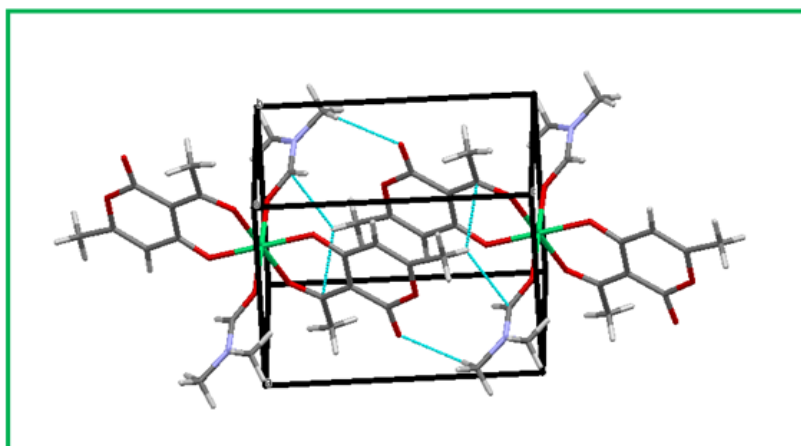


FIGURE II.6 – Répartition des liaisons hydrogène dans le réseau cristallin de $[Ni(DHA)_2].2DMF$.

Tableau II.5 – paramètres des liaisons hydrogène dans $[Ni(DHA)_2].2DMF$.

| D-H...A | d(D-H) | d(H...A) | d(D-A) | D-H-A |
|-------------|--------|----------|----------|-------|
| C1-H1...O2 | 0.93 | 2.43 | 3.004(4) | 120 |
| C2-H2A...O4 | 0.96 | 2.59 | 3.405(4) | 143 |
| C3-H3A...O1 | 0.96 | 2.40 | 2.799(4) | 105 |

II.5 Étude structurale du complexe

$Zn(DHA)_2.2DMF$

Le (Tableau II.6) regroupe les données cristallographiques et les conditions d'enregistrement et d'affinement pour le complexe de Zinc. Les atomes non hydrogène sont affinés d'une façon anisotrope. Les positions des atomes d'hydrogène ont été placés par calcul géométrique, et ils sont affinés d'une façon isotrope. Les positions atomiques avec leurs coefficients d'agitation thermique, les facteurs d'agitation thermiques anisotropes, les distances inter-atomiques, et les angles de liaisons sont regroupés dans l'Annexe III. La structure cristalline en perspective avec la numérotation des atomes est présentée par la (Figure II.7).

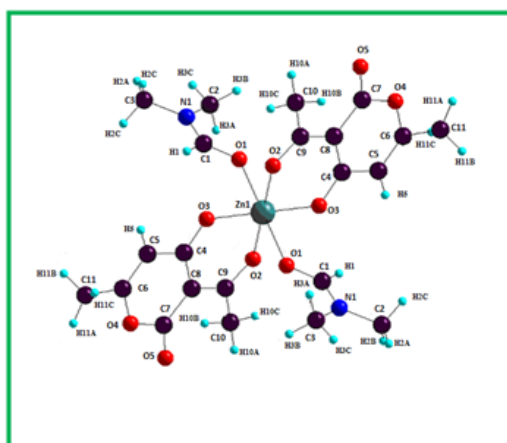


FIGURE II.7 – Vue en perspective du complexe $[Zn(DHA)_2].2DMF$.

Tableau II.6 – Conditions d'enregistrement et résultats des affinements pour le complexe $[Zn(DHA)_2].2DMF$.

| Données cristallographique et physiques | |
|--|--|
| Composé | $[Zn(DHA)_2].2DMF$ |
| Formule brute | $C_{20}H_{28}N_2ZnO_{10}$ |
| Masse molaire : $g.mol^{-1}$ | 545.83 |
| Système cristallin | Triclinique |
| Groupe d'espace | P -1 |
| a ; Å | 7.6695(7) |
| b ; Å | 8.1780(9) |
| c ; Å | 9.5238(9) |
| α ; deg | 84.416(8) |
| β ; deg | 86.543(7) |
| γ ; deg | 77.522(8) |
| V ; Å ³ | 3579.99(10) |
| Z | 1 |
| Densité calculée ; $g.cm^{-3}$ | 1.563 |
| Dimensions du cristal ; mm^3 | $0.60 \times 0.47 \times 0.20$ |
| Coefficient d'absorption (Mo $K\alpha$) ; mm^{-1} | 1.120 |
| Conditions d'enregistrement des intensités diffractées | |
| Radiation | Mo $K\alpha$ |
| Monochromateur | Graphite |
| Mode de balayage | ω scan |
| Limites des h k l | $-10 \leq h \leq 10$ $-11 \leq k \leq 10$ $-13 \leq l \leq 13$ |
| limites d'enregistrement en Θ ; deg | 3.199 /29.689 |
| Condition pour les affinements structuraux | |
| Nombre de réflexions enregistrées | 2735 |
| Avec $I > 3\sigma(I)$ | |
| Nombre de variables | 165 |
| R | 0.0392 |
| Rw | 0.0924 |
| Premier pic de densité électronique | 0.614/-0.860 |
| Résiduelle, $e\text{-}\text{Å}^{-3}$ | |
| G.O.F | 1.121 |

Description structurale

Le complexe de $[Zn(DHA)_2].2DMF$, cristallise dans un système triclinique avec un groupe d'espace P-1 et un nombre de motif par maille $Z = 2$. Comme dans les autres complexes, la structure est constituée de molécules neutres centrosymétriques, avec l'atome de zinc qui se situe au centre de symétrie.

Polyèdre de coordination

Un octaèdre de coordination de type MO_6 déformé dont les liens entre les deux ligands et le centre coordinateur Zn(II) sont réalisés à travers l'oxygène phénolique, et l'oxygène du groupement acétyle de chaque ligand et les deux oxygènes du DMF. Cette géométrie est confirmée par les valeurs des angles de valence O(2)-Zn-O(3), et O(2)- Zn -O(1) et O(2)-Zn-O(1) qui sont égales à 86.37(6), 88.44(6) et 88.78(6) respectivement. Le ligand est déprotoné et s'engage d'une manière bidentate.

Géométrie du complexe

Comme c'est déjà décrit pour les autres complexes, les cycles de l'acide déhydroacétique et l'atome de zinc forment le plan principal de la molécule.

Réseau cristallin

Les molécules de $[Zn(DHA)_2].2DMF$ sont empilées de telle sorte que leurs plans principaux soient parallèles les uns par rapport aux autres, selon la direction de l'axe b à $c = 1$, de façon à ce que les atomes de zinc occupent les milieux des faces (a,b) (**Figures II.8 et II.9**).

Les molécules de $[Zn(DHA)_2].2DMF$ sont connectées le long de l'axe a et l'axe b par trois liaisons hydrogène de type C-H...O (**Tableau II.7**), donnant ainsi naissance à un enchainement tridimensionnel.

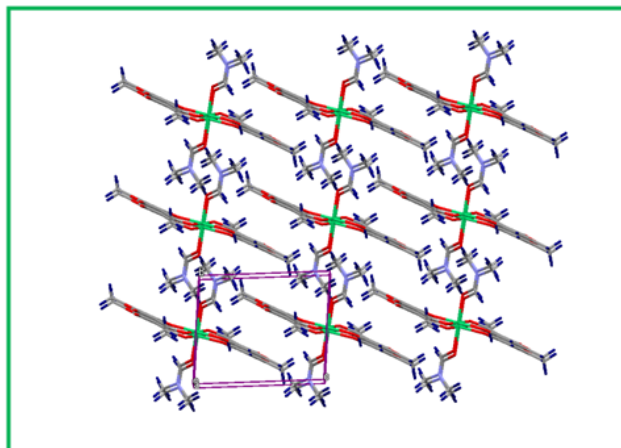


FIGURE II.8 – Figure représentant (1) La projection de $[Zn(DHA)_2].2DMF$ sur le plan (100).

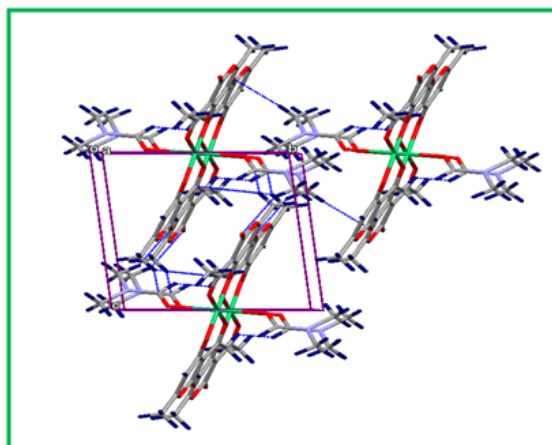


FIGURE II.9 – Les liaisons hydrogène entre les entités $[Zn(DHA)_2].2DMF$.

Tableau II.7 – paramètres des liaisons hydrogène dans $[Zn(DHA)_2].2DMF$.

| D-H...A | d(D-H) | d(H...A) | d(D-A) | D-H-A |
|-------------|--------|----------|----------|-------|
| C1-H1...O2 | 0.93 | 2.47 | 3.063(3) | 121 |
| C2-H2A...O4 | 0.96 | 2.50 | 3.430(3) | 146 |
| C3-H3A...O1 | 0.96 | 2.50 | 2.795(3) | 105 |

II.6 Étude spectrale des complexes

Le (Tableau II.8) regroupe les différentes valeurs des nombres d'ondes des vibrations principales pour l'acide déshydroacétique et ses complexes, dans le domaine de l'infrarouge

proche, et l'UV-Visible.

Tableau II.8 – Nombres d'ondes (cm^{-1}) des bandes d'absorptions dans l'IR et UV-Vis du DHA et ces complexes.

| Composé | $\nu(\text{O-H})$ | $\nu(\text{C=O})$ acetyl | $\nu(\text{C-O-C})$ | C=O, lactones | O-M | UV/Vis λ_{max} (nm) |
|--|-------------------|-----------------------------|---------------------|------------------|-----|--------------------------------|
| DHA | 3125 | 1680 | 1020 | 1734-1581 | — | 313-263-252 |
| <i>Co(DHA)₂.2H₂O</i> | — | 1695 | 1005 | 1730 | 595 | 251-267-296 |
| <i>Ni(DHA)₂.2H₂O</i> | — | 1683 | 1025 | 1767 | 600 | 253-264-296 |
| <i>Zn(DHA)₂.2H₂O</i> | — | 1675 | 1000 | 1770 | 620 | 251-267-285 |
| <i>Mn(DHA)₂.2H₂O</i> | — | 1697 | 1010 | 1693 | 575 | 275-300 |

Étude des spectres IR

Les bandes qui apparaissent à 1697 cm^{-1} dans le spectre infrarouge du complexe Mn(II) corresponde à la vibration $\nu(\text{C}=\text{O})$, a subi un déplacement vers les plus faibles nombres d'ondes.

Ce déplacement implique la participation du doublet de l'oxygène du carbonyle du groupement acétyle à la coordination du métal.

La bande qui apparaît vers 3125 cm^{-1} dans le spectre du ligand et qui est attribuée à la vibration de la liaison O – H a disparu dans le spectre IR des complexe.

Tous les complexes ont montré une bande dans la région $620\text{-}575\text{ cm}^{-1}$ caractéristique de la vibration $\nu(\text{M-O})$ ^{8, 9}, cette bande est importante car elle indique la présence du métal, formant un cycle, la bande entre $1734\text{-}1581\text{ cm}^{-1}$ présente dans les spectres des complexes est une caractéristique probable de ce cycle¹⁰ (**Figure II.10**).

8. M.P. SWAMI et al. « Prog. Nat. Acad. Sci ». In : 3.176 (**1980**).

9. Gilles BOUET. « METALLIC COMPLEXES OF FURAN OXIMES III COMPLEXES OF β -FURFURALDOXIME WITH CADMIUM (II) HALIDES ». In : *Journal of coordination chemistry* 15.2 (**1986**), p. 131-135.

10. Manfred HESSE et al. *Méthodes spectroscopiques pour la chimie organique*. Masson, **1997**.

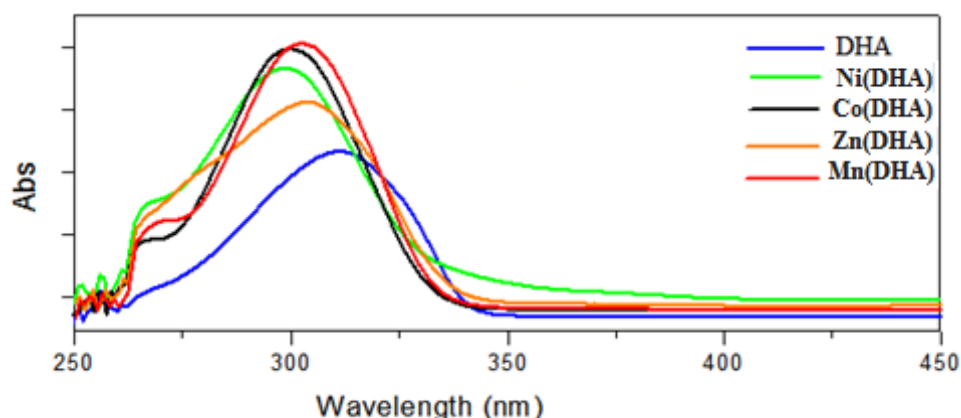


FIGURE II.10 – Spectre UV-Visible dans le DMF.

Études des spectres UV/Vis

Les spectres d'absorption électronique du ligand et de ses complexes dans une solution de DMSO ont été enregistrés dans la gamme de longueurs d'onde 200–800 nm, les données sont présentées dans le (**Tableau II.9**).

Le spectre du ligand présente une forte bande absorption à $\lambda_{max} = 313$ et 2 larges bandes à environ 263 nm et 252 nm attribuables aux transitions $\pi - \pi^*$

La bande d'absorption nette du ligand à $\lambda_{max} = 313$ nm a été déplacée vers une longueur d'onde inférieure dans les trois complexes Co ($\lambda_{max} = 296$ nm), Ni ($\lambda_{max} = 296$ nm) et Zn ($\lambda_{max} = 285$ nm), Mn ($\lambda_{max} = 300$ nm), respectivement.¹¹ La bande valeur (II) a été légèrement décalée vers des longueurs d'onde supérieure, 263 → 267-264-267 nm, respectivement, indiquant un décalage bathochrome. Cette luxation montre bien que le ligand avait été coordonné avec M^{2+} .¹²

11. Thibault FOGERON. « Synthèse de complexes inspirés des formiate déshydrogénases à Mo/W : application à la catalyse moléculaire de la réduction du CO₂ ». Thèse de doct. Sorbonne université, **2018**.

12. Nicolas MAINDRON. « Synthèse de sondes lanthanidiques luminescentes : applications au marquage covalent et à la détection de biomolécules. » Thèse de doct. **2012**.

Tableau II.9 – longueur d’onde du spectre UV-Vis des quatre complexes

| | DHA-Ni | DHA-Co | DHA-Zn | DHA |
|----------------|--------|--------|--------|-----|
| | 253 | 251 | 251 | 313 |
| λ (nm) | 264 | 267 | 267 | 263 |
| | 296 | 296 | 285 | 252 |

Propositions structurales

A la suite de l’étude des analyses spectroscopiques, on a pu proposer une structure du complexe de manganèse (II), le métal est en coordinance six, il adopte probablement une géométrie octaédrique, la coordination se fait à travers l’oxygène de l’hydroxyle déprotoné et le carbonyle du groupement acétyle avec deux molécules d’eau occupant les positions axiales.

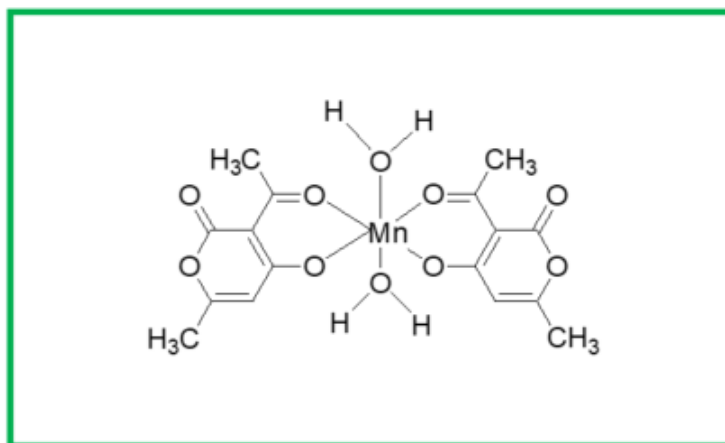


FIGURE II.11 – Structure proposée pour le complexe de $Mn(DHA)_2 \cdot 2H_2O$.

II.7 Conclusion

Dans ce deuxième chapitre nous avons présenté la synthèse des complexes dérivés de l’acide déhydroacétique, ainsi que leurs caractérisation.

D’un sel à un autre, les données analytiques montre que l’ensemble des complexes synthétisés ne diffèrent pratiquement pas, ils sont tous mononucléaires de type $ML_2 \cdot 2H_2O$.

Dans le diméthylformamide (DMF), la cristallisation des complexes de nickel (II) et Zinc (II) donne respectivement les complexes $Zn(DHA)_2 \cdot 2DMF$ et $Ni(DHA)_2 \cdot 2DMF$.

La cristallisation du complexe de cobalt (II) dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) donne lieu aux monocristaux $Co(DHA)_2 \cdot 2DMSO$.

Leurs structures ont été déterminée par les rayons X, les descriptions structurales des complexes ont montré des points communs au niveau du comportement du ligand.

- Dans tous les complexes le ligand est bidenté et déprotoné au niveau de l'oxygène de la fonction hydroxyle, et il garde sa configuration initiale,
- La coordination entre le métal se fait toujours à travers l'oxygène de l'hydroxyle et le carbonyle du groupement acétyle.

Les complexes de $Ni(DHA)_2 \cdot 2DMF$ et $Zn(DHA)_2 \cdot 2DMF$, présentent le même groupe d'espace P-1, ainsi que la même description structurale. La masse du métal à un effet sur les paramètres des mailles. Cet effet est montré clairement par la différence notée au niveau du volume des deux mailles qui passe de 594.0(2) pour le complexe de nickel à 579.99(10) Å³ pour le complexe de zinc.

Les résultats de l'étude structurale à partir des spectres IR nous ont permis de déterminer la structure du complexe de manganèse (II).

Chapitre III

Activité Biologique



III.1 Criblage biologique des complexes organo-métalliques dérivés du DHA

III.1.1 Introduction

Ces dernières années, certains agents pathogènes ont développé des phénomènes de résistance aux médicaments actuels induisant ainsi l'apparition de nouvelles maladies. La présence de bactéries pathogènes (microbes nuisibles) peut affecter de nombreuses substances et autres denrées alimentaires nécessaires à l'alimentation des êtres vivants. De ce fait la lutte contre ces prédateurs constitue une nécessité impérieuse pour protéger notre santé et notre bien être, le développement de nouvelles méthodologies de synthèse et la recherche de molécules nouvelles à activité thérapeutique potentielle constitue une préoccupation majeure et permanente pour de nombreux chercheurs^{1,2}.

Dans ce chapitre nous nous sommes intéressés à l'activité du DHA et de ses complexes synthétisés.

III.1.2 Techniques d'études *in vitro* du pouvoir antimicrobien

Diverses méthodologies sont utilisées pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne. L'insolubilité de certains composés dans l'eau et d'une manière générale dans les milieux aqueux largement utilisés en microbiologie, est une explication de la variété des techniques. Selon la souche microbienne, les composés testés et l'application choisie, divers milieux de culture peuvent être mis en œuvre.

Les différents protocoles sont classés selon le milieu dans lequel se fait la diffusion du composé, ce milieu peut être liquide, solide ou gazeux^{3,4}. Ils peuvent également être

-
1. R DI SANTO et al. *Arkivok*, 2004, 5, 181.(b) *Velker*. **2004**.
 2. Jorg VELKER et al. « The novel sequence Diels-Alder reaction/Ireland-Claisen rearrangement applied to acyclic dienophiles : New insights into the selectivity of the Ireland-Claisen rearrangement ». In : *Synlett* 1999.Sup. 1 (**1999**), p. 925-929.
 3. Laura L ZAIKA. « Spices and herbs : their antimicrobial activity and its determination 1 ». In : *Journal of Food Safety* 9.2 (**1988**), p. 97-118.
 4. Martha D SMITH et Patricia L NAVILLIAT. « A new protocol for antimicrobial testing of oils ». In : *International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants* 426. **1995**, p. 31-38.

classés selon la nature du contact avec le germe : diffusion sur disque, solution alcoolique ou dispersion dans une émulsion^{5,6}.

III.1.3 Technique d'étude sur milieu solide

La technique d'étude par diffusion sur disque en milieu solide et une technique très utilisée en bactériologie médicale est appelée antibiogramme ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale. Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité déterminée de produit à tester (**Figure III.1**).

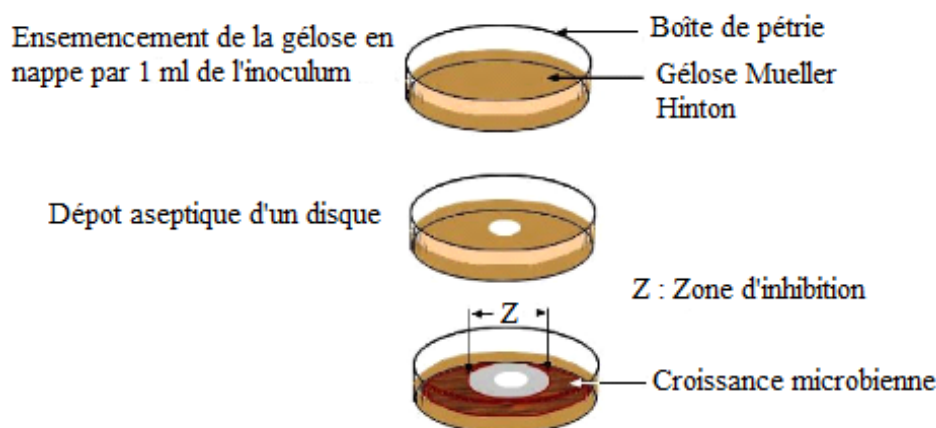


FIGURE III.1 – Illustration de la méthode de diffusion sur boîte Pétri.

Cette technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester à différentes concentrations. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension (inoculum) de la bactérie à étudier. Chaque antibiotique diffuse, à partir du disque, au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où

5. CM MANN et JL MARKHAM. « A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils ». In : *Journal of applied microbiology* 84.4 (1998), p. 538-544.

6. Mouhssen LAHLOU. « Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils ». In : *Phytotherapy Research : An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 18.6 (2004), p. 435-448.

elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition^{7, 8}. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante⁹.

Une variation de cette technique a été rapportée par S. M. Tharib et Coll¹⁰. C'est la technique que nous avons utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne de nos produits. Cette technique permet une bonne estimation du pouvoir antimicrobien, surtout pour des produits présentant une bonne diffusion en milieu solide.

Nous décrirons dans ce qui suit les techniques d'études *in vitro* que nous avons utilisées pour la détermination du pouvoir antimicrobien des composés préparés par la mesure de leur zones d'inhibition et par la détermination de leur concentration minimale inhibitrice (MIC). Les résultats auxquels nous sommes parvenus dans ce domaine seront exposés et suivis de commentaires.

III.1.4 Les micro-organismes (Bactéries)

Nous avons testé les composés synthétisés sur quatre souches référencées de bactéries différentes afin de donner une vision large sur l'étendu du champ d'activité biologique de nos produits complexes de Co, Zn, Ni, Mn en utilisant le protocole.¹¹ Les souches utilisées sont les suivantes :

- ***Staphylococcus aureus***, ou *S. aureus* est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*. Elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées, et dans certains cas extrêmes, de septicémie. L'espèce *S. aureus* est commensale de l'homme et se révèle être pathogène et opportuniste lorsque qu'elle se retrouve au

7. R. CRUICKSHANK et al. « Medicinal microbiology, vol. II ». In : *Churchill Livingstone, London* 196 (1975).

8. AH COLLINS et PM LYNE. « Microbiological Methods ». In : *Laboratory Technique Series. University Park Press, Baltimore pp34-37. count. In : Fidanza F, ed. Nutritional status assessment. London : Chapman and Hall (1976)*, p. 428-9.

9. JL AVRIL et JL FAUCHÈRE. « Bactériologie générale et médicale ». In : *Ellipses (2002)*.

10. S.M. THARIB, S. O. GNAN et G. B. A. VEITCH. « Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia campestris* ». In : *Journal of Food Protection* 46 (1983), p. 185-7.

11. MARIR AMEL. « Synthèse et réactivité de dérivés de 1-méthyl-4(5)-nitroimidazole ». Mém. de mast. Algérie : Université de Constantine 1, 2012.

mauvais endroit. *S. aureus* possède des pouvoirs pathogènes dont notamment un pouvoir invasif, une grande capacité à se multiplier et à se diffuser dans l'organisme, et un pouvoir toxique avec la capacité d'élaboration d'une toxine par la bactérie qui exerce à la fois des propriétés toxiques et chez l'hôte. *Staphylococcus aureus* est un bacille à gram positif appartenant à la famille des *Staphylococcus*.

- ***Escherichia coli***, ou *E. coli* autrement appelé colibacille. C'est une bactérie intestinale présente chez les mammifères et très commune chez l'être humain. Découverte en 1885 par Théodore Escherich dans des selles de nourrissons, c'est un coliforme fécal généralement commensal. *E. coli* est un bacille à gram négatif de la famille des entérobactéries. C'est un hôte commun de la microflore commensale intestinale de l'Homme et des animaux à sang chaud. Cependant, certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes.
- ***Klebsiella pneumoniae***, ou *klebsielles* sont des bacilles à gram négatif immobiles, souvent capsulés. *Klebsiella pneumoniae* est responsable des infections respiratoires (pneumonies, abcès pulmonaires, pleurésies), et des infections intestinales. Elle est également responsable d'infections nosocomiales. La capsule confère à *Klebsiella pneumoniae* un fort pouvoir invasif et protège les bactéries de la phagocytose.
- ***Pseudomonas aeruginosa***, autrement connue sous le nom de bacille pyocyanique, est une bactérie du genre *Pseudomonas*. Elle est pathogène et fréquemment rencontrée dans les infections nosocomiales. Les formes de pathologie qu'elle engendre sont diverses : infection de l'œil, des plaies, des brûlures, des urines, des poumons... Le *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie à gram négatif très robuste, naturellement très résistante aux antibiotiques et s'adaptant rapidement aux attaques médicamenteuses.
- ***Salmonella typhimurium***, ou bacille d'Eberth, est une entérobactérie du genre *Salmonella*. Ce bacille à Gram négatif, mobile et à forte contagiosité est responsable de gastro-entérites, de toxi-infections alimentaires et des fièvres typhoïdes. *Salmonella typhimurium* est actuellement considéré comme le sérotype le plus important sur le plan épidémiologique dans les salmonelloses humaines. Cette bactérie a développé, au cours des dernières années, une résistance stable contre les anti-

biotiques et antimicrobiens les plus courants : l'ampicilline, le chloramphénicol, la streptomycine, les sulfamides et la tétracycline.

Préparation de l'inoculum

Les composés synthétisés (DHA et dérivés) ont été criblés *in vitro* pour évaluer leur activité antibactérienne contre quatre souches référentielles, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 Gram-négative, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Gram-positive. en utilisant la méthode de diffusion sur disque^{12, 13, 14}.

Les suspensions de micro-organismes sont préparées à partir des bouillons d'enrichissement (TCBS) des différentes souches incubées pendant 24h à 37°C. A l'aide d'une anse de platine, on suspend une colonie bactérienne dans un tube contenant de l'eau physiologique puis on ajuste la densité de la suspension à une turbidité équivalent à 0.5 McFarland (10^6 cellules/mL).

Un milieu de gélose Muller-Hinton a été placé dans des boîtes de Petri stérilisées, puis 100 μ l d'inoculum bactériens à une concentration de turbidité de $0,5 \times 10^6$ UFC / ml, ont été appliquées à la surface des boîtes à l'aide d'un écouvillon stérilisé.

Ensemencement des boîtes

On introduit un écouvillon stérile et sec dans la suspension bactérienne précédemment préparée et on mélange la suspension puis on essore l'écouvillon contre les parois. On ensemence la boîte de pétri contenant le MHA (Mueller Hinton Agar) à partir du point le plus éloigné du centre (au niveau de la bordure) en faisant déplacer l'écouvillon sur toute la surface de la boîte, de la bordure gauche à droite tout le long de la boîte. On fait pivoter ensuite la boîte de 60° et on répète la même opération précédemment décrite

12. AWWM BAUER, WMM KIRBY et J C&turck SHERRIS. « turck, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method ». In : *American journal of clinical pathology* 45.4 (1966), p. 493.

13. R CRUICKSHANK et al. « Medicinal microbiology, vol. II ». In : *Churchill Livingstone, London* 196 (1975).

14. C PÉREZ RODRÍGUEZ et al. « An Antibiotic assay by the agar well diffusion method ». In : *Acta Biologicae et Medecine Experimentaalis* 15 (1990), p. 113-115.

encore 3 fois (**Figure III.2**). On laisse sécher les boîtes pendant quelques minutes à la température ambiante (le couvercle doit être emboîté).

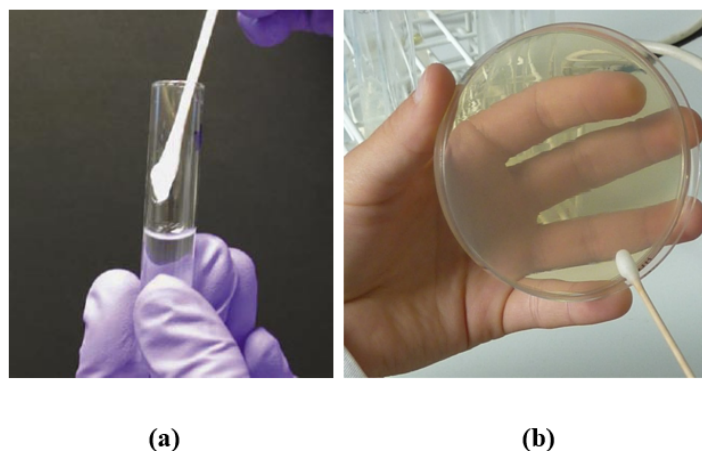


FIGURE III.2 – : (a) Introduction de l'écouvillon dans la suspension bactérienne. b Ensemencement de la gélose MH

*Dépôts des disques

Des disques stériles de diamètre 6 mm, sont imprégnés de 10 μ l de composés synthétisés avec une concentration de 25 mg / ml de DMSO et placés sur le support, un disque contenant uniquement du DMSO est utilisé comme contrôle négatif. Les boîtes ont été incubées 24 h à 37 °C les diamètres d'inhibition des zones ont été ensuite mesurés en millimètres (mm). Tous les tests sur échantillons ont été réalisés en trois fois pour obtenir des valeurs de déviation standard moyenne (S.D).

La concentration minimale inhibitrice (CMI). les CMI ont été validées par une méthode de micro dilution en utilisant un milieu liquide Mueller-Hinton. Pour cela, les concentrations intermédiaires de 12,5 mg / ml à 0,78 mg / ml ont été obtenues par dilutions semi-logarithmiques de raison 2, puis les tubes de dilution ont été inoculés par 20 μ l de suspension bactérienne ($0,5 \times 10^6$ UFC, ml-1) et 280 μ l de MH liquide ont été ajoutés à tous les tubes, les concentrations finales en composés testés dans les tubes sont compris entre 3,125 mg / ml et 0,195 mg / ml. Les tubes ont été incubés de 24 h à 37 °C,¹⁵ la

15. Michael J HEARN et Michael H CYNAMON. « Design and synthesis of antituberculars : preparation and evaluation against Mycobacterium tuberculosis of an isoniazid Schiff base ». In : *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53.2 (2004), p. 185-191.

valeur de CMI étant considérée comme la concentration la plus faible inhibant la croissance oculaire après une incubation de 24h. Ci -dessous le **Tableau III.1** décrivant la technique de dilution en milieu liquide.

Tableau III.1 – Technique de dilution en milieu liquide

| N° Tubes | Volume d'antibiotiques ajouté | Concentration Intermédiaire | Volume MH supplémentaire | Inoculum | Concentration finale |
|----------|------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|------------|----------------------|
| 1 | 100 μ l de solution 25 mg/ml | 12.5 mg/ml | 280 μ l | 20 μ l | 3.125 mg/ml |
| 2 | 100 μ l de solution 12.5 mg/ml | 6.25 mg/ml | 280 μ l | 20 μ l | 1.562 mg/ml |
| 3 | 100 μ l de solution 6.25 mg/ml | 3.125 mg/ml | 280 μ l | 20 μ l | 0.781 mg/ml |
| 4 | 100 μ l de solution 3.12 mg/ml | 1.56 mg/ml | 280 μ l | 20 μ l | 0.39 mg/ml |
| 5 | 100 μ l de solution 1.56 mg/ml | 0.78 mg/ml | 280 μ l | 20 μ l | 0.195 mg/ml |

Le test CMB désignant la concentration bactérienne minimale, a été ajouté pour compléter le test de CMI car les composés testés présentaient une grande turbidité en solution. Pour ce prélèvement, les graduations des dilutions obtenues ont donc été appliquées sur des boîtes d'agar MH, avec des boîtes témoins sans antibiotiques, en plus d'une série de dilutions : 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 des différents inoculums bactériens testés à une concentration de turbidité de $0,5 \times 10^6$ UFC/ml-1 ont été repiqués à l'aide de stries sur milieu MH solide à des fins de comparaison, tous les essais ont été incubés 24 h à 37 °C.¹⁶ La valeur CMB est la plus faible concentration en composés synthétisés ayant tué 99,9% des bactéries testées.

16. Zahid H CHOCHAN et al. « Metal based biologically active compounds : Design, synthesis, and antibacterial/antifungal/cytotoxic properties of triazole-derived Schiff bases and their oxovanadium (IV) complexes ». In : *European journal of medicinal chemistry* 45.7 (2010), p. 2739-2747.

Lecture des résultats

Le potentiel antibactérien de nouveaux dérivés de DHA vis-à-vis de quatre souches référentielles, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *S. aureus*, a été évalué *in vitro* par la méthode de diffusion de disque en utilisant le milieu gélose Muller-Hinton.

On mesure le diamètre de la zone d'inhibition qui entoure chaque disque à l'aide d'une règle graduée (**Figure III.3**)



FIGURE III.3 – Mesure des zones d'inhibition

Les détails expérimentaux et les résultats sont présentés dans le **Tableau III.2**. Les zones d'inhibition obtenues ont montré une activité antibactérienne, bonne à modérée pour les composés contre les souches bactériennes testées, un antibiogramme a été réalisé à des fins de comparaison : Gentamicine (10 μ g/disque) et Nalidixique (30 μ g/disque) ont été utilisés comme contrôle positif.

Les essais sur l'activité antimicrobienne ont été réalisés selon les normes ICS (International Collaborative Study)¹⁷, en utilisant la méthode de diffusion sur gel décrite par S. M. Tharib et Coll¹⁸. Le milieu Müller Hinton Agar (MHA) a été utilisé comme milieu de culture pour cette étude **Tableau III.2**.

17. H Ben JANNET et al. « Responses of Spodoptera littoralis larvae to Tunisian plant extracts and to neo-clerodane diterpenoids isolated from Ajuga pseudoiva leaves ». In : *Fitoterapia* 71.2 (2000), p. 105-112.

18. S.M. THARIB, S. O. GNAN et G. B. A. VEITCH. « Antimicrobial activity of compounds from Artemisia campestris ». In : *Journal of Food Protection* 46 (1983), p. 185-7.

Tableau III.2 – Zone d’inhibition antibactérienne (mm) du DHA et de ses dérivés

| Composés | <i>E.coli</i> | <i>P.aeruginosa</i> | <i>K. pneumonia</i> | <i>S. aureus</i> |
|----------|---------------|---------------------|---------------------|------------------|
| DHA | 15.00±0.00 | 20.00±0.50 | 20.00±0.50 | 15.00±0.00 |
| DHAMn | 12.00±0.00 | 12.00±0.50 | 14.00±0.00 | 15.00±0.00 |
| DHACo | 14.00±0.50 | 12.00±0.00 | 12.00±0.00 | 18.00±0.50 |
| DHAZn | 15.00±0.50 | 15.00±0.50 | 18.00±0.50 | 13.00±0.50 |
| DHANi | 16.00±0.00 | 10.00±0.00 | 15.00±0.50 | 12.00±0.00 |
| NA | 42.00 | 0.00 | 28.00 | 22.00 |
| GN | 38.00 | 24.00 | 18.00 | - |
| DMSO | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

Toutes les données sont exprimées en tant que moyenne \pm écart type (SD) de mesures effectuées en triple.

III.1.5 Tests antibactérien : résultats et discussion

Détermination de la CMI : complexes avant recristallisation donc sous forme de poudre

Les tests biologique ont été réalisé pour les complexes avant recristallisation donc sous forme de poudre. Pour confirmer les résultats des tests antibactériens, nous avons procédé à une étude de détermination de leur concentration minimale inhibitrice (MIC ou CMI), La CMI est définie comme la concentration minimale à laquelle aucune poussée bactérienne n’est observée (**Figure III.4**).

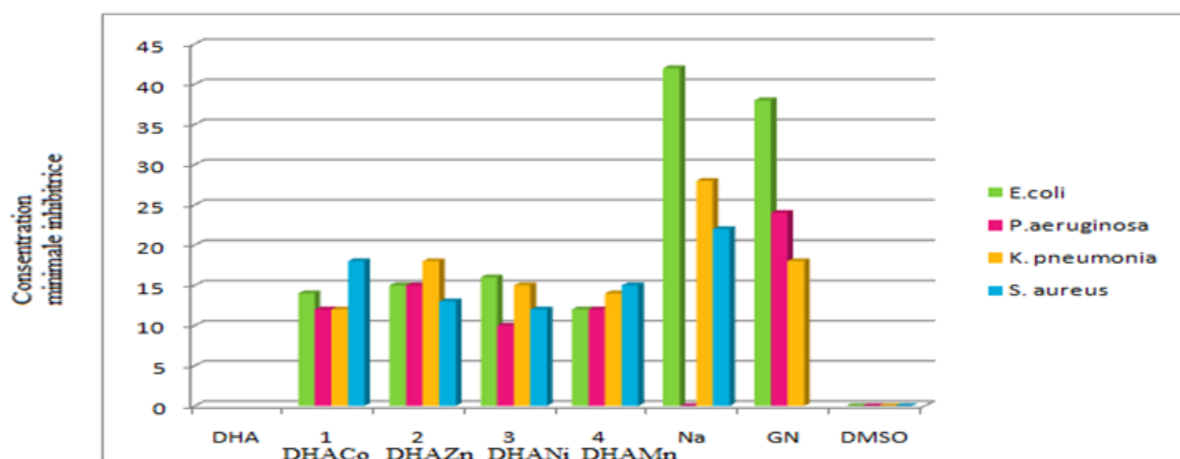


FIGURE III.4 – Histogramme correspondant aux concentrations minimales inhibitrices de la DHA et de ses dérivés en fonction du Nalidixique et de la Gentamicine (antibiotiques).

Les résultats du **Tableau III.3** indiquent que tous les composés ont montré une activité antibactérienne modérée à excellente. Parmi les composés, le DHA présente une activité élevée contre toutes les souches testées. Le complexe DHAMn (4) présente une bonne activité contre la souche *S. aureus* et la souche *K. pneumonia*, le composé DHACo (1) a donné une activité anti bactérienne élevée contre *S. aureus* et une bonne action contre *E. coli*, le composé DHAZn (2) une bonne activité contre *P. aeruginosa*, *K. pneumonia* et bonne contre d'autres bactéries; et finalement les composés DHANi (3) ont donné une activité modérée à bonne contre les souches de bactéries. N.A : pas d'activité; N.D : impossible à détecter

Tableau III.3 – Valeurs des CMI et de CMB (mg / ml) de la DHA et de ses dérivés.

| Coumpounds | <i>E. coli</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>K. pneumonia</i> | <i>S. aureus</i> |
|------------|----------------|----------------------|---------------------|------------------|
| | MIC MBC | MIC MBC | MIC MBC | MIC MBC |
| NA | N.D ≤0.195 | N.D ≤0.195 | N.D ≤0.195 | N.D ≤0.195 |
| DHAMn | N.D N.A | N.D ≤0.195 | N.D ≤0.195 | N.D ≤0.195 |
| DHACo | N.D N.A | N.D N.A | N.D N.A | N.D N.A |
| DHAZn | N.D ≤0.195 | N.D N.A | N.D N.A | N.D N.A |
| DHANi | N.D ≤0.195 | N.D N.A | N.D N.A | N.D N.A |

III.2 Évaluation *in-vitro* de l'activité antifongique :

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 mycoses¹⁹ .

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 organismes²⁰ .

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*.

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.

19. Philippe BOUCHET, Jean-Louis GUIGNARD et Geneviève MADULO-LEBLOND. *Mycologie générale et médicale*. **1989**.

20. D CHABASSE, C GUIGUEN et N CONTET-AUDONNE. *Mycologie médicale. Les abrégés*. **1999**.

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.

Deux champignons phytopathogènes, à savoir : *Fusarium oxysporum f.s.p Lycopersici* (FOL) 4287 et *Alternaria s.p* ont été testées pour la fongotoxicité par certains complexes et ligands testés pour l'inhibition de la croissance des agents phytopathogènes : Tous les produits ont été synthétisés en laboratoire et étaient purs. L'activité inhibitrice des différents composés, sur la croissance du mycélium des deux agents phytopathogènes, est déterminée en mesurant la croissance radiale du champignon sur un milieu PDA (pomme de terre, dextrose, gélose), contenant le complexe à tester. Ainsi, un volume de 1 ml de solution de DMSO contenant 10 mg du produit lyophilisé a été ajouté à 100 ml de milieu PDA à 60°C, préalablement stérilisé puis distribué dans 4 boîtes de Petri. De même, 1 ml de DMSO et 1 ml de DHA ont été ajoutés à 100 ml de milieu PDA et ont été considérés comme un contrôle positif et un contrôle négatif(Song et coll, 2004)^{21, 22} .

Expérimentalement, un disque de 5 mm de diamètre provient d'une jeune culture fongique et est déposé de manière aseptique au centre de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA et le complexe à tester. L'expérience est répliquée 4 fois pour chaque traitement. Après 7 jours d'incubation à 28 °C, la croissance mycélienne de l'agent phytopathogène est mesurée sur une échelle millimétrique. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition de la croissance de chaque champignon par chaque complexe, par rapport aux diamètres moyens des colonies de chaque milieu de culture témoin contrôlé par le champignon. Ainsi, l'activité d'inhibition a été exprimée en pourcentage et calculée selon

21. CJ DENNIS. « Webster (1971c) ». In : *Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma. III. Hyphal interaction. Trans. Br. Mycol. Soc* 57 (1971), p. 363-369.

22. Weitang SONG et al. « Tomato Fusarium wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system ». In : *Crop protection* 23.3 (2004), p. 243-247.

la formule suivante : (Dennis et coll, 1971)²³

$$I = (C - T/C) \times 100$$

Où I = taux d'inhibition en %

C = croissance radiale de l'agent phytopathogène en mm sur milieu PDA avec DHA (témoin)

T = la croissance radiale, en mm, de l'agent phytopathogène sur milieu PDA contenant le complexe à tester.

Les résultats de croissance radiale de l'agent phytopathogène sont indiqués dans le **Tableau III.4.**

Tableau III.4 – Activité antifongique des complexes Co Ni Mn Zn (les valeurs correspondent à la croissance radiale de l'agent phytopathogène en mm sur milieu PDA)

| | Negativecontrol | Control (DMSO) | DHA | DHACo | DHAZn | DHANi | DHAMn |
|--------------|-----------------|----------------|------|-------|-------|-------|-------|
| FOL 4287 | 7,52 | 6,8 | 2,38 | 3,12 | 2,9 | 3,17 | 2,88 |
| Alternariasp | 7,37 | 3,67 | 3,18 | 3,05 | 2,5 | 3,13 | 3,36 |

Nous avons étudié la sensibilité des complexes organométalliques dérivés du DHA vis à vis de deux champignons tout d'abord avec le FOL4287 qui est le *Fusariumoxysporum* f.s.p lycopersici souche 4287 et ensuite avec le second champignon *Alternaria* s.p

✓ *1er cas Fusariumoxysporum f.s.p lycopersici souche 4287*

Dans un premier temps nous avons testé la sensibilité *in vitro* de la souche *Fusarium oxysporum* f.s.p lycopersici souche 4287 vis à vis des complexes organo-metalliques dérivés de l'acide déhydro acétique DHACo 1, DHAZn 2, DHANi 3, DHAMn 4 et qui est indiqué dans la **Figure III.5.**

23. CJ DENNIS. « Webster (1971c) ». In : *Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma. III. Hyphal interaction. Trans. Br. Mycol. Soc* 57 (1971), p. 363-369.

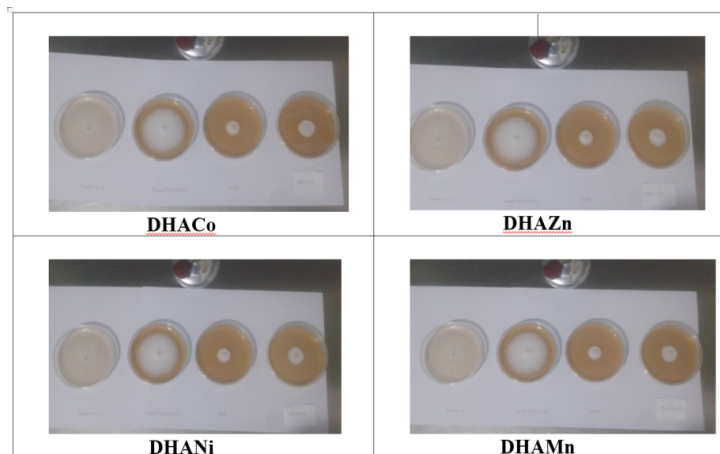


FIGURE III.5 – Sensibilité *in vitro* de la souche FOL 4287 vis a vis de nos Complexes

✓ 2ème cas *Alternaria sp*

Ensuite dans un deuxième temps on a testé la sensibilité *in vitro* de la souche *Alternaria sp* vis a vis de ces même complexes DHACo1, DHAZn2, DHANi3, DHAMn4. La **Figure III.6** indique la croissance radiale de l'agent phytopathogène *Alternaria sp*.

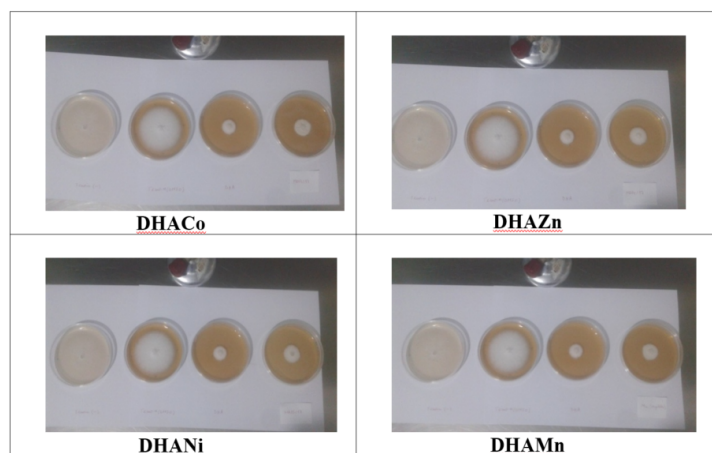


FIGURE III.6 – Sensibilité *in vitro* de la souche *Alternaria-sp* vis a vis des Complexes dérivés du DHA

III.2.1 Évaluation *in vitro* du pouvoir antifongique : résultats et discussion

✓ 1er cas *Fusariumoxysporumf.splycopersici* souche 4287 :

Le contrôle négatif ne contient aucun produit. Le champignon se développe naturellement dans le milieu du PDA. Nous remarquons que le solvant (DMSO) agit sur la

croissance radiale du FOL 4287, comparé au contrôle négatif de 7,52 mm et 6,8 mm respectivement. Le DHA présente la plus haute valeur d'inhibition de la croissance mycélienne de FOL 4287 avec 2,38 mm. Par conséquent, la comparaison de l'activité des complexes avec le DHA montre que leurs activités d'inhibition sont moins importantes. Par conséquent, la complexation du DHA ne permet pas d'augmenter l'activité antifongique sur FOL 4287.

✓ 2ème cas *Alternaria sp* :

L'activité antifongique la plus élevée a été obtenue avec le DHAZn qui est un complexe de Zn avec une valeur de croissance radiale de 2,5 mm. Pour identifier la concentration inhibitrice la plus faible, le test a été répété avec 0,5 / ml de solvant au lieu de 1 mg / ml de solvant. Le même résultat a été obtenu, ce qui signifie que le seuil d'efficacité de la concentration peut être inférieur.

La **Figure III.7** montre un histogramme correspondant à la croissance du mycélium des deux agents phytopathogènes en présence du DHA et ses complexes de Co, Zn, Ni, Mn.

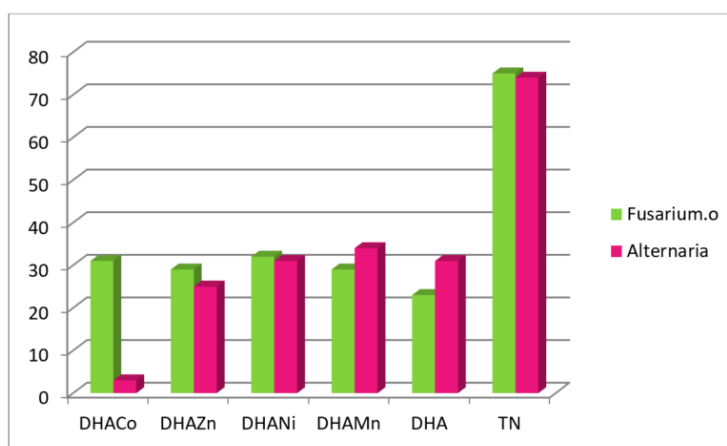


FIGURE III.7 – Croissance du mycélium des deux agents phytopathogènes en présence du DHA et ses complexes de Co, Zn, Ni, Mn

Nous avons retenu le DHAZn car il présentait le meilleur résultat en comparaison avec les autres complexes métalliques dérivés du DHA et par ce qu'il était sous forme de cristaux à la différence du DHAMn.

Les résultats du **Tableau III.5** indiquent que le seuil minimal est atteint environ 0,5 mg

/ ml. Pour ce qui est de la concentration, nous avons obtenu une croissance radiale du mycélium de 2,82 mm. , inférieure à celle de la même concentration (0,5 mg / ml). DHAZn apporte un complément d'activité antifongique à *Alternaria sp* avec un seuil d'efficacité de 0,5 mg / ml. Nous avons un histogramme représentant le seuil d'efficacité du DHAZn en présence de la souche *Alternaria-sp* dans la **Figure III.8**.

Tableau III.5 – Définition du seuil d'efficacité DHAZn

| C(mg/ml) | <i>Alternaria sp</i> |
|------------------|----------------------|
| T(-) | 5,63 |
| DMSO 0,5 | 6,25 |
| DHA 0,5 | 3,18 |
| DHAZn 0,5 | 2,82 |
| DHAZn 0,4 | 3,92 |
| DHAZn 0,3 | 3,77 |

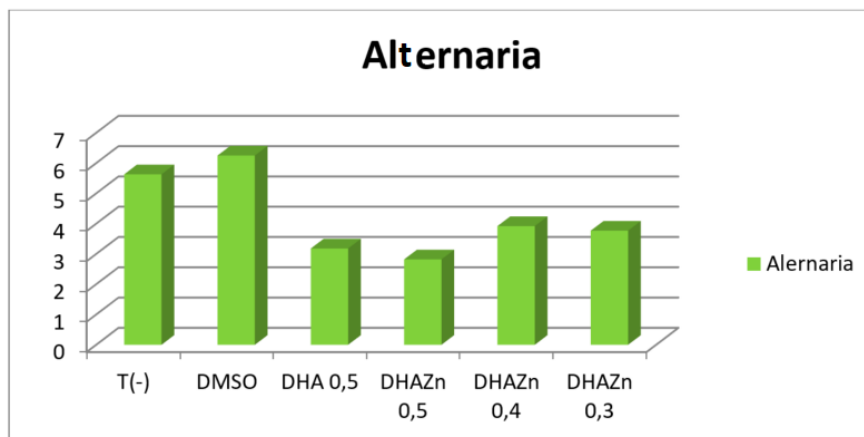


FIGURE III.8 – Seuil d'efficacité du DHAZn en présence de la souche *Alternaria sp*

La **Figure III.9** représente la croissance du mycélium *Alternaria sp* en présence du complexe DHAZn à des concentrations variables entre 0,5 à 0,3 mg/ml

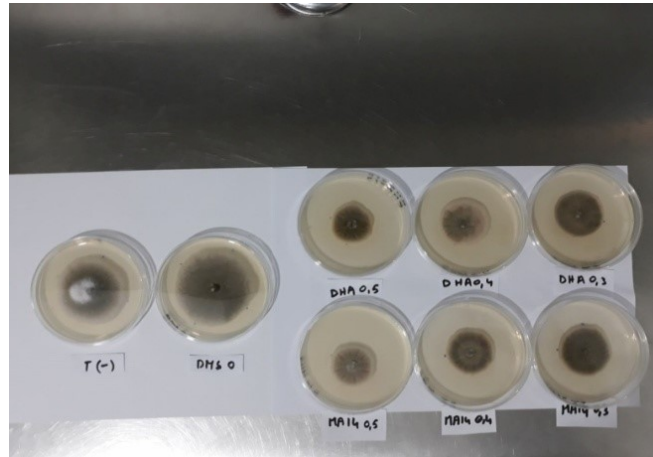


FIGURE III.9 – la croissance du mycélium *Alternaria sp* en présence du complexe DHAZn à des concentrations variables entre 0,5 à 0,3 mg/ml

III.3 Evaluation *in vitro* de l'activité antioxydante

L'Activité anti oxydante peut être étudié en deux volets le premier est directe par le piégeage de radicaux libres et le second est indirecte par le piégeage des générateurs de ROS qui fournissent via la réaction de Fenten des radicaux libres . Nous savons qu'un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante «libre» contenant un ou plusieurs électrons célibataires (électron non apparié dans une ou plusieurs orbitales). Cela lui confère une grande réactivité donc une période de demi-vie très courte. En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale en captant un électron pour devenir plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé²⁴ .

L'activité antioxydante des différents complexes synthétisés est évaluée par quatre méthodes :

1. *Piégeage du radical ABTS*
2. *Blanchiment du β -carotène*
3. *Chélation des ions de fer et de cuivre*
4. *Application anti-enzymatique plus précisément (Activité anti-uréase).*

24. Joëlle GOUDABLE et Alain FAVIER. « Radicaux libres oxygénés et antioxydants ». In : *Nutrition clinique et métabolisme* 11.2 (1997), p. 115-120.

Nous illustrerons donc les quatre méthodes sus cités par une présentation expérimentale ultérieurement après une description théorique.

III.3.1 Activité de piégeage du radical d'ABTS

Principe :

L'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (**Figure III.10**²⁵) est un radical libre et stable très utilisé pour l'évaluation du pouvoir antioxydant des fluides biologiques, des mélanges complexes ou bien des composés purs. Ce radical est capable de réagir avec des antioxydants classiques de types phénols et thiols mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron²⁶. L'activité antioxydante totale d'un échantillon est déduite de sa capacité à inhiber le radical $ABTS \bullet +$, ce dernier est obtenu à partir de l'ABTS. Le radical $ABTS^{\bullet+}$ préformé est générée par l'oxydation de la molécule stable d'ABTS avec le persulfate de potassium. Cette formation se traduit par l'apparition d'une coloration vert bleu intense et en présence d'un agent antioxydant, le passage du radical ABTS à la forme non radicalaire s'accompagne de la disparition de cette coloration mesurée à une longueur d'onde de 734 nm²⁷.

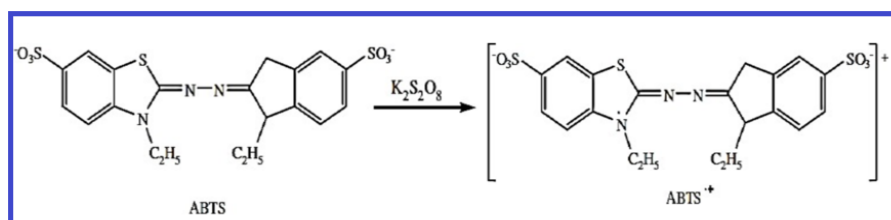


FIGURE III.10 – Oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium et génération de $ABTS^{\bullet+}$

25. Ilhami GÜLCIN. « Antioxidant activity of food constituents : an overview ». In : *Archives of toxicology* 86.3 (2012), p. 345-391.

26. Catherine A RICE-EVANS et al. « The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids ». In : *Free radical research* 22.4 (1995), p. 375-383.

27. Roberta RE et al. « Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay ». In : *Free radical biology and medicine* 26.9-10 (1999), p. 1231-1237.

III.3.2 Activité de blanchiment du β -carotène

Principe :

Dans ce test, la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène²⁸. Dans cette activité, l'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux peroxydes qui attaquent les onze doubles liaisons du β -carotène, ce qui entraîne une décoloration de cette dernière mesurée par le spectrophotomètre à 470 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchiment du β -carotène, L'absorbance est ainsi lue au temps 0 puis au bout de deux heures à la même longueur d'onde citée précédemment^{29, 30}. Cette méthode est largement utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante de différents types d'échantillon.

III.3.3 Activité de chélation du fer par UV-Visible

Principe :

Les métaux de transition tels que le fer (Fe^{2+}) et le cuivre (Cu^{2+}) sont essentiels pour assurer diverses fonctions physiologiques comme des composants des hémoprotéines et de cofacteurs d'enzymes³¹. Néanmoins, ils peuvent contribuer à la génération du radical $OH\bullet$ suite à la réduction du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) selon la réaction de Fenton³².



28. Bektas TEPE et al. « Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae) ». In : *Food chemistry* 90.3 (2005), p. 333-340.

29. Jittawan KUBOLA et Sirithon SIRIAMORNPNUN. « Phenolic contents and antioxidant activities of bitter melon (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro ». In : *Food chemistry* 110.4 (2008), p. 881-890.

30. J MARCO et al. « Einfluß der Prednisolonbehandlung auf die Insulinsekretion der Ratte ». In : *Diabetologia* 4.6 (1968), p. 365-369.

31. Pier-Giorgio PIETTA. « Flavonoids as antioxidants ». In : *Journal of natural products* 63.7 (2000), p. 1035-1042.

32. Huan XIE et al. « Cu-based nanocatalysts for electrochemical reduction of CO_2 ». In : *Nano Today* 21 (2018), p. 41-54.

La présence d'un agent chélateur du Fe^{2+} (formation d'une couleur bleue) réduit considérablement la génération de ces espèces réactives et donc la complexation des ions de fer de manière à bloquer leur activité redox, est un mécanisme d'action antioxydant.

a) Activité de la chélation des ions de fer

Principe :

La chélation des ions ferreux par les extraits à tester a été estimée par la méthode de **Dinis et ses collaborateurs (1994)**³³, la ferrozine³⁴ (**Figure III.11**) forme avec le fer libre (ferreux ou Fe^{2+}) un complexe ferrozine- Fe^{2+} de couleur violette intense. Cependant, en présence d'agent chélateur, la formation du complexe est perturbée ce qui entraîne une diminution de la couleur violette du complexe. Donc plus la couleur de la solution contenant l'extrait à tester est claire, plus le pouvoir chélateur est important. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 562 nm³⁵.

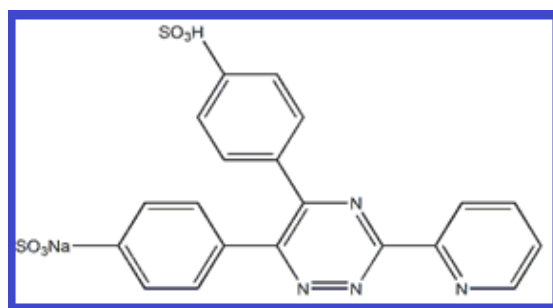


FIGURE III.11 – Structure de la ferrozine.

b) Activité de chélation du cuivre

Principe :

Les métaux qui subissent des réactions cycliques d'oxydo/réduction tel que le cuivre (Cu^{2+}) ont la capacité de produire des espèces réactives donc l'accumulation de ces ions métalliques résultent un stress oxydatif qui se traduit par des dommages de l'ADN, la

33. Teresa CP DINIS, Vítor MC MADEIRA et Leonor M ALMEIDA. « Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers ». In : *Archives of biochemistry and biophysics* 315.1 (1994), p. 161-169.

34. Lawrence L STOOKEY. « Ferrozine—a new spectrophotometric reagent for iron ». In : *Analytical chemistry* 42.7 (1970), p. 779-781.

peroxydation des lipides et les modifications des protéines.

Le cuivre (Cu^{2+}) forme avec le pyrocatechol violet (PV) un complexe Cu^{2+} -PV de couleur bleue. Cependant, en présence d'un agent chélateur de cuivre la formation du complexe est perturbée et la couleur bleue devient jaune. L'activité chélatante peut ainsi être estimée par la mesure du taux de réduction de la couleur. L'absorbance est mesurée à 632 nm³⁵.

III.3.4 Évaluation de l'activité enzymatique anti-uréase

Introduction

L'inhibition des enzymes a attiré l'attention des scientifiques biomédicaux ces deux dernières décennies, une variété d'inhibiteurs a été découverte et utilisée pour le contrôle de diverses maladies³⁶.

Dans ce contexte, le potentiel inhibiteur de l'uréase par les complexes synthétisés dans le présent travail a été évalué dans le but de trouver ou d'identifier de nouveaux inhibiteurs, qui peuvent aider dans le traitement ou la prévention de certaines maladies. L'uréase bactérienne a été rapportée comme un facteur de virulence. c'est une enzyme qui contient deux atomes de nickel qui catalysent l'hydrolyse de l'urée en ammoniac et en carbamate, ce dernier se décompose rapidement et spontanément produisant une seconde molécule d'ammoniac, ces réactions peuvent provoquer une augmentation significative du pH gastrique qui est responsable des effets néfastes sur la santé humaine, c'est la raison pour laquelle les inhibiteurs de l'uréase interviennent pour contrer son effet négatif dans l'organisme vivant, afin d'éviter plusieurs infections graves causées par la sécrétion de cette enzyme par l'*Helicobacter pylori* qui comprend des syndromes gastrique et urinaire

35. R SÁNCHEZ-VIOQUE et al. « Polyphenol composition and antioxidant and metal chelating activities of the solid residues from the essential oil industry ». In : *Industrial Crops and Products* 49 (2013), p. 150-159.

36. MR SHAH et ZH SOOMRO. « Urease inhibition, enzyme inhibition and bioapplications ». In : *InTech* (2012).

et peut conduire à un cancer de l'estomac^{37, 38, 39} .

Définition de l'uréase

Les uréases (amidohydrolases urée ; E.C. 3.5.1.5) sont un groupe d'enzymes très répandues dans la nature. Elles sont synthétisées par de nombreux organismes incluant les plantes, les bactéries, les champignons, les algues et les invertébrés⁴⁰ , leur fonction essentielle est de permettre aux organismes d'utiliser l'urée comme source d'azote pour leur croissance⁴¹ . L'uréase exerce une fonction catalytique aboutissant à l'hydrolyse de l'urée en ammoniac (NH_3) et en dioxyde de carbone (CO_2). La première étape est une dégradation enzymatique de l'urée en ammoniac (NH_3) et carbamate (NH_2COOH), ce dernier est ensuite spontanément hydrolysé formant une deuxième molécule d'ammoniac (NH_3), et du dioxyde de carbone (CO_2) (**Figure III.12**⁴¹)⁴⁰ .

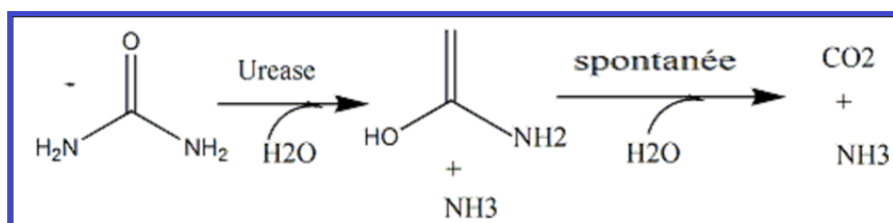


FIGURE III.12 – Action de l'uréase sur l'urée.

Toutes les uréases possèdent une caractéristique commune qui est la présence de deux atomes de nickel dans le site actif qui jouent un rôle important pour son activation⁴¹ d'où son appellation : Métalloenzyme⁴² .

37. Matthew B LANKTREE et al. « Meta-analysis of dense genecentric association studies reveals common and uncommon variants associated with height ». In : *The American Journal of Human Genetics* 88.1 (2011), p. 6-18.

38. MR SHAH et ZH SOOMRO. « Urease inhibition, enzyme inhibition and bioapplications ». In : *InTech* (2012).

39. Yasir RAZA et al. « Oxidative DNA damage as a potential early biomarker of Helicobacter pylori associated carcinogenesis ». In : *Pathology & Oncology Research* 20.4 (2014), p. 839-846.

40. Muhammad TAHA et al. « Bisindolylmethane thiosemicarbazides as potential inhibitors of urease : Synthesis and molecular modeling studies ». In : *Bioorganic & medicinal chemistry* 26.1 (2018), p. 152-160.

41. Z AMTUL, RA SIDDIQUI, MI CHOUDHARY et al. « Chemistry and mechanism of urease inhibition ». In : *Current medicinal chemistry* 9.14 (2002), p. 1323-1348.

42. Richard H DIXON et Wendell F ROSSE. « Platelet antibody in autoimmune thrombocytopenia ». In : *British journal of haematology* 31.2 (1975), p. 129-134.

Plusieurs études ont montré que les bactéries productrices d'uréase présentent un effet néfaste sur la santé humaine et sont des déterminants importants de la virulence dans la pathogénie de nombreuses affections qui touchent l'homme⁴³.

Helicobacter pylori

Helicobacter pylori, est l'espèce dominante dans le microbiote gastrique et la responsable de multiples pathologies gastroduodénales. Cette bactérie est la principale cause de la maladie ulcéreuse, elle résiste à l'acidité gastrique grâce à la production d'uréase qui hydrolyse l'urée du liquide gastrique en ammoniac (NH_3) élevant ainsi le pH de l'estomac, l'ammoniac libéré la protège de l'environnement acide de l'estomac⁴⁴ cela entrainera des infections des voies gastro-intestinales et urinaires telles que le cancer de l'estomac et l'ulcère peptique, ainsi que d'autres pathologies comme l'encéphalopathie hépatique, la lithiase urinaire, les incrustations de cathéters urinaires, la pyélonéphrite et le coma hépatique⁴⁵.

L'ulcère gastrique

L'ulcère est une altération de la muqueuse caractérisée par des lésions qui endommagent la couche externe de l'estomac et le duodénum, ces lésions ont au moins 0.5 cm de diamètre⁴⁶.

Il est maintenant largement reconnu que les ulcères gastriques et duodénaux sont généralement causés par l'*Helicobacter pylori* qui survit et se développe dans un milieu acide^{47, 48}.

43. Zareen AMTUL et al. « A presenilin 1 mutation associated with familial frontotemporal dementia inhibits γ -secretase cleavage of APP and notch ». In : *Neurobiology of disease* 9.2 (2002), p. 269-273.

44. Hélène ARNION. « Étude de petits ARNs chez une bactérie : *Helicobacter pylori* ». In : *Laboratoire INSERM* (2011).

45. Muhammad TAHA et al. « Bisindolylmethane thiosemicarbazides as potential inhibitors of urease : Synthesis and molecular modeling studies ». In : *Bioorganic & medicinal chemistry* 26.1 (2018), p. 152-160.

46. Johannes G KUSTERS, Arnoud HM van VLIET et Ernst J KUIPERS. « Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection ». In : *Clinical microbiology reviews* 19.3 (2006), p. 449-490.

47. BE DUNN et H COHEN. « Blaser MJ ». In : *Helicobacter pylori. Clin Microbiol Rev* 10 (1997), p. 720-41.

48. Tore LIND et al. « The MACH2 study : role of omeprazole in eradication of *Helicobacter pylori* with 1-week triple therapies ». In : *Gastroenterology* 116.2 (1999), p. 248-253.

Principe :

Le principe de cette méthode est basé sur l'inhibition de l'uréase afin d'éviter la génération d'ammoniac et par conséquent l'élévation du pH gastrique. D'ailleurs, les approches concernant l'inhibition d'uréases ont récemment attiré beaucoup d'attention dans la mesure où ils seront utilisés comme des nouveaux médicaments antiulcéreux potentiels⁴⁹.

L'activité antioxydante des différents complexes synthétisés a été évaluée par les quatre méthodes : Le piégeage du radical ABTS, Blanchiment du β -carotène, Chélation des ions de fer et de cuivre. L'application anti-enzymatique testée est l'activité anti-uréase.

Nous allons donc décrire les protocoles utilisés pour chaque méthode.

III.3.5 Protocole de l'activité de piégeage du radical ABTS

L'analyse spectro-photométrique de l'activité de piégeage de l'ABTS \bullet + a été déterminée selon le protocole de Re et al, (1999)⁵⁰. Le radical ABTS \bullet + est produit par réaction entre une solution aqueuse d'ABTS (19,2 mg (7 mM) ABTS + 5 mL H₂O) avec une solution de persulfate de potassium (3,3 mg (2.45 mM) (K₂S₂O₈) +5 mL H₂O), le mélange est mis à l'abri pendant 12-16 heures, l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par l'éthanol jusqu'à obtention d'une absorbance de $0,700 \pm 0.020$ mesurée à une longueur d'onde de 734 nm.

Une quantité de 160 μ L du radical ABTS \bullet + est ensuite mélangée à 40 μ L de l'extrait à tester à différentes concentrations et avec cette même quantité remplacée par le méthanol pour le témoin négatif. Après incubation de 10 min dans l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 734 nm contre le témoin négatif, l'absorbance ainsi obtenue est comparée à celle des antioxydants de référence qui sont le BHT et le BHA à partir du pourcentage d'inhibition et de la concentration inhibitrice 50 (CI50). Les pourcentages d'inhibition ont été calculés pour chaque concentration par rapport à une

49. Zareen AMTUL et al. « A presenilin 1 mutation associated with familial frontotemporal dementia inhibits γ -secretase cleavage of APP and notch ». In : *Neurobiology of disease* 9.2 (2002), p. 269-273.

50. Roberta RE et al. « Antioxidant activity applying an improved ABTS \cdot + radical cation decolorization assay ». In : *Free radical biology and medicine* 26.9-10 (1999), p. 1231-1237.

absorbance à blanc de l'éthanol. La capacité de piégeage du radical ABTS a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$\text{ABTS inhibition(\%)} = \frac{A.\text{Contrôle} - A.\text{Extrait}}{A.\text{Contrôle}} \times 100$$

A : Absorbance

III.3.6 Protocole de l'activité de blanchiment du β -carotène

Une quantité de 0,5 mg du β -carotène est dissoute dans 1 mL de chloroforme, le mélange est ensuite mis au fond du ballon du rotavapeur avec 200 μL de Tween 40 et 25 μL d'acide linoléique. Après évaporation sous vide du chloroforme, une quantité de 50 mL d'eau oxygénée est rajoutée. L'absorbance de la solution est ajustée par de l'eau oxygénée jusqu'à obtention d'une absorbance de 0.8-0.9 nm mesurée à 470 nm.

Dans une microplaque à 96 puits, 40 μL de l'extrait à tester sont mis avec 160 μL de la solution préparée précédemment, la microplaque est mise en incubation pendant 120 min à 50°C et la densité optique est mesurée chaque 30 min à une longueur d'onde de 470 nm. Les résultats sont comparés à ceux des antioxydants standards (BHA et BHT) (Tepe et al., 2005)⁵¹.

III.3.7 Protocole de la capacité de chélation du fer par UV-Vis

Dans un eppendorf, 75 μL de l'extrait à tester sont mis avec 25 μL de Fe^{2+} ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 100 mg + 1 mL H_2O). Ensuite 400 μL du contrôle négatif (500 μL + 500 μL) sont rajoutés au mélange. Le tout est agité au Vortex puis incubé pendant 1h de temps et mesuré dans le spectrophotomètre UV-Visible en utilisant une cuve en quartz à une

51. Bektas TEPE et al. « Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae) ». In : *Food chemistry* 90.3 (2005), p. 333-340.

longueur d'onde de 200 à 900 nm (balayage) (Pietta. P-G, 2000 ; Xie.H, 2018)^{52, 53} .

Protocole de l'activité de chélation du fer

Cette activité a été déterminée par la méthode de Dinis et ses collaborateurs (1994)⁵⁴ Dans une microplaque à 96 puits, 40 μL de méthanol (CH_3OH) sont mis avec 40 μL des extraits et avec une même quantité de chlorure de fer ($0,2 \text{ mM FeCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$] + 100 mL (H_2O)), ensuite une prise de 80 μL de ferrozine est rajoutée (0,5 mL ferrozine + 9,5 mL (H_2O)). Le mélange est incubé pendant 10 min et l'absorbance est mesurée à 562 nm. Le contrôle se compose du même mélange tout en remplaçant l'extrait à tester par le méthanol. Les résultats obtenus sont comparés à ceux de l'antioxydant de référence (EDTA).

Les résultats ont été donnés en pourcentage d'inhibition et l'activité a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$ABTS\text{inhibition}(\%) = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

A : absorbance

Protocole de l'activité de chélation du cuivre

Un volume de 40 μL de l'extrait à différentes concentrations est mis dans une microplaque à 96 puits, avec 140 μL de la solution tampon (pH=6) (1.148 mL d'acide acétique (CH_3COOH) + 200 mL H_2O avec 1.64 g d'acétate de sodium ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$) + 200 mL H_2O), une prise de 10 μL de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$) (12,5 mg dans 10 mL de solution tampon (pH=6)) est ajoutée. Après incubation de 30 min, 10 μL de pyrocatechol

52. Pier-Giorgio PIETTA. « Flavonoids as antioxidants ». In : *Journal of natural products* 63.7 (2000), p. 1035-1042.

53. Huan XIE et al. « Cu-based nanocatalysts for electrochemical reduction of CO_2 ». In : *Nano Today* 21 (2018), p. 41-54.

54. Teresa CP DINIS, Vítor MC MADEIRA et Leonor M ALMEIDA. « Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers ». In : *Archives of biochemistry and biophysics* 315.1 (1994), p. 161-169.

violet (15,4 mg dans 10 mL tampon) sont rajoutés au mélange et après une deuxième incubation de 30 min l'absorbance est mesurée à 632 nm (Sánchez-Vioque.R, 2013).⁵⁵

III.4 Protocole de l'activité anti-uréase

Dans une microplaque à 96 puits, une prise de 10 μL de l'extrait est mise avec 25 μL de l'uréase (1 mg d'enzyme dans 1 mL de la solution tampon (pH=8,2)), ensuite 50 μL du substrat (l'urée) sont rajoutés (0,2553 g Urée dans 25 mL tampon (pH=8,2)), après incubation de 15 min, 45 μL du réactif de phénol (2 g de phénol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) dans 25 mL H_2O + 25 mg $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 25 mL H_2O) sont rajoutés au mélange avec 70 μL du réactif basique (0,7125 g de NaOH dans 25 mL H_2O + 1,175 mL NaOCl, (liquide) dans 25 mL H_2O).

Après une deuxième incubation de 50 min, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 630 nm contre un contrôle négatif qui se compose des mêmes réactifs cités précédemment tout en remplaçant la quantité de l'extrait par la même quantité en méthanol. Les résultats obtenus sont comparés à ceux de l'inhibiteur de référence qui est la thiourée ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{S}$) (Taha.M et al., 2018).⁵⁶

III.5 Résultats et discussion des activités anti oxydantes

La nouvelle série de complexes de métaux de transition et de DHA synthétisée dans ce travail, a fait l'objet d'un criblage biologique *in vitro* pour pas moins de 20 tests incluant 15 activités antioxydantes et 05 activités enzymatiques; selon les résultats obtenus seulement six d'entre elles ont été retenues : cinq pour l'activité antioxydante et une activité enzymatique, ce sont en outre les activités ayant démontrées un résultat positif pour au moins un des complexes synthétisés.

55. R SÁNCHEZ-VIOQUE et al. « Polyphenol composition and antioxidant and metal chelating activities of the solid residues from the essential oil industry ». In : *Industrial Crops and Products* 49 (2013), p. 150-159.

56. Muhammad TAHA et al. « Bisindolylmethane thiosemicarbazides as potential inhibitors of urease : Synthesis and molecular modeling studies ». In : *Bioorganic & medicinal chemistry* 26.1 (2018), p. 152-160.

✓ *Activités anti-oxydantes* Tous les tests sont réalisés *in vitro* sur le DHA et ses chélates de métaux de transition, à une gamme de concentration allant de 12,5 à 800 μg .

✓ *Activité de piégeage du radical ABTS* Les résultats de ce test ont été consignés dans le **Tableau III.6** :

- L'activité inhibitrice du DHA commence à une concentration de 400 μg , avec un pourcentage d'inhibition très faible estimé à 1,04 %, avec une CI_{50} supérieure à 800 $\mu\text{g/mL}$,
- Le complexe DHA-Ni n'a montré quant à lui aucune activité inhibitrice dans la gamme de dilution étudiée.
- Les complexes DHA-Co et DHA-Zn ont montré une activité inhibitrice très faible et comparable qui commence à partir d'une concentration d'inhibition de 100 μg , elle augmente légèrement avec l'augmentation des concentrations sans pour autant atteindre la CI_{50} à la concentration limite de 800 μg .
- Il est constaté que pour cette application également le complexe DHA-Mn affiche une meilleure réactivité qui commence à 50 μg avec 2,01 % et atteint sa CI_{50} à 258,36 $\mu\text{g/mL}$, ce qui reste tout de même assez faible par rapport à celles des standards avec 1.29 $\mu\text{g/mL}$ pour le BHT et 1.81 $\mu\text{g/mL}$ pour le BHA.

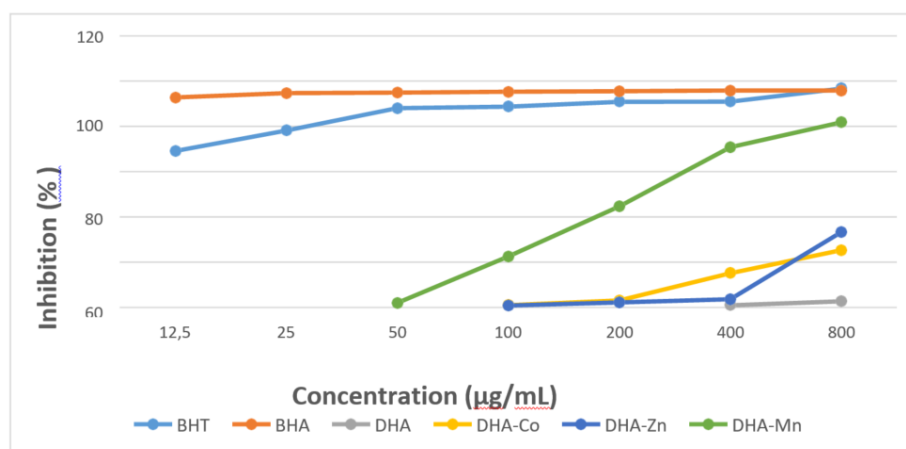


FIGURE III.13 – Courbes des pourcentages d'inhibition de l'activité de piégeage du radical ABTS.

Tableau III.6 – Résultats de l'activité de piégeage du radical ABTS.

| | 12.5 μg | 25 μg | 50 μg | 100 μg | 200 μg | 400 μg | 800 μg | IC_{50} $\mu\text{g/mL}$ |
|--------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| DHA | NA | NA | NA | NA | NA | 1,04 \pm 2,23 | 2,78 \pm 2,01 | >800 |
| DHANI | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | >800 |
| DHACO | NA | NA | NA | 0,99 \pm 0,17 | 3,16 \pm 2,34 | 15,14 \pm 3,72 | 25,38 \pm 1,95 | >800 |
| DHAZn | NA | NA | NA | 0,85 \pm 0,08 | 2,25 \pm 2,47 | 3,65 \pm 1,09 | 33,35 \pm 2,25 | >800 |
| DHAMfn | NA | NA | 2,01 \pm 1,77 | 22,63 \pm 1,83 | 44,76 \pm 3,28 | 70,85 \pm 0,19 | 81,83 \pm 3,00 | 258,36\pm4,62 |
| BHT | 69.21 \pm 0,40 | 78.23 \pm 1,34 | 88.12 \pm 1,28 | 88,76 \pm 3,07 | 90.85 \pm 1,74 | 90.95 \pm 0,51 | 96.68 \pm 0.39 | 1.29\pm0.30 |
| BHA | 92.83\pm1,42 | 94.68\pm0,42 | 94.95\pm0,90 | 95.32\pm0,25 | 95.59\pm0,47 | 95.83\pm0,15 | 95,86\pm0,10 | 1.81\pm0.10 |



FIGURE III.14 – Valeurs des CI₅₀ exprimées en $\mu\text{g} / \text{mL}$ pour l'activité de piégeage du radical ABTS.

✓ Activité du blanchiment du β -carotène

— Les résultats de ce test sont reportés dans le **Tableau III.7** :

✓ L'activité inhibitrice du DHA commence à une concentration de 25 μg avec un pourcentage d'inhibition de 22,16 %, il atteint sa CI_{50} à 77,07 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et plafonne à 79,65 % avec une concentration de 800 μg .

Comparativement :

— L'activité inhibitrice du complexe DHA-Ni commence bien avant à une concentration de 12,5 μg avec 18,46 % d'inhibition, il atteint sa CI_{50} à 220,87 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et ses limites à partir de 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

— Pour le complexe DHA-Co, aucune activité significative n'a été détectée.

— Quant au complexe DHA-Zn, son activité inhibitrice commence à partir de 50 μg avec 30,29 % d'inhibition, et augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait jusqu'à atteindre sa CI_{50} à 185,72 $\mu\text{g}/\text{mL}$, l'activité inhibitrice plafonne à 200 μg avec 52,29 %.

Tableau III.7 – Résultats de l'activité de blanchiment du β -carotène.

| | 12.5 μ g | 25 μ g | 50 μ g | 100 μ g | 200 μ g | 400 μ g | 800 μ g | IC_{50} μ g/mL |
|--------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------------------------|
| DHA | NA | 22,16 \pm 4,19 | 35,03 \pm 4,19 | 65,27 \pm 2,86 | 65,88 \pm 2,36 | 73,72 \pm 2,69 | 79,65 \pm 3,38 | 77,07\pm2,14 |
| DHA-Ni | 18,46 \pm 1,54 | 29,37 \pm 3,32 | 29,65 \pm 2,75 | 35,43 \pm 4,11 | 49,47 \pm 4,49 | 61,73 \pm 2,63 | 62,92 \pm 2,38 | 220,87 \pm 6,07 |
| DHA-Co | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA |
| DHA-Zn | NA | NA | 30,29 \pm 2,11 | 36,08 \pm 1,25 | 52,29 \pm 0,42 | Sat | Sat | 185,72 \pm 3,19 |
| DHA-Mn | 40,90 \pm 1,16 | 52,06 \pm 0,81 | 53,02 \pm 1,83 | 54,11 \pm 3,01 | 71,39 \pm 0,18 | 88,94 \pm 2,87 | 91,11 \pm 0,79 | 22,69 \pm 0,86 |
| BHTb | 88.29 \pm 0.10 | 91.70 \pm 0.36 | 93.65 \pm 0.30 | 93.68 \pm 0.46 | 94.49 \pm 0.07 | 94.88 \pm 0.10 | 95.58 \pm 0.19 | 0.91 \pm 0.01 |
| BHAb | 93.48 \pm 0.44 | 95.52 \pm 0.33 | 96.34 \pm 0.55 | 97.56 \pm 0.19 | 97.64 \pm 2.22 | 97.85 \pm 0.32 | 99.66 \pm 0.52 | 1.05 \pm 0.03 |

- Concernant le dernier complexe DHA-Mn, à une concentration de 12,5 μg il commence son activité avec un pourcentage d'inhibition de 40,90 %, puis augmente avec l'augmentation de la concentration jusqu'à atteindre sa CI_{50} à 22,69 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Bien que cette concentration est également supérieure aux CI_{50} des deux standards mais reste la meilleure comparée à celle du DHA seul et chélaté aux autres métaux, l'activité inhibitrice continue d'augmenter avec des concentrations plus élevées jusqu'à atteindre 91,11 % à 800 μg en se rapprochant le plus de celle du BHT (95,58 %) et du BHA (99.66 %).
- Le traitement de ces résultats a conduit à la réalisation des courbes de comparaison illustrées dans la **Figure III.15** et les histogrammes des CI_{50} dans la **Figure III.16**.

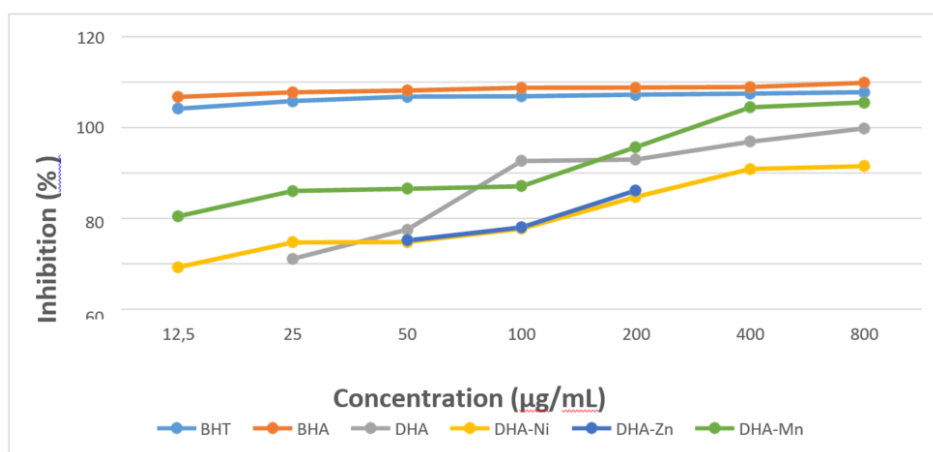


FIGURE III.15 – Courbes des pourcentages d'inhibition de l'activité de blanchiment du β -carotène.

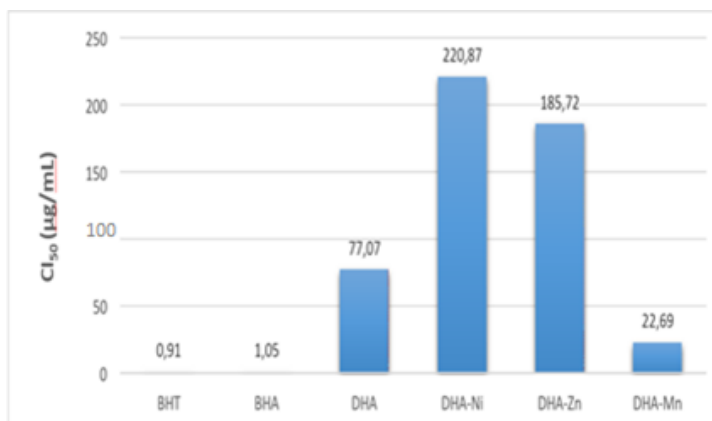


FIGURE III.16 – Valeurs des CI₅₀ exprimées en $\mu\text{g} / \text{mL}$ pour l'activité de blanchiment du β -carotène.

A la lumière de ces résultats, il apparaît que :

- Tous les complexes métalliques du DHA, à l'exception du complexe de Co, ont donné de meilleurs résultats pour cette étude que la molécule mère DHA.
- Parmi tous les composés testés, le complexe DHA-Mn est celui qui a montré la meilleure activité par rapport aux deux standards utilisés pour ce test et a donc favorisé l'effet inhibiteur contre la peroxydation lipidique (contre le blanchiment du bêta-carotène).
- Évaluation de la capacité de chélation du fer

La figure ci-dessous montre la capacité chélatrice du fer par les complexes organométalliques synthétisés **Figure III.17**.

Il s'agit d'un test qualitatif préliminaire qui indique le potentiel des composés étudiés à chélater le fer.

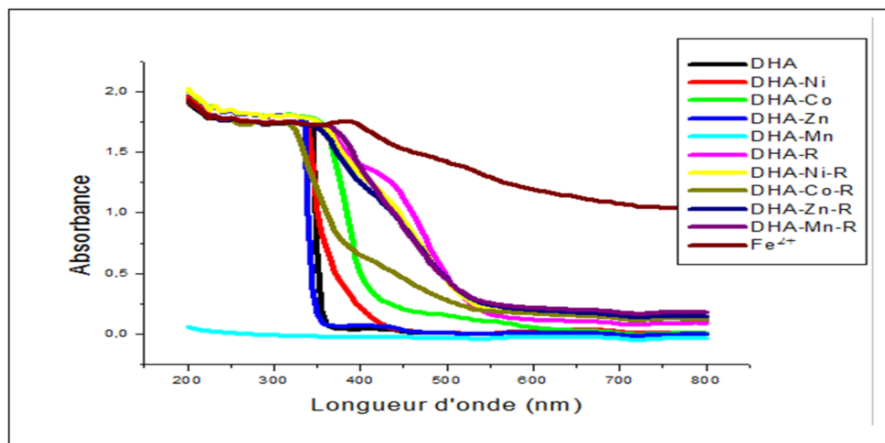


FIGURE III.17 – Résultats de l'activité chélatrice du fer par UV-Vis.

D'après les résultats, il ressort que :

- Le Fe^{2+} seul a une forte absorption vers 420 nm.
- Tous les complexes étudiés chélatés au fer (réactionnels) montrent une absorption plus ou moins intense au environ de 450 nm, supérieure à celle des complexes libres.
- Le complexe $Co - Fe^{2+}$ a une absorption faible et inférieure à celle des autres complexes.

Ce test montre que le DHA et ses complexes métalliques ont potentiellement un pouvoir chélateur vis-à-vis du fer.

— **Activité de Chélation du fer**

Le **Tableau III.8** montre les effets de la chélation des ions ferreux sur les composés étudiés, par rapport à l'EDTA, utilisé comme standard de référence.

- D'après les résultats, le DHA commence son activité à une concentration de 200 μg avec un pourcentage d'inhibition de 20,87 % qui stagne pratiquement avec l'augmentation de la concentration, ainsi sa CI_{50} est supérieure à 800 $\mu\text{g/mL}$,

Tableau III.8 – Résultats de l'activité de chélation des ions de fer.

| | 12.5 μg | 25 μg | 50 μg | 100 μg | 200 μg | 400 μg | 800 μg | IC_{50} $\mu\text{g/mL}$ |
|-------|--------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------------------|
| DHA | NA | NA | NA | NA | 20,87 \pm 2,78 | 35,30 \pm 4,56 | 36,96 \pm 0,00 | > 800 |
| DHANI | 28,60 \pm 4,56 | 67,71 \pm 4,13 | 74,92 \pm 1,74 | 79,56 \pm 1,13 | Sat | Sat | Sat | 14,53 \pm 9,02 |
| DHACO | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA | NA |
| DHAZn | NA | NA | NA | NA | NA | 21,39 \pm 5,01 | 25,34 \pm 4,96 | >800 |
| DHAMn | NA | NA | NA | NA | NA | NA | 12,89 \pm 0,76 | >800 |
| EDTA | 73.00 \pm 1.59 | 73.60 \pm 1.20 | 73,80 \pm 1.51 | 95,78 \pm 0.10 | 95,80 \pm 0.06 | 95,84 \pm 0.22 | 95,87 \pm 0.06 | 8.80 \pm 0.47 |

- Le complexe DHA-Co quant à lui n'a montré aucune activité, ce qui montre que ce dernier ne possède aucune activité chélatrice du fer.
- De même pour le complexe DHA-Zn qui commence son activité à partir de 400 μg avec un pourcentage d'inhibition de 21,39 %, et une CI_{50} supérieure à 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
- Le complexe DHA-Mn, débute son activité à partir d'une concentration de 800 μg avec un pourcentage d'inhibition de 12,89 %, et une CI_{50} supérieure à 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
- Par contre, le complexe DHA-Ni, affiche un début d'activité chélatrice à une concentration de 12,5 μg avec un pourcentage d'inhibition de 28,60 % et atteint sa CI_{50} à 14,53 $\mu\text{g}/\text{mL}$, cette valeur est proche de celle du standard EDTA estimée à 8,80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en plus d'être la meilleure parmi celles de tous les autres composés testés.

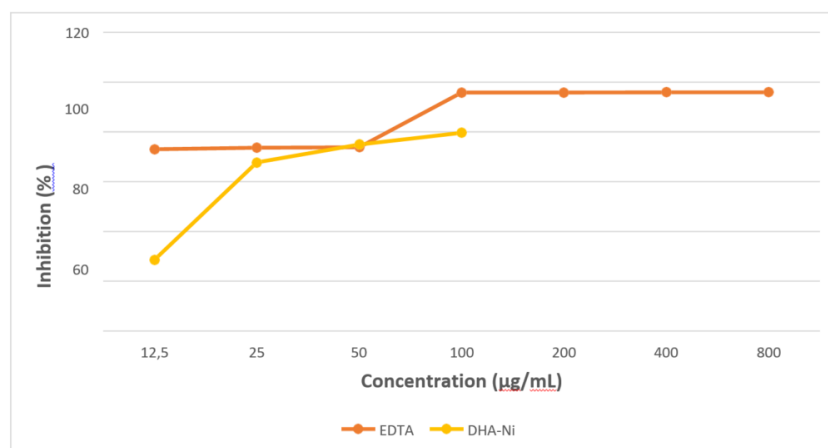


FIGURE III.18 – Courbes des pourcentages d'inhibition de l'activité de chélation du fer.

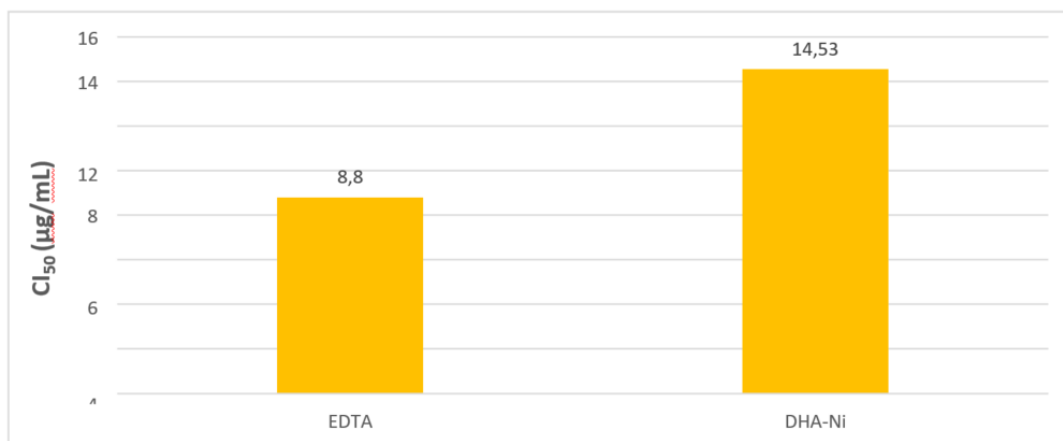


FIGURE III.19 – Valeurs des CI₅₀ exprimées en $\mu\text{g/mL}$ pour l'activité de chélation du fer.

— Activité de chélation du cuivre

Le **Tableau III.9** montre les effets de chélation des ions de cuivre par les composés synthétisés, par rapport à l'EDTA utilisé comme standard de référence.

L'activité de chélation du cuivre est dose dépendante.

- L'activité inhibitrice du DHA commence à $50\ \mu\text{g}$ avec un pourcentage d'inhibition de 11,86 %, il atteint sa CI_{50} à $129,07\ \mu\text{g/mL}$ et commence à atteindre ses limites d'inhibition à partir de $400\ \mu\text{g}$.
- Le DHA-Ni quant à lui, débute son activité à $100\ \mu\text{g}$ avec un pourcentage d'inhibition de 41,09 %, il atteint sa CI_{50} à $179,83\ \mu\text{g/mL}$ ce qui est plus faible que l'activité du DHA seul.
- L'activité du complexe DHA-Co commence bien avant à une concentration de $25\ \mu\text{g}$ avec un pourcentage d'inhibition de 22,98 %, il arrive à sa CI_{50} à $158,11\ \mu\text{g/mL}$, et son activité plafonne à 86,50 % à une concentration de $800\ \mu\text{g}$.
- Concernant le DHA-Zn, son activité inhibitrice débute à $50\ \mu\text{g}$ avec un pourcentage d'inhibition de 24,60 %, augmente avec des concentrations plus élevées jusqu'à atteindre sa CI_{50} à $138,38\ \mu\text{g/mL}$ et plafonne à une concentration de

Tableau III.9 – Résultats de l'activité de chélation du cuivre.

| | 12.5 μg | 25 μg | 50 μg | 100 μg | 200 μg | 400 μg | 800 μg | IC_{50} $\mu\text{g/mL}$ |
|--------|--------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------------------|
| DHA | NA | NA | 11,86 \pm 1,47 | 46,79 \pm 1,04 | 78,28 \pm 3,01 | 88,39 \pm 0,45 | 91,47 \pm 0,81 | 129,07 \pm 5,93 |
| DHA-Ni | NA | NA | NA | 41,09 \pm 1,00 | 61,17 \pm 0,00 | 75,96 \pm 3,08 | 85,32 \pm 0,80 | 179,83 \pm 6,74 |
| DHA-Co | NA | 22.98 \pm 2.17 | 32.27 \pm 2.97 | 39,29 \pm 1,19 | 58,22 \pm 1,85 | 85,01 \pm 2,01 | 86,50 \pm 1,23 | 158,11 \pm 6,95 |
| DHA-Zn | NA | NA | 24,60 \pm 0,00 | 34,52 \pm 0,31 | 51,65 \pm 4,36 | 90,17 \pm 2,39 | Sat | 138,38 \pm 0,64 |
| DHA-Mn | NA | NA | 26,53 \pm 1,42 | 48,79 \pm 3,04 | 67,17 \pm 2,69 | 80,38 \pm 0,19 | 80,96 \pm 2,90 | 106,36 \pm 3,88 |
| EDTA | 4.03 \pm 1.83 | 17.45 \pm 2.52 | 42.68 \pm 2.92 | 74.61 \pm 1.81 | 89.42 \pm 1.26 | 90.91 \pm 0.55 | 90.94 \pm 0.57 | 59.04 \pm 0.56 |

400 μg avec un pourcentage d'inhibition de 90.91%.

- Enfin, le complexe du DHA-Mn montre la meilleure activité inhibitrice par rapport aux autres complexes avec une CI_{50} de 106,36 $\mu\text{g}/\text{mL}$, mais qui reste cependant loin de celle du standard estimée à 59,04 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

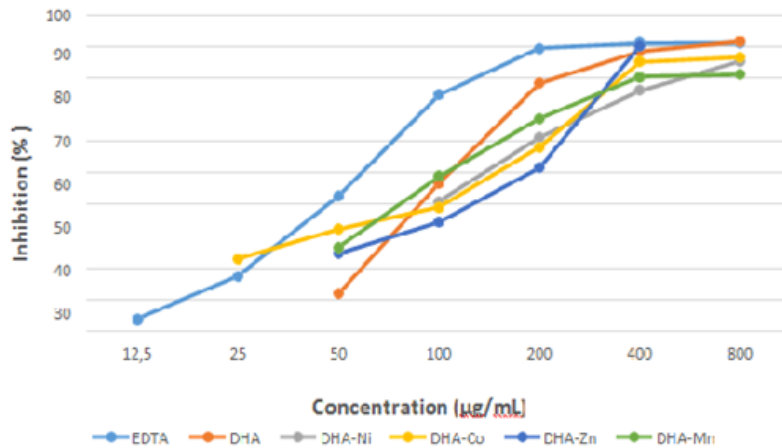


FIGURE III.20 – Courbes des pourcentages d'inhibition de l'activité de chélation du cuivre.

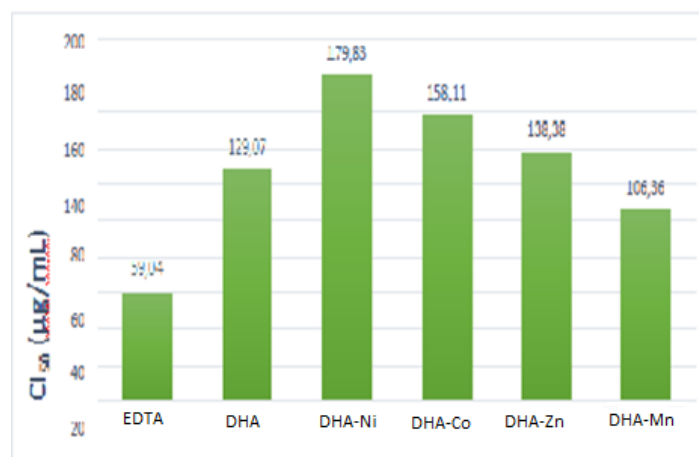


FIGURE III.21 – Valeurs des CI_{50} exprimées en $\mu\text{g}/\text{mL}$ pour l'activité de chélation du cuivre.

Il en résulte que tous les composés testés possèdent une activité antioxydante indirecte en chélatant l'ion de cuivre, mais le complexe DHA-Mn est celui qui a montré la meilleure activité relativement.

— **Activité enzymatique**

Tous les tests sont réalisés *in vitro* sur le DHA et ses chélates de métaux de transition, à une gamme de concentration allant de 3,125 à 200 μg .

— **Activité inhibitrice de l'uréase**

Les résultats de la capacité du DHA ainsi que ces complexes de métaux de transition à inhiber l'uréase sont représentés dans le **Tableau III.10** avec la thiourée comme standard.

- L'activité inhibitrice de l'uréase par le DHA seul commence à de faibles concentrations de l'ordre de 6,25 μg avec un pourcentage d'inhibition de 6,94 % puis augmente de manière très faible avec l'augmentation de la concentration, ainsi sa CI_{50} est supérieure à 200 $\mu\text{g/mL}$.
- Pour le complexe DHA-Ni, son activité débute également à 6,25 μg avec un pourcentage d'inhibition de 22,46 %, puis atteint sa CI_{50} à 10,38 $\mu\text{g/mL}$ qui est comparable à celle du standard utilisée (la thiourée) estimée à 11,57 $\mu\text{g/mL}$, ensuite, son activité plafonne à 200 μg avec un pourcentage d'inhibition de 94,20 %.
- Concernant le complexe DHA-Co, son activité commence à une concentration plus faible encore de 3,125 μg avec un pourcentage d'inhibition de 5,87 %, puis atteint sa CI_{50} à 10,62 $\mu\text{g/mL}$ et à 200 μg son activité est maximale 91,07 % se rapprochant ainsi de la thiourée.
- Quant au complexe DHA-Zn, il présente un pourcentage d'inhibition de 30,13 % largement supérieure à celui du standard à une concentration de 3,125 μg , indiquant une cinétique très rapide, et augmente avec l'augmentation de la concentration jusqu'à atteindre sa CI_{50} à 9,42 $\mu\text{g/mL}$ ce qui est inférieur à la thiourée ainsi que les complexes cités précédemment.

Tableau III.10 – Résultats de l'activité inhibitrice de l'uréase.

| Extracts | % Inhibition | | | | | | | | | | | IC_{50} $\mu\text{g/mL}$ |
|----------|---------------------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|--|--|--|--|----------------------------|
| | 3.125 μg | 6.25 μg | 12.5 μg | 25 μg | 50 μg | 100 μg | 200 μg | | | | | |
| DHA | NA | 6,94 \pm 2,96 | 10,68 \pm 2,08 | 18,27 \pm 1,48 | 26,44 \pm 0,82 | 27,98 \pm 3,69 | 41,67 \pm 0,98 | | | | | > 200 |
| DHA-Ni | NA | 22,46 \pm 1,66 | 62,47 \pm 1,98 | 76,30 \pm 6,26 | 89,26 \pm 2,58 | 93,37 \pm 0,75 | 94,20 \pm 0,45 | | | | | 10,38 \pm 0,28 |
| DHA-Co | 5,87 \pm 3,62 | 12,01 \pm 0,13 | 66,31 \pm 0,02 | 80,53 \pm 1,40 | 86,24 \pm 0,57 | 89,15 \pm 0,71 | 91,07 \pm 0,67 | | | | | 10,62 \pm 0,01 |
| DHA-Zn | 30,13 \pm 4,51 | 39,29 \pm 2,87 | 62,25 \pm 1,71 | 82,30 \pm 0,85 | 85,29 \pm 1,51 | 86,85 \pm 0,97 | Sat | | | | | 9,42 \pm 0,66 |
| DHA-Mn | 17,64 \pm 0,40 | 40,66 \pm 1,18 | 70,97 \pm 3,76 | 78,76 \pm 3,28 | 81,91 \pm 2,12 | Sat | Sat | | | | | 8,20 \pm 0,39 |
| Thiourea | 4,49 \pm 0,78 | 19,85 \pm 2,74 | 55,64 \pm 4,24 | 94,17 \pm 0,15 | 98,42 \pm 0,19 | 98,49 \pm 0,41 | 98,90 \pm 0,05 | | | | | 11,57 \pm 0,68 |

- Le meilleur résultat est obtenu avec le complexe DHA-Mn qui commence également à 3,125 μg avec un pourcentage d'inhibition de 17,64 %, puis cette activité atteint sa CI_{50} à 8,20 $\mu\text{g/mL}$, le pourcentage d'inhibition plafonne à 50 μg avec une valeur de 81,91 % qui est proche de celle de la thiourée.

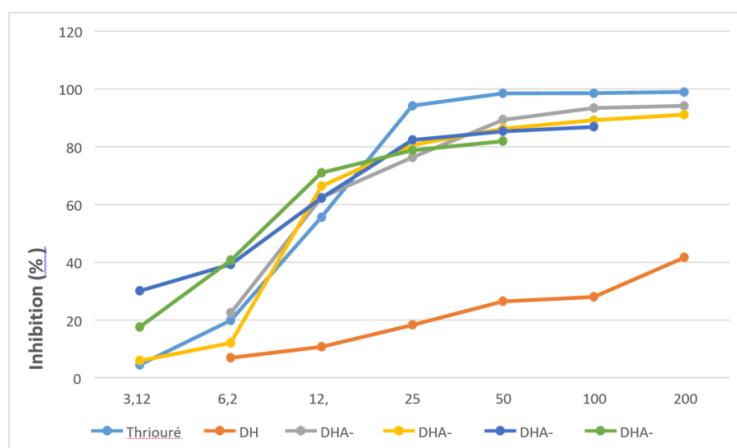


FIGURE III.22 – Courbes des pourcentages d'inhibition de l'activité inhibitrice de l'uréase.

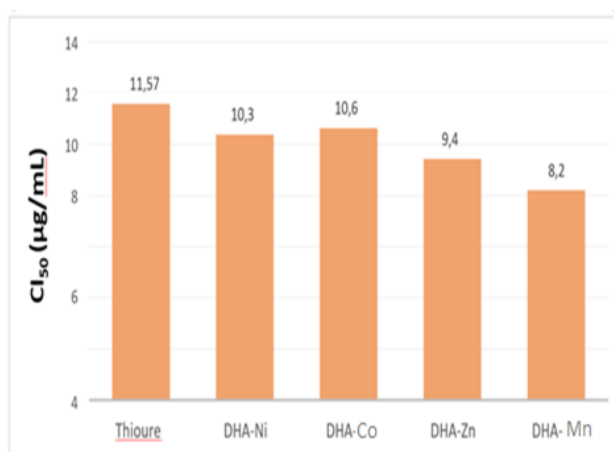


FIGURE III.23 – Valeurs des CI_{50} exprimées en $\mu\text{g/mL}$ pour l'activité inhibitrice de l'uréase.

Ainsi tous les complexes organométalliques synthétisés montrent une activité inhibitrice de l'uréase très prononcée qui talonne celle du standard utilisé la thiourée tant en terme de réactivité que de vitesse de réaction.

Relation structure-activité RSA

Le modèle mathématique pour corréler l'activité biologique et la structure chimique qui a révolutionné le domaine de la recherche des médicaments n'a été élaboré seulement que par Corwin Hansch qu'au début des années soixante, bien que l'étude de la relation structure-activité ait commencé à la fin du 19^{ème} siècle. Au cours des quarante dernières années, le domaine a largement progressé et plusieurs articles de synthèse couvrant différents aspects de ce domaine ont été publiés⁵⁷.

III.6 Activité antioxydante

Les antioxydants font l'objet de nombreuses études non seulement pour leur intérêt certain dans la conservation alimentaire, ils pourraient également s'avérer efficaces dans la prophylaxie et le traitement de pathologies dans lesquelles le stress oxydant est impliqué.

L'activité antioxydante d'un composé particulier est généralement liée à sa capacité à piéger les radicaux libres, à les décomposer ou éventuellement agir en tant que chélateurs de métaux ou en synergie avec d'autres composants présents.

Les antioxydants de sources naturelles sont souvent présents dans des combinaisons impliquant de nombreux composés différents. Chaque composé peut être présent avec son ou ses précurseurs et son ou ses produits de réaction. Ainsi, le mode d'action des sources naturelles des antioxydants peuvent être variées et peuvent impliquer plusieurs mécanismes d'action, en fonction du type et de la source des matériaux utilisés⁵⁸.

Les antioxydants les plus largement utilisés dans les aliments sont l'hydroxyanisolebutylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHT), gallate de propyle (PG) et tert-butyl hydroquinone (TBHQ). L'utilisation des antioxydants synthétiques dans les aliments remonte aux années 1940, quand il a été constaté que le BHA retardait l'oxydation. Il était également évident que les effets néfastes des métaux de transition tels que le fer

57. Asim Kumar DEBNATH. « Quantitative structure-activity relationship (QSAR) paradigm—Hansch era to new millennium. » In : *Mini reviews in medicinal chemistry* 1.2 (2001), p. 187-195.

58. F SHAHIDI. « Antioxidants in food and food antioxidants ». In : *Food/nahrung* 44.3 (2000), p. 158-163.

et le cuivre ont dû être neutralisés. Ainsi, certains acides tels que l'acide citrique (AC), l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) ou leurs dérivés, se sont avérés agir en tant qu'agents chélatants en combinaisons avec les antioxydants phénoliques⁵⁹.

Le BHT et BHA ont une importance particulière, car ils sont les antioxydants alimentaires les plus utilisés. Ces antioxydants sont fortement lipophiles, et assez thermostables⁶⁰, par contre les antioxydants naturels comme la vitamine E ne résistent pas à la friture et à la cuisson au four contrairement aux antioxydants synthétiques, qui peuvent survivre à ces processus, de plus, ils sont volatils, ainsi, ils diffusent facilement dans les lipides alimentaires et inhibent l'oxydation lorsqu'ils sont incorporés dans des matériaux d'emballage alimentaire⁶¹.

Plusieurs études ont démontré l'importance de la combinaison synergique des antioxydants pour tirer parti de leurs différents types d'efficacité. Des combinaisons spécifiques permettent :

- D'éviter ou de minimiser les problèmes de solubilité ou de couleur présentés par les antioxydants individuels.
- Un meilleur contrôle et exactitude de l'application.
- Une distribution plus complète des antioxydants et agents chélatants dans les graisses et les huiles.
- La manipulation facile de certaines combinaisons d'antioxydants que des composés antioxydants individuels⁶².

Pour essayer de comprendre le mécanisme de réaction d'un complexe de métal de transition en tant qu'antioxydant, il faut connaître son environnement. Un complexe ou com-

59. R AMAROWICZ et F SHAHIDI. « Partial characterization of natural antioxidants in canola meal ». In : *Food Research International* 29.1 (1996), p. 71-76.

60. Rojita MISHRA et Satpal Singh BISHT. « Antioxidants and their charecterization ». In : *Journal of Pharmacy Research* 4.8 (2011), p. 2744-2746.

61. DI L MADHAVI, SS DESHPANDE et Dattajirao K SALUNKHE. *Food antioxidants : Technological : Toxicological and health perspectives*. CRC Press, 1995.

62. A Larry BRANEN et al. *Food additives*. CRC Press, 2001.

posé de coordination peut être neutre, chargé positivement ou négativement selon la nature et la charge de ses composants dont le métal, qui le plus souvent, est chargé positivement.

Les sphères sont les différentes couches de molécules entourant le cation central. Ainsi dans un complexe, on a du plus proche au moins proche du cation :

- **La sphère de coordination interne (ou 1ère sphère de coordination)** : les molécules de solvant et, parfois, des anions, sont directement fixés sur le cation. Cette zone peut être souvent bien caractérisée (nombre et position des ligands).

- **La sphère de coordination externe (ou 2ème sphère de coordination)** : les molécules de solvant et les anions sont orientés par le champ électrique du cation, mais ne sont pas directement fixés sur lui. Ils peuvent cependant y être reliés par des ponts hydrogène. Cette zone est difficile à analyser.

- **Le solvant (ou la sphère de solvation)** : non influencé par le cation. Il stabilise le complexe.

Des échanges se déroulent continuellement entre le solvant et les sphères de coordination, si bien qu'il faut considérer l'édifice complexe comme étant une structure moyenne. Lorsqu'un cation se déplace au sein d'une solution, il emporte avec lui ses deux sphères de coordination⁶³. En se basant sur ça, les trois sites de coordination de nos complexes synthétisés peuvent être à l'origine du transfert d'électrons et donc de leur pouvoir antioxydant ou antiradicalaire.

On parle donc d'un effet de synergie de tout le complexe. Les électrons de valence de la couche "d" des métaux de transition peuvent nous orienter pour expliquer ce phénomène mais on suppose que la molécule entière est en train d'interagir et pas seulement le métal. Le complexe DHA-Mn est celui qui s'est démarqué parmi les autres complexes et a montré une meilleure activité antioxydante, car il a plus tendance à réagir que les autres (plus réactif). Cela peut être expliqué par un nombre d'électrons plus faible sur sa couche ex-

63. Benjamin FAURE. « Synthèse et caractérisation de nouveaux catalyseurs hétérogènes pour la dépollution de l'air ». Thèse de doct. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier, 2014.

terne 3d (**Tableau III.11**) et donc il aura tendance à les donner pour se stabiliser, ou encore assurer la labilité et par conséquent la réactivité de l'hydrogène de la fonction hydroxyle. Ce qui peut se résumer par un transfert de charge (e^-) suivie par un don de protons (H^+).

Tableau III.11 – Configuration électronique des différents métaux de transition chélatés.

| Le métal | Configuration électronique | Electrons sur la couche externe |
|-----------|----------------------------|---------------------------------|
| Nickel | [Ar] $3d^8 4s^2$ | 8 électrons |
| Cobalt | [Ar] $3d^7 4s^2$ | 7 électrons |
| Zinc | [Ar] $3d^{10} 4s^2$ | 10 électrons |
| Manganèse | [Ar] $3d^5 4s^2$ | 5 électrons |

III.7 Activité enzymatique

Les études sur les inhibiteurs d'enzymes sont devenues un domaine très important de la pharmacologie, de par la découverte de plusieurs molécules qui ont permis de guérir de nombreuses pathologies. Dans ce domaine les inhibiteurs d'uréase ont suscité un intérêt certain pour leur potentiel antiulcéreux⁶⁴.

Bien que L'uréase fût la première enzyme à être cristallisée, cependant son mécanisme d'action reste très méconnu. A cette fin une revue bibliographique⁶⁵, portant sur des acides hydroxamiques (des composés synthétiques) comme une classe importante d'inhibiteurs de l'uréase, caractérisés par leur fonctionnalité terminale $O=C-NHOH$, a été prise comme référence afin de comparer le mécanisme d'action des complexes métallique de l'acide déhydroacétique DHA de cette étude portant une fonction similaire ($O=C$), et essayer de trouver une hypothèse à la relation structure activité. Il a été relevé dans cette revue que :

- L'exacte connaissance des sites actifs où se forment les liaisons enzyme-inhibiteur, est le point de départ pour le design de nouveaux inhibiteurs potentiellement effi-

64. Bernard RUBIN, Michael J ANTONACCIO et Zola P HOROVITZ. « Captopril (SQ 14,225)(D-3-mercapto-2-methylpropanoyl-L-proline) : a novel orally active inhibitor of angiotensin-converting enzyme and antihypertensive agent ». In : *Progress in cardiovascular diseases* 21.3 (1978), p. 183-194.

65. Z AMTUL, RA SIDDIQUI, MI CHOUDHARY et al. « Chemistry and mechanism of urease inhibition ». In : *Current medicinal chemistry* 9.14 (2002), p. 1323-1348.

caces, plus spécifiques et moins toxiques.

- Dans toutes les structures des complexes enzyme-inhibiteur de l'uréase étudiées jusqu'à présent, le site actif est démontré comme étant un pseudo octaèdre, paramagnétique contenant deux atomes de Ni⁶⁶.
- Seulement les groupements fonctionnels portant des atomes électronégatifs comme l'oxygène, l'azote et le soufre peuvent donner des ligands bidentés ou plus rarement tridentés ou des chélates afin de former un complexe octaédrique avec les deux atomes de Ni constituant les centres actifs de l'enzyme.
- Les acides hydroxamiques sont de bons chélateurs de métaux, de plus des analyses spectroscopiques ont montré que leur mécanisme d'action implique des liaisons avec les sites métalliques actifs de l'enzyme.

Plusieurs modèles expliquant leur mécanisme d'action ont été rapportés :

Le model Zerner⁶⁷ : Selon ce modèle de liaison Enzyme-Inhibiteur, l'acide hydroxamique se coordonne de façon bidentée avec les deux nickel où l'un des ions Ni (II) de l'uréase est lié à une molécule H_2O et l'autre est coordonnée par un ion hydroxyde OH⁻. Cette forme est stabilisée par l'anion de la base non identifiée du site actif. Une attaque nucléophile de l'ion OH⁻ coordonné du Ni sur l'oxygène carbonyle de l'inhibiteur entrainera la formation d'un complexe qui inactive l'enzyme (**Figures III.24**^{67, 68} **et III.25**⁶⁹). Ce modèle a été confirmé par des études qui ont montré que l'affinité de l'inhibiteur diminue à pH acide car l'efficacité de l'attaque nucléophile est affectée négativement à pH bas.

66. Patrick A CLARK et Dean E WILCOX. « Magnetic properties of the nickel enzymes urease, nickel-substituted carboxypeptidase A and nickel-substituted carbonic anhydrase ». In : *Inorganic Chemistry* 28.7 (1989), p. 1326-1333.

67. Robert L BLAKELEY et al. « Jack bean urease (EC 3.5. 1.5). Demonstration of a carbamoyl-transfer reaction and inhibition by hydroxamic acids ». In : *Biochemistry* 8.5 (1969), p. 1991-2000.

68. Richard H DIXON et Wendell F ROSSE. « Platelet antibody in autoimmune thrombocytopenia ». In : *British journal of haematology* 31.2 (1975), p. 129-134.

69. Z AMTUL, RA SIDDIQUI, MI CHOUDHARY et al. « Chemistry and mechanism of urease inhibition ». In : *Current medicinal chemistry* 9.14 (2002), p. 1323-1348.

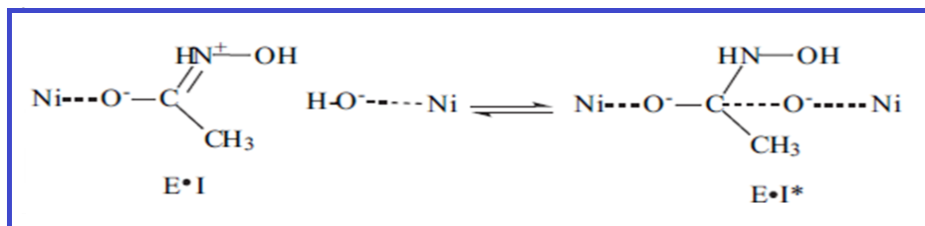


FIGURE III.24 – Site actif de l'uréase selon le modèle de Zerner

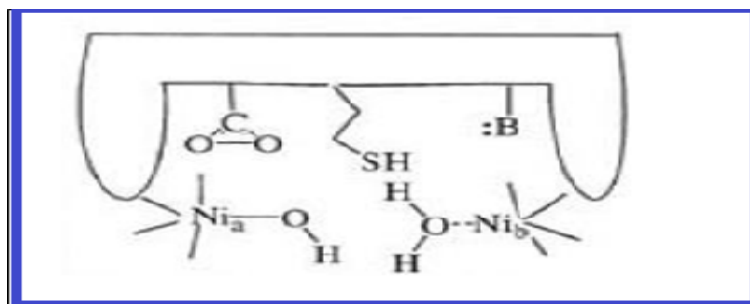


FIGURE III.25 – Réaction de complexation de l'enzyme (E) avec l'inhibiteur (I) : $E \bullet I$ = Complexe Enzyme-inhibiteur , $E \bullet I^*$ = complexe enzyme-inhibiteur stable.

Le modèle Stemmler En 1995, Stemmler et ses collaborateurs, se sont intéressés à la cristallisation de l'acétohydroxamique en coordination avec le site actif bi nucléaire de Ni, et à déterminer pour la première fois la structure du complexe par la méthode de diffraction des rayons X (**Figure III.26**). Ils ont donc montré que l'acide acétohydroxamique était lié aux deux atomes de nickel de manière bidentée pontés par l'oxygène du carbonyle hydroxamate. Le modèle d'inhibition de l'uréase par les acides hydroxamiques est bi phasique impliquant la formation d'un complexe bidenté entre l'oxygène carbonyle de l'hydroxamate et l'ion nickel de l'enzyme est largement accepté. Cela est suivi de l'attaque nucléophile d'un anion hydroxyle lié à l'ion nickel (II) sur le carbone carbonyle de l'hydroxamate pour former un complexe Enzyme-Inhibiteur plus stable. La figure ci-dessous montre les modèles de l'inhibition bi phasique de l'acide hydroxamique proposés par Stemmler (**Figure III.26**⁷⁰).

70. Z AMTUL, RA SIDDIQUI, MI CHOUDHARY et al. « Chemistry and mechanism of urease inhibition ». In : *Current medicinal chemistry* 9.14 (2002), p. 1323-1348.

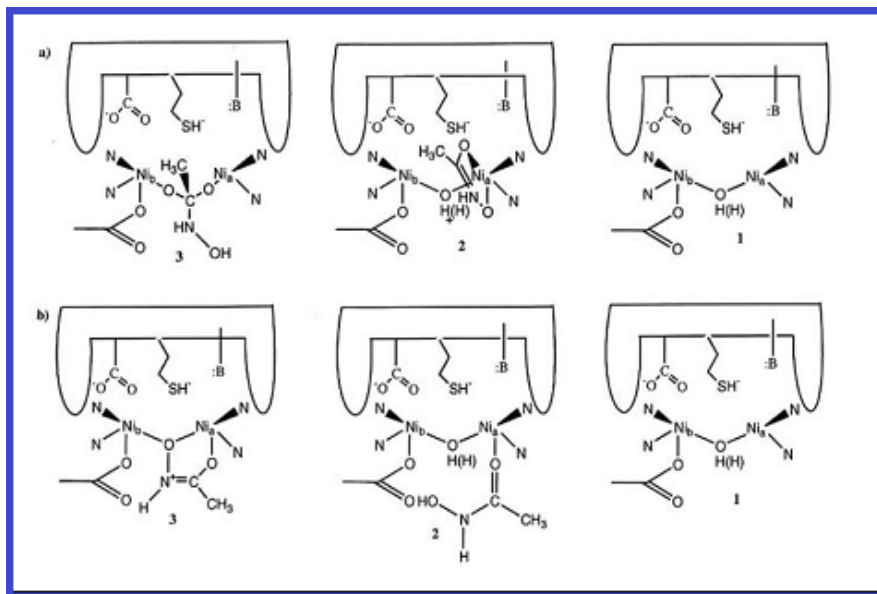


FIGURE III.26 – Modèle de Stemmler de conversion structurale pour l'inhibition biphasique de l'uréase par l'acide hydroxamique. **a)** centre binucléaire Ni de l'enzyme hydrolytique : où les deux ions Ni sont liés par des atomes d'azote de quatre His imidazoles, un groupe COO⁻ du résidu Lys carbamylé, un autre groupe COO⁻ issu d'un résidu Asp et une molécule H₂O. **b)** liaison bidentée de l'acide acétohydroxamique au Ni par l'intermédiaire des oxygènes d'hydroxamate et de carbonyle

Bien que ces acides hydroxamiques présentent des candidats médicaments efficaces, mais ils ne sont pas encore effectifs en tant que médicaments, des études sont en cours de recherche afin de mieux comprendre leur mécanisme d'action.

En se basant sur le mécanisme d'action des acides hydroxamiques, on peut supposer que nos complexes synthétisés fonctionnent de la même manière puisqu'ils contiennent un groupement carbonyle, qui permet de faire l'attaque acide et basique afin de ponter et ainsi bloquer les deux centres métalliques Ni pour les désactiver.

Le fait que les complexes organométalliques étudiés soient plus efficaces en terme de cinétique, de pourcentage d'inhibition et de la CI50 que la molécule mère le DHA peut être expliqué par un transfert de charge (rôle de cofacteurs) assuré par les métaux de transition qui catalysent l'ensemble de la réaction. Cela explique l'accélération de l'effet inhibiteur des complexes métalliques avec une forte activité inhibitrice à de faibles concentrations contrairement au DHA seul.

Les nouveaux complexes métalliques du DHA ont montré un potentiel inhibiteur de l'uréase très intéressant qui peut attirer beaucoup d'attention dans le domaine de l'in-

dustrie pharmaceutique en tant que candidats médicaments antiulcéreux.

III.8 Conclusion

La nouvelle série de complexes synthétisés, ainsi que leur molécule mère, ont été soumises à une batterie de tests biologiques *in vitro*, afin d'évaluer leur potentiel antibactérien, antifongique, antioxydant et anti enzymatique, à travers l'étendue de leurs capacités à piéger plusieurs radicaux libres : le cation radical $ABTS^{\bullet+}$, à inhiber le blanchiment du β -carotène, à chélater les métaux de fer et de cuivre, tous deux impliqués dans la réaction de Fenton, et à inhiber l'uréase.

Ces complexes métalliques se sont avérés capables de bloquer les réactions d'oxydation testées, notamment le complexe DHAMn qui a présenté une activité remarquable.

L'activité enzymatique inhibitrice de l'uréase a également montré le fort pouvoir inhibiteur des quatre complexes organométalliques.

Les complexes ayant montré une bonne activité antioxydante sont :

- Le complexe DHANi qui a montré une bonne activité chélatrice du fer avec une CI_{50} estimée à $14,53 \mu\text{g/mL}$, proche de celle du standard EDTA ($CI_{50}=8,80 \mu\text{g/mL}$).
- Le complexe DHAMn est celui qui s'est démarqué parmi tous les autres complexes pour les autres activités avec une CI_{50} de $22,69 \mu\text{g/mL}$ dans le test du β -carotène, une CI_{50} estimée à $258,36 \mu\text{g/mL}$ dans le test de piégeage du radical ABTS, enfin ce complexe a montré également la meilleure activité chélatrice du cuivre avec une CI_{50} de $106,36 \mu\text{g/mL}$.
- Le DHA seul et ses complexes de Ni, Zn et Mn ont présenté une activité chélatrice du fer avec des absorbances comparables pour l'activité de chélation du fer par UV-Vis.
- Tous les complexes ont présenté une activité inhibitrice de l'uréase remarquable et comparable à celle du standard la thiourée ($CI_{50}= 11.57\mu\text{g/mL}$), particulièrement le complexe DHA-Mn, avec une CI_{50} très prononcée estimée à $8,20 \mu\text{g/mL}$.

Ce travail nous a permis d'établir la relation structure-activité (RSA) des différents complexes et de confirmer le fait que les métaux de transition augmentent l'activité biologique des ligands auxquels ils sont chélatés.

Les résultats obtenus sont prometteurs et ouvrent de larges perspectives quant à leur exploitation pratique dans la conception de médicaments.

Chapitre IV

Synthèse, caractérisation et activité biologique de quelques BZD : étude préliminaire



IV.1 Introduction

Dans ce chapitre, quatre molécules ont été synthétisées à partir d'une base de Schiff dérivée de l'acide déhydroacétique et un R-benzaldéhyde, les produits de cette réaction sont dit Benzodiazépines (BZD). Des études préliminaires sur la relation structure-activité ont révélé que les composés ayant un fragment donneur d'électrons ($OH - OCH_3$) sont d'excellents antioxydants et que les composés ayant un fragment électron donneur (Cl) sont d'excellents agents anti-inflammatoires Taqui Khan et col., 1992..¹ Il s'agira d'évaluer le potentiel biologique, des composés synthétisés ainsi que leur précurseur DHA, que l'ont soumettra a une série de tests préliminaires pour démontrer leur potentiel antioxydant.

IV.2 Synthèse des BZD

La synthèse se fait en deux étapes : la première consiste à la formation de la base de Schiff par la condensation de l'acide déhydroacétique (DHA) et orthophénylénédiamine l'(OPDA), la deuxième étape, c'est la synthèse de la famille de 1,5 Benzodiazépines à partir de la base de Schiff obtenue avec un Benzaldéhyde substitué, qui est une réaction de formation de cycle substitué en position 1 et 5 et ce afin de voir l'effet de la substitution sur l'activité biologique.

IV.2.1 Synthèse de la base de Schiff

Dans un ballon, 1,68 g de DHA sont dissouts dans 20 mL d'éthanol puis 1,08 g de l'OPDA sont ajoutés, le tout est porté au reflux pendant 1h30mn sous agitation, pour aboutir à la base de Schiff² sous forme d'une poudre blanchâtre, cette dernière a été recristallisée dans l'éthanol, (**Schéma IV.1**).

1. MM TAQUI KHAN et al. « Synthesis of the monooxoruthenium (V) complexes containing the amino polycarboxylic acid ligands EDTA and PDTA and their reactivities in the oxidation of organic substrates. X-ray crystal structures of K [RuIII (EDTA-H) Cl]. 2H₂O and K [RuIII (PDTA-H) Cl]. 0.5 H₂O ». In : *Inorganic chemistry (Print)* 31.13 (1992), p. 2711-2718.

2. KHOUDOUR LEILA. « Synthèse et caractérisation de certains composés hétérocycliques ». Mém. de mast. Algérie : Université de Sétif 1 - Ferhat Abbas, 2002.

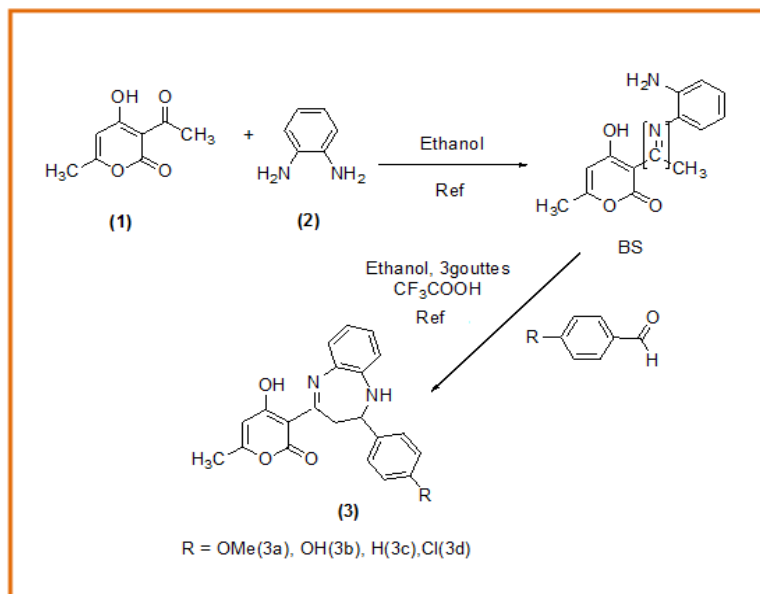


Schéma IV.1 – Synthèse des 1,5 Benzodiazépines.

IV.2.2 Synthèse des benzodiazépines

À un mélange équimolaire, de la base de Schiff (10 mmol), et de benzaldéhydesubstitué (10mmol), (4-méthoxy=3a, 4-hydroxy=3b, 4-H=3c et 4-chloro=3d), dissout dans 20 mL d'éthanol, on ajoute quelques gouttes d'acide trifluoroacétique (CF_3COOH) comme catalyseur. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant un temps de réaction qui varie de 6h à 8h, pour accéder à une famille de 1,5 Benzodiazépines (**3a-3d**) sous forme d'une poudre, ces dernières ont été recristallisées dans l'éthanol selon le **Schéma** de synthèse IV.1.

Protocole expérimental :

- **3a pour R=H** : 1,37 g (0,01 mol) de 4-OCH₃-benzaldéhyde et 2,58g (0,01 mol) de base de Schiff sont dissous dans 15 mL d'éthanol en rajoutant quelques gouttes d'acide trifluoroacétique, le tout est laissé sous agitation et au reflux pendant 6h à 8h.
- **3b pour R= 4-OH** : Une masse de 1,23 g (0,01 mol) de 4-OH-benzaldéhyde et 2,58 g(0,01 mol) de base de Schiff ont été mélangées dans 15 mL d'éthanol en présence

de quelques gouttes d'acide trifluoroacétique. La solution est portée au reflux sous agitation magnétique de 6h à 8h.

- **3c pour R= 4-OH** : Une pesée de 1,07 g (0,01 mol) de 4-H-benzaldéhyde est rajoutée à 2,58g (0.01 mol) de base de Schiff, le tout est dissous dans 15 mL d'éthanol en présence d'acide trifluoroacétique et agité au reflux pendant 6h.
- **3d pour R= 4-Cl** : 1,41 g (0,01 mol) de 4-Cl-benzaldéhyde a été dissous dans 15 mL d'éthanol avec 2,58g de base de Schiff en présence d'acide trifluoroacétique, le tout est laissé sous agitation au reflux durant 6h.

Le **Tableau IV.1** ci-dessous résumant les principales caractéristiques de nos composés :

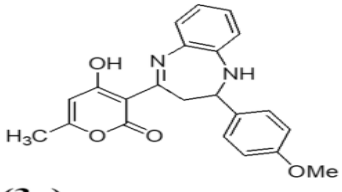
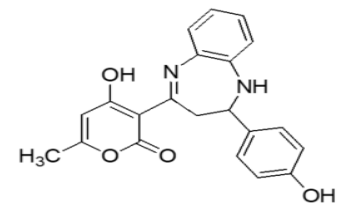
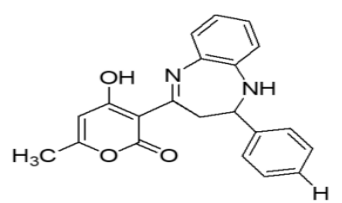
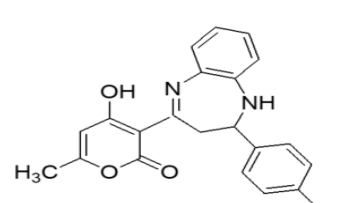
Tableau IV.1 – Données analytiques des Benzodiazépines synthétisées. (**Annexes**)

| Composé | Couleur | Rdt % | Tf°C |
|---------|---------|-------|---------|
| 3a | Jaune | 80 | 224 |
| 3b | Jaune | 85 | 237 |
| 3c | Jaune | 76 | 209-110 |
| 3d | Jaune | 82 | 219 |

IV.3 Étude Spectroscopique

L'enregistrement des spectres infrarouge (IR) nous a permis de tirer les informations suivantes sur la structure de chaque composés (**Tableau IV.1**).

Tableau IV.2 – Données IRdes benzodiazépines.

| Composé | Fonction | Bande d'absorption (cm^{-1}) |
|--|--|---|
|  <p>(3a)</p> | ν OH (alcool) ν -O - C = O ν C = N (imine) ν C - N (amine) | 3325,81 1703,47 1595,46 – 1642, 46 1030,89 |
|  <p>(3b)</p> | ν O - H (alcool lié du DHA) ν C = N (imine) ν O - C = O ν C - N (amine) ν C - O (alcool) | 3233,37 1674,18 1648, 10 – 1674, 18 1223, 17 – 1347, 62 1054,09 |
|  <p>(3c)</p> | ν O - H (alcool) ν N - H (amine) ν -O - C = O ν C = N (imine) ν C - N (amine) | 3462, 69 – 3219, 71 3350,28 1692,82 1632,69 1264,71 |
|  <p>(3d)</p> | ν O - H (alcool) ν N - H(amine) ν -O - C = O ν C = N (imine) ν C - N (amine) ν C - Cl | 3344 3068 1662 1698 1214 754 |

Les spectres IR des quatre composés ont permis de sélectionner et discuter les différentes bandes de vibrations des groupements fonctionnels.

L'analyse du spectre IR de ces composés montre une bande d'absorption entre 3325,81 cm^{-1} et 3462,69 attribuable au (OH) d'alcool. Une bande intense et fine vers 1692,82 et 1703,47 cm^{-1} indique la présence d'une liaison C=O (carbonyle cétone) ainsi que la liaison indiquant la fonction imine C=N vers 1642,46 cm^{-1} . Une bande caractéristique de la liaison C-OH d'un alcool primaire est apparue à 1030,89 cm^{-1} , une autre bande apparaît

entre 1200 à 1300 cm^{-1} est attribuée à la liaison C-N de la fonction amine, l'absorption enregistrée à 1595,46 correspondants à la double liaison C=C du cycle aromatique.

IV.4 Evaluation des activités biologiques des composés BZD synthétisés

IV.4.1 Protocole de l'activités antioxydantes

L'activité antioxydante de chaque composé synthétisé a été évaluée par trois méthodes : piégeage du radical hydroxyle OH^\bullet , réduction du fer (FRAP) et réduction du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . Les BZD synthétisées ont été testées *in vitro*, une gamme de concentration de 7,8125 à 1000 $\mu g/mL$ a été suivie durant ces tests. Quant au témoin positif, l'acide ascorbique, une gamme de concentration de 1,953 à 250 $\mu g/mL$ a été mise au point.

Protocole de l'activité du piégeage du radical hydroxyle

Ce test qui permet d'évaluer la capacité des composés synthétisés à piéger les radicaux hydroxyles a été conduit selon un protocole décrit par *Smirnoff et Cumbes, 1989*.³

Un volume de 0,24 mL de sulfate de fer $FeSO_4$ [8 mM Sulfate de fer ($FeSO_4, 7H_2O$) : 111,2 mg de ($FeSO_4, 7H_2O$) dans 10 mL H_2O], 0,2 mL de peroxyde d'hydrogène [20 mM H_2O_2 : (30 μL H_2O_2 + 99,7 mL H_2O)] et 0,80 mL d'acide salicylique (3mM acide salicylique : 4 mg d'acide salicylique dans 10 mL H_2O) ont été ajoutés aux composés à tester. Après incubation à $37^\circ C$ pendant 30 min, 36 mL H_2O est ajouté aux mélanges. L'absorbance est mesurée à 510 nm.

Protocole de l'activité du pouvoir réducteur de Fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur (PR) des différents composés synthétisés a été évalué en appliquant le protocole décrit par *Oyaizu, 1986*.⁴ Un volume de 0,4 mL de tampon phosphate

3. Nicholas SMIRNOFF et Quinton J CUMBES. « Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes ». In : *Phytochemistry* 28.4 (1989), p. 1057-1060.

4. Makoto OYAIZU. « Studies on Products of Browning Reaction ». In : *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics* 44.6 (1986), p. 307-315. DOI : 10.5264/eiyogakuzashi.44.307.

(pH 6,6) et 0,5 mL de potassium ferricyanide (1%) $K_3Fe(CN)_6$ (1 g de $K_3Fe(CN)_6$ dans 100 mL H_2O) ont été mélangés à 0,1 mL de composés à tester à différentes concentrations. Après incubation de 20 min dans le bain marie à 50°C, 0,5 mL d'acide trichloroacétique (TCA) (10%) (1 g de TCA dans 10 mL H_2O) et 0,4 mL H_2O ainsi que 0,1 mL de ferric-chloride $FeCl_3$ (0.1%) (0,1 g de $FeCl_3$ dans 100 mL H_2O) ont été rajoutés aux différentes concentrations. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc, le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des composés testés *Singleton et Rossi, 1965*.⁵

Protocole de l'activité peroxyde d'hydrogène

Cette activité a été estimée par la méthode de *Ruch et al., 1989*.⁶ Un volume de 0,1 mL H_2O_2 solution [40mM dans phosphate buffer Ph 7,4 (63 μ L H_2O_2 + 19,94 mL phosphate buffer, Ph 7,4)] est ajouté à 0,1 mL de composé à tester à différentes concentrations. Le mélange obtenu est incubé pendant 10 min. L'absorbance du mélange est mesurée à 230 nm. Les résultats obtenus ont été comparés à celui de l'antioxydant standard (acide ascorbique).

IV.4.2 Activité antimicrobienne

D'après une recherche bibliographique effectuée sur les bases de Schiff ainsi que les dérivés du DHA et après un rappel à propos des souches bactériennes et la souche fongique testées, l'activité antimicrobienne *in vitro* des benzodiazépines synthétisées vis-à-vis d'un type fongique (*Trichoderma harzianum* Rifai) et quatre types de bactérie : trois bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603) et une bactérie à Gram positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923).

5. Vernon L SINGLETON et Joseph A ROSSI. « Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents ». In : *American journal of Enology and Viticulture* 16.3 (1965), p. 144-158.

6. Randall J RUCH, Shu-jun CHENG et James E KLAUNIG. « Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea ». In : *Carcinogenesis* 10.6 (1989), p. 1003-1008.

Cet effet, Les composés synthétisés (3a-3d) ont été soumis à des tests de sensibilité antimicrobienne en suivant la méthode de diffusion des disques sur milieu solide *Parekh et Chanda, 2007*⁷ ; *Dulger et Gonuz, 2004*,⁸ ces derniers mesurent 6 mm de diamètre, de papier Whatman, imbibés de volumes de solutions des composés testés puis déposés dans des milieux gélosés préalablement préparés (la gélose de Mueller Hinton pour les bactéries et la gélose Sabouraud qui est un milieu d'isolement des Fungi (levures et moisissures)) ensemencés par les suspensions bactériennes et fongiques. L'incubation des milieux de cultures dure 24h à 37°C, si les composés testés possèdent un pouvoir antimicrobien, des zones d'inhibition autour des disques seront observées.

Protocole de l'activité antimicrobienne

(a) Préparation des solutions

1 mg de chaque composé synthétisé ont été pesés et solubilisés dans 1 mL de DMSO afin d'obtenir les solutions mères de 1000 µg/mL.

(b) Préparation de la suspension microbienne

En utilisant une culture pure des bactéries à tester sur un milieu d'isolement (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) et *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603)) et une culture fongique

(*Trichoderma harzianum* Rifai) et en suivant la méthode des stries, quelques colonies bien séparées ont été repiquées par une anse de platine stérile.

Décharger l'anse dans 10 mL de bouillon nutritif et porter la suspension à l'incubation pendant (18-24) heures à 37°C.

(c) Préparation des milieux de cultures

Afin de tester l'activité antibactérienne des composés synthétisés, nous avons préparé des milieux de cultures en coulant la gélose (Mueller Hinton) dans des boîtes de Pétri stériles. La gélose spécifique aux champignons dite Sabouraud, a été coulée

7. Jigna PAREKH et Sumitra CHANDA. « Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plants ». In : *African Journal of Biomedical Research* 10.2 (2007).

8. B DULGER, A GONUZ et F GUCIN. « Antimicrobial activity of the macrofungus *Cantharellus cibarius* ». In : *Pakistan Journal of Biological Sciences (Pakistan)* (2004).

dans des boîtes de Pétri stériles afin de tester le pouvoir antifongique des composés synthétisés. Avant d'entamer le travail, il faut attendre qu'elles se solidifient.

(d) Ensemencement

Près du bec bunsen, les milieux de cultures préalablement préparés sont ensemencés par étalage à l'aide d'un râteau stérile. L'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries et des champignons.

(e) Préparation des disques

Cette étape consiste à imprégner des disques en papier Whatman de 6 mm de diamètre dans 10 μ L de solutions mères contenant les composés synthétisés, puis les poser délicatement sur la surface de la gélose de Mueller Hinton pour les bactéries, et sur la gélose de Sabouraud pour les champignons. L'activité antimicrobienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37°C et est mesurée à l'aide d'une règle.

IV.5 Résultats et discussion des activités biologiques *in vitro*

IV.5.1 Activités antioxydantes

Activité du piégeage du radical hydroxyle

Les résultats obtenus pour ce test sont regroupés dans les **Tableaux IV.3 et IV.4**.

Tableau IV.3 – Résultats de l'activité du piégeage du radical hydroxyle.

| C $\mu\text{g/mL}$ | 7,8125 | 15,625 | 31,25 | 62,5 | 125 | 250 | 500 | 1000 | A0.5 $\mu\text{g/mL}$ |
|--------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------------|
| 3a | 0,37 ± 0,0 | 0,37 ± 0,0 | 0,36 ± 0,0 | 0,37 ± 0,0 | 0,39 ± 0,0 | 0,39 ± 0,0 | 0,39 ± 0,0 | 0,49 ± 0,0 | >1000 |
| 3b | 0,36 ± 0,0 | 0,36 ± 0,0 | 0,39 ± 0,0 | 0,36 ± 0,0 | 0,37 ± 0,0 | 0,37 ± 0,0 | 0,39 ± 0,0 | 0,47 ± 0,0 | >1000 |
| 3c | 0,43 ± 0,0 | 0,4 ± 0,0 | 0,44 ± 0,0 | 0,4 ± 0,0 | 0,4 ± 0,0 | 0,43 ± 0,0 | 0,45 ± 0,0 | 0,5 ± 0,0 | >1000 |
| 3d | 0,46 ± 0,0 | 0,44 ± 0,0 | 0,4 ± 0,0 | 0,43 ± 0,0 | 0,44 ± 0,0 | 0,45 ± 0,0 | 0,42 ± 0,0 | 0,43 ± 0,0 | >1000 |
| DHA | 0,35 ± 0,1 | 0,42 ± 0,0 | 0,39 ± 0,0 | 0,45 ± 0,0 | 0,43 ± 0,0 | 0,52 ± 0,0 | 0,49 ± 0,0 | 0,61 ± 0,0 | >154,72 |

Tableau IV.4 – Résultats du témoin positif acide ascorbique pour l'activité du piégeage du radical hydroxyle.

| C $\mu\text{g/mL}$ | 1,953 | 3,906 | 7,812 | 15,625 | 31,25 | 62,5 | 125 | 250 | A0.5 $\mu\text{g/mL}$ |
|-------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------------|
| Acide ascorbique | 0,56 ± 0,0 | 0,57 ± 0,0 | 0,55 ± 0,0 | 0,54 ± 0,0 | 0,51 ± 0,0 | 0,44 ± 0,0 | 0,16 ± 0,0 | 0,11 ± 0,0 | 1,74 |

D'après l'allure générale des courbes (**Figure IV.1**), les quatre ligands ainsi que la molécule mère DHA commencent leurs activités du piégeage du radical hydroxyle dès la plus petite concentration testée 7,8125 $\mu\text{g/mL}$ avec une absorbance variant de 0,35 à 0,46 nm, et stagnent pratiquement jusqu'à la concentration maximale. Le dépouillement de ces données révèle généralement une A 0,5 supérieure ou égale à 1000 $\mu\text{g/mL}$ pour tous les composés testés sauf le DHA qui révèle un taux de 154,72 $\mu\text{g/mL}$, en comparaison avec l'acide ascorbique (**Figure IV.2**) utilisé comme contrôle positif avec une A 0,5 (**Figure IV.3**) de 1.74 $\mu\text{g/mL}$. Les résultats obtenus pour ce test indiquent une activité pratiquement similaire et faible pour tous les composés testés par rapport au contrôle positif.

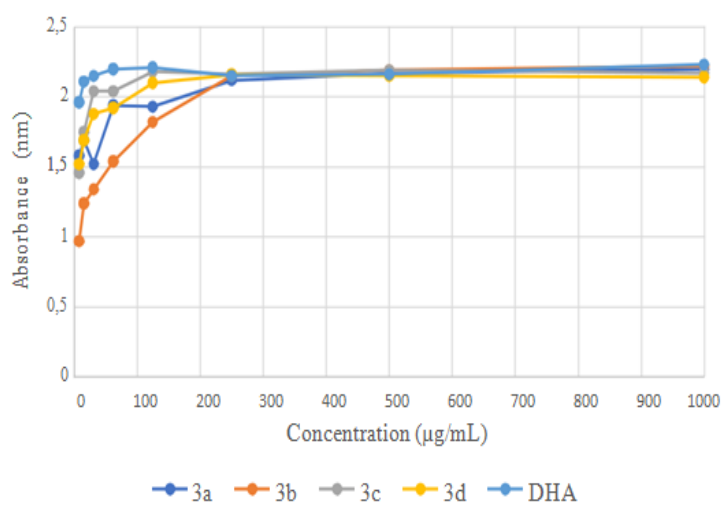


FIGURE IV.1 – Courbes des absorbances de l'activité de piégeage du radical hydroxyle.

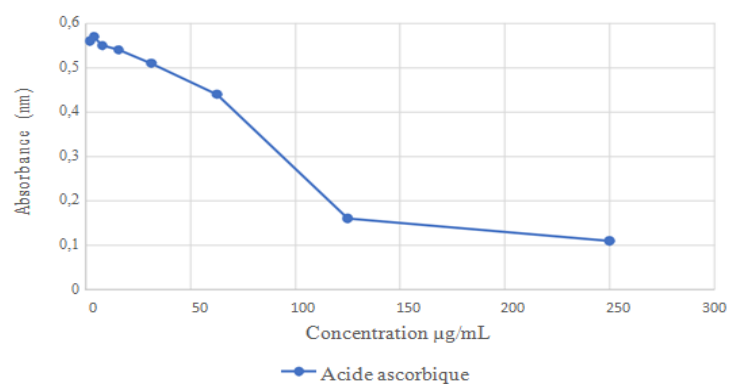


FIGURE IV.2 – Courbe d'absorbance de l'acide ascorbique de l'activité de piégeage du radical hydroxyle.

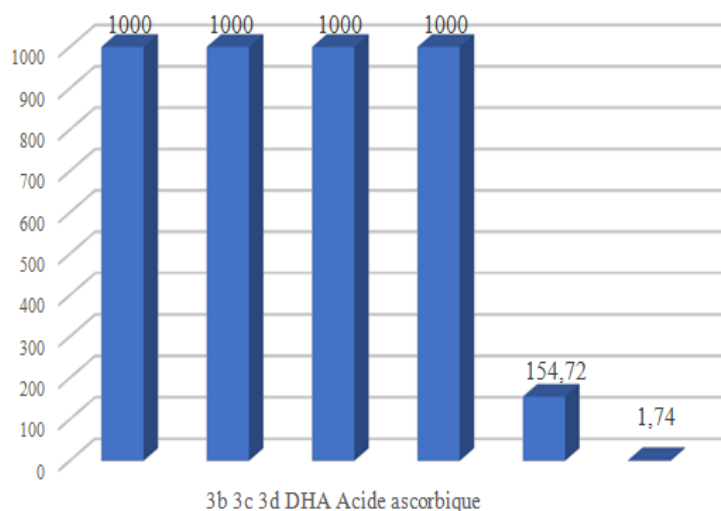


FIGURE IV.3 – Valeurs des A_{0,5} exprimées en µg/mL pour l'activité du piégeage du radical hydroxyle.

Activité du pouvoir réducteur de fer (FRAP)

Les résultats de ce test sont reportés dans les **Tableaux IV.5 et IV.6** :

Tableau IV.5 – Résultats de l'activité de la réduction de fer (FRAP).

| C µg/mL | 7,8125 | 15,625 | 31,25 | 62,5 | 125 | 250 | 500 | 1000 | A _{0.5} µg/ml |
|------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------------|
| 3a | 1,13 ± 0,1 | 1,11 ± 0,1 | 1,1 ± 0,0 | 1,11 ± 0,0 | 1,16 ± 0,1 | 1,23 ± 0,1 | 1,24 ± 0,4 | 1,19 ± 0,2 | 7,04 |
| 3a | 1,13 ± 0,01 | 1,11 ± 0,01 | 1,1 ± 0,0 | 1,11 ± 0,0 | 1,16 ± 0,01 | 1,23 ± 0,01 | 1,24 ± 0,04 | 1,19 ± 0,02 | 7,04 |
| 3b | 1,21 ± 0,01 | 1,17 ± 0,0 | 1,2 ± 0,02 | 1,23 ± 0,02 | 1,2 ± 0,02 | 1,12 ± 0,01 | 1,21 ± 0,01 | 1,02 ± 0,01 | 3,22 |
| 3c | 0,99 ± 0,01 | 1,15 ± 0,02 | 1,17 ± 0,03 | 1,16 ± 0,02 | 1,21 ± 0,02 | 1,19 ± 0,01 | 0,18 ± 0,01 | 1,12 ± 0,01 | 3,94 |
| 3d | 1,1 ± 0,01 | 1,19 ± 0,02 | 1,18 ± 0,0 | 1,18 ± 0,01 | 1,17 ± 0,01 | 1,17 ± 0,01 | 1,17 ± 0,01 | 1,14 ± 0,01 | 3,55 |
| DHA | 1,14 ± 0,01 | 1,12 ± 0,0 | 1,15 ± 0,01 | 1,09 ± 0,01 | 1,12 ± 0,01 | 1,12 ± 0,01 | 1,14 ± 0,01 | 1,13 ± 0,01 | 6,97 |

Tableau IV.6 – Résultats du témoin positif acide ascorbique pour l'activité de la réduction de fer (FRAP).

| C $\mu\text{g/mL}$ | 1,953 | 3,906 | 7,812 | 15,625 | 31,25 | 62,5 | 125 | 250 | A0.5 $\mu\text{g/ml}$ |
|--------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Acide ascorbique | 1,87 \pm 0,0 | 0,99 \pm 0,01 | 0,99 \pm 0,0 | 0,78 \pm 0,0 | 0,96 \pm 0,01 | 0,93 \pm 0,0 | 0,97 \pm 0,01 | 1,03 \pm 0,01 | 0,52 |

D'après l'allure générale des courbes (**Figures IV.4, IV.5 et IV.6**), tous les ligands ainsi que la molécule mère DHA commencent leurs activités réductrices du fer dès la plus petite concentration testée 7,8125 $\mu\text{g/mL}$ avec une absorbance aux alentours de 0,99 à 1,21 nm, pour augmenter légèrement et atteindre leur maximum au tour de :

- 1,24 nm pour 3a à une concentration de 500 $\mu\text{g/mL}$.
- 1,23 nm pour 3b à une concentration de 62,5 $\mu\text{g/mL}$.
- 1,21 nm pour 3c à une concentration de 125 $\mu\text{g/mL}$.
- 1,19 nm pour 3d à une concentration de 15,625 $\mu\text{g/mL}$.
- 1,15 nm pour DHA à une concentration de 31,25 $\mu\text{g/mL}$.

Le dépouillement de ces données révèle également un taux d'A 0,5 supérieur à celui de l'acide ascorbique (0,52 $\mu\text{g/ml}$) pour tous les composés testés (Tableau IV.6). Les résultats obtenus indiquent une activité à peu près similaire pour les trois ligands 3b, 3c et 3d supérieure à la molécule de départ DHA, avec une meilleure réactivité pour le 3b. Quant au 3a, il a montré une activité plus ou moins faible par rapport à la molécule mère DHA, l'ordre de réactivité peut être le suivant : $3a < DHA < 3c < 3d < 3b < \text{Acide ascorbique}$

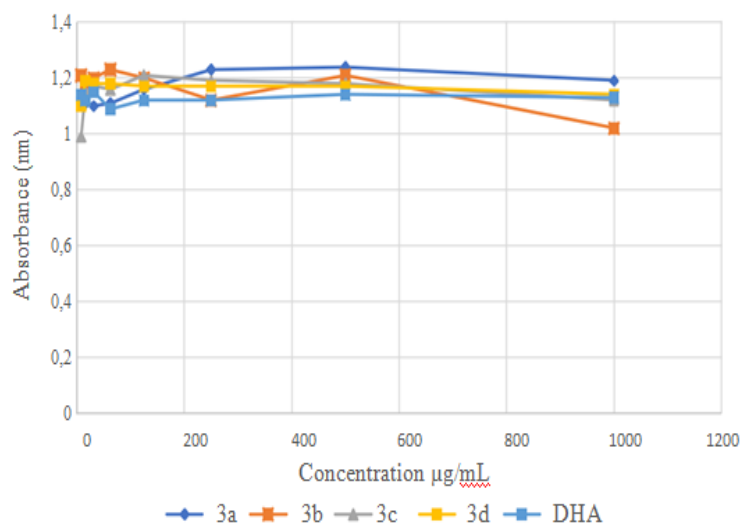


FIGURE IV.4 – Courbe des absorbances de l'activité de réduction de fer

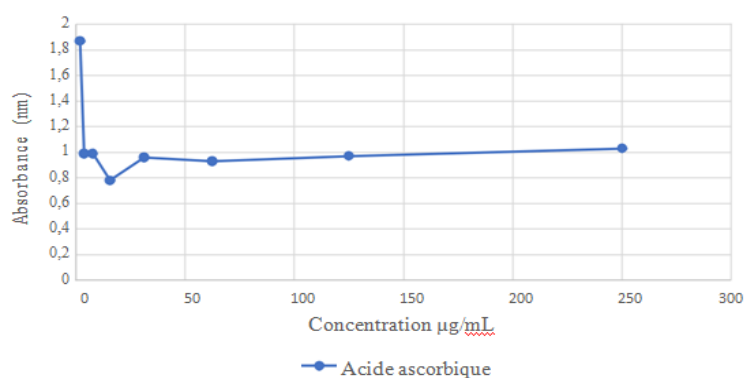


FIGURE IV.5 – Courbe d'absorbance de l'acide ascorbique de l'activité de réduction de fer.

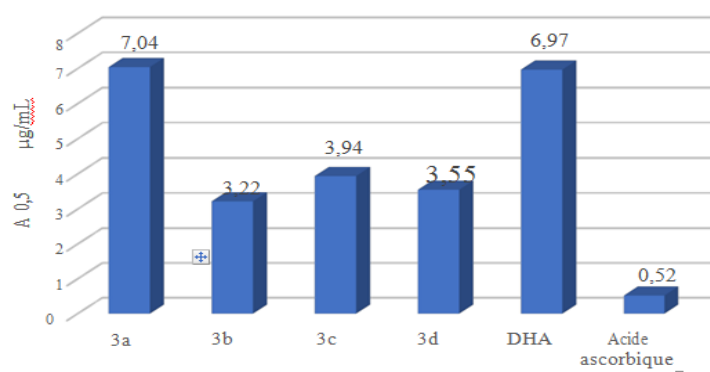


FIGURE IV.6 – Valeurs des A 0,5 µg/mL pour l'activité de réduction de fer.

Activité de peroxyde d'hydrogène

Les résultats de cette activité sont présentés dans les **Tableaux IV.7 et IV.8** :

Tableau IV.7 – Résultats de l'activité de peroxyde d'hydrogène.

| C $\mu\text{g/mL}$ | 7,8125 | 15,625 | 31,25 | 62,5 | 125 | 250 | 500 | 1000 | CI 50 $\mu\text{g/mL}$ |
|-----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------------|
| 3a | 58 \pm 0,01 | 69 \pm 0,0 | 52 \pm 0,0 | 94 \pm 0,01 | 93 \pm 0,02 | 100 \pm 0,02 | 100 \pm 0,05 | 100 \pm 0,05 | 6,73 |
| 3b | 9,7 \pm 0,01 | 24 \pm 0,0 | 34 \pm 0,0 | 54 \pm 0,0 | 82 \pm 0,01 | 100 \pm 0,01 | 100 \pm 0,03 | 100 \pm 0,01 | 51,91 |
| 3c | 46 \pm 0,0 | 75 \pm 0,0 | 100 \pm 0,01 | 100 \pm 0,01 | 100 \pm 0,02 | 100 \pm 0,02 | 100 \pm 0,02 | 100 \pm 0,01 | 9,45 |
| 3d | 52 \pm 0,0 | 69 \pm 0,01 | 88 \pm 0,02 | 92 \pm 0,03 | 100 \pm 0,03 | 100 \pm 0,03 | 100 \pm 0,02 | 100 \pm 0,04 | 7,51 |
| DHA | 96 \pm 0,01 | 100 \pm 0,02 | 100 \pm 0,01 | 100 \pm 0,03 | 100 \pm 0,04 | 100 \pm 0,02 | 100 \pm 0,02 | 100 \pm 0,01 | 4,06 |

Tableau IV.8 – Résultat du témoin positif acide ascorbique pour l'activité de peroxyde d'hydrogène.

| C $\mu\text{g/mL}$ | 1,953 | 3,906 | 7,812 | 15,625 | 31,25 | 62,5 | 125 | 250 | CI50 |
|-------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|----------------------|----------------------|------|
| Acide ascorbique | 45 \pm 0,01 | 64 \pm 0,01 | 77 \pm 0,01 | 72 \pm 0,0 | 91 \pm 0,01 | 89 \pm 0,01 | 100 \pm 0,02 | 100 \pm 0,01 | 2,61 |

L'allure générale des courbes (**Figures IV.7, IV.8 et IV.9**) révèle que tous les ligands ainsi que la molécule de départ DHA commencent leurs activités réductrices de peroxyde d'hydrogène dès la plus petite concentration testée 7,8125 $\mu\text{g/mL}$, avec un taux d'inhibition de :

- 58% pour le composé 3a et atteint son maximum de 100% d'inhibition à la concentration de 250 $\mu\text{g/mL}$.

- 9,7% pour le composé 3b et plafonne à 100% d'inhibition à la concentration de 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
- 46% pour le composé 3c et atteint son maximum de 100% d'inhibition à 31,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
- 52% pour le composé 3d et enregistre un maximum de 100% d'inhibition à 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Quant au DHA, son activité commence avec un taux d'inhibition de 96% ce qui le rend très réactif pour ce test avec une $CI_{50} = 4,06 \mu\text{g}/\text{mL}$ proche de celle du contrôle positif, l'acide ascorbique avec une CI_{50} de $2,61 \mu\text{g}/\text{mL}$ (Tableau IV.8). Les résultats obtenus montrent une faible activité du ligand 3b tandis que les ligands 3a, 3c et 3d semblent avoir une activité assez proche de celle de la molécule de départ DHA et de l'acide ascorbique, l'ordre de réactivité selon les CI_{50} peut être : $3b < 3c < 3d < 3a < DHA < \text{Acide ascorbique}$.

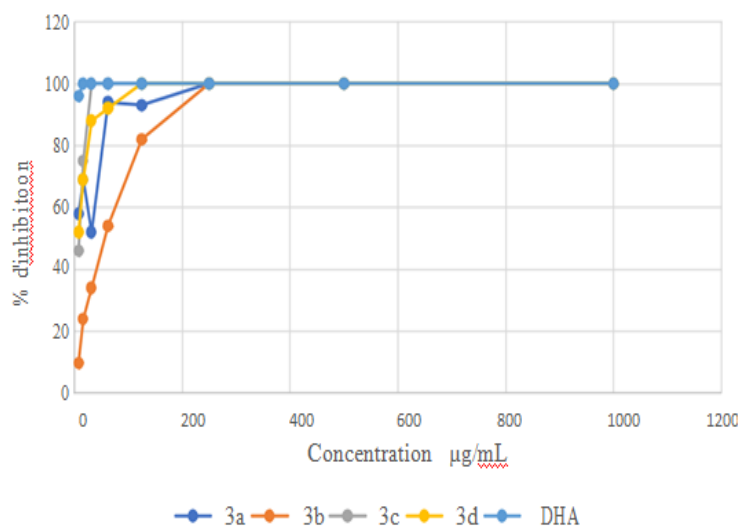


FIGURE IV.7 – Courbes des pourcentages d'inhibitions de l'activité du peroxyde d'hydrogène.

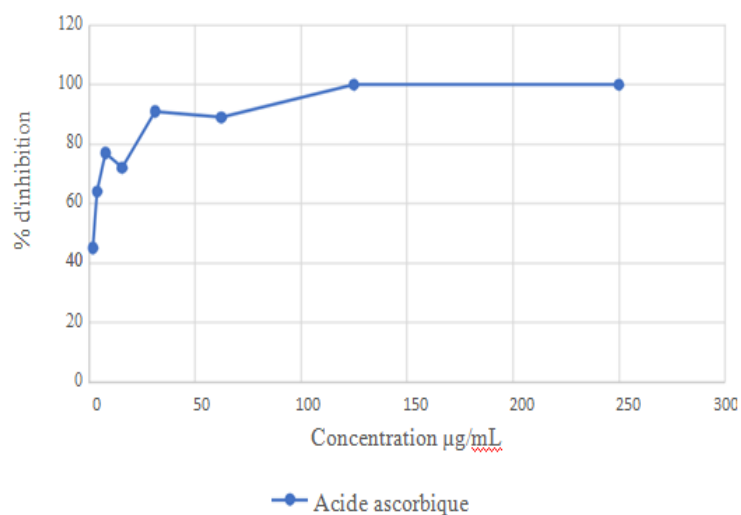


FIGURE IV.8 – Courbe de pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique de l'activité peroxyde d'hydrogène.

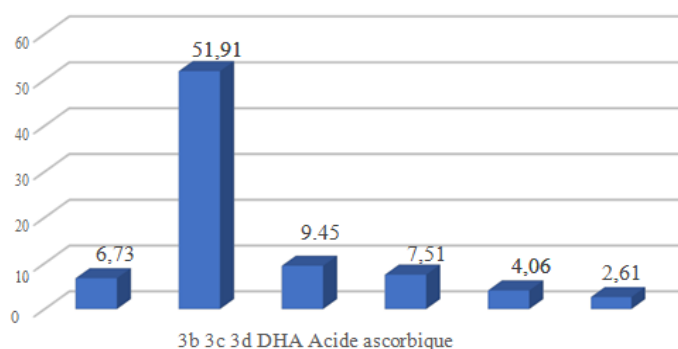


FIGURE IV.9 – Valeurs des A à 0,5 µg/mL pour l'activité peroxyde d'hydrogène.

IV.5.2 Activités antimicrobiennes

Activité antibactérienne

Les résultats des tests de l'activité antibactérienne réalisés sur les ligands synthétisés sur les différentes souches bactériennes en comparaison avec les antibiotiques NA, GN sont indiqués dans le **Tableau IV.9** et la **Figure IV.10** :

Tableau IV.9 – Zone d’inhibition bactérienne (mm) du DHA et de ses dérivés Benzodiazépines (3a-3d).

| Composés | <i>E. coli</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>K. pneumoniae</i> | <i>S. aureus</i> |
|----------|----------------|----------------------|----------------------|------------------|
| DHA | 15,00±0,00 | 20,00±0,50 | 20,00±0,50 | 15,00±0,00 |
| 3a | 10,00±0,00 | N.D | N.D | N.D |
| 3b | 08,00±0,30 | 10,00±0,20 | 10,00±0,50 | 15,00±0,00 |
| 3c | 12,00±0,60 | N.D | 12,00±0,50 | N.D |
| 3d | N.D | N.D | 08,00±0,00 | 08,00 ±0,00 |
| NA | 42,00 | N.D | 28,00 | 22,00 |
| GN | 38,00 | 24,00 | 18,00 | - |
| DMSO | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

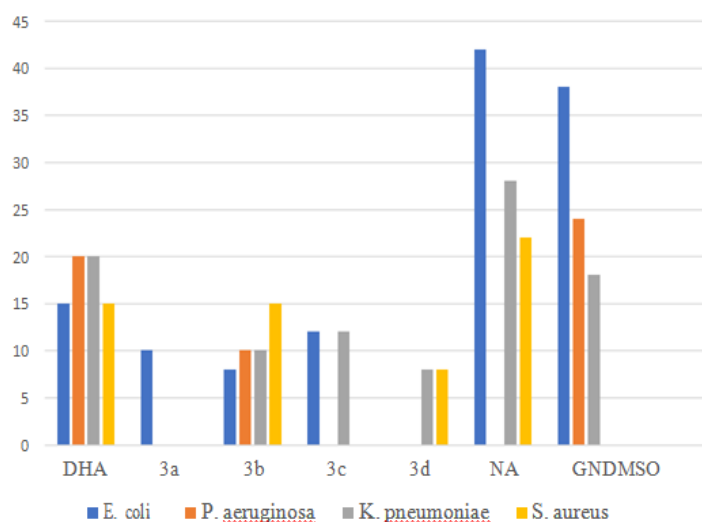


FIGURE IV.10 – Histogrammes des zones d’inhibition montrant l’activité antibactérienne des ligands synthétisés.

D’après les diamètres des zones d’inhibition obtenus, les souches bactériennes investies se comportent différemment vis-à-vis des ligands testés.

- Le DHA a révélé un pouvoir inhibiteur vis-à-vis de toutes les souches bactériennes avec un diamètre maximal de (20.00±0.50 mm) pour les souches *P. aeruginosa* et *K.pneumoniaesuivi* de (15.00±0.00mm) pour les souches *E. coli* et *S. aureus*.
- Le composé 3a possède un pouvoir inhibiteur modéré vis-à-vis d’une seule souche qui est *E. coli* avec un diamètre d’inhibition égale à (10.00±0.00 mm), quant aux autres souches, aucune zone d’inhibition n’a été observée ce qui peut être interprété par uneresistance de ces souches au ligand testé.

- Le composé 3b a présenté un effet inhibiteur pour toutes les souches bactériennes testées avec un diamètre maximal égale à $(15.00 \pm 0.00 \text{ mm})$ pour *S. aureus* suivi de $(10.00 \pm 0.00 \text{ mm})$ pour les souches *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* et un diamètre minimal égale à $(8.00 \pm 0.30 \text{ mm})$ pour *E. coli*.
- Concernant le composé 3c, la présence d'une zone d'inhibition a été observée pour deux souches bactériennes avec un diamètre égale à $(12.00 \pm 0.60 \text{ mm})$ pour *E. coli* et $(12.00 \pm 0.50 \text{ mm})$ pour *K. pneumoniae*.
- Quant au composé 3d, une zone d'inhibition a été relevée pour deux souches bactériennes qui sont *K.pneumoniae* et *S. aureus* avec un diamètre égale à $(08,00 \pm 0,00 \text{ mm})$. La gentamicine ($10 \mu\text{g/ disque}$) et le NA ($30 \mu\text{g/ disque}$) ont été utilisés comme contrôle positif.

Activité antifongique

Les résultats de l'activité antifongique sont mentionnés dans le **Tableau IV.10** et la **Figure IV.11** :

Tableau IV.10 – Zone d'inhibition fongique (mm) du DHA et de ses dérivés Benzodiazépines (3a-3d).

| Espèces antifongiques | Zones d'inhibition de la croissance (mm) de l'activité antifongique | | | | |
|---------------------------------------|---|-----|------------------|------------------|-----|
| | DHA | 3a | 3b | 3c | 3d |
| <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai | N.D | N.D | $12,00 \pm 0,50$ | $10,00 \pm 0,00$ | N.D |

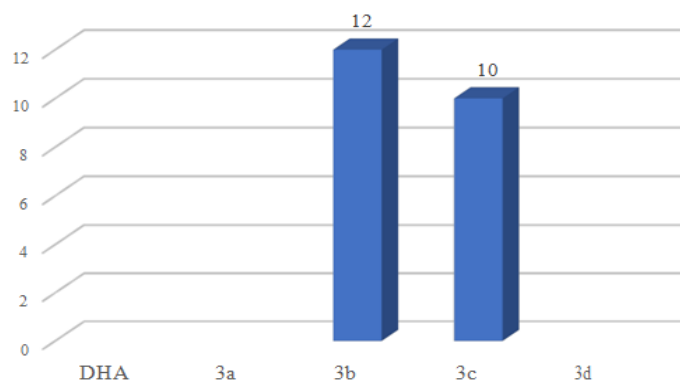


FIGURE IV.11 – Histogrammes des zones d'inhibition montrant l'activité antifongique des composés synthétisés.

Les résultats des tests de l'activité antifongique réalisés sur le DHA et les ligands (3a-3d) vis-à-vis de la souche fongique *Trichodermaharzianum*Rifai, ont révélé la présence de zones d'inhibitions de croissance pour deux composés testés :

- Le DHA ainsi que les composés 3a et 3d n'ont révélé aucune zone d'inhibition, ce qui peut être expliqué par une résistance et une absence de l'activité antifongique.
- Les composés 3b et 3c ont montré une activité antifongique modérée à bonne avec des diamètres d'inhibition de $(12.00 \pm 0.50 \text{ mm})$ et $(10.00 \pm 0.00 \text{ mm})$ respectivement meilleure que celle du DHA.

IV.6 Conclusion

Au terme de ce travail, quatre composés 1,5 Benzodiazépines (3a-3d) ont été synthétisés, structurellement analysés et évalués pour leur potentiel antioxydant et antimicrobien *in vitro*. Une recherche bibliographique intensive a été conduite sur les différentes molécules synthétiques permettant l'élaboration de ces composés, au bout de laquelle le DHA, l'OPDA ainsi que les benzaldéhydes fonctionnalisés en position 4, ont été sélectionnés pour accéder à cette famille via une synthèse en deux étapes avec de très bons rendements. L'analyse structurale par spectroscopie FT-IR indique la présence de bandes caractéristiques des différentes fonctions portées par les quatre composés synthétisés.

Dans le but d'évaluer leur potentiel biologique, les composés synthétisés ainsi que leur précurseur DHA, ont été soumis à une série de tests préliminaires démontrant leur potentiel antioxydant par la capacité de piéger les radicaux libres comme : le radical hydroxyle $OH\bullet$, la réduction du fer et du peroxyde d'hydrogène. Ajouter à cela le potentiel antimicrobien dont le principe est de tester le pouvoir d'inhibition de la croissance de quatre souches de bactéries dont trois à gram négatif (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603)) et une bactérie à gram positif (*Staphylococcus aureus*) ainsi qu'une souche fongique (*Trichoderma harzianum* Rifai) a été déterminé.

Les composés qui ont montré une activité antioxydante notable sont :

- Les composés 3b, 3c, 3d qui ont montré une bonne activité réductrice du fer avec une $A_{0.5}$ estimée à $3.22 \mu\text{g/mL}$, $3.94 \mu\text{g/mL}$, $3.55 \mu\text{g/mL}$, respectivement, meilleure que celle de la molécule mère DHA ($6.97 \mu\text{g/mL}$) et relativement proche de celle de l'acide ascorbique ($A_{0.5} = 0,52 \mu\text{g/mL}$).
- Une bonne réactivité pour le DHA, 3a, 3c et 3d avec une CI_{50} de $4,06 \mu\text{g/ml}$, $6,73 \mu\text{g/ml}$, $9,45 \mu\text{g/ml}$, $7,51 \mu\text{g/ml}$ respectivement pour la réduction du peroxyde d'hydrogène proche de celle de l'acide ascorbique ($CI_{50} = 2,61 \mu\text{g/ml}$).

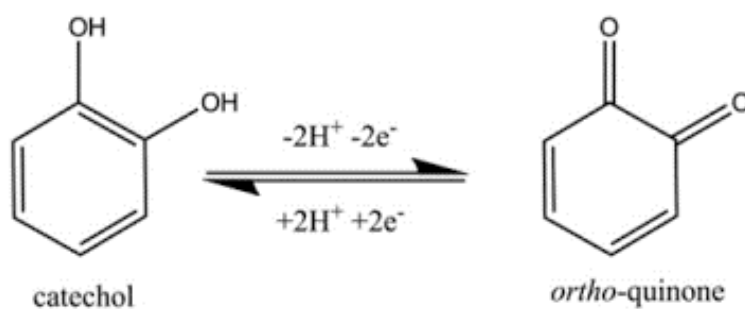
En ce qui concerne l'activité antimicrobienne :

- Le DHA a montré une meilleure activité antibactérienne en général, cependant, le composé 3b a montré un pouvoir antibactérien intéressant pour toutes les souches bactériennes, le composé 3a n'a enregistré aucun pouvoir antibactérien envers *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *S. aureus*, le composé 3c a enregistré un pouvoir antibactérien uniquement pour *E. coli* et *K. pneumoniae* et le composé 3d a enregistré un faible pouvoir antibactérien envers *K. pneumoniae* et *S. aureus* seulement.
- Les composés 3b et 3c ont montré un pouvoir antifongique remarquable, contrairement au DHA, les composés 3a et 3d.

Ainsi, ces composés représentent un point de départ pour le drugdiscovery et le développement des médicaments.

Chapitre V

Étude catalytique des benzodiazépines



V.1 Introduction

Depuis plusieurs décennies, les chimistes travaillent de concert avec les biologistes afin de comprendre les aspects structuraux, électroniques et mécanistiques des sites actifs de métalloprotéines.

Cette approche visant à synthétiser et à caractériser de nouveaux composés modèles qui miment uniquement les propriétés spécifiques de ces sites actifs porte le nom de "enzymes", qui sont des catalyseurs biologiques non polluants, très efficaces et économes en énergie et en matériaux.

La chimie biomimétique s'est développée pour mimer les processus bio-organiques chez les enzymes naturels et comprendre leurs mécanismes d'action. Le développement des catalyseurs biomimétiques demande une très bonne compréhension des systèmes biologique, où la coordination est primordiale pour la sélectivité des réactions, et où la présence d'un co-substrat permet l'apport des électrons nécessaires à l'activation de l'oxygène.

Cette chimie, transpose surtout des réactions enzymatiques à la chimie organique de synthèse, elle consiste également à étudier les systèmes biologiques et à comprendre les processus mis en oeuvre (structures / mécanismes) à l'échelle moléculaire ou atomique

Notre travail a pour but de découvrir et rechercher de nouveaux catalyseurs pour une réaction organique connue. Dans ce chapitre nous voulons examiner les propriétés catalytiques des Benzodiazépines préparés *in-situ* à base de ligands bases de Schiff dérivés de l'acide déhydroacétique dans la réaction d'oxydation du catéchol en o-quinone avec le dioxygène dans des conditions douces Schéma V.1.

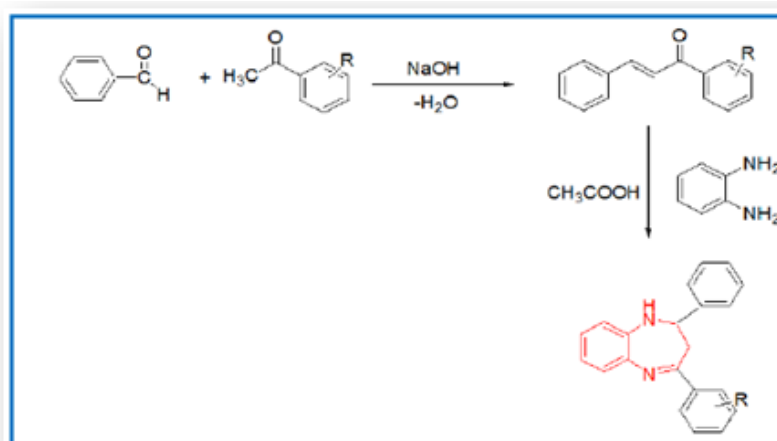


Schéma V.1 – Exemple de synthèse d'une benzodiazépine.

V.2 Généralité sur l'étude catécholase

V.2.1 Définition du catéchol

Le catéchol est une substance organique qui se trouve dans les plantes telle que les feuilles, les fruits, les fleurs et les tubercules.¹ Il peut être libéré dans l'environnement, mais ce n'est pas un polluant environnemental (**Schéma V.2**).

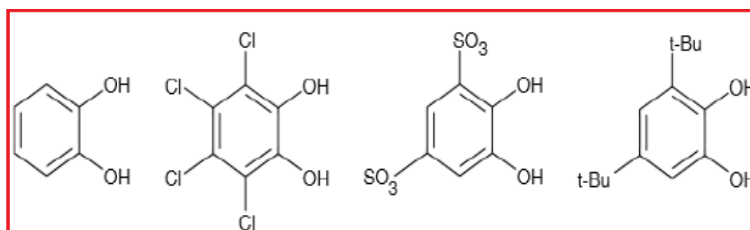


Schéma V.2 – Structure chimique du catéchol et ses dérivés.

V.2.2 Définition de la quinone

Les o-quinones sont des réactifs très forts car ils peuvent subir une auto polymérisation conduisant à la formation d'un colorant polyphénolique brun² connu sous le nom de la

1. Annette ROMPEL et al. « Substrate specificity of catechol oxidase from *Lycopus europaeus* and characterization of the bioproducts of enzymic caffeic acid oxidation ». In : *FEBS letters* 445.1 (1999), p. 103-110.

2. Iryna A KOVAL. « Copper complexes as biomimetic models of catechol oxidase : mechanistic studies ». Thèse de doct. Leiden University, 2006.

mélanine, celle ci joue un rôle dans la prévention des dommages d'organismes vivants par absorption de la lumière UV^{3,4} (**Schéma V.3**).

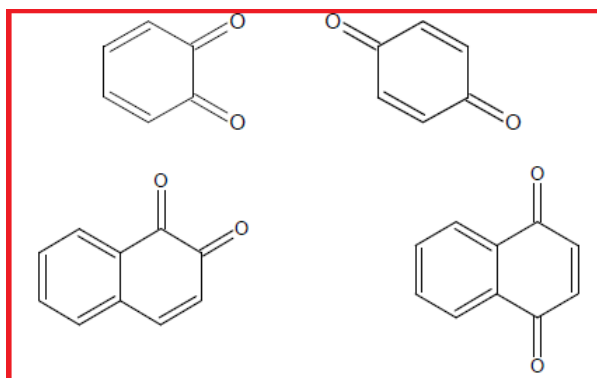


Schéma V.3 – Structure chimique de quelques dérivés de la quinone

Les o-quinones ou bien également nommé benzoquinone dont la formule brute est $C_6H_4O_2$, sont des membres d'une classe de composés organiques cycliques contenant au moins deux groupements carbonyle ($>C=O$) soit adjacents en position "ortho" ou séparés en position "para" dans un cycle insaturé à six chaînons⁵ (**Schéma V.4**).

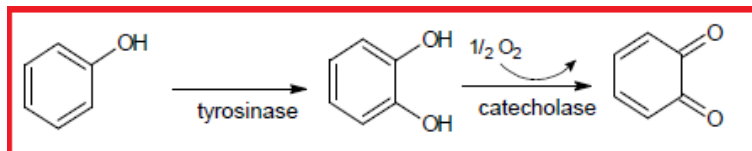


Schéma V.4 – Réactions de transformation du phénol en o-quinone.

V.2.3 Propriétés des enzymes

Les enzymes sont des macromolécules de nature protéique. Elles jouent le rôle de catalyseurs biologiques qui ont la capacité d'accélérer les réactions chimiques dans les cellules vivantes sans être transformées. Parmi les propriétés des enzymes⁶ :

3. Harry ADAMS, Scott CLUNAS et David E FENTON. « Nickel (II) induced cleavage of the iminic pendant arm in unsymmetrical Schiff base compartmental ligands ». In : *Inorganic Chemistry Communications* 4.11 (2001), p. 667-670.

4. Manas K PANDA et al. « Functional mimics of catechol oxidase by mononuclear copper complexes of sterically demanding [NNO] ligands ». In : *Inorganica Chimica Acta* 372.1 (2011), p. 145-151.

5. Alfred M MAYER et Eitan HAREL. « Polyphenol oxidases in plants ». In : *Phytochemistry* 18.2 (1979), p. 193-215.

6. Giacomo CARREA et Sergio RIVA. « Properties and synthetic applications of enzymes in organic solvents ». In : *Angewandte Chemie International Edition* 39.13 (2000), p. 2226-2254.

- ✓ Site actif : Le grand pouvoir catalytique des enzymes vient du fait que les substrats sont liés à une région spécifique de l'enzyme appelée site actif.
- ✓ L'efficacité : les enzymes accélèrent les réactions biochimiques en diminuant leur énergie d'activation et ne sont pas consommées au cours de la réaction, elles sont actives en faibles concentrations. Les réactions catalysées par des enzymes sont 106 à 1012 fois plus rapides que les réactions non catalysées.
- ✓ Spécificité : Les enzymes présentent une spécificité pour leur substrat et pour la réaction qu'elles catalysent.

V.3 Fonction de la CO (Catéchol Oxydase)

La catéchol oxydase est une enzyme avec un site actif qui catalyse l'oxydation d'une large gamme de diphénols (Catéchol), tels que l'acide caféique et ses dérivés, en *o*-quinone correspondantes dans un processus connu sous le nom d'activité catécholase⁷.

L'activité enzymatique de tyrosinases et de CO s présentes dans de nombreux fruits et légumes (en particulier les pommes de terre) communes, l'enzyme est exposé à des conditions environnementales différentes pour observer la vitesse de réaction.

Ce dernier catalyse la réaction du catéchol avec l'oxygène. Dans ces réactions se produit une pigmentation brune connue sous le nom benzoquinone (*o*-quinone)⁸.

La CO chez les plantes, est impliquée dans la protection contre les insectes et les pathogènes nocifs par la fabrication de l'*o*-quinone qui se polymérise pour donner une pigmentation brune. Par son activité hydroxylase, cette enzyme participe également dans la biosynthèse des composés phénoliques⁹.

7. Annette ROMPEL et al. « Purification and spectroscopic studies on catechol oxidases from *Lycopus europaeus* and *Populus nigra* : evidence for a dinuclear copper center of type 3 and spectroscopic similarities to tyrosinase and hemocyanin ». In : *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* 4.1 (1999), p. 56-63.

8. Ruhiye YORUK et Maurice R MARSHALL. « Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase : a review 1 ». In : *Journal of food biochemistry* 27.5 (2003), p. 361-422.

9. Lilly VÁMOS-VIGYÁZÓ et Norman F HAARD. « Polyphenol oxidases and peroxidases in fruits and vegetables ». In : *Critical Reviews in Food Science & Nutrition* 15.1 (1981), p. 49-127.

L'intensité de la couleur de pigment augmente à mesure que le taux de réaction augmente, en donnant un aperçu des facteurs environnementaux qui influent l'activité enzymatique¹⁰.

V.3.1 Activité catalytique

L'activité catalytique est représenté comme étant l'efficacité d'un catalyseur dans une réaction donnée. Cette activité peut être illustrée par différents moyens comme la vitesse de formation du produit, l'activité catalytique spécifique, la concentration d'activité catalytique, ou le nombre de rotations du catalyseur par unité de temps rotation.

V.3.2 Mécanisme réactionnel des enzymes

Le catéchol oxydase catalyse l'oxydation des o-diphénols (catéchols) en o-quinones et cela par la réduction de quatre-électron de l'oxygène moléculaire en molécule d'eau. Krebs et coll¹¹ ont proposé un mécanisme pour le processus catalytique, basé sur des données biochimiques¹² spectroscopiques^{13, 14}.

V.4 Rappels bibliographiques

Plusieurs études concernant la synthèse des catalyseurs d'oxydation biomimétique ont été réalisées, leurs l'objectif est l'études et la reproduction de l'activité catécholase^{15, 16}.

10. J ZAWISTOWSKI. « Polyphenol oxidase. » In : *Oxidative enzymes in foods* (1991), p. 217-274.

11. Nina HAKULINEN et al. « The crystal structure of an extracellular catechol oxidase from the ascomycete fungus *Aspergillus oryzae* ». In : *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* 18.8 (2013), p. 917-929.

12. Dean E WILCOX et al. « Substrate analog binding to the coupled binuclear copper active site in tyrosinase ». In : *Journal of the American Chemical Society* 107.13 (1985), p. 4015-4027.

13. Christoph EICKEN et al. « Biochemical and spectroscopic characterization of catechol oxidase from sweet potatoes (*Ipomoea batatas*) containing a type-3 dicopper center ». In : *FEBS letters* 436.2 (1998), p. 293-299.

14. Abd El-Motaleb M RAMADAN, Mohamed M IBRAHIM et Ibrahim M EL-MEHASSEB. « New mono-nuclear copper (I) and copper (II) complexes containing N4 donors ; crystal structure and catechol oxidase biomimetic catalytic activity ». In : *Journal of Coordination Chemistry* 65.13 (2012), p. 2256-2279.

15. Nouria BOUSSALAH et al. « Synthesis, structure and catalytic properties of tripodal amino-acid derivatized pyrazole-based ligands ». In : *Journal of Molecular Catalysis A : Chemical* 306.1-2 (2009), p. 113-117.

16. Abdelkhalek ZERROUKI, Rachid TOUZANI et Sghir EL KADIRI. « Synthesis of new derivatized pyrazole based ligands and their catecholase activity studies ». In : *Arabian journal of chemistry* 4.4 (2011), p. 459-464.

La plupart des résultats décrits utilisent des catalyseurs dans le but d'imiter l'environnement du site actif de l'enzyme catécholase et aussi de comprendre les propriétés catalytiques pour activer le dioxygène moléculaire.

V.4.1 Importance du métal et le dioxygène (oxygène moléculaire)

Les ions des métaux de transition jouent un rôle important dans les systèmes vivants parce que les complexes modelant leur emplacement actif peuvent servir de catalyseurs efficaces et doux pour effectuer des transformations synthétiques d'importance industrielle.

Le cuivre et les autres éléments de la première série de transition tels que le fer et le zinc sont importants dans plusieurs processus biochimiques. Ces métaux sont présents en métallo-enzymes qui impliquent la coordination d'un ion métallique comme un élément actif et dans lequel le métal joue le rôle du catalyseur¹⁷. Ils participent également au transport des électrons¹⁸ de l'O₂, et à sa dégradation en O₂^{19, 20}. Leurs réactions sont très rapides et fortement efficaces tout en fonctionnant dans des conditions modérées avec une spécificité élevée, la regio-sélectivité, le rendement,...^{21, 22 23}.

17. JD LIPSCOMB et AM ORVILLE. « Mechanistic aspects of dihydroxybenzoate dioxygenases ». In : *Metal ions in biological systems* 28 (1992), p. 243-298.

18. Karen A MAGNUS, Hoa TON-THAT et Joan E CARPENTER. « Recent structural work on the oxygen transport protein hemocyanin ». In : *Chemical reviews* 94.3 (1994), p. 727-735.

19. Edward I SOLOMON, Uma M SUNDARAM et Timothy E MACHONKIN. « Multicopper oxidases and oxygenases ». In : *Chemical reviews* 96.7 (1996), p. 2563-2606.

20. Thomas KLABUNDE et al. « Crystal structure of a plant catechol oxidase containing a dicopper center ». In : *Nature structural biology* 5.12 (1998), p. 1084-1090.

21. Nouria BOUSSALAH et al. « Synthesis, structure and catalytic properties of tripodal amino-acid derivatized pyrazole-based ligands ». In : *Journal of Molecular Catalysis A : Chemical* 306.1-2 (2009), p. 113-117.

22. Siegfried SCHINDLER. « Reactivity of copper (I) complexes towards dioxygen ». In : *European Journal of Inorganic Chemistry* 2000.11 (2000), p. 2311-2326.

23. Apurba BISWAS et al. « Synthesis, crystal structures, magnetic properties and catecholase activity of double phenoxido-bridged penta-coordinated dinuclear nickel (II) complexes derived from reduced Schiff-base ligands : mechanistic inference of catecholase activity ». In : *Inorganic chemistry* 51.15 (2012), p. 7993-8001.

V.4.2 Importance du Catéchol oxydase

Les métalloprotéines contenant le cuivre jouent un rôle très important dans le transport, l'activation^{24, 25} et le métabolisme du dioxygène dans les organismes vivants.²⁶

L'enzyme de catéchol oxydase joue un rôle important dans la résistance de la maladie chez les mammifère, aux bactéries, aux mycètes. La compréhension des aspects structuraux et fonctionnels de l'oxydase de catéchol a été obtenue en modelant des études de plusieurs complexes de cuivre mono et dinucléaire qui sont connus pour montrer l'activité significative de catécholase.²⁷

Ils ont constaté que dans certains cas les complexes mononucléaires pourraient être de meilleurs catalyseurs que les complexes dinucléaire.²⁸

V.4.3 Applications catalytiques

Plusieurs substrats dérivés de catéchol ont été employés dans la littérature pour comprendre les mécanismes d'oxydase des enzymes. Les activités catalytiques des complexes dépendent non seulement du ligand organique mais également du type d'anion inorganique coordonné au centre de cuivre.²⁹ Oussama Kheireddine Nehar et coll³⁰ ont synthétisé deux nouveaux ligands base de Schiff thiosemicarbazone :

24. A DJEDOUANI et al. « Catecholase activity investigations using in situ copper complexes containing Schiff base derivatives with a theoretical calculation ». In : *Oriental Journal of Chemistry* 31.1 (2015), p. 97.

25. Ibrahim BOUABDALLAH et al. « Catecholase activities of two CC linked Bipyrazole N-donor ligands with copper (II) salts ». In : *Moroccan Journal of Heterocyclic Chemistry* 6.1 (2007).

26. Mohamed EL KODADI et al. « Synthesis of new tripodal ligand 5-(bis (3, 5-dimethyl-1H-pyrazol-1-ylmethyl) amino) pentan-1-ol, catecholase activities studies of three functional tripodal pyrazolyl N-donor ligands, with different copper (II) salts ». In : *Catalysis Communications* 9.5 (2008), p. 966-969.

27. Manas K PANDA et al. « Functional mimics of catechol oxidase by mononuclear copper complexes of sterically demanding [NNO] ligands ». In : *Inorganica Chimica Acta* 372.1 (2011), p. 145-151.

28. Rolando CALERO et al. « Oxidation and catalytic properties of a binuclear copper (I) complex with a meta-xylyl spacer ligand ». In : *Journal of the Chilean Chemical Society* 48.2 (2003), p. 85-88.

29. A TITI et al. « Study of the catecholase catalytic properties of copper (II) complexes prepared in-situ with monodentate ligands ». In : *Materials Today : Proceedings* 13 (2019), p. 1134-1142.

30. Oussama Kheireddine NEHAR et al. « New thiosemicarbazone Schiff base ligands : Synthesis, characterization, catecholase study and hemolytic activity ». In : *Journal of Molecular Structure* 1204 (2020), p. 127566.

(E)-2-((4-hydroxynaphthalen-1-yl)methylene)hydrazinecarbothioamide L1, et (E)-2-(2,5-dihydroxybenzylidene)hydrazinecarbothioamide L2 et ils ont étudié leurs complexes de cuivre (II) et de cobalt (II) (CuL1, CuL2, CoL1 et CoL2) préparé *in situ* avec une solution de 3,5-di-tert-butylcatechol.

Ils ont conclu que les résultats montrent que tous les complexes *in situ* ont pu catalyser l'oxydation du 3,5-di-tert-butylcatechol. Cependant, les complexes de sel métallique d'acétate présentent toujours l'activité catécholase la plus élevée.

V.5 Étude catalytique

V.5.1 Objectif

Pour comprendre plus le sujet de la catécholase et pour rechercher les nouveaux ligands qui peuvent contribuer avec des mimant des puzzles de bio-organisation, nous avons examiné une série des quatre benzodiazepines (3a), (3b), (3c) et (3d), pour une étude catalytique, en employant ces ligands avec quelques métaux de transition (Cu, Mn, Zn, Ni) préparé *in situ* en tant que catalyseurs de la réaction d'oxydation du catéchol en o-quinone en présence d'oxygène de l'air (**Schéma V.5**).

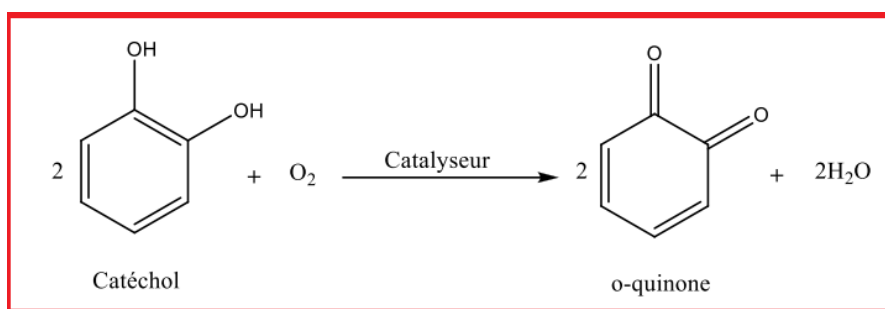


Schéma V.5 – Réaction d'oxydation du catéchol en o-quinone.

V.5.2 Protocole expérimental général

Toutes les manipulations ont été réalisées à 25 °C sur un spectromètre UV-Visible UV-1650 PC Shimadzo, les complexes sont préparés *in situ*, en mélangeant successivement

0,15 ml d'une solution ($2 \cdot 10^{-3}$ mol/l) du sel de cuivre CuX_2 , nH_2O ($X = CH_3COO^-$, Br^- , Cl^- , NO_3^- , et SO_4^{2-}) avec 0,15 ml d'une solution ($2 \cdot 10^{-3}$ mol/l) du ligand, ensuite on ajoute 2 ml d'une solution de concentration 10^{-1} mol/l en catéchol. Après l'addition, le suivi de la réaction s'effectue dans un réacteur ouvert afin de permettre à l'oxygène de l'air de jouer son rôle dans le mécanisme catalytique, on suit l'évolution de l'absorbance à 390 nm en fonction du temps après réglage au zéro. Donc pour chaque ligand, on fait varier la nature de l'anion.

V.6 Résultats

V.6.1 Étude cinétique de l'oxydation du catéchol seul

Avant de commencer notre étude, on a vérifié bien que dans les conditions expérimentales utilisées le catéchol seul ne s'oxyde pas en absence du catalyseur à base des métaux utilisée. La **Figure V.1** montre bien que une absorbance pratiquement nulle en fonction du temps.

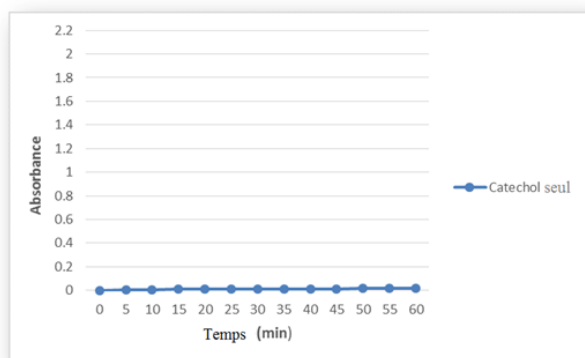


FIGURE V.1 – Oxydation du catéchol seul.

V.6.2 Étude cinétique de l'oxydation du catéchol en présence des sels métalliques

La (**Figure V.2**) montre l'évolution de l'absorbance en fonction du temps pour les cinq anions CH_3COO^- , Br^- , Cl^- , NO_3^- , et SO_4^{2-} .

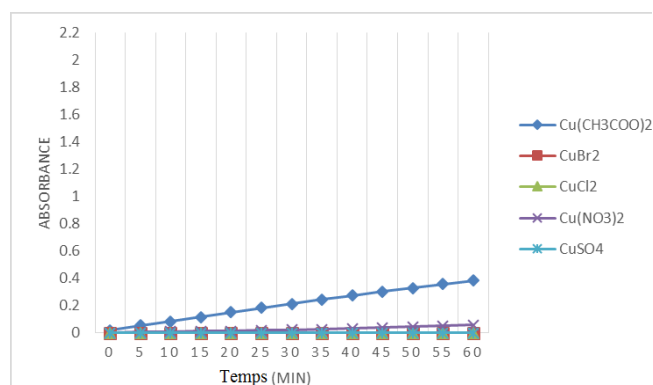


FIGURE V.2 – Oxydation du catéchol en présence des sels métalliques.

Remarque

Les résultats restent toujours faibles. Après plusieurs essais on a trouvé que les meilleurs résultats sont obtenus lorsque on travaille avec un excès de sel métallique par rapport au ligand. Alors de ce qui suit on va travailler avec un équivalent de ligand et deux équivalents de sel métallique.

V.6.3 Oxydation du catéchol en présence des complexes formés avec le composé (3a)

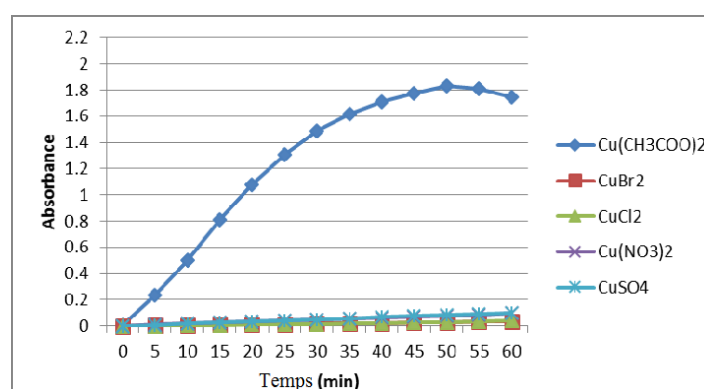


FIGURE V.3 – Oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de **3a** et deux équivalents de sel métallique.

V.6.4 Oxydation du catéchol en présence des complexes formés avec (3b)

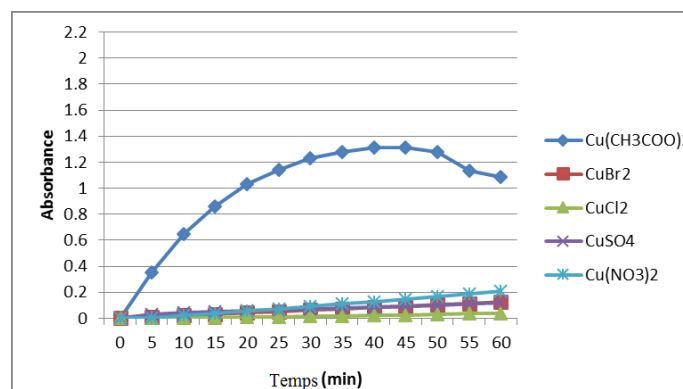


FIGURE V.4 – Oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de **3b** et deux équivalents de sel métallique.

V.6.5 Oxydation du catéchol en présence des complexes formés avec (3c)

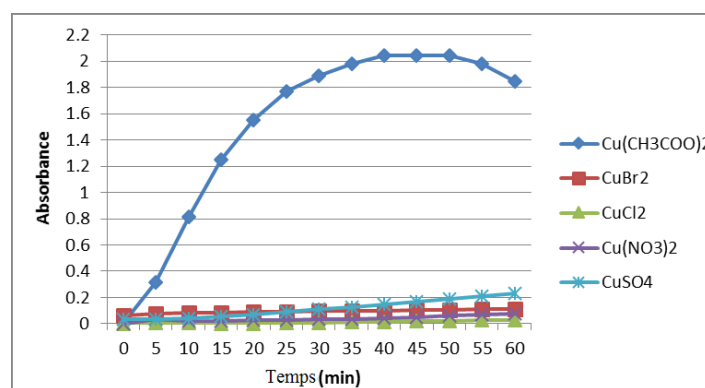


FIGURE V.5 – Oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de **3c** et deux équivalents de sel métallique.

V.6.6 Oxydation du catéchol en présence des complexes formés avec (3d)

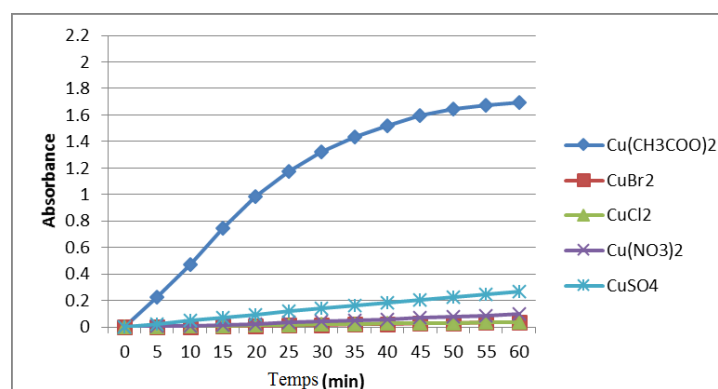


FIGURE V.6 – Oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de **3d** et deux équivalents de sel métallique.

V.6.7 Vitesses d'oxydation du catéchol en présence du catalyseur

Tableau V.1 – Vitesses d'oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de ligand et deux équivalents de sel métallique.

| Ligands | Vitesse (<i>μ</i> mol/min.L) | | | | |
|------------|--|-------------------------|-------------------------|---------------------------------------|-------------------------|
| | <i>Cu(CH₃COO)₂</i> | <i>CuBr₂</i> | <i>CuCl₂</i> | <i>Cu(NO₃)₂</i> | <i>CuSO₄</i> |
| DHA | - | - | - | - | - |
| 3b | 10,275 | 1,302 | 0,397 | 1,222 | 1,140 |
| 3c | 18,193 | 0,521 | 0,275 | 0,803 | 1,060 |
| 3d | 16,631 | 0,402 | 0,403 | 0,996 | 1,789 |
| 3a | 17,141 | 0,350 | 0,388 | 0,990 | 0,056 |

À partir de ces résultats obtenus, on observe bien que le composé **3c** est le meilleur catalyseur de la réaction d'oxydation de catéchol avec une vitesse égale à 18,193 *μ*mol/(min.L) avec *Cu(CH₃COO)₂*, suivi par **3a** avec $V = 17,141$ *μ*mol/(min.L) toujours avec *Cu(CH₃COO)₂*

Dans la suite de notre travail, on a essayé de voir l'effet d'autres paramètres pour évoluer l'activité catalytique de nos produits :

* Nous avons étudié uniquement le produit **3c** car il a donné les meilleurs résultats.

- Effet de concentration

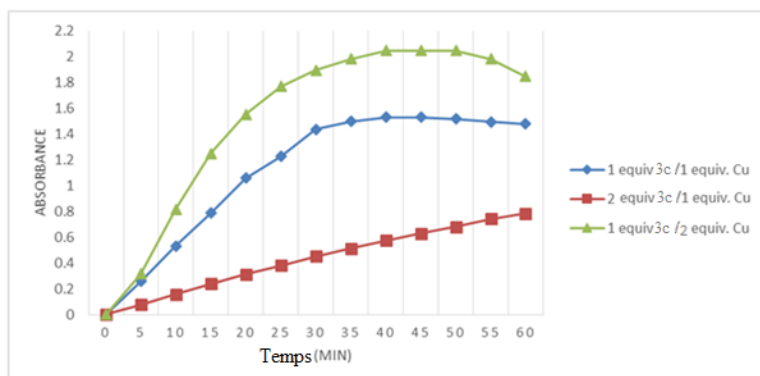


FIGURE V.7 – Oxydation du catéchol en présence de différentes équivalences de **3c** et $Cu(CH_3COO)_2$.

- Effet du complexe

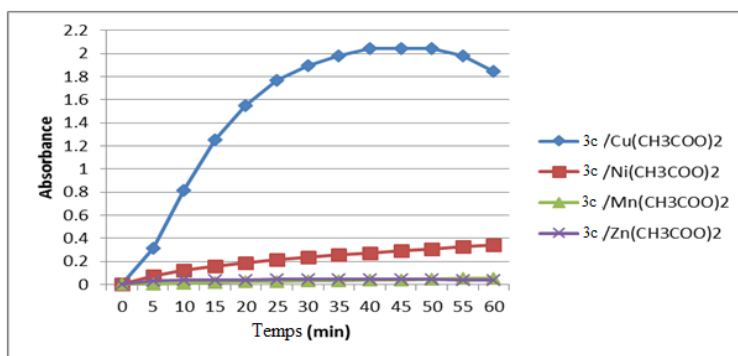


FIGURE V.8 – Oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de **3c** et différents métaux.

- Effet de solvant

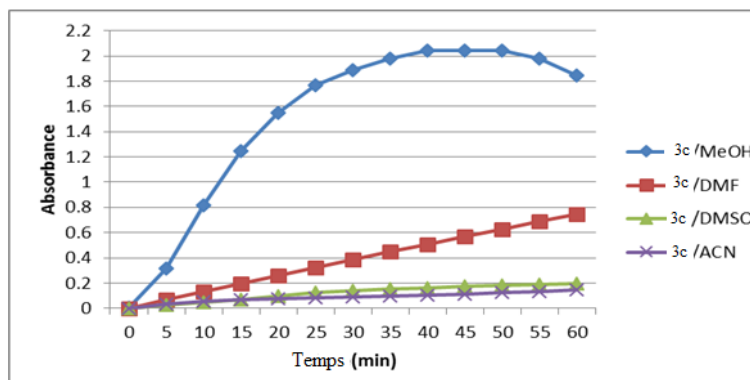


FIGURE V.9 – Oxydation du catéchol en présence d'un équivalent de 3c et deux équivalents de $Cu(CH_3COO)_2$ dans différents solvants.

- Les meilleurs résultats sont donnés avec les complexes de l'acétate de cuivre, pour les 4 ligands ;
- Une étude catalytique avec les acétates de nickel, zinc et manganèse a été également réalisé, le meilleurs résultats est toujours avec l'acétate de cuivre.
- Effet du solvant :
 - Le méthanol est le meilleurs solvant pour l'étude catalytique de nos ligand, avec le DMF on obtient une ligne rectiligne le complexe ne se dépose pas, car il solubilise bien nos complexes.
 - On remarque pour les ligands 3b(OH), 3c(H) et 3a(OCH₃), que la vitesse atteint son maximum et se stabilise entre 40 et 55mn après le complexe commence a se déposer (à se précipiter) progressivement.
- Effet de concentration :
 - On a remarqué que lorsque la concentration du sel augmente la vitesse maximale augment

V.7 Conclusion

Dans le but de rechercher une voie d'application pour les ligands base de Schiff, nous avons finalement focalisé nos travaux sur les complexes de cuivre qui, d'une manière générale, présentent un intérêt dans la catalyse de réactions d'oxydation, en particulier

celle du catéchol en O-quinone en présence d'oxygène. L'activité catalytique des complexes in situ évaluée par spectrophotométrie UV-visible en suivant la formation de la o-quinone en fonction du temps.

Cependant, le meilleur effet catalytique a été donné par 3c pour un équivalent du ligand et deux équivalent d'acétate de cuivre, la vitesse de réaction semble être freiné par une précipitation du complexe ; quand la concentration du sels est importante la vitesse maximale est également importante et la précipitation plus importante.

Conclusion Générale

Conclusion Générale Au cours du présent travail, nous avons synthétisés dans un premier temps de nouveaux complexes dérivés de l'acide déhydroacétique et caractérisés par diffraction des RX, spectroscopie FT-IR et UV-Vis :

- $Co(DHA)_2 \cdot 2DMSO$
- $Zn(DHA)_2 \cdot 2DMF$
- $Ni(DHA)_2 \cdot 2DMF$
- $Mn(DHA)_2 \cdot 2H_2O$

Les complexes synthétisés sont mononucléaires, l'atome métallique se situe sur le centre de symétrie, tous les complexes ont une géométrie octaédrique légèrement déformée de type MO₆. Les deux ligands de (DHA) occupent le plan équatorial et s'engagent d'une façon déprotonée.

La nouvelle série de complexes synthétisés, ainsi que leur molécule mère, ont été soumises à des tests biologiques *in vitro*, afin d'évaluer leur potentiel antibactérien contre quatre souches de bactéries *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thipymurium*, ainsi que deux champignons phytopathogènes à savoir les deux souches *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (FOL) 4287 et *Alternaria sp*, ainsi que leur potentiel antioxydant et anti enzymatique, à travers l'étendue de leurs capacités à piéger plusieurs radicaux libres : le cation radical $ABTS^{\bullet+}$, à inhiber le blanchiment du β -carotène, à chélater les métaux de fer et de cuivre, tous deux impliqués dans la réaction de Fenton, et à inhiber l'uréase.

Tout les complexes se sont avérés capables de bloquer des réactions d'oxydation testées, notamment le complexe $Mn(DHA)_2 \cdot 2H_2O$ qui a présenté une activité remarquable, 70,85 % à une concentration de 400 μ g.

L'activité enzymatique inhibitrice de l'uréase a également montré le fort pouvoir inhibiteur des quatre complexes.

Ce travail nous a permis d'établir la relation structure-activité (RSA) des différents complexes et de confirmer le fait que les métaux de transition augmentent l'activité biologique des ligands auxquels ils sont chélatés.

Dans un deuxième temps nous nous sommes intéressés à la synthèse de quelques benzodiazépines à partir d'une base de Schiff dérivée de l'acide déhydroacétique. Tous les composés ont été caractérisés par spectroscopie FT-IR et RMN 1H.

Afin d'évaluer leur potentiel antioxydant et antimicrobien *in vitro* nos composés ont été soumis à une série de tests préliminaires démontrant leur potentiel antioxydant par la capacité de piéger les radicaux libres comme : le radical hydroxyle OH^\bullet , la réduction du fer et du peroxyde d'hydrogène.

De plus le potentiel antimicrobien, dont le principe est de tester le pouvoir d'inhibition de la croissance de quatre souches de bactéries *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*. ainsi qu'une souche fongique (*Trichoderma harzianum Rifai*) a été déterminé et s'est avéré très intéressant en ce qui concerne le composé (3b) qui a présenté un effet inhibiteur pour toutes les souches bactériennes testées avec un diamètre maximal égale à (15.00 \pm 0.00 mm) pour *S. aureus* suivi de (10.00 \pm 0.00 mm) pour les souches *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* et un diamètre minimal égale à (8.00 \pm 0.30 mm) pour *E. coli*, nous avons aussi obtenu de bons résultats contre la souche fongique avec le composé (3b) qui a montré une importante zone d'inhibition de la croissance en de l'activité de la *trichoderma*, 12 mm en comparaison avec les autres molécules synthétisées et la molécule mère.

La dernière partie de ce travail a mis en évidence l'intérêt de l'activité catalytique des BDZ évaluée par la spectrophotométrie UV-visible.

Cependant, le meilleur effet catalytique a été donné par le composé (**3a**) pour un équivalent du ligand et deux équivalents d'acétate de cuivre, la vitesse de réaction semble être freinée par une précipitation du complexe; quand la concentration du sel est importante la vitesse maximale est également importante et la précipitation plus importante.

Nous avons également montré que l'activité catécholase est influencée par plusieurs paramètres tels que la nature de l'anion, la concentration du ligand ainsi que l'effet du solvant qui sont étudiés.

Les résultats obtenus sont prometteurs et ouvrent de larges perspectives quant à leur exploitation pratique dans la conception de médicaments.

Perspectives

- ✓ Initier une étude *in silico* afin de confirmer l'effet biologique obtenu et essayer d'expliquer les différentes interactions moléculaires responsables de cet effet (RSA).
- ✓ Certains de ces composés ont montré une activité antimicrobienne meilleure que celle de la molécule mère, ce qui mérite d'approfondir la recherche dans la conception des médicaments antibiotiques ou antifongiques et leur toxicologie.
- ✓ La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour les composés benzodiazépines.

Bibliographie

- ADAMS, Harry, Scott CLUNAS et David E FENTON. « Nickel (II) induced cleavage of the iminic pendant arm in unsymmetrical Schiff base compartmental ligands ». In : *Inorganic Chemistry Communications* 4.11 (2001), p. 667-670.
- AGGARWAL, R et al. « Synthesis of new bi (pyrazolo [1, 5-a] pyrimidinyl)-7-one derivatives from dehydroacetic acid and its analogues as antibacterial agents ». In : *Arkivoc* 2 (2014), p. 120-134.
- AHABCHANE, Nouredine Hamou et al. « Synthèse et propriétés biologiques des pyrazolo [4, 3-c] triazolo [4, 3-a][1, 5] benzodiazépines ». In : *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series IIC-Chemistry* 4.12 (2001), p. 917-924.
- AKHREM, AA, AM MOISEENKOV et FA LACHWICZ. « Application of a biogenetic-type scheme for resorcinol amino derivative synthesis ». In : *Tetrahedron* 29.8 (1973), p. 1083-1088.
- ALAGOZ, ZA, C KUS et T COBAN. « Synthesis and antioxidant properties of novel benzimidazoles containing substituted indoles ». In : *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 20.4 (2004), p. 325-331.
- ALINEZHAD, Heshmatollah et al. « An efficient and green protocol for the synthesis of 1, 5-benzodiazepine and quinoxaline derivatives using protic pyridinium ionic liquid as a catalyst ». In : *World Appl Sci J* 22.12 (2013), p. 1711-1717.
- AMAROWICZ, R et F SHAHIDI. « Partial characterization of natural antioxidants in canola meal ». In : *Food Research International* 29.1 (1996), p. 71-76.
- AMEL, Djedouani. « Synthèse, Caractérisation Structurale Et Analytique De Complexes Métalliques Et Ligands Dérivés De L'acide Déhydroacétique ». Thèse de doct. Université Ferhat Abbas - Sétif 1, 2007.

- AMEL, Djedouani. « Synthèse, Caractérisation Structurale Et Analytique De Complexes Métalliques Et Ligands Dérivés De L'acide Déhydroacétique ». Thèse de doct. Université Ferhat Abbas - Sétif 1, **2007**.
- AMEL, MARIR. « Synthèse et réactivité de dérivés de 1-méthyl-4(5)-nitroimidazole ». Mém. de mast. Algérie : Université de Constantine 1, **2012**.
- AMTUL, Z, RA SIDDIQUI, MI CHOUDHARY et al. « Chemistry and mechanism of urease inhibition ». In : *Current medicinal chemistry* 9.14 (**2002**), p. 1323-1348.
- « Chemistry and mechanism of urease inhibition ». In : *Current medicinal chemistry* 9.14 (**2002**), p. 1323-1348.
- « Chemistry and mechanism of urease inhibition ». In : *Current medicinal chemistry* 9.14 (**2002**), p. 1323-1348.
- « Chemistry and mechanism of urease inhibition ». In : *Current medicinal chemistry* 9.14 (**2002**), p. 1323-1348.
- AMTUL, Zareen et al. « A presenilin 1 mutation associated with familial frontotemporal dementia inhibits γ -secretase cleavage of APP and notch ». In : *Neurobiology of disease* 9.2 (**2002**), p. 269-273.
- « A presenilin 1 mutation associated with familial frontotemporal dementia inhibits γ -secretase cleavage of APP and notch ». In : *Neurobiology of disease* 9.2 (**2002**), p. 269-273.
- ANSSEAU, M. « Les benzodiazépines ». In : *RMLG. Revue médicale de Liège* 51.1 (**1996**), p. 70-77.
- ARCHER, Giles A et Leo H STERNBACH. « Chemistry of benzodiazépines ». In : *Chemical Reviews* 68.6 (**1968**), p. 747-784.
- ARNION, Hélène. « Étude de petits ARNs chez une bactérie : Helicobacter pylori ». In : *Laboratoire INSERM* (**2011**).
- AVRIL, JL et JL FAUCHÈRE. « Bactériologie générale et médicale ». In : *Ellipses* (**2002**).
- BALLO, Daouda. « Recherche en série, benzodiazépines, benzimidazole, quinoxaline : Synthèse, réactivité et étude biologique ». In : *Université Mohammed V-Agdal, Faculté des Sciences, Rabat* (**2013**).

- BAUER, AWWM, WMM KIRBY et J C&turck SHERRIS. « turck, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method ». In : *American journal of clinical pathology* 45.4 (1966), p. 493.
- BELLANTUONO, C et al. « Benzodiazepines : clinical pharmacology and therapeutic use ». In : *Drugs* 19.3 (1980), p. 195-219.
- BHATIA, Manish S et al. « Synthesis, screening and QSAR studies of 2, 4-disubstituted 1, 5-benzodiazepine derivatives ». In : *Oriental Journal of Chemistry* 24.1 (2008), p. 147-1532.
- BISWAS, Apurba et al. « Synthesis, crystal structures, magnetic properties and catecholase activity of double phenoxido-bridged penta-coordinated dinuclear nickel (II) complexes derived from reduced Schiff-base ligands : mechanistic inference of catecholase activity ». In : *Inorganic chemistry* 51.15 (2012), p. 7993-8001.
- BIZRI, Y et al. « Constantes de stabilité de complexes organo-minéraux. Interactions des ions plombeux avec les composés organiques hydrosolubles des eaux gravitaires de podzol ». In : *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48.2 (1984), p. 227-234.
- BLAKELEY, Robert L et al. « Jack bean urease (EC 3.5. 1.5). Demonstration of a carbamoyl-transfer reaction and inhibition by hydroxamic acids ». In : *Biochemistry* 8.5 (1969), p. 1991-2000.
- BOESE, AB. « Diketene A New Industrial Chemical ». In : *Industrial & Engineering Chemistry* 32.1 (1940), p. 16-22.
- « Diketene A New Industrial Chemical ». In : *Industrial & Engineering Chemistry* 32.1 (1940), p. 16-22.
- BOUABDALLAH, Ibrahim et al. « Catecholase activities of two CC linked Bipyrazole N-donor ligands with copper (II) salts ». In : *Moroccan Journal of Heterocyclic Chemistry* 6.1 (2007).
- BOUAZIZ, Omar et al. « Réactivité de l'acide déhydroacétique hydrogené en c5-c6 : obtention des pyrano-1, 5-benzodiazépines différemment substituées et de la structure enamino ». In : *Comptes Rendus Chimie* 15.9 (2012), p. 774-778.
- BOUCHET, Philippe, Jean-Louis GUIGNARD et Geneviève MADULO-LEBLOND. *Mycologie générale et médicale*. 1989.

- BOUET, Gilles. « METALLIC COMPLEXES OF FURAN OXIMES II1 COMPLEXES OF β -FURFURALDOXIME WITH CADMIUM (II) HALIDES ». In : *Journal of coordination chemistry* 15.2 (**1986**), p. 131-135.
- BOUSSALAH, Nouria et al. « Synthesis, structure and catalytic properties of tripodal amino-acid derivatized pyrazole-based ligands ». In : *Journal of Molecular Catalysis A : Chemical* 306.1-2 (**2009**), p. 113-117.
- « Synthesis, structure and catalytic properties of tripodal amino-acid derivatized pyrazole-based ligands ». In : *Journal of Molecular Catalysis A : Chemical* 306.1-2 (**2009**), p. 113-117.
- BRANEN, A Larry et al. *Food additives*. CRC Press, **2001**.
- BUNIN, Barry A et Jonathan A ELLMAN. « A general and expedient method for the solid-phase synthesis of 1, 4-benzodiazepine derivatives ». In : *Journal of the American Chemical Society* 114.27 (**1992**), p. 10997-10998.
- CAI, Rui et al. « Effects of preservatives on Alicyclobacillus acidoterrestris growth and guaiacol production ». In : *International journal of food microbiology* 214 (**2015**), p. 145-150.
- « Effects of preservatives on Alicyclobacillus acidoterrestris growth and guaiacol production ». In : *International journal of food microbiology* 214 (**2015**), p. 145-150.
- CALERO, Rolando et al. « Oxidation and catalytic properties of a binuclear copper (I) complex with a meta-xylyl spacer ligand ». In : *Journal of the Chilean Chemical Society* 48.2 (**2003**), p. 85-88.
- CARREA, Giacomo et Sergio RIVA. « Properties and synthetic applications of enzymes in organic solvents ». In : *Angewandte Chemie International Edition* 39.13 (**2000**), p. 2226-2254.
- CASABÓ, Jaume et al. « Transition-metal complexes with dehydroacetic acid : crystal structure of bis (3-acetyl-4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone) cobalt (II) bis (dimethylformamide) ». In : *Polyhedron* 6.6 (1987), p. 1235-1238.
- CASTINEIRAS, A et al. « Diaqua (1, 8-di-2-pyridyl-3, 6-dithiaoctan-N, S, S', N') cobalt (II)-diperchlorat, [Co (C₁₆H₂₀N₂S₂)(H₂O) ₂](ClO₄) ₂ ». In : *Acta Crystallographica Section C : Crystal Structure Communications* 41.1 (**1985**), p. 41-43.

- CHABASSE, D, C GUIGUEN et N CONTET-AUDONNE. *Mycologie médicale. Les abrégés.*
1999.
- CHALAÇA, Mônica Zucolotto et al. « Synthesis and structure of cadmium and zinc complexes of dehydroacetic acid ». In : *Inorganica chimica acta* 328.1 (**2002**), p. 45-52.
 — « Synthesis and structure of cadmium and zinc complexes of dehydroacetic acid ». In : *Inorganica chimica acta* 328.1 (**2002**), p. 45-52.
- CHITRAPRIYA, N et al. « Synthesis, crystal structure and biological activities of dehydroacetic acid complexes of Ru (II) and Ru (III) containing PPh₃/AsPh₃ ». In : *Polyhedron* 27.3 (**2008**), p. 939-946.
- CHOHAN, Zahid H et al. « Metal based biologically active compounds : Design, synthesis, and antibacterial/antifungal/cytotoxic properties of triazole-derived Schiff bases and their oxovanadium (IV) complexes ». In : *European journal of medicinal chemistry* 45.7 (**2010**), p. 2739-2747.
- CLARK, Patrick A et Dean E WILCOX. « Magnetic properties of the nickel enzymes urease, nickel-substituted carboxypeptidase A and nickel-substituted carbonic anhydrase ». In : *Inorganic Chemistry* 28.7 (**1989**), p. 1326-1333.
- COLLIE, J Norman et HR LE SUEUR. « XXVI.—Salts of dehydracetic acid ». In : *Journal of the Chemical Society, Transactions* 65 (**1894**), p. 254-262.
- COLLINS, AH et PM LYNE. « Microbiological Methods ». In : *Laboratory Technique Series. University Park Press, Baltimore pp34-37. count. In : Fidanza F, ed. Nutritional status assessment. London : Chapman and Hall (1976)*, p. 428-9.
- CRUICKSHANK, R et al. « Medicinal microbiology, vol. II ». In : *Churchill Livingstone, London* 196 (**1975**).
- « Medicinal microbiology, vol. II ». In : *Churchill Livingstone, London* 196 (**1975**).
- DE SARRO, G et al. « 5H-[1, 2, 4] Oxadiazolo [5, 4-d][1, 5] benzothiazepines as anticonvulsant agents in DBA/2 mice ». In : *European journal of medicinal chemistry* 30.12 (**1995**), p. 925-929.
- DEBNATH, Asim Kumar. « Quantitative structure-activity relationship (QSAR) paradigm—Hansch era to new millennium. » In : *Mini reviews in medicinal chemistry* 1.2 (**2001**), p. 187-195.

- DEBY, Carol et G DEBY-DUPONT. « Métaux de transition et activation de l'oxygène ». In : *L'oxygène et la vie : tome1* (2000).
- DENNIS, CJ. « Webster (1971c) ». In : *Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma. III. Hyphal interaction. Trans. Br. Mycol. Soc* 57 (1971), p. 363-369.
- « Webster (1971c) ». In : *Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma. III. Hyphal interaction. Trans. Br. Mycol. Soc* 57 (1971), p. 363-369.
- DI SANTO, R et al. *Arxivok, 2004, 5, 181.(b) Velker*. 2004.
- DINIS, Teresa CP, Vítor MC MADEIRA et Leonor M ALMEIDA. « Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers ». In : *Archives of biochemistry and biophysics* 315.1 (1994), p. 161-169.
- « Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers ». In : *Archives of biochemistry and biophysics* 315.1 (1994), p. 161-169.
- DIXON, Richard H et Wendell F ROSSE. « Platelet antibody in autoimmune thrombocytopenia ». In : *British journal of haematology* 31.2 (1975), p. 129-134.
- « Platelet antibody in autoimmune thrombocytopenia ». In : *British journal of haematology* 31.2 (1975), p. 129-134.
- DJEDOUANI, A et al. « Catecholase activity investigations using in situ copper complexes containing Schiff base derivatives with a theoretical calculation ». In : *Oriental Journal of Chemistry* 31.1 (2015), p. 97.
- DJEDOUANI, Amel et al. « Bis (3-acetyl-6-methyl-2-oxo-2H-pyran-4-olato) bis (dimethyl sulfoxide) nickel (II) ». In : *Acta Crystallographica Section E : Structure Reports Online* 65.10 (2009), p. m1205-m1206.
- DJEDOUANI, Amel et al. « Bis [3-acetyl-6-methyl-2H-pyran-2, 4 (3H)-dionato] bis (dimethyl sulfoxide) copper (II) ». In : *Acta Crystallographica Section E : Structure Reports Online* 62.1 (2006), p. m133-m135.
- DULGER, B, A GONUZ et F GUCIN. « Antimicrobial activity of the macrofungus *Cantharellus cibarius* ». In : *Pakistan Journal of Biological Sciences (Pakistan)* (2004).
- DUNN, BE et H COHEN. « Blaser MJ ». In : *Helicobacter pylori. Clin Microbiol Rev* 10 (1997), p. 720-41.

- DUVAL, Frédérique. « La consultation au SAU peut-elle être un moment privilégié de détection et d'information sur le problème de dépendance aux benzodiazépines ? » Thèse de doct. Médecine Générale ; faculté de médecine de Créteil ; université paris Val-de-Marne., **2011**.
- EICKEN, Christoph et al. « Biochemical and spectroscopic characterization of catechol oxidase from sweet potatoes (*Ipomoea batatas*) containing a type-3 dicopper center ». In : *FEBS letters* 436.2 (**1998**), p. 293-299.
- EL ABBASSI, M, EM ESSASSI et J FIFANI. « Nouvelle synthèse des benzodiazépines-1, 5 a partir de la γ -pyrone ». In : *Tetrahedron letters* 28.13 (**1987**), p. 1389-1392.
- EL ABBASSI, M et al. « L'acide dehydracétique, précurseur de synthèse de benzodiazépines ». In : *Tetrahedron letters* 30.50 (**1989**), p. 7069-7070.
- EL KODADI, Mohamed et al. « Synthesis of new tripodal ligand 5-(bis (3, 5-dimethyl-1H-pyrazol-1-ylmethyl) amino) pentan-1-ol, catecholase activities studies of three functional tripodal pyrazolyl N-donor ligands, with different copper (II) salts ». In : *Catalysis Communications* 9.5 (**2008**), p. 966-969.
- ESSASSI, EM. « Ph. Viallefont et R. Zniber ». In : *Bull. Soc. Chim. Fr* 797 (**1986**).
- FATIMA ZOHRA, Benkheira et Mohamed AMARIA. « Etude spectroscopique de l'équilibre enamino-iminone de la réaction de l'acide dehydroacétique avec les amines primaires . » In : *Moroccan Journal of Heterocyclic Chemistry* 15.1 (**2016**), p. 85-91.
- FAURE, Benjamin. « Synthèse et caractérisation de nouveaux catalyseurs hétérogènes pour la dépollution de l'air ». Thèse de doct. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier, **2014**.
- FOGERON, Thibault. « Synthèse de complexes inspirés des formiate déshydrogénases à Mo/W : application à la catalyse moléculaire de la réduction du CO₂ ». Thèse de doct. Sorbonne université, **2018**.
- FURUHASHI, Akiko, Koji AOKI et Morihito SUGIMOTO. « The Reaction of 2, 4, 6-Heptanetrione with o-Phenylenediamine ». In : *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 52.7 (**1979**), p. 2157-2158.
- GARRATT, Sheila. « The mechanism of the reaction between dehydroacetic acid and alkylamines ». In : *The Journal of Organic Chemistry* 28.7 (**1963**), p. 1886-1888.

- GERLOCH, M et EC CONSTABLE. « Transition metal chemistry, Editions VCH ». In : *Weinheim, New York, Tokyo* 211 (2000), p. 15.
- GHONEIM, KM et al. « Study on the Formation of Thiazolopyrimidinediones and Pyrimidothiazinediones from 6-Methyl-2-thiouracil ». In : *Polish Journal of Chemistry* 72.7 (1998), p. 1173-1177.
- GOTO, S, A KONO et S IGUCHI. « Kinetics of reaction of dehydroacetic acid II. Reaction with primary amines ». In : *Journal of pharmaceutical sciences* 57.5 (1968), p. 791-795.
- GOUDABLE, Joëlle et Alain FAVIER. « Radicaux libres oxygénés et antioxydants ». In : *Nutrition clinique et métabolisme* 11.2 (1997), p. 115-120.
- GRINGAUZ, A et G MULLER. « Introduction to Medicinal Chemistry-How Drugs Act and Why ». In : *Angewandte Chemie-German Edition* 109.21 (1997), p. 2484-2484.
- GÜLCIN, İlhami. « Antioxidant activity of food constituents : an overview ». In : *Archives of toxicology* 86.3 (2012), p. 345-391.
- HAITINGER, L. « Über die Dehydracetsäure ». In : *Monatshefte für Chemie und verwandte Teile anderer Wissenschaften* 6.1 (1885), p. 103-106.
- « Ueber die Dehydracetsäure ». In : *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 18.1 (1885), p. 452-453.
- HAKULINEN, Nina et al. « The crystal structure of an extracellular catechol oxidase from the ascomycete fungus *Aspergillus oryzae* ». In : *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* 18.8 (2013), p. 917-929.
- HARIS, RC et JM STRALEY. « US Patent 1,537,757, 1968 ». In : *Chem. Abstr.* T. 73. 100,054. 1970.
- HARRIS, RC et JM STRALEY. « US Patent, 1968, 1, 537, 757 ». In : *Chem. Abstr.* T. 73. 1970, 100054w.
- HE, Yun et al. « 2-Piperidin-4-yl-benzimidazoles with broad spectrum antibacterial activities ». In : *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 13.19 (2003), p. 3253-3256.
- HEARN, Michael J et Michael H CYNAMON. « Design and synthesis of antituberculars : preparation and evaluation against *Mycobacterium tuberculosis* of an isoniazid Schiff base ». In : *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53.2 (2004), p. 185-191.
- HESSE, Manfred et al. *Méthodes spectroscopiques pour la chimie organique*. Masson, 1997.

- HOUGH, Lindsay B. « Genomics meets histamine receptors : new subtypes, new receptors ». In : *Molecular Pharmacology* 59.3 (2001), p. 415-419.
- HRANJEC, Marijana et al. « Synthesis, spectroscopic characterization and antiproliferative evaluation in vitro of novel Schiff bases related to benzimidazoles ». In : *European Journal of Medicinal Chemistry* 46.6 (2011), p. 2274-2279.
- HSIEH, Wen-Yuan et al. « Mn (II) complexes of monoanionic bidentate chelators : X-ray crystal structures of Mn (dha) 2 (CH₃OH) 2 (Hdha= dehydroacetic acid) and [Mn (ema) 2 (H₂O)] 2 · 2H₂O (Hema= 2-ethyl-3-hydroxy-4-pyrone) ». In : *Inorganica chimica acta* 359.1 (2006), p. 228-236.
- ICHIHARA, Akitami et al. « Synthesis of (±)-solanapyrone A ». In : *Tetrahedron letters* 28.11 (1987), p. 1175-1178.
- JADHAV, KP et DB INGLE. « Synthesis of 2, 4-diaryl-2, 3-dihydro-1, 5-benzothiazepines and their 1, 1-dioxides as antibacterial agents ». In : *Chemischer Informationsdienst* 14.33 (1983).
- JADHAV, SM et al. « Synthesis, Potentiometric, Spectral Characterization and Microbial Studies of Transition Metal Complexes with Tridentate Ligand ». In : *Journal of the Korean Chemical Society* 54.5 (2010), p. 515-522.
- JANNET, H Ben et al. « Responses of Spodoptera littoralis larvae to Tunisian plant extracts and to neo-clerodane diterpenoids isolated from Ajuga pseudoiva leaves ». In : *Fitoterapia* 71.2 (2000), p. 105-112.
- KAMAL, Ahmed et al. « Synthesis of novel non-cross-linking pyrrolbenzodiazepines with remarkable DNA binding affinity and potent antitumour activity ». In : *Chemical Communications* 5 (2001), p. 437-438.
- KANNAN, Sethuraman et al. « Ruthenium (II) carbonyl complexes of dehydroacetic acid thiosemicarbazone : synthesis, structure, light emission and biological activity ». In : *Journal of Organometallic Chemistry* 693.13 (2008), p. 2251-2257.
- KATO, H, M NISHIKAWA et E KOSHINAKA. « Ger Offen., 1978, 2, 722,189 ». In : *Chem. Abstr.* T. 88. 1978, p. 152675d.
- KATRITZKY, Alan Roy et Charles Wayne REES. *Comprehensive organic chemistry*. Pergamon Oxford, 1982.

- KETTLE, Sidney FA. *Physico-chimie inorganique : Une approche basée sur la chimie de coordination*. De Boeck Supérieur, **1999**.
- KLABUNDE, Thomas et al. « Crystal structure of a plant catechol oxidase containing a dicopper center ». In : *Nature structural biology* 5.12 (**1998**), p. 1084-1090.
- KOVAL, Iryna A. « Copper complexes as biomimetic models of catechol oxidase : mechanistic studies ». Thèse de doct. Leiden University, **2006**.
- KUBAISI, Abdulla Al et Kamal Z ISMAIL. « Nickel (II) and palladium (II) chelates of dehydroacetic acid Schiff bases derived from thiosemicarbazide and hydrazinecarbo-dithioate ». In : *Canadian journal of chemistry* 72.8 (**1994**), p. 1785-1788.
- KUBOLA, Jittawan et Sirithon SIRIAMORNPNUN. « Phenolic contents and antioxidant activities of bitter melon (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro ». In : *Food chemistry* 110.4 (**2008**), p. 881-890.
- KUMAR, BB et PV RAO. « Synthesis and structural studies on transition metal complexes derived from 1-(2-thienyl)-1-ethanone-1H-benzimidazole ». In : *Asian J. Chem* 18 (**2006**), p. 3060-3064.
- KUMAR, Naveen et al. « Synthesis, Crystal and DFT studies of Zn/Co complexes of Dehydroacetic acid using ligand exchange approach ». In : *Inorganic Chemistry Communications* 122 (**2020**), p. 108280.
- KUMAR GUPTA, G, A MITTAL et V KUMAR. « DHA : an excellent source of bioactive heterocycles ». In : *Letters in Organic Chemistry* 11.4 (**2014**), p. 273-286.
- KUNIGISHI, U. « Synthesis of dehydroacetic acid isonicotinyl hydrazone sodium-salt. Its antitubercular effect on clinical tuberculosis ». In : *Chemotherapy* 6.5 (**1958**), p. 336-341.
- KUO, Chun-Wei et al. « Efficient TCT-catalyzed synthesis of 1, 5-benzodiazepine derivatives under mild conditions ». In : *Molecules* 13.9 (**2008**), p. 2313-2325.
- KUSTERS, Johannes G, Arnoud HM van VLIET et Ernst J KUIPERS. « Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection ». In : *Clinical microbiology reviews* 19.3 (**2006**), p. 449-490.
- LAABAISSE, T et al. « Benzodiazepine derivatives as corrosion inhibitors of carbon steel in HCl media : electrochemical and theoretical studies ». In : *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces* 55.5 (**2019**), p. 986-1000.

- LAHLOU, Mouhssen. « Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils ». In : *Phytotherapy Research : An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 18.6 (2004), p. 435-448.
- LANDRY, Y et JP GIES. *Pharmacologie, des cibles à la thérapeutique [Internet]. 3ème édition. Dunod; 2014 [cited 2016 Jun 17]*.
- LANKTREE, Matthew B et al. « Meta-analysis of dense genecentric association studies reveals common and uncommon variants associated with height ». In : *The American Journal of Human Genetics* 88.1 (2011), p. 6-18.
- LEILA, KHOUDOUR. « Synthèse et caractérisation de certains composés hétérocycliques ». Mém. de mast. Algérie : Université de Sétif 1 - Ferhat Abbas, 2002.
- LEONARD, JT et al. « Synthesis, antiinflammatory and antibacterial activities of 4-substituted phenyl benzimidazoles ». In : *Asian Journal of Chemistry* 18.2 (2006), p. 1104-1108.
- « Synthesis, antiinflammatory and antibacterial activities of 4-substituted phenyl benzimidazoles ». In : *Asian Journal of Chemistry* 18.2 (2006), p. 1104-1108.
- LIND, Tore et al. « The MACH2 study : role of omeprazole in eradication of *Helicobacter pylori* with 1-week triple therapies ». In : *Gastroenterology* 116.2 (1999), p. 248-253.
- LIPSCOMB, JD et AM ORVILLE. « Mechanistic aspects of dihydroxybenzoate dioxygenases ». In : *Metal ions in biological systems* 28 (1992), p. 243-298.
- LÖWE, Werner. « 4-Hydroxy-5-oximino-7-methyl-5H-pyrano [2, 3-b] pyridin-8-oxid ». In : *Archiv der Pharmazie* 311.5 (1978), p. 414-420.
- « 4-Hydroxy-5-oximino-7-methyl-5H-pyrano [2, 3-b] pyridin-8-oxid ». In : *Archiv der Pharmazie* 311.5 (1978), p. 414-420.
- « (Hydroxyphenyl)-äthanone aus Dehydracetsäure ». In : *Archiv der Pharmazie* 310.11 (1977), p. 931-935.
- MADHAVI, DI L, SS DESHPANDE et Dattajirao K SALUNKHE. *Food antioxidants : Technological : Toxicological and health perspectives*. CRC Press, 1995.
- MAGNUS, Karen A, Hoa TON-THAT et Joan E CARPENTER. « Recent structural work on the oxygen transport protein hemocyanin ». In : *Chemical reviews* 94.3 (1994), p. 727-735.

- MAINDRON, Nicolas. « Synthèse de sondes lanthanidiques luminescentes : applications au marquage covalent et à la détection de biomolécules. » Thèse de doct. **2012**.
- MAITI, Bhim C et SK MAITRA. « Reaction of Dehydroacetic Acid with Aliphatic, Aromatic and Heterocyclic Amines. » In : *ChemInform* 29.48 (**1998**).
- MANN, CM et JL MARKHAM. « A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils ». In : *Journal of applied microbiology* 84.4 (**1998**), p. 538-544.
- MARCO, J et al. « Einfluß der Prednisolonbehandlung auf die Insulinsekretion der Ratte ». In : *Diabetologia* 4.6 (**1968**), p. 365-369.
- MAURYA, RC et al. « Oxidovanadium (IV) complexes involving dehydroacetic acid and β -diketones of bioinorganic and medicinal relevance : their synthesis, characterization, thermal behavior and DFT aspects ». In : *Journal of Molecular Structure* 1083 (**2015**), p. 343-356.
- MAYER, Alfred M et Eitan HAREL. « Polyphenol oxidases in plants ». In : *Phytochemistry* 18.2 (**1979**), p. 193-215.
- MELNIKOV, N N. *Chemistry of pesticides*. Sous la dir. de Gunther F.A et Gunther J.D. Springer Science & Business Media, **1971**.
- MINNIH, Mohamed Said, Youssef Kandri RODI et El Mokhtar ESSASSI. « Synthèse et Reactivite de la Z-4-(2-oxopropylidene)-4, 5-dihydro-1H-1, 5-benzodiazepin-2 (3H)-one et de ses derives ». In : *Moroccan Journal of Heterocyclic Chemistry* 13.1 (**2014**).
- MISHRA, Rojita et Satpal Singh BISHT. « Antioxidants and their charecterization ». In : *Journal of Pharmacy Research* 4.8 (**2011**), p. 2744-2746.
- MÜLLER, Eberhard, Rolf HALLER et Kurt Walther MERZ. « Synthese und Struktur substituierter 1.5-Benzodiazepinone-(4) ». In : *Justus Liebigs Annalen der Chemie* 697.1 (**1966**), p. 193-200.
- NAWROCKA, Wanda et al. « Synthesis and antiproliferative activity in vitro of 2 - aminobenzimidazole derivatives ». In : *Il Farmaco* 59.2 (**2004**), p. 83-91.
- NEHAR, Oussama Kheireddine et al. « New thiosemicarbazone Schiff base ligands : Synthesis, characterization, catecholase study and hemolytic activity ». In : *Journal of Molecular Structure* 1204 (**2020**), p. 127566.

- OPPENHEIM, A et H PRECHT. « Uber Derivate der Dehydroacetsure ». In : *Ber. Chem. Gesel. in Berlin* 9 (1876), p. 1099-1102.
- OYAZU, Makoto. « Studies on Products of Browning Reaction ». In : *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics* 44.6 (1986), p. 307-315. DOI : 10.5264/eiyogakuzashi.44.307.
- O'CONNOR, Kieron, Lynda BÉLANGER et Yves LECOMTE. « Benzodiazépines : santé mentale et santé sociale ». In : *Santé mentale au Québec* 28.2 (2003), p. 15-21.
- « Benzodiazépines : santé mentale et santé sociale ». In : *Santé mentale au Québec* 28.2 (2003), p. 15-21.
- PANDA, Manas K et al. « Functional mimics of catechol oxidase by mononuclear copper complexes of sterically demanding [NNO] ligands ». In : *Inorganica Chimica Acta* 372.1 (2011), p. 145-151.
- « Functional mimics of catechol oxidase by mononuclear copper complexes of sterically demanding [NNO] ligands ». In : *Inorganica Chimica Acta* 372.1 (2011), p. 145-151.
- PAREKH, Jigna et Sumitra CHANDA. « Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plants ». In : *African Journal of Biomedical Research* 10.2 (2007).
- PARSONS, Mike E et C Robin GANELLIN. « Histamine and its receptors ». In : *British journal of pharmacology* 147.S1 (2006), S127-S135.
- PAULUS, Wilfried. *Directory of microbicides for the protection of materials : a handbook*. Springer Science & Business Media, 2005.
- PÉREZ RODRÍGUEZ, C et al. « An Antibiotic assay by the agar well diffusion method ». In : *Acta Biologiae et Medecine Experimentaalis* 15 (1990), p. 113-115.
- PIETTA, Pier-Giorgio. « Flavonoids as antioxidants ». In : *Journal of natural products* 63.7 (2000), p. 1035-1042.
- « Flavonoids as antioxidants ». In : *Journal of natural products* 63.7 (2000), p. 1035-1042.
- RACHEDI, Y et al. « Reaction of 4-Hydroxy-6-Methyl-3- β -arylpropionyl-2-Pyrones with Phenylhydrazine-Synthesis of a New Pyrazole Series ». In : *Synthetic communications* 21.10-11 (1991), p. 1189-1199.

- RAKIB, EM et al. « Reactions of 2-Pyrones with 7-Aminoindazole : The First Synthesis of N-(1 H-7-Indazolyl)-pyridinones ». In : *Synthetic Communications*® 38.20 (2008), p. 3523-3529.
- RAMADAN, Abd El-Motaleb M, Mohamed M IBRAHIM et Ibrahim M EL-MEHASSEB. « New mononuclear copper (I) and copper (II) complexes containing N4 donors ; crystal structure and catechol oxidase biomimetic catalytic activity ». In : *Journal of Coordination Chemistry* 65.13 (2012), p. 2256-2279.
- RAMLA, Mostafa M et al. « Synthesis and inhibitory activity of new benzimidazole derivatives against Burkitt's lymphoma promotion ». In : *Bioorganic & medicinal chemistry* 15.19 (2007), p. 6489-6496.
- RAO, P Venkateswar et A Venkata NARASIAH. « Synthesis, characterization and biological studies of oxovanadium (IV), manganese (II), iron (II), cobalt (II), nickel (II) and copper (II) complexes derived from a quadridentate ligand ». In : (2003).
- RAZA, Yasir et al. « Oxidative DNA damage as a potential early biomarker of Helicobacter pylori associated carcinogenesis ». In : *Pathology & Oncology Research* 20.4 (2014), p. 839-846.
- RE, Roberta et al. « Antioxidant activity applying an improved ABTS ·+ radical cation decolorization assay ». In : *Free radical biology and medicine* 26.9-10 (1999), p. 1231-1237.
- « Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay ». In : *Free radical biology and medicine* 26.9-10 (1999), p. 1231-1237.
- REDDY, Benjaram M et Pavani M SREEKANTH. « An efficient synthesis of 1, 5-benzodiazepine derivatives catalyzed by a solid superacid sulfated zirconia ». In : *Tetrahedron letters* 44.24 (2003), p. 4447-4449.
- RICE-EVANS, Catherine A et al. « The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids ». In : *Free radical research* 22.4 (1995), p. 375-383.
- RIED, Walter et Paul STAHLHOFEN. « Über heterocyclische Siebenringsysteme, IV. Mitteil.) : Synthesen und Eigenschaften von 4.5-Benzo-[hept-1.2. 6-oxdiazinen] ». In : *Chemische Berichte* 87.12 (1954), p. 1814-1824.
- RIVERA, C, E PINEYRO et F GIRAL. « Dehydroacetic acid in anthers of Solandra nitida (Solanaceae) ». In : *Experientia* 32.12 (1976), p. 1490-1490.

- ROMPEL, Annette et al. « Purification and spectroscopic studies on catechol oxidases from *Lycopus europaeus* and *Populus nigra* : evidence for a dinuclear copper center of type 3 and spectroscopic similarities to tyrosinase and hemocyanin ». In : *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* 4.1 (1999), p. 56-63.
- ROMPEL, Annette et al. « Substrate specificity of catechol oxidase from *Lycopus europaeus* and characterization of the bioproducts of enzymic caffeic acid oxidation ». In : *FEBS letters* 445.1 (1999), p. 103-110.
- ROSSMOORE, Harold William. *Handbook of biocide and preservative use*. Springer Science & Business Media, 2012.
- RUBIN, Bernard, Michael J ANTONACCIO et Zola P HOROVITZ. « Captopril (SQ 14,225)(D-3-mercapto-2-methylpropanoyl-L-proline) : a novel orally active inhibitor of angiotensin-converting enzyme and antihypertensive agent ». In : *Progress in cardiovascular diseases* 21.3 (1978), p. 183-194.
- RUCH, Randall J, Shu-jun CHENG et James E KLAUNIG. « Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea ». In : *Carcinogenesis* 10.6 (1989), p. 1003-1008.
- SACHS, G et B WALLMARK. « The gastric H⁺, K⁺-ATPase : the site of action of omeprazole ». In : *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 24.sup166 (1989), p. 3-11.
- SACHS, G et al. « The energy source for gastric H⁺ secretion ». In : *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 162.2 (1968), p. 210-219.
- SÁNCHEZ-VIOQUE, R et al. « Polyphenol composition and antioxidant and metal chelating activities of the solid residues from the essential oil industry ». In : *Industrial Crops and Products* 49 (2013), p. 150-159.
- « Polyphenol composition and antioxidant and metal chelating activities of the solid residues from the essential oil industry ». In : *Industrial Crops and Products* 49 (2013), p. 150-159.
- SATYANARAYANA, K et MNA RAO. « Antiinflammatory, analgesic and antipyretic activities of 3-[4-[3-(4-dimethylaminophenyl)-1-oxo-2-propenyl] phenyl] sydnone ». In : *Indian Drugs* 30.7 (1993), p. 313-318.

- SATYANARAYANA, K et MNA RAO. « Synthesis of 3-[4-[2, 3-dihydro-2-(substituted aryl)-1, 5-benzothiazepin-4-yl] phenyl] sydnonones as potential antiinflammatory agents ». In : *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 55.6 (**1993**), p. 230-233.
- SCHIBBYE, G. « Zur Geschichte der Deydracetsäure ». Thèse de doct. Verlag nicht ermittelbar, **1882**.
- SCHINDLER, Siegfried. « Reactivity of copper (I) complexes towards dioxygen ». In : *European Journal of Inorganic Chemistry* 2000.11 (**2000**), p. 2311-2326.
- SHAH, MR et ZH SOOMRO. « Urease inhibition, enzyme inhibition and bioapplications ». In : *InTech* (**2012**).
- « Urease inhibition, enzyme inhibition and bioapplications ». In : *InTech* (**2012**).
- SHAHIDI, F. « Antioxidants in food and food antioxidants ». In : *Food/nahrung* 44.3 (**2000**), p. 158-163.
- SHARMA, N et YC JOSHI. « Synthesis of Some Novel 2, 4-Disubstituted-1, 5-benzodiazepine Derivatives under Solvent-free Microwave Irradiation Conditions and their Antimicrobial Evaluation ». In : *Int. J. Pharm. Biomed. Sci* 3 (**2012**), p. 55-59.
- SHELDRIK, George M. « Crystal structure refinement with SHELXL ». In : *Acta Crystallographica Section C : Structural Chemistry* 71.1 (**2015**), p. 3-8.
- « SHELXT—Integrated space-group and crystal-structure determination ». In : *Acta Crystallographica Section A : Foundations and Advances* 71.1 (**2015**), p. 3-8.
- SHEN, X-P et A-H YUAN. « Bis (N, N-dimethylformamide- κ O) bis [1-phenyl-3-methyl-4-benzoyl-1H-pyrazol-5 (4H)-onato- κ 2O, O'] nickel (II) ». In : *Acta Crystallographica Section E : Structure Reports Online* 60.9 (**2004**), p. m1228-m1230.
- SINGLETON, Vernon L et Joseph A ROSSI. « Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic -phosphotungstic acid reagents ». In : *American journal of Enology and Viticulture* 16.3 (**1965**), p. 144-158.
- SITRAN, Sergio, Dolores FREGONA et Giuseppina FARAGLIA. « Lanthanide complexes of 3-acetyl-4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one ». In : *Journal of coordination chemistry* 22.3 (**1990**), p. 229-235.
- « Lanthanide complexes of 3-acetyl-4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one ». In : *Journal of coordination chemistry* 22.3 (**1990**), p. 229-235.

- SMIRNOFF, Nicholas et Quinton J CUMBES. « Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes ». In : *Phytochemistry* 28.4 (1989), p. 1057-1060.
- SMITH, Martha D et Patricia L NAVILLIAT. « A new protocol for antimicrobial testing of oils ». In : *International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants 426*. 1995, p. 31-38.
- SOLOMINOVA, TS et al. « Targeted Search for New Anthelmintics Among 5 (6) - Amino-phenylthio (oxy)-2-aminobenzimidazole Derivatives. Part I. Quantitative Structure–Activity Relationship ». In : *Pharmaceutical Chemistry Journal* 38.8 (2004), p. 425-430.
- SOLOMKO, ZF et AN KOST. « 1, 5-Benzodiazepines ». In : *Chemistry of Heterocyclic Compounds* 11.11 (1975), p. 1231-1248.
- SOLOMON, Edward I, Uma M SUNDARAM et Timothy E MACHONKIN. « Multicopper oxidases and oxygenases ». In : *Chemical reviews* 96.7 (1996), p. 2563-2606.
- SONG, Weitang et al. « Tomato Fusarium wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system ». In : *Crop protection* 23.3 (2004), p. 243-247.
- STEPHEN, J F et E MARCUS. « Reactions of dehydroacetic acid and related pyrones with secondary amines ». In : *The Journal of Organic Chemistry* 34.9 (1969), p. 2527-2534.
- STOOKEY, Lawrence L. « Ferrozine—a new spectrophotometric reagent for iron ». In : *Analytical chemistry* 42.7 (1970), p. 779-781.
- SWAMI, M.P. et al. « Prog. Nat. Acad. Sci ». In : 3.176 (1980).
- TABTI, S et al. « Synthesis, characterization and electrochemical behavior of new transition metal complexes derivatives of 4-hydroxy-6-methyl-3-[(2E)-3-(4-(dimethylamino)phenyl) prop-2-enoyl]-2H-pyran-2-one ». In : *J Mater Environ Sci* 9.9 (2018), p. 2624-30.
- TABTI, Salima et al. « New Cu (II), Co (II) and Ni (II) complexes of chalcone derivatives : Synthesis, X-ray crystal structure, electrochemical properties and DFT computational studies ». In : *Journal of Molecular Structure* 1155 (2018), p. 11-20.
- TABUCHI, H et al. « Total synthesis and stereochemistry of alternaric acid ». In : *The Journal of Organic Chemistry* 59.17 (1994), p. 4749-4759.

- TAHA, Muhammad et al. « Bisindolylmethane thiosemicarbazides as potential inhibitors of urease : Synthesis and molecular modeling studies ». In : *Bioorganic & medicinal chemistry* 26.1 (2018), p. 152-160.
- « Bisindolylmethane thiosemicarbazides as potential inhibitors of urease : Synthesis and molecular modeling studies ». In : *Bioorganic & medicinal chemistry* 26.1 (2018), p. 152-160.
- « Bisindolylmethane thiosemicarbazides as potential inhibitors of urease : Synthesis and molecular modeling studies ». In : *Bioorganic & medicinal chemistry* 26.1 (2018), p. 152-160.
- TAKESHITA, Hitoshi, Ryoko KIKUCHI et Yoshikazu SHOJI. « synthetische photochemie 2. mitt. cycloadditionsrk. von dehydroacetsaeure mit olefinen ». In : *Chemischer Informationsdienst* 4.18 (1973), p. 46.
- TAKEUCHI, Naoki, Hideo NAKAGAWA et Seisho TOBINAGA. « Intra-and Intermolecular Condensation Reactions of 8-Phenyl-7-octene-2, 4, 6-trione and 8-Phenyl-2, 4, 6-octanetrione (Studies on the β -Carbonyl Compounds connected with the β -Polyketides. IV) ». In : *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 28.10 (1980), p. 3002-3006.
- TAN, Sau-Fun, Kok-Peng ANG et Harilakshmi JAYACHANDRAN. « Ionization constants of some hydroxypyrones in water and in 80%(w/w) dimethyl sulphoxide–water at 25° C ». In : *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* 4 (1983), p. 471-473.
- TAQUI KHAN, MM et al. « Synthesis of the monooxoruthenium (V) complexes containing the amino polycarboxylic acid ligands EDTA and PDTA and their reactivities in the oxidation of organic substrates. X-ray crystal structures of K [RuIII (EDTA-H) Cl]. 2H₂O and K [RuIII (PDTA-H) Cl]. 0.5 H₂O ». In : *Inorganic chemistry (Print)* 31.13 (1992), p. 2711-2718.
- TEPE, Bektas et al. « Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae) ». In : *Food chemistry* 90.3 (2005), p. 333-340.
- « Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae) ». In : *Food chemistry* 90.3 (2005), p. 333-340.

- THARIB, S.M., S. O. GNAN et G. B. A. VEITCH. « Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia campestris* ». In : *Journal of Food Protection* 46 (1983), p. 185-7.
- « Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia campestris* ». In : *Journal of Food Protection* 46 (1983), p. 185-7.
- THEINE, J et G STEIMMIG. « Ber ». In : *Ber* 40 (1907).
- TITI, A et al. « Study of the catecholase catalytic properties of copper (II) complexes prepared in-situ with monodentate ligands ». In : *Materials Today : Proceedings* 13 (2019), p. 1134-1142.
- TOWNSHEND, Alan et al. *Dictionary of analytical reagents*. CRC Press, 1993.
- VÁMOS-VIGYÁZÓ, Lilly et Norman F HAARD. « Polyphenol oxidases and peroxidases in fruits and vegetables ». In : *Critical Reviews in Food Science & Nutrition* 15.1 (1981), p. 49-127.
- VEDULA, Manohar Sharma et al. « New styryl sulfones as anticancer agents ». In : *European journal of medicinal chemistry* 38.9 (2003), p. 811-824.
- VELKER, Jorg et al. « The novel sequence Diels-Alder reaction/Ireland-Claisen rearrangement applied to acyclic dienophiles : New insights into the selectivity of the Ireland-Claisen rearrangement ». In : *Synlett* 1999.Sup. 1 (1999), p. 925-929.
- VITALE, G et al. « 2-Arylbenzimidazoles as antiviral and antiproliferative agents-Part 1 ». In : *Medicinal chemistry* 4.6 (2008), p. 605-615.
- WAMHOFF, Heinrich, Gerhard SCHORN et Friedhelm KORTE. « Acyl-lacton-Umlagerung, XXXVII. Zur Synthese und Umlagerung bi-und tricyclischer α -Acyl- δ -lactone ». In : *Chemische Berichte* 100.4 (1967), p. 1296-1304.
- WILCOX, Dean E et al. « Substrate analog binding to the coupled binuclear copper active site in tyrosinase ». In : *Journal of the American Chemical Society* 107.13 (1985), p. 4015-4027.
- WÜRTHNER, Frank et al. « Hydrogen-Bond-Directed Head-to-Tail Orientation of Dipolar Merocyanine Dyes : A Strategy for the Design of Electrooptical Materials ». In : *Angewandte Chemie* 118.23 (2006), p. 3926-3930.
- XIE, Huan et al. « Cu-based nanocatalysts for electrochemical reduction of CO₂ ». In : *Nano Today* 21 (2018), p. 41-54.

- XIE, Huan et al. « Cu-based nanocatalysts for electrochemical reduction of CO₂ ». In : *Nano Today* 21 (2018), p. 41-54.
- YADAV, Janardan Singh et YK SRIVASTAVA. « Microwave assisted rapid and efficient synthesis, characterization and pharmacological evaluation of some novel benzimidazole assembled 1, 5-benzodizepine and 1, 5-benzothiazepine derivatives ». In : *Der Pharmacia Lettre* 3.2 (2011), p. 284-291.
- YANCHENKO, VA et al. « Unexpected destruction of triazole ring by the action of dehydroacetic acid ». In : *Chemistry of Heterocyclic Compounds* 3.39 (2003), p. 402-403.
- YI, Yu-Yang et al. « Synthesis and antimicrobial evaluation of pogostone and its analogues ». In : *Fitoterapia* 84 (2013), p. 135-139.
- YORUK, Ruhiye et Maurice R MARSHALL. « Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase : a review 1 ». In : *Journal of food biochemistry* 27.5 (2003), p. 361-422.
- YOUSEF, US. « A novel conducting polymer film by electrochemical oxidation of 3-[1-(2-aminophenylimino)-ethyl]-6-methylpyran-2, 4-dione schiff base in aqueous medium ». In : *European Polymer Journal* 36.8 (2000), p. 1629-1644.
- ZAIKA, Laura L. « Spices and herbs : their antimicrobial activity and its determination 1 ». In : *Journal of Food Safety* 9.2 (1988), p. 97-118.
- ZAWISTOWSKI, J. « Polyphenol oxidase. » In : *Oxidative enzymes in foods* (1991), p. 217-274.
- ZEMA, L et al. « Active packaging for topical cosmetic/drug products : A hot-melt extruded preservative delivery device ». In : *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 75.2 (2010), p. 291-296.
- ZERROUKI, Abdelkhalek, Rachid TOUZANI et Sghir EL KADIRI. « Synthesis of new derivatized pyrazole based ligands and their catecholase activity studies ». In : *Arabian journal of chemistry* 4.4 (2011), p. 459-464.

Annexes

Première partie

Caractérisation et détermination structurale

Annexe 1

Tableau 1 : Coordonnées atomiques et facteurs d'agitation thermiques isotropes du complexe $Co(DHA)_2 \cdot 2DMSO$

| Atome | x | y | z | U (eq) |
|--------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Co1 Co | 0.500000 | 0.500000 | 0.500000 | 0.01615(17) |
| S1 S | 0.72642(6) | 0.77503(11) | 0.46933(4) | 0.01810(18) |
| O2 O | 0.58743(16) | 0.3734(3) | 0.40460(11) | 0.0181(4) |
| O3 O | 0.45305(16) | 0.7370(3) | 0.42201(11) | 0.0185(4) |
| O1 O | 0.65966(16) | 0.6701(3) | 0.53698(11) | 0.0214(4) |
| O5 O | 0.45687(17) | 0.8120(3) | 0.17728(11) | 0.0209(4) |
| O4 O | 0.56083(19) | 0.5232(3) | 0.15722(13) | 0.0229(4) |
| C3 C | 0.5873(2) | 0.4207(4) | 0.33060(16) | 0.0168(5) |
| C6 C | 0.4628(2) | 0.7520(4) | 0.34633(16) | 0.0161(5) |
| C5 C | 0.5218(2) | 0.6020(4) | 0.29588(16) | 0.0173(5) |
| C7 C | 0.4098(2) | 0.9393(4) | 0.30679(16) | 0.0173(5) |
| H7 H | 0.378420 | 1.046872 | 0.338487 | 0.021 |
| C1 C | 0.7910(3) | 1.0103(4) | 0.51333(19) | 0.0223(6) |
| H1A H | 0.729563 | 1.111404 | 0.524178 | 0.033 |
| H1B H | 0.844363 | 1.072634 | 0.476191 | 0.033 |
| H1C H | 0.834144 | 0.974153 | 0.563436 | 0.033 |
| C9 C | 0.5180(2) | 0.6342(4) | 0.20910(16) | 0.0171(5) |
| C8 C | 0.4053(2) | 0.9601(5) | 0.22638(18) | 0.0195(6) |
| C4 C | 0.6649(2) | 0.2814(5) | 0.28076(17) | 0.0208(6) |
| H4A H | 0.709104 | 0.184313 | 0.316141 | 0.031 |
| H4B H | 0.718943 | 0.369855 | 0.252377 | 0.031 |
| H4C H | 0.616178 | 0.201031 | 0.241962 | 0.031 |
| C2 C | 0.8598(3) | 0.6223(5) | 0.46230(19) | 0.0246(6) |
| H2B H | 0.910421 | 0.690980 | 0.424936 | 0.037 |
| H2C H | 0.840317 | 0.480570 | 0.443048 | 0.037 |
| C10 C | 0.3477(2) | 1.1342(5) | 0.17730(17) | 0.0235(6) |
| H10A H | 0.405198 | 1.200771 | 0.144322 | 0.035 |
| H10B H | 0.316018 | 1.239171 | 0.213070 | 0.035 |
| H10C H | 0.284460 | 1.075549 | 0.142722 | 0.035 |

Tableau 2 :Facteurs d'agitation thermiques anisotropes du complexe $Co(DHA)_2 \cdot 2DMSO$.

| Atome | U11 | U22 | U33 | U23 | U13 | U12 |
|-------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| Co1 | 0.0129(3) | 0.0209(3) | 0.0150(3) | 0.00176(19) | 0.00451(19) | 0.00104(18) |
| S1 | 0.0151(3) | 0.0231(4) | 0.0164(3) | 0.0011(2) | 0.0035(2) | -0.0017(2) |
| O2 | 0.0161(9) | 0.0217(10) | 0.0168(9) | -0.0011(7) | 0.0046(7) | 0.0029(7) |
| O3 | 0.0188(9) | 0.0215(9) | 0.0158(9) | 0.0020(7) | 0.0055(7) | 0.0027(7) |
| O1 | 0.0147(9) | 0.0321(11) | 0.0177(10) | 0.0014(8) | 0.0049(7) | -0.0031(8) |
| O5 | 0.0223(10) | 0.0243(10) | 0.0163(9) | 0.0019(8) | 0.0037(7) | 0.0048(8) |
| O4 | 0.0246(11) | 0.0267(11) | 0.0177(10) | -0.0012(8) | 0.0049(8) | 0.0037(8) |
| C3 | 0.0114(11) | 0.0207(13) | 0.0186(13) | -0.0009(11) | 0.0027(9) | -0.0031(10) |
| C6 | 0.0111(11) | 0.0211(13) | 0.0163(12) | 0.0009(10) | 0.0032(9) | -0.0035(9) |
| C5 | 0.0137(12) | 0.0212(13) | 0.0175(13) | -0.0002(10) | 0.0041(9) | -0.0018(10) |
| C7 | 0.0137(12) | 0.0180(12) | 0.0206(13) | 0.0000(11) | 0.0055(10) | 0.0011(10) |
| C1 | 0.0215(14) | 0.0214(14) | 0.0244(15) | -0.0026(11) | 0.0050(11) | -0.0008(10) |
| C9 | 0.0127(11) | 0.0208(13) | 0.0179(13) | 0.0004(10) | 0.0034(9) | -0.0006(10) |
| C8 | 0.0122(12) | 0.0239(13) | 0.0226(14) | 0.0008(11) | 0.0039(10) | 0.0014(10) |
| C4 | 0.0181(12) | 0.0254(14) | 0.0192(14) | 0.0002(11) | 0.0057(10) | 0.0031(11) |
| C2 | 0.0223(14) | 0.0231(14) | 0.0292(15) | 0.0027(12) | 0.0107(11) | 0.0048(11) |
| C10 | 0.0176(13) | 0.0295(15) | 0.0233(14) | 0.0033(12) | 0.0016(10) | 0.0033(11) |

Tableau 3 :Distances (Å) interatomiques du complexe $Co(DHA)_2 \cdot 2DMSO$

| Atome 1 | Atome 2 | Distance |
|---------|---------|------------|
| Co1-O2 | | 2.0506(17) |
| Co1-O2 | | 2.0506(17) |
| Co1-O3 | | 2.0080(19) |
| Co1-O3 | | 2.0080(19) |
| Co1-O1 | | 2.1487(19) |
| Co1-O1 | | 2.1487(19) |
| S1-O1 | | 1.5209(19) |
| S1-C1 | | 1.775(3) |
| S1-C2 | | 1.788(3) |
| O2-C3 | | 1.250(3) |
| O3-C6 | | 1.256(3) |
| O5-C9 | | 1.392(3) |
| O5-C8 | | 1.374(3) |
| O4-C9 | | 1.216(3) |
| C3-C5 | | 1.450(4) |
| C3-C4 | | 1.504(4) |
| C6-C5 | | 1.435(4) |
| C6-C7 | | 1.450(4) |
| C5-C9 | | 1.437(4) |
| C7 C8 | | 1.324(4) |
| C8 C10 | | 1.482(4) |

Tableau 4 :Angles (°) de liaisons du complexe $Co(DHA)_2 \cdot 2DMSO$.

| Atome1-Atome2-Atome3 | Angle |
|----------------------|------------|
| O2 -Co1-O2 | 180.0 |
| O2-Co1-O1 | 91.30(7) |
| O2-Co1-O1 | 88.70(7) |
| O2-Co1-O1 | 91.30(7) |
| O2-Co1-O1 | 88.70(7) |
| O3-Co1-O2 | 94.72(7) |
| O3-Co1-O2 | 94.72(7) |
| O3-Co1-O2 | 85.28(7) |
| O3-Co1-O2 | 85.28(7) |
| O3-Co1-O3 | 180.0 |
| O3-Co1-O1 | 89.66(8) |
| O3-Co1-O1 | 90.34(8) |
| O3-Co1-O1 | 90.34(8) |
| O3-Co1-O1 | 89.66(8) |
| O1-Co1-O1 | 180.0 |
| O1-S1-C1 | 105.45(13) |
| O1-S1-C2 | 105.50(12) |
| C1-S1-C2 | 97.93(14) |
| C3-O2-Co1 | 132.42(18) |
| C6-O3-Co1 | 130.63(17) |
| S1-O1-Co1 | 116.40(11) |
| C8-O5-C9 | 122.1(2) |
| O2-C3-C5 | 122.8(2) |
| O2-C3-C4 | 114.9(2) |
| C5-C3-C4 | 122.3(2) |
| O3-C6-C5 | 126.1(2) |
| O3-C6-C7 | 116.6(2) |
| C5-C6-C7 | 117.3(2) |
| C6-C5-C3 | 121.5(2) |
| C6-C- C9 | 119.3(2) |
| C9-C5-C3 | 119.1(2) |
| C8-C7-C6 | 121.2(2) |
| O5-C9-C5 | 118.2(2) |
| O4-C9-O5 | 113.4(2) |
| O4-C9-C5 | 128.5(3) |
| O5-C8-C10 | 111.1(2) |
| C7-C8-O5 | 121.5(2) |
| C7-C8-C10 | 127.3(3) |

Annexe 2

Tableau 1 :Coordonnées atomiques et facteurs d'agitation thermiques isotropes du complexe $Ni(DHA)_2 \cdot 2DMF$

| Atome | x | y | z | U (eq) |
|--------|------------|------------|-----------|------------|
| C(01) | 0.5462(7) | 0.0081(9) | 0.7664(7) | 0.0615(14) |
| C(02) | 0.7248(5) | 0.0363(5) | 0.7902(4) | 0.0416(9) |
| C(03) | 0.8265(5) | 0.1193(5) | 0.6868(4) | 0.0394(9) |
| C(04) | 0.7450(6) | 0.1920(6) | 0.5578(4) | 0.0490(11) |
| C(05) | 1.0064(5) | 0.1255(5) | 0.7019(4) | 0.0393(9) |
| C(06) | 1.1011(6) | 0.1977(6) | 0.5862(4) | 0.0460(10) |
| C(07) | 1.0212(6) | 0.2645(6) | 0.4694(4) | 0.0473(10) |
| C(08) | 1.1013(8) | 0.3489(8) | 0.3452(6) | 0.0610(13) |
| C(09) | 1.2342(5) | -0.2980(6) | 0.8837(4) | 0.0441(10) |
| C(10) | 1.4447(8) | -0.4965(8) | 0.7574(7) | 0.0693(15) |
| C(11) | 1.2581(10) | -0.5888(8) | 0.9563(8) | 0.0720(16) |
| N(01) | 1.3106(4) | -0.4529(5) | 0.8694(4) | 0.0484(9) |
| O(01) | 0.7821(4) | -0.0220(4) | 0.9092(3) | 0.0479(7) |
| O(02) | 1.0934(3) | 0.0702(4) | 0.8107(3) | 0.0458(7) |
| O(03) | 0.5944(4) | 0.2009(5) | 0.5255(4) | 0.0678(10) |
| O(04) | 0.8484(4) | 0.2646(4) | 0.4554(3) | 0.0554(8) |
| O(05) | 1.1141(4) | -0.2515(4) | 0.9742(3) | 0.0522(8) |
| Ni(01) | 1.0000 | 0.0000 | 1.0000 | 0.0407(3) |
| H(01A) | 0.470(8) | 0.114(9) | 0.763(7) | 0.09(2) |
| H(01B) | 0.554(8) | -0.051(8) | 0.686(7) | 0.09(2) |
| H(01C) | 0.525(7) | -0.061(7) | 0.840(6) | 0.071(16) |
| H(06) | 1.220(6) | 0.198(5) | 0.603(4) | 0.044(11) |
| H(08A) | 1.041(8) | 0.478(9) | 0.308(7) | 0.10(2) |
| H(08B) | 1.087(7) | 0.300(7) | 0.258(6) | 0.073(16) |
| H(08C) | 1.225(7) | 0.340(6) | 0.362(5) | 0.064(14) |
| H(09) | 1.281(6) | -0.220(6) | 0.810(5) | 0.048(11) |
| H(10A) | 1.553(7) | -0.568(7) | 0.801(6) | 0.073(16) |
| H(10B) | 1.467(8) | -0.387(8) | 0.686(7) | 0.093(19) |
| H(10C) | 1.398(8) | -0.554(8) | 0.694(7) | 0.09(2) |
| H(11A) | 1.243(11) | -0.673(11) | 0.912(9) | 0.13(3) |
| H(11B) | 1.200(9) | -0.531(8) | 1.029(7) | 0.09(2) |
| H(11C) | 1.357(12) | -0.660(14) | 0.994(10) | 0.17(4) |

Tableau 2 :Facteurs d'agitation thermiques anisotropes du complexe $Ni(DHA)_2 \cdot 2DMF$.

| Atome | U11 | U22 | U33 | U23 | U13 | U12 |
|--------|------------|-----------|------------|-------------|-------------|-------------|
| C(01) | 0.051(3) | 0.073(4) | 0.062(3) | 0.014(3) | -0.014(2) | -0.022(3) |
| C(02) | 0.045(2) | 0.038(2) | 0.043(2) | -0.0048(19) | -0.0025(17) | -0.0089(18) |
| C(03) | 0.043(2) | 0.040(3) | 0.034(2) | -0.0020(17) | -0.0036(16) | -0.0054(17) |
| C(04) | 0.052(3) | 0.052(3) | 0.041(2) | -0.002(2) | 0.0004(19) | -0.008(2) |
| C(05) | 0.046(2) | 0.035(2) | 0.036(2) | -0.0053(18) | 0.0013(17) | -0.0065(17) |
| C(06) | 0.049(2) | 0.050(3) | 0.038(2) | -0.0006(19) | 0.0022(18) | -0.011(2) |
| C(07) | 0.054(2) | 0.046(3) | 0.042(2) | -0.007(2) | 0.0029(19) | -0.011(2) |
| C(08) | 0.069(3) | 0.065(4) | 0.047(3) | 0.005(3) | 0.008(2) | -0.016(3) |
| C(09) | 0.045(2) | 0.046(3) | 0.043(2) | -0.003(2) | 0.0024(19) | -0.013(2) |
| C(10) | 0.069(3) | 0.061(4) | 0.069(4) | -0.004(3) | 0.018(3) | -0.002(3) |
| C(11) | 0.083(4) | 0.051(4) | 0.075(4) | 0.006(3) | 0.023(3) | -0.012(3) |
| N(01) | 0.0470(19) | 0.041(2) | 0.053(2) | -0.0035(18) | 0.0095(16) | -0.0050(17) |
| O(01) | 0.0512(16) | 0.053(2) | 0.0404(16) | 0.0059(14) | -0.0015(13) | -0.0159(14) |
| O(02) | 0.0418(15) | 0.056(2) | 0.0396(16) | 0.0003(13) | -0.0055(12) | -0.0097(13) |
| O(03) | 0.0530(19) | 0.093(3) | 0.057(2) | 0.0132(18) | -0.0187(16) | -0.0172(18) |
| O(04) | 0.0551(18) | 0.067(2) | 0.0411(16) | 0.0083(15) | -0.0018(14) | -0.0103(16) |
| O(05) | 0.0553(17) | 0.048(2) | 0.0524(18) | -0.0063(15) | 0.0047(14) | -0.0101(14) |
| Ni(01) | 0.0420(5) | 0.0447(6) | 0.0355(5) | -0.0019(3) | -0.0010(3) | -0.0094(3) |

Tableau 3 :Distances (Å) inter atomiques du complexe $Ni(DHA)_2 \cdot 2DMF$

| Atome1 | Atome2 | Distance |
|--------------|--------|----------|
| C(01)-C(02) | | 1.488(6) |
| C(01)-H(01A) | | 0.95(7) |
| C(01)-H(01B) | | 0.94(7) |
| C(01)-H(01C) | | 0.90(6) |
| C(02)-O(01) | | 1.268(5) |
| C(02)-C(03) | | 1.435(6) |
| C(03)-C(05) | | 1.425(6) |
| C(03)-C(04) | | 1.450(6) |
| C(04)-O(03) | | 1.217(5) |
| C(04)-O(04) | | 1.394(5) |
| C(05)-O(02) | | 1.279(5) |
| C(05)-C(06) | | 1.437(6) |

| | |
|--------------|----------|
| C(06)-C(07) | 1.335(6) |
| C(06)-H(06) | 0.95(4) |
| C(07)-O(04) | 1.358(5) |
| C(07)-C(08) | 1.485(6) |
| C(08)-H(08A) | 1.10(7) |
| C(08)-H(08B) | 0.97(6) |
| C(08)-H(08C) | 0.98(5) |
| C(09)-O(05) | 1.249(5) |
| C(09)-N(01) | 1.306(6) |
| C(09)-H(09) | 1.01(5) |
| C(10)-N(01) | 1.454(6) |
| C(10)-H(10A) | 1.02(6) |
| C(10)-H(10B) | 1.11(7) |
| C(10)-H(10C) | 0.94(6) |
| C(11)-N(01) | 1.443(7) |
| C(11)-H(11A) | 0.88(8) |
| C(11)-H(11B) | 0.91(7) |
| C(11)-H(11C) | 0.94(10) |
| O(01)-Ni(01) | 2.001(3) |
| O(02)-Ni(01) | 1.983(3) |
| O(05)-Ni(01) | 2.107(3) |
| Ni(01)-O(02) | 1.983(3) |
| Ni(01)-O(01) | 2.001(3) |
| Ni(01)-O(05) | 2.107(3) |

Tableau 4 :Angles (°) de liaisons du complexe $Ni(DHA)_2 \cdot 2DMF$.

| Atome1-Atome2-Atome3 | Angles(°) |
|----------------------|-----------|
| C(02)-C(01)-H(01A) | 107(4) |
| C(02)-C(01)-H(01B) | 108(4) |

| | |
|---------------------|----------|
| H(01A)-C(01)-H(01B) | 116(5) |
| C(02)-C(01)-H(01C) | 103(3) |
| H(01A)-C(01)-H(01C) | 115(5) |
| H(01B)-C(01)-H(01C) | 107(5) |
| O(01)-C(02)-C(03) | 122.3(4) |
| O(01)-C(02)-C(01) | 114.4(4) |
| C(03)-C(02)-C(01) | 123.2(4) |
| C(05)-C(03)-C(02) | 123.0(4) |
| C(05)-C(03)-C(04) | 118.7(4) |
| C(02)-C(03)-C(04) | 118.3(4) |
| O(03)-C(04)-O(04) | 113.8(4) |
| O(03)-C(04)-C(03) | 128.7(4) |
| O(04)-C(04)-C(03) | 117.6(4) |
| O(02)-C(05)-C(03) | 125.4(4) |
| O(02)-C(05)-C(06) | 116.1(4) |
| C(03)-C(05)-C(06) | 118.5(4) |
| C(07)-C(06)-C(05) | 121.1(4) |
| C(07)-C(06)-H(06) | 125(3) |
| C(05)-C(06)-H(06) | 114(3) |
| C(06)-C(07)-O(04) | 121.1(4) |
| C(06)-C(07)-C(08) | 126.5(4) |
| O(04)-C(07)-C(08) | 112.4(4) |
| C(07)-C(08)-H(08A) | 120(3) |
| C(07)-C(08)-H(08B) | 112(3) |
| H(08A)-C(08)-H(08B) | 96(4) |
| C(07)-C(08)-H(08C) | 107(3) |
| H(08A)-C(08)-H(08C) | 111(4) |
| H(08B)-C(08)-H(08C) | 111(4) |
| O(05)-C(09)-N(01) | 124.5(4) |
| O(05)-C(09)-H(09) | 124(3) |
| N(01)-C(09)-H(09) | 112(3) |

| | |
|----------------------|------------|
| N(01)-C(10)-H(10A) | 108(3) |
| N(01)-C(10)-H(10B) | 113(3) |
| H(10A)-C(10)-H(10B) | 116(4) |
| N(01)-C(10)-H(10C) | 108(4) |
| H(10A)-C(10)-H(10C) | 112(5) |
| H(10B)-C(10)-H(10C) | 99(5) |
| N(01)-C(11)-H(11A) | 116(5) |
| N(01)-C(11)-H(11B) | 99(4) |
| H(11A)-C(11)-H(11B) | 135(6) |
| N(01)-C(11)-H(11C) | 110(6) |
| H(11A)-C(11)-H(11C) | 87(7) |
| H(11B)-C(11)-H(11C) | 106(7) |
| C(09)-N(01)-C(11) | 122.0(4) |
| C(09)-N(01)-C(10) | 120.9(4) |
| C(11)-N(01)-C(10) | 116.9(5) |
| C(02)-O(01)-Ni(01) | 130.4(3) |
| C(05)-O(02)-Ni(01) | 127.6(3) |
| C(07)-O(04)-C(04) | 123.0(3) |
| C(09)-O(05)-Ni(01) | 123.7(3) |
| O(02)-Ni(01)-O(02) | 180.000(1) |
| O(02)-Ni(01)-O(01) | 92.37(11) |
| O(02)-1-Ni(01)-O(01) | 87.63(11) |
| O(02)-Ni(01)-O(01) | 87.63(11) |
| O(02)-Ni(01)-O(01) | 92.37(11) |
| O(01)-Ni(01)-O(01) | 180.0 |
| O(02)-Ni(01)-O(05) | 88.33(12) |
| O(02)-Ni(01)-O(05) | 91.67(12) |
| O(01)-Ni(01)-O(05) | 91.27(12) |
| O(01)-Ni(01)-O(05) | 88.73(12) |
| O(02)-Ni(01)-O(05) | 91.67(12) |
| O(02)-Ni(01)-O(05) | 88.33(12) |

| | |
|--------------------|------------|
| O(01)-Ni(01)-O(05) | 88.73(12) |
| O(01)-Ni(01)-O(05) | 91.27(12) |
| O(05)-Ni(01)-O(05) | 180.000(1) |

Annexe 3

Tableau 1 :Coordonnées atomiques et facteurs d'agitation thermiques isotropes du complexe $Zn(DHA)_2 \cdot 2DMF$

| Atome | x | y | z | U (eq) |
|--------|-----------|-----------|-------------|-------------|
| Zn1 Zn | 0.500000 | 1.000000 | 0.500000 | 0.01361(13) |
| O2 O | 0.4083(2) | 0.9324(2) | 0.69467(16) | 0.0146(3) |
| O3 O | 0.7240(2) | 1.0213(2) | 0.59387(16) | 0.0151(3) |
| O1 O | 0.6195(2) | 0.7374(2) | 0.47869(17) | 0.0186(3) |
| O4 O | 0.6629(2) | 0.7329(2) | 1.05321(16) | 0.0175(3) |
| O5 O | 0.9183(2) | 0.7961(2) | 0.98082(17) | 0.0200(4) |
| N1 N | 0.8207(3) | 0.5369(2) | 0.3720(2) | 0.0158(4) |
| C4 C | 0.4975(3) | 0.8756(3) | 0.8025(2) | 0.0133(4) |
| C9 C | 0.7823(3) | 0.9635(3) | 0.7127(2) | 0.0137(4) |
| C7 C | 0.7658(3) | 0.8064(3) | 0.9487(2) | 0.0154(4) |
| C6 C | 0.4879(3) | 0.7335(3) | 1.0376(2) | 0.0156(4) |
| C8 C | 0.6811(3) | 0.8804(3) | 0.8187(2) | 0.0138(4) |
| C1 C | 0.7406(3) | 0.6944(3) | 0.3885(2) | 0.0156(4) |
| H1 H | 0.777319 | 0.778622 | 0.328804 | 0.019 |
| C5 C | 0.4045(3) | 0.8015(3) | 0.9203(2) | 0.0160(4) |
| H5 H | 0.284021 | 0.801310 | 0.914070 | 0.019 |
| C11 C | 0.4086(3) | 0.6511(3) | 1.1643(2) | 0.0201(5) |
| H11A H | 0.473732 | 0.537190 | 1.180922 | 0.030 |
| H11B H | 0.285946 | 0.651586 | 1.148911 | 0.030 |
| H11C H | 0.415016 | 0.711187 | 1.244902 | 0.030 |
| C10 C | 0.9653(3) | 0.9893(3) | 0.7373(3) | 0.0218(5) |
| H10A H | 1.047528 | 0.882500 | 0.745178 | 0.033 |
| H10B H | 0.962313 | 1.042899 | 0.823009 | 0.033 |
| H10C H | 1.003143 | 1.059064 | 0.659566 | 0.033 |
| C3 C | 0.7675(3) | 0.3967(3) | 0.4571(3) | 0.0224(5) |
| H3A H | 0.684369 | 0.438722 | 0.531211 | 0.034 |
| H3B H | 0.871129 | 0.323957 | 0.497541 | 0.034 |
| H3C H | 0.712097 | 0.334956 | 0.398640 | 0.034 |
| C2 C | 0.9585(3) | 0.4964(3) | 0.2619(3) | 0.0223(5) |
| H2A H | 0.977481 | 0.598261 | 0.210204 | 0.033 |
| H2B H | 0.921395 | 0.426837 | 0.198882 | 0.033 |
| H2C H | 1.067594 | 0.437353 | 0.303849 | 0.033 |

Tableau 2 :Facteurs d'agitation thermiques anisotropes du complexe $Zn(DHA)_2 \cdot 2DMF$.

| Atome | U11 | U22 | U33 | U23 | U13 | U12 |
|-------|-------------|------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| Zn1 | 0.01201(19) | 0.0166(2) | 0.01204(19) | -0.00057(13) | -0.00110(12) | -0.00286(13) |
| O2 | 0.0121(7) | 0.0201(8) | 0.0115(7) | -0.0002(6) | 0.0010(6) | -0.0038(6) |
| O3 | 0.0133(7) | 0.0191(8) | 0.0135(7) | 0.0007(6) | -0.0027(6) | -0.0051(6) |
| O1 | 0.0161(8) | 0.0202(8) | 0.0188(8) | -0.0038(6) | 0.0024(6) | -0.0023(6) |
| O4 | 0.0158(8) | 0.0223(9) | 0.0137(7) | 0.0028(6) | -0.0009(6) | -0.0043(6) |
| O5 | 0.0155(8) | 0.0263(9) | 0.0180(8) | 0.0028(7) | -0.0048(6) | -0.0050(7) |
| N1 | 0.0145(9) | 0.0151(9) | 0.0173(9) | -0.0009(7) | 0.0015(7) | -0.0026(7) |
| C4 | 0.0144(10) | 0.0121(10) | 0.0131(10) | -0.0030(8) | 0.0004(8) | -0.0014(8) |
| C9 | 0.0131(10) | 0.0122(10) | 0.0158(10) | -0.0024(8) | -0.0034(8) | -0.0014(8) |
| C7 | 0.0167(10) | 0.0151(10) | 0.0141(10) | -0.0018(8) | 0.0014(8) | -0.0028(8) |
| C6 | 0.0151(10) | 0.0162(11) | 0.0153(10) | -0.0040(8) | 0.0029(8) | -0.0026(8) |
| C8 | 0.0149(10) | 0.0136(10) | 0.0129(10) | -0.0032(8) | -0.0008(8) | -0.0021(8) |
| C1 | 0.0141(10) | 0.0173(11) | 0.0164(10) | -0.0013(8) | -0.0027(8) | -0.0052(8) |
| C5 | 0.0136(10) | 0.0193(11) | 0.0159(10) | -0.0034(8) | 0.0012(8) | -0.0044(8) |
| C11 | 0.0208(11) | 0.0211(12) | 0.0174(11) | 0.0033(9) | 0.0016(9) | -0.0048(9) |
| C10 | 0.0171(11) | 0.0285(13) | 0.0214(12) | 0.0064(10) | -0.0059(9) | -0.0109(9) |
| C3 | 0.0238(12) | 0.0187(12) | 0.0234(12) | 0.0024(9) | 0.0033(10) | -0.0049(9) |
| C2 | 0.0219(12) | 0.0189(12) | 0.0234(12) | 0.0002(9) | 0.0055(9) | -0.0011(9) |

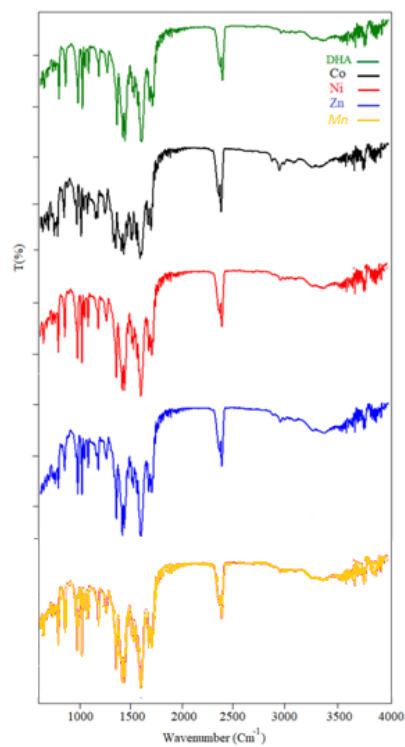
Tableau 3 :Distances (Å) interatomiques du complexe $Zn(DHA)_2 \cdot 2DMF$.

| Atome 1 | Atome 2 | Distance |
|---------|---------|------------|
| Zn1-O2 | | 2.0122(15) |
| Zn1-O2 | | 2.0122(15) |
| Zn1-O3 | | 2.0311(15) |
| Zn1-O3 | | 2.0311(15) |
| Zn1-O1 | | 2.1691(17) |
| Zn1-O1 | | 2.1691(17) |
| O2-C4 | | 1.262(3) |
| O3-C9 | | 1.253(3) |
| O1-C1 | | 1.243(3) |
| O4-C7 | | 1.403(3) |
| O4-C6 | | 1.358(3) |
| O5-C7 | | 1.210(3) |
| N1-C1 | | 1.322(3) |
| N1-C3 | | 1.456(3) |
| N1-C2 | | 1.452(3) |
| C4-C8 | | 1.435(3) |
| C4-C5 | | 1.446(3) |
| C9-C8 | | 1.444(3) |
| C9-C10 | | 1.499(3) |
| C7-C8 | | 1.449(3) |
| C6-C5 | | 1.334(3) |
| C6-C11 | | 1.487(3) |

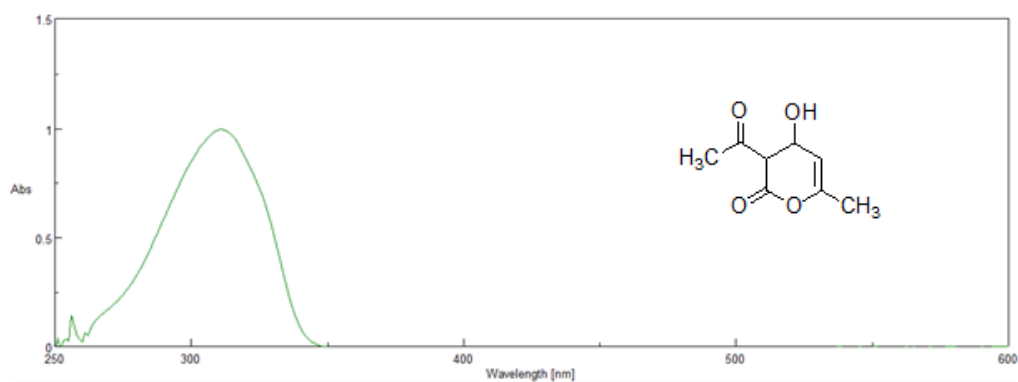
Tableau 4 :Angles (°) de liaisons du complexe $Zn(DHA)_2 \cdot 2DMF$

| Atome1-Atome2-Atome3 | Angles(°) |
|----------------------|------------|
| C1-C1-H1A | 107(4) |
| O2 -Zn1-O2 | 180.0 |
| O2-Zn1-O3 | 93.63(6) |
| O2-Zn1-O3 | 93.63(6) |
| O2-Zn1-O3 | 86.37(6) |
| O2-Zn1-O3 | 86.37(6) |
| O2-Zn1-O1 | 91.56(6) |
| O2-Zn1-O1 | 91.56(6) |
| O2-Zn1-O1 | 88.44(6) |
| O2-Zn1-O1 | 88.44(6) |
| O3-Zn1-O3 | 180.0 |
| O3-Zn1-O1 | 91.22(6) |
| O3-Zn1-O1 | 88.78(6) |
| O3-Zn1-O1 | 88.78(6) |
| O3-Zn1-O1 | 91.22(6) |
| O1-Zn1-O1 | 180.0 |
| C4-O2-Zn1 | 127.98(14) |
| C9-O3-Zn1 | 130.67(14) |
| C1-O1-Zn1 | 121.44(15) |
| C6-O4-C7 | 122.27(18) |
| C1-N1-C3 | 121.67(19) |
| C1-N1-C2 | 121.06(19) |
| C2-N1-C3 | 117.17(19) |
| O2-C4-C8 | 125.8(2) |
| O2-C4-C5 | 116.65(19) |
| C8-C4-C5 | 117.57(19) |
| O3-C9-C8 | 122.94(19) |
| O3-C9-C10 | 114.72(19) |
| C8-C9-C10 | 122.3(2) |
| O4-C7-C8 | 117.86(19) |
| O5-C7-O4 | 113.43(19) |
| O5-C7-C8 | 128.7(2) |
| O4-C6-C11 | 111.70(19) |
| C5-C6-O4 | 121.7(2) |
| C5-C6-C11 | 126.6(2) |
| C4-C8-C9 | 122.22(19) |
| C4-C8-C7 | 119.09(19) |
| C9-C8-C7 | 118.63(19) |
| O1-C1-N1 | 124.3(2) |
| C6-C5-C4 | 121.4(2) |

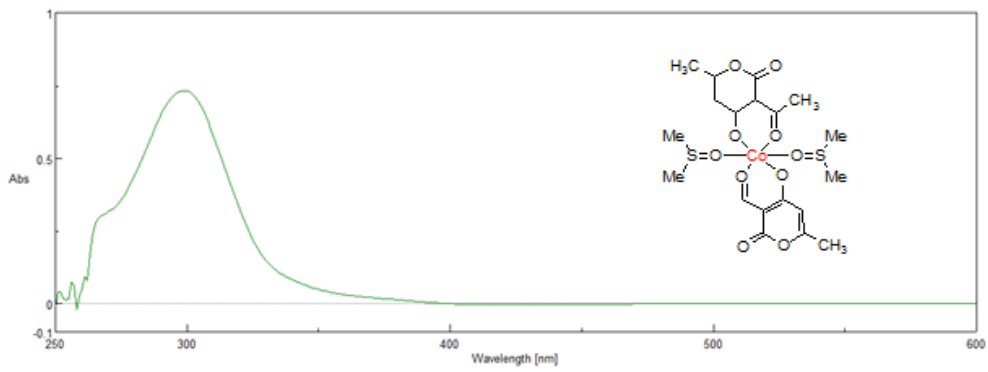
Spectres infrarouge de *DHA* et ses complexes



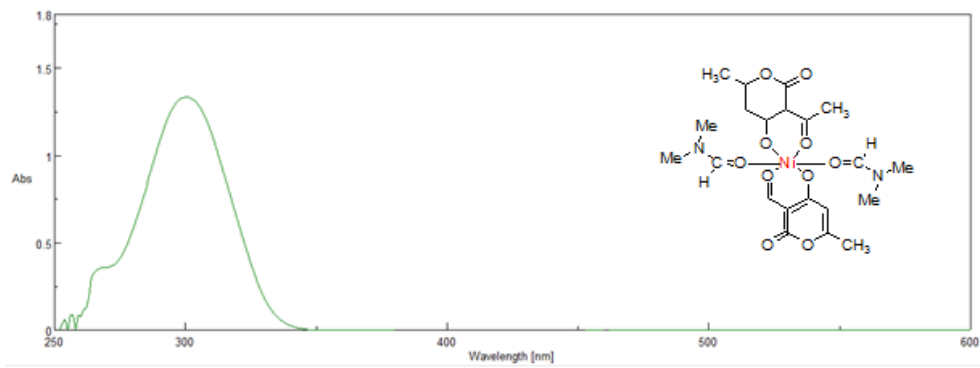
1. Spectre IR des complexes de *DHA*, $[\text{Co}(\text{DHA})_2 \cdot 2\text{DMSO}]$, $[\text{Ni}(\text{DHA})_2 \cdot 2\text{DMF}]$, $[\text{Zn}(\text{DHA})_2 \cdot 2\text{DMF}]$ et $[\text{Mn}(\text{DHA})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$



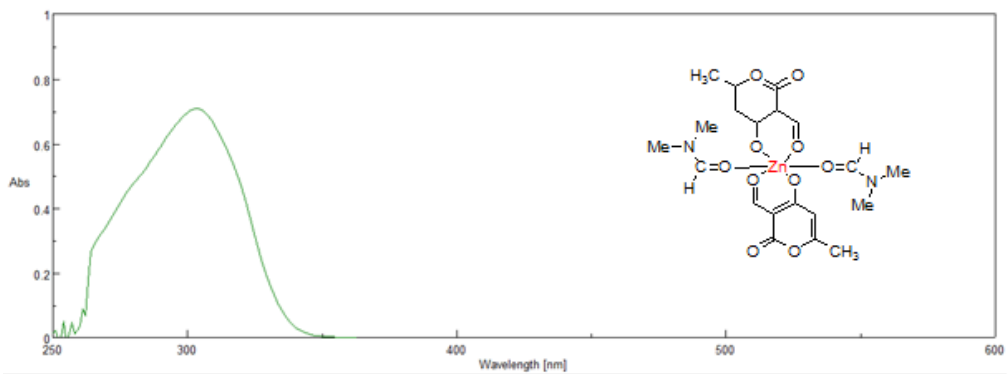
Spectre Uv-vis expérimentaux de *DHA*.



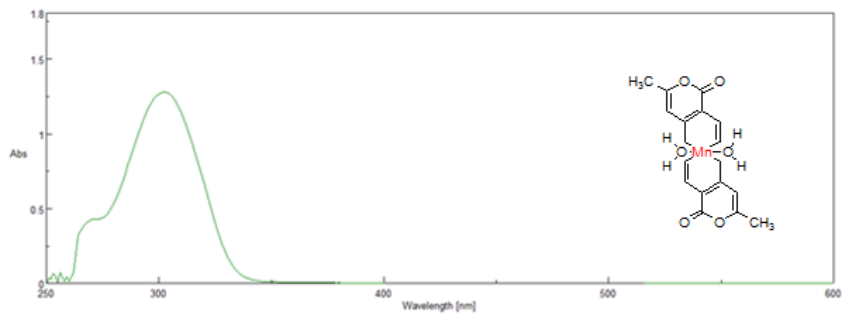
Spectre Uv-vis expérimentaux de (DHA)Co .



Spectre Uv-vis expérimentaux de (DHA)Ni .

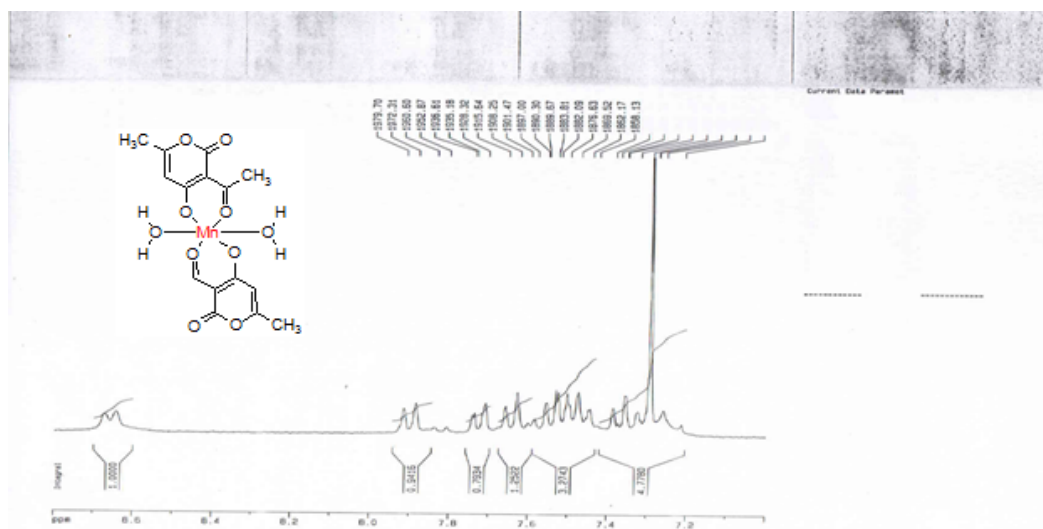


Spectre Uv-vis expérimentaux de (DHA)Zn.



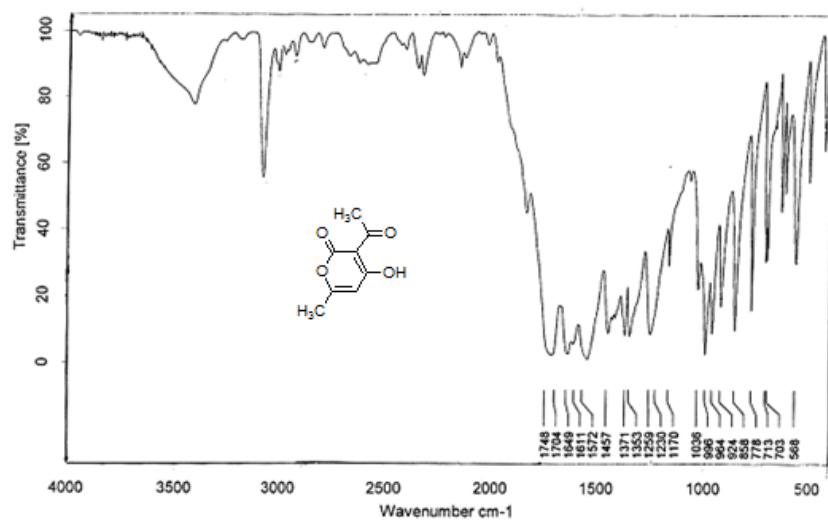
Spectre Uv-vis expérimentaux de (DHA)Mn.

Spectres RMN¹H

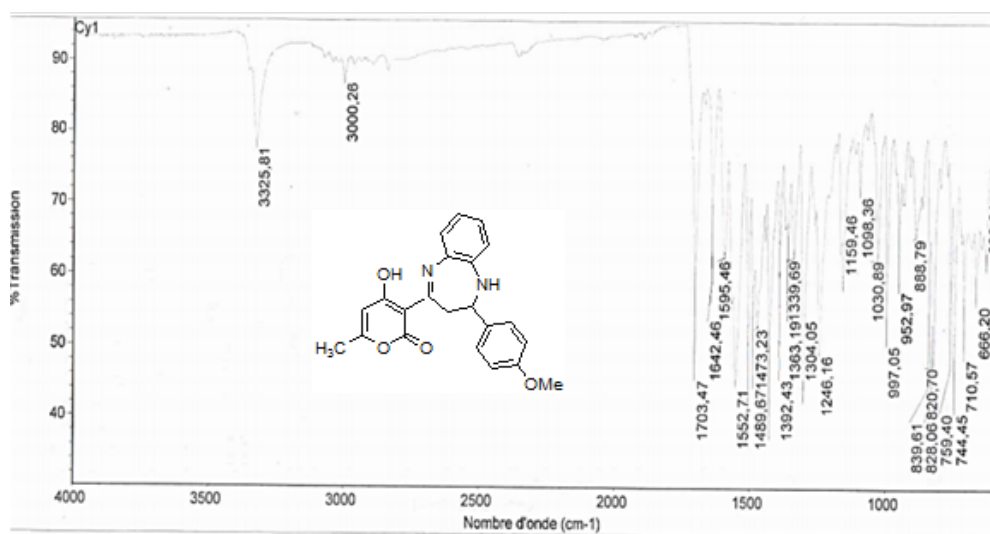


Spectre RMN du (DHA)Mn

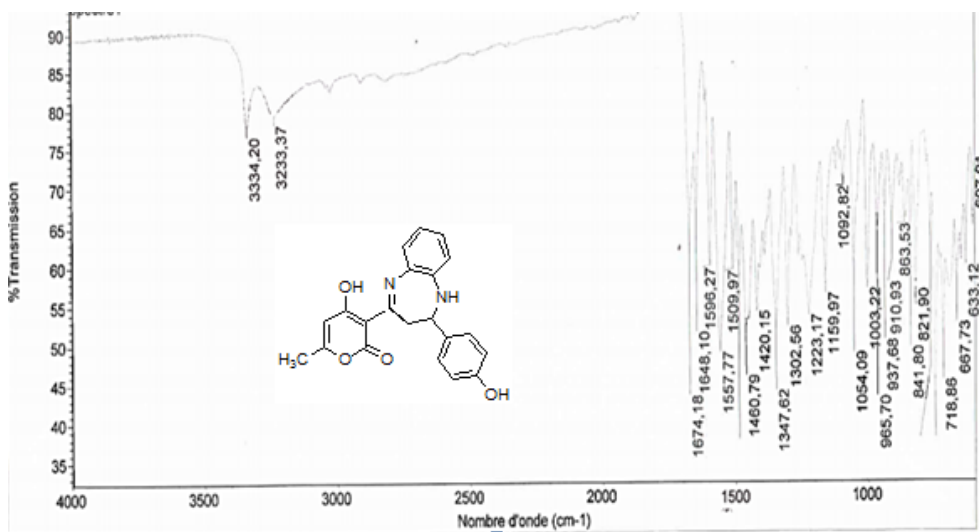
Spectres infrarouge



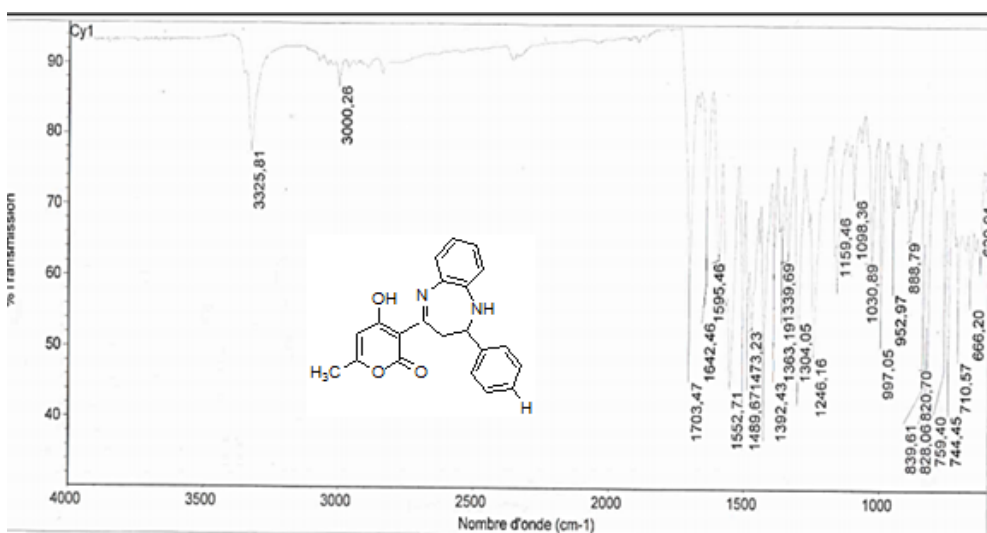
Spectre IR du DHA



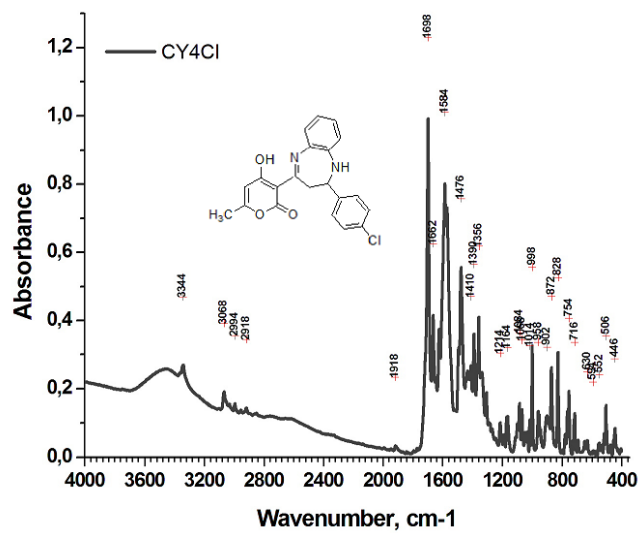
Spectre infrarouge du composé **3a**



Spectre infrarouge du composé **3b**



Spectre infrarouge du composé **3c**



Spectre infrarouge du composé **3d**

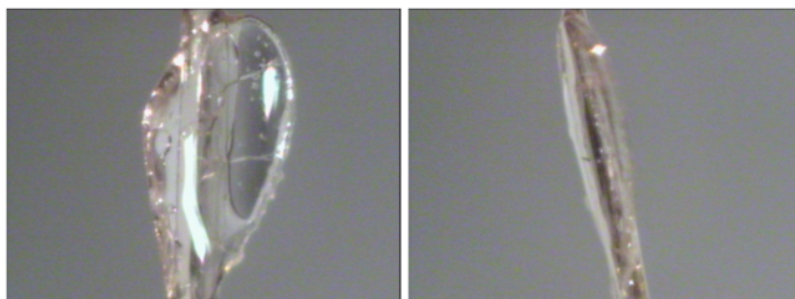


Image du Cristal (DHA)Co dans le Diffractomètre

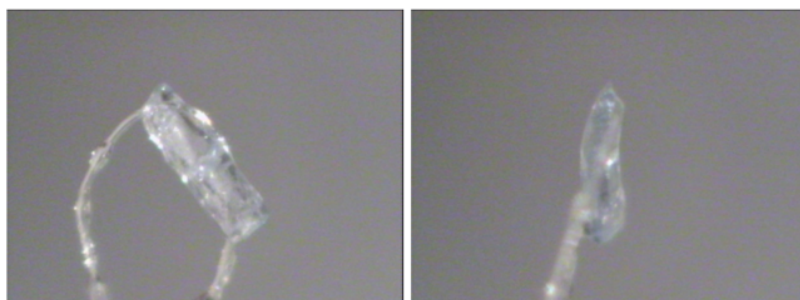


Image du Cristal (DHA)Ni dans le Diffractomètre

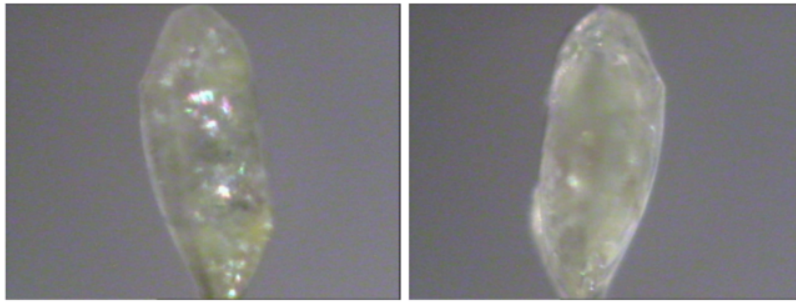


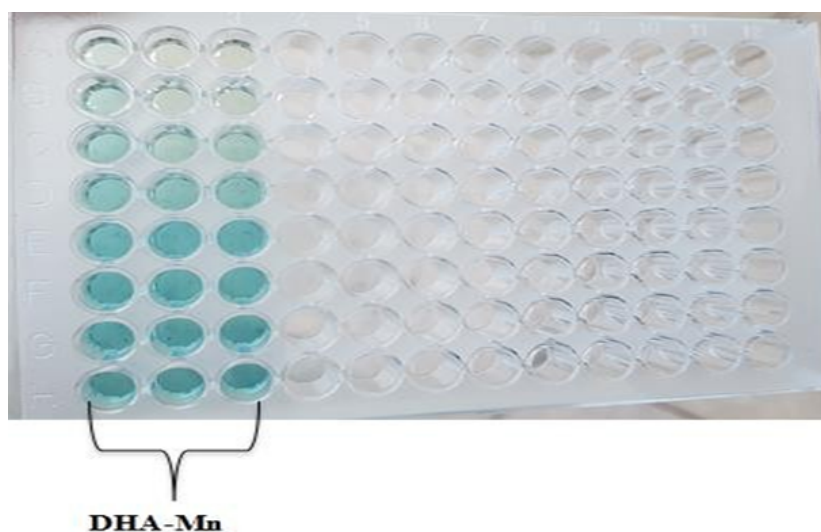
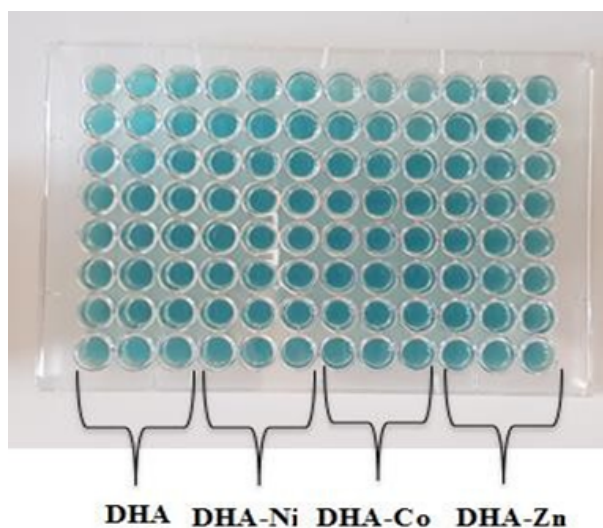
Image du Cristal (DHA)Zn dans le Diffractomètre

Deuxième partie

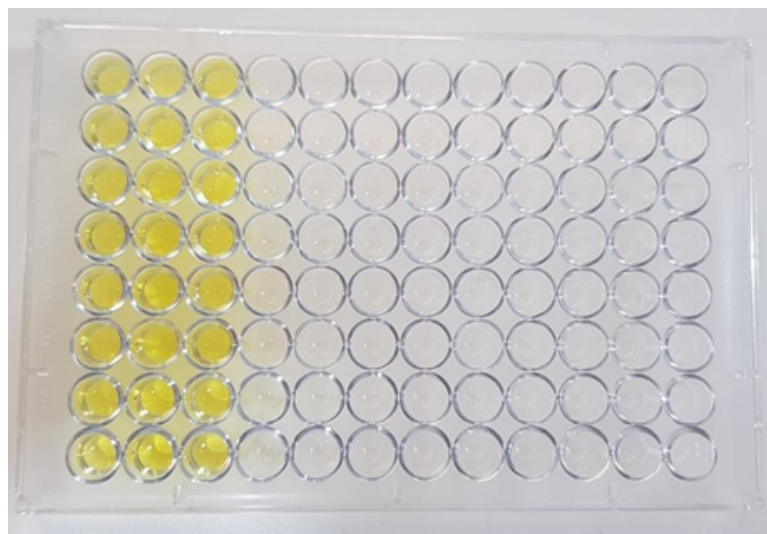
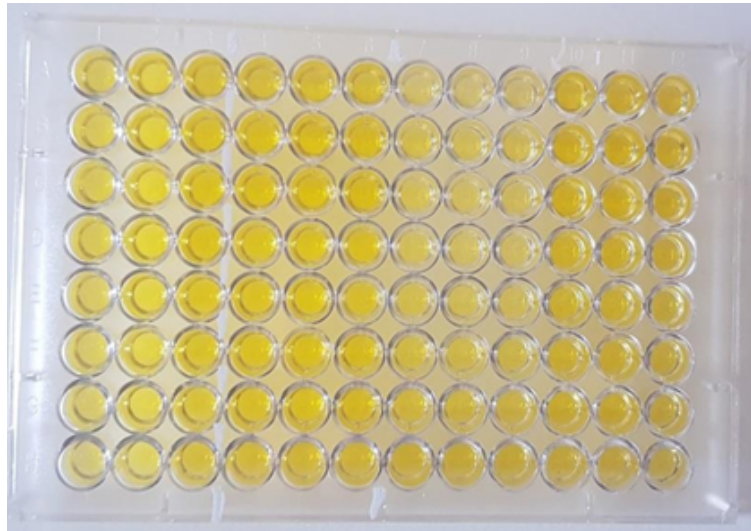
Activité biologique

1 Microplaques de l'activité de piégeage du radical ABTS

L'ordre des composés sur les microplaques est maintenu pour cette partie (composés DHA, 1, 2, 3 et 4).



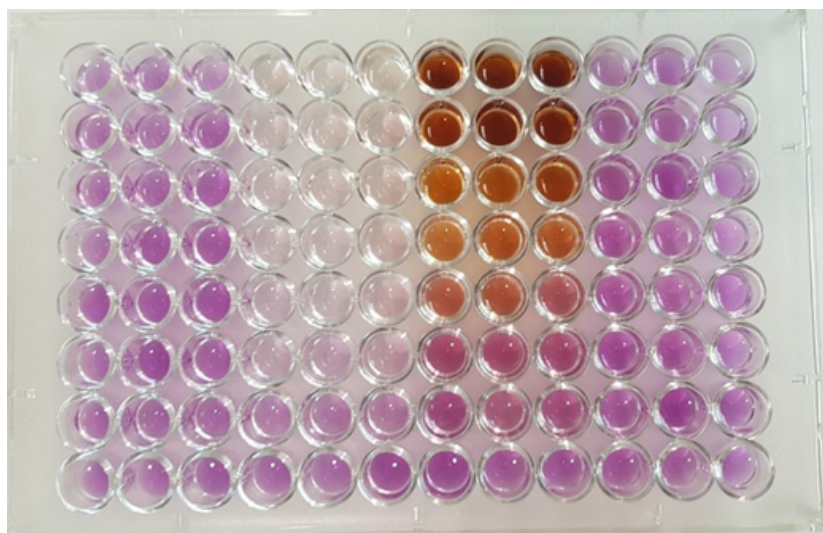
2 Microplaques de l'activité d'inhibition de blanchiment du β - carotène

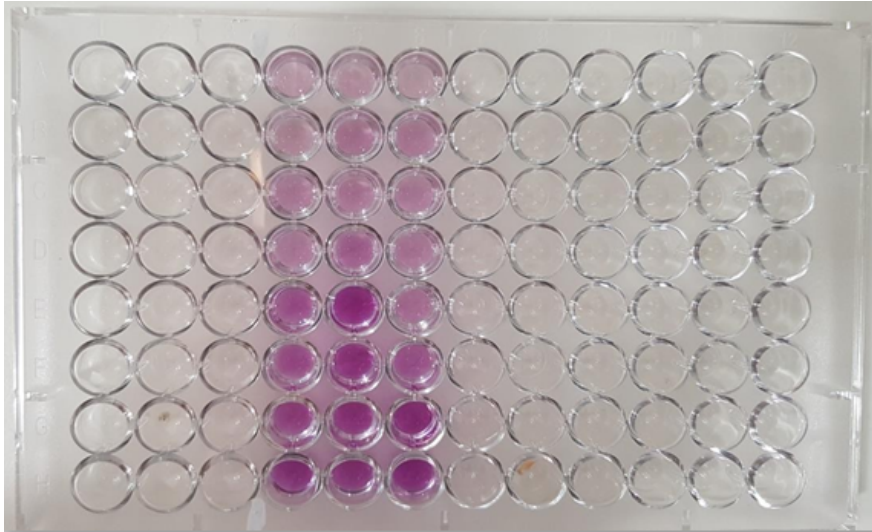


3 Microplaque de l'activité de chélation du fer par UV-Vis

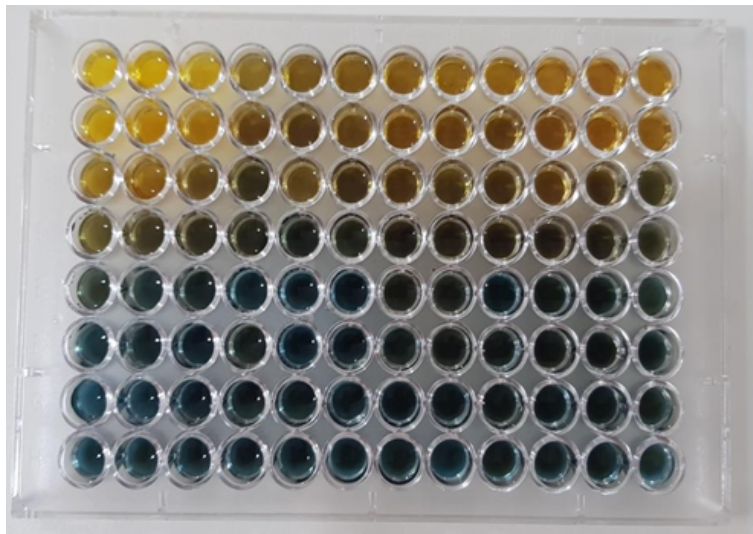


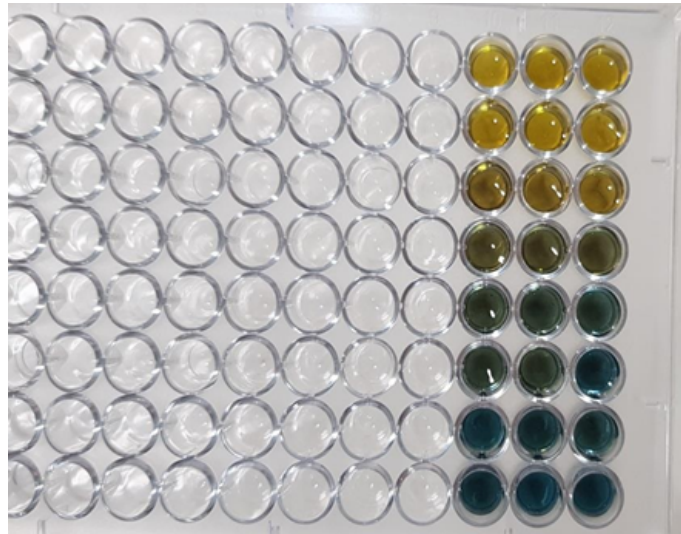
4 Microplaques de l'activité de chélation du fer



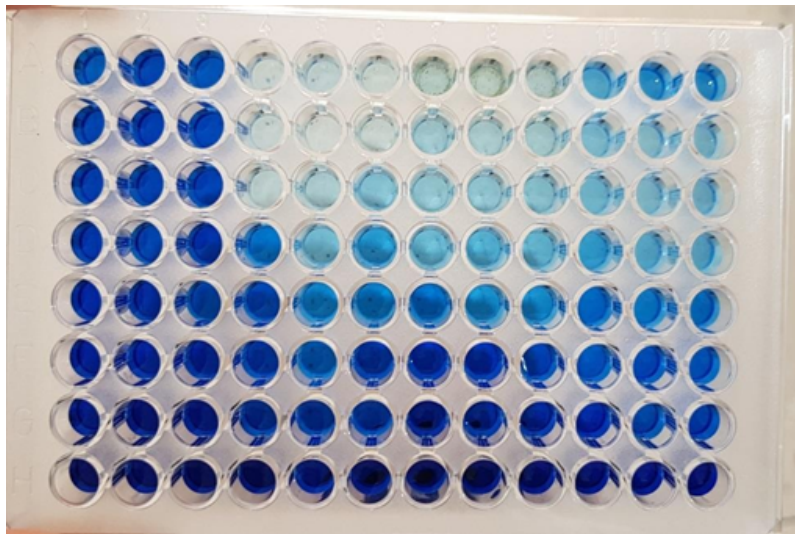


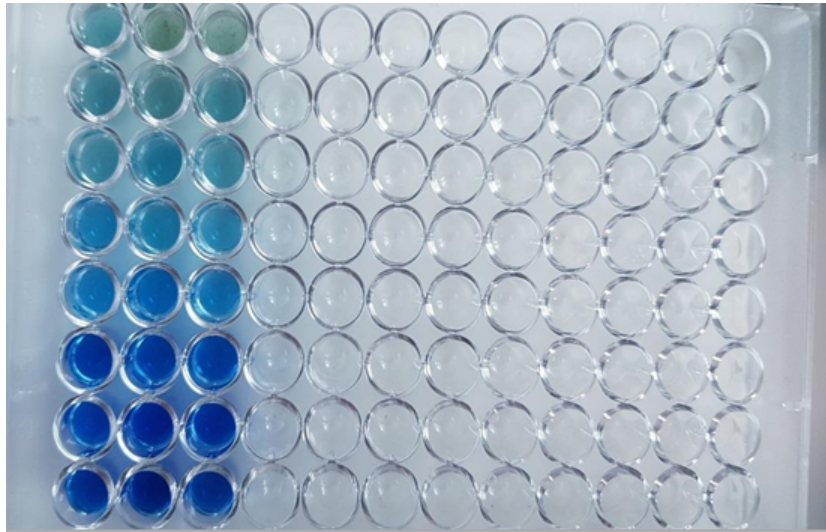
5 Microplaques de l'activité de chélation du cuivre





6 Microplaques de l'activité inhibitrice de l'uréase



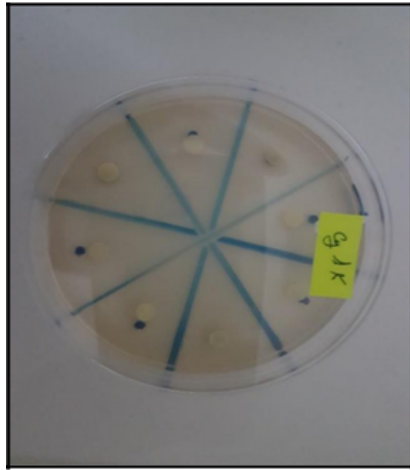


Les teste suivants concerne les composés (BS, a, b, c et d)

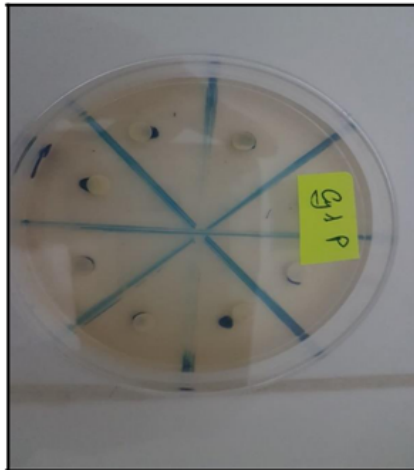
7 Test de l'activité du pouvoir réducteur du fer.



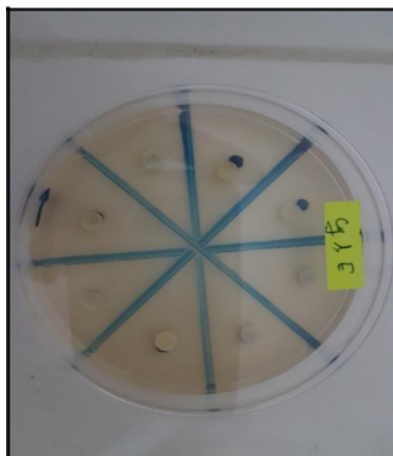
8 Testes anti bactériens



K. pneumoniae



P. aeruginosa

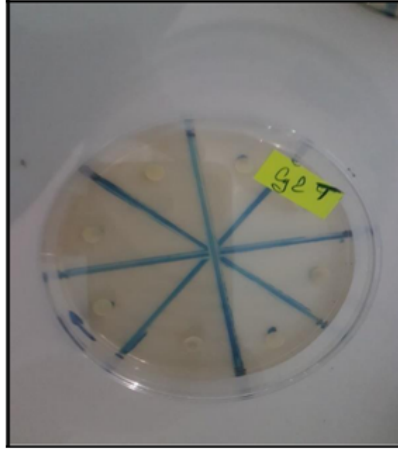


E. coli



S. aureus

9 Testes anti fongiques



Trichoderma harzianum Rifai

Résumé

Le présent travail est consacré à la synthèse chimique de nouveaux complexes métalliques en utilisant l'acide déhydroacétique comme produit de départ. La réaction de ce dernier avec des métaux de transition tels que le Co(II), le Ni(II), le Zn(II) et le Mn(II) conduit à la formation de complexes octaédriques colorés, ces complexes ont été structuralement analysés par des méthodes spectroscopiques usuelles UV-Vis, IR et DRX sur monocristaux. Des tests biologiques ont montré des résultats encourageants pour les activités antioxydantes suivantes : le piégeage du radical ABTS, la chélation des ions métalliques, tels que le fer et le cuivre et l'inhibition de la peroxydation du β -carotène, ainsi qu'une forte activité inhibitrice de l'uréase. Ces résultats sont donc très prometteurs pour l'utilisation de ces complexes comme de potentiels candidats thérapeutiques. Par la suite, nous contribuons à la synthèse de composés Benzodiazépines en deux étapes à partir de l'acide déhydroacétique l'évaluation de leur potentiel antioxydant et antimicrobien. La réaction du précurseur DHA avec l'orthophénylènediamine conduit à la formation d'une base de Schiff, ensuite, cette dernière réagit avec un benzaldéhyde substitué en position 4 par OCH₃, OH, H ou Cl, afin d'obtenir une famille polyfonctionnelle de 1,5 Benzodiazépines obtenue avec de bons rendements. Ces composés sont structuralement analysés et leurs propriétés physico-chimiques étudiées. Des tests biologiques in vitro ont donné des résultats encourageants pour les activités antioxydantes suivantes : le piégeage du radical hydroxyle, le pouvoir réducteur du fer et la réduction du peroxyde d'hydrogène, ainsi que pour les activités antibactériennes et antifongiques. Ces résultats s'inscrivent dans le cadre de la valorisation des Benzodiazépines synthétisées, tant sur le plan chimique que sur le plan biologique, et qui ouvrent le champ à des études plus approfondies sur ces composés. Enfin, une étude catalytique de nos produits, préparé in situ dans une réaction d'oxydation du catéchol en présence d'oxygène pour avoir O-quinone (le suivi de la réaction se fait par Uv-Visible).

Mots-clés : Complexes, Structure cristalline, Benzodiazépines, propriétés biologiques, étude catalytique.

Abstract

The present work is devoted to the chemical synthesis of new metal complexes using dehydroacetic acid as the starting product. The reaction of the latter with transition metals such as Co (II), Ni (II), Zn (II) and Mn (II) leads to the formation of coloured octahedral complexes, these complexes were structurally analyzed by usual UV-Vis, IR and DRX spectroscopic methods on monocrystals. Biological tests have shown encouraging results for the following antioxidant activities : trapping of the ABTS radical ; chelation of metal ions, such as iron and copper ; inhibition of peroxidation of β -carotene ; and high inhibitory activity of urease. These results are therefore very promising for the use of these complexes as potential therapeutic candidates. Subsequently, we contribute to the synthesis of benzodiazepines compounds in two stages from dehydroacetic acid to evaluate their antioxidant and antimicrobial potential. The reaction of the DHA precursor with orthophenylenediamine leads to the formation of a Schiff base, then the latter reacts with a benzaldehyde substituted in position 4 by OCH₃, OH, H or Cl, to obtain a poly-functional family of 1.5-benzodiazepines obtained with good yields. These compounds are structurally analyzed and their Physico-chemical properties studied. In vitro biological tests have shown encouraging results for the following antioxidant activities : hydroxyl radical trapping, iron-reducing power and hydrogen peroxide reduction, as well as for antibacterial and antifungal activities. These results are part of the exploitation of synthesized benzodiazepines, both chemically and biologically, which open the field for more in-depth studies on these compounds. Finally, a catalytic study of our products, prepared in situ in an oxidation reaction of catechol in the presence of oxygen to have O-quinone (the follow-up of the reaction is done by Uv-Visible). **Key words :** Dehydroacetic acid, complexes, crystal structure, benzodiazepines, antioxidant activity, antimicrobial activity, catalytic study.

ملخص

خصص هنا العمل للاصطناع الكيميائي لمركبات معدنية جديدة باستعمال حمض ديهيدروأستنيك كمادة أولية. يؤدي تفاعل هنا الأخير مع المعدن الانتقالية مثل : $Mn(II)$, $Zn(II)$, $Ni(II)$, $Co(II)$ إلى تشكيل مركبات ملونة ثمانية الأوجه. تم تحديد بنية هذه المركبات باستخدام الطرق المطيافية الحديثة : الأشعة فوق البنفسجية المرئية (UV-Vis)، الأشعة تحت الحمراء (IR)، و لأشعة السينية على بلورات أحادية (DRX). كما أظهرت الاختبارات البيولوجية نتائج مشجعة للفعالية المضادة للأكسدة باستعمال الطرق : β -carotène, Metal chelate, ABTS بالإضافة إلى فعالية عالية مثبطة للبيورياز. هذه النتائج واعدة لاستعمال هذه المركبات كعناصر ذات فعالية علاجية.

بعد ذلك قمنا باصطناع مركبات البنزوديازيبين عبر مرحلتين انطلاقاً من حمض ديهيدروأستنيك ، بالإضافة إلى تقييم فعاليتها المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات.

يؤدي تفاعل DHA مع orthodiphenylènediamine إلى تكوين قاعدة Schiff التي تتفاعل بدورها مع بنزالدهيد المستبدل في الموضع 4 بـ OCH_3 أو OH أو H أو Cl ن للحصول على عائلة متعددة الوظائف من 1,5 بنزوديازيبين بمرود جيد، تم تحديد بنية هذه المركبات ودراسة خصائصهم الكيميائية و الفيزيائية.

تطعاً للاختبارات البيولوجية في المختبر نتائج مشجعة للفعالية المضادة للأكسدة: تثبيت الجذور الحرة OH ، القدرة المرجعة للحديد و ارجاع بيروكسيد الهيدروجين و كذلك بالنسبة للفعالية المضادة للميكروبات.

هذه النتائج تدرج ضمن تقييم المركبات البنزوديازيبينية على الصعيد الكيميائي و البيولوجي التي ستفتح المجال لإجراء المزيد من الدراسات المعمقة على هذه المركبات.

في الأخير قمنا بدراسة محفزة لمركباتنا المحضرة In situ في أكسدة catéchol في وجود الأوكسجين للحصول على O-quinone (متابعة التفاعل بواسطة UV-Vis).

الكلمات المفتاحية : حمض ديهيدروأستنيك، بنية بلورية، البنزوديازيبينات، الفعالية المضادة للأكسدة ، الفعالية المضادة للميكروبات، دراسة محفزة.



Cobalt(II), Nickel(II) and Zinc(II) complexes based on DHA: Synthesis, X-ray crystal structure, antibacterial activity and DFT computational studies

Amel Marir^a, Toma Nardjes Mouas^b, Barkahem Anak^{c, d}, Erwann Jeanneau^e,
Amel Djedouani^{d, f, **}, Louisa Aribi-Zouioueche^a, Franck Rabilloud^{g, h, *}

^a Laboratoire de Catalyse Asymétrique écompatible (LCAE), Université Badji Mokhtar Annaba, B.P 12, 23000, Annaba, Algeria

^b Laboratoire d'Obtention des Substances Thérapeutiques (LOST), Université Constantine 1, 25000, Algeria

^c Laboratoire de Chimie des Matériaux, Université Constantine 1, 25000, Algeria

^d Ecole Normale Supérieure de Constantine, Université Constantine 3, 25000, Algeria

^e Université de Lyon, Centre de Diffraction Henri Longchambon, Villeurbanne, France

^f Laboratoire de Physicochimie Analytique et Cristallographie des Matériaux Organométalliques et Biomoléculaires, Université Constantine 1, 25000, Algeria

^g Université de Lyon, F-69003, Lyon, France

^h Université Lyon 1, Villeurbanne, CNRS UMR5306, Institut Lumière Matière, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 November 2019

Received in revised form

21 April 2020

Accepted 27 April 2020

Available online 30 April 2020

Keywords:

Dehydroacetic acid

Cobalt(II)

Nickel(II)

Zinc(II) complexes

X-ray crystal structure

Antibacterial activity

DFT calculations

ABSTRACT

In the present work, a combined experimental and computational study of three new DHA chelates namely [Co(DHA)₂.2DMSO] (1), [Ni(DHA)₂.2DMF] (2) and [Zn(DHA)₂.2DMF] (3), (DHA = 3-Acetyl-4-hydroxy-6-methyl-2-oxo-2H-pyran) is reported. Synthesized compounds are characterized by FT-IR which indicates the metal coordination via both oxygen atom, while single-crystal X-ray crystallography confirms the chelates structure as mononuclear complexes having a distorted octahedral coordination geometry of type MO₆ with intermolecular C–H...O bonds. Structures and electronic properties investigated in the framework of the density functional theory (DFT) are in good agreement with experimental results. Besides, a comparative evaluation of *in vitro* antibacterial potential of DHA and derivatives exhibits better results for DHA free ligand, even close to the effect of antibiotics used as references, highlighting the role of hydroxyl function in case of this application.

© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The multifarious role of transition metal complexes in biochemistry has stimulated great interest in the synthesis of new chelates with donor groups, due to the wide range of pharmacological activities of such compounds [1–3]. Mixed *d*-transition metal–β-diketone compounds were used extensively as starting materials in metallo-cene chemistry [4]. Dehydroacetic acid (DHA = 3-acetyl-4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one) [5], derived from pyrone, or isolated from natural sources (*Solandra*

nitida) [6,7], is a versatile starting material for the synthesis of a wide variety of heterocyclic ring systems [8–10]. While the pharmacology and toxicology of DHA have been carefully studied [11], this compound is used as a food additive [12–14], a stabilizer for cosmetics and pharmacokinetic products [15,16], an antiseptic agent [17,18], an herbicide [19], and it is also used as a plasticizer in a variety of synthetic resins [20]. Furthermore, studies have shown that similar structural analogs and their chelates have a very interesting biological properties [21–24]. For example, Ru(II) and Ru(III) complexes of dehydroacetic acid have been explored for their biological activities such as DNA-binding, antibacterial and antifungal activities [25,26]. This has motivated the present study on the synthesis and structural characterization of dehydroacetic acid complexes as potent antibacterial agents. Our comparative study exhibits the role of the structure on the activity performance.

The present paper reports the synthesis, characterization, and

* Corresponding author. Université de Lyon, F-69003, Lyon, France.

** Corresponding author. Ecole Normale Supérieure de Constantine, Université Constantine 3, 25000, Algeria.

E-mail address: franck.rabilloud@univ-lyon1.fr (F. Rabilloud).

antibacterial potential of DHA based cobalt (II), Nickel (II) and Zinc (II) chelates. Several physicochemical analyses were used including FT-IR spectroscopy and single-crystal X-ray analysis. Computational studies in the framework of the density-functional theory (DFT) were performed in order to rationalize the experimental results and structural properties.

2. Experimental

2.1. Measurements and materials

Chemicals were purchased from commercial sources and, unless specified, were used without further purification. Melting points were determined with a digital melting point apparatus using capillary technique. Infrared (IR) spectra were recorded with a Shimadzu FTIR-8010 M spectrometer between 400 and 4000 cm^{-1} (KBr disks).

2.2. Crystallographic analyses

Suitable crystals were selected and mounted on a Gemini kappa-geometry diffractometer (Rigaku OD, 2018) equipped with an Atlas CCD detector and using Mo radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). Intensities were collected at 150 K by means of the CrysAlisPro software [27]. Reflection indexing, unit-cell parameters refinement, Lorentz-polarization correction, peak integration and background determination were carried out with the CrysAlisPro software [27]. An analytical absorption correction was applied using the modeled faces of the crystal [28]. The resulting set of *hkl* was used for structure solution and refinement. The structure was solved with the ShelXT [29] structure solution program using the Intrinsic Phasing solution method and by using Olex2 [30] as the graphical interface. The model was refined with version 2018/3 of ShelXL [31] using Least Squares minimization. The DIAMOND package and Mercury for Windows programs were used for generating figures of structures [32,33].

2.3. Computational details

Geometries of DHA, and derivatives [Co(DHA)₂.2DMSO] (1), [Ni(DHA)₂.2DMF] (2) and [Zn (DHA)₂.2DMF] (3) were optimized using the range-separated hybrid CAM-B3LYP functional [34]. Co, Ni and Zn atoms were described through relativistic core potentials (ECPs) and associated basis sets [35], while the 6-31G+(d) basis sets were used for other atoms (N, O, S, C, H) [36]. Harmonic frequency analysis was performed to guarantee that optimized structures are local minima. All calculations have been performed using the Gaussian 09 program package [36].

2.4. In vitro antibacterial activity

The title compounds (DHA and metal complexes derivatives 1–3), were screened *in vitro* to evaluate their antibacterial activity against four referential strains, *Escherichia coli* ATCC 25922,

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 and *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603 Gram-negative, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Gram-positive, using the disc diffusion method [37–39].

Sterilized Petrie dishes were filled with a Muller-Hinton agar medium, then, 100 μl of bacterial inoculums at $0.5 \times 10^6 \text{ CFU ml}^{-1}$ turbidity concentration were applied on plates surface using sterilized swab. Discs are impregnated with 10 μl of the synthesized compounds at 25 mg/ml in DMSO concentration and put on the medium surface, a disc with only DMSO was used as negative control. The plates were incubated 24 h at 37 °C, afterward, diameters of zones inhibition were measured in millimeters (mm). All sample tests were performed in triplicate measurements to obtain mean standard deviation (S.D) values.

Investigations on Minimum inhibitory concentration (MIC) values were carried out by a micro dilution method using liquid Mueller-Hinton medium. For this, intermediate concentrations from 12.5 mg/ml to 0.78 mg/ml were obtained by semi-logarithmic dilutions of reason 2, then the dilutions tubes were inoculated by 20 μl of bacterial suspension ($0.5 \times 10^6 \text{ CFU. ml}^{-1}$), and 280 μl of liquid MH were added to all tubes, the final concentrations of tested compounds in tubes are from 3.125 to 0.195 mg/ml (Table 1). The tubes were incubated 24 h at 37 °C [40]. MIC value is considered to be the lowest concentration that inhibits the ocular growth of bacteria after incubation of 24 h.

The minimum bacterial concentration (MBC) value is the lowest synthesized compounds concentration that killed 99, 9% of tested bacteria. The MBC test was added to complete the MIC test, as the tested compounds showed a great turbidity in solution. For this swab, striations of the obtained dilutions were applied on agar MH plates, with witness plates without antibiotics, besides a series of dilutions: 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 of the different tested bacterial inoculums at $0.5 \times 10^6 \text{ CFU ml}^{-1}$. The turbidity concentration was sub cultured using striations on solid MH medium for comparison. All essays were incubated 24 h at 37 °C [41].

2.5. Synthesis of complexes

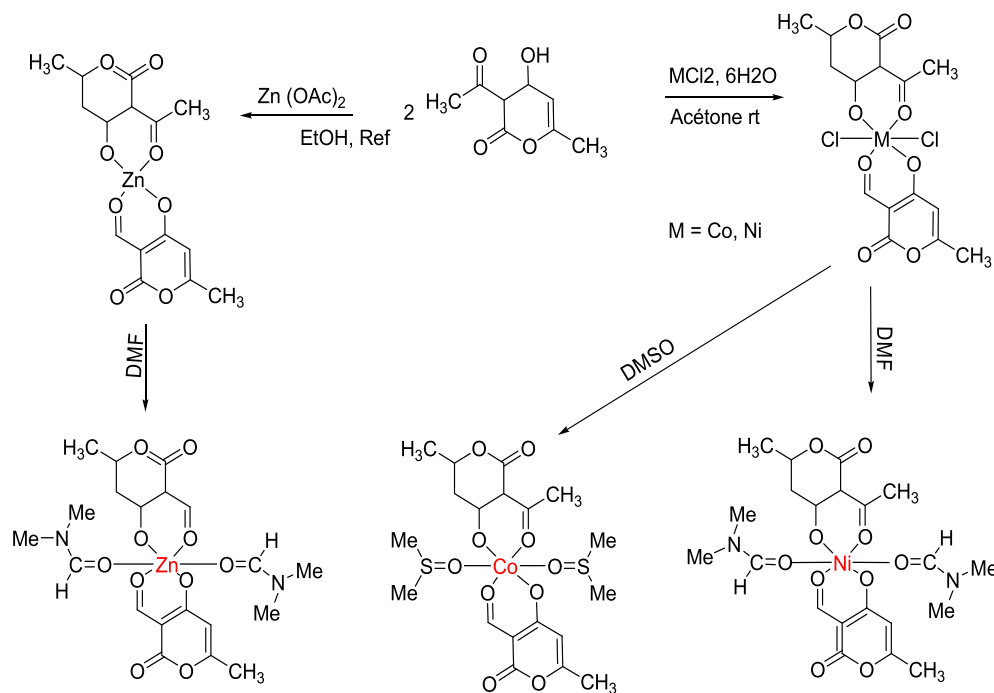
General procedure: To a solution of 2 equiv of DHA dissolved in acetone, 1 equiv of the appropriate metal salt was added. The solution was stirred at room temperature for 1h30min for complexes of Co and Ni, and 6 h for Zn complex. The resulting solid was recovered by filtration and washed with cold water, then dried in air. Suitable crystals for X-ray diffraction were collected by slow evaporation at room temperature from dimethylsulfoxide for Co(II) and dimethylformamide for Ni(II) and Zn(II) complexes.

3. Results and discussion

The synthesis of complexes (Scheme 1) was carried out at room temperature by addition of the appropriate salts (1 equiv. to 2 equiv. of DHA). The synthesized complexes are solids, air stable and do not require special precautions for storage. They are all poorly soluble in organic solvents such as ethanol, methanol and n-butanol. But they are all soluble in dimethylsulfoxide (DMSO) and

Table 1
Dilution technique in liquid medium.

| N° Tubes | Volume of added antibiotic | Intermediate concentration (mg/ml) | Supplemental volume MH (μl) | Inoculum (μl) | Final concentration (mg/ml) |
|----------|--|------------------------------------|--|----------------------------|-----------------------------|
| 1 | 100 μl of the solution 25 mg/ml | 12.5 | 280 | 20 | 3.125 |
| 2 | 100 μl of the solution 12.5 mg/ml | 6.25 | 280 | 20 | 1.562 |
| 3 | 100 μl of the solution 6.25 mg/ml | 3.125 | 280 | 20 | 0.781 |
| 4 | 100 μl of the solution 3.12 mg/ml | 1.56 | 280 | 20 | 0.39 |
| 5 | 100 μl of the solution 1.56 mg/ml | 0.78 mg/ml | 280 μl | 20 μl | |



Scheme 1. Synthesis of metal complexes.

dimethylformamide (DMF). The molecular structures of complexes were characterized by IR and single crystal X-ray diffraction analysis.

Bis(3-acetyl-6-methyl-2-oxo-2H-pyran-4-olato)bis(dimethyl sulfoxide) cobalt(II) [Co(DHA)₂.2DMSO] (**1**). Yield 88%, mp > 260 °C, pink solid. IR spectrum, ν , cm⁻¹: 1670 (C=O, lactones), 1625 (C=O, acetyl), 3377 (C–O, hydroxyl), 595 (O–M), 1050 (C–O–C).

Bis(3-acetyl-6-methyl-2-oxo-2H-pyran-4-olato)bis(dimethyl formamide) nickel(II) [Ni(DHA)₂.2DMF] (**2**). Yield 80%, mp = 243 °C, green solid, IR spectrum, ν , cm⁻¹: 1667 (C=O, lactones), 1583 (C=O, acetyl), 3377 (C–O, hydroxyl), 600 (O–M), 1010 (C–O–C).

Bis(3-acetyl-6-methyl-2-oxo-2H-pyran-4-olato)bis(dimethyl formamide) zinc(II) [Zn(DHA)₂.2DMF] (**3**). Yield: 93%, mp = 178 °C, white solid, IR spectrum, ν , cm⁻¹: 1670 (C=O, lactones), 1575 (C=O, acetyl), 3377 (C–O, hydroxyl), 620 (O–M), 1000 (C–O–C).

3.1. Infrared spectra

DHA ligand has a strong band in the range 1734–1581 cm⁻¹ corresponding to the ν (C₄=O) lactones stretching frequency (Fig. 1). The band observed around 1680 cm⁻¹ is assigned to ν (C=O) acetyl of DHA. This strong band is shifted to a higher wave in the spectra of metal (II) complexes. This indicates the coordination of keto (C=O) and C–O_(hydroxyl) groups to the metal atom in complexes. In the spectra of the complexes, the appearance of new bands in the region 600–550 cm⁻¹ can be attributed to M–O bands [1,49].

3.2. Crystallographic studies

The crystals of molecules were grown in DMSO or DMF solution through slow evaporation process, then suitable crystals were collected and analyzed through single crystal X-rays diffraction analysis. Compound (**1**) crystallized in a monoclinic system, P2₁/c

space group with two units per cell ($Z = 2$), whereas (**2**) and (**3**) crystallized in a triclinic system P-1 space group with two units per cell ($Z = 2$) too. The main crystal parameters are reported in Table 2. Some selected bond distances and angles are listed in Table 3. The asymmetric unit of the three complexes contains one independent molecule. The numbering schema and displacement ellipsoid plot of (**1**), (**2**), (**3**) are shown in Fig. 2.

In the structure of the mononuclear complexes, the Co^{II}, Ni^{II} and Zn^{II} atoms lie on an inversion center and have a distorted octahedral coordination geometry of type MO₆. The bidentate dehydroacetic acid (DHA) ligands occupy the equatorial plane of the complexes in a *trans* configuration, each chelating the metal through two oxygen atoms, while the dimethylsulfoxide (DMSO) for Co(II) and dimethylformamide (DMF) for Ni and Zn molecules fill the two axial sites via their oxygen atom. The average bond lengths and bond angles parameters of complexes are in the normal ranges [24,42–44]. The bond lengths of M–O in three complexes are close to each other (Table 3). In the crystalline structure of (**1**), the cations and anions are arranged in the layers parallel to the (010) plane along the *b* axis (Fig. 3(a)). In (**2**) and (**3**), the crystal packing can be described as double layers, planes along the *b* axis (Fig. 3(b)) and (c)). All The complexes present intermolecular C–H...O bonds (Table 4).

3.3. Optimized structure

The optimized structures of [Co(DHA)₂.2DMSO] (**1**), [Ni(DHA)₂.2DMF] (**2**) and [Zn(DHA)₂.2DMF] (**3**) have been calculated at DFT level in the gas phase using the CAMB3LYP density functional. The bonds lengths and angles are reported in Table 5 together with X-ray diffraction data. Calculated values for the complex (**1**) are in good agreement with experimental results. The relative errors of calculated bond lengths are 0.005–0.106 Å and those of angles are 0.12°–3.07°. For complexes (**2**) and (**3**), the calculated bond lengths correlate nicely with experimental values with slight deviations within 0–0.04 Å and 0.128–0.694 Å for (**2**) and (**3**) respectively. The calculated bond angle for (**2**) and (**3**) are similar to the experimental

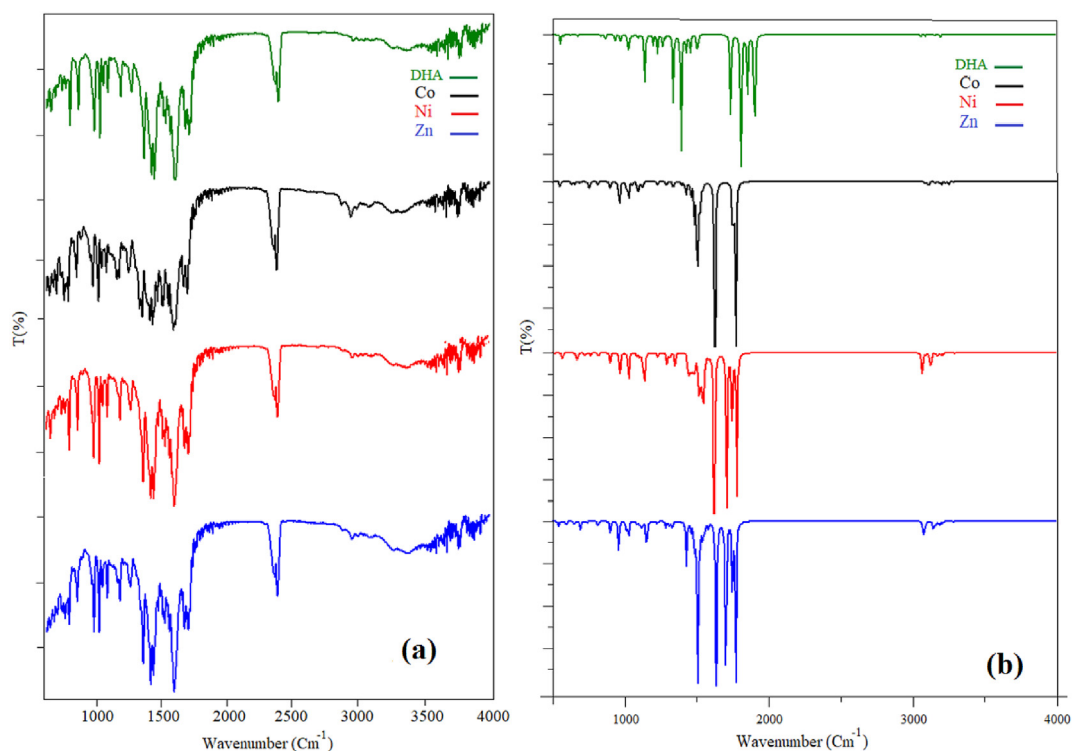


Fig. 1. Experimental (a) and theoretical (b) infrared spectra of DHA, [Co(DHA)₂.2DMSO], [Ni(DHA)₂.2DMF] and [Zn(DHA)₂.2DMF] complexes.

Table 2
Crystallographic data and structure refinement details for complexes 1, 2 and 3.

| Compound | (1) | (2) | (3) |
|--|--|---|---|
| Empirical formula | C ₂₀ H ₂₆ CoO ₁₀ S ₂ | C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₁₀ Ni | C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₁₀ Zn |
| Formula weight, g/mol | 549.46 | 539.17 | 545.83 |
| Crystal description | Needle | Needle | Plate |
| Space group | P2 ₁ /n | P-1 | P-1 |
| Crystal system | Monoclinic | Triclinic | Triclinic |
| F (000) | 570 | 282 | 284 |
| Refinement method | full-matrix least-squares on F ² | | |
| a/Å | 11.2686 (13) | 7.6695 (7) | 7.6695 (7) |
| b/Å | 6.2346 (9) | 8.1780 (9) | 8.1780 (9) |
| c/Å | 16.412 (2) | 9.5238 (9) | 9.5238 (9) |
| α/° | 90 | 84.416 (8) | 84.416 (8) |
| β/° | 92.966 (11) | 86.543 (7) | 86.543 (7) |
| γ/° | 90 | 77.522 (8) | 77.522 (8) |
| V/Å ³ | 1151.5 (3) | 579.99 (10) | 579.99 (10) |
| Z | 2 | 1 | 1 |
| Temperature/K | 100.00 (10) | 100.00 (10) | 100.00 (10) |
| θ Range for data collection (°) | 3.496–29.658 | 3.199–29.689 | 3.199–29.689 |
| Radiation | Mo Kα(λ = 0.71073) | Mo Kα(λ = 0.71073) | Mo Kα(λ = 0.71073) |
| Dcalcd (g/cm ⁻³) | 1.585 | 1.563 | 1.563 |
| Range/indices (h, k, l) | −15 ≤ h ≤ 14 −7 ≤ k ≤ 8 22 ≤ l ≤ 20 | −10 ≤ h ≤ 10 −11 ≤ k ≤ 11 −12 ≤ l ≤ 13 | −10 ≤ h ≤ 10 −11 ≤ k ≤ 10 −13 ≤ l ≤ 13 |
| Ref Nmb of reflections measured | 13703 | 15294 | 15294 |
| independent reflections | 2966 | 2942 | 2985 |
| Reflections with I > 2σ(I) | 2442 | 2411 | 2735 |
| Number of parameters | 155 | 164 | 165 |
| Absorption coefficient (mm ⁻¹) | 0.981 | 1.120 | 1.120 |
| Goodness-of-fit (GOF) | 1.086 | 1.049 | 1.121 |
| wR (F ₂) | 0.1253 | 0.1211 | 0.0924 |
| Rint | 0.0515 | 0.0515 | 0.0392 |
| Max/min δρ (e/Å ³) | 0.122/−1.171 | 0.105/−0.860 | 0.614/−0.860 |

Table 3

Selected bond distances (Å) and angles (°) for DHA chelates.

| Bond | Bond lengths (Å) | Bond Angle | Angle (°) |
|------------|--------------------|------------|-------------|
| (1) | | | |
| Co1–O1 | 2.1487 (19) | O2–Co1–O2 | 180.0 |
| Co1–O2 | 2.0506 (17) | O2–Co1–O1 | 91.30 (7) |
| Co1–O3 | 2.0080 (19) | O2–Co1–O1 | 88.70 (7) |
| | | O3–Co1–O2 | 94.72 (7) |
| | | O3–Co1–O2 | 85.28 (7) |
| | | O3–Co1–O3 | 180.00 |
| | | O3–Co1–O1 | 89.66 (8) |
| | | O3–Co1–O1 | 90.34 (8) |
| | | O1–Co1–O1 | 180.00 |
| | | C3–O2–Co1 | 132.42 (18) |
| | | C6–O3–Co1 | 130.63 (17) |
| | | S1–O1–Co1 | 116.40 (11) |
| (2) | | | |
| Ni1–O1 | Ni1–O1 2.090 (2) | O1–Ni1–O1 | 180.00 |
| Ni1–O2 | Ni1–O2 1.9858 (19) | O2–Ni1–O1 | 91.74 (8) |
| Ni1–O5 | Ni1–O5 2.003 (2) | O2–Ni1–O1 | 88.26 (8) |
| | | O2–Ni1–O2 | 180.00 |
| | | O2–Ni1–O5 | 87.91 (8) |
| | | O2–Ni1–O5 | 92.09 (8) |
| | | O5–Ni1–O1 | 91.11 (8) |
| | | O5–Ni1–O1 | 88.89 (8) |
| | | O5–Ni1–O5 | 180.00 |
| | | C1–O1–Ni1 | 121.95 (18) |
| | | C4–O2–Ni1 | 127.59 (18) |
| (3) | | | |
| Zn1–O1 | 2.0122 (15) | O2–Zn1–O2 | 180.00 |
| Zn1–O2 | 2.0311 (15) | O2–Zn1–O3 | 93.63 (6) |
| Zn1–O3 | 2.1691 (17) | O2–Zn1–O3 | 86.37 (6) |
| | | O2–Zn1–O1 | 91.56 (6) |
| | | O2–Zn1–O1 | 88.44 (6) |
| | | O3–Zn1–O3 | 180.00 |
| | | O3–Zn1–O1 | 91.22 (6) |
| | | O3–Zn1–O1 | 88.78 (6) |
| | | O1–Zn1–O1 | 180.00 |
| | | C4–O2–Zn1 | 127.98 (14) |
| | | C9–O3–Zn1 | 130.67 (14) |
| | | C1–O1–Zn1 | 121.44 (15) |

values with deviations within 0.50–5.65° and 1.14–10.38° for (2) and (3) respectively.

3.4. Vibrational analysis

Intense IR absorption bands of DHA and complexes (1), (2) and (3) are calculated at CAM-B3LYP level and compared to experimental spectra in Fig. 1, Table 6 gives major lines. Globally, the calculated values are in good agreement with the experimental data. The value of the $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{ac}}$ band was calculated at 1262 cm^{-1} for free ligand and at 1335, 1311 and 1328 cm^{-1} for complexes (1), (2) and (3) respectively. The calculated value at 1507 cm^{-1} is associated with stretching vibration of $\nu(\text{C}=\text{O})$, the experimental frequency has been observed at 1550 cm^{-1} for free ligand. The experimental $\nu(\text{C}=\text{O})$ stretching vibrations are measured at 1642, 1625, 1583 and 1575 cm^{-1} for DHA, (1), (2) and (3) complexes respectively, while these bands are calculated at 1734, 1626, 1582 and 1578 cm^{-1} respectively. The experimental peaks at 1718 cm^{-1} (DHA), 1670 cm^{-1} (1) and (3), 1667 cm^{-1} (2) belong to the $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{lactone}}$ stretching vibrations, and the calculated values are 1734 cm^{-1} (DHA), 1639 cm^{-1} (1), 1674 cm^{-1} (2) and 1667 cm^{-1} (3). These variations of $\nu(\text{C}=\text{O})$ confirm the participation of the oxygen atom in the coordination [45–48]. The experimental stretching vibration $\nu(\text{M} - \text{O})$ is measured at 595, 600 and 620 cm^{-1} for complexes (1), (2) and (3) respectively, in agreement with the calculated frequencies of 601, 624 and 636 cm^{-1} . The coordination distances in (1) are in good agreement with those found in four mixed-ligand complexes of Cobalt (II) with general composition

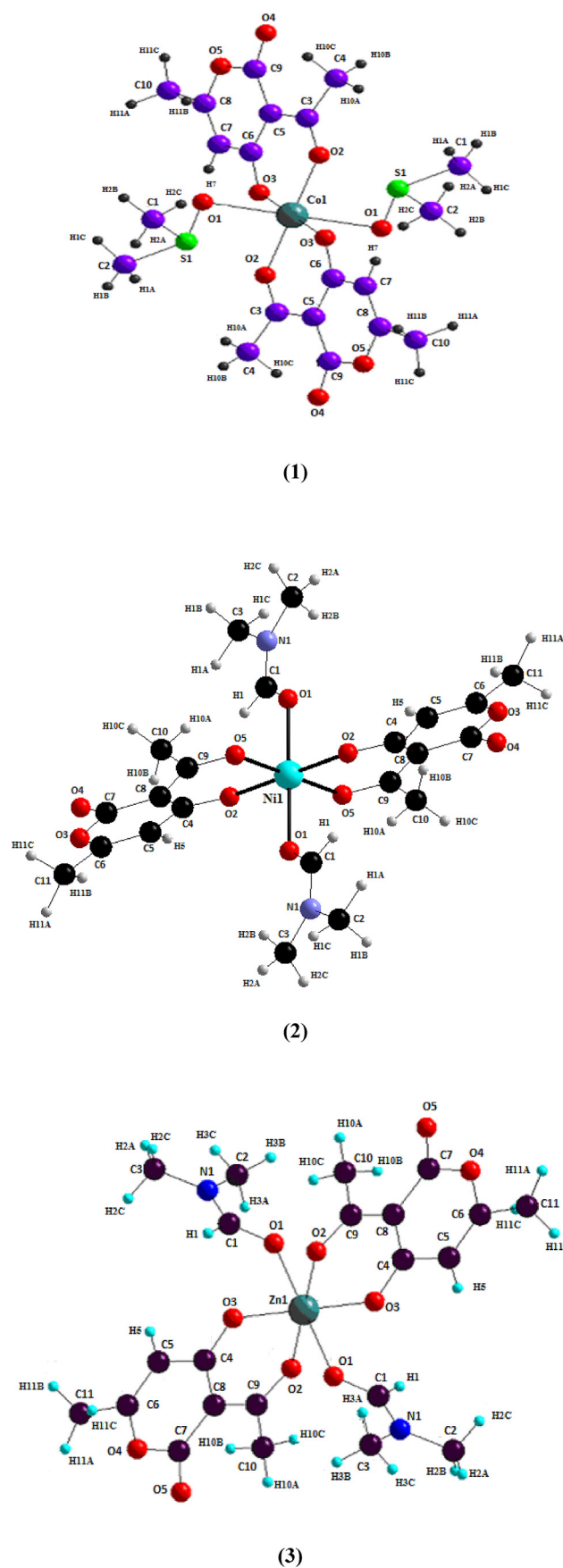
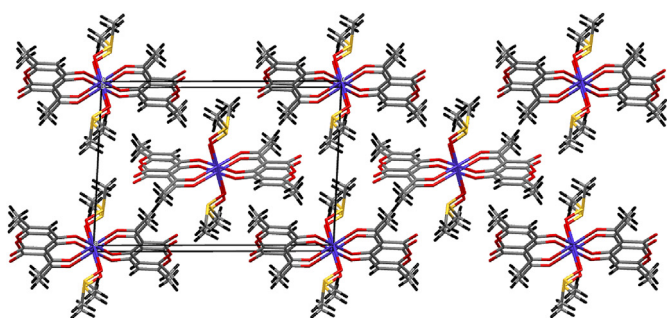
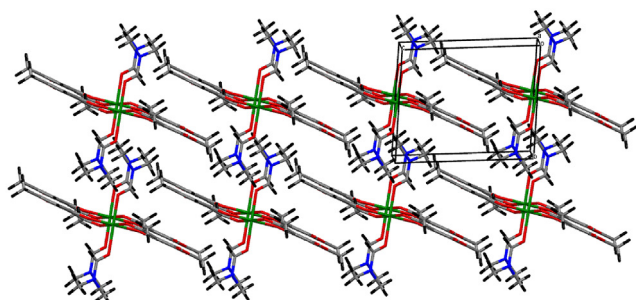


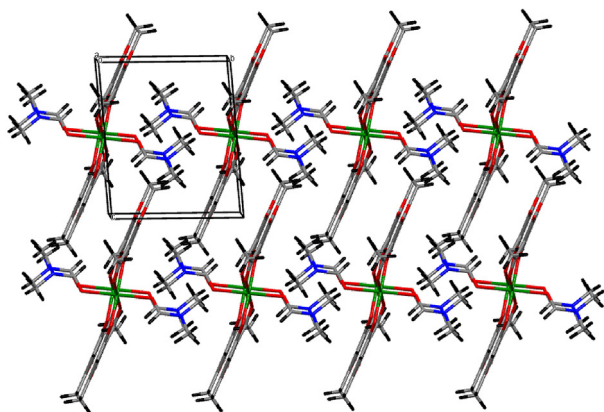
Fig. 2. View of the molecular structure of (1–3) complexes.



(a)



(b)



(c)

Fig. 3. (a) View of the crystal structure of (1) showing layers in $b = 0, \frac{1}{2},$ and 1; (b) View of the crystal structure of (2) showing double layers parallel to (010) plane at $c = 0$ and $c = 1$ along the c axis; (c) View of the crystal structure of (3) showing double layers parallel to (010) plane at $b = 0$ and $b = 1$ along the c axis.

[Co(DHA) (L) (H₂O)₂], where LH = β -ketoenolates, *o*-acetoacetotoluidide (*o*-aatdH), *o*-acetoacetanisidide (*o*-aansH), acetylacetone (acacH) or 1-benzoylacetone (1-*bac*) [46]. For the complex of nickel, the $\nu(\text{Ni}-\text{O})$ vibrational frequency (experimental and calculated) is comparable with those measured for similar complexes [47]. For

Table 4

Distances (Å) and angles (°) of hydrogen bond for (1), (2) and (3).

| D–H ... A | d (D–H) | d (H ... A) | d (D–A) | D–H–A |
|---------------|---------|-------------|-----------|-------|
| (1) | | | | |
| C1–H1A ... O3 | 0.96 | 2.47 | 3.387 (4) | 160 |
| C1–H1B ... O4 | 0.96 | 2.50 | 3.334 (4) | 145 |
| C2–H2B ... O4 | 0.96 | 2.50 | 3.328 (4) | 144 |
| (2) | | | | |
| C1–H1 ... O2 | 0.93 | 2.43 | 3.004 (4) | 120 |
| C2–H2A ... O4 | 0.96 | 2.59 | 3.405 (4) | 143 |
| C3–H3A ... O1 | 0.96 | 2.40 | 2.799 (4) | 105 |
| (3) | | | | |
| C1–H1 ... O2 | 0.93 | 2.48 | 3.063 (3) | 121 |
| C2–H2A ... O5 | 0.96 | 2.59 | 3.430 (3) | 146 |
| C3–H3A ... O1 | 0.96 | 2.39 | 2.795 (3) | 105 |

$\nu(\text{Zn}-\text{O})$, it can be envisaged when comparing with N-dehydroacetic acid-glucosamine already described vibrations [49].

3.5. Anti-bacterial activity

Antibacterial potential of new DHA derivatives against four referential strains, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *S. aureus*, was evaluated *in vitro* by disc diffusion method using Muller-Hinton agar medium. Results are given in Table 7, together with their graphical representation shown in Fig. 4. The obtained zones of inhibition show good to moderate antibacterial activity for title compounds against all tested bacterial strains; for comparison Gentamicine (10 $\mu\text{g}/\text{disc}$), and Nalidixique (30 $\mu\text{g}/\text{disc}$) were used as standards.

Results indicate that all the compounds show moderate to excellent antibacterial activity. Among the compounds, DHA exhibits a high activity against all tested strains, complex (1) shows a very good activity against *S. aureus*, complex (2) gives a moderate activity against all tested bacteria, complex (3) has a very good activity against *K. pneumonia* and *P. aeruginosa* and a moderate one against the other tested bacteria. In general, all synthesized compounds show moderate activity against *E. coli* in comparison with antibiotics used as references. The MBC values reveal that DHA has a bactericidal effect ≤ 0.195 mg/ml on all tested strains, and all synthesized compounds (1)–(3) have nearly the same bactericidal effect (≤ 0.195 mg/ml) in case of *E. coli* bacteria and have no bactericidal effect on bacteria with lower sensitivity by disc diffusion method (Table 8).

4. Conclusions

Three complexes of Co(II), Ni(II), and Zn(II) derived from dehydroacetic acid (DHA) have been successfully synthesized and characterized by single-crystal X-ray analysis and FT-IR spectroscopy. In the structure of the mononuclear complexes, the Co^{II}, Ni^{II} and Zn^{II} atoms lie on an inversion center and have a distorted octahedral coordination geometry of type MO₆. Both bidentate dehydroacetic acid (DHA) ligands occupy the equatorial plane of the complexes in a *trans* configuration, each chelating the metal through two oxygen atoms, while the dimethylsulfoxide (DMSO) for Co(II) and dimethylformamide (DMF) for Ni and Zn molecules, fill the two axial sites via their oxygen atom. FT-IR spectral data of the ligand and metal complexes supported by DFT calculations confirm the structural assignment. The *in vitro* antibacterial potential of DHA and derivatives have been evaluated using the disc diffusion method. The tested compounds exhibited varying degrees of inhibitory effects on the growth of bacterial species compared to

Table 5

Selected bond lengths (Å) and angles (°) calculated at DFT/CAM-B3LYP level for complexes (1), (2) and (3).

| | [Co(DHA) ₂ .2DMSO] (1) | | [Ni(DHA) ₂ .2DMF] (2) | | [Zn (DHA) ₂ .2DMF] (3) | |
|------------------------|-----------------------------------|-------|----------------------------------|-------|-----------------------------------|-------|
| | CAMB3LYP | Exp. | CAMB3LYP | Exp. | CAMB3LYP | Exp |
| Bond lengths(Å) | | | | | | |
| M1-O1 | 2.157 | 2.149 | 2.784 | 2.090 | 2.159 | 2.169 |
| M1-O2 | 1.945 | 2.051 | 1.848 | 1.986 | 2.052 | 2.012 |
| M1-O3 | 1.965 | 2.008 | — | — | 2.031 | 2.031 |
| M1-O5 | — | — | 1.854 | 2.003 | — | — |
| Angles (°) | | | | | | |
| O1-M1-O2 | 87.53 | 88.70 | 90.54 | 91.72 | 85.90 | 91.55 |
| O2-M1-O3 | 88.40 | 88.28 | — | — | 83.63 | 86.37 |
| O3-M1-O1 | 92.73 | 89.66 | — | — | 89.27 | 88.77 |
| O2-M1-O5 | — | — | 91.67 | 87.91 | — | — |
| O5-M1-O1 | — | — | 78.50 | 88.88 | — | — |

Table 6Selected experimental (between brackets) and calculated vibrational frequencies (cm⁻¹) for DHA and complexes.

| Assignment | DHA | [Co(DHA) ₂ .2DMSO](1) | [Ni(DHA) ₂ .2DMF](2) | [Zn (DHA) ₂ .2DMF](3) |
|--|----------------|---|---|---|
| ν (C–O) _{ac} (Stretching) | 1262 (1254) | 1335 C ₃ –O ₂ (1333) | 1311 C ₉ –O ₅ (1300) | 1328 C ₉ –O ₂ (1335) |
| ν (C–O) (Stretching) | 1507 (1550) | — | — | — |
| ν (C=O) (Stretching) | 1734 (1642) | 1626 C ₆ –O ₃ (1625) | 1582 C ₄ –O ₂ (1583) | 1578 C ₄ –O ₃ (1575) |
| ν (C=O) _{Lactone} (Stretching) | 1734 (1718) | 1639 C ₉ –O ₄ (1670) | 1642 C ₇ –O ₄ (1667) | 1636 C ₇ –O ₅ (1670) |
| ν (M – O) (Stretching) | — | 601 (595) | 624 (600) | 636 (620) |

Table 7Antibacterial zone of inhibition (mm) of DHA and complexes (1)–(3). All data are expressed as the means \pm standard deviation (SD) of triplicate measurements. NA and GN refer to Nalidixique and Gentamicine respectively.

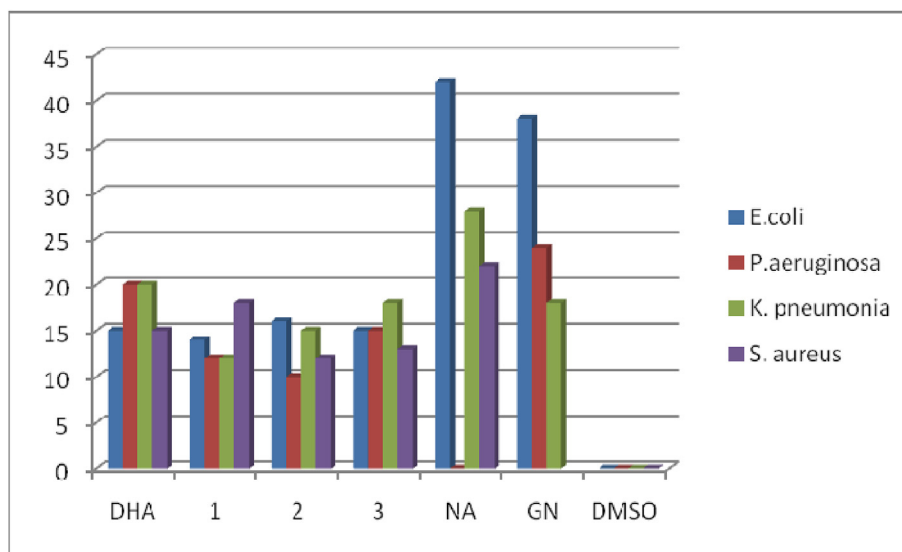
| Coumpounds | <i>E.coli</i> | <i>P.aeruginosa</i> | <i>K.pneumonia</i> | <i>S. aureus</i> |
|------------|------------------|---------------------|--------------------|------------------|
| DHA | 15.00 \pm 0.00 | 20.00 \pm 0.50 | 20.00 \pm 0.50 | 15.00 \pm 0.00 |
| (1) | 14.00 \pm 0.50 | 12.00 \pm 0.00 | 12.00 \pm 0.00 | 18.00 \pm 0.50 |
| (2) | 16.00 \pm 0.00 | 10.00 \pm 0.00 | 15.00 \pm 0.50 | 12.00 \pm 0.00 |
| (3) | 15.00 \pm 0.50 | 15.00 \pm 0.50 | 18.00 \pm 0.50 | 13.00 \pm 0.50 |
| NA | 42.00 | 0.00 | 28.00 | 22.00 |
| GN | 38.00 | 24.00 | 18.00 | — |
| DMSO | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

Table 8

MIC and MBC (mg/ml) inhibitory values for DHA and derivative complexes (1)–(3).

| Coumpounds | <i>E.coli</i> | <i>P.aeruginosa</i> | <i>K. pneumonia</i> | <i>S. aureus</i> |
|------------|------------------|---------------------|---------------------|------------------|
| | MIC MBC | MIC MBC | MIC MBC | MIC MBC |
| DHA | N.D \leq 0.195 | N.D \leq 0.195 | N.D \leq 0.195 | N.D \leq 0.195 |
| 1 | N.D N.A | N.D N.A | N.D N.A | N.D N.A |
| 2 | N.D \leq 0.195 | N.D N.A | N.D N.A | N.D N.A |
| 3 | N.D \leq 0.195 | N.D N.A | N.D N.A | N.D N.A |

N.A: no activity; N.D: not possible to detect.

**Fig. 4.** Antibacterial activity of DHA and complexes (1)–(3) against gram-positive and gram-negative bacteria.

referential used antibiotics GN and NA. Results were generally better for the free DHA ligand, probably insured by hydroxyl function.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

CRedit authorship contribution statement

Amel Marir: Investigation, Formal analysis. **Toma Nardjes Mouas:** Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation, Resources, Writing - original draft, Writing - review & editing. **Barkahem Anak:** Methodology, Validation, Formal analysis, Writing - original draft. **Erwann Jeanneau:** Investigation. **Amel Djedouani:** Methodology, Investigation, Software, Writing - original draft, Visualization, Supervision, Project administration. **Louisa Aribi-Zouiouche:** Conceptualization, Methodology, Validation, Supervision. **Franck Rabilloud:** Investigation, Writing - review & editing.

Acknowledgments

The authors acknowledge the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research, the Algerian Directorate General for Scientific Research and Technological Development, and Bordj Badji Mokhtar University of Annaba.

References

- V.N. Patange, B.R. Arbad, Synthesis, spectral, thermal and biological studies of transition metal complexes of 4-hydroxy-3-[3-(4-hydroxyphenyl)-cryloyl]-6-methyl-2H-pyran-2-one, *J. Serb. Chem. Soc.* 76 (2011) 1237–1246.
- V.N. Patange, R.K. Pardeshi, B.R. Arbad, Transition metal complexes with oxygen donor ligands: a synthesis, spectral, thermal and antimicrobial study, *J. Serb. Chem. Soc.* 73 (2008) 1073–1082.
- S. Tabti, A. Djedouani, D. Aggoun, I. Warad, S. Rahmouni, S. Romdhane, H. Fouzi, New Cu (II), Co(II) and Ni(II) complexes of chalcone derivatives: synthesis, X-ray crystal structure, electrochemical properties and DFT computational studies, *J. Mol. Struct.* 1155 (2018) 11–20.
- M. E. Smith, R.A. Anderson, Me₅C₅Ni(acac): A monomeric, paramagnetic, 18-electron, spin-equilibrium molecule, *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 11119–11128.
- J.N. Collie, H.R. Le Sueur, Salts of dehydracetic acid, *J. Chem. Soc. Trans.* 65 (1894) 254–262.
- C. Rivera, E. Piñeyro, F. Giral, Dehydroacetic acid in anthers of *Solanandra nida* (Solanaceae), *Experientia* 32 (12) (1976), 1490–1490.
- A. Townshend, D.T. Burns, R. Lobinski, E.J. Newman, G. Guilbault, Z. Marczenko, H. Onishi, Dictionary of Analytical Reagents, first ed., 1993, p. 5.
- a) A. El Alami, S. Hamid, A. El Kihel, M. Saadi, L. El Ammarib, 3,3' -[(1 E,1' E)-Hydrazine-1,2-diylidenebis(ethan-1-yl-1-ylidene)]bis(4-hydroxy-6-methyl-2-H-pyran-2-one), *Acta Crystallogr.* 4 (2019) x191348; b) M. Salehi, M. Galini, M. Kubicki, A. Khaleghian, Synthesis and characterization of new cobalt(III) and nickel(II) complexes derived from acetylacetone and 2-aminopyridine: a new precursor for preparation of NiO nanoparticles, *Russ. J. Inorg. Chem.* 64 (2019) 18–27.
- H. Tabuchi, T. Hamamoto, S. Miki, T. Tejima, A. Ichihara, Total synthesis and stereochemistry of alternaric acid, *J. Org. Chem.* 59 (1994) 4749–4759.
- a) R. Teimuri-Mofrad, K. Rahimpour, M. Gholizadeh, Design, synthesis, characterization and fluorescence property evaluation of dehydroacetic acid-based chalcones, *J. Iran. Chem. Soc.* 17 (2020) 1103–1109; b) E. Martins de Carvalho, R. Ribeiro Riente, J.D. Figueroa Villar, Synthesis and spectroscopic determination of the coordination differences of cadmium and zinc complexes of dehydroacetic acid with pyridine and γ -picoline, *Acad. J. Chem.* 4 (9) (2019) 81–89.
- H.C. Spencer, V.K. Rowe, D.D. Mc Collister, Dehydroacetic acid. I. Acute and chronic toxicity, *J. Pharmacol.* 99 (1950) 57–68.
- H.W. Rossmore, Handbook of Biocide and Preservative Use, first ed., 1995, p. 341.
- V.O. Sheftel, Indirect Food Additives and Polymers: Migration and Toxicology, first ed., 2000, p. 196.
- A.S. Yousef, A novel conducting polymer film by electrochemical oxidation of 3-[1-(2-aminophenylimino)-ethyl]-6-methylpyran-2,4-dione schiff base in aqueous medium, *Eur. Polym. J.* 36 (2000) 1629–1644.
- P.V. Rao, A.V. Narasaiah, Synthesis, characterization and biological studies of oxovanadium(IV), manganese(II), iron(II), cobalt(II), nickel(II) and copper(II) complexes derived from a quadridentate ligand, *Indian J. Chem. A.* 42 (2003) 1896–1899.
- L. Zema, M.E. Sangalli, A. Maroni, A. Foppoli, A. Bettero, A. azzaniga, Active packaging for topical cosmetic/drug products: a hot-melt extruded preservative delivery device, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 75 (2010) 291–296.
- U. Kunigoshi, Synthesis of dehydroacetic acid isonicotinyl hydrazone sodium-salt. Its antitubercular effect on clinical tuberculosis, *Chemotherapy* 6 (1958) 336–341.
- A.A. Kubaisi, K.Z. Ismail, Nickel(II) and palladium(II) chelates of dehydroacetic acid Schiff bases derived from thiosemicarbazide and hydrazinecarbothioate, *Can. J. Chem.* 72 (1994) 1785–1788.
- S. Jadhav, A. Munde, S. Shankarwar, V. Patharkar, V. Shelke, T. Chondhekar, Potentiometric Synthesis, Spectral characterization and microbial studies of transition metal complexes with tridentate ligand, *J. Korean Chem. Soc.* 54 (2010) 515–522.
- A.B. Boese Jr., Diketene A new industrial chemical, *Ind. Eng. Chem.* 32 (1940) 16–22.
- M.Z. Chalaca, J.D. Figueroa-Villar, R.A. Ellena, E.E. Castellano, Synthesis and structure of cadmium and zinc complexes of dehydroacetic acid, *Inorg. Chim. Acta.* 328 (2002) 45–52.
- S.S. Lim, H.S. Kim, D.U. Lee, In vitro antimalarial activity of flavonoids and chalcones, *Bull. Korean Chem. Soc.* 28 (2007) 2495–2497.
- M.S. Ponnurengam, S. Malliappan, K.G. Sethu, M. Doble, QSAR studies on chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents using genetic function approximation (GFA) method, *Pharm. Bull.* 55 (2007) 4–4.
- G.S.B. Viana, M.A.M. Bandeira, F.J.A. Matos, Analgesic and antiinflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruon urundeuva* Allemão, *Phyto-medicine* 10 (2003) 189–195.
- S.F. Tan, K.P. Ang, H.L. Jayachandran, Synthesis and characterisation of copper(II), nickel(II) and palladium(II) complexes of some Schiff bases of dehydroacetic acid, *Trans. Met. Chem.* 9 (1984) 390–395.
- J. Casab, J. Marqijet, M. Moreno-Manad, M. Prior, F. Temidor, Transition metal complexes with dehydroacetic acid : crystal structure of bis(3-acetyl-4-Hydroxy-6-Methyl-2-pyrone)Cobalt(II) Bis dimethylformamide), *Polyhedron* 6 (1987) 1235–1238.
- Rigaku Oxford Diffraction, CrysAlisPro Software System, 39.46, Rigaku Corporation, Oxford, UK, 2018, version 1.171.
- R.C. Clark, J.S. Reid, The analytical calculation of absorption in multifaceted crystals, *Acta Crystallogr.* A51 (1995) 887–897.
- G.M. Sheldrick, ShelXT-Integrated space-group and crystal-structure determination, *Acta Crystallogr.* A71 (2015) 3–8.
- O.V. Dolomanov, L.J. Bourhis, R.J. Gildea, J.A.K. Howard, H. Puschmann, Olex2: a complete structure solution, refinement and analysis program, *J. Appl. Crystallogr.* 42 (2009) 339–341.
- G.M. Sheldrick, Crystal structure refinement with ShelXL, *Acta Crystallogr.* C27 (2015) 3–8.
- K. Brandenburg, M. Berndt, DIAMOND, CrystallImpact, Bonn, 2001. Germany.
- C.F. Macrae, P.R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, G.P. Shields, R. Taylor, M. Towler, J. Van De Streek, Mercury: visualization and analysis of crystal structures, *J. Appl. Crystallogr.* 39 (2006) 453–457.
- D. Yanai, D.P. Tew, N.C. Handy, A new hybrid exchange–correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP), *Chem. Phys. Lett.* 393 (2004) 51–57.
- M. Dolg, U. Wedig, H. Stoll, H. Preuss, Energy-adjusted ab initio pseudopotentials for the first row transition elements, *J. Chem. Phys.* 86 (1987) 866–872.
- M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. n Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H.P. Hratchian, A.F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J.L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J.A. Montgomery Jr., J.E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, K.N. Kudin, V.N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J.C. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J.M. Millam, M. Klene, J.E. Knox, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, R.L. Martin, K. Morokuma, V.G. Zakrzewski, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, S. Dapprich, A.D. Daniels, O. Farkas, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, J. Cioslowski, D.J. Fox, Gaussian Inc, Wallingford, CT, 2009.
- A.W. Bauer, M.M. Kirby, J.C. Sherris, et al., Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, *Am. J. Clin. Pathol.* 45 (1966) 493–496.
- R. Cruickshank, J.P. Duguid, B.P. Marion, R.H.A. Swain, Medicinal Microbiology, twelfth ed., vol. II, Churchill Livingstone, London, 1975, pp. 196–202.
- C. Perez, M. Pauli, P. Bazerque, An antibiotic assay by the agar well diffusion method, *Acta Biol. Med. Exp.* 15 (1) (1990) 113–115.
- M.J. Hearn, M.H. Cynamon, Design and synthesis of antituberculars: preparation and evaluation against Mycobacterium tuberculosis of an isoniazid Schiff base, *J. Antimicrob. Chemother.* 53 (2) (2004) 185–191.
- Z.H. Chohan, S.H. Sumrra, M.H. Youssoufi, T. B Hadda, Metal based biologically active compounds: design, synthesis, and antibacterial/zantifungal/cytotoxic properties of triazole-derived Schiff bases and their oxovanadium (IV) complexes, *Eur. J. Med. Chem.* 45 (7) (2010) 2739–2747.

- [42] A. Djedouani, S. Boufas, A. Bendaas, M. Allain, G. Bouet, Bis(3-acetyl-6-methyl-2-oxo-2H-pyran-4-olato) bis (dimethylformamide) nickel(II), *Acta Crystallogr. E65* (2009) m1205.
- [43] A. Bouchama, A. Bendaas, C. Chiter, A. Beghidja, A. Djedouani, Bis(3-acetyl-6-methyl-2-oxo-2H-pyran-4-olato)bis(dimethylformamide)copper(II), *Acta Crystallogr. E63* (2007) m2397.
- [44] A. Djedouani, A. Bendaas, S. Bouacida, A. Beghidja, T. Douadi, Bis[3-acetyl-6-methyl-2H-pyran 2,4(3H)dionato]bis(dimethyl sulfoxide)copper(II), *Acta Crystallogr. E63* (2006) m133–m135.
- [45] M.T. Huang, Z.Y. Wang, C.A. Georgiadis, J.D. Laskin, A.H. Conney, Inhibitory effects of curcumin on tumor initiation by benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene, *Carcinogenesis* 13 (11) (1992) 2183–2186.
- [46] P.E. Ikechukwu, P.A. Ajibade, Synthesis, characterization and biological studies of metal(II) complexes of (3e)-3-[(2-((E)-[1-(2,4-Dihydroxyphenyl) ethylidene]amino)ethyl)imino]-1-phenylbutan-1-one schiff base, *Molecules* 20 (2015) 9788–9802.
- [47] R.C. Maurya, B.A. Malik, J.M. Mir, P.K. Vishwakarma, P.S. Jaget, N. Jain, Mixed-ligand cobalt(II) complexes of bioinorganic and medicinal relevance, involving dehydroacetic acid and β -diketones: their synthesis, hyphenated experimental-DFT, thermal and bactericidal facets, *J. Mol. Struct.* 1099 (2015) 266–285.
- [48] S. Rahmouni, A. Djedouani, B. Anak, S. Tabti, A. Bendaas, M. ha Bencharif, M. François, S. Fleutot, F. Rabilloud, Synthesis, X-ray crystal structures, electrochemistry and theoretical investigation of a tetradentate nickel and copper Schiff base complexes, *J. Mol. Struct.* 1148 (2017) 238–246.
- [49] R.C. Maurya, B.A. Malik, J.M. Mir, P.K. Vishwakarma, Oxidovanadium(IV) complexes involving dehydroacetic acid and β -diketones of bioinorganic and medicinal relevance: their synthesis, characterization, thermal behavior and DFT aspects, *J. Mol. Struct.* 1083 (2015) 343–356.