

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Thèse de Doctorat

Présentée à l'Université de Guelma
Faculté des Sciences et de la technologie

Département de : **Génie des Procédés**

Spécialité : **Chimie Industrielle**

Par : **NESSAIB Mounir**

Sujet de Thèse : Synthèse, Structure, étude spectrofluorimétrique et évaluation biologique des *N*-sulfamoyloxazolidinones et de leurs dérivés

JURY

Président :	A.M. AFFOUNE	Pr. Université de Guelma
Encadreur :	M. ABDAOUI	Pr. Université de Guelma
Examineurs :	M. LIACHA	Pr. Université d'Annaba
	Z. E. DJEGHABA	Pr. Université d'Annaba
	D. E. BENOURETH	Pr. Université de Guelma

2012

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Thèse de Doctorat

Présentée à l'Université de Guelma
Faculté des Sciences et de la technologie

Département de : **Génie des Procédés**
Spécialité : **Chimie Industrielle**

Par : **NESSAIB Mounir**

Sujet de Thèse : Synthèse, Structure, étude spectrofluorimétrique et évaluation biologique des *N*-sulfamoyloxazolidinones et de leurs dérivés

JURY

Président :	A.M. AFFOUNE	Pr. Université de Guelma
Encadreur :	M. ABDAOUI	Pr. Université de Guelma
Examineurs :	M. LIACHA	Pr. Université d'Annaba
	Z. E. DJEGHABA	Pr. Université d'Annaba
	D. E. BENOURETH	Pr. Université de Guelma



2012



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Pour aborder l'étude de la chimie avec succès,

Il faut être avant tout sain d'esprit et de corps.

Celui qui se laisse égarer par la vanité ou les vices

Qui l'accompagnent. Est aussi incapable De se livrer

Aux opérations de notre art que Celui qui est aveugle Ou manchot

Abu Musa Jabir Ibn Hayyan (780-840)

Chimiste Arabe du IX siècles

Dédicace

Je dédie ce travail

A l'âme de mon cher père et grand père

«Je pris « Allah » Le tout puissant de les accueillir dans son paradis » »

A ma chère mère

A ma chère femme

*Dont l'aide, le soutien, les encouragements permanents, m'ont permis
de Poursuivre ma passion. Je ne cesserai de les remercier en leurs souhaitant
une Langue vie pleine de joie et de prospérité et qu'Allah me fasse toujours
à la hauteur de leurs espoirs.*

A la joie de ma vie « Abederahmane»

A mes sœurs et frères

A tous mes amis

A tous qui ont contribué de près ou de loin pour réaliser ce modeste travail.

Remerciement

“Celui qui ne remercie pas les gens ne remercie pas Allah.”

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer toute ma gratitude à ceux qui ont contribué à son élaboration

*A monsieur le **Pr. Mohamed Abdaoui** mon directeur de thèse et le directeur de*

Laboratoire de Chimie appliquée (LCA); qui m'a fait faire les premiers pas sur le chemin de la recherche scientifique dix ans avant, pour m'avoir accepté dans son laboratoire et me proposé cette axe de recherche. À lui énoncer toute ma gratitude, pour son aide utile, ses indications réalistes, ses critiques précieuses et sa vision précise, qui m'a beaucoup aidé à la réalisation de ce travail.

*Je tiens à remercier aussi, monsieur **Pr. Noureddinne Aouf** de l'Université*

D'Annaba. Qui m'a accueilli chaleureusement au sein de son laboratoire. Son enthousiasme, ses qualités humaines, son esprit d'ouverture m'ont encouragé à toujours pour aller de l'avant, Je suis heureux de lui énoncer toute ma gratitude pour ces conseils.

*Je tiens également à remercier **Dr. Achour Seridi** de l'Université de*

Skikda, qui a considérablement contribué à ce travail par les analyses spectrales (IR, RMN 1H. et calcul de la lipophilie . Je lui exprime ma gratitude pour tous ces efforts

*Je n'oublie pas **Dr. Hocine Akkari**, dont la gentillesse et la prévenance sont à souligner, il m'a initié aux techniques cristallographiques. J'y associe naturellement l'expertise de **Pr. J.C. Daran** de Toulouse-France-*

*C'est dans le cadre d'une collaboration fructueuse avec le laboratoire du **Professeur. A. Djahoudi** que les molécules présentées dans cet ouvrage ont été testées. La partie biologique de Ce travail a vu le jour grâce son aide préalable.*

*Je ne peux manquer de remercier Mme: **N. Bensouilah** de son aide scientifique remarquable*

Pour la réalisation de l'étude spectrofluorimétrique et tous les membres du laboratoire de chimie appliquée

*Je tiens à exprimer également ma reconnaissance à Mr **Pr. A.M. Affoun**, de*

l'Université 8 Mai 45 -Guelma, -qui a bien voulu me faire l'honneur d'examiner ce travail de recherche et de présider le jury.

*Je tiens à exprimer également ma reconnaissance à Mrs le **Pr. Z.E. Djehaba** et le **Pr. M. Liacha** de l'Université de Annaba et le **Pr. D.E. Benouareth** de l'Université de Guelma D'avoir voulu s'intéresser à ce travail et participer au jury de sa soutenance*

Je remercie également toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à réaliser ce modeste travail

Résumé

Le problème de résistance aux antibiotiques est une préoccupation majeure dans les communautés scientifiques, économiques et industrielles. Cette préoccupation est liée au fait que les infections bactériennes dues à des bactéries plus résistantes aux antibiotiques sont d'autant plus difficiles et coûteuses à traiter. Dans ce contexte, une tentative de conception de nouvelles biomolécules douées d'une activité antibactérienne a été réalisée au sein de notre laboratoire. Elle a permis la synthèse d'une série originale de *N*-aryl,*N*,sulfamoyloxazolidin-2-ones.

Notre travail de thèse s'inscrit dans la même continuité de cet axe de recherche à travers deux stratégies distinctes.

La première stratégie organique basée sur une modification structurale par augmentation de la taille de l'hétérocycle a permis l'accès à une série de perhydro-1,3-oxazin-2-ones, hétérocycles à six chaînons avec une activité meilleure que celle de cinq chaînons.

Dans la deuxième stratégie inorganique, nous avons tenté d'explorer la piste de l'inhibition par les complexes organométalliques de cuivre (II), de Cobalt(II) et de Ni(II) en se focalisant sur le comportement physicochimique, sur les potentialités et sur les limitations spécifiques à ce type de complexe de coordination.

Au cours de ce travail, nous avons établi la caractérisation physicochimique et structurale des composés de synthèse en utilisant des techniques expérimentales diverses tels que la DRX, l'ESI-MS, la Spectrofluorométrie et la voltamétrie cyclique. Nous avons montré que la stabilité thermodynamique, la lipophilie des molécules synthétisées ainsi que leurs complexes sont indispensables à toutes activités biologiques.

Enfin une évaluation *in-vitro* de l'activité antibactérienne des perhydro-1,3-oxazin-2-ones et des complexes organométalliques a indiqué que la majorité de ces molécules montrent plus d'efficacité contre les souches de *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*.

Mots clés : Isocyanate de chlorosulfonyle (ICS), *N*-aryl, *N*,sulfamoyloxazolidin-2-ones, perhydro-1,3-oxazin-2-ones, complexes organométalliques, lipophilie, activité antibactérienne *in-vitro*.

Abstract

The problem of antibiotic resistance is a major concern in the scientific, economic and industrial community. This concern is related to the fact that bacterial infections caused by bacteria more resistant to antibiotics are more difficult and costly to treat. In this context, an attempt to design new biomolecules endowed with antibacterial activity was conducted in our laboratory. It enabled the synthesis of an original series of N-aryl, N sulfamoyloxazolidinones. Our thesis is in the same continuity of this research through two distinct strategies.

The first strategy is based on an organic structural modification by increasing the size of the heterocycle has allowed access to a series of perhydro-1,3-oxazin-2-ones, with six-membered heterocycles with an activity better than five-membered ring.

In the second inorganic strategy, we tried to explore the trail of the inhibition by organometallic complexes of copper (II), Cobalt (II) and Ni (II) focusing on the physicochemical behavior, on the potential and specific limitations to this type of coordination complex.

In this work, we established the structural and physicochemical characterization of synthetic compounds using various experimental techniques such as XRD, the ESI-MS, the Spectrofluoremetric and cyclic voltammetry.

We have shown that the thermodynamic stability, the lipophilic molecules synthesized and their complexes are essential for all biological activities.

In the end an evaluation of the in-vitro antibacterial activity of perhydro-1,3-oxazin-2-ones and organometallic complexes has indicated that the majority of these molecules show greater effectiveness against strains of *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*

ملخص عمل البحث

إن مشكلة مقاومة الخلايا البكتيرية للمضادات الحيوية هي مصدر قلق كبير في المجالات الاقتصادية والعلمية والصناعية. ويرتبط هذا القلق إلى أن العدوى البكتيرية هي أكثر صعوبة وتكلفة بوجود المزيد من البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية.. في هذا السياق ، أجرينا محاولة تصميم لجزء حيوي جديد ذو نشاط مضاد للجراثيم في مختبر الكيمياء التطبيقية بجامعة قالمه ، مما سمح لنا من تحضير مجموعة جديدة من مركبات ، sulfamoyloxazolidinones المضادة للبكتيريا. هذه الأطروحة تدخل في إطار الاستمرارية المرتكزة على نتائج البحث الأولي ، من خلال إستراتيجيتين مختلفتين ، تقوم الإستراتيجية الأولى العضوية على تعديل هيكل لجسم الجزيء الأساسي عن طريق زيادة حجم الحلقة غير المتجانسة على اعتبار أن وجود حلقة غير متجانسة ذات ستة ذرات في جزيء يكون ذو فعالية بيولوجية أفضل من نفس الجزيء الحاوي لحلقة غير متجانسة مشكلة من خمسة ذرات الشيء الذي أتاح لنا التوصل إلى تحضير سلسلة أخرى مشابهة من perhydrooxazinones. أما في الإستراتيجية اللاعضوية الثانية ، حاولنا استكشاف أثر التثبيط النمو البكتيري بوجود المعادن الانتقالية وذلك من خلال صناعة معقدات مع شوارد النحاس، الكوبالت والنيكل الثنائي أين كان التركيز على دراسة السلوك الفيزيائي والكيميائي للجزيئات الابتدائية الحرة قبل وبعد التعقيد ، من اجل توصيف أفضل للخواص الفيزيائية والكيميائية والبنوية للمركبات المصنوعة مخبريا اعتمادنا في هذه الأطروحة ، على طرق تحليلية تجريبية فعالة حديثة و مختلفة مثل (ESI - MS,DRX ، Spectrofluoremetrie ... الخ) ، cyclic voltammetry أين أظهرت لنا الدراسة أن هذه المركبات هي ذات استقرار حراري و ذوبانية في الدهون lippophilie مقبولين ، الشيء الذي لا غنى عنه لأي نشاط بيولوجي ، كما مكنتنا تقاطع التحاليل بين العديد من طرق التحليل البنوية فهم أفضل للظواهر ذات الصلة في الاستقرار البنوي والطاقوي وعلاقته بالفعالية البيولوجية، كما اظهر تقييم النشاط الجرثومي المكمل لكل إستراتيجية على حده أن الغالبية العظمى من جزيئات perhydrooxazinones ' sulfamoyloxazolidinones ومعقداتها فعالية جيدة ضد سلالات من بكتريا *P. aeruginosa* و *E. coli* و *S.aureus*.

Sommaire

	Pages
INTRODUCTION GENERALE	01
CHAPITRE 1 : APERCU BIBLIOGRAPHIQUE	
1. LES ANTIBIOTIQUES ET LE PROBLEME DE RESISTANCE	06
1.1. Définitions des antibiotiques	06
1.2. Historique	06
1.3. Classification	08
1.4. Mode d'action	08
1.5. Problème de résistance	11
1.6. Interactions moléculaire des biomolécules	12
2. RECHERCHE ET DEVELOPPEMENT DE NOUVELLES BIOMOLECULES	15
2.1. Rendre la chimie médicinale plus efficace	
2.1.1. <i>Introduction</i>	
2.1.2. <i>Le cycle DMTA « Conception-Synthèse-Test- Analyse »</i>	
2.1.2.1. <i>La conception de nouvelles molécules (Design)</i>	
2.1.2.2. <i>Synthèse des molécules (Make)</i>	
2.1.2.3. <i>Test des molécules (Test)</i>	
2.1.2.4. <i>Analyse des données (Analyse)</i>	
2.2. De la conception vers la synthèse organique	18
La « Fragmentology » en chimie médicinale moderne	
2.2.1. <i>Introduction</i>	
2.2.2. <i>Principes et définitions Clés</i>	
2.2.2.1. <i>Qu'est-ce qu'un fragment?</i>	
2.2.2.2. <i>Affinité et Interactions d'un fragment</i>	
2.2.2.3. <i>FBDD et l'efficacité d'un ligand (LE)</i>	
2.2.3. <i>Présence des groupes sulfamides et/ou oxazolidinones en « Fragmentology »</i>	
2.2.3.1. <i>Le motif sulfamide et le PPAR (Indeglitazar) de Plexxikon</i>	
2.2.3.2. <i>Le motif oxazolidinone et Inhibiteurs de Hsp90 des Laboratoires Abbott</i>	
2.2.3.3. <i>Le motif aryle sulfamoyloxazolidinone «Thymidylate Synthase Inhibito»</i>	
2.3. De la synthèse organique vers la conception:	23
Le nombre de cycle aromatique : une nouvelle clé simple et utile pour la conception	
2.3.1. <i>Introduction</i>	
2.3.2. <i>Impact du nombre de cycle aromatique sur le développement d'une biomolécule</i>	

2.3.3. <i>La Lipophilie et le nombre moyen de cycle aromatique</i>	
2.3.3.1. <i>Nombre de cycle aromatique et le coefficient de partage estimé (clogP)</i>	
2.3.3.2. <i>Nombre de cycle aromatique et le coefficient de partage mesuré (logD_{o/w})</i>	
2.3.3.3. <i>Comparaison de L'effet du nombre de cycle aromatique sur clog P et log D_{o/w}</i>	
3. LA CHIMIE BIO-ORGANIQUE AU SERVICE DE LA MEDECINE	27
3.1. Le soufre	27
3.2. Les sulfamides	28
3.3. Les hétérocycles à cinq et à six chaînons (oxazolidinones, perhydrooxazinones)	29
3.3.1. <i>Définitions</i>	
3.3.2. <i>Hétérocycles à cinq chaînons (Les 1,3-Oxazolidin-2-ones)</i>	
3.3.3. <i>Hétérocycles à six chaînons (Les perhydro 1,3-oxazin-2-ones)</i>	
3.4. La combinaison de la chimie des sulfamides et des hétérocycles	31
4. LA CHIMIE BIO-INORGANIQUE AU SERVICE DE LA MEDECINE	31
4.1. La chimie bio-inorganique, une discipline en pleine expansion	31
4.1.1. <i>Influence des métaux dans les processus biologiques</i>	
4.1.2. <i>Le cuivre (Cu) élément essentiel dans les organismes vivants</i>	
5. CONCLUSIONS	33
Références bibliographiques du Chapitre 1	
CHAPITRE 2 : OBJECTIFS ET STRATEGIES	
1. INTRODUCTION	40
2. STRATEGIE ORGANIQUE	40
2.1. Augmentation de la taille du cycle (accès aux hétérocycles à six chaînons)	40
2.1.1. <i>Introduction.</i>	
2.1.2. <i>Synthèse et Caractérisation</i>	
2.1.3. <i>Analyse par les rayons X du composé 27d</i>	
2.1.4. <i>Etude cristallographique de la structure 3D du composé 27d</i>	
2.1.5. <i>Tests d'activité antibactérienne In-vitro</i>	
2.1.5.1. <i>Par la méthode de diffusion sur disque</i>	
2.1.5.2. <i>Mesure des Concentrations minimale inhibitrice (CMI)</i>	
2.1.6. <i>Conclusions</i>	
2.2. Réaction de N-Méthylation (accès aux produits N-méthylés)	53
2.2.1. <i>Introduction.</i>	

2.2.2. <i>Synthèse et caractérisation des composés N-méthylés</i>	
2.2.3. <i>Activité antibactérienne des composés N-méthylés</i>	
2.2.4. <i>Conclusions</i>	
2.3. Corrélation entre la lipophilie et l'activité antibactérienne	56
2.3.1. <i>Introduction</i>	
2.3.2. <i>Quantification de la lipophilie</i>	
2.3.3. <i>Corrélation entre la lipophilie et l'activité antibactérienne des oxazolidinones</i>	
2.3.4. <i>Corrélation entre la lipophilie et l'activité antibactérienne des Perhydrooxazinones</i>	
2.3.5. <i>Effet de la Stratégie organique sur la lipophilie des molécules synthétisées</i>	
2.3.6. <i>Conclusions</i>	
Références bibliographiques de la « STRATEGIE ORGANIQUE »	
3. STRATEGIE INORGANIQUE	70
Complexation par les métaux de transition (accès aux complexes organométalliques)	
3.1. Introduction	70
3.2. Méthode générale de la Synthèse des complexes organométalliques	71
3.3. Caractérisation structurale des complexes organométalliques en solution	72
3.3.1. <i>Caractérisation par spectroscopie FT-IR</i>	
3.3.2. <i>Caractérisation par spectrophotométrie UV-Visible</i>	
3.3.3. <i>Caractérisation par spectrométrie de masse ESI-MS</i>	
3.3.4. <i>Caractérisation par spectrofluorimétrie d'absorption et d'émission</i>	
3.3.5. <i>Caractérisation par voltamétrie cyclique</i>	
3.4. Activité antibactérienne (<i>in vitro</i>) des complexes organométalliques	101
3.5. Conclusions	103
Références bibliographiques de la « STRATEGIE INORGANIQUE »	
4. APPLICATION ANALYTIQUE (Extraction liquide-liquide du Co⁺² et du Cu⁺²)	106
4.1. Introduction	106
4.2. Procédure générale d'extraction	107
4.3. Mécanisme d'extraction et espèces en solution	107
4.3.1. <i>Effet du pH sur le processus d'extraction</i>	
4.3.2. <i>Effet des substituants du noyau benzénique sur le processus d'extraction</i>	
4.4. Conclusion	110
Références bibliographiques de l'application analytique	

5. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	112
CHAPITRE 3 : PARTIE EXPERIMENTALE	
1. Matériels et Méthodes	115
2. Procédure de synthèse des composés 26, 27 et 30 et les complexes organométalliques	116
2.1. Les <i>N</i> -[(<i>N</i> , aryl)-sulfamoyl] perhydro1,3 oxazine-2-ones (27a-27b)	
2.2. Les <i>N</i> -[(<i>N</i> , aryl)-sulfamoyl] oxazolidi-2-ones (26a-26f)	
2.3. Les <i>N</i> , méthyl-[(<i>N</i> , aryle)-sulfamoyl] oxazolidin-2-ones 30	
2.4. Les Complexes mononucléaires de coordination ML ₂ (M = Ni (II), Cu (II), Co (II))	
3. Les tests biologiques <i>in-vitro</i>	120
3.1. Préparation de la culture bactérienne	
3.2. Méthode de diffusion sur disque	
3.3. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI)	
4. Corrélation entre la lipophilie et l'activité antibactérienne	121
4.1. Mesure expérimentale du log P (log P _{o/w})	
4.2. Calcul théorique du log P (ClogP)	
4.3. Calculs Statistiques	
5. Informations Cristallographiques supplémentaires	122
6. Financement des travaux de recherche	122
7. ANNEXE	123

LISTE DES ILLUSTRATIONS :

CHAPITRE 1 : APERCU BIBLIOGRAPHIQUE

<u>Figures</u>	<u>Titre</u>	<u>Pages</u>
1.1	Mortalité causé par les maladies infectieuses (en 1900 et 2000)	06
1.2	Classification générale des antibiotiques selon leurs modes d'action	09
1.3	Mode d'action générale des sulfamides	09
1.4	Structure générale et mode d'action des oxazolidinones	11
1.5	Représentation schématique des interactions moléculaires les plus importantes	14
1.6	Investissement annuel de Recherche et de Développement (1980-2004)	15
1.7	Cycle DMTA « Design-Make-Test-Analyse »	16
1.8	Importance du motif méthoxy phenyl sulfamide au développement de l' indeglitazar	21
1.9	Importance du motif oxazolidinone au développement l'Inhibiteurs de Hsp90	22
1.10	La coexistence des motifs sulfamide et oxazolidinone au sien de la même bio-molécule	23
1.11	Comparaison clog <i>P</i> et log <i>D</i> _{o/w} en fonction du nombre de cycle aromatique	27
1.12	Quelques structures de sulfamides et leurs applications	28
1.13	Structure générale de linezolide, 1,3-oxazolidin-2-ones et 1,3-oxazin-2-ones	30
1.14	Quelques exemples de la combinaison de motif arylsulfonamide et les hétérocycles	31
1.15	Utilisations de la chimie inorganique en médecine	32
<u>Tableaux</u>	<u>Titre</u>	<u>Pages</u>
1.1	Découvertes des classes d'antibiotiques entre 1930 et 2000	07
1.2	Nombre moyen des cycles aromatiques dans une collection GSK	25

CHAPITRE 2 : OBJECTIFS ET STRATEGIES

2. STRATEGIE ORGANIQUE :

<u>Figures</u>	<u>Titre</u>	<u>Pages</u>
2.1	Quelques structures récentes de composés biologiquement actifs	42
2.2	ORTEP de la molécule 27d dans le cristal avec un système de numérotation atomique	47
2.3	Représentation de DIAMOND d'un dimère cyclique [R ₂ ² (12)] à 10 membres	48
2.4	Comparaison d'activité antibactérienne des composés synthétisés 26a-26f et 27a-27f	52
2.5	Réaction de <i>N</i> -méthylation décrite par CATT et MATIER	54
2.6	Corrélation des valeurs théoriques et expérimentales du coefficient de partage de 26	61
2.7	Corrélation de Log <i>P</i> théoriques (a) et expérimental (b) et CMI de 26a , 26b , 26e	62
2.8	Corrélation entre log <i>p</i> théoriques et expérimentales des composés 27	64
2.9	Comparaison de coefficient de partage des composés synthétisés 26a-f et 27a-f	65
2.10	Corrélation log <i>P</i> et de tous les composés les plus actifs 26,27	65

Tableaux	Titre	Pages
2.1	Quelques propriétés physico-chimiques et spectrales des composés 27a-27f	44
2.2	Paramètres cristallographiques expérimentaux du composé 27d	46
2.3	Quelques longueurs des liaisons (Å) et angles (°) avec leurs écarts-types de 27d	47
2.4	Liaisons d'hydrogène (les plus fortes) dans la structure 27d	48
2.5	Tests biologiques d'activité antibactérienne (300 µmol /L dans DMSO) de 27a-27f	49
2.6	Tests biologiques d'activité Antibactérienne (300 µmol /L dans DMSO) de 26a-26f	50
2.7	CMI (µg/ml) des composés sélectionnés (27d), (26a), (26b) et (26e)	52
2.8	Quelques propriétés physico-chimiques et spectrales des composés <i>N</i> -méthylés 30	55
2.9	Comparaison d'activité antibactérienne entre les composés 26 et 30	56
2.10	Structures, activité antibactérienne et lipophilie des composés 26a-26f	60
2.11	Corrélation de coefficient de partage (log <i>p</i>) et CMI des composés 26a-26f	61
2.12	Structures, activité antibactérienne et lipophilie des composés 27a-27f	63
2.13	Corrélation de coefficient de partage (log <i>p</i>) et CMI des composés 27a-27f	63
Schémas	Titre	Pages
2.1	Objectifs et Stratégies de synthèse et de développement de travail (INTRODUCTION)	41
2.2	Préparation de perhydro-1,3-oxazine-2-ones 27a - 27f et analogues	44
2.3	Stratégie de synthèse des composés <i>N</i> -méthylés 30	54

3. STRATEGIE INORGANIQUE :

Figures	Titre	Pages
3.1	Structures générales des sulfamides et les ligands utilisés	71
3.2	Spectre FT-IR (cm ⁻¹) du ligand L30e et son complexe de cuivre C12	74
3.3	Spectre UV-visible du ligand L26e et C04 dans DMF	77
3.4	Spectre UV-visible du ligand L26f et C06 dans DMF	78
3.5	Spectre dans le Visible, (a) C02 , (b) C03 dans DMF	78
3.6	Spectre dans le Visible de L30b et C15 dans CHCl ₃ , (b) effet proposé de solvant	79
3.7	Spectre dans le Visible de C07 et C14 dans le MeOH	79
3.8	Spectres de masse de complexe C01 en mode positif	81
3.9	Spectres de masse de complexe C02 en mode positif	83
3.10	Spectre de masse de complexe C03 en mode positif	85
3.11	Spectres de masse de complexe C04 en mode positif et négatif	86
3.12	Spectres de masse de complexe C05 en mode positif et négatif	88
3.13	Spectres de masse de complexe C06 en mode positive et négative	89
3.14	Spectres de masse de complexe C09 en mode positif et négatif	90
3.15	Spectres de L26c et C08 : (a) excitation, (b) émission	94

3.16	Spectres du L26c dans DMF et DMSO : (a) excitation, (b) émission	95
3.17	Spectres excitation /DMF du L30a , C09 , C10(a) , effet de substituant (b)	96
3.18	Spectres de ligand L30e' dans DMF (a) excitation (b) émission	98
3.19	Voltammogrammes cycliques,(a) L30a , (b) L30a and C09 (entre ± 1 V)	100
3.20	Voltammogrammes cycliques de L30a et C09 (entre $\pm 1,5$ V)	100
3.21	Comparaison d'activité antibactérienne des ligands libres et leurs complexes	102

<u>Tableaux</u>	Titre	Pages
3.1	Les ligands <i>N</i> -Aryl , <i>N'</i> -sulfamoyloxazolidinones 26 et leurs complexes	71
3.2	Les ligands <i>N</i> -methyl <i>N'</i> -sulfamoyloxazolidinones 30 et leurs complexes	72
3.3	Données spectroscopiques FT-IR du ligand L30e' et son complexe de cuivre C12	73
3.4	Espèces observées en solution pour C01 par spectrométrie (<i>ESI-MS</i>).	81
3.5	Espèces observées en solution pour le complexe C02 par spectrométrie (<i>ESI-MS</i>).	83
3.6	Espèces observées en solution pour le complexe C03 par spectrométrie (<i>ESI-MS</i>).	84
3.7	Espèces observées en solution pour le complexe C04 par spectrométrie (<i>ESI-MS</i>)	86
3.8	Espèces observées en solution pour le complexe C05 par spectrométrie (<i>ESI-MS</i>)	87
3.9	Espèces observées en solution pour le complexe C06 par spectrométrie (<i>ESI-MS</i>)	88
3.10	Espèces observées en solution pour le complexe C09 par spectrométrie (<i>ESI-MS</i>)	89
3.11	Espèces communes observées en solution pour les complexes C01-07 et 09	91
3.12	Données électrochimiques du complexe de C09	99
3.13	Essais biologiques d'activité Antibactérienne des complexes préparés	102
<u>Schémas</u>	Titre	Pages
3.1	Schéma générale proposé pour la fragmentation des complexes C01-07 et C09	92

4. APPLICATION ANALYTIQUE DE LA STRATEGIE INORGANIQUE

<u>Figures</u>	Titre	Pages
4.1	Effet de pH d'équilibre sur le processus d'extraction	108
4.2	Effet de substituant du noyau benzénique sur le processus d'extraction	109
<u>Schémas</u>	Titre	Pages
4.1	Déprotonation de <i>N</i> -Aryl, <i>N'</i> sulfamoyloxazolidinones (26) en milieu basique	108

CHAPITRE 3 : PARTIE EXPERIMENTALE

7. ANNEXE

<u>Figures</u>	Titre	Pages
7.1	Publication 1 (2007)	123
7.2	Publication 2 (2011)	124
7.3	Spectre FT-IR de composé 27d	125
7.4	Spectre FT-IR de composé 27a	126
7.5	Spectre FT-IR de composé 27b	127
7.6	Spectre RMN ^1H de composé 27a	128
7.7	Spectre RMN ^1H de composé 27c	129
7.8	Spectre RMN ^1H de composé 27d	130

TABLEAU DES ABREVIATIONS

BEI	Binding efficiency index
Clog P	Coefficient de partage calculé théoriquement
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CCM	Chromatographie sur couche mince
CCDC	Cambridge Crystallographic Data Centre
DMTA	Design-Make-Test-Analyze
DRX	Diffraction aux rayons X
DHPS	Dihydroptéroate synthétase
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
ESI-MS	Spectrométrie de masse à ionisation par électro-spray
<i>E. coli</i>	Escherichia coli
ECS	Electrode à calomel saturée
FBDD	Fragment Based Drug Discovery
HBD	H-bond donors
HBA	H-bond acceptors
ICS	Isocyanate de chlorosulfonyle
ICT	Internal charge transfert
LE	Ligand efficiency
MRSA	Méthicilline-résistant Staphylococcus aureus
<i>p. aeruginosa</i>	Pseudomonas aeruginosa
PPAR	Peroxisome proliferator activated receptors
R&D	Recherche et développement
SD	Standard drug
<i>S. aureus</i>	Staphylococcus aureus
TEA	Triéthylamine

Introduction Générale :

Voilà maintenant plus d'une décennie que la dernière classe d'antibiotiques (oxazolidinones) a été découverte. Due aux bactéries résistantes aux antibiotiques, des infections graves et dangereuses font une menace dans toutes les régions du monde. Face à ce fléau, la communauté scientifique internationale s'est mobilisée, où des dizaines de médicaments sont aujourd'hui disponibles pour traiter les personnes infectées. Utilisés le plus souvent en combinaison ; Ces médicaments visent principalement le blocage du développement de la cellule bactérienne. Si ces médicaments apportent aux malades un recul de l'échéance fatale, ils ne conduisent malheureusement pas à une victoire définitive des scientifiques contre ce genre de bactéries dite « résistantes ». Tôt ou tard, les bactéries développent une résistance ce qui rend le traitement inefficace. Il est alors indispensable de se tourner vers d'autres nouvelles classes de molécules actives contre ces souches bactériennes.

Durant ce travail, nous avons tenté d'apporter une contribution modeste à cette recherche par le développement d'une série originale de molécules douées d'une activité antibactérienne potentielle. Dans ce contexte, une tentative de conception d'une nouvelle biomolécule a été entreprise au sein de notre laboratoire de chimie appliquée (LCA), celle-ci nous a permis d'accéder aux *N*, aryl, *N*, sulfamoyloxazolidinones comme structures moléculaire clé. Cette molécule est caractérisée par une activité antibactérienne potentielle contre une souche Gram positif (*staphylococcus aureus*).

L'objectif de ce travail est donc l'élargissement du spectre d'action de ces molécules contre d'autres types de souches notamment « Gram négatifs » ; ainsi que l'amélioration de leurs activité biologique. Pour cette raison deux stratégies différentes, organique et inorganique ont été adoptées.

Dans un premier temps, le premier **Chapitre 1** nous permettra d'aborder le contexte général de ce travail en répondant à deux questions fondamentales : ***Pourquoi*** nous avons choisi l'étude de cette

classe de molécules de synthèse organique ? Et **Comment** arriver à développer leurs activités biologiques ?

Le point 1 décrira une vue générale sur les antibiotiques, leurs modes d'action ainsi que le problème de résistance qui constitue un défi thérapeutique à l'heure actuelle. Où à travers ces quelques paragraphes, nous comprendrons qu'il est toujours nécessaire de développer et de mettre au point de nouvelles structures chimiques d'activité antibactérienne développée.

Le point 2 sera consacré aux quelques notions fondamentales et aux différentes stratégies de recherche et de développement (R&D) des biomolécules d'intérêts thérapeutiques avant et après l'étape de synthèse organique. Ces notions constituent une plateforme théorique de ce travail.

Le point 3 et **4** décriront que ce type de molécules et / ou analogues sont étudiés dans le contexte de deux disciplines passionnantes, au succès de plus en plus affirmé, la chimie bio-organique médicinale et la chimie bio-inorganique.

A la fin nous montrerons que le point de départ de ce travail s'inscrit dans un projet de recherche au sein de Laboratoire de Chimie Appliquée (LCA) de l'université de Guelma, un projet qui a permis de trouver un intérêt biologique original de cette classe de molécule ainsi que leurs complexes organométalliques. Une description détaillée des résultats de recherche des deux stratégies adoptées dans ce travail fait l'objet du **Chapitre 2**.

La première stratégie organique repose sur des modifications structurales de la molécule de départ (de base), cette stratégie vise la synthèse et la caractérisation des différentes propriétés physicochimiques et structurales d'autres nouvelles séries de molécules analogues.

L'augmentation de la taille de l'hétérocycle est une nouvelle sous stratégie, du fait que la présence des hétérocycles à six chaînons dans une structure d'activité biologique prometteuse donne une activité meilleure que les hétérocycles à cinq chaînons.

La Méthylation du groupement amine secondaire, est une deuxième sous stratégie qui a été décrite dans un travail précédent mais on la reproduit ici pour avoir une approche claire et globale sur l'importance de cette classe de molécules. La caractérisation des molécules de synthèse est

assurée par les méthodes spectrales usuelles (RMN ^1H , ^{13}C , MS...). Par ailleurs, la **diffraction aux rayons X** (DRX) (technique expérimentale largement utilisée) est très utile pour une compréhension approfondie des structures 3D adoptées lors de leurs interactions avec la protéine cible. Cette technique nous a beaucoup aidés pour déterminer la structure des molécules de synthèse à l'état solide.

La structure générale des molécules clés (oxazolidinones) possède un groupement carbonyle (C=O) et un groupement amine (NH). Ces deux derniers, sont susceptibles de former des ponts hydrogènes nécessaires à l'interaction d'une biomolécule, ils peuvent également faire des interactions avec l'ion d'un métal de transition (Cu, Co, Ni, etc.).

Cette possibilité fait l'objet de la **deuxième stratégie inorganique**. Cette idée originale repose sur des travaux récents qui exploitent les spécificités des complexes organométalliques pour améliorer l'activité antibactérienne d'un antibiotique libre qu'on l'appelle dans ce cas « ligand ». Pratiquement, on ne peut pas étudier de la même manière une molécule organique classique et un complexe organométallique. A la caractérisation habituelle des molécules vient s'ajouter celle concernant les propriétés spécifiques des espèces métalliques, telles que leur aptitude à osciller entre différents étages d'oxydation, ou à former des complexes plus ou moins stables ou encore à échanger leurs ligands. Par exemple, les techniques de résonance magnétique nucléaire (RMN) peuvent être citées comme outils de choix dans la détermination structurale des molécules en solution. Cependant, la présence d'un centre métallique paramagnétique tel que le cuivre (II) rend, dans la plupart du temps, inexploitable les données issues de cette technique.

En solution, plusieurs techniques de caractérisation des complexes sont employées. Parmi ces méthodes de détermination structurale en solution, deux techniques ont été retenues dans ce travail: la spectrométrie de masse à ionisation par électro-spray (ESI-MS) qui donne accès à la masse du complexe intact formé en solution et la spectrofluorimétrie d'absorption et d'émission. Une tentative réussie d'exploitation de la voltamétrie cyclique est également utilisée.

Les résultats obtenus de cette stratégie inorganique, nous ont permis de proposer une application analytique originale dans le domaine d'extraction liquide-liquide des métaux qui est aussi un domaine très vaste qui dépasse le cadre de ce travail.

Il faut bien noter qu'il existe une **autre stratégie inorganique** exploitée précédemment avec succès au sein de notre laboratoire par une autre équipe, dans le cadre d'une pharmacomodulation de ces biomolécules. Cette approche donne accès aux complexes d'inclusion des différents ligands par la bêta-cyclodextrine (β -CD).

Chaque stratégie est suivie d'une évaluation d'activité biologique *in vitro* sur des souches bactériennes Gram positif (*S. aureus*), et Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*), afin d'établir une relation « structure-activité » qui pourra servir de base à la proposition d'autres nouvelles générations d'agents antibactériens de nature organique et organométallique.

Sachant que pour exercer ses effets pharmacologiques et thérapeutiques, une biomolécule doit atteindre son site d'action en concentrations suffisantes. Ce processus dépend essentiellement des interactions entre le médicament et les membranes biologiques, interprété par une lipophilie acceptable des molécules biologiques. A cet effet une étude comparative a été nécessaire pour investiguer l'effet de la lipophilie sur l'activité antibactérienne de ces molécules de synthèse.

A la fin du Chapitre 2, une **Conclusion générale** résume tous les résultats trouvés et les perspectives qui apparaissent dans le cadre de ce chapitre.

Le dernier **Chapitre 3** est réservé aux protocoles expérimentaux ainsi qu'une description générale du matériel et techniques expérimentales utilisées. Suivi par quelques spectres représentatifs d'RMN¹H et infrarouge comme Annexe. On note ici que les références bibliographiques sont citées à la fin de chaque chapitre et sous chapitre.

Ce travail a fait l'objet de deux publications internationales dans deux journaux de spécialité indexés dans Scopus;

- *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*.(2007)2, pp 131-139. “*Synthesis of Substituted N-aryl-N'-Sulfamoyloxazolidin-2-ones with Potential Antibacterial Activity*”.
- *HETEROCYCLES.*, (2011)Volume 83, Issue 5 , pp 1041-1056, (The Japan Institute of Heterocyclic Chemistry) “*Synthesis, crystal structure and antibacterial evaluation of N-substituted perhydro-1,3-oxazin-2-ones containing N-phenylsulfonamide*” et quelques communications nationaux et internationaux:

What is now proved was once only imagined.

WILLIAM BLAKE

1. Les antibiotiques et Problème de Résistance

1.7. Définitions des antibiotiques :

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes : (a) activité antibactérienne, (b) activité en milieu organique, (c) une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme. Les antibiotiques ont la propriété d'agir directement sur le développement des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'organisme vivant.

1.8. Historique :

Les maladies infectieuses sont une cause majeure de décès [1], en particulier dans les pays en développement [2,3]. Ces maladies tuent environ 15 millions de personnes chaque année, ce qui correspond à environ un tiers (1/3) du nombre de décès.

Parmi les grandes « réussites » de la médecine du XX^e siècle c'était la découverte des antibiotiques, parce que jusqu'à la fin du XX^e siècle, les maladies infectieuses ont été la première cause de mortalité de l'espèce humaine comme l'indique la **Figure 1**.

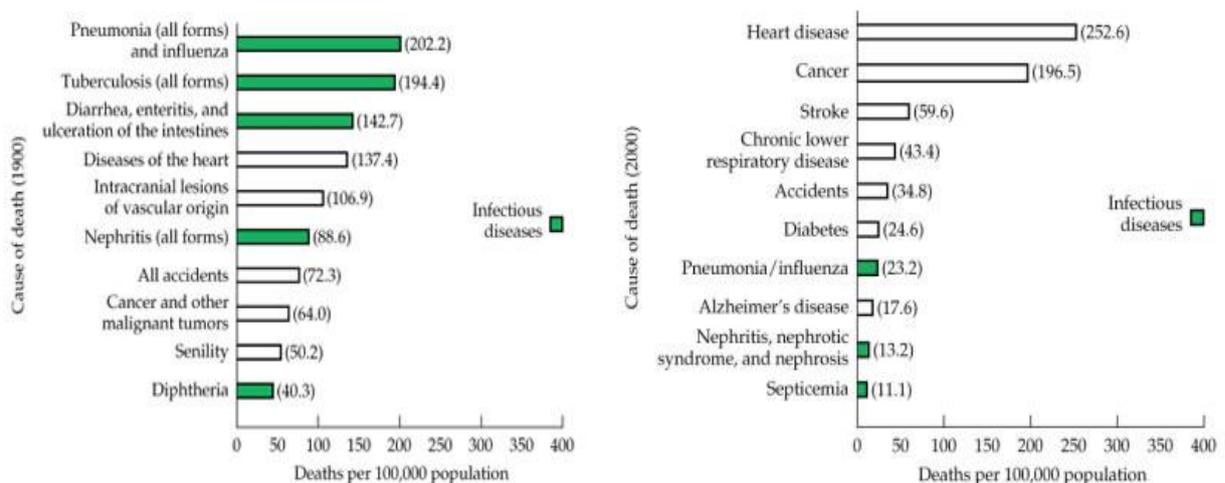


Figure 1.1. Mortalité causée par les maladies infectieuses (en 1900 et 2000)

Au cours des dernières décennies, l'effort de découvrir de nouveaux agents antibactériens a été ralenti (**Tableau 1.1**). Les oxazolidinones sont la seule classe d'agents antibactériens

synthétiques au cours des 30 dernières années qui possèdent des structures tout à fait nouvelles par rapport aux agents antibactériens existants [4-7]. Les sulfamides aussi étaient les premiers médicaments antimicrobiens qui ont préparé le terrain pour la révolution d'antibiotiques en médecine. Le « Prontosil » était le premier sulfonamide commercialisé. Les expériences avec le Prontosil ont commencé en 1932 dans les laboratoires de Bayer AG, découvert par une équipe sous la direction de Farben, synthétisée par le chimiste Josef Klarer de Bayer et examinée sous la direction du médecin Gerhard Domagk.

Tableau 1.1. Découvertes des classes d'antibiotiques entre 1930 et 2000

Année de la découverte	
	1930-1935 sulfamides
	1935-1940 b-Lactame
	1940-1945 tétracyclines
macrolides	1945-1950 chloramphénicol
glycopeptides	1950-1955 aminoglycosides
	1955-1960 Rifampicine
streptogramines	1960-1965
Quinolones	
	↑ ↓
	1995-2000* Oxazolidinones (zyvox®)

*On peut remarquer facilement qu'entre 1965-1995 : 34 ans sans une seule découverte de nouvelle classe !

La première communication officielle du sujet de la découverte de médicament n'a pas été éditée jusqu'à 1935, plus de deux ans après que le médicament a été breveté par Klarer et son associé de recherche Fritz Mietzsch. Au début de l'utilisation du « Prontosil » en médecine était la première découverte à l'époque qui pourrait efficacement traiter une gamme des infections bactériennes à l'intérieur du corps. Aujourd'hui le « Prontosil » n'est plus commercialisé à cause de ces effets secondaires hypoglycémiant; ce qui a été par la suite l'origine du développement des sulfamides antidiabétiques (sulfonylurées). Antidiabétiques oraux (diabète non insulino-dépendant ou diabète de type 2).

On outre, une observation attentive de ces effets secondaires dans les études pharmacologiques et cliniques a révélé de nouvelles activités imprévues; où une exploitation réussite de ces fils de recherche a ouvert de nouveaux domaines d'application des sulfamides tels que la chimiothérapie antidiabétiques oraux, inhibiteurs de l'anhydrase carbonique, des diurétiques et agents antithyroïdiens, etc.

1.9. Classification des antibiotiques :

La classification des antibiotiques peut se faire selon plusieurs critères citons ici :

a. Classification suivant l'origine : élaborée par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique)

b. Classification suivant le mode d'action : sur la membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques

c. Classification suivant le spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)

d. Classification suivant la nature chimique : La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines, etc.)

1.10. Mode d'action des antibiotiques

Dans le paragraphe suivant, nous adopterons une classification selon le mode d'action, **Figure**

1.2. Dans ce travail on s'intéresse plus particulièrement aux sulfamides et aux oxazolidinones qui forment respectivement **la première** et **la dernière** classe d'antibiotiques synthétiques avec un mode d'action totalement différents.

Nous citons brièvement ci-après un mode d'action général de quelques classes d'antibiotiques

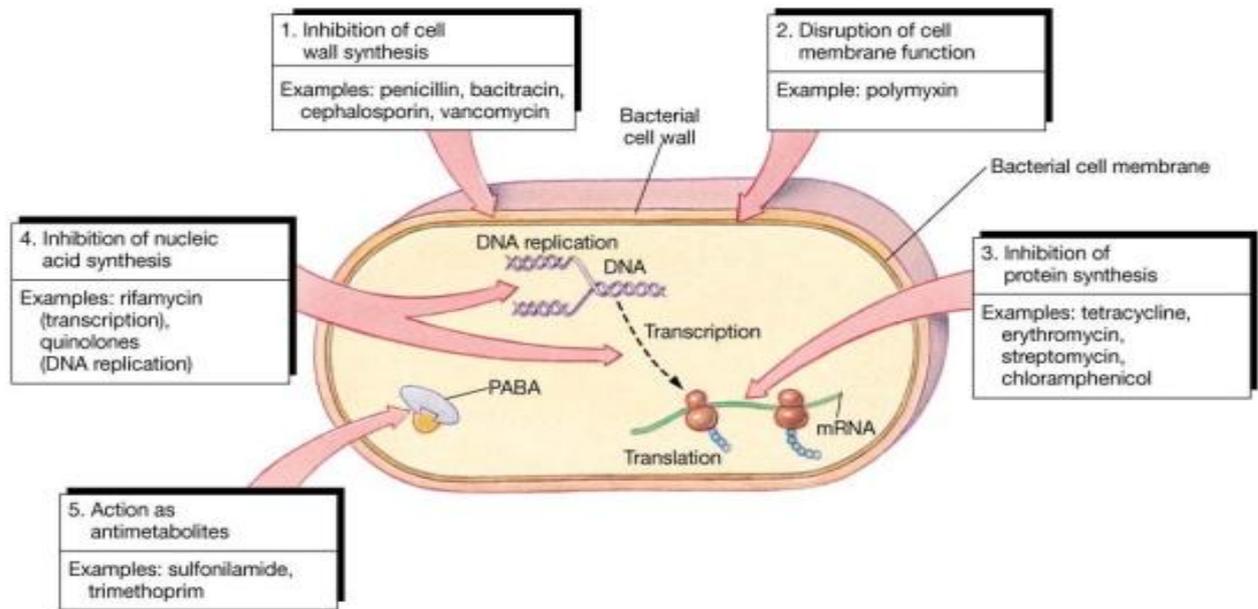


Figure 1.2. Classification générale des antibiotiques selon leurs modes d'action

1.10.1. Les Sulfamides antibactériens:

Cette classe d'antibiotique agit généralement sur les bactéries Gram négatif à travers l'inhibition de la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydroptéroate synthétase (DHPS) avec une forte sélectivité pour l'enzyme bactérien vis-à-vis de l'enzyme des mammifères (**Figure 1.3**) [8]. En raison de leurs faibles coûts, certains sulfamides sont encore utilisés dans de nombreuses régions du monde. Cependant, la résistance de nombreux micro-organismes, aux sulfamides les rend moins efficaces, ce problème sera expliqué plus loin dans ce chapitre.

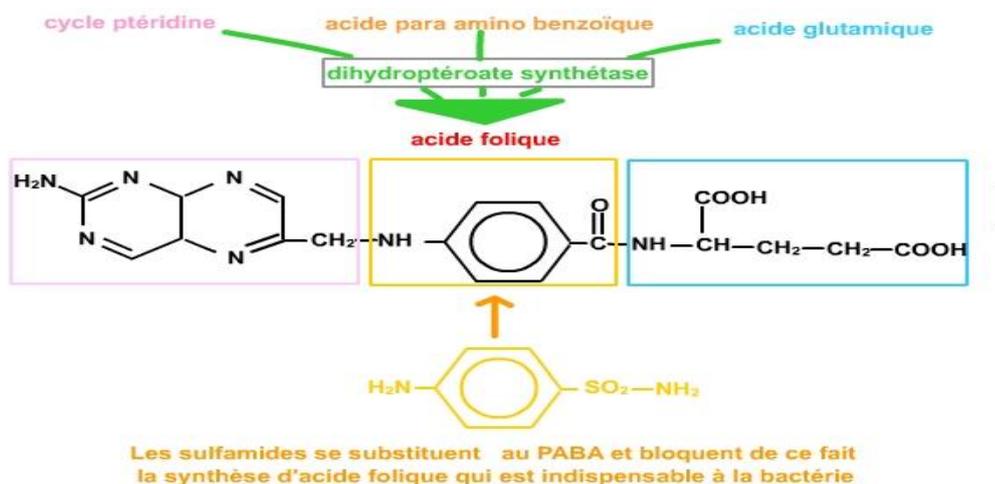


Figure 1.3. Mode d'action générale des sulfamides

Comme une tentative de mettre en synergie l'action des sulfamides et d'éviter le développement de la résistance, l'approche la plus logique était de les combiner avec d'autres agents antibactériens qui bloquent la même voie métabolique que celle bloquée par les sulfamides, mais à une étape différente. L'association du triméthopime (un inhibiteur de la dihydrofolate réductase) et le sulfaméthoxazole dans les années 70 a ajouté une nouvelle dimension au traitement des infections par ces agents

Nous citons dans ce qui suit quelques sulfamides antibactériens déjà commercialisés : sulfacétamide (Antébor®) utilisé comme antiacnéique, la sulfadiazine (Adiazine®) antibactérien et antiparasitaire ; sulfadiazine argentine (Flammazine ®, Sicazine®) ; sulfaguanidine (Entéropathyl ®), antibactérien intestinal ; sulfaméthizole (Rufol®) antibactérien urinaire; sulfadoxine (Fanasil®) ; sulfafurazole commercialisé en association (Pédiazole ®) ; sulfaméthoxazole commercialisé en association avec un autre inhibiteur de la dihydrofolate-réductase bactérienne, la triméthopime (Bactrim®, Eusaprim®) ; sulfadoxine commercialisée en association avec un antipaludéen, la pyriméthamine, inhibiteur sélectif de la dihydrofolate réductase des protozoaires (Fandizar®).

1.10.2. Les Oxazolidinones :

Les oxazolidinones sont les plus importants des dernières générations des antibiotiques utilisés contre les microbes pathogènes Gram positifs, surtout les *Staphylococcus aureus* *Méthicilline-résistant* (MRSA). Cette classe de biomolécule est développée pendant les années 90 où plusieurs souches bactériennes devenaient résistantes aux antibiotiques tels que le vancomycine. Les oxazolidinones sont considérés comme le choix de dernier recours où chaque autre thérapie antibiotique a échoué. Le premier oxazolidinone (antibiotique) disponible sur le marché était le Linezolid (Zyvox®) (**Figure 1.4**), qui est l'agent antibactérien disponible le plus utilisé actuellement. En 2002 la compagnie pharmaceutique Astra Zeneca a présenté l'antibiotique AZD2563. Les résultats des recherches indiquent que l'AZD2563 a une excellente activité antibactérienne, ciblée contre presque toutes les bactéries Gram positif [9].

Concernant le mode d'action de cette classe d'antibiotiques, il est connu que les oxazolidinones lient à la sous-unité 50S le ribosome bactérien et inhibent la synthèse protéique à un stade très précoce en empêchant la traduction des ARNm, . (Figure 1.4) [10]. Le mécanisme d'action n'est pas encore complètement élucidé.

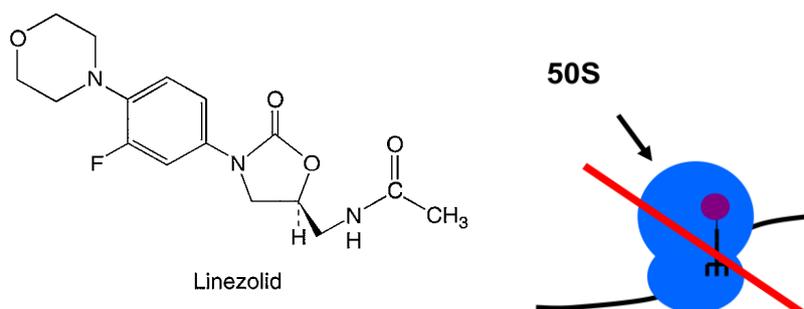


Figure 1.4. Structure générale et mode d'action des oxazolidinones

1.11. Le problème de résistance aux antibiotiques :

La « résistance à un antibiotique » est définie comme un caractère phénotypique caractérisant la capacité d'une bactérie à survivre (et à se multiplier), en présence de cet antibiotique, à une concentration qui est habituellement bactéricide ou bactériostatique [11]. La résistance d'une bactérie à un antibiotique entraîne la perte d'efficacité de ce médicament lors du traitement d'une infection causée par cette bactérie. Cette résistance bactérienne aux antibiotiques constitue donc, une menace multiple non seulement pour la médecine moderne, parce qu'elle progresse plus rapidement que le développement de nouveaux antibiotiques, mais aussi pour la santé publique ; parce que l'exposition aux antibiotiques d'une population humaine ou animale peut avoir des conséquences sur une autre population non encore exposée. Ce qui rend ce problème une préoccupation majeure dans les communautés scientifiques, économiques et industrielles. Cette préoccupation est liée au fait que les infections bactériennes sont d'autant plus difficiles et coûteuses à traiter qu'elles sont dues à des bactéries plus résistantes aux antibiotiques. Le développement rapide de cette résistance chez les bactéries est la conséquence de l'utilisation massive des antibiotiques chez l'homme, chez l'animal et en agriculture [12,13], cette vitesse peut faire redouter une augmentation de la fréquence des échecs thérapeutiques. Ce phénomène

concerne aujourd'hui presque toutes les classes d'antibiotiques disponibles pour le traitement des infections humaines ou animales. La recherche de nouvelles classes d'antibiotiques est devenue une obligation majeure.

1.12. Interactions moléculaire des biomolécules :

Avant d'entamer la suite de ce chapitre, qui sera consacrée essentiellement aux outils de base pour chercher ou améliorer l'activité biologique d'une biomolécule, il est nécessaire de connaître les quatre principaux types d'interactions avec les cibles biologiques des petites molécules organiques; qui peuvent être les clés d'une compréhension plus approfondie de leurs modes d'action [14].

1.12.1. Les liaisons hydrogènes :

Une liaison hydrogène est une interaction faible, où un atome d'hydrogène peut être considérée comme étant partagée entre deux atomes qui sont fréquemment des hétéroatomes [15]. L'interaction est formée entre deux partenaires, connus comme un donneur de liaison hydrogène (HBD : Hydrogen Bond Donor) et un accepteur de liaison hydrogène (HBA: Hydrogène Bond Acceptor). Un donneur de liaison hydrogène est défini comme un hétéroatome lié au moins avec un hydrogène, tandis qu'un accepteur de liaison hydrogène est défini comme un hétéroatome qui porte une charge négative partielle. Cette interaction est due à une polarisation de la liaison reliant l'hétéroatome du donneur de liaison hydrogène et l'hydrogène fixé. Cela crée une petite charge positive partielle sur ce dernier, qui peut interagir avec des hétéroatomes portant une charge partielle négative. Ces interactions sont généralement beaucoup plus faibles qu'une liaison covalente entre les atomes. Bien que les définitions ci-dessus sont largement utilisables, il existe certaines interactions où le donneur de liaison hydrogène se compose d'une liaison carbone-hydrogène, cette dernière peut être fortement polarisée suivant son environnement chimique.

1.12.2. Les liaisons ioniques

Contrairement à des liaisons hydrogènes faibles, les liaisons ioniques sont formées par l'interaction entre deux atomes ou groupes d'atomes portant des charges électriques opposées. Ces interactions, parfois nommées «ponts de sel» aident à déterminer de nombreux effets biologiques, y compris la forme et la fonction des protéines.

Dans les protéines, les chaînes latérales d'acides aminés sont entièrement ou partiellement ionisées au pH physiologique et peuvent donc transporter soit une charge positive ou négative. L'acide aspartique et les résidus d'acide glutamique portent une charge négative et peuvent ainsi interagir avec les chaînes latérales chargées positivement de l'arginine, de la lysine ou de l'histidine. Comme la majorité des cibles des biomolécules sont des protéines, ces résidus chargés pourraient également former des interactions avec des groupes fonctionnels chargés de molécules organiques. Prenons l'exemple des centres de caractère acide, fournis principalement par des acides carboxyliques et des acides phosphoriques, peuvent perdre un hydrogène (être déprotoné) à pH physiologique, et donc donner une charge négative, En outre, les phénols et certains hétérocycles peuvent aussi fournir un centre de même charge. De nombreux groupes fonctionnels fournissent également des centres de caractère basique, peuvent acquérir un atome d'hydrogène (être protonée) à pH physiologique. Les Amines et guanidines sont particulièrement fréquents dans ce rôle. Toutefois, la présence des groupes fonctionnels chargés dans une molécule n'est pas une panacée pour l'amélioration des interactions avec des cibles biologiques, leur présence dans les médicaments candidats peut introduire d'autres effets indésirables, tels qu'une faible pénétration cellulaire et/ou des problèmes métaboliques.

1.12.3. Empilement des liaisons π (π -Stacking) :

Cette forme de faibles liaisons entre des composés organiques contenant des systèmes aromatiques qui peuvent se rallier de façon parallèle [16]. Même pour les molécules apolaires ou neutres, la distribution des électrons dans un groupe fonctionnel n'est pas parfaitement symétrique, ce qui résulte une légère distribution transitoire de charges partielles. Ces charges

partielles peuvent influencer les groupes fonctionnels voisins, et provoquent la création d'une force attractive entre eux. Cette interaction est importante dans les interactions biologiques malgré que chaque interaction individuelle soit faible en elle-même. L'empilement de plusieurs hétérocycles dans l'ADN crée un effet stabilisateur énorme au sein de la structure. Ces interactions favorables peuvent être également établies entre les chaînes latérales d'acides aminés aromatiques, tels que la tyrosine, la phénylalanine, le tryptophane et les systèmes aromatiques et hétéro-aromatiques présents dans les biomolécules.

1.12.4. L'effet d'hydrophobie :

Bien que la plupart des interactions décrites ci-dessus concernent les interactions des liaisons polarisées dans les biomolécules, ces régions "polaires" ne sont qu'une petite partie de l'ensemble de la molécule qui contient en outre un certain nombre de régions "polaires" ou non-polaires ". L'interaction de ces régions avec des solvants polaires comme l'eau et les composés très apolaires peuvent donner des propriétés indésirables tels que la mauvaise solubilité. Cet effet est connu sous le nom 'hydrophobie. En outre, si les sites cibles d'action pour beaucoup de biomolécules sont tapissés avec de nombreux groupes fonctionnels polaires qui permettent la formation de liaisons d'hydrogènes et ioniques, ces sites contiennent également des chaînes latérales apolaires d'acides aminés, qui a également interagi défavorablement avec les molécules d'eau qui l'entourent. L'adhérence d'une biomolécule hydrophobe à un tel site peut déplacer les molécules d'eau résiduelles et réduire considérablement ces interactions indésirables. Cet effet bénéfique peut faire une bonne contribution à l'affinité des biomolécules [17].

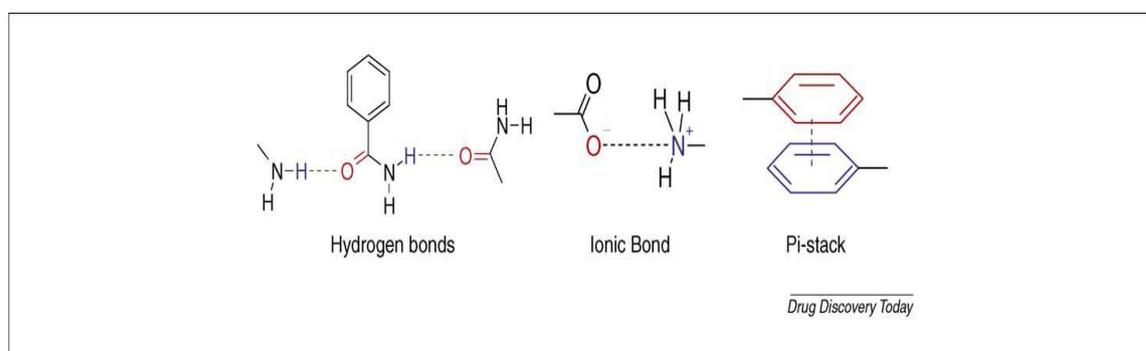


Figure1.5 : Représentation schématique des interactions moléculaires les plus importantes

La **figure 1.5** résume les interactions moléculaires les plus importantes. Les atomes en rouge montrent des régions qui contiennent une charge négative (complète ou partielle) et les atomes en bleu montrent une charge positive (complète ou partielle).

2. La Recherche et Développement (R&D) de nouvelles biomolécules (antibiotiques)

2.1. Rendre la chimie médicinale plus efficace :

2.1.1. Introduction :

Malgré l'augmentation des investissements dans la recherche et développement (R & D), le nombre de nouveaux médicaments arrivant sur le marché a diminué au cours de ces dernières années [18] (**Figure 1.6**). (Mais Il y a des signes positifs maintenant d'accroître ce volume a cause de nombreux programmes d'amélioration majeure sur le plan scientifique, technique, économique et commerciale. En effet, la concurrence commerciale nécessite l'amélioration simultanée de la vitesse de commercialisation et la qualité du produit, tout en réduisant le coût de production. Ce qui a créé par conséquence des défis énormes pour l'industrie pharmaceutique en particulier le domaine des petites molécules.

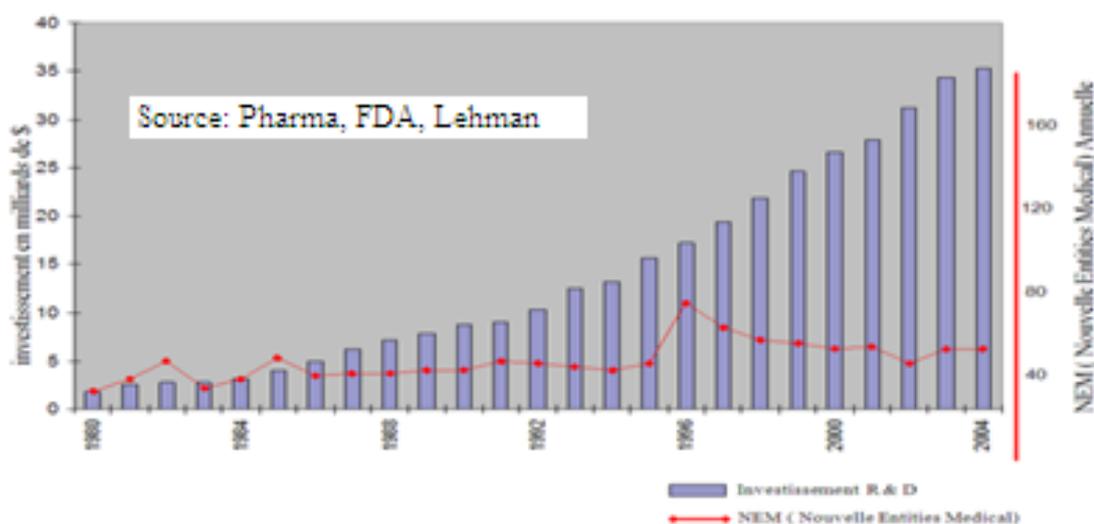


Figure 1.6 : Investissement annuel de Recherche et de Développement (1980-2004)

Cette amélioration passe obligatoirement par le développement de la recherche des nouvelles biomolécules, parmi les principaux bases de ce domaine on trouve le processus d'optimisation de composés promoteurs; un processus qui a été examiné récemment à haut niveau par

S. SHALINI et al [19] de la compagnie suisse « **Astra Zeneca** » où ils ont montré que la phase d'optimisation d'un composé d'activité prometteuse est formée de deux sous-phases distinctes, la première étant un processus itératif d'amélioration de composés prometteur à travers le cycle (conception-synthèse- test- analyse) (DMTA) (**Figure 1.7**). Puis, une fois un composé de qualité a été identifié et progressé avec succès par des tests préliminaires *in-vitro* et *in-vivo*, une évaluation plus complète des risques d'échec aura lieu. Il a été constaté que la phase DMTA a été la plus longue des deux sous-phases d'optimisation de composé prometteur (Lead Optimisation), et donc a offert une grande opportunité pour l'amélioration. Ce qui fait que ce cycle DMTA est devenu le centre de leurs attentions en raison de son caractère itératif. En conséquence, ils commencent à se baser sur la façon de contribution de la chimie médicinale pour rendre le cycle DMTA plus efficace en termes de rapidité et de qualité

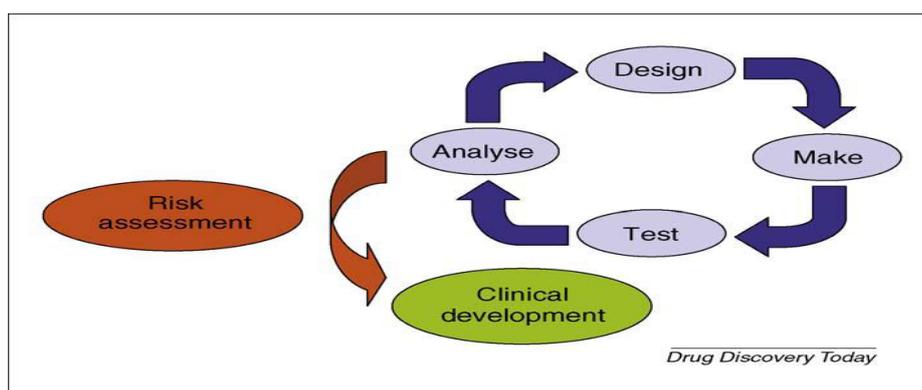


Figure 1.7: Cycle DMTA « Design-Make-Test-Analyse »

2.1.2. Le cycle DMTA « Design-Make-Test-Analyse »

a. La conception de nouvelles molécules (Design):

Lors de l'analyse du cycle de DMTA, il est utile de considérer qu'à l'étape de conception, de nombreuses idées peuvent être créées à une vitesse relativement élevée et un faible coût, mais la capacité de la chimie de synthèse pour convertir toutes ces idées en composés testables est limitée. En outre, presque toutes les propriétés des composés telles que l'affinité, la solubilité, la perméabilité, etc. sont directement liées à leurs structures chimiques, par conséquent, ces propriétés doivent être prises en considération lors de la conception. Donc, il est logique que l'amélioration de la qualité de conception conduit à une bonne sélection des meilleures idées

.c'est pour cette raison qu'actuellement plusieurs disciplines notamment « la synthèse organique » contribuent au processus de conception. D'autre part des lignes directrices sont établies pour certains paramètres qui peuvent être calculés ou prévus avec une fiabilité raisonnable avant le début de la synthèse, tels que le caractère lipophile, poids moléculaire, et d'autres paramètres structuraux.

b. Synthèse des molécules (Make):

Ces dernières années, Il y a eu de nombreuses initiatives d'amélioration de l'efficacité de la synthèse chimique et de sa contribution aux projets de découverte de médicaments. Ces initiatives comportes des efforts d'augmentations de la productivité scientifique individuelle, la formation pour renfoncer les connaissances en chimie synthétique et médicinale, ainsi que la réduction de la complexité et la longueur de chemin de synthèse. Rétrospectivement, il est quelque peu surprenant que le temps passé sur la synthèse a rarement été considéré comme une dimension d'amélioration, peut-être à une exception notable [20]. Il semble y avoir une acceptation implicite que la recherche est imprévisible, et le temps nécessaire pour compléter une nouvelle chimie est aussi imprévisible et difficile à changer. À notre connaissance, donner le temps à l'étape de synthèse est une idée originale de la compagnie suisse « **Astra Zeneca** ».afin d'essayer de faire le tour du cycle DMTA plus rapidement. Parce que la décision sur la façon d'aborder la synthèse d'une nouvelle molécule est l'un des plus importants éléments de cette étape «Make», ainsi qu'une bonne décision garantit un succès rapide, alors qu'une mauvaise décision semble inutile, et le travail sera échoué.

c. Test des molécules (Test) :

La biologie est le domaine d'application des essais pour prouver et pour améliorer l'efficacité des nouvelles molécules. Au cours de la dernière décennie, la vitesse et la capacité des tests biologiques ont augmentés, Cela est dû à l'intégration et à la fusion des laboratoires de biologie avec d'autres branches de la chimie et de la pharmacologie, ainsi que le développement technologique rapide. Ces augmentations de capacité ont également permis à un plus large

spectre de tests d'être réalisé d'une manière parallèle. Lorsque les composés prometteurs sont examinés d'une manière parallèle, cela permet une optimisation plus efficace que si le dépistage est fait séquentiellement [21,22].

d. Analyse des données (Analyse) :

ces dernières années beaucoup d'entreprises ont amélioré considérablement leurs capacités de calculs chimiques pour être en mesure de mieux traiter le volume considérable de données qui devenait disponible. Cette augmentation de l'aide des spécialistes informaticiens-chimistes a amélioré la capacité d'analyse des données d'une manière nouvelle et plus perspicace [23]. Un autre impact supplémentaire relativement simple et important a été observé, c'est que ces applications d'analyse de données, sont devenues disponibles pour les non-spécialistes en informatique. Ces outils ont permis à l'ensemble de la communauté des chimistes d'explorer des données plus complexes d'une manière visuelle simple, et résultant une meilleure interprétation. La combinaison de l'augmentation de la capacité des tests avec l'amélioration d'analyse des données a permis aux équipes de recherche une excellente plate-forme de données et d'informations, qui devrait aboutir à une meilleure efficacité de cycle DMTA.

2.2. De la conception vers la synthèse :

La « Fragmentologie » en chimie médicinale moderne

2.2.1. Introduction :

Comme nous l'avons signalé dans le paragraphe précédent (2.1.2.a) que l'amélioration de la qualité de conception « Design » conduit à une bonne sélection et développement des meilleures idées des chimistes, dans ce sens on trouve que Jencksen 1981, a introduit l'idée que les grosses molécules peuvent être considérées comme la combinaison de deux ou plusieurs «fragments» qui contiennent toutes les propriétés nécessaires pour se lier aux cibles protéiniques [24]. Le développement rapide de cette idée a préparé le terrain pour une nouvelle méthode qui a fait une révolution dans la conception des biomolécules d'application thérapeutique dite la « FBDD ». La découverte de médicaments basée sur les fragments dits

(Fragment-based drug discovery (FBDD) [25,26]. Cette conception représente une approche logique et efficace pour la découverte et l'optimisation; dans les dix dernières années, peu de scientifiques avaient entendu parler de cette méthode, et encore moins d'entre eux qui ont considéré que les fragments à faible poids moléculaire (MW <300) et avec une faible affinité de liaison sont des points de départ très importants dans les programmes de découverte de nouveaux médicaments. Cependant, Aujourd'hui, il est largement admis que ces fragments peuvent être développés à des séries de molécules prometteuses et devenir des candidats cliniques. Par conséquent, au cours des trois à quatre dernières années, la FBDD est largement établie dans les domaines de la biotechnologie, l'industrie pharmaceutique et académique, où ils l'utilisent comme une stratégie indispensable. Deux études approfondies et intéressantes ont été publiées par Gerdien E. de Kloe et al [27] et Gianni Chessari et al [28] sur la «fragmentologie» qui est devenue un élément central de la chimie médicinale moderne, Dans cette partie, nous choisissons un ensemble représentatif de 3 exemples publiés de FBDD, qui décrit comment des fragments de faible poids moléculaire contenant un phényle sulfamide et / ou oxazolidinone sont identifiés et efficacement transformés en médicaments candidats de poids moléculaire plus élevé. Notons bien ici que le phényle sulfamide et l'hétérocycle oxazolidinone constituent les deux fragments de base des N, aryl, N, sulfamoyloxazolidinones molécule clé de ce travail.

2.2.2. Principes et définitions Clés :

a. Qu'est-ce qu'un fragment ?

Un fragment est défini comme une entité chimique d'un petit poids moléculaire (MW <300), modérément lipophile (Lipophilicity measure Clog P <3), de solubilité organique élevée, qui généralement se lie à des cibles protéiniques avec une faible affinité –interactions–(avec des faibles concentrations de l'ordre de μM au mM) [29]. Afin de détecter, ces faibles interactions des techniques biophysiques sensibles telles que la RMN [30] ou la cristallographie RX [31] sont exploités au cours d'investigation. En plus du poids moléculaire et de la lipophilie un fragment doit avoir un moyen de liaisons donneurs et accepteurs d'hydrogènes inférieur à 3 (H-bond

donors (HBD) < 3, H-bond acceptors (HBA) < 3 et une surface polaire inférieure à 60 Å² (Polar Surface Area (PSA) < 60)

b. Affinité et Interactions d'un fragment :

Pendant plus de deux décennies, beaucoup d'efforts de recherche scientifique ont été effectués autour des principes fondamentaux de la reconnaissance moléculaire, ont joué un rôle clé dans le développement de la découverte de médicaments basée sur les fragments (FBDD). L'optimisation des interactions ou affinité d'un fragment d'une molécule d'activité biologique potentiel, peut être obtenue en ajoutant des atomes ou un groupe d'atomes supplémentaires sur le fragment de base. La variation de l'affinité obtenue par cet ajout peut être estimée à l'aide d'un modèle théorique développé en 1984 par Andrews et al [32].

c. FBDD et l'efficacité d'un ligand (LE) :

Kuntz et al[33] ont montré qu'un poids moléculaire élevé n'est pas une nécessité pour avoir une affinité d'interaction élevée. Une approche utile consiste à mesurer l'affinité d'interaction par atome pour guider l'efficacité du ligand (LE). En FBDD, le ligand (LE) est utilisé pour sélectionner le fragment le plus prometteur, et également pour suivre la croissance de ce dernier ainsi que l'optimisation de la structure finale de la biomolécule [34]. Plusieurs formules ont été proposées afin de déterminer l'efficacité (LE) [35]. Dans le paragraphe suivant, nous avons défini l'indice d'efficacité d'Interactions (binding efficiency index (BEI)) proposé par Abad-Zapatero [36], comme suit : $BEI = (pIC_{50}/MW) \times 1000$.

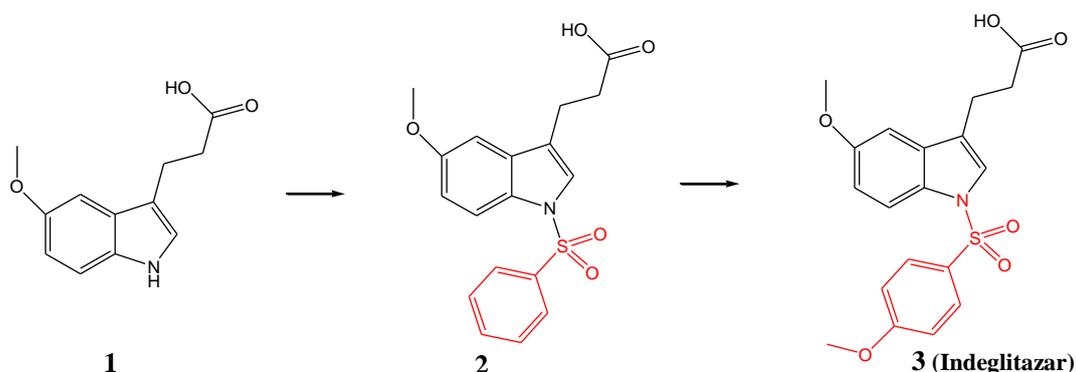
2.2.3. Présence des groupes sulfamides et/ou oxazolidinone en « Fragmentologie »

La fin des années 1990 ont vu l'émergence d'un certain nombre de sociétés de la biotechnologie, y compris Plexxikon, Astex, Evotec....etc. Ces sociétés, avec l'industrie pharmaceutique en particulier avec les laboratoires Abbott, ont montré clairement que FBDD est un moyen indispensable dans la démarche de progression des biomolécules vers le développement clinique. Dans le paragraphe suivant, nous citons trois exemples en relation avec notre travail où un fragment choisi a été transformé à un candidat clinique à l'aide de l'optimisation et l'efficacité

des molécules finales. Ce fragment a été modifié d'une manière significative, par la présence ou l'addition d'un motif sulfamide et/ou oxazolidinone. Ces derniers étant pour nous des motifs clés.

a. Le PPAR (Indeglitazar) de « Plexxikon » :

Une large série de molécules de faible poids moléculaire (150-350 D) a été examinée par des scientifiques de Plexxikon pour identifier des sites des trois types de récepteurs activés par prolifération peroxyosome (perox-isome proliferator activated receptors (PPAR), PPAR α , PPAR γ et PPAR δ) [37]. La Modulation des activités de PPAR devrait être utile dans le traitement du diabète de type 2. La structure cristalline des rayons X de **1** (Figure 1.8) co-complexé avec PPAR γ ont montré que le fragment indole avait un mode d'interaction unique par rapport à d'autres ligands de PPAR connus. La position-N1 de l'indole a été ensuite utilisée comme un point de croissance du fragment. L'addition d'un motif phényle sulfonamide conduit avec succès à l'élaboration de la molécule **2** à activité améliorée. D'autres chaînes latérales du côté du sulfonamide ont été évaluées théoriquement dont 20 analogues sulfonamides ont été sélectionnés pour la synthèse et les essais biochimiques et cellulaires. A partir de ce petit nombre de composés, une meilleure activité a été observée pour l'Indeglitazar **3**. Ce dernier, a progressé à des essais de la phase II pour le diabète de type 2. Récemment, le développement d'Indeglitazar a été suspendu en raison de préoccupations croissantes sur ces effets secondaires potentiels.



	PPAR α	PPAR γ	PPAR δ	PPAR α	PPAR γ	PPAR δ	PPAR α	PPAR γ	PPAR δ		
EC ₅₀ (μ M)	~100	~150	>200	EC ₅₀	1,3	1,3	10	EC ₅₀	0,51	0,37	2,7
LE	- 0,34	- 0,33	<0,32	LE	0,32	0,32	0,27	LE	0,32	0,32	0,28

Figure1.8. Importance du motif méthoxyphenyl sulfamide au développement de l'indeglitazar.

b. Inhibiteurs de Hsp90 des Laboratoires « Abbott » :

Les scientifiques dans les Laboratoires Abbott sont des spécialistes dans le domaine de la FBDD. Plus d'une décennie auparavant ces laboratoires ont étudié des inhibiteurs des Hsp90. L'optimisation et le développement des fragments ont été réalisés à l'aide de la technique RMN. Où les changements des déplacements chimiques des résidus sélectionnés des protéines ont été détectés par **RMN 2D HSQC** (Heteronuclear Single Quantum Coherence) **¹H/¹³C** [38]. Dans une approche d'investigation d'un site d'action, il a été démontré que le fragment **4** (**Figure 1.9**) est lié d'une manière Co-opératoire avec le fragment **5**. Les informations structurales sur les interactions de ces deux fragments ont été obtenues à partir des rayons X et des expériences NOE ce qui est intéressant ici c'est que, la structure par rayons X a montré un empilement des liaisons π (π -stacking) face-à-face entre le noyau aminopyrimidine de **5** et le groupement phényle de **4**.

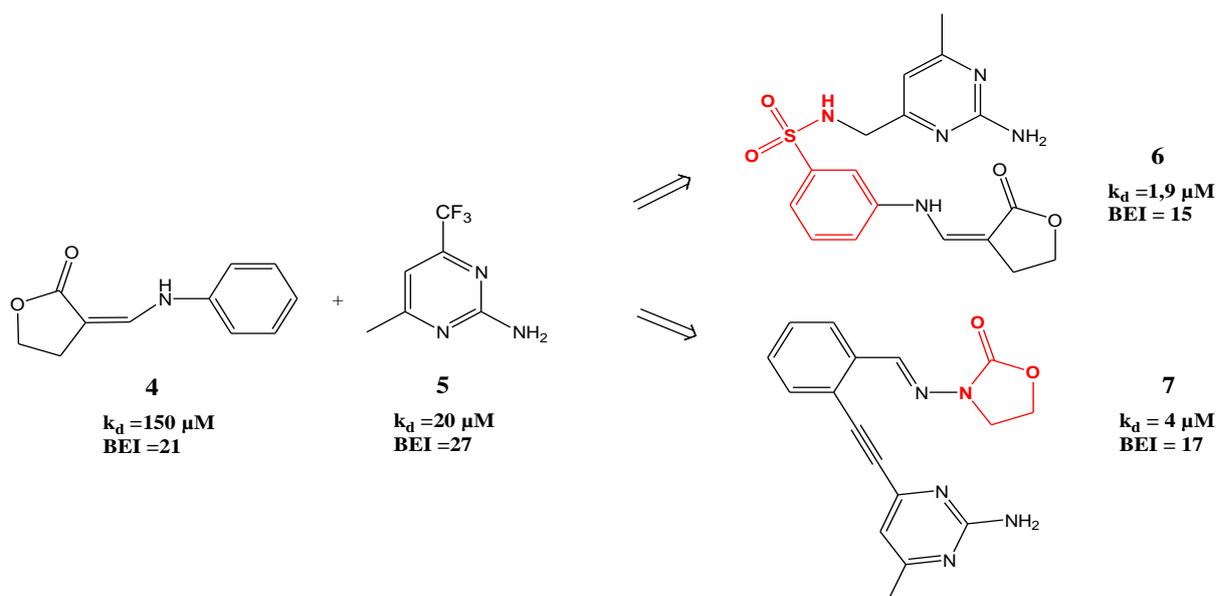


Figure 1.9. Importance du motif oxazolidinone au développement l'Inhibiteurs de Hsp90

Tandis que les données de RMN ont indiqué que **4** occupe un nouveau site d'interaction plus éloigné. Différents ponts ont été conçus sur la base de ces deux modes de fixation. Inspiré de la structure par rayons X, le composé **6** a été conçu pour apporter une interaction π - π internes, alors que le composé **7** a été conçu pour occuper les deux sites distincts d'interaction comme il a été guidée par les données de la RMN. Les deux stratégies donnent une activité améliorée, bien

qu'il y ait une baisse significative de l'efficacité du ligand [39]. Dans cet exemple la contribution de l'hétérocycle oxazolidinone ainsi que le motif arylsulfamide sont très claires.

c. Inhibiteur de Thymidylate Synthase:

Pour découvrir des ligands à faible poids moléculaire (environ 250 Da) qui se lient faiblement à des sites ciblés sur les protéines grâce à une liaison disulfure intermédiaire. Une conception avancée, choisie la Structure 8 comme un inhibiteur puissant de la thymidylate synthase, une enzyme essentielle dans le métabolisme de pyrimidine avec des applications thérapeutiques contre le cancer et les maladies infectieuses [40]. Une simple comparaison entre la structure 8 et la structure générale 9 (structure de base pour ce travail) (Figure 1.10) montre que la coexistence du motif sulfamide et oxazolidinone dans la même structure ouvre une large perspective de conception des molécules à activité biologique potentielle et des applications thérapeutiques divers.

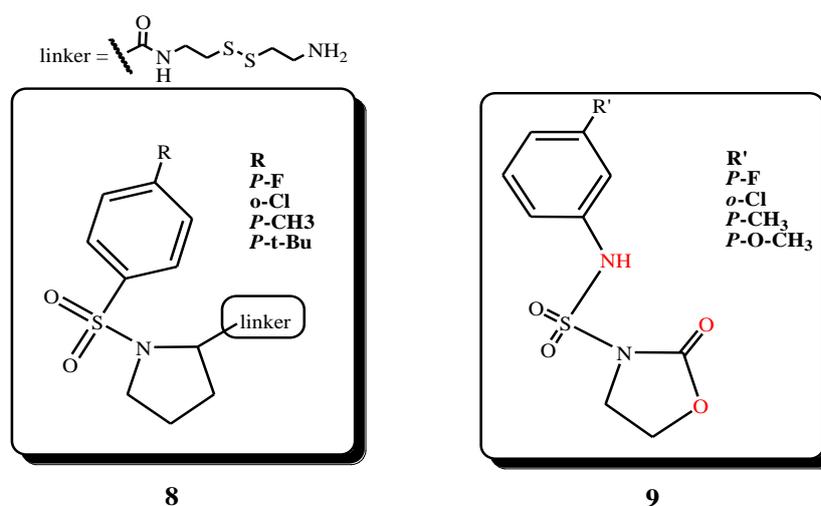


Figure 1.10. La coexistence des motifs sulfamide et oxazolidinone au sien de la même biomolécule.

2.3. De la synthèse vers la conception:

Le nombre de cycle aromatique : une nouvelle clé simple et utile pour la conception

2.3.1. Introduction :

Comme il a été mentionné dans le paragraphe 2.1.2.a, une littérature abondante dans la conception de processus décrivant les caractéristiques d'espaces occupés par les petites biomolécules médicaments disponibles par voie orale [41,42]. Cette littérature se concentre

habituellement sur les propriétés physico-chimiques des médicaments, tels que le caractère lipophile, les liaisons hydrogènes (nombre de donneurs et accepteurs des liaisons hydrogènes), la surface polaire et le poids moléculaire ont conduit à des indications utiles. Par ailleurs un paramètre original très simple, utile et très pratique influant considérablement sur l'optimisation et l'aptitude au développement d'un composé prometteur, à été décrit suite à une étude approfondie de J. Timothy et *al* [43] du centre de recherche de médecine Glaxo Smith Kline (GSK Research Médecines Centre). Ce paramètre est le nombre de cycles aromatiques contenus dans la molécule. La terminologie "nombre de cycles aromatiques (aromatic ring count) est utilisé de façon générique et englobe à la fois les cycles aromatiques benzénique et hétéro-aromatiques (y compris la pyridine et l'imidazole) où chaque noyau dans un système est compté individuellement, l'indole et le naphthalène par exemple sont définis chacun comme ayant deux cycles aromatiques. Cette équipe de recherche se base sur des arguments forts. Permis ces arguments on peut citer **(i)** l'ajout ou la suppression d'un système cyclique aromatique (soit au moins cinq ou six atomes) devrait conduire à un changement plus perceptible que l'ajout ou la suppression d'un petit groupe fonctionnel dans une molécule analogue; **(ii)** la facilité avec laquelle ce paramètre peut être calculé et perçu. En comparaison avec d'autres propriétés, telles que le caractère lipophile ou poids moléculaire (souvent des considérations essentielles dans la conception de la chimie médicinale), qui nécessitent un certain temps de calcul théorique ou mental. En revanche, le nombre de cycles aromatiques dans une molécule peut être déterminé presque instantanément avec un coup d'œil sur la structure. Ce qui pourrait agir comme un moyen technique très simple pour le chimiste organicien au cours de la synthèse ou de processus de conception des molécules. Il pourrait donc agir comme un rappel constant des conséquences d'introduction d'autres cycles aromatiques dans les molécules médicamenteuses potentielles, à savoir leur impact sur le développement de ces dernières.

2.3.2. Impact du nombre de cycles aromatiques sur le développement d'une biomolécule :

Pour confirmer et quantifier cette perception, des données concrètes ont été collectées et analysés. L'ensemble des conclusions de cette étude [43], fournit un message cohérent, qui est en effet que l'augmentation du nombre de cycle aromatique a un impact négatif sur le développement des biomolécules. Le point de départ de cette équipe (Timothy et al)été l'analyse de l'impact du nombre de cycles aromatiques contenues dans 280 composés dans la collection d'entreprise GlaxoSmithKline (GSK pipeline) sur une période de temps définie et sur l'aptitude au développement de ces biomolécules (**tableau 2**). Il apparait claire dans ce tableau que le nombre moyen des cycles aromatiques dans les molécules précliniques est de 3,3 ; en revanche le nombre moyen de cycles aromatiques dans les composés au stade de POC est de 2,3

Tableau 1.2. Nombre moyen des cycles aromatiques dans une collection GSK

	CS	FTIH	P1	P2	POC
Nombre de composés par catégorie	50	68	35	53	96
Nombre moyen des cycles aromatiques	3.3	2.9	2.5	2.7	2.3

Abréviations: CS, preclinical candidate selection (sélection des candidats précliniques)

FTIH, first time in human (tester pour la première fois sur les êtres humains)

P1, phase 1 ;**P2**, phase 2; **POC**, proof-of-concept (preuve du concept).

En d'autres termes, il y a une diminution dans le nombre moyen de cycles aromatiques tant que les composés se rapprochent du marché [44]. Dans ce contexte, il est intéressant de noter que le nombre moyen de cycles aromatiques dans les médicaments existants par voie orale est de 1,6 [45], Il a été montré également que le poids moléculaire moyen et la lipophilie des médicaments administrés par voie orale diminuent au fur et à mesure qu'ils traversent les phases de développement [46].

2.3.3. La Lipophilie et le nombre moyen de cycles aromatiques :

Parmi les paramètres choisis dans une tentative de démêler les origines de ces observations, dans cette étude, on trouve la lipophilie. Dans l'introduction de ce travail on s'intéresse en particulier à ce paramètre, parce que le degré de lipophilie d'une biomolécule est lié directement à l'aptitude de passage de ces entités à travers la membrane cellulaire (Clogp < 3) et au mode

d'action au niveau des cibles protéiniques. Une large littérature récente fait une corrélation entre la lipophilie moléculaire et le risque d'événements toxicologiques indésirables [41,47].

2.3.3.1. Nombre de cycles aromatiques et le coefficient de partage estimé (clogP) :

Une comparaison a été faite entre le nombre de cycles aromatiques contenus dans environ 26.000 composés enregistrés dans la collection de GSK à Stevenage (Royaume-Unis) au cours de la première période de 2007 et leurs caractères lipophiles calculés (clog P v4.81). Cette comparaison a montré qu'il existe une excellente corrélation entre la lipophilie et le nombre de cycle aromatique, donc l'ajout d'un cycle aromatique se traduit généralement par un saut discret et statistiquement significatif sur la valeur de Clog P. Il est bien de noter que, la combinaison des systèmes de carbone uniquement (par exemple les substituants phényle et les groupes condensés du benzène), avec des hétérocycles non-polaires, avait un impact plus important sur l'augmentation de c log P plus qu'une combinaison avec des hétérocycles polaires.

3.3.3.2. Nombre de cycles aromatiques et le coefficient de partage mesuré (log $D_{o/w}$) :

Une autre comparaison a été faite entre le nombre de cycle aromatique et le coefficient de distribution eau-octanol (log $D_{o/w}$) d'environ 10 464 composés à pH 7,4 en utilisant la méthode traditionnelle des flacons (shake-flask method). Contrairement à log P, qui est le coefficient de partage d'un composé entre l'octanol et l'eau, log D est le coefficient de distribution qui est fréquemment utilisé pour décrire la lipophilie des composés ionisables. Les résultats de cette comparaison montrent que les valeurs de log $D_{o/w}$ augmentent d'une manière significative avec l'augmentation du nombre de cycles aromatiques dans la molécule, ce qui est semblable aux observations obtenues avec les valeurs de C log P.

3.3.3.3. Comparaison de L'effet du nombre de cycle aromatique sur clog P et log $D_{o/w}$:

Bien que la comparaison directe entre les données des coefficients de partage mesurés (log $D_{o/w}$) et calculés (clog P) qui sont décrits précédemment n'est pas possible, parce que les ensembles de composés sont différents. On observe qu'il y a une différence claire qui apparait par rapport au nombre de cycle commun des catégories; Ainsi pour un nombre plus élevé de

cycles aromatiques les valeurs de $\log D$ ont tendance à prendre un plateau (ligne droite) à environ 3 cycles, contrairement aux résultats observés avec les valeurs de $c \log P$ (**Figure 1.11**).

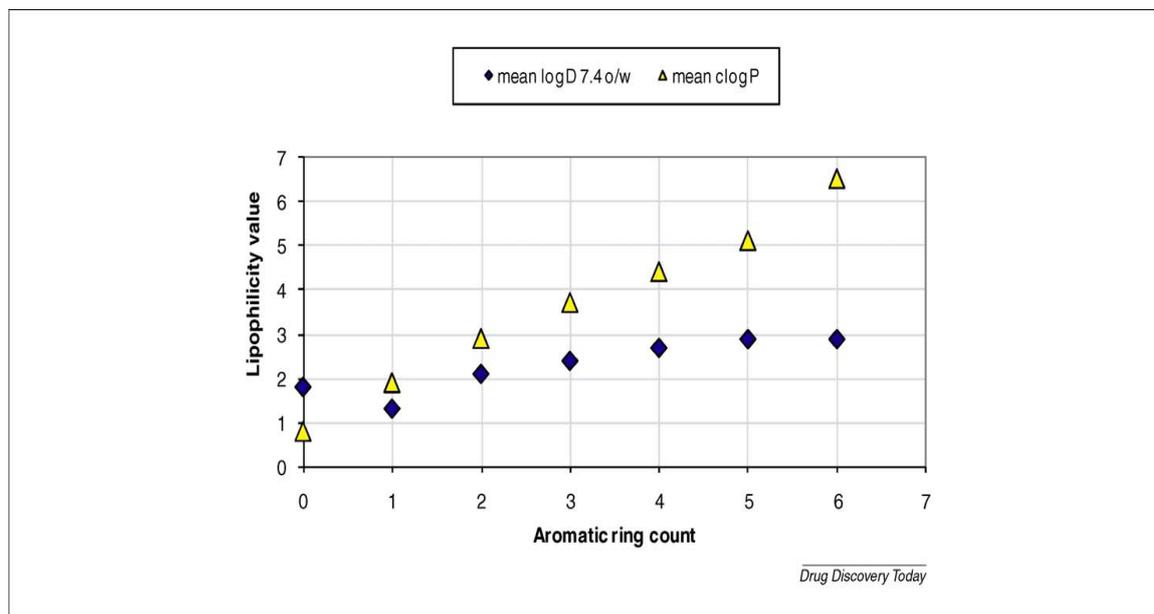


Figure 1.11. Comparaison $c \log P$ et $\log D_{o/w}$ en fonction du nombre de cycle aromatique

Ce phénomène est attribué probablement aux limitations de la marge de mesure de $\log D_{o/w}$, de sorte qu'il devient très difficile de mesurer la lipophilie des composés avec précision en raison de la faible solubilité et par conséquent les faibles concentrations du composé dans la phase aqueuse. L'analyse des observations liées à ce paramètre, nous donne une impression (et d'autres suggèrent aussi [41]) que l'augmentation de la lipophilie en ajoutant plusieurs cycles aromatiques à une structure prometteuse (surtout quand il y a déjà trois des cycles aromatiques dans la molécule) est susceptible d'augmenter le risque et d'arrêter le développement de cette biomolécule.

3. La Chimie bio-organique au service de la médecine :

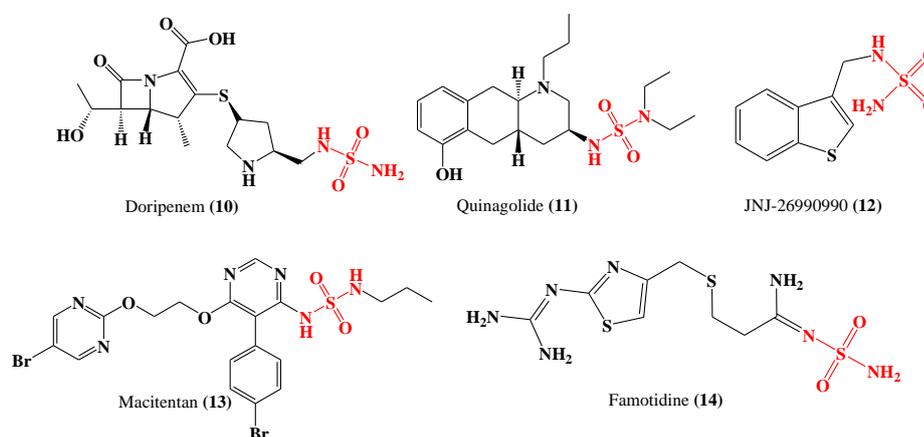
3.1. Le soufre :

Le soufre et ses dérivés sont présents dans la vie de tous les jours. Ils sont également impliqués dans la fabrication du collagène (protéine fibreuse la plus abondante du corps humain). Beaucoup de dérivés soufrés sont utilisés dans le domaine pharmaceutique comme les

sulfamides. Concernant le domaine de la synthèse organique, la chimie des dérivés Organosoufrés est actuellement très développée. En effet, comme nous allons le voir au cours de ce paragraphe, le soufre sous sa forme sulfamide et ses dérivés sont des éléments très versatiles, présentant une gamme très étendue de réactivité chimique attirante associé généralement à une activité biologique potentielle et variée, ce qui donne une chimie extrêmement riche, fine et sélective.

3.2. Les sulfamides :

Le groupement fonctionnel sulfamide ($R^1R^2NSO_2NR^3R^4$) [48-49] est un motif largement utilisé en chimie médicinale pour la conception de produits d'activités biologiques spécifiques avec des applications pharmacologiques diverses. Ce groupement est présent dans un grand nombre de médicaments récemment commercialisés dont des exemples sont présentés dans la **Figure 1.12** [50]. Par ailleurs, ces dernières années, les molécules qui contiennent le groupement sulfamide ont été également étudiées comme inhibiteurs de l'anhydrase carbonique, [51] carboxypeptidase A, [52] glycosidase [53], VIH-1 protéase, [54] protéines de la membrane plasmique des cellules-1, [55] et autres .



Composé	Indication	Stade de développement	Campanie
Doripenem (10)	Antibiotique à large spectre	Sur le marché	Shinogi/Johnson & Johnson
Quinagolide (11)	hyperprolactinémie	Commercialisé en dehors USA / Japon	Ferring Pharmaceuticals
JNJ-26990990 (12)	Anticonvulsant à large spectre	Phase I	Johnson & Johnson
Macitentan (13)	L'hypertension artérielle pulmonaire	Phase III	Actelion
Famotidine (14)	Reflux gastro-oesophagien	Sur le marché	Johnson & Johnson/Merck

Figure 1.12. Quelques structures de sulfamides et leurs applications

Cette large utilité pharmaceutique des sulfamides peut être attribuée à leur composition chimique unique et leurs caractéristiques structurales, ainsi que leur capacité à conférer des propriétés physiques souhaitables. La géométrie tétraédrique de l'atome de soufre et les multiples vecteurs de substitutions sur les atomes d'azote mènent à une diversité de conformation et de structure. Selon le degré de substitution, le nombre des sites donneurs et /ou accepteurs d'hydrogène peuvent être modifiés, par conséquent la lipophilie de la molécule change aussi. En outre, les Sulfamides peuvent être utilisés comme un bioisostères des amides, des urées, des carbamates, des céto-amides, des esters. Par rapport aux sulfonamides couramment utilisés de structure générale ($R_1SO_2NR_2R_3$) dont l'azote supplémentaire du sulfamide offre d'avantage de possibilités de liaisons hydrogènes, ainsi que d'autres propriétés physiques telles que log P et la solubilité.

3.3. Les hétérocycles à cinq et à six chaînons (oxazolidinones, perhydrooxazinones)

3.3.1. Définitions :

Les **hétérocycles** sont une classe de composés chimiques dans lesquels un atome ou plus de carbone dans un cycle est remplacé par un hétéroatome comme l'oxygène, l'azote, le phosphore, le soufre, etc. Les hétérocycles les plus courants contiennent de l'azote et/ou de l'oxygène. Un très grand nombre de substances naturelles et de médicaments sont des hétérocycles. Approximativement deux tiers (2/3) des publications en chimie concernent de près ou de loin les hétérocycles. La nomenclature des hétérocycles se dérive du cycle carboné correspondant, auxquels on ajoute le préfixe : **oxa-** pour l'oxygène, **thia-** pour le soufre et **aza-** pour l'azote pour identifier l'hétéroatome présent [56]. Dans ce travail on s'intéresse aux hétérocycles à cinq chaînons (oxazolidinones et analogues) et à six chaînons (perhydrooxazinones et analogues)

3.3.2. Hétérocycles à cinq chaînons (Les 1,3-Oxazolidin-2-one) :

L'hétérocycle 2-oxo-1,3-oxazolidine **15** [57] (**Figure 1.13**) (simplement nommé oxazolidin-2-one) est un carbamate cyclique assez rare dans la chimie des produits naturels, mais très populaire dans la chimie de synthèse organique depuis les travaux d'Evans [58-59], publié en

1981 sur l'utilisation de quatre oxazolidin-2-ones substitués comme des auxiliaires chiraux dans synthèse asymétrique. Les Oxazolidinone forment une grande gamme d'application comme des groupements protecteurs des 1,2-aminoalcools. En effet, l'introduction du linézolide **16** (Figure 1.13) qui est un agent antibactérien à base d'un oxazolidin-2-one (comme on a déjà décrit) [60] sur le marché de l'industrie pharmaceutique, a tiré l'attention des scientifiques et a abouti à plusieurs publications autour de cette activité antibactérienne en présence de cet hétérocycle dans les structures chimiques.

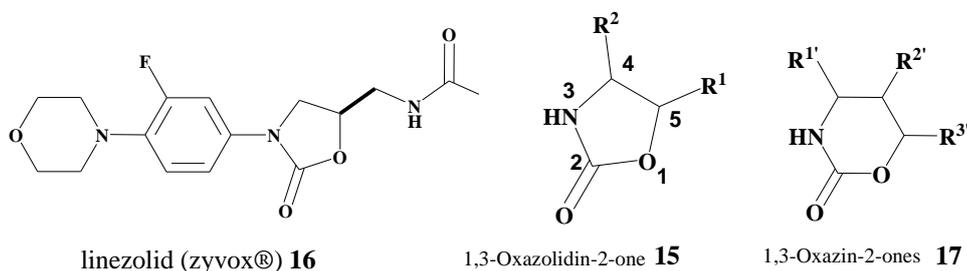


Figure 1.13. Structure générale de linezolid, 1,3-oxazolidin-2-ones et 1,3-oxazin-2-ones

Une recherche bibliographique sur la chimie des oxazolidin-2-ones montre que l'utilisation de l'oxazolidin-2-one en chimie bio-organique dépasse leurs utilisation uniquement comme des auxiliaires chiraux, groupe de protection, intermédiaires synthétiques etc vers des possibilités presque infinies concernant la préparation et l'utilisation de cette petite molécule dans plusieurs domaines synthétique et thérapeutique très développées.

Le but de ce travail est la meilleure exploitation de ces propriétés et caractéristiques unique de cet hétérocycle dans la conception et la synthèse de nouveaux agents antibactériens.

3.3.3. Hétérocycles à six chaînons (Les perhydro 1,3-oxazin-2-ones):

Parmi les Hétérocycles à six chaînons analogues des oxazolidinones, on trouve les Oxazinones **17** (Figure 1.13) qui constituent une famille importante d'hétérocycles, a beaucoup d'intérêt synthétique en raison de leur large spectre d'activités biologiques. Une attention particulière a été portée sur ces composés depuis la découverte de l'Efavirenz, qui n'est que le trifluorométhyle - 1,3-oxazine-2-one qui est un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse et un

composé anti-VIH sélective [61]. Plusieurs benzoxazinones présentent des propriétés pharmacologiques diverses, tels que anti-tumoraux [62], antiviraux [63], anti-thrombotiques [64] antibactériens [65] et anti-inflammatoires [66]. D'un autre côté les Oxazinones ont également été utilisés comme précurseurs utiles de synthèse pour la préparation de nombreux composés organiques [67-69].

3.4. Combinaison de la chimie des sulfamides et des hétérocycles :

Il est à noter que la majorité des sulfamides commercialisés ont une structure chimique qui contient à la fois un phenylsulfonamide et un hétérocycle (à cinq et/ou six chaînons), d'autre part un effet positif a été observé sur l'activité biologique des oxazolidinones, en particulier sur les bactéries Gram-positifs et Gram-négatifs lorsque un groupement sulfonamide est introduit dans la structure. De nombreux efforts sont actuellement focalisés sur les oxazolidinones et oxazinones substitué et / ou le motif phényle sulfonamide comme des biomolécules ou intermédiaires synthétiques. La **Figure 1.14** donne quelques exemples de cette nouvelle approche[70-73].

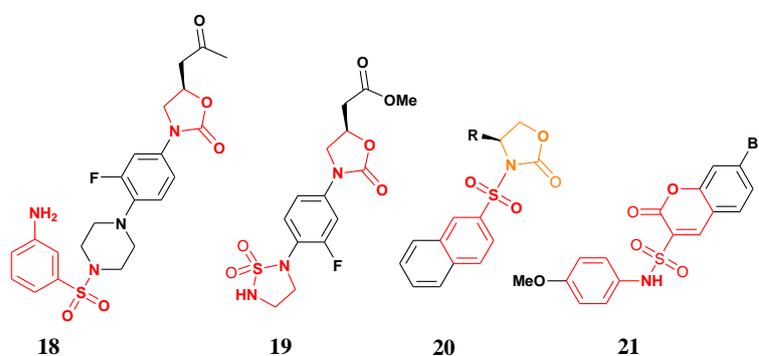


Figure 1.14. Quelques exemples de la combinaison de motif arylsulfonamide et les hétérocycles

4. La chimie bio-Inorganique au service de la médecine

4.1. La chimie bio-inorganique, une discipline en pleine expansion

4.1.1. l'influence des métaux dans les processus biologiques

La chimie bio-inorganique est une branche en pleine expansion au-delà de la chimie organique classique qui s'intéresse à tous les éléments du tableau périodique et en particulier aux métaux de transitions et à leurs complexes. Il a été montré qu'il y a une excellente corrélation entre le type

d'ion métallique utilisé pour une fonction biologique donnée, l'abondance de l'élément sous forme soluble, d'une part, et ses propriétés physico-chimiques intrinsèques d'autre part (par exemple, le Zn pour des réactions d'hydrolyse et le fer et le cuivre pour des réactions redox) (Figure 1.15).

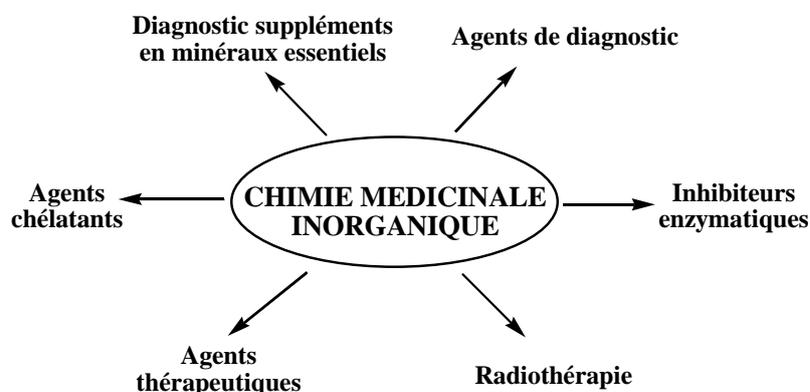


Figure 1.15. Utilisations de la chimie inorganique en médecine (source [74])

On note aussi que, la chimie bio-inorganique est une discipline assez jeune mais qui connaît actuellement un essor particulier. En effet, cela ne fait qu'une cinquantaine d'années que l'on applique systématiquement les principes de la chimie inorganique pour élucider le rôle des métaux dans les systèmes biologiques [75]. Cette évolution rapide découle, entre autres, du développement de méthodes spectroscopiques puissantes permettant d'appréhender la structure, le comportement dynamique et la réactivité des biomolécules, quelques soient leurs interactions avec les métaux [76-78]. Le rôle primordial des espèces métalliques dans les processus biologiques est maintenant clairement établi [76 et 79]. Avec l'aboutissement du séquençage du génome humain et d'autres espèces vivantes, de nouveaux champs d'investigation se sont ouverts à la chimie bio-inorganique. Dans une bonne partie de cette thèse, on s'intéressera aux complexes organométalliques des métaux de transition, et leurs activités antibactériennes, en particulier les éléments : cuivre, cobalt et nickel. Le paragraphe suivant est un exemple représentatif du rôle assuré par le cuivre, en milieu physiologique.

4.1.2. Le cuivre (Cu) élément essentiel dans les organismes vivants :

Le cuivre (Cu) est un oligo-élément essentiel requis par toutes les formes de vie. Le Cuivre est un métal de transition impliqué dans une variété de processus biologiques à savoir. Le développement embryonnaire, la respiration mitochondriale, la régulation du taux d'hémoglobine ainsi que les fonctions des hépatocytes et des neurones. Être un métal de transition, le Cuivre se convertit biologiquement entre différents états redox Cu (II) et Cu (I). Cet attribut unique a fait que le métal Cu peut se manifester comme un cofacteur catalyseur important pour une variété de réactions métaboliques dans les systèmes biologiques. Plusieurs études [80-84] soulignent la participation du Cuivre dans une myriade d'activités cellulaires et des processus physiologiques tels que la respiration cellulaire, le métabolisme du fer, la biosynthèse des neurotransmetteurs...etc. Il convient de rappeler que le Cu est vital pour le bon fonctionnement des organismes et une bonne santé normale.

5. Conclusions :

Au terme de cet *aperçu bibliographique*, on peut tirer les conclusions suivantes:

L'apparition des **antibiotiques** dans l'arsenal thérapeutique contre les infections d'origine bactérienne, peut être considérée comme un progrès marquant dans la lutte contre ces maladies infectieuses qui sont une cause majeure de décès en particulier dans les pays en développement. **Les sulfamides** étaient les premières drogues antimicrobiennes, qui ont préparé le terrain pour la révolution d'antibiotiques dans la médecine. Les **oxazolidinones** sont aussi la seule classe de nouveaux agents antibactériens synthétiques au cours des 30 dernières années qui possèdent des structures tout à fait nouvelles par rapport aux actuels agents antibactériens. Mais le **problème de résistance** bactérienne aux antibiotiques reste un problème majeur. Due à l'utilisation massive des antibiotiques chez l'homme, chez l'animal et en agriculture ce problème constitue une vraie menace dangereuse et coûteuse pour la santé publique. La recherche et le développement (**R&D**) de nouveaux antibiotiques ont été rapidement diversifiés. Une multitude d'approches récentes ont été entreprises pour rendre la chimie médicinale plus efficace en tournant la roue du cycle **DMTA** « **Design-Make-Test-Analyse** » plus rapidement, par le développement de la phase de conception «Design» a travers une optimisation des différentes propriétés prévisibles des molécules (lipophilie, poids moléculaire, solubilité...etc.). La « Fragmentologie» offre un élément essentiel de la phase «Design», Une technique indispensable basée sur les éléments caractérisant la structure tridimensionnelle de l'enzyme, et des molécules.

Le développement de la phase « Make» est valorisé par l'augmentation de capacité de la chimie de synthèse pour convertir les bonnes idées en composés testables tout en réduisons la complexité et la longueur de chemin suivi de synthèse et de purification. Pour atteindre ce but, l'intervention de la chimie bio-organique et bio-inorganique à ce stade est primordiale. Ce foisonnement des stratégies a permis la commercialisation de plusieurs biomolécules médicaments en un temps record.

Dans le même contexte ces principes de la « Fragmentologie » et de la synthèse bio-organique et bio-inorganique ils sont devenus notre ressource pour l'imagination de synthèse d'une nouvelle famille de biomolécules douées d'une activité antibactérienne potentielle. L'amélioration de cette activité biologique a fait l'objet du Chapitre 2 de cette thèse.

Références bibliographiques du Chapitre 1:

1. World Health Organization, **2004**. The world health report **2004** -changing history, 'Annex Table' Deaths by cause, sex and mortality stratum in WHO regions, estimates for **2002**.
2. Motoshima, K.; Hiwasa, Y.; Yoshikawa, M.; Fujimoto, K.; Tai, A.; Kakuta, H.; Sasaki, K. *Chem Med Chem*(**2007**)2, 1527.
3. Cosivi, O.; Grange, J. M.; Daborn, C. J.; Raviglione, M. C.; Fujikura, T.; Cousins, D.; Robinson, R. A.; Huchzermeyer, H. F. A. K.; de Kantor, I.; Meslin, F. X. *Emerg. Infect. Dis.* (**1998**) 4, 59.
4. Brickner, S. J. *Curr. Pharm. Des.* (**1996**)2, 175.
5. Diekema, D. J.; Jones, R. N. *Lancet*(**2001**)358, 1975-1982
6. Hollingsworth, R. I.; Wang, G. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology; John Wiley & Sons, **2003**, Available from: <<http://www.mrw.interscience.wiley.com/kirk/>>.
7. Bozdogan, M.; Appelbaum, P. C. *Int. J. Antimicrob. Agents* (**2004**) 23, 113.
8. Masters, P. A.; O'Bryan, T. A.; Zurlo, J.; Miller, D. Q.; Joshi, N. *Arch. Intern. Med.* (**2003**) 163, 402.
9. Stockdale, MW.; Tysall, L.; Johnson AP.; Livermore DM.; Woodford N. *Int J Antimicrob Agents.* (**2004**) 23, 88-91.
10. Bobcova, E. V. ; Yan, Y. P. ;Jordan, D. B. ;Kurilla, M. G. ;Pompliano, D. L. ; Jordan, D. B. *j. Biol. Chem.* (**2003**) 278, 9802
11. Zhang, Y., C. Vilcheze & W. R. Jacobs, (**2005**), Mechanisms of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. In Tuberculosis and the Tubercle Bacillus. S. T. Cole, K. D. Eisenach, D. N. McMurray & W. R. Jacobs J. (eds). Washington, D.C.: *ASM Press*, pp115-140.
12. Davies J. *Science* (**1994**)264, 5157, 375-382.
13. Andremont A, Corpet DE, Courvalin P. *Pour la Science*(**1997**) 232,66-73.
14. Allan M. Jordan and Stephen D. Roughley; *Drug Discovery Today.* (**2009**)14, 15, 731

15. Kubinyi, H. (2001) Hydrogen bonding, the last mystery in drug design? In Pharmacokinetic Optimization in Drug Research. Biological, Physicochemical, and Computational Strategies (Testa, B. et al. eds), pp. 513–524, Helvetica Acta and Wiley-VCH
16. Meyer, E.A. et al. *Angew. Chem. Int.* (2003)42, 1210–1250
17. Davis, A.M. and Teague, S.J. *Angew. Chem. Int.*(1999)38, 736–749
18. Booth, B. and Zimmel, R. *Nat. Rev. Drug Discov.* (2004)3, 451–456
19. Shalini, A.; Alan, A.; Annika, B.; et al, *Drug Discovery Today.* (2009), 14, 11, 598
20. Sewing, A. et al. *Drug Discov. Today.*(2008)13, 227–233
21. Macdonald, S.F.J. and Smith, P.W. *Drug Discov Today.* (2001)6, 947–953
22. Lundstedt, T. et al. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* (1998)42, 3–40
23. Agrafiotis, D.K. et al. *J. Chem. Inf. Model.* (2007) 47, 1279–1293
24. Jencks, W. P. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (1981)78, 4046
25. Erlanson, D.A. *Current Opinion in Biotechnology* (2006)17, 643–652
26. Hajduk, P.J. *Nature Chemical Biology*(2006) 2, 658–659
27. Gerdien E. de Kloe, D.;Bailey, R. L; Iwan J.P. De Esch; *Drug discovery Today*(2009)14,13,630-646
28. Gianni, C.; Andrew J. W. *Drug discovery Today.* (2009), 14, 13, 668-675
29. Congreve, M. et al. *Drug Discov. Today* (2003) 8, 876–877
30. Hajduk, P.J. et al. *J. Am. Chem. Soc.* (1997) 119, 5818–5827
31. Blundell, T.L. and Patel, S. *Curr. Opin. Pharmacol.* (2004) 4, 490–496
32. Andrews, P.R. et al. *J. Med. Chem.* (1984) 27, 1648–1657
33. Kuntz, I.D. et al. In Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.(1999) 96, 9997–10002
34. Hajduk, P.J. *J. Med. Chem.* (2006) 49, 6972–6976
35. Hopkins, A.L. et al. *Drug Discovery Today* (2004) 9, 430–431
36. Abad-Zapatero, C. and Metz, J.T. *Drug Discovery Today*(2005) 10, 464–469

37. Artis, D.R. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (2009) 106, 262–267
38. Hajduk, P.J. et al. *J. Am. Chem. Soc.* (2000)122, 7898–7904
39. Huth, J.R. et al. *Chemical Biology and Drug Design.*(2007) 70, 1–12
40. Erlanson, D.A, Braisted, A.C .*Proc. Natl. Acad. Sci.USA.* (2000)97 ,9367–9372
41. Leeson, P.D. and Springthorpe, B. *Nat. Rev. Drug Discov.* (2007) 6,881–890
42. Muresan, S. and Sadowski, J. *Wiley InterScience* (2008) pp. 439–461
43. Timothy J. Ritchie and Simon J.F. Macdonald; *Drug Discovery Today.* (2009)14, 21, 1011
44. Lipinski, C.A. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*(2000)44, 235–249
45. Hann, M.M. et al. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*(2001)41,856–864
46. Wenlock, M.C. et al. *J. Med. Chem.* (2003)46, 1250–1256
47. Hughes, J.D. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2008)18, 4872–4875
48. Knieps, S.; Englert, H. C.; Gerlach, U.; Goegelein, H.; Heitsch, H. WO 2006/063722 A1.
49. Beaudoin, S.; Kinsey, K. E.; Burns, J. F. *J. Org. Chem.* (2003)68, 115.
50. Guo, C.; Dong, L.; Kephart, S.; Hou , X. *Tetrahedron Letters.*(2010) 51, 2909–2913
51. Casini, A.; Winum, J.-Y.; Montero, J.-L.; Scozzafava, A.; Supuran, C. T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2003)13, 837–840
52. Park, J. D.; Kim, D. H.; Kim, S.-J.; Woo, J.-R. *J. Med. Chem.*(2002)45, 5295
53. Bentifa, M.; Garcia Moreno, M. I.; Ortiz Mellet, C.; Garcia Fernandez, J. M.; Wadouachi, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*(2008)18, 2805
54. Hulten, J.; Andersson, H. O.; Schaal, W.; Danielson, H. U.; Classon, B.; Kvarnstrom, I.; Karlen, A.; Unge, T.; Samulesson, B.; Hallberg, A. *J. Med. Chem.* (1999)42, 4054–4061
55. Patel, S. D.; Habeski, W. M.; Cheng, A. C.; de la Cruz, E.; Loh, C.; Kablaoui, N. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*(2009)19, 3339.
56. John A. Joules (G.F. Smith) et Keith Miles, *Heterocyclic Chemistry*, 4th ed., *Blackwell Publishing*, 2000

57. Zappia, G.; Gacs-Baitz, E. ; Delle Monache, G. ; Misiti, D. ; Nevola, L. ; Botta, B. *Current Organic Synthesis* (2007)4, 81-135.
58. Evans, D.A.; Takacs, J. M.; McGee, L. R.; Ennis, M. D.; Mathre, D. J.; Bartroli, J. *Pure Appl. Chem.* (1981) 53, 1109.
59. Evans, D. A. C. *Aldrichim. Acta* (1982) 15, 23.
60. Barbachyn, M.R.; Ford, C.W. *Angew. Chem. Int. Ed.* (2003) 42, 2010.
61. Pierce, M. E.; Parsons, R. L.; Radesca, L. A.; Lo, Y. S.; Silvermon, S.; Moore, J. R.; Islam, Q.; Chaodhury, A.;Fortunak, J. M. D.; Nguyen, D.; Luo, C.; Morgan, S. F.; Davis, W. P.; Confalone, P. N.; Chen, C.; Tillyer, R. D.;Frey, L.; Tan, L.; Xu, F.; Zhao, D.; Thompson, A. S.; Corley, E. G.; Grabowski, E. J. J.; Reamer, R.; Reider, P.J. *J. Org. Chem.* (1998) 63, 8536.
62. Bolognese, A.; Correale, G.; Manfra, M.; Lavecchia, A.;Mazzoni, O.; Novellino, E.; Barone, V.; La Colla, P.;Loddo, R. *J. Med. Chem.* (2002) 45, 5217.
63. (a) Jarvest, R. L.; Connor, S. C.; Gorniak, J. G.; Jennings, L. J.; Serafinowska, H. T.; West, A. *Bioorg. Med. Chem.Lett.*(1997) 7, 1733; (b) Abood, N. A.; Schretzman, L. A.; Flynn, D. L.; Houseman, K. A.; Wittwer, A. J.; Dilworth, V. M.; Hippenmeyer, P. J.; Holwerda, B. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*(1997) 7, 2105.
64. Hsieh, P. W.; Hwang, T. L.; Wu, C. C.; Chang, F. R.; Wang, T. W.; Wu, Y. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2005) 15, 2786.
65. Waisser, K.; Gregor, J.; Kubikova´ , L.; Klimesova´ , V.; Kunesˇ, J.; Machacek, M.; Kaustova´ , *Eur. J. Med. Chem.*(2000) 35, 733.
66. Hsieh, P. W.; Chang, F. R.; Chang, C. H.; Cheng, P. W.; Chiang, L. C.; Zeng, F. L.; Lin, K. H.; WU, Y. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2004)14, 4751.
67. Afarinkia, K.; Bahar, A.; Neuss, J.; Ruggiero, A. *Tetrahedron Lett.* (2004)45, 3995.
68. Medaer, B. P.; Hoornaert, G. J. *Tetrahedon.* (1999)55, 3987.
69. Myata, O.; Namba, M.; Ueda, M.; Naito, T. *Org. Biomol. Chem.* (2004)2, 1274.

70. Yingjie, C.; Yushe, Y.; Kaixiane, C.; Ruyun, J.; Shuhua, Z. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2003) 13, 2311.
71. Kim, S. J.; Jung, M.; Yoo, K.; Cho, J.; Oh, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2008) 18, 5815.
72. Aliyenne, O.; Khiari, J. E.; Kraiem, J.; Kacem, Y.; Ben Hassine, B. *Tetrahedron Letters* (2006) 47, 6405–6408
73. Reddy, N. S.; Mallireddigari, M.R.; Cosenza, S.; Gumireddy, K. S.; Bell, C.; Reddy, E. P.; Reddy, M. V. R. *Bioorg Med Chem Lett.* (2004) 14, 4093–4097
74. Marie Ledecq, thèse de doctorat « Les complexes métallo-organiques au cuivre (II), une nouvelle famille d'inhibiteurs de la protéase du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 », faculté universitaires Notre-Dame de la paix ,Belgique , 2004
75. Halpern, J. and Raymond, K.N., "At the interface of inorganic chemistry and biology." *Proc Natl Acad Sci U S A.* (2003) 100, 7, 3562.
76. Holm, R.H., Kennepohl, P., and Solomon, E.I. *Chem Rev.* (1996) 96 , 2239-2314.
77. Lehnert, N., George, S.D., and Solomon, E.I. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, (2001) 5(2) , 176-87.
78. Hoffman, B.M. *Proc Natl. Acad. Sci. U S A*, (2003) 100, 7, 3575-3578.
79. Gray, H.B. *Proc Natl Acad Sci U S A*, (2003) 100, 7, 3563-3568
80. Aaseth J, Flaten TP, Andersen O. *Scand J Gastroenterol.* (2007) 42, 673-681
81. Araya M, Pizarro F, Olivares M, Arredondo M, Gonzalez M, Mendez M. *Biol Res* (2006) 39,183-187.
82. Decker H, Terwilliger N. *J. Exp Biol*(2000) 203, 1777-1782.
83. Goodman, VL., Brewer, GJ., Merajver, SD. *Endocr. Relat. Cancer.* (2004)11,255-63.
84. Srivastava S, Singh BR, Tripathi VN. *Curr. Sci.* (2005)89, 124-51.

1. INTRODUCTION :

Comme il a été décrit précédemment dans l'introduction générale que pour atteindre l'objectif d'élargissement du spectre d'action de *N*-sulfamoyloxazolidinones contre d'autres types de souches notamment Gram négatifs ; ainsi que l'amélioration de cette activité biologique. Deux stratégies différentes ont été suivies, le **Schéma 2.1** résume toutes les Stratégies de synthèse et de développement adoptées dans ce travail (projet).

2. STRATEGIE ORGANIQUE :

2.1. Augmentation de la taille du cycle (accès aux hétérocycles à six chaînons).

2.1.1. Introduction.

À nos jours, beaucoup de nouveaux agents antibactériens sont conçus en fonction des modifications structurales des classes existantes, un antibiogramme est facile à réaliser. Mais les modes d'action des agents sont souvent découverts après avoir confirmé leurs activités. L'identification des caractéristiques des fragments chimiques des médicaments existants et leurs intégrations dans une conception d'un nouveau composé est une méthode efficace récente pour la découverte de nouveaux médicaments avec des différents motifs de structures (voir paragraphe 2.2 du chapitre1). Dans la **Figure 2.1** on regroupe quelques structures de composés biologiquement actifs de petite taille qui comprennent; linézolide **16**, 1,3-oxazinan-2-one **22**, Benzensulfonamide **23**, indeglitazar (PPAR) **24** et 4-azidométhyl-7-méthylcoumarine- 6-sulfonamide **25**. Nous pouvons observer facilement que les caractéristiques générales communes de ces agents sont qu'ils contiennent tous un phényle sulfonamide et / ou une structures hétérocycliques et un substituent hétéro-atomique tels que les groupes halogène, amine et méthoxy. Le linézolide**16** comme il a été décrit dans le chapitre précédent est un antibiotique qui contient l'hétérocycle oxazolidinone comme motif de base, important pour son activité.

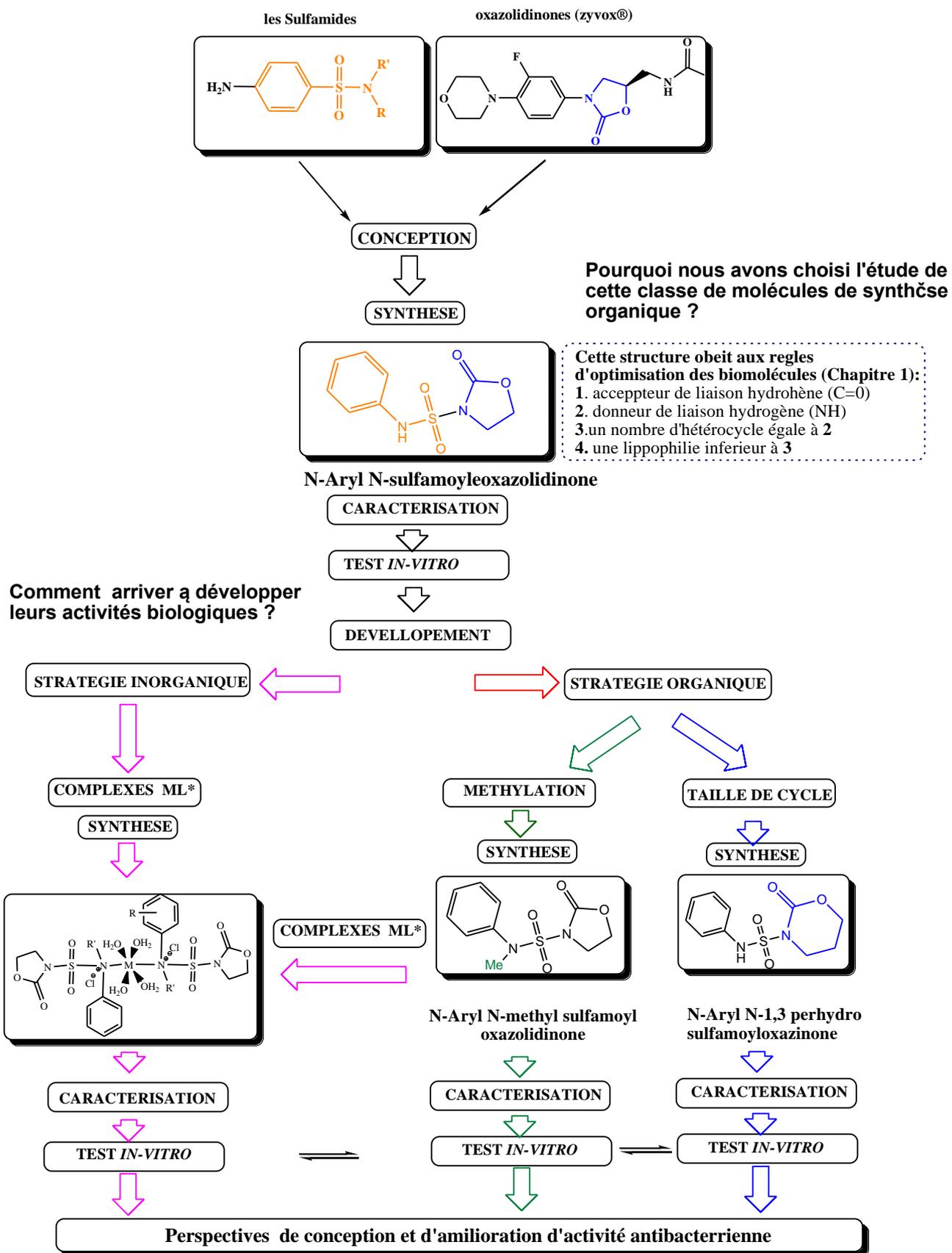


Schéma 2.1. Objectifs et Stratégies de synthèse et de développement de travail

Dans la littérature, on trouve plusieurs composés contenant un motif *N*-hétérocyclique à six chaînons 1,3-oxazinan-2-one **22** et dérivés, qui forment une classe importante de composés organiques d'intérêts pharmacologiques tels que l'activité antibactérienne [**1**] et anti-inflammatoire [**2**]. Le benzensulfonamide **23** est un autre exemple récent de composés de type anti-MRSA/VRE contenant un group phénylesulfonyle [**3**].

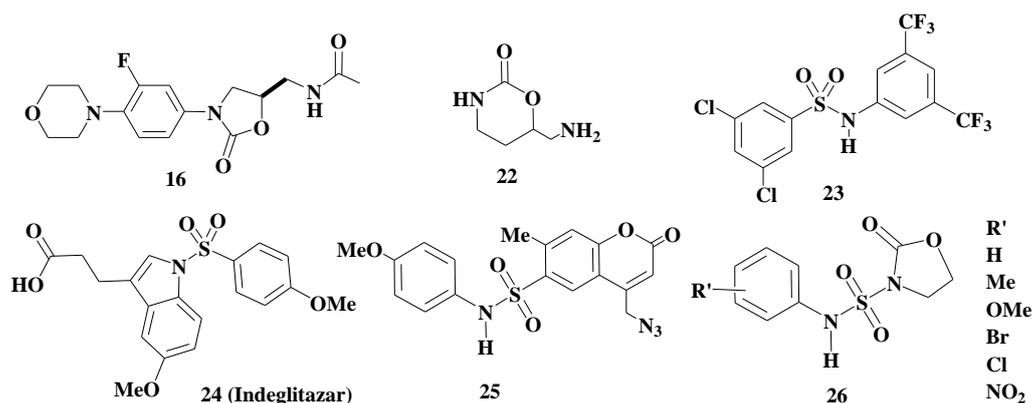


Figure 2.1. Quelques structures récentes de composés biologiquement actifs.

L'indeglitazar (PPAR) **24** récemment cités par Artis et *al*, utile dans le traitement du diabète de type 2 (voir paragraphe 2.2.3.a du Chapitre 1). Le 4-azidométhyl-7-méthylcoumarine-6-sulfonamide **25** est un sulfonamide contenant un motif coumarine 4-azidométhyl avec une activité antibactérienne puissante [**4**].

Les caractéristiques générales de ces composés peuvent être utilisées pour concevoir de nouvelles structures qui peuvent être potentiellement utiles comme agents antibactériens.

A cet effet, actuellement, de nombreux efforts se sont basés sur les phényloxazolidinones substitués et / ou les phénylesulfonamides. Nous avons décrit précédemment [**5**] la synthèse et l'activité antibactérienne de quelques *N*-[(*N*-aryl) sulfamoyl] oxazolidin-2-ones **26** (**Figure 2.1**) sur une souche de *Staphylococcus aureus*. L'effet positif de l'addition d'un groupement sulfonamide sur l'activité des oxazolidinones en particulier sur les bactéries Gram positifs et Gram négatif été parmi les arguments forts de ce choix [**6-8**]. En outre, Wang et *al* [**1**] ont décrit que les composés de synthèses ayant un cycle à six chaînons (1,3-oxazinan-2-one) au lieu d'un

cycle à cinq chaînons (oxazolidinones) présentent une activité antibactérienne légèrement plus puissante.

Dans ce contexte, l'objectif de cette première sous stratégie est d'obtenir des composés antibactériens plus actifs, en combinant la chimie des sulfonamides avec celle des hétérocycles 1,3-perhydro-oxazine-2-ones.

Dans cette partie du travail, nous présentons la synthèse, la caractérisation, la structure cristalline et l'évaluation de l'activité antibactérienne d'une série réduite d'isomères de fonction des *N*-[(*N*, aryl)-sulfamoyl] 1,3-perhydro oxazine-2-ones **27** (**n = 2**) (**schéma 2.2**). L'obtention de ces composés *N*-hétérocycliques à six chaînons a eu lieu *in-situ* par la réaction de l'isocyanate de chlorosulfonyl (ICS) **28** avec le 1,3 halogenopropanol (**n=2**) choisi et différentes amines aromatiques (isomères de l'aniline) dans un milieu alcalin avec de bon rendement (**schéma 2.2**). Les tests biologiques des molécules préparées sur des souches cliniques de type Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et Gram négatif (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) sont rapportées dans ce chapitre. À notre connaissance, l'activité antibactérienne de ces composés et leurs analogues n'a pas été étudiée. Leurs applications actuelles se limitent à leur utilisation dans les réactions de préparation des 2-chloroethylnitrososulfamides (CENS) [**9,10**] ou dans les réactions de transulfamoylation [**11**], ou sont utilisées comme ligands pour former des complexes d'inclusion avec la β -cyclodextrine [**12**].

2.1.2. Synthèse et Caractérisation des 1,3-perhydrooxazine-2-ones (27) :

La préparation de la *N*-[(*N*-aryl)-sulfamoyl] perhydro1,3-oxazine-2-ones- **27a-27f** a été réalisée à partir de l'isocyanate de chlorosulfonyl (ICS) **28**, d'un halogénoalcool 1-3 (**n = 2**), des amines aromatiques et de la triéthylamine (TEA) en *one-pot*. Une procédure précédemment décrite dans notre groupe [**9**] utilisant des halogénoalcools comme le 3, bromo-1-propanol ou le 3-chloro-1-propanol (**schéma 2.2**). L'isolement de sulfamoylcarbammates linéaire **29** n'était pas le but de l'étude, d'autant plus qu'il réduisait le rendement total de la réaction. Par ailleurs une

cyclisation *in-situ* en présence de triéthylamine (TEA) a été observée pour cette intermédiaire pour donner les 1,3-perhydrooxazinones **27**.

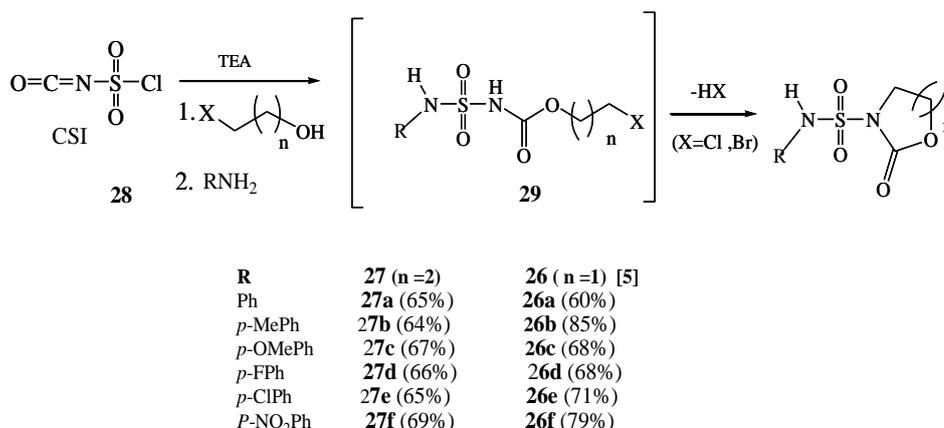


Schéma 2.2. Préparation de perhydro-1,3-oxazine-2-ones **27a - 27f** et analogues.

Le caractère spontané de cette cyclisation intramoléculaire [9] au cours de la première étape est probablement lié à l'excellent caractère partant de l'atome d'halogène (Cl ou Br). Aucune autre cyclisation n'est observée au niveau du motif sulfamide. Ceci est probablement due au niveau de la barrière énergétique de rotation autour de ce dernier [13, 14]. Le **Tableau 2.1** résume quelques propriétés physico-chimiques et spectrales des composés **27a - 27f**. Tous les isomères perhydrooxazinones **27** sont des composés thermiquement stables sous forme de solides cristallins. Cette étude structurale a été complétée par une analyse cristallographique citée dans le paragraphe suivant.

Tableau 2.1. Quelques propriétés physico-chimiques et spectrales des composés **27a - 27f**^a

Ref	P.fusion (°C)	Rendement (%)	R _f ^b	FTIR (KBr, ν cm ⁻¹)			
				NH	C=O	SO ₂	
27a	163-165	65,02	0,65	3219	1697	1271	1190
27b	177-179	64,69	0,63	3212	1702	1273	1163
27c	183-185	67,99	0,55	3201	1669	1269	1155
27d	190-192	66,63	0,62	3292	1703	1273	1163
27e	173-175	65,13	0,60	3291	1702	1272	1161
27f	186-188	69,22	0,48	3165	1693	1387	1227

^a pour plus de détails voir le chapitre 3 et l'annexe

^b éluant CH₂Cl₂/MeOH (95 :5)

2.1.3. Analyse par les rayons X du composé **27d**

Afin de pouvoir mener une étude par diffraction des rayons X, nous avons effectué plusieurs tentatives de recristallisation. Tous les dérivés des *N*-[(*N*, aryle)-sulfamoyl] 1,3 perhydro-oxazine -2-one n'ont pas été bien cristallisés, sauf le dérivé fluoré **27d**. Des cristaux incolores en forme de prisme de dimension 0,1 × 0,1 × 0,2 mm ont été soigneusement sélectionnés, à l'aide d'un microscope polarisant et collé à l'extrémité d'une mince fibre de verre. La collection des données a été réalisée par un diffractomètre « Oxford Diffraction Xcalibur CCD » équipé d'un tube de source des rayons X (radiation Mo-K α de longueur d'onde, $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) hermétiquement isolé. Tous les calculs, à savoir, la collection des données, le raffinement des mailles, etc. ont été effectués à l'aide des programmes CrysAlis CCD et CrysAlis RED [15]. Des Paramètres cristallographiques expérimentaux du composé **27d** sont présentés dans le **Tableau 2.2**. La structure cristalline a été résolue par des méthodes directes et affinée par des techniques appelées « full-matrix least-squares » en utilisant respectivement le programme SIR-97 [16] et SHELXL-97 [17]. Les atomes de soufre, d'azote, d'oxygène et de carbone ont été localisés sur la base **2787** de réflexions indépendantes et raffinées d'une manière anisotropique. Tous les atomes H liés à des atomes de Carbone ont été fixés géométriquement et traités comme circonscription avec C---H=0,97 \AA (méthylène) et 0,89 (phényl) avec $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2 \text{ fois } U_{\text{eq}}(\text{C})$. Les coordonnées de l'atome H attaché à N2 ont été affinés à l'aide de NH retenue [0,86(1) \AA] et avec $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2 \text{ fois } U_{\text{eq}}(\text{N})$. Des détails pertinents des données cristallographiques de composé **27d** sont présentés dans le **Tableau 2.2**. Quelques valeurs des angles et longueurs de liaisons sont présentées dans le **Tableau 2.3**.

Tableau 2.2. Paramètres cristallographiques expérimentaux du composé **27d**

Crystal data	
Empirical formula	C ₁₀ H ₁₁ F N ₂ O ₄ S
Formula weight	274.27
System	monoclinic
Space group	P2 ₁ /c (14)
a (Å)	7.815(5)
b (Å)	13.072(5)
c (Å)	12.094(5)
β (°)	106.077(5)
V (Å ³)	1187.2(10)
Z, Calculated density (g.cm ⁻³)	4, 1.535
Crystal habit, colour	Prism, colourless
Crystal size (mm)	0.2 × 0.1 × 0.1
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	0.295
F(000)	568
Data collection	
Temperature (K)	293
Diffractometer	Xcalibur Oxford diffraction
Wavelength Mo(Kα) (Å)	0.71073
θ range (°)	3.12 - 30.02
Limiting indices	-11 ≤ h ≤ 10, -15 ≤ k ≤ 18, -16 ≤ l ≤ 17
Reflections collected/unique	10938 / 3462 [R(int) = 0.0206]
Structure refinement	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	3462 / 1 / 166
Goodness-of-fit on F ²	1.079
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0455, wR2 = 0.1096
R indices (all data)	R1 = 0.0598, wR2 = 0.1187
Largest difference peak and Hole (e Å ⁻³)	0.379 and -0.368

Tableau2.3. Quelques longueurs des liaisons (Å) et angles(°) avec leurs écarts-types de **27d**

Bond lengths (Å)		Bond angles (°)	
S1 – O11	1.414(2)	O11 – S1 – O12	120.46(10)
S1 – O12	1.417(2)	N1 – S1 – N2	106.25(8)
S1 – N1	1.681(2)	O11 – S1 – N1	103.04(9)
S1 – N2	1.613(2)	O11 – S1 – N2	109.33(9)
N1 – C11	1.371(2)	O12 – S1 – N1	109.58(9)
N1–C14	1.485(2)	O12 – S1 – N2	107.35(9)
N2–C21	1.435(2)		
C24–F1	1.354(2)		

2.1.4. Etudes cristallographique de la structure **27d**

La structure 3D du composé **27d** est illustrée dans la **figure2.2**. D'après le **Tableau 2.4**, il est clair que la géométrie moléculaire de **27d** est en bon accord avec des structures cristallographiques analogues élaborées précédemment dans notre laboratoire [**19-20**]. L'asymétrie des longueurs de liaisons S-N qui forme le groupement sulfamide N1-S1-N2, et ayant respectivement les valeurs 1,681(2) Å et 1,613(2) Å, En conséquence, cela est due probablement a l'environnement différent de chaque atome d'azote.

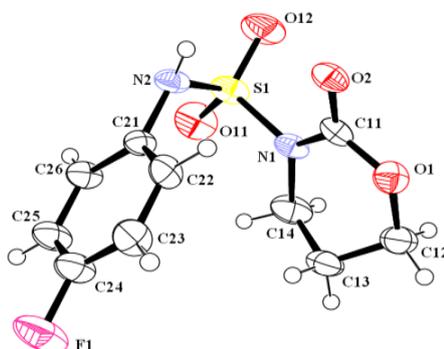


Figure2.2. ORTEP [**18**] de la molécule **27d** dans le cristal avec un système de numérotation atomique. Des Ellipsoïdes correspondent à des niveaux de probabilité de 50% et les atomes H sont représentés par de petites sphères de rayons arbitraires.

On remarque aussi une caractéristique très importante et intéressante de cette structure cristalline concernant l'arrangement 3D des molécules, qui donne lieu à un pseudo-dimère établie par les liaisons hydrogènes NH...O. Ce dernier forme un anneau $R_2^2(12)$ à 12 chaînons selon le « graphset theory [21-22] » comme le montre la **Figure2.3**. Plusieurs interactions faibles intermoléculaires participent à l'interconnexion moléculaire. Tels que les liaisons hydrogènes C-H...O établies par l'atome d'oxygène de motif sulfamide (O11 et O12) et carbonyle (O2).

Il existe aussi les interactions C-H....F à travers la fonction halogène comme le montre le **Tableau 2.4**. Toutes ces interactions conduisent à un réseau tridimensionnel infini.

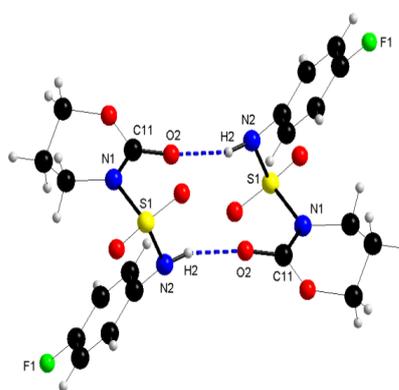


Figure2.3. Représentation de DIAMOND [23] d'un dimère cyclique $[R_2^2(12)]$ à 10 membres impliquant des interactions intermoléculaires NH...O. Les liaisons hydrogènes sont en pointillés bleu et liés tête à tête.

Tableau2.4. Liaisons d'hydrogène (les plus fortes) dans la structure **27d**

D-H...A ^a	d(DH) (Å)	d(H...A) (Å)	d(D...A)	d DH...A (°) (Å)
N2 – H2...O2 ^I	0.854(18)	2.04(2)	2.863(3)	162(2)
C12 – H12A...F1 ^{II}	0.97	2.42	3.234(3)	141
C12 – H12B...O2 ^{III}	0.97	2.46	3.283(3)	143
C14 – H14B...O12 ^{IV}	0.97	2.44	3.234(3)	138
C23 – H23...O11 ^V	0.93	2.42	3.282(3)	154

^a code de symétrie : (I), -x+2, -y, -z; (II), -x+2, -y, -z+1; (III), -x+1, -y, -z; (IV), x, -y-1/2, z-1/2 ; (V), -x+2, -y+1/2, -z+1/2.

2.1.5. Tests d'activité antibactérienne *In-vitro*.

2.1.5.1. Par la méthode de diffusion sur disque :

Tous les composés **27a-27f** ont été testés sur des souches bactériennes cliniques de type Gram positif (*S. aureus*) et deux autres types Gram négatif (*E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*), isolées chez des patients avec des infections diverses (cutanée, urinaire et pulmonaire) à l'Hôpital Universitaire d'Annaba. En utilisant la méthode de diffusion sur disque décrite dans la partie expérimentale (Chapitre 3), tous les composés synthétisés présentent des degrés divers d'effet inhibiteur sur la croissance des différentes souches testées (**Tableau 2.5**). Une activité importante a été observée pour le composé **27d** contre le *S. aureus*. Les composés **27a** et **27b** ont montré une activité modérée. Considérant que, les composés **27a**, **27c**, **27d** ont montrés une activité modérée contre *E. coli*. Pour la souche *P. aeruginosa*, les composés **27c** et **27d** ont montré une activité modérée, tandis que les composés **27e**, **27f** ont montré une faible activité contre toutes les souches de bactéries Gram négatif et Gram positif.

Tableau 2.5. Tests biologiques d'activité antibactérienne (300 µmol/L dans DMSO^a) de **27a-27f**

Composés	R	Zone d'Inhibition ^b (mm) à 300 µmol/L		
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
27a	Ph	13,1	10,2	8,1
27b	<i>p</i> -CH ₃ Ph	10,2	6,4	6
27c	<i>p</i> -OCH ₃ Ph	8,1	12,1	10
27d	<i>p</i> -FPh	21,1	11,1	14,1
27e	<i>p</i> -ClPh	6	8,1	8,3
27f	<i>p</i> -NO ₂ Ph	7,4	7,9	6,5
SD^c		26	20	24

^a Activité Antibactérienne déterminée par la méthode de diffusion sur disque comme décrit dans la partie expérimentale

^b [zone d'inhibition (mm) par la méthode de diffusion sur disque]: <10: activité faible; > 10: modérée; > 16: importantes.

^c Standard Drug (sulfisoxazole) [molécule de référence]

Dans le but de comparaison des résultats de cette sous-stratégie, nous avons également testé les analogues **26a-26f** synthétisés une nouvelle fois [5] (où (n=1) dans le schéma 2.2) contre les mêmes souches de test. Ces analogues contiennent un hétérocycle oxazolidine-2-one au lieu d'un hétérocycle perhydro-1,3-oxazinan-2-one comme nous l'avons décrit précédemment. Les résultats des essais des tests biologiques du **Tableau 2.6** montrent que les composés **26a**, **26b** et **26e** ont une activité significative contre la souche bactérienne Gram négatif (*P. aeruginosa*). Le composé **26d** a donné une activité modérée contre toutes les souches bactériennes Gram positif et Gram négatif. Tous les autres composés ont montré une faible activité contre toutes les autres souches testées.

Tableau 2.6. Tests biologiques d'activité Antibactérienne (300 μmol/L dans DMSO^a) de **26a-26f**

Composés	R	Zone d'Inhibition ^b (mm) à 300 μmol/L		
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
26a	Ph	8,7	9,1	19,2
26b	<i>p</i> -CH ₃ Ph	8,3	7,6	17,4
26c	<i>p</i> -OCH ₃ Ph	8,8	7,1	6
26d	<i>p</i> -FPh	10,3	11,2	11,1
26e	<i>p</i> -ClPh	8,2	8,5	26,2
26f	<i>p</i> -NO ₂ Ph	9,1	7,9	6
SD^c		26	20	24

^a Activité Antibactérienne déterminée par la méthode de diffusion sur disque comme décrit dans la partie expérimentale

^b [zone d'inhibition (mm) par la méthode de diffusion sur disque]: <10: activité faible; > 10: modérée; > 16: importantes.

^c Standard Drug (sulfisoxazole) [molécule de référence]

À travers ces résultats, nous suggérons que quelques composés actifs présentant certaines spécificités vis à vis du type de l'espèce testées. Dans la littérature, il est fréquent que certaines souches bactériennes soient sensibles à un antibiotique et résistantes à d'autres [24,25]. La comparaison des résultats d'inhibition des composés synthétisés **26a-26f** et **27a- 27f** est décrite dans la **Figure 2.4**. L'analyse de ces données montre que le composé **27d** se révèle le plus actif

contre les bactéries Gram positif (*S. aureus*), et le **26e** le plus actif contre les Gram négatif (*P. aeruginosa*). Mais pour *E. coli*, tous les composés ont montré une activité faible et /ou modérée. ces résultats préliminaires de la relation structure-activité (SAR) des composés contenant un hétérocycle perhydro1,3-oxazine-2-one montre que la nature du substituant en position *para* du noyau benzénique affecte l'activité antibactérienne d'une manière significative. Une tendance générale va dans le sens que les groupes non polaires sont plus favorables que les groupes polaires sur le noyau benzénique. Aussi la présence d'un substituant -H, méthyl (-CH₃), méthoxy (-OCH₃), et halogènes (-F, -Cl), fréquemment présents dans de nombreuses structures d'agents antibactériens donne une activité antibactérienne potentielle prometteuse contre toutes les souches testées. En revanche, la présence d'un groupement « nitro » à la position *para* du noyau benzénique réduit cette activité [26]. Par recoupement avec les résultats de l'étude par les rayons X, cette observation peut être attribuée au caractère électro-attracteur (EW) des substituants *para* du noyau benzénique [11].

Dans la **Figure 2.4**, nous pouvons observer facilement que les composés ayants un hétérocycle à six chaînons, 1,3-perhydrooxazin-2-one sont légèrement plus actif que ceux ayants un hétérocycle à cinq chaînons oxazolidin-2-one contre les bactéries Gram positif (*S. aureus*) et Gram négatif (*E. coli*) [1]. Pour les oxazolidin-2-ones **26a**, **26b** et **26e** où les substituants sur le noyau benzénique sont respectivement H, *p*CH₃, *p*Cl, montrent une activité significative contre les bactéries Gram négatif (*P. aeruginosa*).

2.1.5.2. Mesure des Concentrations minimales inhibitrices (CMI).

Les résultats obtenues après cet examen préliminaire de l'activité antibactérienne ont montré que les composés **27d**, **26a**, **26b** et **26e** sont les plus actifs, leurs valeurs de zone d'inhibition sont respectivement 21,1, 19,2, 17,4 et 26,2 (> 16 mm), Ces composés sont donc sélectionnés pour déterminer leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI) (**tableau 2.7**). Les résultats des essais biologiques du **Tableau2.7** montrent que la CMI de ces composés est comprise entre $7.292 \times 10^{-6} \text{M}$ et $1.031 \times 10^{-3} \text{M}$. Le composé **27d** semble être le plus actif contre les bactéries

Gram-positif et Gram-négatifs; Il inhibe la croissance de *S. aureus* à 2 $\mu\text{g/ml}$ ($7,292 \times 10^{-6}\text{M}$) et *E. coli* à 8 $\mu\text{g/ml}$ ($2,916 \times 10^{-5}\text{M}$). Par contre le composé **26^e** inhibe la croissance de la souche Gram-négatif (*P. aeruginosa*) à 8 $\mu\text{g/mL}$ ($2,891 \times 10^{-5}\text{M}$).

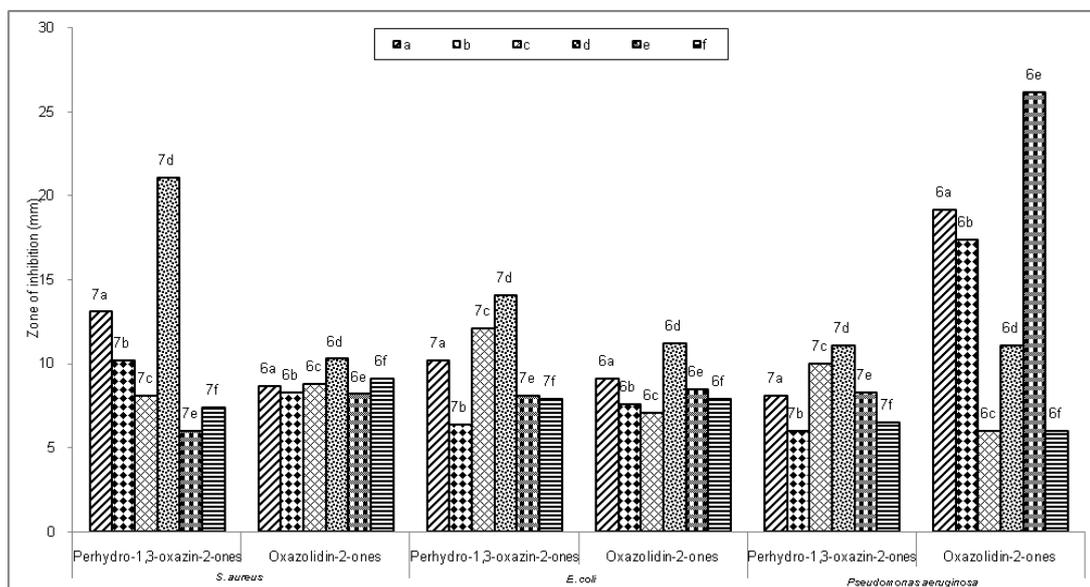


Figure 2.4. Comparaison d'activité antibactérienne des composés synthétisés **26a-26f** et **27a-27f**. Ces activités sont acceptables, tenons compte de la simplicité de ces structures par rapport à la molécule de référence [sulfisoxazole] ou d'autres agents antibactériens existants.

Tableau 2.7. CMI ($\mu\text{g/mL}$) des composés sélectionnés (**27d**), (**26a**), (**26b**) et (**26e**)

Composés	R	Gram positif		Gram- négatif
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
27d	<i>p</i> -FPh	2	8	16
26a	Ph	-	-	≥ 250
26b	<i>p</i> -CH ₃ Ph	-	-	16
26e	<i>p</i> -ClPh	-	-	8
SD^a		8	>125	62,5

^a Standard Drug (Sulfisoxazole) [molécule de référence]

(-) Non testés

Par ailleurs, il est bien connu que les sulfamides agissent comme inhibiteurs de dihydroptéroate synthase (DHPS) dans la voie de synthèse d'acide folique [27,28]. Mais tous ces composés ne possèdent pas un groupe amino (-NH₂) sur le noyau benzénique (bien qu'un groupe amino est essentiel pour l'inhibition.). Nous pouvons donc avancer simplement que les résultats

préliminaires de ce travail que le mécanisme d'action des composés **27d** et **26^e** est différent de celui des sulfamides.

2.1.6. Conclusions

A partir des résultats de cette première sous-stratégie organique de synthèse des perhydro-1,3-oxazine-2-ones *N*-substitués contenant un *N*-phénylsulfamide et leurs analogues oxazolidin-2-ones, plusieurs observations pertinentes sont révélées: (i) l'effet d'inhibition des composés testés est lié à la nature du substituant en position *para* sur le cycle benzénique, (ii) Hydrogène H, fluor, chlore, méthyl, méthoxy sont de bons substituants qui jouent un rôle principal dans l'activité biologique [1,3,4]., (iii) L'hétérocycle à six chaînons 1,3-oxazine-2-ones semble avoir une activité légèrement meilleure que celle des oxazolidin-2-ones. (iiii) les composés **27d** et **26^e** présentent respectivement une spécificité probable vis à vis des souches Gram positif (*S. aureus*) et Gram négatif (*P. aeruginosa*). En outre, cette activité antibactérienne de ces composés notamment **27d** et **26^e** nous encourage à penser à une nouvelle conception de biomolécules. Ceci suggère que la plupart de ces composés pourraient être utilisés comme des agents d'activité antibactérienne potentielle après quelques modifications mineures.

2.2. Réaction de Méthylation (accès aux produits *N*-méthylés)

2.2.1. Introduction.

Comme nous l'avons déjà mentionné (voir l'introduction générale) ce paragraphe est réservé à une deuxième sous stratégie organique déjà décrite dans un travail précédent [5], mais on la reproduit ici pour avoir une vue globale sur le contexte général de ce projet de recherche.

Par définition, la réaction de *N*-méthylation est une réaction qui se base essentiellement sur le caractère acide d'un proton labile d'une amine, par l'action de composés tels que les halogénures d'alkyles en milieu alcalin, ou diazométhane en milieu neutre. Cette réaction est très utile dans beaucoup de stratégie de synthèse multi étapes. Pour les séries des sulfamides, ce type de

méthylation a été décrit par **CATT** et **MATIER** [29] où ils utilisent le mélange d'iodure de méthyle et de carbonate de potassium dans l'Acétone comme solvant pour accéder aux analogues (mono ou bi) méthylés. (**Figure 2.5**).

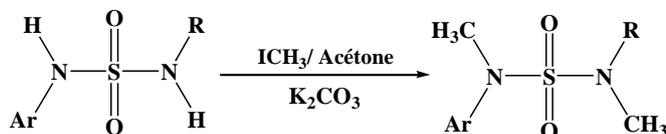


Figure 2.5. Réaction de *N*-méthylation décrite par CATT et MATIER [29]

2.2.2. Synthèse et caractérisation des composés *N*-méthylés :

Dans un but purement synthétique et afin d'améliorer l'activité biologique des oxazolidinones déjà synthétisées. Cette réaction nous a permis dans un travail précédent [5] d'obtenir une nouvelle série de composés *N*-méthylés analogues des produits **30a-30f** avec de très bons rendements. Cela est dû à l'existence d'un seul site de méthylation N-H de l'amine aromatique dans les structures des *N*-sulfamoyloxazolidinones ainsi que l'effet mésomère et/ou inductif des substituants sur le noyau aromatique qui facilitent l'accès aux produits *mono N*-méthylés **30** (schéma 3)

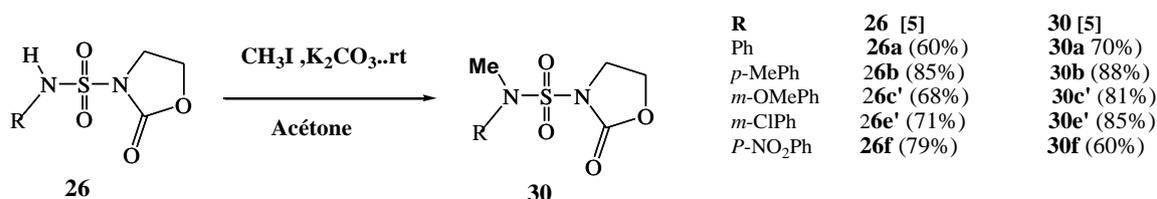


Schéma 2.3. Stratégie de synthèse de composés *N*-méthylés**30**

Ces réactions ont été conduites dans l'acétone anhydre. Les produits obtenus sont aussi des solides blancs à points de fusion plus bas que leurs précurseurs. La réaction est suivie par la chromatographie sur couche mince (CCM) qui donne une disparition progressive des taches des composés de départ **26** et l'apparition de nouvelles taches moins polaires correspondant aux produits méthylés**30**. Les structures ont été identifiées par les méthodes spectroscopiques usuelles. Le **Tableau 2.8** rassemble quelques propriétés physicochimiques de cette série de composé.

Tableau 2.8. *N*-méthyl, *N*-aryl, *N*'-sulfamoyloxazolidin-2-ones:

Ref	R	P.fusion (°C)	Rendement (%)	R _f ^a	FTIR (KBr, ν cm ⁻¹)			ESI-MS
					NH	C=O	SO ₂ [M-Na] ⁺	
30a	Ph	120-122	70.20	0.76	-	1770	1400	279.05
30b	<i>p</i> -CH ₃ Ph	96-99	88.01	0.74	-	1763	1412	293.01
30c'	<i>m</i> -OCH ₃ Ph	85-87	81.43	0.65	-	1740	1410	308.95
30e'	<i>m</i> -ClPh	70-72	85.53	0.68	-	1742	1433	312.98
30f	<i>p</i> -NO ₂ Ph	100-102	60.58	0.65	-	1790	1410	323.91

^a éluant CH₂Cl₂/MeOH (95 :5)

En spectroscopie infrarouge l'introduction du groupement méthyle est confirmée par la disparition de la bande d'absorption N-H et un léger effet sur les fréquences d'absorption de vibration antisymétrique du motif SO₂, tandis que celle de la vibration symétrique reste pratiquement inchangée. En RMN du proton la réaction de *N*-méthylation du N-H initialement fortement déblindé est mise en évidence par la disparition du signal de ce dernier et l'apparition d'un pic (singulet) entre 3 et 3.4 ppm attribué aux protons du groupement *N*-méthyle. La spectroscopie de masse à ionisation par électro-spray (**ESI-MS**) a donné des pics moléculaires qui coïncident avec les structures développées proposées.

2.2.3. Activité antibactérienne des composés *N*-méthylés.

Le but de ces tests bactériologiques est l'évaluation de l'activité antibactérienne des produits *N*-méthylés par rapport à celle de leurs analogues non-méthylés. La comparaison des CMI sur une souche bactérienne Gram positif (*Staphylococcus aureus*) est citée dans le **Tableau 2.9**.

Une analyse rapide de ces données confirme facilement l'amélioration claire de l'activité antibactérienne des composés **30b** et **30e'** avant et après la réaction de méthylation. L'intervalle de variation des concentrations minimales inhibitrices (CMI) entre 16-128 μ g/ml témoigne d'une activité antibactérienne potentielle de cette classe de molécule.

Tableau 2.9 Comparaison d'activité antibactérienne* entre les composés **26** et **30**

R	Composés 26	CMI (µg/ml)	Composés 30	CMI (µg/mL)
Ph	26a	16	30a	nt**
<i>p</i> -CH ₃ Ph	26b	64	30b	32
<i>m</i> -OCH ₃ Ph	26c'	>128	30c'	>128
<i>m</i> -ClPh	26e'	>128	30e'	32
<i>p</i> -NO ₂ Ph	26f	nt*	30f	nt*

* Sur une souche Gram-positif (*S.aureus*)

**Composés non testés

2.2.4. Conclusion

Les tests d'activités antibactérienne réalisés par la méthode des micro-dilutions de Mueller – Hinton sur une souche bactérienne Gram positif (*staphylococcus aureus*) de quelques composés *N*-méthylés synthétisés confirment l'amélioration de l'activité attendue. Cette activité antibactérienne de ces composés notamment **30b** et **30e'** nous encourage à une nouvelle conception de biomolécules plus actives à travers quelques modifications structurales.

2.3. Corrélation entre la lipophilie et l'activité antibactérienne des molécules de synthèses :

2.3.1.Introduction:

Dans une tentative de compréhension approfondie de l'activité antibactérienne et son amélioration pour les composés **26**, **27** cités dans les paragraphes précédents. Une étude de la relation entre les propriétés physico-chimiques et l'activité inhibitrice est d'intérêt. Sachant que la lipophilie est un paramètre physico-chimique, qui joue un rôle important dans l'activité biologique et la conception de médicaments. De nombreux travaux de recherche sur la relation entre l'activité antimicrobienne et la lipophilie des agents antimicrobiens de différentes classes ont été publiés [30]. C'est pour cette raison que le coefficient de partage des composés étudiés **26 a-f** et **27 a-f** a été étudié comme un paramètre de la lipophilie par la méthode des flacons – shake flask method-, qui est l'une des méthodes les plus utilisées pour la détermination du coefficient de partage qui donne généralement une bonne corrélation avec l'activité biologique.

Par ailleurs, les méthodes de calculs théoriques ont été également jugées utiles pour l'estimation des valeurs du coefficient de partage ($\log P$) [31]. Les résultats du calcul théorique de $\log P$ (estimée par le logiciel Chemdraw) ont été comparés avec les données expérimentales. La relation entre les valeurs obtenues et l'activité antibactérienne sur les différentes souches a été étudiée.

2.3.2. Quantification de la lipophilie

La lipophilie d'une substance est l'un des paramètres qui influence son activité biologique, elle est bien connu comme le premier descripteur physique dans les études SAR et QSAR (Quantité-Structure –Activity- Relationship) [32-34]. Les interactions hydrophobes des biomolécules avec leurs récepteurs, leurs comportements pharmacocinétique et leurs propriétés toxicologiques ainsi que les aspects pharmaceutiques comme la solubilité sont des exemples d'un nombre croissant de sujets où la lipophilie joue un rôle important. Traditionnellement, la lipophilie, citée par Hansch et Leo [35] est exprimée comme le logarithme du coefficient de partage (P) d'un soluté neutre ou mono-chargé comme indiqué ci-dessous:

$$\log P = \log \frac{C_o}{C_w}$$

Où C_o et C_w sont respectivement les concentrations à l'équilibre du soluté dans la phase organique (n-octanol) et aqueuse (eau), $\log P$ dépend de la température et du système de solvant utilisé [36]. Lorsque plus d'une espèce électrique sont présentes dans la solution, comme le cas des solutés ionisables, le rapport observé des concentrations est le coefficient de distribution (D), qui prend en considération la lipophilie intrinsèque des différentes espèces électriques présentes en solution et leurs concentrations relatives. La lipophilie dans ce cas dépend aussi du pH et du milieu. Une courbe sigmoïde appelée « profile de la lipophilie » est obtenue on reportant les valeurs de $\log D$ en fonction du pH.

a. Mesures expérimentales de la lipophilie (La méthode par agitation en flacon):

Parmi les techniques les plus utilisées couramment pour mesurer le coefficient de partage est la méthode dite la méthode par agitation en flacon « shake-flaskmethod », qui consiste à agiter les deux solvants (phases) jusqu'à ce que l'équilibre de partage du soluté est atteint puis la concentration dans chaque phase est mesurée. En contrôlant le pH dans la phase aqueuse, le coefficient de partage ($\log P$) des solutés neutres est mesuré.

En raison de sa simplicité et sa relation avec le phénomène de partage, cette technique « shake-flaskmethod » est considérée comme une méthode de référence à laquelle les autres méthodes sont validées. Cependant, il faut noter que cette méthode est laborieuse, longue, coûteuse, et ces résultats sont limités à des valeurs de $\log P$ entre -2 et 4 [37]. En outre, d'autres paramètres comme la précision du rapport de volume de phase, la stabilité, l'impureté ou la volatilité du soluté et/ou solvant, la formation de microémulsions, etc. peuvent affecter les résultats obtenus par cette technique [38].

En pratique, Il existe d'autres techniques expérimentales pour déterminer la lipophilie des biomolécules qui mettent en jeu les principes de la chromatographie moléculaire. La chromatographie sur couche mince en phase normale et en phase inverse est un exemple. Cette méthode est l'alternative de la méthode adoptée dans ce travail. Les avantages de la méthode par CCM sont la nécessité d'une quantité très minime et un temps de réalisation court. De plus, la chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (RP-HPLC) [39] est actuellement la méthode de choix pour la détermination des valeurs de $\log P$, car les résultats sont de bonne précision et reproductibles.

b. L'estimation théorique de la lipophilie:

Plusieurs méthodes de calcul théorique pour estimer des valeurs de $\log P$ ont été citées [40,41]. Généralement, elles sont basées sur un, deux, trois ou quatre dimensions de description de la structure moléculaire [42]. L'approche à deux dimensions de Rekker [43, 44] est basée sur les concepts de fragments et de facteurs de correction. L'avantage principal de cette méthode est sa

simplicité, ce qui la rend bien adaptée pour identifier les écarts entre les valeurs expérimentales et calculées de log P. Par ailleurs, parmi les approches bidimensionnelles, la méthode de Leo et Hansch (CLOGP) est probablement la plus utilisée [40, 41,45]. L'algorithme « CLOGP » est basé sur l'additivité des fragments moléculaires et l'utilisation de facteurs de correction. Alors que le nombre important et croissant de facteurs de correction rend l'algorithme CLOGP inutile pour calculer le coefficient de partage des composés complexes, et de trouver l'origine des écarts entre les valeurs expérimentales et calculées log P. Le principal inconvénient des méthodes à deux dimensions reste la perte d'information de la structure moléculaire. L'introduction des méthodes tridimensionnelle telles que le potentiel de la lipophilie moléculaire (MLP) [46] pour calculer une valeur de log P (obtenue par rétro-calcul de la surface accessible au solvant) permet de prendre en compte l'influence du changement des conformations au sein des structures, ce qui donnera des résultats plus performants.

2.3.3. Corrélation entre la lipophilie et l'activité antibactérienne des oxazolidinones (26 a-f):

Le système n-octanol / eau a été l'un des modèles les plus appropriés des membranes biologiques, en raison de l'analogie de n-octanol avec les lipides par sa longue chaîne alkyle et le groupe hydroxyle polaires. L'activité antibactérienne des oxazolidinones **26a-f** a été étudiée en fonction de la lipophilie estimée théoriquement et mesurée expérimentalement dans un système n-octanol/eau. Les valeurs du coefficient de partage des composés étudiés ainsi que les valeurs de CMI des composés les plus actifs sont cités dans le **Tableau 2.10**.

L'analyse des données montre que la lipophilie des composés testés est inférieure à 3. où une bonne activité antibactérienne est observée avec des composés ayant un $\log P_{o/w} > 0$. Les valeurs négatives de $\log P_{o/w}$ indiquent que ces composés sont trop polaires. Et leur pénétration est fortement entravée. Les composés actifs sont substitués à la position *para* (4) du cycle benzénique avec un chlore (Cl) et méthyle (CH₃). Ces composés substitués ont montré une activité antibactérienne plus élevée par rapport aux non substitués analogues (**26a**) et par conséquent leurs valeurs de $\log P_{o/w}$ sont les plus élevées. Des constatations similaires pour une

faible activité antibactérienne liée à une faible lipophilie des oxazolidinones substitués à la position *para* (4) du cycle benzénique possédant un groupement nitro (NO₂) et méthoxy (OCH₃).

Tableau 2.10. Structures, activité antibactérienne et lipophilie des composés **26a-26f**

Composés	R	CMI ^a (µg/ml)			Log P _{o/w} ^b	Clogp ^c	Log (1/CMI)
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>			
26a	Ph	-	-	≥250	- 0,20	1,594	2,986
26b	<i>p</i> -CH ₃ Ph	-	-	16	+ 039	2,093	4,204
26c	<i>p</i> -OCH ₃ Ph	-	-	-	- 0,43	1,513	-
26d	<i>p</i> -FPh	-	-	-	+ 0,56	1,737	-
26e	<i>p</i> -ClPh	-	-	8	+0,46	2,307	4,538
26f	<i>p</i> -NO ₂ Ph	-	-	-	- 0,82	1,337	-
SD^d		8	>125	62,5	-	-	-

^a concentration minimale inhibitrice, ^b Logarithme du coefficient de partage octanol-eau, ^c log P calculer théoriquement par le logiciel Chemdraw, ^d « Standard Drug » molécule de référence (sulfisoxazole)

Comme nous l'avons décrit dans le Chapitre 1, la présence des liaisons hydrogènes est importante pour l'activité biologique des biomolécules; ce résultat est dû probablement à l'effet des substituants sur la polarisation de la liaison N-H aromatique. Il apparaît clairement que log P varie légèrement entre les valeurs mesurés et estimés.

En revanche, un test de corrélation de Spearman (**Tableau 2.11**) a été utilisé pour examiner l'importance de la corrélation entre les coefficients de partition des composés étudiés par les différentes méthodes et leurs valeurs de la CMI. Les valeurs inférieures à 0,05 de P « P-value » ont été considérées comme significatives. Un examen rapide des données citées dans le **Tableau 2.11** révèle qu'une bonne corrélation statistique a été observée entre les valeurs calculées et les valeurs mesurées expérimentales, comme le montre les coefficients de corrélation de Spearman (ρ) qui étaient supérieurs à 0,95 (valeurs de P inférieure à 0,0002). Les résultats de cette étude indiquent que les deux méthodes expérimentales et théoriques sont appropriées pour prédire la lipophilie de cette classe de molécules. Il est important d'observer que la corrélation est plus

significative lorsqu'on exclut les valeurs du coefficient de partage de **26d**, dans ce cas une bonne régression linéaire ($R^2 = 0,947$) est observée (**figure 2.6**).

Tableau 2.11. Corrélation de coefficient de partage ($\log p$) et CMI des composés **26a-26f**.

Corrélation	Composés 26a-f		Composés 26 sauf 26d	
	ρ^d	P-value	ρ^d	P-value
Clogp ^c et $\log p$ expérimentale ^b	0,829 ^e	0,042	~1,000 ^f	>0.0002
$\log p$ expérimentale ^b et CMI ^a	~1,000 ^f	>0.0002	-	-
Clogp ^c and CMI ^a	~1,000 ^f	>0.0002	-	-

^a concentration minimale inhibitrice, ^b Logarithme du coefficient de partage n-octanol-eau, ^c $\log P$ calculer théoriquement par le logiciel Chemdraw, ^d coefficient de corrélation de Spearman, ^e Corrélation significative au seuil de 0,05. ^f Corrélation significative au seuil de 0,01.

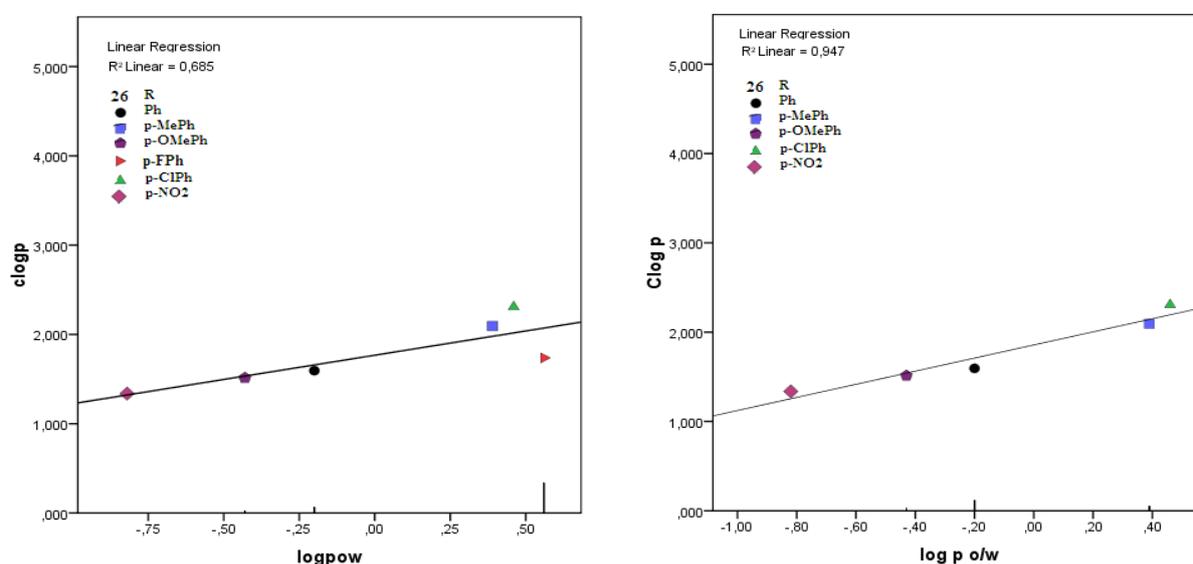


Figure 2.6. Corrélation des valeurs théoriques et expérimentales du coefficient de partage de **26**. Par ailleurs les données de l'activité inhibitrice contre *P. aeruginosa* déterminées en $\mu\text{g} / \text{ml}$ exprimées en logarithmes des CMI molaires ($\log 1/\text{CMI}$), utilisés généralement comme une variable dépendante dans l'étude QSAR (**Tableau 2.10**). Comme il est fréquemment observé [47], une corrélation entre l'activité biologique et le caractère hydrophobe a été établie. Nous observons que les corrélations entre les mesures de la lipophilie et les CMI sur la souche de *P. aeruginosa* sont statistiquement significatives (**Tableau 2.11**). Considérant les activités de **26a**, **26b** et **26e** sur *P. aeruginosa*, nous pouvons établir une corrélation linéaire entre $\log (1/\text{CMI})$ et

log (P) où la meilleure régression linéaire ($R^2 = 0,992$) a été trouvée entre la CMI et les valeurs de log P déterminées théoriquement (**figure 2.7**).

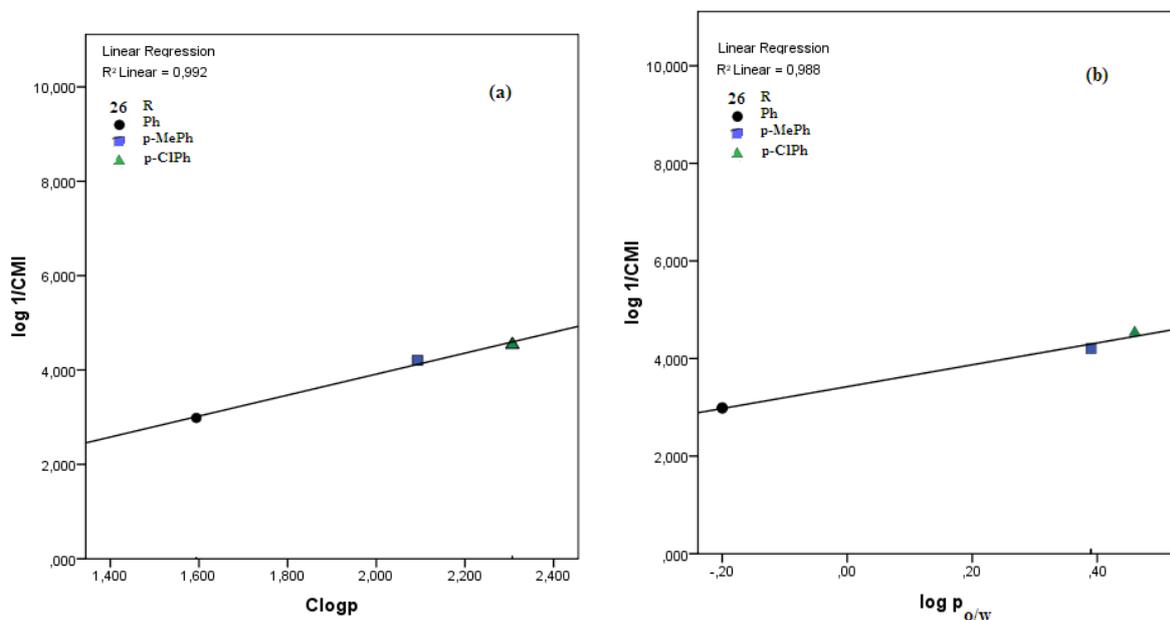


Figure 2.7.Corrélation de Log P théoriques (a) et expérimental (b) et CMI de **26a**, **26b**, **26e**

Comme il a été décrit précédemment et selon la **figure 2.7**, l'activité antibactérienne des oxazolidinones sur la souche Gram négatif (*P.aeruginosa*) est liée respectivement à la nature du substituant en position *para* (4) du cycle benzénique justifiant l'ordre suivant : chlore (Cl)>méthyle, (CH₃)>(H) analogue non substitués (**26a**). Ces résultats sont en parfait accord avec la littérature [48].

2.3.4. Corrélation entre la lipophilie et l'activité antibactérienne des Perhydrooxazinones :

L'activité antibactérienne des Perhydrooxazinones(**27a-f**) a été aussi étudiée en fonction de la lipophilie estimée théoriquement et mesurée expérimentalement dans un système n-octanol/eau. Les valeurs du coefficient de partage des composés étudiés ainsi que les valeurs de leur CMI les plus actifs sont citées dans le tableau **2.12**. Comme le montre le tableau **2.10**, la lipophilie des composés testés est inférieures à 3 et une bonne activité antibactérienne est observée avec les composés **27d** ayant un $\log P_{o/w} > 0$. Contrairement aux résultats trouvés précédemment avec les oxazolidinones, on peut observer clairement que le composé **27d** a la plus petite valeur positive de log P expérimental mais il présente une activité prometteuse contre tous les types de

souches testées en particulier sur *S. aureus*. Cette constatation suggère qu'il existe d'autres facteurs que la lipophilie tels que l'effet stérique et électronique qui peuvent avoir influences sur l'activité biologique.

Tableau 2.12. Structures, activité antibactérienne et lipophilie des composés **27a-27f**

Composés	R	CMI ^a (µg/ml)			LogP _{o/w} ^b	Clogp ^c
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>		
27a	Ph	-	-	-	0,62	2,544
27b	<i>p</i> -CH ₃ Ph	-	-	-	0,89	2,652
27c	<i>p</i> -OCH ₃ Ph	-	-	-	-0,16	2,070
27d	<i>p</i> -FPh	2	8	16	0,29	2,296
27e	<i>p</i> -ClPh	-	-	-	0,54	2,866
27f	<i>p</i> -NO ₂ Ph	-	-	-	-0,17	1,896
Log (1/CMI)		5,137	4,535	4,234	-	-
SD^d		8	>125	62,5	-	-

^a concentration minimale inhibitrice, ^b Logarithme du coefficient de partage octanol-eau, ^c log P calculer théoriquement par le logiciel Chemdraw, ^d « Standard Drug » molécule de référence (sulfisoxazole)

Un examen des données citées dans le **tableau 2.13** de corrélation de Spearman entre les valeurs théoriques et expérimentales de log P des composés étudiés montre une bonne corrélation statistique. Les résultats de cette étude indiquent que les deux méthodes expérimentales et théoriques sont également appropriées pour prédire la lipophilie de cette classe de composés.

Tableau 2.13. Corrélation de coefficient de partage (log *p*) et CMI des composés **27a-27f**.

Corrélation	Composés 27a-f		Composés 27 sauf 27e	
	ρ ^c	P-value	ρ ^c	P-value
Clogp ^b et log <i>p</i> expérimentale ^a	0,829 ^d	0,042	~1,000 ^e	>0.0002

^a Logarithme du coefficient de partage n-octanol-eau, ^b log P calculer théoriquement par le logiciel Chemdraw, ^c coefficient de corrélation de Spearman, ^d Corrélation significative au seuil de 0,05.

^e Corrélation significative au seuil de 0,01.

Cependant, considérant les données du **Tableau 2.13**, nous pouvons établir une corrélation linéaire entre les valeurs ClogP et logP_{o/w} (**Figure. 2.8**). Comme nous l'avons observé avec l'oxazolidinone **26**, la corrélation est plus significative lorsque les valeurs du coefficient de

partage de **26e** sont exclues du calcul. A cet effet une bonne régression linéaire ($R^2 = 0,958$) est observée.

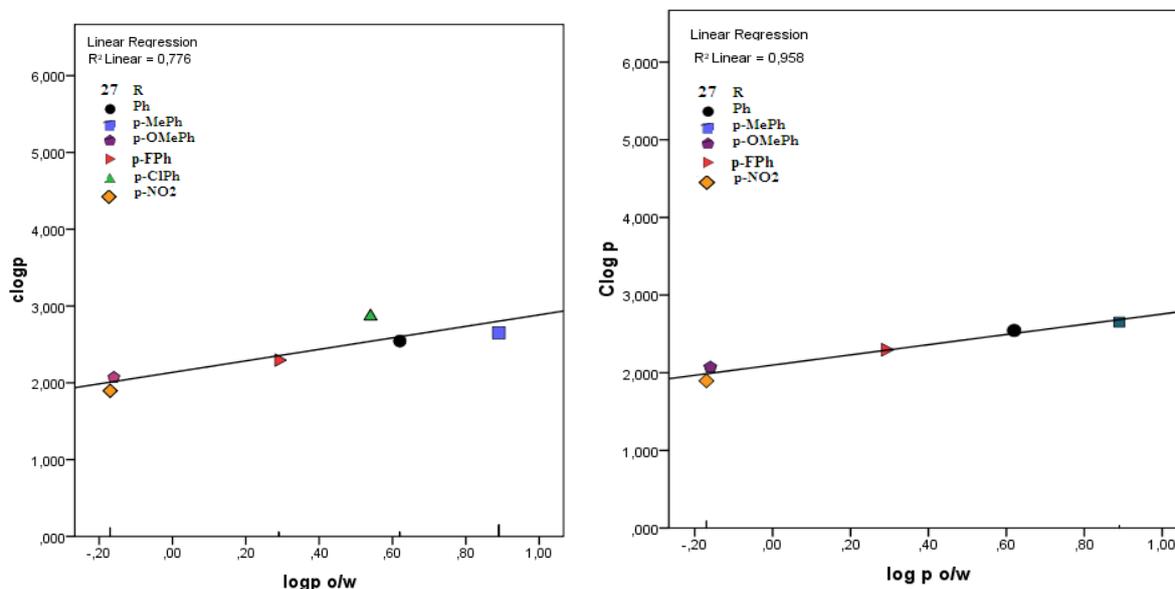


Figure 2.8. Corrélation entre valeurs théoriques et expérimentales du log P de **27**

2.3.5. Effet de la Stratégie organique sur la lipophilie des molécules synthétisées :

Pour mieux comprendre l'effet de la **Stratégie organique** (augmentation de la taille d'hétérocycle) sur l'activité antibactérienne et sa relation avec le coefficient de partage. Nous allons comparer dans ce paragraphe, la lipophilie des composés **26** et **27** avec le même substituant à la position *para* du cycle benzénique. Les données de la **Figure 2.9** montrent que la nature du substituant en position *para* du cycle phényle affecte la lipophilie d'une manière significative.

Mis à part le composé **27d**, une tendance générale montre que les composés perhydro-1,3-oxazin-2-ones à six chaînons ont montré des valeurs théoriques et expérimentales du coefficient de partage plus élevées que les oxazolidin-2-ones à cinq chaînons. Ce résultat est en accord avec l'étude statistique de J.Timothyet *al* [3] (Chapitre1) où il a été noté que seuls les systèmes de carbone (substituant sur un cycle benzénique ou des groupes benzénique condensés) en combinaison avec des hétérocycles non-polaire, auront un impact plus important sur l'augmentation de *clogp* ».

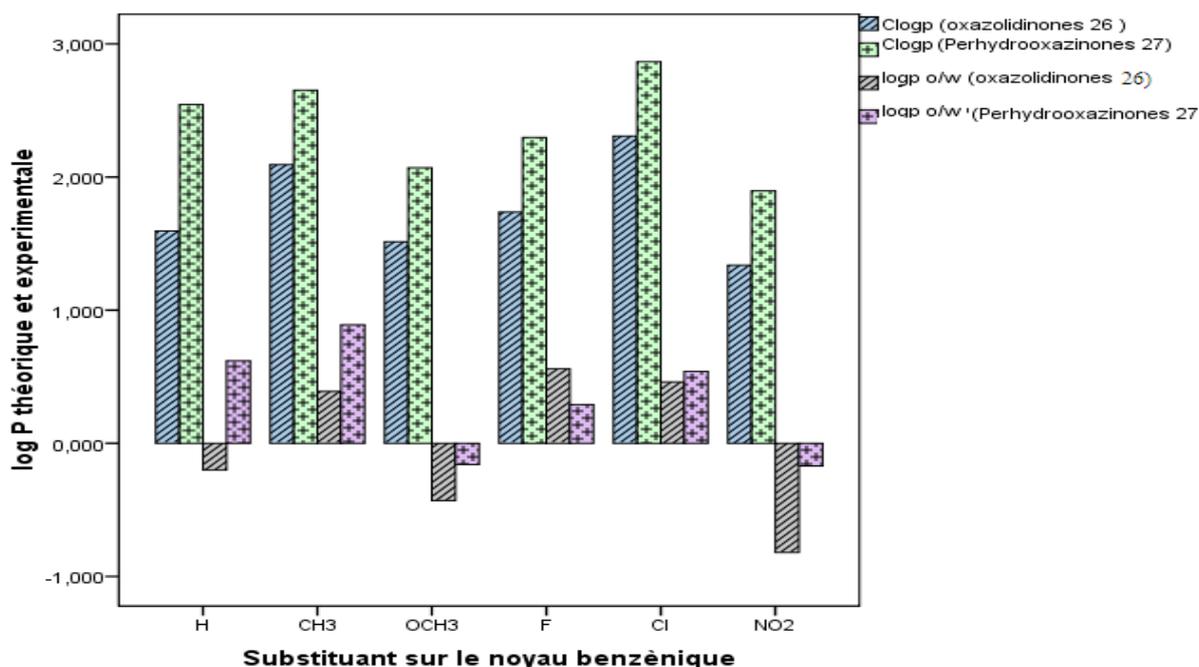


Figure 2.9. Comparaison de coefficient de partage des composés synthétisés 26a-f et 27a-f

Par ailleurs, lorsque tous les composés les plus actifs sont pris en compte dans l'analyse, les corrélations entre les différentes mesures de la lipophilie et la CMI sur espèce gram négatif « *P. aeruginosa* » sont statistiquement significatives, avec une régression linéaire entre $\log(1/\text{CMI})$ et $\log(P)$. Le meilleur résultat ($R^2 = 0,975$) a été trouvé entre la CMI et les valeurs $\log P$ déterminées expérimentalement (**Figure 2.10**).

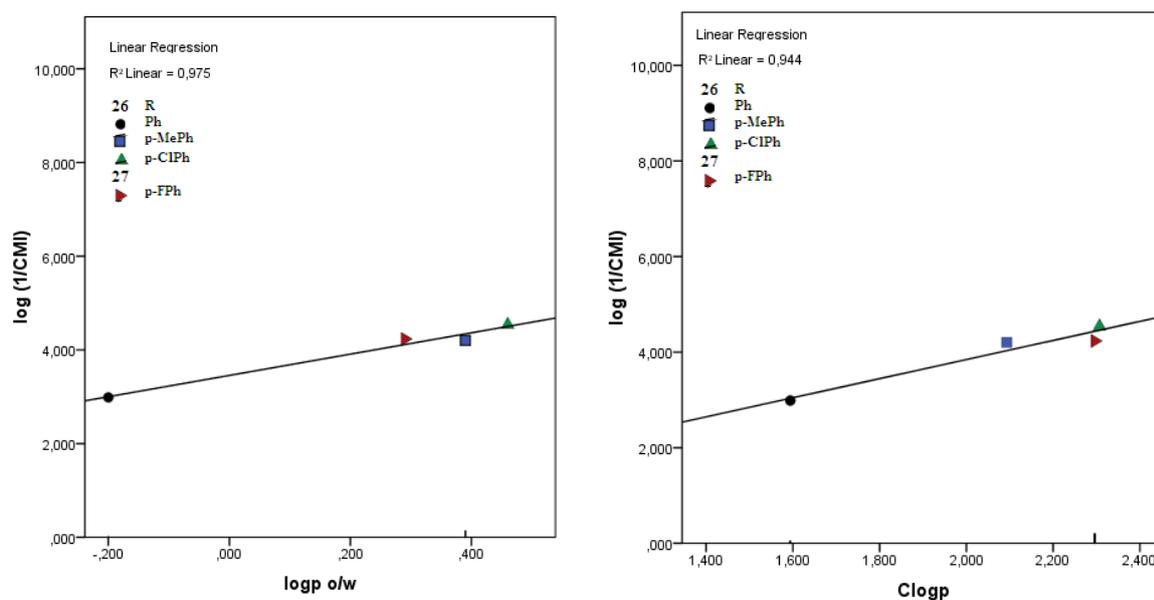


Figure 2.10. Corrélation entre $\log P$ et de tous les composés les plus actifs 26,27

Les résultats obtenus dans le cadre de ce présent travail confirment l'existence d'une relation entre la lipophilie et l'activité antibactérienne des composés perhydrooxazinone **27**, oxzazolidinones **26**. L'activité antibactérienne des composés testés sur des bactéries Gram positif (*S. aureus*) et Gram négatif (*P. aeruginosa*) augmente respectivement avec l'augmentation des valeurs de log P déterminée expérimentalement et théoriquement.

2.3.6. Conclusions:

A partir de cette étude comparative, plusieurs observations pertinentes sont révélées:

- a.** les composés perhydrooxazinone (**27**) oxzazolidinones (**26**), présentent une activité antibactérienne potentielle et une probable spécificité respectivement contre les bactéries gram positif (*S. aureus*) et Gram négatif (*P. aeruginosa*).
- b.** La lipophilie déterminée expérimentalement par la méthode des flacons a une bonne corrélation avec les valeurs calculées théoriquement par le logiciel ChemDraw.
- c.** Clog P estimée par le logiciel Chemdraw peut être utilisée comme descripteur moléculaire dans des études QSAR pour ces deux classes de composés.
- d.** Les Composés ayant un hétérocycle à six chaînons présentent une lipophilie supérieure et une activité biologique améliorée.
- e.** La lipophilie des composés déterminée expérimentalement est en bonne corrélation avec leurs activités antibactériennes.
- f.** Il est entendu que généralement, les composés ayant une lipophilie élevée présentent une activité antibactérienne meilleure.

Références bibliographiques la stratégie organique :

1. Wang, G.; Ella-Menye, J. R.; Sharma, V. *Bioorg. Med.Chem. Lett.*, (2006)16, 2177.
2. Yamana, K.; Suzuki, N.; Takahama, A.; Ine, S. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* ,JP 179572. 2002 [Chem. Abstr. 2002, 137, 57555].
3. Namba, K.; Zheng, Xi.; Motoshima, K.; Kobayashi, H.; Tai, A.; Takahashi, E.; Sasaki, K.; Okamoto , K.; Kakuta. H. *Bioorg. Med.Chem.*, (2008) 16 ,6131.
4. Basanagouda, M.; Shivashankar ,K.; Kulkarni , M.V.; Rasal ,V.P.; Patel , H.; Mutha , S.S.; Mohite , A. A. *Eur. J. Med. Chem.*, (2010) 45, 1151–1157.
5. Nessaib, M.; Abdaoui, M.; Djahoudi, A.G.; Kadri, M.; Winum. J-Y. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*. (2007) 2,131.
6. Yingjie, C.; Yushe, Y.; Kaixiane, C.; Ruyun, J.; Shuhua, Z. *Bioorg. Med.Chem. lett.*, (2003) 13, 2311.
7. Kim, S. J.; Jung, M.; Yoo, K.; Cho, J.; Oh, C. *Bioorg.Med. Chem. Lett.*, (2008) 18, 5815.
8. Jeon, H.; Jo Nam.; Cho, J.; Oh, C.H. *Eur. J. Med. Chem.*, (2007) 42, 358.
9. Dewynter, G.; Abdaoui, M.; Regain Z. *Tetrahedron.*, (1996) 52, 14217.
10. Abdaoui, M.; Dewynter, G.; Montero, J.L. *Tetrahedron. Lett .*, (1996) 37, 32, 5695.
11. Borghese, A.; Antoine, L.; Van Hoeck, J.P.; Mockel, A.; Merschaert, A. *Organic Process Research & Development*. (2006) 10, 770.
12. Kadri, M.; Djemil, R.; Abdaoui, M.; Winum, J-Y.; Coutrot, F.; Montero, J-L. *Bioorg .Med. Chem, Lett.*, (2005) 15, 4, 889.
13. Montero, J-L.;Dewynter, G.; Agoh, B.;Dclaunay, B.; Imbach, J-L. *TetrahedronLett.*, (1983) 24, 3091.
14. Agoh, B.; Dewynter, G.; Montero, J-L.; Leydet, A.; Imbach, J-L. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, (1987) 5, 867.
15. Oxford Diffraction (2008).CrysAlis CCD and CrysAlis RED. Oxford Diffraction Ltd., Abingdon, Oxford shire, England.
16. Altomare, A.; Burla, M.C.; Camalli, Cascarano, M.;G.L.; Giacovazzo, C.; Guagliardi, A.; Moliterni, A.G.G.; Polidori, G.; Spagna, R. *J. Appl.Cryst.*, (1999) 32, 115.
17. Sheldrick, G.M. *Acta Cryst A.*, (2008) 64, 112.
18. Farrugia, L.J. *J. Appl. Cryst.*, (1997) 30, 565.
19. Dokhane, S.; Benali-Cherif, N.; Abdaoui, M.; *Acta Cryst E.*, (2002) 58, 570.
20. Seridi, A.; Akkari, H.;Winum, J-Y.; Benard-Rocherullé, P.; Abdaoui, M. *Acta Cryst. E.*, (2009) 65, 2543.
21. Etter, M.C.; MacDonald, J.C.; Bernstein, J.; *ActaCryst B.*, (1990) 46, 256.

22. Bernstein, J.; E.Davis, R.; Shimoni, L.; Chang, N.L. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, (1995) 34, 1555.
23. Brandenburg, K.; Berndt, M. DIAMOND. *Crystal Impact GbR*, Bonn, Germany (2001).
24. Giacometti, A.; Cirioni, O.; Kamysz, W.; D'Amato, G.; Silvestri, C.; DelPrete, M. S.; Licci, A.; Riva, A.; Lukasiak, J.; Scalise, G. *Antimicrob. Agents Chemother.*, (2005) 49, 1249.
25. Swenson, J.A.; Spargo, J.; Tenover, F.C.; Ferraro; M.J.J. *Clin. Microbiol.*, (2001) 39, 3781.
26. Isik, K.; O'zdemir-Kocak, F. *Microbiological Research*. (2009) 164, 49.
27. Fenech, M.; Aitken, C.; Rinaldi, J. *Carcinogenesis*. (1998) 19, 1163.
28. W.Armstrong, S.Meshnick, P. Kazanjian, *Microbes Infect.* (2000) 2, 61.
29. Catt, J. D.; Matier, W. L. *J. Org.Chem.*, (1974) 39,4, 566.
30. Klimešová, V.; Svoboda, M.; Waisser, K.; Kaustová, J.; Buchta, V.; Králová, K. *Eur J Med Chem*, (1999) 34, 433-440.
31. Leo A. *Chem Rev.*, (1993) 93, 1281-1305.
32. Beteringhe, A.; Radutiu, A.C.; Bem, M.; Constantinescu, T.; Alexandru T and Balaban, *Internet Electronic Journal of Molecular Design.*, (2006) 5, 237-246.
33. Funar-Timofei, S.; Walter, M. F. Fabian, Georgeta M, Simu and Takahiro Suzuki, *Croatica Chemica Acta.*, (2006) 2, 79, 227 – 236.
34. (a) Forgacs, E.; Cserhatia, T.; Deyl Z.; Miksik, I. *Journal of Chromatography B.*,(2001) 753 887-92, (b) Hansch, C.; Leo, A.; Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology, Wiley-Interscience, New York, (1979).
35. Leo, A.; Hansch, C.; Elkins, D. *Chem. Rev.*, (1971) 71, 525-616.
36. Van De Waterbeemd, H.; Lennernäs, H.; Artursson, P. *Drug bioavailability: estimation of Solubility, Permeability, absorption and bioavailability.*Wiley-VCH, Weinheim, Germany,(2004) p26.
37. Dearden, J. C.; Bresnen, G. M. *Quant. Struct. Act. Rela.*, (1988) 7, 133-144.
38. Donovan, SF.; Pescatore, M C. *J Chromatorgr A.*, (2002) 952, 47-61.
39. Leo, A. J. *Chem.Pharm. Bull.*, (1995) 43, 512-513.
40. Leo, A. J. The future of log P calculation. In 'Lipophilicity in Drug Action and Toxicology', Eds. V. Pliska, B. Testa and H. van de Waterbeemd, VCH Publishers, Weinheim, (1996) pp. 157-172.
41. Carrupt, P. A.; Testa, B.; Gaillard, P. Computational approaches to lipophilicity: methods and applications. In 'Reviews in Computational Chemistry', Eds. D. B. Boyd and K. B. Lipkowitz, Wiley-VCH, New York, (1997) Vol. 11, pp. 241-315.

42. Rekker, R. F. the Hydrophobic Fragmental Constant, Ed. Nauta, W. T and Rekker, R. F. Elsevier, Amsterdam, (1977).
43. Rekker, R. F.; Mannhold, R. Calculation of Drug Lipophilicity, VCH Publishers, Weinheim, (1992).
44. DAYLIGHT Software 4.41. Daylight Chemical Information System, Inc., Irvine, California, (1995).
45. Gaillard, P.; Carrupt, P. A.; Testa, B.; Boudon, A. *J. Comput. -Aided Mol. Design.*, (1994) 8, 83-96.
46. Carrupt, P. A.; Gaillard, P.; Billois, F.; Weber, P.; Testa, B.; Meyer, C.; Pérez, S. The molecular lipophilicity potential (MLP): a new tool for log P calculations and docking, and in comparative molecular field analysis (CoMFA). In 'Lipophilicity in Drug Action and Toxicology', Eds. V. Pliska, B. Testa and H. van de Waterbeemd, VCH Publishers, Weinheim, (1996) pp. 195-217.
47. Kobarfard, F.; Khalaj, A.; Daryae, F. Ardeshir Larijany Z., Rezaee, S.; *DARU.*, (2008) 16, 2,55-59.
48. Sanja O. Podunavac-Kuzmanović, Dragoljub D. Cvetković and Dijana J. Barna. *Int. J. Mol. Sci.* (2009) 10, 1670-1682.

3. STRATEGIE INORGANIQUE :

Complexation par les métaux de transition (accès aux complexes organométalliques)

3.1. Introduction :

Les Sulfamides **31**(figure 3.1) et leurs dérivés sont largement utilisés en médecine en raison de leurs propriétés pharmacologiques telles que l'activité antibactérienne (voir chapitre 1). D'autre part les propriétés antimicrobiennes des métaux ont été reconnues depuis des siècles et ont représenté une des avancées les plus fondamentales dans l'histoire de la chimie médicinale [1,2]. Une modification des propriétés toxicologiques et pharmacologiques a été observée lorsque certains de ces sulfamides **31** sont administrés sous leurs formes complexées par des ions métalliques. Autour de ce dernier point, plusieurs auteurs ont rapporté des études sur les formes de coordination des sulfamides avec Cu (II), Ni (II) et Co (II) montrant la polyvalence de ces ligands et l'importance de leurs complexes en chimie de coordination [2-5]. On se basant sur un nombre important d'études similaires *in-vivo* et *in-vitro* qui indiquent que les composés biologiquement actifs deviennent plus bactériostatiques par chélation [6-7], nous avons essayé d'étudier la coordination de quelques composés *N*-aryl-*N'*-sulfamoyloxazolidinones **26** et analogues. Cette étude nous permettra de mieux comprendre la fonction des ions métalliques dans les systèmes biologiques et son impact sur l'activité antimicrobienne de ces molécules. Cependant, à l'issue de l'introduction de cette partie du travail, la question principale qui se pose est « est ce que la complexation de ces molécules avec des ions métalliques est possible ? », même si la réponse est « oui », quel sera le mode de complexation caractérisant ces composés lors de leur interaction avec des ions métalliques ?

A travers cette étude, nous essayerons de répondre à ces deux questions ; en décrivant la synthèse, la caractérisation et les propriétés fluorimétriques et électrochimiques de quelques complexes de choix tels que l'oxazolidinone **26** et son analogue *N*-méthylé **30** avec les ions métalliques Cu (II), Co (II) et Ni (II).

L'activité antimicrobienne des chélates métalliques a été évaluée en utilisant la technique de diffusion sur disque sur les mêmes souches bactériennes Gram positif (*S. aureus*) et Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*) testés précédemment (stratégie organique).

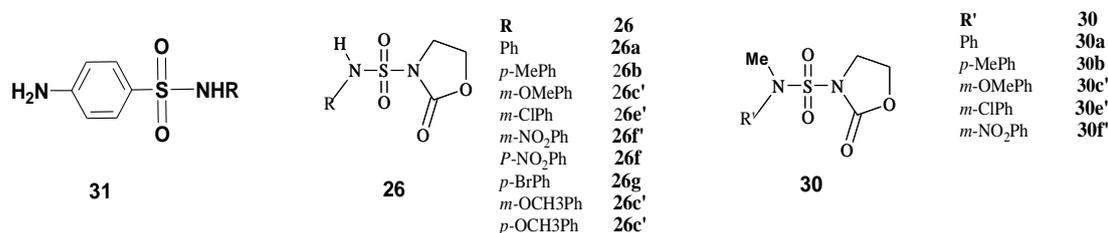


Figure 3.1. Structures générales des sulfamides et des ligands utilisés

3.2. Méthode générale de la Synthèse des complexes organométalliques :

Les complexes **C01-15** ont été préparés en ajoutant goutte à goutte, 20 ml d'une solution éthanolique de $MCl_2 \cdot x H_2O$, (0,01 mol (Fluka)) où ($M = Cu^{+2}, Co^{+2}, Ni^{+2}$ et $x = 2$ ou 6) à un mélange de 20 ml d'une solution du ligand (0,02 mol) dans d' EtOH, MeOH, CH_2Cl_2 , $CHCl_3$ ou de l'acétone avec quelques gouttes de solution de NaOH (0,1 N). Le mélange ainsi obtenu, est agité pendant deux heures. Le précipité formé est filtré, lavé avec de l'eau, séché à température ambiante et protégé de la lumière. Le **Tableau3.1** et **3.2** donnent les sulfamides hétérocycliques choisis comme ligands dans cette partie du travail.

Tableau 3.1. Les ligands *N*-Aryl, *N'*-sulfamoyloxazolidinones **26** et leurs complexes

Ligand ^a 26	R	Ions métalliques	Complexes
L26g	<i>p</i> -BrPh	Cu	C01
L26g	<i>p</i> -BrPh	Co	C02
L26b	<i>p</i> -MePh	Cu	C03
L26e'	<i>m</i> -ClPh	Cu	C04
L26f'	<i>m</i> -NO ₂ Ph	Cu	C05
L26f	<i>p</i> -NO ₂ Ph	Cu	C06
L26c'	<i>m</i> -OMePh	Co	C07
L26c	<i>p</i> -OMePh	Cu	C08

^ales composés **26** et analogues **30** seront appelés le long de cette partie « ligand » et notés avec un « L » suivie du code de la molécule choisi.

Tableau 3.2. Les ligands *N*-methyl *N'*-sulfamoyloxazolidinones **30** et leurs complexes

ligand 30	R'	Ions métalliques	Complexes
L30a	Ph	Cu	C09
L30a	Ph	Ni	C10
L30a	Ph	Co	C11
L30e'	<i>m</i> -ClPh	Cu	C12
L30f'	<i>m</i> -NO ₂ Ph	Cu	C13
L30c'	<i>m</i> -OMePh	Co	C14
L30b	<i>p</i> -MePh	Cu	C15

3.3.Caractérisation structurale des complexes organométalliques :

La détermination structurale des complexes organométalliques nous permettra plus tard de réaliser des études sur les relations structures-activités (SAR et QSAR (Quantité-Structure-Activity-Relationship) en faisant intervenir la structure de ces composés et leurs activités antibactériennes.

Les paragraphes suivants, seront consacrés à la caractérisation des complexes **C01-15** en solution, par trois techniques expérimentales: la spectrométrie de masse à ionisation par électrospray (ESI-MS), la spectrofluorimétrie d'absorption et d'émission et la voltamétrie cyclique.

Dans un premier temps, des méthodes spectrales usuelles telles que la spectroscopie infrarouge (FT-IR) et la spectrophotométrie (UV-Visible) ont été exploitées afin d'avancer des interprétations structurales, d'autre part plusieurs tentatives de cristallisation des complexes étudiés ont échoué.

A la lumière des résultats obtenus, nous tenterons d'évaluer le type de complexe formé majoritairement en solution et l'estimer à l'état solide. Une évaluation de l'activité antibactérienne fera l'objet du dernier paragraphe de cette partie du travail.

3.3.1. Caractérisation par spectroscopie FT-IR :

Les spectres **FT-IR** des complexes des métaux de transition ont été enregistrés entre 4000-400 cm⁻¹ et comparés avec ceux des ligands libres. La **figure 3.2** montre deux spectres

représentatifs qui montrent de nombreuses bandes caractéristiques de vibrations dans lesquels on constate, qu'il y a une modification nette entre les spectres infrarouges des complexes et ceux des ligands libres. Cette observation peut être expliquée souvent par le blocage et/ou la diminution de la résonance ou de degré de liberté des bandes de vibrations correspondant aux fragments organiques lors de la complexation. Certaines bandes sont devenues plus étroites et bien définies, autres plus large ...etc. par conséquent, les bandes caractéristiques les plus importantes impliquées dans la coordination peuvent être les plus affectées. Le **Tableau 3.3** résume les bandes d'absorptions principales et leurs affectations proposées.

Tableau 3.3. Données spectroscopiques FT-IR du ligand **L30e'** et son complexe de cuivre **C12**.

	νCH_a	νCH	$\nu\text{C=O}$	$\nu\text{C=C}$	νSO_2	$\nu\text{C-O}$	$\nu\text{S-N}$	$\nu\text{C-N1}$	$\nu\text{C-N2}$	$\nu\text{Cu-N}$	$\nu\text{C-O}$
ν (cm^{-1})	3500 - 2000		2000 - 950				950 - 400				
L30e'	3433,1	2935	1762,5	1581,5	1392,5	1195,6	968,2(1)	759,9	682,8(1)	-	543,9
				1477,4	1145,6	1037,6	910,2(2)		601,7(2)		489,9
Complexe	3436,9	2931,	1762,5	1581,5	1392,5	1195,6	968,2(1)	763,8	690,5(1)	466,7	547,7
(Cu⁺²)		6		1477,4	1145,6	1037,6	914,2(2)		609,7(2)		489,9
$\Delta\nu$ (cm^{-1})	+3,8	-3,9	00	00	00	00	00	+3,9	+7,7	-	+3,9
							+3,9		+7,8		00

Comme le montre le **tableau 3.3** les changements les plus importants sont observés entre 2000-3500 cm^{-1} , et 950 à 400 cm^{-1} , probablement en raison de la coordination de l'atome d'azote N avec l'ion métallique. En analysant les différentes régions du spectre du ligand et celui de son complexe **C12**, plusieurs conclusions peuvent être tirées. Une tentative d'affectation de certaines bandes dans les deux spectres FT-IR est donnée ci-dessous:

(a) la Région entre 2000-3500 cm^{-1} :

✓ Dans le spectre du **L30e'** une bande étroite à 2935,5 cm^{-1} est attribuée à la vibration de la liaison ν (CH) aromatiques, alors que dans le cas du complexe du métal (II) cette bande est déplacée vers une fréquence inférieure de 3,9 cm^{-1} , ceci est probablement dû aux interactions des liaisons hydrogènes dans le cristal, ce qui indique probablement que le site de la coordination avec l'ion métallique est du côté de la partie aromatique du ligand.

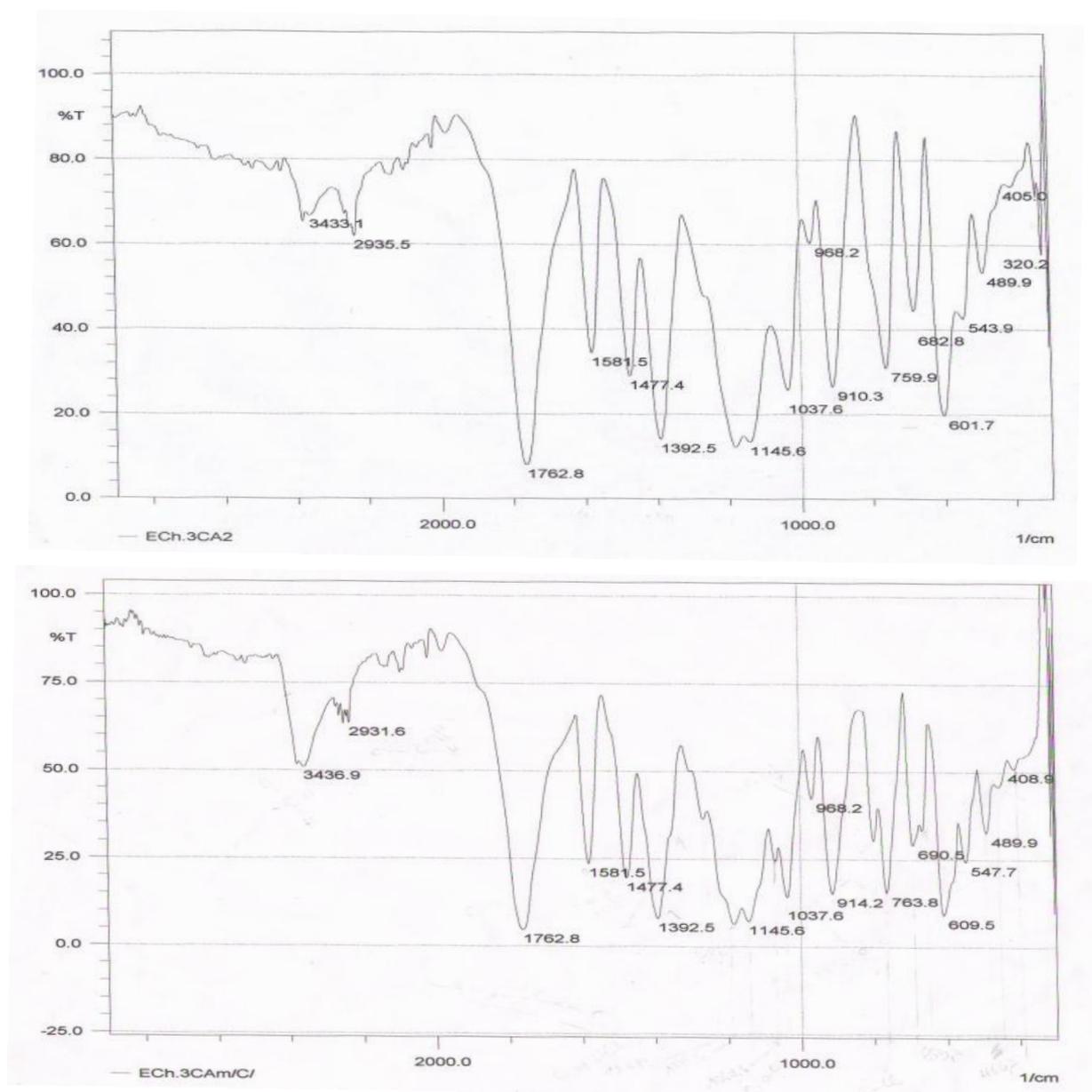


Figure 3.2. Spectre FT-IR (cm^{-1}) du ligand **L30e'** (en haut) et **C12** (en bas).

✓ La bande qui apparaît à $3433,1 \text{ cm}^{-1}$ dans le spectre du ligand libre **L30e'** a subi un déplacement à $3436,9 \text{ cm}^{-1}$ après complexation. Ce déplacement positif de $3,8 \text{ cm}^{-1}$, indique l'implication de l'atome d'azote aromatique N(2) dans la formation du complexe. Par ailleurs la forme et l'intensité de cette bande peuvent nous renseigner sur la présence de molécules d'eau dans les complexes. Dans la littérature on trouve que les bandes correspondantes à des molécules d'eau dans un complexe ne peuvent pas être clairement attribuées, en raison qu'elles se chevauchent avec d'autres signaux proches.

(b) la Région entre 2000-950 cm^{-1} :

- ✓ En général, le spectre FT-IR du complexe est similaire à celui observé pour le ligand libre. Les bandes observées dans cette région restent inchangées indiquant la non-implication de ce fragment organique dans le processus de coordination.
- ✓ La reproduction de la bande intense à $1762,8 \text{ cm}^{-1}$ attribué au groupement carbonyle (C=O) indique que l'hétérocycle oxazolidinone n'est pas impliqué dans la coordination.
- ✓ Les vibrations asymétriques et symétriques du groupe $-\text{SO}_2-$ observées respectivement à $1392,5 \text{ cm}^{-1}$ et $1145,6 \text{ cm}^{-1}$ restent inchangées. Ce qui a été déjà observé dans des complexes similaires des sulfamides [8]. En conséquence ces molécules ne coordonnent pas à travers ce groupe.
- ✓ La bande caractéristique d'absorption de la double liaison C=C du noyau aromatique a été observée respectivement à $1581,5 \text{ cm}^{-1}$ et $1477,4 \text{ cm}^{-1}$ avant et après la coordination.
- ✓ Les deux bandes qui apparaissent à $\sim 1195,6 \text{ cm}^{-1}$ et $1037,6 \text{ cm}^{-1}$ avant et après complexation sont attribuées à la simple liaison C-O.
- ✓ L'épaule à $1233,1 \text{ cm}^{-1}$ qui apparaît comme une petite bande dans le spectre du complexe est attribué à la vibration asymétrique C-N. En outre, le spectre du complexe présente aussi une nouvelle bande intense à $\sim 1064,6 \text{ cm}^{-1}$, qui est probablement affectée à la vibration symétrique de C-N.
- ✓ On constate que la bande de vibration de la liaison S-N(1) à $968,2 \text{ cm}^{-1}$ dans le spectre du ligand, reste inchangée. Ce qui explique la non-participation à la complexation. Ce comportement est le plus probable parce que nous croyons que la densité électronique dans l'atome N(1) hétérocyclique reste pratiquement identique. Par contre la deuxième bande ν (S-N(2)) observée à $914,2 \text{ cm}^{-1}$ se déplace vers les fréquences supérieures par $\sim 3,9 \text{ cm}^{-1}$ par rapport au ligand libre. Ce changement important confirme la participation de l'atome d'azote aromatiques N(2) au processus de coordination.

(c) la Région entre 950-400 cm⁻¹:

- ✓ Le déplacement des bandes vers des fréquences de vibrations les plus élevées dans cette région prouve la formation de complexe correspondant.
- ✓ Les bandes intenses observées à 759,9, 682,8, 601,7 cm⁻¹ dans le spectre de **L30e'** sont attribuées probablement aux vibrations des liaisons (C-N) hétérocycliques et aromatiques. Le déplacement de ces bandes dans le complexe vers la région des fréquences les plus élevées respectivement de 3,9, 7,7 et 7,8 cm⁻¹, indique l'implication de l'azote aromatique dans la coordination avec l'ion métallique. Cette interprétation est appuyée par l'apparition d'une nouvelle bande à 466 cm⁻¹ dans le complexe est attribuée au mode de vibrations ν (Cu-N).
- ✓ La bande située à 489,9 cm⁻¹ dans les spectres **de L30e'** est attribuée probablement à la vibration de la liaison ν (C-Cl) du noyau aromatique, qui reste inchangée dans le spectre du Complexe. Cependant, la deuxième bande attribuée à ν (C-O) de l'hétérocycle est légèrement affectée par la coordination avec un déplacement de 3,9 cm⁻¹ vers des fréquences plus élevées

3.3.2. Caractérisation par absorption UV-Visible

Pour comprendre les effets des différents ions métalliques de transition sur les propriétés optiques des ligands, nous avons enregistré les spectres d'absorption des ligands libres et de leurs complexes mononucléaires dans divers solvants. Les Spectres d'absorption sont très similaires pour un même ligand et/ou ion métallique dans le même solvant. Nous présenterons des exemples illustratifs pour la discussion de cette partie. La **Figure 3.3** donne la superposition des deux spectres UV-visible du ligand oxazolidinone **L26e'** et son complexe métallique **C04** enregistrés à température ambiante à partir de solutions de $2,10^{-4}$ M dans du DMF.

Comme on peut le constater dans la **figure 3.3**, le spectre UV-visible du ligand **L26e'** présente principalement deux bandes d'absorption ($\lambda_{\text{abs max}}$), situées à 302,6 nm avec le coefficient d'extinction molaire ϵ en accord avec les transitions π - π^* (10^4 L mol⁻¹ cm⁻¹). La même bande d'absorption est observée dans le spectre du complexe mais décalée après complexation vers des fréquences supérieures de $\sim 3,4$ nm. Ce décalage vers le rouge peut être expliqué par la réduction

de l'écart entre les niveaux énergétiques des orbitales moléculaires occupés et non occupés (HOMO-LUMO) [9,10]. Lorsqu'un ligand oxazolidinone est lié à un ion métallique, l'énergie HOMO augmente plus que celle de LUMO. Ainsi, la bande HOMO-LUMO est réduite en comparaison avec celle de l'oxazolidinone libre, de ce fait résulte le décalage vers le rouge de la bande d'absorption.

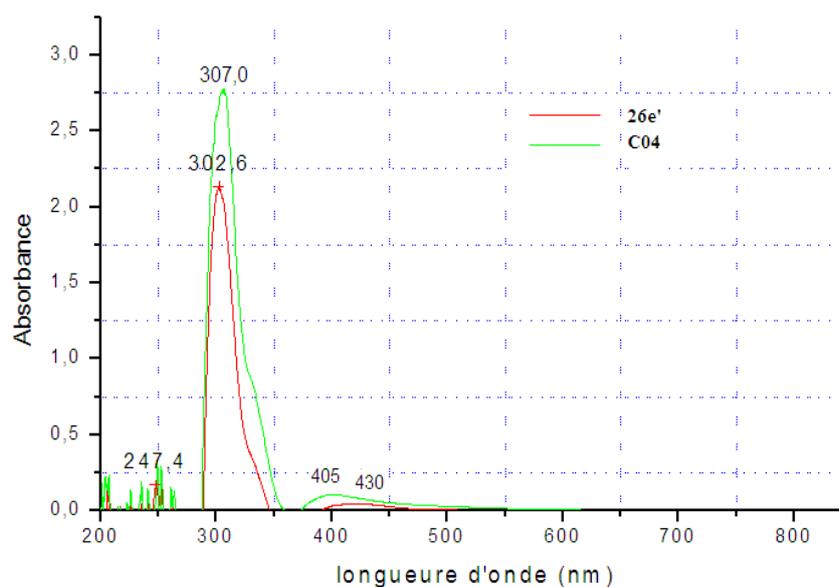


Figure 3.3. Spectre UV-visible du ligand **L26e'** et **C04** dans DMF

La bande large supplémentaire observée à $\lambda_{\text{abs max}} = 430$ nm est attribuée aux transitions $n-\pi^*$ du groupe amine dans le ligand. Dans le spectre du complexe, cette bande de transition $n-\pi^*$ est décalée vers des fréquences plus basses de ~ 25 nm ce qui indique que l'atome d'azote aromatique est impliqué dans la coordination du métal. Par ailleurs lorsque on introduit le groupement nitro (NO_2) en position *para* sur le noyau benzénique au lieu de l'atome de chlore, les spectres d'absorption relatifs au ligand **L26f** et à son complexe **C06** présentent pratiquement les mêmes remarques observées des déplacements des bandes d'absorption, mais avec une modification remarquable sur l'intensité et la forme de ces derniers (**figure 3.4**). Cela signifie que **L26f** a une conjugaison plus étendue que **L26e'**. Les pseudo-bandes observées dans la gamme 245-258 nm sont probablement dues aux transitions de transfert de charge intra-ligand [11].

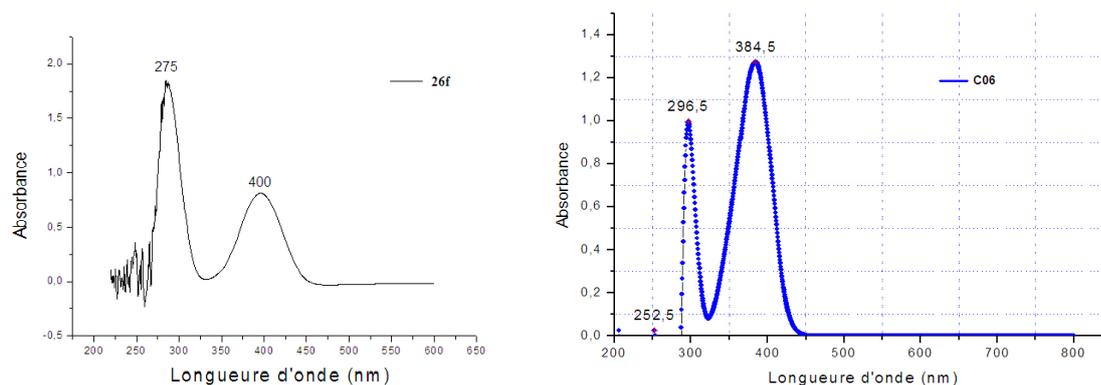


Figure 3.4. Spectre UV-visible du ligand **L26f** et **C06** dans DMF

En revanche des spectres électroniques obtenus dans la région visible des complexes **C02**, **C03** respectivement des ligands **L26g**, **L26b** (**figure 3.5 (a) et (b)**) ont été enregistrés dans le DMF à 10^{-4} M, montrent un épaulement et une large bande centrée à ~ 620 nm qui peuvent être attribués aux transitions d-d des ions métalliques [12]. Sachant que cette valeur suggère un environnement **octaédrique** autour de l'ion Cu (II) [13].

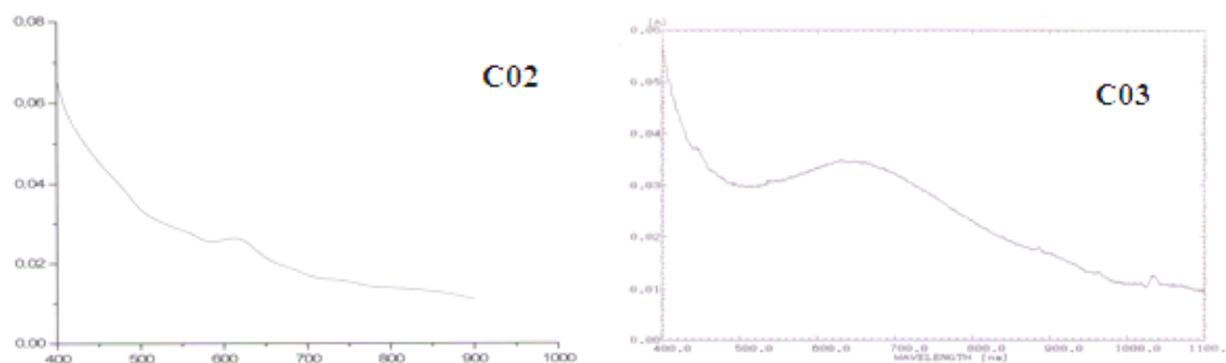


Figure 3.5. Spectre dans le Visible : (a) **C02**, (b) **C03** dans DMF

Cette dernière bande a subi un déplacement significatif de ~ 70 nm vers les longueurs d'ondes les plus basses dans CHCl_3 avec le complexe **C15** de l'analogue *N*-méthylé **L30b** (**figure 3.6 (a)**). On suggère ici que ce déplacement est dû à l'effet de méthylation sur le type d'interactions des liaisons d'hydrogènes inter et/ou intramoléculaires entre les groupes fonctionnels de la molécule complexée et les molécules de solvant (l'effet du solvant) **figure 3.6 (b)**. Cette suggestion ouvre de nouvelles pistes pour la compréhension du mode d'action de ces complexes au niveau de leurs cibles biologiques. Dans la bibliographie ce déplacement est expliqué aussi par l'occupation des positions axiales par des molécules de solvant.

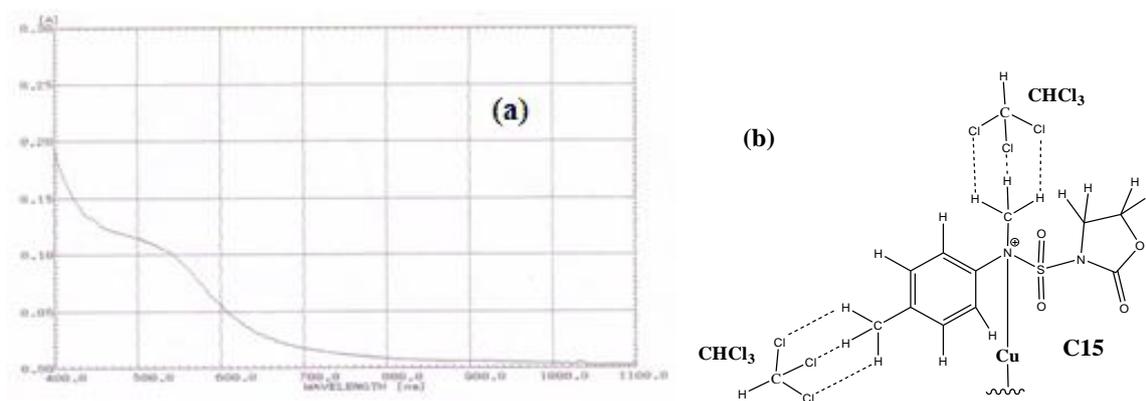


Figure 3.6. (a) Spectre dans le Visible de **L30** et **C15** dans CHCl_3 , (b) effet de solvant.

Dans le même contexte d'étude, une tentative de changement de l'ion métallique (cuivre) par le cobalt, nous a donné les spectres électroniques dans la région du visible pour les complexes **C07** et **C14** des ligands **L26c'** et **L30c'** (analogue *N*-méthylé) dans le Méthanol. L'analyse de ces deux spectres révèle l'apparition de deux bandes d'absorptions respectivement à 405 et 505 nm sont attribuées aux complexes du cobalt (II) hexa coordonnés à spin d^7 élevé. une formule générale $[\text{CoL}_2(\text{H}_2\text{O})_4]$ à été proposé (**figure 3.5 (a) et (b)**)

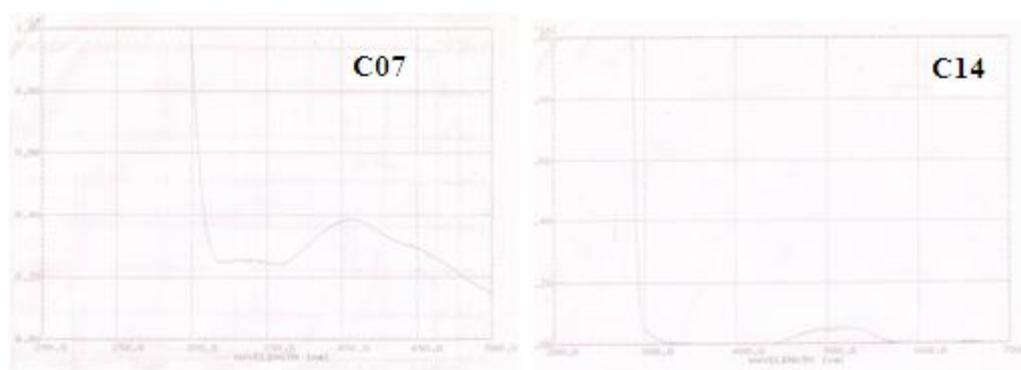


Figure 3.7. Spectre dans le Visible de **C07** et **C14** dans le Méthanol

Les bandes à 405 nm et 505 nm peuvent être affectés à un effet « spin-orbite ». Le déplacement de la bande d'absorption observée (~ 100 nm) entre les deux complexes signifie que le ligand **L26c'** a une conjugaison plus étendue que **L30c'**. Comme conclusion de ce paragraphe et en combinaison avec les résultats d'étude FT-IR, nous pouvons avancer une structure probable hexacoordonnée $[\text{ML}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O} (\text{M} = \text{Cu}, \text{Co})]$ pour les complexes préparés

3.3.3. Caractérisation par spectrométrie de masse ESI-MS.

La spectrométrie de masse à ionisation par électro-spray (en mode positif et négatif) est une technique de choix pour étudier les complexes organométalliques en solution. En effet, cette méthode d'ionisation très douce permet de visualiser l'ion moléculaire intact en conservant les liaisons non covalentes entre le métal et ces ligands. On peut ainsi caractériser les différentes espèces présentes dans une solution donnée [14-16]. Après avoir dissoudre les échantillons des différents complexes dans du méthanol. La solution initiale est diluée 10 fois pour atteindre une concentration finale d'environ **0.2 mg/ml**.

3.3.3.1. Caractérisation structurale du complexe C01 :

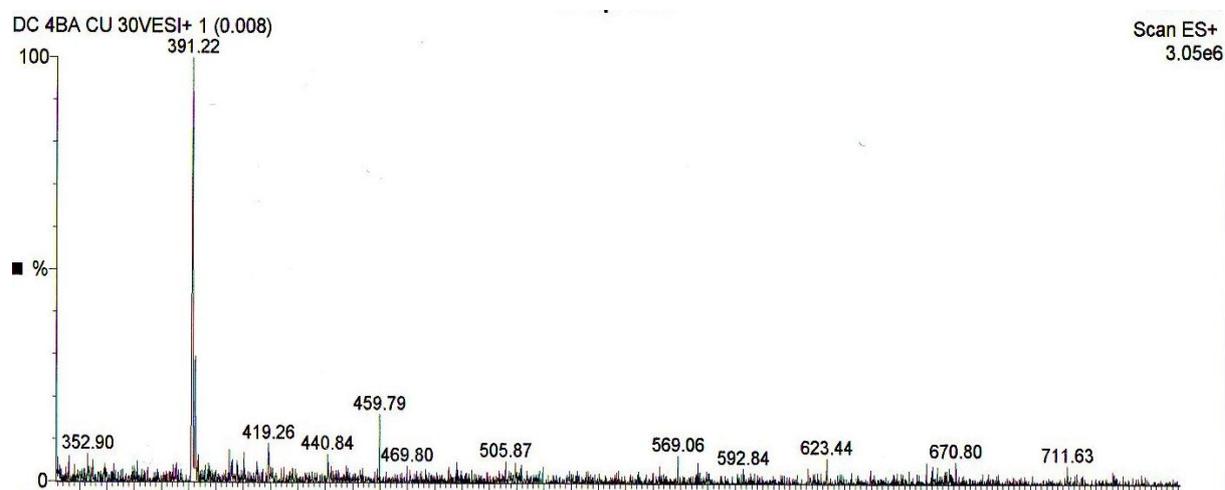
Nous avons obtenu le complexe de cuivre **C01** du ligand **L26g** dans les conditions expérimentales décrites précédemment, le spectre enregistré en mode positif à 30V est présenté dans la **Figure 3.8**. Avant d'analyser ces résultats, il faut rappeler que le cuivre possède deux principaux isotopes: ^{63}Cu à 69.09 % et ^{65}Cu à 30.91%. Les pics attribués aux complexes de cuivre seront dès lors théoriquement dédoublés dans ces proportions. Lorsque le complexe présente une charge +1, l'écart entre ces pics est de deux unités. La composition isotopique du cuivre peut ainsi faciliter l'identification des différents pics du spectre. **Le tableau 3.4** regroupe les valeurs des pics observés sur le spectre, leurs abondances relatives, l'espèce correspondante ainsi que la valeur théorique du rapport masse/charge de cette espèce. Il est facile d'observer que la **figure 3.8** est caractérisée par un grand nombre de pics, traduisant une grande variété d'espèces en solution. Les deux pics principaux peuvent être relevés. L'espèce majoritaire ($m/z = 391,22$) est attribuée au complexe de type ML_2 formé par deux ligands **L26g** où l'un des deux ligands est protoné et par conséquent l'ion **cuivreux** porte donc une charge +1 associée à un ion K^+ fréquemment présent dans cette technique amenant la charge totale +2. La présence de la même espèce en solution peut être visualisée par un autre pic dont le rapport m/z vaut 352,90, correspondant au même complexe, formé par deux ligands **L26g** neutres et l'ion **cuivrique** et porte également une charge (+2).

Tableau 3.4. Espèces observées en solution pour **C01** par spectrométrie de masse (ESI-MS).

L26g /Cu	Masse du ligand	M= 321,15	(R = pBr)	
Espèce en solution	charge	% ^(b)	m/z observé ^(a)	m/z théorique
2L+ Cu ²⁺	+2	6,6	352,90	352,92
2L+H ⁺ +Cu ²⁺ + Cl + K ⁺	+2	100	391,22	391,19
L+ Cu ²⁺ + Cl	+1	10	419,26	419,14
L+ H ⁺ + Cu ²⁺ + Cl+ H ₂ O	+1	5	440,84	439,17
L+ Cu ²⁺ + Cl+ K ⁺	+1	17,3	459,79	459,25
L+ Cu ²⁺ + Cl+H ₂ O+ MeOH	+1	<5	469,80	470,20
L+ Cu ²⁺ + Cl+3H ₂ O+ MeOH	+1	<5	505,87	505,90
2L+ Cl	+1	<5	711,63	711,18

(a) Les valeurs des pics correspondent au rapport m/z d'espèces observées.

(b) Les abondances relatives sont exprimées en %.

**Figure 3.8.** Spectres de masse de complexé **C01**.

Remarquons que le complexe symétrique possédant deux ligands déprotonés n'est pas observable par ESI-MS puisque sa charge est nulle. Par ailleurs un pic moins important est observé à $m/z = 459,79$ de charge +1, en faible proportion, pourrait correspondre à un seul ligand neutre complexé au cuivre et associé à un ion K^+ et un atome de chlore.

Notons de nouveau que le complexe possédant deux atomes de chlore est neutre et ne peut donc être observé en spectrométrie de masse. La présence de ce dernier en solution est confirmée par le pic ($m/z = 419,26$) qui correspond à la même espèce mais dans ce cas, sa charge +1 révèle une réduction très probable de l'ion cuivrique en ion cuivreux. Enfin, les autres pics restants sont en faible proportion et sont plus délicats à assigner mais on suppose qu'ils pourraient

correspondre à un seul ligand complexé au cuivre complété par des molécules d'eau et/ou du solvant. Tels est le cas des pics ($m/z = 440,84$), ($m/z = 469,80$) et ($m/z = 505,87$).

De plus, il n'est pas exclu que les conditions d'ionisation, même très douces, favorisent l'apparition de certaines espèces, comme par exemple des complexes plus exotiques tels que ceux formés à partir de deux ligands organiques ($m/z = 711,63$). On peut donc dire qu'en solution, **C01** persiste principalement sous la forme mononucléaire **CuL₂**, on remarque aussi que les complexes polynucléaires ne sont pas présent ce qui exclut leurs possibilité de présence à l'état solide.

3.3.3.2. Caractérisation structurale du complexe C02 :

Le spectre du complexe **C02** a été enregistré pour le même ligand **L26g** avec l'ion métallique Co^{+2} dans les mêmes conditions expérimentales afin de déterminer l'effet de la nature de l'ion métallique sur le mode de complexation. Les pics en mode positif à 50V et leurs attributions (**tableau 3.5**) montrent que le complexe de cobalt est aussi caractérisé par un grand nombre de pics, traduisant une grande variété d'espèces en solution qu'on ne peut pas les interprétés tous (**Figure 3.9**). Mais la remarque la plus importante ici c'est qu'on retrouve presque les mêmes espèces en solution pour **C01**, même si leurs abondances relatives varient faiblement. La même analyse que celle du spectre **C01** peut être faite ici : le premier pic correspond en effet à l'espèce majoritaire ($m/z = 369,36$) d'un complexe (type **ML₂**) de charge +2 associé à un ion K^+ formé par deux ligands **L26g** où l'un des deux déprotonés est l'ion de cobalt. *A priori*, une fonction sulfamide (SO_2) n'est pas acide ($\text{pK} \sim 11$) [17], il est donc improbable d'observer une telle déprotonation lorsque le ligand est libre. Mais lors d'une réaction de complexation avec un métal de transition, cette déprotonation est couramment observée lorsque la chélation se produit via l'azote d'une fonction sulfamide. Elle est cependant plus rare lorsque la chélation se produit par un oxygène amidique; le deuxième pic ($m/z = 541,51$) apparaît dans le spectre en proportion de 66%. (**Figure 3.9**) est presque le même complexe monodentate observé précédemment avec l'ion de cuivre ($m/z = 505,87$) associé à un

ion K^+ . Contrairement au spectrogramme du complexe **C01** Le ligand **L26g** libre associé à un ion Na^+ est également présent en proportion plus de 38 % ($m/z = 345,09$). Une association de deux fragments de complexes est proposée à travers la présence du pic ($m/z = 726,97$) complété par une molécule d'eau et de solvant.

Tableau 3.5. Espèces observées en solution pour le complexe **C02** par spectrométrie de masse (ESI-MS).

L26g / Co	Masse du ligand	M= 321,96	(R = pBr)	
Espèce en solution	charge	% ^(b)	m/z observé	m/z théorique
$2L-H^+ + Co^{2+} - C_3H_4NO_2 + Na^+$	+2	34,6	317,77	317,84
$L + Na^+$	+1	38,6	345,09	344,96
$2L-H^+ + Co^{2+} + K^+$	+2	100	369,36	369,16
$L-H^+ + Co^{2+} + MeOH$	+1	30,6	411,60	411,11
$L + Co^{2+} + Cl + 2H_2O + K^+$	+1	34,6	490,04	490,66
$L + Co^{2+} + Cl + 3H_2O + MeOH + K^+$	+1	66,6	541,51	540,71
$2(2L + Co^{2+}) + H_2O + MeOH$	+2	17,3	726,97	726,26

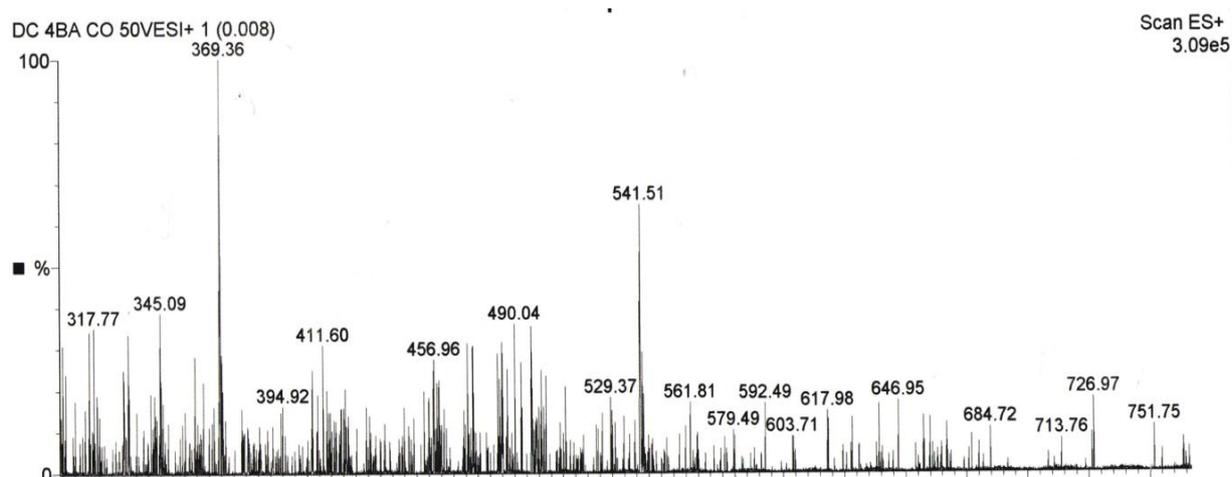


Figure 3.9. Spectres de masse de complexe **C02**

Nous pouvons remarquer par analyse des pics que ce spectre met en évidence la présence de pic $m/z = 317,77$ de masse inférieure à celle du ligand libre, correspondant probablement à l'espèce $2L-H^+ + Co^{2+} - C_3H_4NO_2 + Na^+$ (fragment du complexe formé par deux ligands (espèce majoritaire.)) Cette espèce de charge +2 est formée par deux ligands $2L-H^+ + Co^{2+}$ avec le départ d'un hétérocycle oxazolidinone. **Ceci montre que cette partie de la molécule ne contribue pas à la coordination avec l'ion métallique. La même supposition a été proposée précédemment dans l'étude structurale par spectroscopie électronique UV-visible et infrarouge.**

3.3.3.3. Caractérisation structurale du complexe C03 :

L'analyse du spectre de **C03** de ligand **L26b** est plus délicate (**Tableau 3.6**). Contrairement aux complexes **C01** et **C02**, Le spectre de masse de **C03** enregistré en mode positif à 30V est caractérisé par une proportion très importante de ligand libre protoné (**Figure 3.10**). Il n'est pas vraiment étonnant de n'avoir pas obtenu le complexe en cristallographie, puisqu'il est déjà minoritaire en solution. Aussi on remarque clairement l'absence des pics qui correspondent aux complexes de type **ML₂**. A part ces deux différences notables on observe presque les mêmes espèces en solution trouvées avec **C01**. En effet, mis à part le pic majoritaire (ligand libre), trois pics correspondent aux espèces formées d'un ligand **L26b** et de l'ion cuivrique sont : à $m/z=197,05$, il s'agit du complexe de charge +2 comprenant un ligand déprotoné; sa charge +1 montre une réduction de l'ion cuivrique en ion cuivreux Associé à un ion Na^+ et complété par un atome de chlore et une molécule d'eau.

Tableau 3.6. Espèces observées en solution pour le complexe **C03** par spectrométrie de masse ESI-MS

L26b /Cu	Masse du ligand	M= 256,28	(R = p CH₃)		
Espèce en solution	charge	% ^(b)	m/z observé	m/z théorique	
$\text{L-H}^+ + \text{Cu}^{+2} + \text{Cl} + \text{H}_2\text{O} + \text{Na}^+$	+2	67,5	197,05	197,63	
$\text{L} + \text{H}^+$	+1	100	257,00	257,28	
$\text{L-H}^+ + \text{Cu}^{+2} + \text{Cl} + \text{H}_2\text{O}$	+1	20,2	372,80	372,28	
$\text{L-H}^+ + \text{Cu}^{2+} + \text{Cl} + 4\text{H}_2\text{O} + 2\text{MeOH}$	+1	13,5	490,65	490,41	
$(\text{L} + \text{H} + \text{Cu}^{2+} + \text{Cl}) + (\text{L} + \text{Cu}^{2+} + \text{Cl}) + 2\text{Cl}$	+1	16,6	782,51	782,46	

La même espèce en solution de charge +1 est observée à travers le pic de $m/z = 372,80$. Quand des molécules d'eau et du méthanol (solvant) viennent s'ajouter sur cette espèce, un pic apparaît ayant un rapport $m/z = 490,65$.

Enfin, l'origine du pic observé en $m/z = 782,51$ reste indéterminée mais il pourrait correspondre à une association de plusieurs fragments des complexes formés.

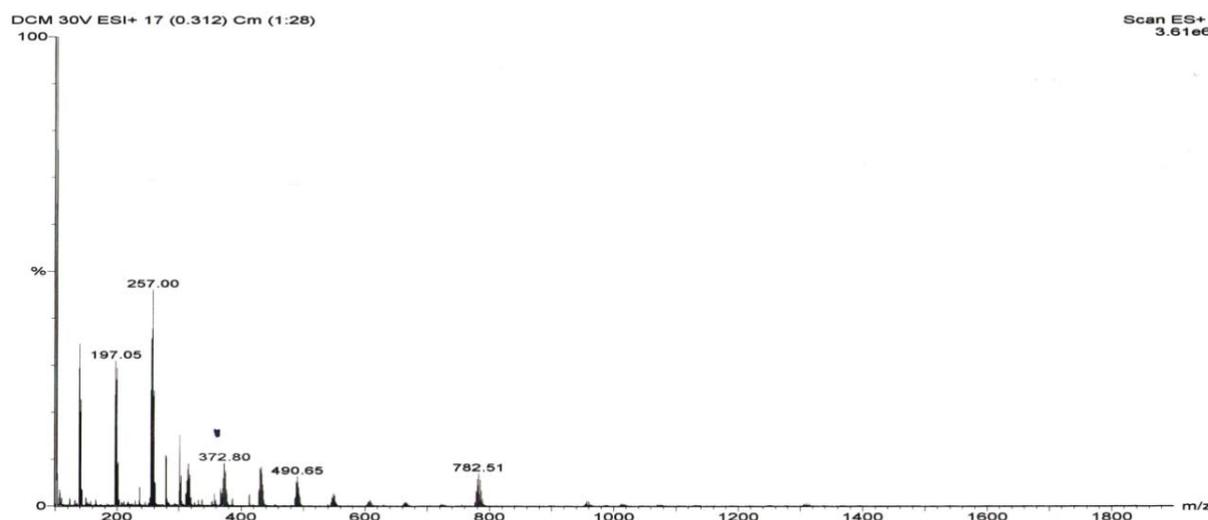


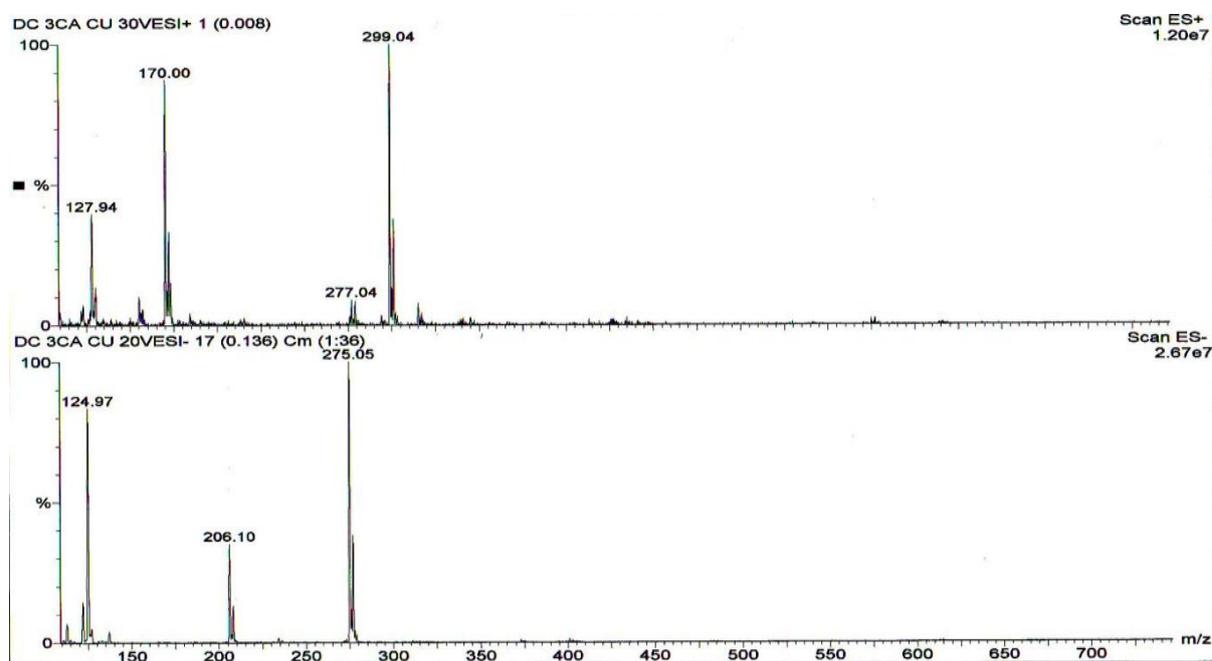
Figure 3.10. Spectre de masse de complexe **C03** en mode positif

3.3.3.4. Caractérisation structurale du complexe **C04** :

Le spectre de masse de **C04** du ligand **26e'** est moins riche en espèces en solution (**Figure 3.11**). Mais on peut de nouveau refaire une analyse similaire à celle du spectre de **C03** (**Tableau 3.7**). Le pic moléculaire qui correspond au ligand libre **L26e'** peut être visualisé respectivement au niveau des pics $m/z = 299,04$ et $m/z = 277,04$, en mode positif (30v) et le pic $m/z = 275,05$ en mode négatif (20 volt), Mais la particularité des spectres enregistrés de ce ligand est d'une part, la présence importante en solution de l'espèce de type **ML** formé d'un seul ligand neutre **L26e'** et de l'ion cuivrique de charge +2 en mode positif que nous avons attribué au pic $m/z = 170,00$ avec une abondance relative de 86,6% et d'autre part on remarque l'absence de l'espèce de type $MLCl \cdot xH_2O$ en mode positif présente dans les spectres précédents mais en la retrouve en mode négatif avec une charge (-2) (**Figure 3.11**) à travers le pic $m/z = 206,10$ (ce pic a presque la même composition du pic $m/z = 372,80$ du **C03** avec le remplacement de la molécule d'eau par un ion K^+). Il faut noter la présence d'un pic important, de rapport $m/z = 127,94$ en mode positif est reproduit en mode négatif avec un rapport $m/z = 124,97$ qui pourrait correspondre au fragment du complexe mono moléculaire **CuL** décrit précédemment. **Ceci confirme de nouveau la possibilité de départ d'un hétérocycle oxazolidinone au cours de l'analyse et que cette partie des ligands ne participe pas à la coordination avec l'ion métallique.**

Tableau 3.7. Espèces observées en solution pour les complexes **C04** par spectrométrie de masse

L26e' /Cu		Masse du ligand	M= 276,7	(R = mCl)	
Espèce en solution	charge	%	m/z observé	m/z théorique	
En mode positif					
L+ Cu ⁺²	+2	86,6	170,00	170,12	
L+Na ⁺	+1	100	299,04	299,69	
L+H ⁺	+1	09,3	277,04	277,7	
L+ Cu ⁺² - C ₃ H ₄ NO ₂	+2	40,0	127,94	127,08	
En mode négatif					
L-H ⁺	-1	100	275,05	275,7	
L-H ⁺ + Cu ²⁺ +Cl+ K ⁻	-2	36,0	206,10	206,89	
L-H ⁺ + Cu ⁺² - C ₃ H ₄ NO ₂	-2	84,0	124,97	124,94	

**Figure 3.11.** Spectres de masse de complexe **C04** en mode positif et négatif

3.3.3.5. Caractérisation structurale du complexe **C05** :

L'analyse du spectre de masse de **C05** du ligand **L26f'** est aussi complexe. Le **Tableau 3.8** nous montre que contrairement au **C01-C04**, le spectre de masse de **C05** en mode positif et négatif est caractérisé par une proportion très importante d'une nouvelle espèce **LCl** associée à un ion K⁺ (m/z = 181,06) en mode positif et à une molécule d'eau (m/z = 170,00) en mode négatif (**Figure 3.12**). La présence de l'espèce de type **MCl** .xH₂O en mode positif dans les spectres précédents à travers la présence du pic m/z=215,03. La coexistence des deux dernières

espèces en solution ouvre d'autres pistes d'informations structurales, ce que nous allons décrire à la fin de ce paragraphe.

En effet, le pic 153,12 correspondant au départ d'un hétérocycle oxazolidinone (c'est-à-dire cassure de la liaison hétérocyclique S-N(1)) et le pic du ligand libre $m/z = 286,05$ en mode négatif observé précédemment avec les autres complexes sont de nouveau présents.

Tableau 3.8. Espèces observées en solution pour les complexes **C05** par spectrométrie de masse

L26f^o /Cu	Masse du ligand	M= 287,02	(R = mNO₂)		
Espèce en solution	charge	%	m/z observé	m/z théorique	
En mode positif					
L+H ⁺ + Cu ⁺² +H ₂ O - C ₃ H ₄ NO ₂ +Na ⁺	+2	40,0	153,12	153,85	
L+H ⁺ + Cl+ K ⁺	+2	100	181,06	181,40	
L+H ⁺ + Cu ²⁺ + Cl+H ₂ O+Na ⁺	+2	16,0	215,03	214,62	
L+H ⁺ +Cu ²⁺ + H ₂ O	+1	< 5	369,08	369,82	
L- H ⁺ +2Cu ²⁺	+1	< 5	413,16	413,33	
En mode négatif					
L-H ⁺ + Cl+ H ₂ O	-2	100	170,00	169,86	
L+ MeOH - C ₆ H ₄ NO ₂	-1	33,3	197,94	197,19	
L+ H ⁺ + Cu ²⁺ +Cl+ MeOH - C ₃ H ₄ NO ₄ S	-2	94,6	134,82	134,08	
L-H ⁺	-1	52,0	286,05	286,25	

Un autre nouveau pic $m/z = 134,82$ issu probablement d'un fragment d'une espèce formée d'un ligand **L26f^o** et de l'ion cuivrique avec le départ du fragment SO₂-oxazolidinone est observé, ce qui ajoute encore une deuxième possibilité de cassure de la liaison aromatique S-N(2). Ces deux possibilités de fragmentation sont citées par Borghese *et al* lors d'une réaction de transfamoylation [17], où il a montré que ces deux possibilités sont directement influées par la nature du substituant sur le noyau benzénique. Le dernier pic ($m/z = 197,94$) de charge (-1,) s'agit d'un fragment du ligand libre par le départ de la partie aromatique de ϕ -NO₂. Le pic ($m/z = 369,08$) de charge +1 est attribué à l'espèce minoritaire de type ML associée a une molécule d'eau. L'origine du pic observé en $m/z= 413,16$ reste indéterminée mais il peut correspondre à une association de plusieurs fragments des complexes formés ou une espèce bi-nucléaire de type **M₂L**.

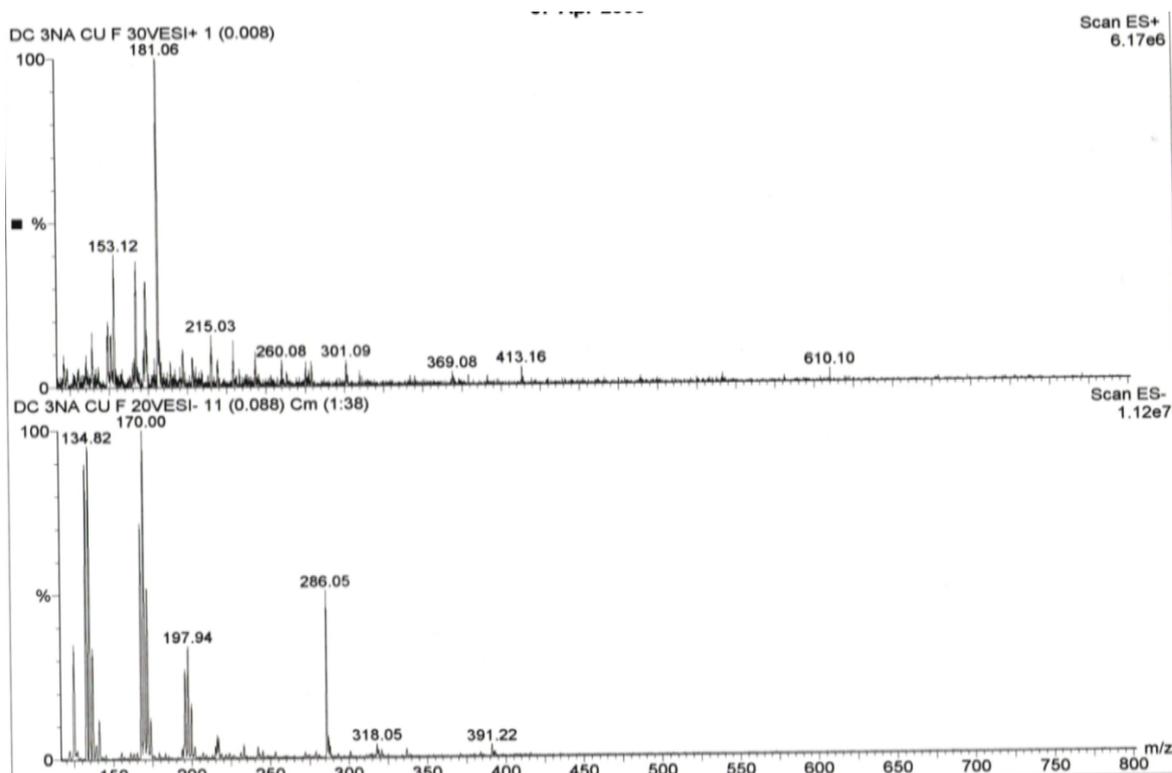


Figure 3.12. Spectres de masse de complexe C05 en mode positif et négatif

3.3.3.6. Caractérisation structurale du complexe C06 :

L'analyse du spectre de masse de C06 du ligand L26f isomère de position du ligand 26f (Tableau 3.9) nous conduit à confirmer l'attribution de quelques pics obtenus avec le complexe C05. En mode négatif on retrouve presque les mêmes espèces en solution pour C05, même si leurs abondances relatives varient peu (Figure 3.13).

Tableau 3.9. Espèces observées en solution pour les complexes C06 par spectrométrie de masse.

L26f /Cu	Masse du ligand	M= 287,02	(R = pNO ₂)		
Espèce en solution	charge	% ^(b)	m/z observé	m/z théorique	
En mode positif					
C ₆ H ₄ NO ₂	+1	100	122,13	122,13	
L+ H ⁺ - C ₃ H ₄ NO ₄ S	+1	40,0	138,08	138,03	
L+H ⁺ - C ₃ H ₄ NO ₂	+1	6,6	200,92	200,99	
L+H ⁺ + Cl - C ₆ H ₄ NO ₂	+1	6,6	200,92	200,60	
L+ Cu ⁺² - C ₃ H ₄ NO ₄ S	+1	6,6	200,92	200,66	
En mode négatif					
L+ H ⁺ + Cu ²⁺ +Cl+ MeOH - C ₃ H ₄ NO ₄ S	-2	57,3	134,82	134,08	
L-H ⁺ + Cl+ H ₂ O	-2	70,6	169,85	169,86	
L+ MeOH - C ₆ H ₄ NO ₂	-1	>5	197,94	197,19	
L-H ⁺	-1	100	286,05	286,25	

La même analyse que celle du spectre **C05** peut être reproduite. En mode positif la fragmentation du ligand libre est clairement visualisé a travers les deux pics majoritaire ($m/z = 122,13$) et ($m/z = 138,08$). Pour le pic ($m/z = 200,92$) les trois propositions de composition de l'espèce en solution sont probables et valables. Aussi on reconfirme les deux possibilités de cassure N(2)-SO₂-N(1) et la coexistence des deux espèces **LCl** et **LMCl.xH₂O** en solution.

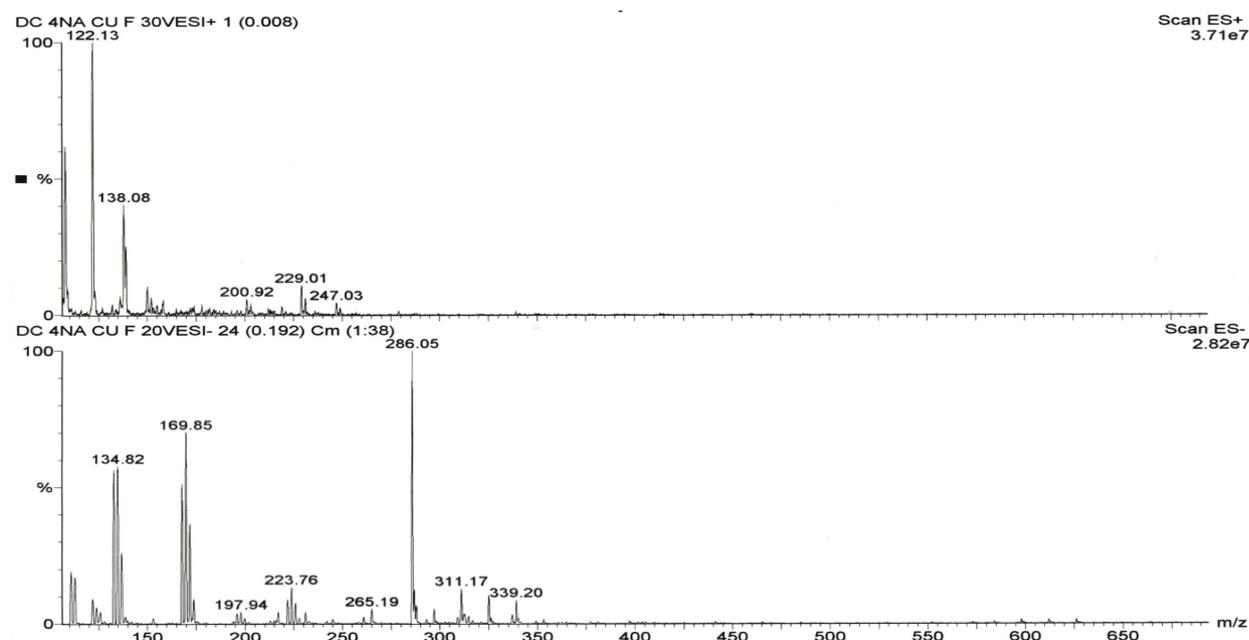


Figure 3.13. Spectres de masse de complexe **C06** en mode positif et négatif

3.3.3.7. Caractérisation structurale du complexe **C09** :

Pour terminer cette étude on a enregistré le spectre de masse de **C09** complexe du ligand méthylé **L30a**. Ce spectre montre encore que l'espèce majoritaire est le ligand libre (**Figure 3.14**). On peut de nouveau faire une analyse similaire à celle des spectres **C03-06** (**Tableau 3.10**). Où on trouve pratiquement en mode positif la même espèce de type **MLCl.xH₂O** ainsi que les fragmentations possibles du complexe décrite précédemment.

Tableau 3.10. Espèces observées en solution pour les complexes **C09** par spectrométrie de masse

L30a /Cu	Masse du ligand	M= 256,05	(R' = H)		
Espèce en solution	charge	% ^(b)	m/z observé	m/z théorique	
L+ Cu ²⁺ +3H ₂ O - C ₃ H ₄ NO ₄ S + Na ⁺	+2	<5	123,19	123,19	
L+2H ⁺ + Cu ⁺² +Cl+2H ₂ O - C ₃ H ₄ NO ₂ +K ⁺	+2	13,3	173,26	173,17	
L+ Cu ⁺² +Cl+2H ₂ O +K ⁺	+2	<5	215,32	215,20	
L+Na ⁺	+1	100	279,10	279,05	

Aussi dans ces conditions d'ionisation on n'a pas pu enregistrer un spectre de ce complexe en mode négatif (**Figure 3.14**) Ce qui montre que la complexation des *N*-aryl *N'*-sulfamoyloxazolidinones **26** et les *N*-Méthyl, *N*-aryl *N'*-sulfamoyloxazolidinones **30** se complexent probablement avec les métaux de transition de la même manière

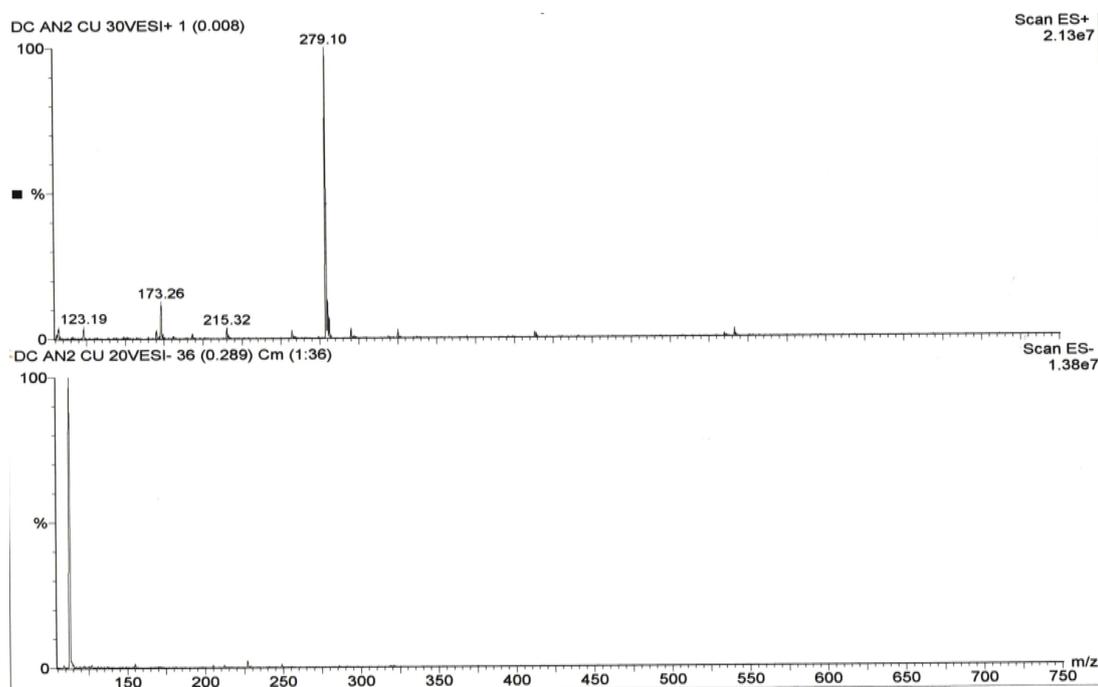


Figure 3.14. Spectres de masse de complexe **C09** en mode positif et négatif

3.3.3.8. Etude comparative des résultats obtenus par ESI-MS

Au terme de cette étude en solution, quelques remarques s'imposent. Les données que nous avons obtenues en spectrométrie de masse nous renseignent qualitativement sur le type de complexe rencontré en solution. Il ne s'agit pas ici de faire une étude quantitative, même si les abondances relatives reprises dans les différents tableaux de résultats sont indicatrices de la composition du milieu étudié. En effet, les espèces neutres ne peuvent être observées par spectrométrie de masse. Dès lors, un ligand non ionisé ou un complexe neutralisé par des contre ions (l'atome de chlore dans notre cas) peuvent passer inaperçus.

A ce stade de notre analyse, et pour des interprétations cohérentes, on peut se demander, pourquoi les complexes **C01-07** et **C09** n'existent pas à l'état cristallin, alors que leurs fragment sont observés en solution ? , Et pourquoi l'espèce de type **MLCl .xH₂O** est favorisée en

solution pour la majorité des complexes alors que l'espèce de type ML_2 est observée uniquement pour **C01** et **C02**.

Pour aborder ces deux questions, il est nécessaire de se rendre compte qu'un complexe métallo-organique peut exister sous plusieurs formes en solution, suivant les conditions, expérimentales tel que le pH, le solvant...etc. Le processus de cristallisation modifie cet équilibre en faveur de l'une ou de l'autre forme. L'analyse détaillée des tableaux des espèces en solution des complexes **C01-07** et **C09** nous a permis de dresser un tableau récapitulatif commun (**Tableau 3.11**) qui résume d'une manière générale les espèces rencontrées en solution,

Tableau 3.11. Espèces communes observées en solution pour les complexes **C01-07** et **09**

Espèces en solution	M^{2+}	Adduits	X	X'	%*
$2L\pm H^+ + M^{2+} + xCl + x'H_2O$	Cu^{2+} ou Co^{2+}	K^+, Na^+	0,1	0, 1,2	15
$L\pm H^+ + M^{2+} + xCl + x'H_2O$	Cu^{2+} ou Co^{2+}	K^+, Na^+	0,1	0, 1,2	30
$L\pm H^+ + xCl + x'H_2O$	-	K^+, Na^+	0,1	0, 1	30
$L\pm H^+$	-	K^+, Na^+	-	-	15

* ce pourcentage est calculé approximativement par rapport au nombre total de pics caractérisés

Si on exclue les pics fragments des espèces déjà caractérisées en solution et les molécules additionnelles de solvant, nous constatons dans ce tableau qu'il existe quatre espèces essentielles communes pour tous les complexes caractérisés par cette technique. **La première** est attribuée au complexe formé de deux ligands neutres, protonés ou déprotonés avec l'ion métallique. **La deuxième** est attribuée à un fragment de la première espèce du complexe formé par un seul ligand neutre, protoné ou déprotoné avec l'ion métallique. **La troisième** espèce peut être un autre fragment issu de la première espèce formée par le ligand et un atome de chlore considérée comme contre-ion, la perte de cette dernière donne l'apparition de la **quatrième** espèce qui correspond au ligand libre en solution. En effet le pourcentage de présence de la deuxième et la troisième espèce est en générale le même ce qui nous permet de supposer qu'elles sont issues de la même source.

La mise en évidence des résultats structuraux obtenus précédemment avec ceux de cette technique nous a permis de proposer une structure cristalline 3D des complexes préparés de type

$ML_2Cl_2 \cdot 4H_2O$ où l'ion métallique est hexacoordonné et la sphère externe du complexe est complétée par deux atomes de chlore jouant le rôle d'un contre ion. Le schéma général de fragmentation est proposé dans le **schéma 3.1**.

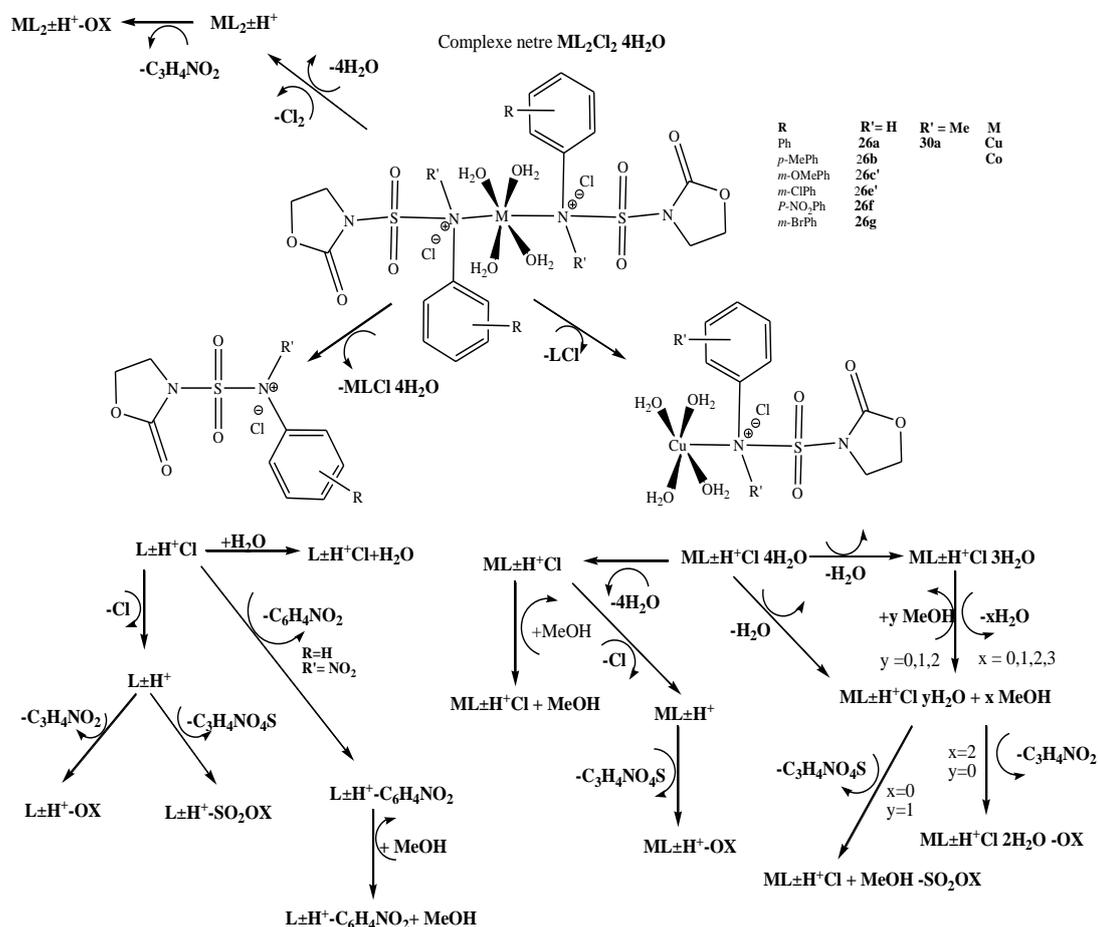


Schéma 3.1. Schéma générale proposé pour la fragmentation des complexes **C01-07 et C09**

Conclusions

Cette étude de spectrométrie de masse nous a permis d'avancer un grand pas dans la compréhension du mode de complexation des **C01-C07 et 09**. Plusieurs conclusions peuvent être tirées:

(a) La chélation se produit via l'azote aromatique (N_2). À travers l'analyse des résultats obtenus, nous avons pu proposer une structure cristalline de ces complexes et un schéma générale de fragmentation,

(b) Le mode de fragmentation de ces complexes dépend des conditions opératoires (solvant, voltage, mode d'ionisation...etc.), ainsi que la nature et la position des substituant sur le noyau benzénique ce qui donne d'autres chemins d'investigation sur leurs stabilités et mode de complexation en solution

(c) La fragmentation de ces complexes n'est pas influée par la nature de l'ion métallique.

(d) Les deux possibilités de cassure des liaisons $N_{\text{aromatique}}-\text{SO}_2-N_{\text{Hétérocyclique}}$ citées dans littérature pour ce type de molécules sont reproduites dans cette étude pour les complexes organométalliques.

(e) Les deux analogues **26** et **30** se comportent presque de la même manière en présence de l'ion métallique M^{+2} ($M = \text{Cu}, \text{Co}$).

(f) Enfin on a constaté que la partie hétérocyclique des ligands utilisés ne participe pas au processus de coordination.

Afin de renforcer ces suppositions trouvées par spectrométrie de masse en solution, nous avons réalisé une caractérisation de quelques complexes par une autre technique la « spectrofluorimétrie d'absorption et d'émission » qui fera l'objet du paragraphe suivant.

3.3.4. La détermination par spectrofluorimétrie d'absorption et d'émission

3.3.4.1. principe et définitions :

L'analyse spectrofluorimétrique est la technique de caractérisation de la nature des constituants organiques dissoutes dans un solvant le mieux adapté à des faibles concentrations.

Cet avantage est important pour l'étude des interactions métaux-molécules organiques.

Le principe de cette méthode repose sur le fait que de nombreux composés organiques et inorganiques à l'état solide ou en solution, émettent de la lumière lorsqu'elles sont excitées par des photons du domaine du visible ou du proche ultraviolet. Ce phénomène appelé fluorescence permet de caractériser la substance analysée, puisque l'intensité maximale de fluorescence correspond à un couple particulier de longueurs d'onde d'excitation et d'émission. En fluorimétrie, le seuil de détection d'un composé fluorescent en solution est souvent 1000 fois plus faible qu'en absorption UV/visible (colorimétrie). Cette technique est donc très sensible. La spectrofluorimétrie fournit donc les moyens d'identifier l'ensemble des entités organiques en solution. L'analyse de l'échantillon s'effectue en balayant simultanément une large plage de longueurs d'onde d'excitation et d'émission.

3.3.4.2. Caractérisation du complexe C08 :

Les spectres d'excitations et d'émissions ont été obtenus dans le DMF. Toutes les expériences ont été réalisées à température ambiante et à une concentration de 10^{-6} M. Les

spectres d'émission ne sont pas corrigés. La comparaison des spectres d'excitation par une lumière UV du ligand libre **L26c** et le complexes **C08** (**figure 3.15 (a)**) montre que le ligand à une seule bande d'absorption située à 309 nm. Cette dernière se déplace à 312 nm lors de la coordination avec l'ion métallique, une diminution de l'intensité d'excitation du ligand oxazolidinone est observée en fonction de la formation du complexe. Lorsque le ligand **L26c** est excité à **309 nm** une bande d'émission apparait à **369 nm**. Cette dernière ne déplace pas par coordination dans le spectre d'émission du complexe **C08** (**figure 3.15 (b)**). Il est clair que l'intensité d'émission de fluorescence de **C08** diminue suite à la formation du complexe à travers la coordination de l'atome d'azote. Cette coordination rend possible le transfert d'énergie de l'état excité du ligand oxazolidinone à l'ion métallique. Ce changement de l'énergie d'émission rencontré dans ce type d'étude est due probablement à l'abaissement de l'écart d'énergie entre les orbitales intra et/ou inter-ligand π et π^* . De plus la coordination d'une molécule d'eau présente dans une structure peut affecter l'énergie d'excitation [18]. Les spectres des ligands **L30e'**, **L30f'** et leurs complexes **C12** et **C13** donnent respectivement les mêmes observations. Une tentative d'étude de l'effet du solvant sur les spectres d'excitation et d'émission du ligand **L26c** a été réalisée à la température ambiante et à une concentration de 10^{-6} M en changeant le DMF par le DMSO.

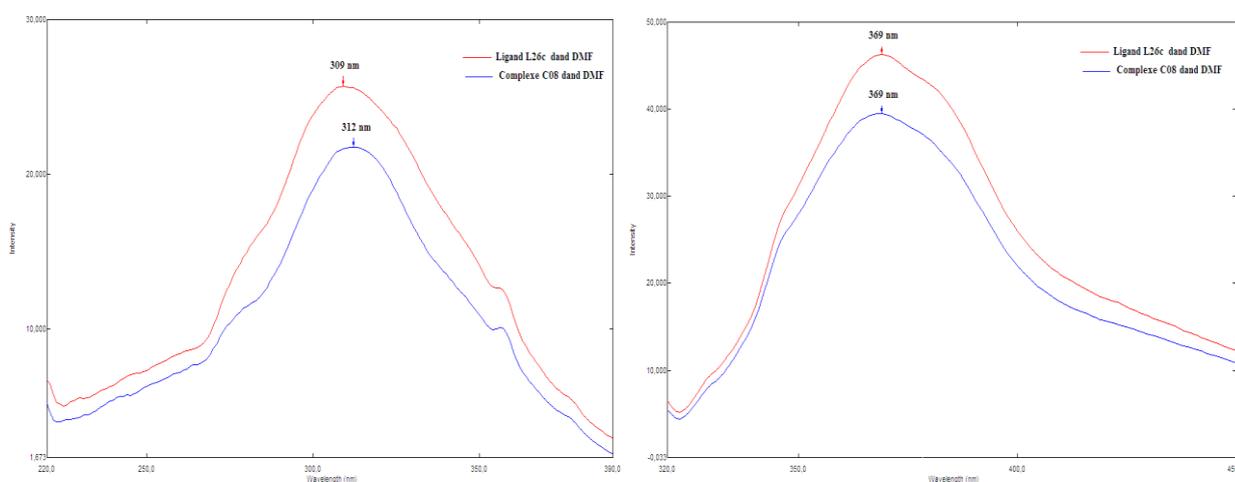


Figure 3.15. Spectres de **L26c** et **C08** : (a) excitation, (b) émission

Dans la littérature, on trouve que la fluorescence du complexe de transfert de charge dépend également de la nature du solvant [19]. Dans la **figure 3.16 (a)** on observe que dans le DMSO, une bande étroite d'excitation est obtenue à **311 nm**. Toutefois, dans le DMF cette bande est large et décalée à **309,0 nm**, ce qui suggère que **L26c** a une tendance élevée d'agrégation dans le DMF. D'autre part, dans la **figure 3.16 (b)** les spectres d'émission suivent la même tendance, lorsque **L26c** est excité à 309,0 nm dans le DMF et à 312 nm dans le DMSO, la bande d'émission se produit respectivement à 369 nm et 370 nm, avec un écart de 1 nm. Où on peut remarquer de nouveau que l'intensité de fluorescence diminue lorsque le DMF est utilisé comme solvant.

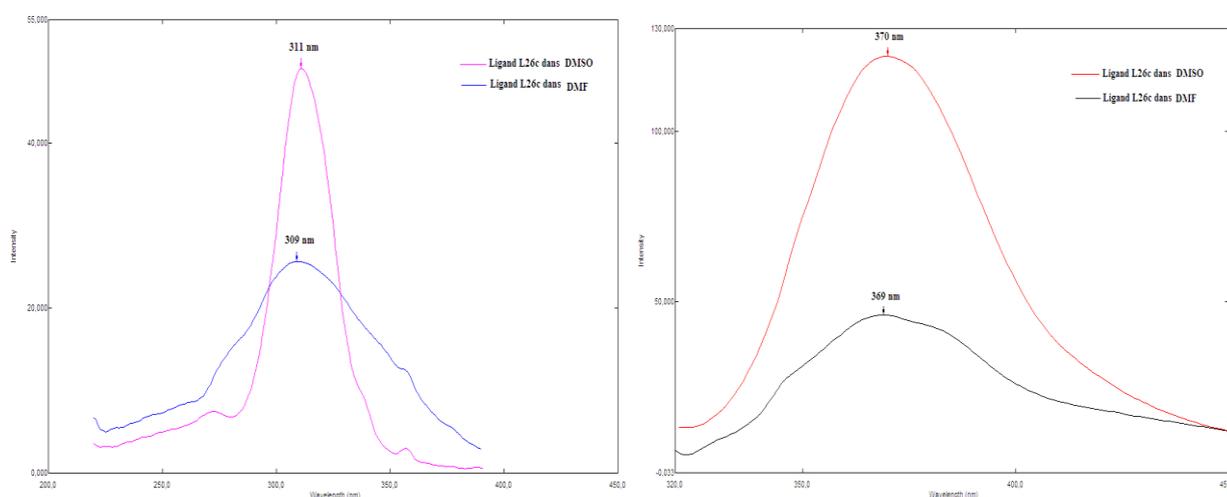


Figure 3.16. Spectres du **L26c** dans DMF et DMSO (a) excitation, (b) émission

Cette diminution de l'intensité est rationalisée en termes d'altération importante de la structure électronique du ligand. Ce qui entraîne une réduction des chevauchements des orbitales moléculaires entre les composants donneurs-accepteurs et le degré d'excitation locale et l'interaction avec le milieu [20]. Ce résultat ouvre un large perspectif pour d'autres études spectrofluorimétriques plus approfondies de ce ligand et ces complexes organométalliques dans des différents solvants.

3.3.4.3. Caractérisation des complexes C09-C13 :

a. Spectres d'excitations :

Le ligand libre *N*-méthylé **L30a** et ces complexes de cuivre (II) **C09** et de nickel (II) **C10** (enregistrés dans le DMF à température ambiante et à une concentration de 10^{-6} M), ont été

excités par la lumière UV. Contrairement au ligand **L29c**, on peut le constater dans la **figure 3.17 (a)** que le composé **L30a** présente deux bandes d'excitations à **324 nm** et **267 nm**. Nous suggérons que la première bande d'excitation est attribuée aux transitions $\pi-\pi^*$ et la seconde aux transitions de transfert de charge. La forme et l'intensité de ces deux bandes d'absorption du ligand méthylé sont affectées par la présence d'un substituant (Cl, NO₂) en position *mé*ta du noyau benzénique dans **L30e'**, **L30f'** (**3.17(b)**). Où la première bande à **324 nm** est décalée vers la région du bleu (diminution de λ_{\max}) et la deuxième bande à **267 nm** est décalée vers la région du rouge (augmentation de λ_{\max}). La mise en évidence de cette dislocation modérée des bandes d'excitations par rapport à celle du ligand **L30a** avec une simple analyse d'intensité des bandes indiquées, nous conduisent à des résultats intéressantes concernant l'effet du substituant. A ce stade d'interprétation nous pouvons suggérer un transfert de charge intramoléculaire (internal charge transfert (ICT) et/ou intermoléculaire. Probablement ces transitions sont directement influées par l'effet inductif et/ou mésomère, mais comment ? La réponse de cette question nécessite d'autres études plus approfondies autour de ce sujet.

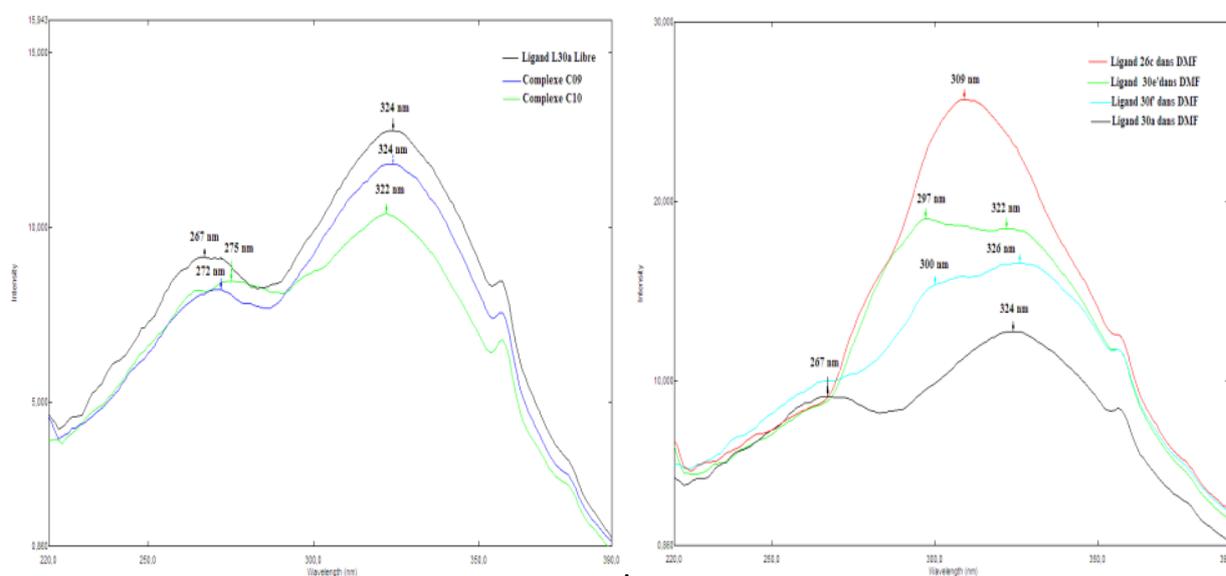


Figure 3.17. Spectres d'excitations dans DMF du **L30a**, **C09**, **C10**, (a), effet de substituant (b)

Par ailleurs, dans le spectre d'excitation (**3.17(b)**), le ligand non-méthylé **L26c** présente une seule bande large à **309 nm** avec une intensité très élevée par rapport à celle du ligand méthylé **L30a**. Ceci est probablement dû à un effet très intéressant du groupement méthyle (CH₃) ajouté à

la structure sur le transfert de charge intramoléculaire et/ou intermoléculaire proposés précédemment. Aussi à ce stade d'interprétation on ne peut pas donner une explication détaillée de ce comportement parce que la diminution d'intensité d'excitation par addition d'un groupement méthyle dans une structure est un résultat très récent rapporté dans la littérature par C.Ranjith et *al* [21].

Revenons à la **figure 3.17(a)** En s'appuyant sur la discussion précédente, nous pouvons observer clairement qu'il est évident que l'intensité du **C09** et **C10** diminue en fonction de la formation des complexes. Cette diminution de l'intensité d'excitation est due à la formation des complexes de coordination. Le Décalage vers le rouge de la longueur d'onde maximale d'excitation à **267 nm** par 5 et 8 nm respectivement pour les complexes du cuivre et du Nickel confirme à nouveau l'altération des transitions de transfert de charge intramoléculaires et/ou intermoléculaire proposés, alors que les transitions $\pi-\pi^*$ sont légèrement influées à travers le décalage vers le bleu de la bande d'excitation à **324 nm** de 2 nm. L'effet de l'ion métallique sur l'intensité lors de la formation des complexes a été de l'ordre $\text{Ni}^{+2} > \text{Cu}^{+2}$.

b. Specters d'émissions:

Les spectres d'émissions du ligand **L30e'** et son Complexe cuivrique **C12** dans le DMF ont révélé une bande dont le maximum est en fonction de la longueur d'onde d'excitation, comme le montre le spectre de **la figure 3.18 (a,b)**. Par exemple, à $\lambda_{\text{exc}} = 297 \text{ nm}$, une courbe presque gaussiennes avec un maximum à 367 nm a été observée. Cette dernière ne se déplace pas lors de la complexation. Il est évident que l'intensité d'émission de fluorescence de **C12** diminue en fonction de la formation du complexe avec les ions des métaux de transition. Ce qui a été déjà observé dans la **figure 3.17 (a)**,

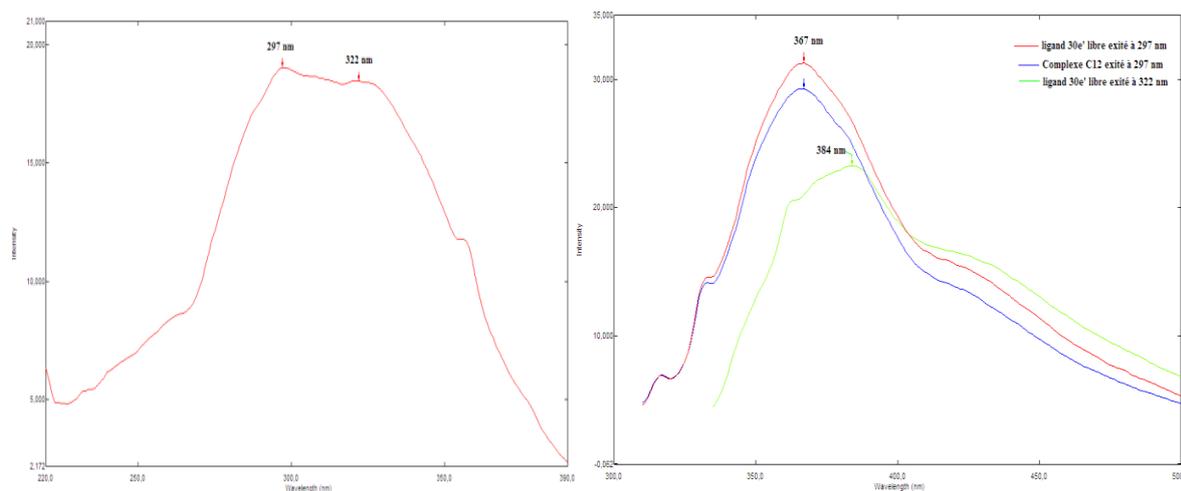


Figure 3.18. Spectres de ligand L30e' dans DMF (a) excitation (b) émission

Toutefois, l'excitation à la deuxième bande d'absorption $\lambda_{exc}=322$ nm produit une bande d'émission non structurées dont le maximum se trouve à 384nm. Le décalage modéré de 17nm vers le rouge peut être provisoirement associé à un état de transition qui est principalement délocalisé sur le ligand entier.

3.3.5. Caractérisation par Voltamétrie Cyclique :

3.3.5.1. principe et définitions :

Ces dernières années, les techniques électrochimiques ont conduit à un avancement remarquable dans le domaine de l'analyse des biomolécules, en raison de leur sensibilité, leur faible coût et leurs temps d'analyse relativement courts par rapport aux autres techniques. Dans ce sens, la Voltamétrie Cyclique est la technique largement utilisée pour l'acquisition des informations qualitatives sur les réactions électrochimiques. Elle offre une localisation rapide des potentiels redox des espèces électro-actives en solution. Sachant que la compréhension du comportement électrochimique en solution ainsi que les propriétés redox d'un médicament peut donner des indications utiles sur son activité biologique au niveau du métabolisme [22-24]. Dans la littérature, cette technique est exploitée comme technique de choix pour caractériser les complexes organométalliques. Où en générale, le comportement redox des complexes dépend d'un certain nombre de facteurs tels que la taille du cycle chélate, la coordination axiale, le degré et la distribution d'insaturation et le modèle de substitution dans l'anneau chélate [25-26].

3.3.5.2. Caractérisation du complexe C09 :

Sachant que le comportement redox des complexes de cuivre d'oxazolidinones n'a pas été cité auparavant, une tentative de compréhension du comportement Redox de cuivre (II) dans les complexes d'oxazolidinones est de nouveau parait très intéressante. Une investigation par la voltamétrie cyclique du ligand **L30a** et du complexe **C09** a été réalisée à une concentration de 10^{-3} M dans une solution de DMF. Dans un domaine de potentiel [-1.5, 1.5] V/ECS (électrode au calomel saturé) avec une vitesse de balayage de 50 mV/s. Les voltammogrammes cycliques obtenues sont plus ou moins similaires avec des variations mineures dans la position et avec l'apparition de certains nouveaux signaux (**Figure 3.19**). Pour le ligand libre **30a** on observe une diminution de courant à partir de -750mV ceci est probablement due à une réduction des conjugaisons présentes dans la structure du ligand [27]. On remarque également, lors du balayage retour, la présence d'un large pic anodique à partir de 700 mV attribué à l'oxydation de ces conjugaisons. Nous avons également étudié le comportement redox du complexe **C09** dans les mêmes conditions opératoire (**Fig. 3.19** (en rouge)). Nous distinguons deux pics (**C1**, **A1**) correspondants à l'oxydoréduction du couple Cu(I)/(II). Le premier apparaît lors du balayage allé (cathodique) alors que le deuxième apparaît pendant le balayage retour (anodique) avec une densité de courant plus grande. On remarque aussi que le potentiel du processus d'oxydation cathodique a une grande valeur par rapport au potentiel du processus de réduction anodique où la différence entre les deux pics ΔE_p est de ~ 360 mV à une vitesse de balayage de 50 mV s^{-1} . Ce résultat montre que le processus d'oxydoréduction Cu (I) / Cu (II) est un processus irréversible dans cette intervalle de balayage dans le DMF, ce qui suggère une réaction de décomposition probable, qui se produit dans ces conditions expérimentales ; le Tableau suivant montre les détails des couples redox à 50 mV/s.

Tableau 3.12. Données électrochimiques du complexe de **C09**

Composés	Réduction des conjugaisons	oxydation des conjugaisons	E_{pa} (mV)	E_{pc} (mV)	ΔE_p (mV)
L30a	-1000 (-750) mV	+520			
C09	-1200 (-1000) mV	+600	+610	+250	360

Électrolyte support: $n\text{-Bu}_4\text{NF}_6$ (0,1 M); complexe: 0,001 M; solvant: DMF;
 E_{pa} et E_{pc} sont respectivement les potentiels des pics anodiques et cathodiques; vitesse de balayage: 50 mVS^{-1} .

Par ailleurs, le pic de réduction du cuivre (II /I) est suivi par le pic de réduction des conjuguaisons du ligand qui est décalé à un potentiel inférieur par rapport au ligand. En combinaison avec les résultats trouvés avec les autres techniques, on propose de nouveau que l'atome d'azote aromatique est impliqué dans la conjugaison du ligand et dans le processus de coordination avec l'ion métallique. Ceci nous a permis aussi de proposer que la réduction de la conjugaison du ligand contribue à la stabilisation des espèces cuivre (I) formés dans ces conditions de mesure électrochimiques.

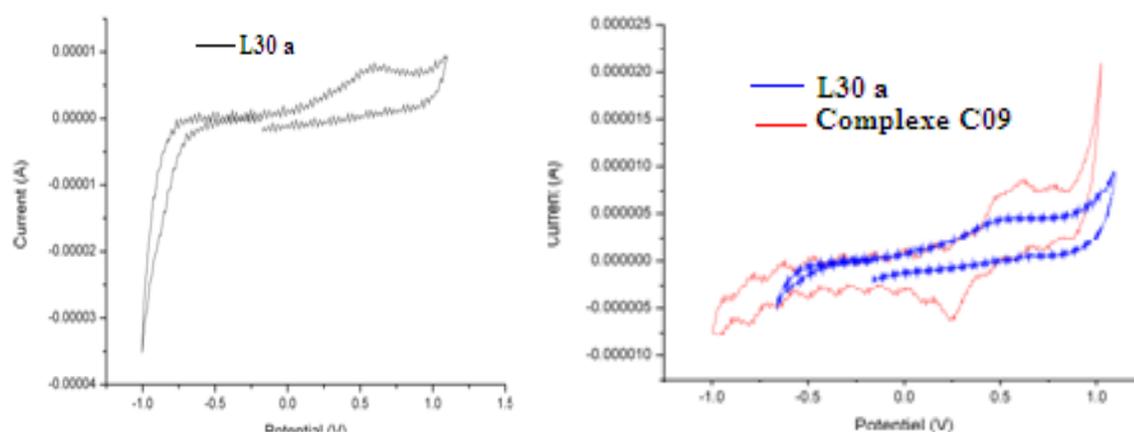


Figure 3.19. Voltammogrammes cycliques, (a)L30a,(b) L30a etC09 (entre $\pm 1 \text{ V}$)

Dans la **figure 3.20** on peut constater que lorsque on élargie le domaine de potentiel vers 900 mV. On remarque l'absence du pic anodique. Ce qui nous a permis de dire que le complexe **C09** présente un processus d'oxydation totalement irréversible ($E_{pa} = + 1,2 \text{ V}$) sans pic anodique correspondant.

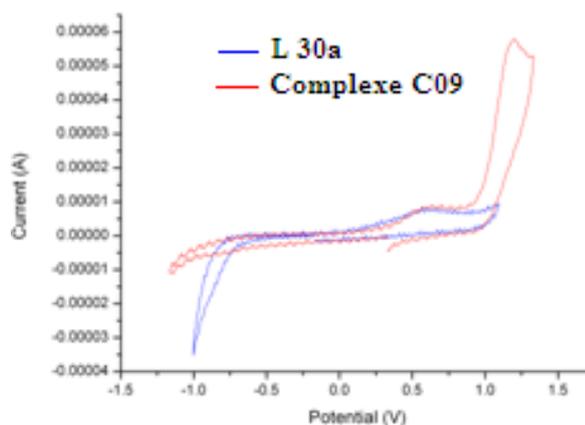


Figure 3.20. Voltammogrammes cycliques de L30a et C09 (entre $\pm 1,5 \text{ V}$)

Le flux de courant anodique de ce pic est un révélateur d'une oxydation du cuivre (II/III) à des potentiels plus élevés que 715mV [28]. En outre, le potentiel de la ré-oxydation de la conjugaison du ligand est décalé vers un potentiel élevé et chevauche avec le pic qui correspond à la réduction Cu (II/ I).

3.4. Activité antibactérienne (in vitro) des complexes organométalliques :

Le processus de complexation pourrait faciliter la capacité d'un complexe à traverser une membrane cellulaire. Il peut être expliqué également par la théorie de Tweedy [29]. La chélation réduit considérablement la polarité des ions métalliques en raison du partage partiel de sa charge positive avec d'autres groupes d'atomes, et de la délocalisation possibles des électrons sur l'ensemble de l'entité complexée. Une telle chélation pourrait améliorer le caractère lipophile du complexe, ce qui favorise par la suite sa pénétration à travers la couche lipidique de la membrane cellulaire. Cette pénétration conduit dans la plus part des cas à une activité biologique meilleure.

Dans ce contexte les ligands oxazolidinones **26a**, **26c**, **26g**, leurs analogues N-méthylés **30e'**, **30f'** et leurs complexes organométalliques ont été testés pour leurs activité antibactérienne sur les mêmes souches testées précédemment dans la stratégie organique (*S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*). L'activité antibactérienne a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur disque. Les données des essais biologiques sont présentées dans le **Tableau3.13**. L'activité antibactérienne de molécules testées *in-vitro* est en accord avec les résultats déjà trouvés dans la partie « stratégie organique ». L'analyse et la comparaison des résultats d'inhibition montrent que le complexe de cuivre (**C12**) est le plus actif contre les bactéries Gram positif (*S. aureus*), et le complexe de cobalt (**C02**) est le plus actif contre les Gram-négatif (*P. aeruginosa*,). Mais pour *E. Coli*, tous les composés et leurs complexes ont montré une activité faible.

Tableau 3.13. Essais biologiques^(a) d'activité Antibactérienne des complexes préparés

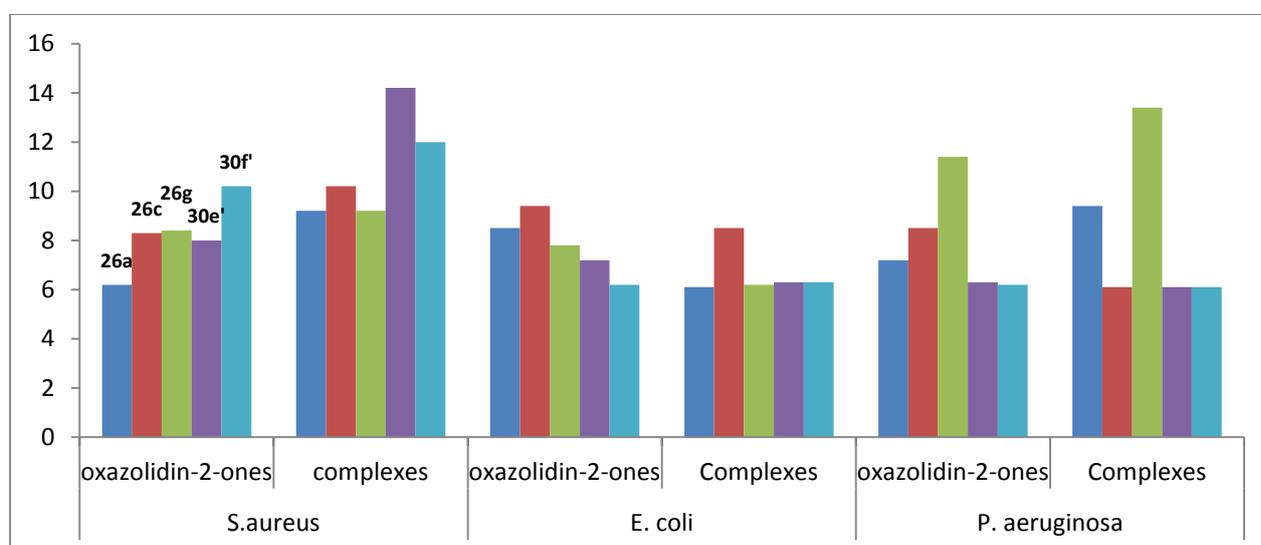
Composés	R	R'	Zone d'Inhibition ^b (mm) à 300 µmol/L		
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
26a	Ph	H	6,2	8,5	7,2
complexe	-	-	9,2	6,1	9,4
26c	<i>p</i> -OCH ₃ Ph	H	8,3	9,4	8,5
complexe	-	-	10,2	8,5	6,1
26g	<i>p</i> -BrPh	H	8,4	7,8	11,4
complexe	-	-	9,2	6,2	13,4
30e'	<i>m</i> -ClPh	CH ₃	8	7,2	6,3
complexe	-	-	14,2	6,3	6,1
30f'	<i>m</i> -NO ₂ Ph	CH ₃	10,2	6,2	6,2
complexe	-	-	12	6,3	6,1
SD^c			26	20	24

^a Activité Antibactérienne évaluée par la méthode de diffusion sur disque comme décrit dans la partie expérimentale

^b [zone d'inhibition (mm) sur disque]: <10: activité faible;> 10: modérée; 16>: importantes.

^c Standard Drug (sulfisoxazole) [molécule de référence]

Dans la **Figure 3.21**, nous pouvons facilement observer que les complexes sont légèrement plus actifs que leurs ligands libres contre les bactéries Gram positif (*S. aureus*) et Gram négatif (*P. aeruginosa*). Une tendance générale est que les composés ayant un substituant halogène (Cl, Br) sur le noyau benzénique sont plus favorables, avec une certaine spécificité déjà décrite précédemment. Cette observation peut être attribuée de nouveau au caractère électro-attracteur (EW) des substituant *para* (voire la stratégie organique). Les oxazolidinones *N*-méthylés **30e'**, **30f'** et leurs complexes ont été pratiquement inactives contre les souches Gram négatif. Mais ils présentent une activité encourageante contre la souche Gram positif.

**Figure 3.21.** Comparaison d'activité antibactérienne des ligands libres et leurs complexes

En conséquence ces résultats préliminaires de la relation structure-activité (SAR) montrent que la complexation affecte d'une manière directe l'activité antibactérienne de ces composés sur les bactéries Gram positif (*S. aureus*) et Gram négatif (*P. aeruginosa*). Mais pratiquement n'a aucun effet sur l'activité biologique contre *E.coli*.

3.5.Conclusions

En conclusion de cette stratégie inorganique, quelques complexes mononucléaires de cuivre (II), cobalt (II) et nickel (II) d'oxazolidinones et leurs analogues *N*-méthylés ont été synthétisés et caractérisés par des méthodes spectrales IR, UV-Vis, ESI-MS. Ces résultats ont conduit à la proposition d'une géométrie octaédrique autour de l'ion métallique dans ces complexes. Une tentative d'étude par voltamétrie cyclique du complexe **C09** montre des pics d'oxydoréduction irréversibles correspondant au couple Cu (II / I) et l'oxydation du couple cuivre (II / III). L'étude par spectrofluorimétrie de quelques complexes choisis a été effectuée où on a constaté que tous les complexes organométalliques présentent des transitions intra-ligand ($\pi \rightarrow \pi^*$) dans la région bleu-vert avec des intensités d'excitation et d'émission élevées dans une solution de DMF. En outre, les intensités d'excitation et d'émission ont été affectées par la nature du solvant et du substituant sur le noyau benzénique du ligand. En fin une évaluation *in-vitro* de l'activité bactérienne des complexes synthétisés indique que ces derniers montrent plus d'efficacité contre les souches de *S. aureus* et *P. aeruginosa* que leurs ligands libres. Mais pratiquement inactifs sur les autres souches testées *E. coli*. Ceci nous a permis de mener avec succès cette deuxième stratégie inorganique. Par combinaison avec les résultats que nous avons déjà trouvés dans la stratégie organique, l'activité antibactérienne de ces composés notamment des deux complexes **C02** (Co^{+2}) et **C12** (Cu^{+2}) nous encourage à approfondir notre investigation vers de nouveaux complexes organométalliques avec d'autres métaux de transition.

Références de la Stratégie Inorganique:

1. Elsome, A.M.; Hamilton-Miller, J. M. T.; Brumfitt, W.; Noble, W.C. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. (1996)37, 5, 911–918.
2. Borra's, E.; Alzuet, G.; Borra's, J.; Server-carrio', J.; Castineiras, A.; Liu-Gonzalez, M.; Sanz-Ruiz, F.; *Polyhedron* (2000)19, 1859–1866.
3. Kremer, E.; Facchin, G.; Estévez, E.; Alborés, P.; Baran, E.J.; Ellena, J.; Torre; M.H. *Journal of Inorganic Biochemistry*.,(2006) 100, 1167–1175.
4. Mondelli, M.; Brune, V.; Borthagaray,G.; Ellena, J.; Nascimento, O.R.; Leite, C.Q.; Batista, A.A.; Torre, Maria H. *Journal of Inorganic Biochemistry*.,(2008)102, 285–292
5. Carl A, Otter, Samantha M. Couchman, John. C. Jeffery, Karen. L. V. Mann, Elefteria Psillakis, Michael D, Ward; *Inorganica Chimica Acta*.,(1998) 278,178-184.
6. Chohan, Z. H.; Arif, M.; Akhtar, M. A.; Supuran, C. T. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, (2006) Article ID 83131, 1-13.
7. Sathisha, M. P.; Revankar, V. K.; Pai, K. S. R. *Metal-Based Drugs* (2008), Article ID 362105, 11
8. Borra's, E.; Alzuet, G.; Borra's, J.; Server-carrio', J.; Castineiras, A.; Liu-Gonzalez, M.; Sanz-Ruiz, F. *Polyhedron* (2000) 19, 1859–1866.
9. Preat, J.; Jacquemin, D.; Perpete, E.A. *Chem Phys Lett.*, (2005) 20, 415.
10. Alexander, V.M.; Bhat, R.P.; Samant, S.D. *Tetrahedron Lett.*, (2005) 46,6957.
11. Amudha, P.; Kandaswamy, M.; Govindaswamy, L.; Velmurugan, D. *Inorg. Chem.*, (1998) 37, 4490.
12. Cakır, S.; Bicer, E.; Odabas, O.M.; Albayrak, C. *J Braz Chem Soc.*,(2005)4, 711.
13. Kabay, N.; Erdem, E.; Kilincarslan, R.; Sari, E.Y. *Transit. Metal Chem.*,(2007)32, 1068–1072.
14. Kebarle, P. and Tang, L., *Anal Chem.*, (1993). 65, 22, 972-986.
15. Stewart, I.I. *Spectrochim Acta, Part B.*, (1999)54, 1649-1695.

16. Hop, C.E.A. and Bakhtiar, R. *J Chem Educ.*, (1996)73,8, 162-169.
17. Borghese, A.; Antoine, L.; Van Hoeck, J.P.; Mockel, A.; Merschaert, A. *Organic Process Research & Development* (2006)10, 770 (Reference [11] dans le Chapitre 2)
18. Yang, XP.; Su, CY.; Kang, BS.; Feng, XL.; Xiao, WL.; Liu, HQ. *J. Chem. Soc Dalton Trans.*,(2000)19, 3253-3260
19. Tazuke, S.; Matsuyama, Y. *Macromolecules.*,(1975) 8, 280.
20. Mataga, N.; Murata, Y. *J. Am. Chem. Soc.* (1969) 91, 3144.
21. Choorikkat Ranjith, K.K. Vijayan, Vakayil K. Praveen, N.S. Saleesh Kumar, *Spectrochimica Acta Part A* (2010)75, 1610–1616
22. Kauffmann, J.M.; Vire, J.C. *Anal. Chim. Acta.*, (1993)273, 329
23. Wang, J. (Ed.) “Electroanalytical Techniques in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine”, VCH, New York, 1988.
24. Kissinger, P.T.; Heineman, W.R. “Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry”, 2nd Edition, Marcel Dekker, New York, 1996.
25. Connick, P.A. Macor, K.A. *Inorg. Chem.*, (1991)30, 4654.
26. Botcher, A.; Takeuchi, T.; Hardcastle, K.I.; Meade, T.J.; Gray, H.B.; Cwikel, D.; Kapon, M.; Dori, Z. *Inorg. Chem.*,(1997)36, 2498.
27. John, R.P.; Sreekanth, A.; Rajakannan, V.; Ajith, T.A.; Prathapachandra Kurup. M.R. *Polyhedron.*, (2004) 23, 2549–2559
28. Bouwman, E.; Driessen, W.L.; Reedijk, J.; Smykalla, C.; Smits, J.M.M.; Beurskens, P.T.; Laschi, F.; Zanello P. *Inorg. Chem.*,(1990) 29, 48
29. Tweedy, B.G. *Phytopathology.*, (1964) 55, 910.

4. APPLICATION ANALYTIQUE DE LA STRATEGIE INORGANIQUE :

Extraction liquide-liquide de l'ion « Co^{+2} »

4.1. Introduction

L'extraction liquide-liquide est un procédé de séparation très important dans l'industrie, dans de nombreuses applications telles que les produits pétrochimiques, pharmaceutiques et d'hydrométallurgie. On trouve également l'extraction liquide-liquide pour les systèmes de séparation des complexes d'ions métalliques tels que le nickel / cobalt [1-3], de l'uranium [4], le mercure [5], les terres rares et de nombreux autres ions métalliques. La séparation de soluté (s) par extraction liquide-liquide peut se produire par la différence de la solubilité ou l'extraction par Chélation [6-8] ; cette dernière est une méthode de séparation très efficace pour les espèces métalliques en solution. Beaucoup de systèmes d'extraction de chélate ont été développés pour une détermination et séparation sélective de plusieurs sortes de cations métalliques. Dans l'extraction par chélate, un réactif d'extraction doit avoir au moins un atome donneur ayant la charge négative pour former un complexe (extractable) neutre avec le cation métallique cible. Cependant, dans la littérature on trouve que les phénols, les acides carboxyliques, les β -dicétones et les composés soufrés sont pratiquement les seuls sources d'entités négativement chargées O⁻ et S⁻. Ce qui limite le champ des choix des réactifs d'extraction. Bien que le groupe amine (primaire ou secondaire) a une acidité trop faible pour former l'anion >N^- , le groupe (-NH-SO₂R) des sulfamides, a une acidité comparable au -OH phénoliques pour donner cette anion [9,10]. A savoir que, le groupe sulfonamide est une source d'atome donneur anioniques N avec une nature unique de coordination. Plusieurs chercheurs ont étudié la nature de nombreux ligands bidentés de type sulfonamide tels que les dérivés 8-sulfonamidoquinolines [11-13] et quelques sulfamides hétérocycliques [14-15]. Vu la structure générale des *N*-sulfamoyloxazolidinones **26** molécule clé de ce travail (Schéma 4.1) qui nous permet de supposer que ces composés peuvent être utilisés comme des agents d'extraction. À notre connaissance, ces composés n'ont pas été exploités pour l'extraction liquide-liquide des ions métalliques.

Dans le paragraphe suivant, nous rapportons un essai d'extraction liquide-liquide par solvant de l'ion Cobalt (II) à partir d'une solution sulfate en utilisant quelques *N*-sulfamoyloxazolidinones comme de nouveaux agents d'extraction dans le dichlorométhane à 25 °C, et une solution aqueuse de force ionique $I = 1$ de (Na_2SO_4). L'extraction de l'ion métallique dépend du pH d'équilibre, de la phase aqueuse et de la concentration de l'extractant. Le transfert d'ion métallique par extraction a été affecté aussi par le changement du substituant en position *para* sur le cycle benzénique (CH_3 , OCH_3 , Br , NO_2)

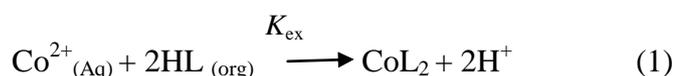
4.2. Procédure générale d'extraction :

À température ambiante (298 ± 1 K), une fraction de (20 ml) d'une solution aqueuse contenant l'ion métallique a été agitée avec le même volume d'une solution organique de *N*-aryl-*N'*-sulfamoyloxazolidin-2-ones pendant 20 min. L'ajustement du pH d'équilibre de la phase aqueuse est assuré par l'ajout d'une solution NaOH (0,1N). Les deux phases aqueuses et organiques sont séparées par centrifugation. La spectrophotométrie UV-visible a été exploitée pour déterminer la concentration du métal après extraction. Le rapport de distribution (D) est défini comme le logarithme du rapport des concentrations du métal dans les deux phases à l'équilibre.

4.3. Mécanisme d'extraction et espèces en solution.

4.3.1. Effet du pH sur le processus d'extraction :

L'extraction de Co (II) de la solution sulfate par les *N*, aryl, *N'*sulfamoyloxazolidinones peut être représentée comme suit:



Où K_{ex} désigne la constant d'équilibre

$$K_{\text{ex}} = \frac{[\text{CoL}_2][\text{H}^+]^2}{[\text{Co}^{+2}][\text{HL}]^2} \quad (2)$$

$$K_{\text{ex}} = \frac{D[\text{H}^+]^2}{[\text{HL}]^2} \quad (3)$$

$$\text{Où } D = \frac{[\text{CoL}_2]}{[\text{Co}^{+2}]} \quad (4)$$

Prenons le logarithme de l'équation (3) on trouve :

$$\log D = \log k_{ex} + 2 \log[HL] + 2pH \quad (5)$$

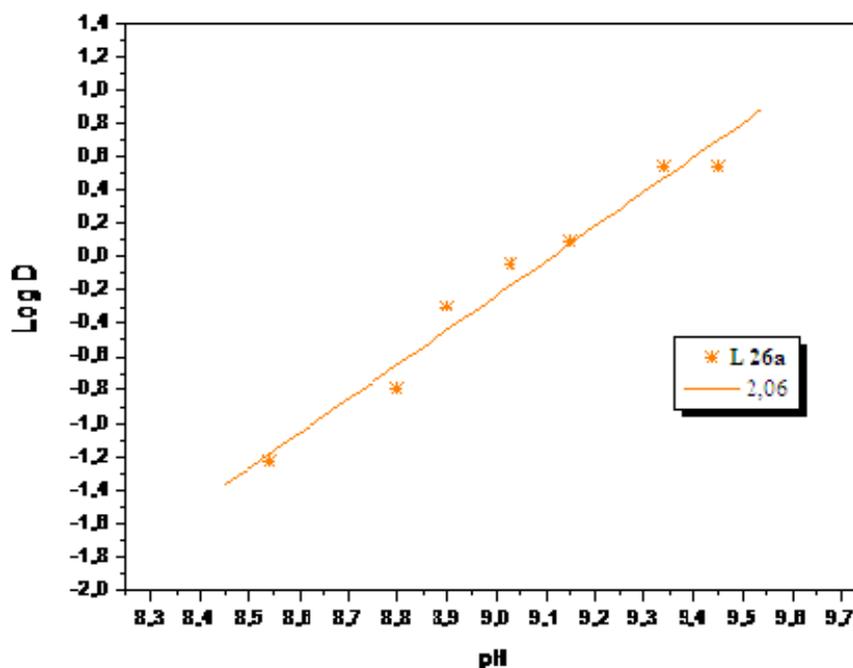


Figure 4.1. Effet de pH d'équilibre sur le processus d'extraction

Conditions d'extraction : Co(II) $6.8 \cdot 10^{-4}$ M (milieu sulfate «I=1»), **L26a** : $1.7 \cdot 10^{-3}$ M dans CH_2Cl_2

L'analyse des données expérimentales de la constante de distribution (D) en fonction du pH d'équilibre et la concentration d'extrayant a permis une estimation du nombre de molécule d'extrayant dans le complexe organométallique extrait. L'étude d'extraction du cobalt ($0,0016 \text{ mol dm}^{-3}$) avec les ligands **26** ($0,02 \text{ mol dm}^{-3}$) en fonction du pH a montré une augmentation du pourcentage d'extraction avec une augmentation de pH du milieu.

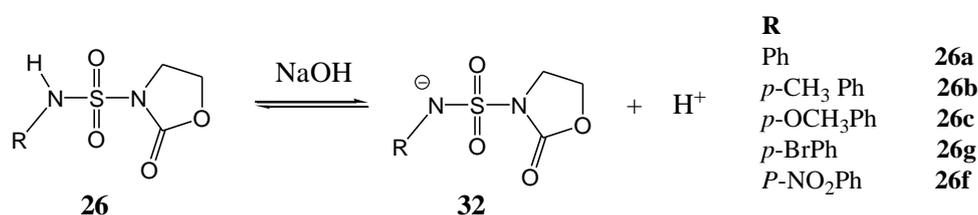


Schéma 4.1. Déprotonation de *N*-Aryl, *N'*sulfamoyloxazolidinones (**26**) en milieu basique.

En outre, la variation de $\log D$ en fonction du pH (**Figure 4.1**) a donné une ligne droite avec une pente de valeur **2**, indiquant l'échange de deux moles de H^+ (deux molécules ligands) pour chaque mole d'ions métallique au cours du processus d'extraction. Comme il a été mentionné dans l'introduction de ce chapitre, les composés **26** peuvent donner la forme anionique $>\text{N}^-$ en

solution par une réaction de déprotonation très probable en présence de NaOH (**Schéma 4.1**). Ces formes déprotonées **32** sont solubles dans l'eau, et peuvent donc être facilement coordonnées au cation Co^{+2} pour former des complexes extractables neutres.

4.3.2. Effet de substituant du noyau benzénique sur le processus d'extraction :

Le changement de substituant en position *para* sur le cycle benzénique par les un CH_3 , Br, OCH_3 et NO_2 donne un effet significatif sur le processus d'extraction et de transfert d'ions métallique (**Figure 4.2**)

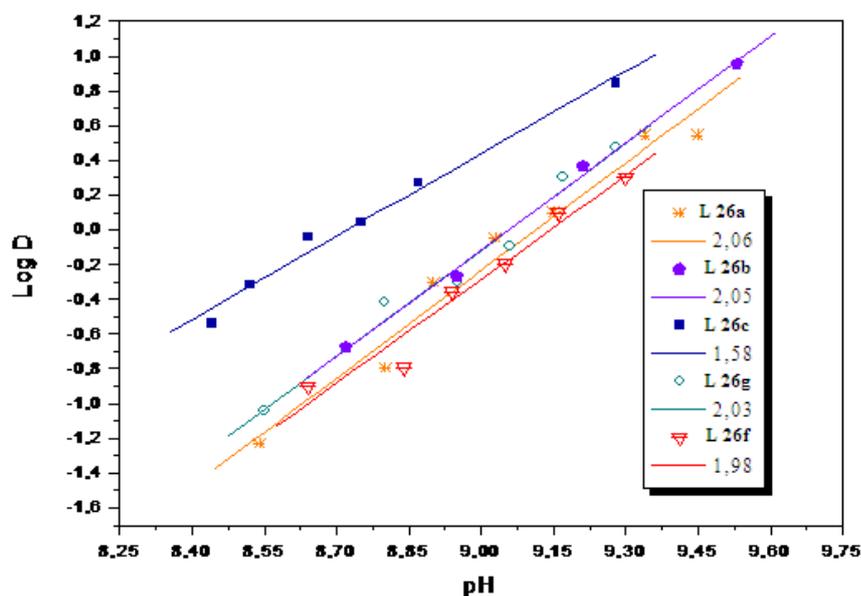


Figure 4.2. Effet de substituant du noyau benzénique sur le processus d'extraction :

Conditions d'extraction : $\text{Co(II)} 6.8.10^{-4} \text{ M}$ (milieu sulfate «I=1»), **L26a** : $1,7. 10^{-3} \text{ M}$ dans CH_2Cl_2

Ces résultats peuvent être expliqués en retournons sur la formation de l'anion **32** par la déprotonation des *N*-sulfamoyloxazolidinones **26** pour donner une espèce intermédiaire (**Schéma 4.1**). L'anion **32** est stabilisé par des formes mésomères, en fonction de l'effet électronique exercé sur l'atome d'azote. Nous pouvons raisonnablement postuler que cette individualité de l'extraction est assurée par les constantes de Hammett des substituant [16] où les substituants, qui ont un effet électro-attracteur supérieur a celui du groupement SO_2 -oxazolidinone (évaluées par analogie avec le groupement $\text{SO}_2\text{N}(\text{Me})_2$, $\delta_p = 0,65$), stabilise l'anion **32** par délocalisation de la charge négative de l'azote dans le système aromatique. Une localisation de la charge négative sur l'atome d'azote, est assurée probablement par un effet électro-donneur. Ce qui favorise une

coordination facile au cours du processus d'extraction. Il est intéressant aussi de noter que la même interprétation à été reportée par Borghese et *al* dans le mécanisme de réaction de transulfamoylation par les même molécules d'oxazolidinones, dans la synthèse des sulfamides non symétriques [17].

4.3. Conclusion

Les *N*-aryl,*N'*-sulfamoyloxazolidinones, ont été exploités pour une étude d'extraction par solvant de Co (II) dans un milieu sulfate par le dichlorométhane. L'extraction de Co^{+2} dépend du pH d'équilibre de la phase aqueuse, et du changement des substituants en position *para* sur le cycle benzénique (CH_3 , Br, OCH_3 et NO_2), selon un mécanisme proposé d'échange de cations. :



On se basant sur ces principaux résultats présentés, il sera intéressant d'étendre cette étude pour d'autres ions métalliques de transition tel que le nickel (Ni^{+2}) et le cuivre (Cu^{+2}).

Les résultats trouvés dans cette dernière partie sont en accord avec ce que nous avons déjà proposé dans le mécanisme de complexation de ces molécules.

Références bibliographiques de l'application analytique (l'extraction liquide-liquide)

1. Cheng, C.Y. *Hydrometallurgy* .(2000) 56, 369–386.
2. Sole, K.C.; Feather, A.M.; Cole, P.M. *Hydrometallurgy*.(2005) 78 ,52–78.
3. Darvishi, D.; Haghshenas, D.F.; Keshavarz Alamdari, E.; Sadrnezhad, S.K.; Halali, M. *Hydrometallurgy* (2005)77, 227–238.
4. Singh, H.; Mishra, S.L.; Vijayalakshmi, R. *Hydrometallurgy* (2004)73, 63–70.
5. Francis, T.; Rao, T.P.; Reddy, M.L.P. *Hydrometallurgy* (2000)57, 263–268.
6. Stary, J. *The Solvent Extraction of Metal Chelates*, Pergamon Press, Oxford, 1964.
7. Honjo, T.; Imaizumi, H.; Ueda, K.; Sato, K.; Sawada, K.; Sohrin, Y.; Taguchi ,S.; Nagaosa, Y.; Hasegawa, K.; Hirayama, N.; Miura, J.; Yamada, A.; Yamamoto, M.; Yoshikuni,T. *Basic, Analytical Chemistry, Kagaku Dojin, Kyoto, 1998* (Section 4.2).
8. Tanaka, M.; Akaiwa, H. *Solvent Extraction Chemistry*, Shokabo, Tokyo, 2000.
9. Nakamura, H.; Yoshida, T.; Todoko, M.; Ueno, K.; Takagi, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* (1984)57, 2839.
10. Moriguchi, Y.; Yoshida, T., Takagi, M. *Bunseki Kagaku* (1984)33, 435.
11. Kordosky, G.A.; Mac Kay, K.D.; Virnig , M.J. *Trans. Soc. Min. Eng. AIME* (1977)262, 36.
12. Hoh, Y.C.; Wang, C.H. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, (1981)31, 345.
13. Wang, C.H.; Hoh, Y.C. *Hydrometallurgy* (1982)8, 161.
14. Yang, Y.; Chen, B.; Chen, L.; Yu, X. *Tongji Daxue Xuebao Ziran Kexueban* (1997)25, 61.
15. Yang, Y.; Chen, B.; Yu, X.; Yao, W. *Huaxue Shijie.*, (1999)40, 609.
16. Hansch, C.; Leo, A.; Taft, R. W. *Chem. Rev.*,(1991)91, 165-195.
17. Borghese, A.; Antoine, L.; Van Hoeck, J. P.; Mockel, A.; Merschaert, A. *Organic Process Research & Development* (2006)10, 770-775 (Reference [11]- la stratégie organique -).

Conclusion Générale et Perspectives

Les maladies infectieuses sont une cause majeure de décès, en particulier dans les pays en développement. Ces maladies tuent environ 15 millions de personnes chaque année, ce qui correspond à environ un tiers du nombre de décès. Donc parmi les grandes « réussites » de la médecine du XX^e siècle c'était la découverte des antibiotiques, parce que jusqu'à la fin du XX^e siècle, les maladies infectieuses ont été la première cause de mortalité de l'espèce humaine. Les sulfamides étaient les premiers agents antimicrobiens, qui ont initié la révolution d'antibiotiques dans la médecine. Au cours des dernières décennies, l'effort de découvrir de nouveaux agents antibactériens a ralenti.

En fait, les oxazolidinones sont la seule classe de nouveaux agents antibactériens synthétiques au cours des 30 dernières années qui possèdent des structures tout à fait nouvelles par rapport aux agents antibactériens existants. Dans ce contexte dans un travail précédent l'activité antibactérienne de *N*-sulfamoyloxazolidinones a abouti à la préparation d'une série originale de biomolécules douées d'une activité antibactérienne contre une souche Gram positif. Les potentialités de l'approche bio-organique n'avaient pas été explorées pour les *N*-sulfamoyloxazolidinones, dans une vue de 'rational drug design' ce qui a ouvert un champ d'investigation quasi vierge dans ce domaine. Certains *N*-sulfamoyloxazolidinones font alors preuve d'une activité inhibitrice comparable ou parfois supérieure à celle des sulfamides existants. Ces résultats intéressants étaient cependant difficilement explicables et nécessitaient une étude approfondie de relations existantes entre la structure et l'activité de ces composés.

L'objectif de ce travail est l'élargissement du spectre d'action de ces molécules contre d'autres types de souches notamment Gram négatif ; ainsi que l'amélioration de cette activité biologique. Pour cette raison on a adopté deux stratégies différentes, organique et inorganique

Pour la première **Stratégie Organique** une nouvelle série de perhydro-1,3-oxazine-2-ones *N*-substitué contenant un *N*-phényl sulfamide a été décrite. Le motif principal de ces molécules cibles est un hétérocycle à six chaînons. Les structures chimiques des composés ont été élucidées par IR, RMN et

ESI-MS. La structure cristalline de *N*-[(*N*-4-fluorophényl) sulfamoyl] perhydro-1,3-oxazine-2-one (**27d**) a été établie par diffraction aux rayons X.

Tous les composés synthétisés ont été testés pour leurs activités antibactériennes *in-vitro* contre une souche Gram positif (*Staphylococcus aureus*), et deux autres souches Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). Les résultats de cette stratégie organique révèlent que la majorité de ces composés présentent une activité antibactérienne potentielle et prometteuse, où les composés ayant un hétérocycle à six chaînons, tels que les 1,3-perhydrooxazin-2-ones sont légèrement plus actifs que ceux ayant un hétérocycle à cinq chaînons tels que les oxazolidin-2-ones, avec une spécificité probable contre les souches Gram positif (*S. aureus*) et Gram négatif (*P. aeruginosa*). L'effet des substituants sur le noyau benzénique a été également étudié.

Une étude comparative entre la lipophilie et son effet sur l'activité antibactérienne montre que cette dernière est améliorée d'une manière acceptable et encourageante. En effet lorsque la lipophilie augmente, les composés ayant un halogène (F, Cl), H, Me à la position *para* du cycle benzénique donne les meilleurs résultats.

A la fin de la première stratégie, on a constaté que les Structures de **27d** et **26e** peuvent être optimisées afin de découvrir de nouveaux agents antibactériens puissants avec des structures différentes que celles des classes d'antibiotiques existantes.

Pour la deuxième **Stratégie Inorganique**, quelques complexes mononucléaires de cuivre (II), cobalt (II) et nickel (II) d'oxazolidinones et de leurs analogues *N*-méthylés ont été synthétisés et caractérisés par des méthodes spectrales IR, UV-Vis, ESI-MS, les données d'analyses structurales de ces complexes ont conduit à la proposition d'une géométrie octaédrique de formule générale $[(ML_2 \cdot 4.H_2O)Cl_2]$. L'étude par voltamétrie cyclique des complexes montre des pics d'oxydoréduction irréversibles correspondant au couple Cu (II / I) et à l'oxydation du couple cuivre (II / III). L'étude par spectrofluorimétrie de certains complexes en solution dans le DMF a montré que tous les complexes organométalliques présentent des transitions intra-ligand ($\pi \rightarrow \pi^*$) dans la région bleu-vert avec des intensités d'excitation et d'émission élevées. Les formes et les intensités des bandes d'absorption et d'émission des ligands sont affectées d'une manière significative par la présence d'un substituant sur le noyau benzénique, la réaction de *N*-méthylation et aussi par la nature du solvant.

Par ailleurs, une évaluation *in-vitro* de l'activité antibactérienne des complexes synthétisés indique que ces derniers montrent une efficacité meilleure que leurs ligands libres contre les souches Gram positif (*S. aureus*) et Gram négatif (*P. aeruginosa*) testées. Alors qu'ils sont pratiquement inactifs sur la souche Gram négatif (*E. coli*).

Enfin, l'exploitation des propriétés structurales de ces molécules de synthèse a conduit aussi à la réussite d'une application originale dans le domaine d'extraction liquide-liquide.

Les résultats préliminaires de ce travail ouvrent une large perspective pour d'autres études plus approfondies dans le même axe de recherche, nous citons ci-dessous quelques exemples :

- Une modification structurale en combinaison des deux sous stratégies organiques (la taille du cycle et la *N*-méthylation) à base de la FBDD (citée dans le chapitre 1)
- Une étude de l'effet du nombre, de la nature et de la position (*o,m,p*) des substituants sur le noyau benzénique de ces molécules sur l'activité antibactérienne.
- Enfin dans le cadre de la pharmaco-modulation des composés biologiquement actifs les 1,3-perhydrooxazin-2-ones peuvent faire l'objet d'une étude de complexation ou de greffage avec la β -Cyclodextrine.
- La combinaison de la chimie des métaux de transitions et des sucres (glycosyle) avec les différentes stratégies décrites dans ce travail paraît très utile et très intéressante.

1. Matériel et Méthodes

Les produits de départ ont été obtenus auprès des fournisseurs commerciaux et ont été utilisés sans purification supplémentaire. Avant l'utilisation, sauf l'aniline qui a été purifiée par distillation sur NaOH sous pression réduite, Les autres anilines substituées ont été utilisés sans purification supplémentaire. Les points de fusion ont été déterminés avec un appareil de point de fusion électrothermique (**IA9000**). Les spectres **IR** ont été enregistrés sur **Perkin Elmer FT-IR 1725** (KBr). Spectres **RMN ^1H** ont été enregistrés sur un appareil **Bruker Avance (300MHz)** utilisant le DMSO-*d*6 ou CDCl_3 comme solvant. Les déplacements chimiques des protons ont été référencés au TMS. Les spectres électroniques **UV-visible** ont été enregistrés entre 200-900 nm par un spectrophotomètre **Shimadzu mini 1240**. Pour l'analyse par les **rayons X** (voir le paragraphe 2.1.3 dans le chapitre 2).

Les Spectres de **masse** à ionisation par électrospray (ESI-MS) ont été enregistrés en mode positif et négatif sur un spectromètre **Micromass ZQ water**. Les spectres **d'excitation et d'émission** ont été enregistrés sur un spectrofluorimètre **Shimadzu model (RF-5301 PC) (japon)** équipé d'une lampe à xénon

Les **mesures électrochimiques** ont été obtenues sur un Potentiostat-Galvanostat **Princeton Applied Research PAR 273A** piloté par un logiciel « power suite software ». Les spectres ont été enregistrés à 25°C a travers un montage à trois électrodes d'une cellule galvanique. Une électrode à calomel saturée (ECS) a été utilisée comme électrode de référence, une deuxième électrode de platine a été employée comme une électrode auxiliaire. La troisième électrode de travail était de platine d'une surface de **0,12 cm²**. Les solutions de ligands libre **30a** et son complexe correspondant **C09** ont été soigneusement préparés dans un extra pure diméthylformamide (DMF) (Fluka Chemical Co) à une concentration final de 10^{-3} , on utilisant le Tetrabutylammonium hexafluorophosphate (**Bu₄NPF₆**) (Grade électrochimique, Fluka Chemical Co) comme un électrolyte support. Les solutions ont été désoxygénées par passage d'azote sec

dans la solution pendant 20 min avant les expériences, pendant les expériences le débit de gaz a été maintenu sur la solution avec une agitation continue et synchronisée.

Le suivi des réactions par **chromatographie** sur couche mince (CCM) a été effectué sur des feuilles de silice (TLC-cartes (Fluka)). Les Spots sont visualisés sous UV 254 nm et révélé ensuite par une solution de Ninhydrine (2% dans éthanol). La chromatographie sur colonnes a été réalisée à l'aide de gel de silice Merck 60 (Fluka).

2. Procédure de synthèse des composés 26 ,27 et 30 et les complexes organométalliques :

2.1. les *N*-[(*N*, aryl)-sulfamoyl] perhydro1,3 oxazine-2-ones(27a-27f).

À température ambiante une solution d'isocyanate de chlorosulfonyle (ICS) (4,5g, 31,8 mmol) dans 40 ml de dichlorométhane (CH_2Cl_2) sous atmosphère d'azote, refroidie à environ 1°C. Une solution de 1,3 bromopropanol ou 1,3 chloropropanol (4,00 g, 32 mmol, 1,1 équivalent) dans 10 ml CH_2Cl_2 sec est ajouté lentement pendant 5 min à 0 ° C. Le mélange réactionnel a été poursuivi sous agitation à la même température pendant une période minimale de 20 min. le produit de carbamoylation ainsi obtenu et 2,2 équivalent de triéthylamine (TEA) sont ajoutés lentement (goutte à goutte) à 0 ° C à une solution 0,05 mole 1,1 équivalent dans 100 ml de CH_2Cl_2 d'amine primaire (aniline ou anilines *para*-substitués). La progression de cette réaction a été suivie par CCM. Après presque 45 minutes la réaction est terminées. Le mélange réactionnel est diluée avec 100 ml de CH_2Cl_2 , lavé avec deux fractions de HCl 0,1 N, puis la phase organique est séparé par décantation, lavée avec de l'eau, séchée et concentrée. Le résidu brut de *N*-[(*N*, aryl)-sulfamoyl] perhydro 1,3-oxazine-2-ones est ensuite purifiée par chromatographie sur colonne et le rendement globale de la réaction est entre **64-69%**.

a. *N*-[(*N*-phényl)-sulfamoyl] perhydro-1 ,3-oxazine-2-one 27a. Selon le mode opératoire typique (3.2.1) en utilisant le 1,3 Chloropropanol comme halogéno-alcool, un solide blanc de **27a** a été obtenu avec un rendement de 65,02% après chromatographie sur colonne (éluant: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 95:5$) et une recristallisation dans un mélange de CH_2Cl_2 / n-hexane.

Point de fusion 163-165 ° C; Rf: 0,65 (CH₂Cl₂/MeOH = 95:5); FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3219 (NH), 1697 (C = O), 1271, 1190 (SO₂); 1H RMN (300 MHz, CDCl₃) 1,89 (q, 2H), 3,59 (t, J = 6,26 Hz, 2H), 4,22 (t, J = 5,17 Hz, 2H), 7.26 à 7.31 (m, 3H), 7,35 à 7,38 (m, 2H), 7,6 (s large, 1H), ESI MS [M + Na⁺] = 279,05.

b. N-[(N_p-Toloyl)-sulfamoyl] perhydro-1,3-oxazine-2-one 27b. Selon le mode opératoire typique (3.2.1) en utilisant le 1,3 Chloropropanol comme halogéno-alcool, un solide blanc de **27b** a été obtenu avec un rendement de 64,69% après chromatographie sur colonne (éluant: CH₂Cl₂/MeOH = 95:5) et une recristallisation dans un mélange de CH₂Cl₂ / n-hexane.

Point de fusion 177-179 ° C; Rf: 0,63 (CH₂Cl₂/MeOH = 95:5); FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3212 (NH), 1702 (C = O), 1273, 1163 (SO₂); RMN 1H (300 MHz, CDCl₃) 1,90 (q, 2H), 2,36 (s, 3H), 3,57 (t, J = 6,18 Hz, 2H), 4,23 (t, J = 5,36 Hz, 2H), 7.17 à 7.28 (m, 4H), 7,47 (s large, 1H), ESI MS [M+Na⁺] = 293,06

c. N-[(N-4-méthoxyphényl)-sulfamoyl] perhydro-1,3-oxazine-2-one 27c. Selon le mode opératoire typique (3.2.1) en utilisant le 1,3 Chloropropanol comme halogéno-alcool, un solide gris **27c** a été obtenu avec un rendement de 67,99% après chromatographie sur colonne (éluant: CH₂Cl₂/MeOH = 95:5) et une recristallisation dans un mélange de CH₂Cl₂ / n-hexane.

Point de fusion 183-185 ° C; Rf: 0,55 (CH₂Cl₂/MeOH = 95:5); FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3201 (NH), 1669 (C = O) 1269, 1155 (SO₂); RMN 1H (300 MHz, CDCl₃) 1,91 (q, 2H), 3,54 (t, J = 6,21 Hz, 2H), 3,82 (s, 3H), 4,24 (t, J = 5,32 Hz, 2H), 6,88-6,91 (dm, 2H), 7.21 à 7.28 (dm, 2H), 7,41 (s large, 1H), ESI-MS [M+Na⁺]=309,06.

d. N-[(N-4-fluorophényl) sulfamoyl]-perhydro-1,3-oxazine-2-one 27d. Selon le mode opératoire typique (3.2.1) en utilisant le 1,3 Chloropropanol comme halogéno-alcool, un solide blanc de **27d** a été obtenu avec un rendement de 66,63% après chromatographie sur colonne (éluant: CH₂Cl₂/MeOH = 95:5) et une recristallisation dans un mélange de CH₂Cl₂ / n-hexane.

Point de fusion 190-192 ° C ; Rf: 0,62 (CH₂Cl₂/MeOH = 95:5); FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3292 (NH), 1703 (C = O) 1273, 1163 (SO₂); RMN 1H (300 MHz, CDCl₃) 1,93 (q, 2H), 3,58 (t, J = 6,20 Hz,

2H), 4,25 (t, J = 5,36 Hz, 2H), 7.3 à 7.11 (m, 2H), 7.26 à 7.29 (m, 2H), 7,65 (s large, 1H), ESI-MS [M+ Na⁺] = 296,67.

e. N-[(N-4-chlorophényl)-sulfamoyl] perhydro-1,3-oxazine-2-one 27e. Selon le mode opératoire typique (3.2.1) en utilisant le 1,3 Chloropropanol comme halogéno-alcool, un solide blanc de **27e** a été obtenu avec un rendement de 65,13% après chromatographie sur colonne (éluant: CH₂Cl₂/MeOH = 95:5) et une recristallisation dans un mélange de CH₂Cl₂ / n-hexane.

Point de fusion 173-175 ° C; Rf: 0,60 (CH₂Cl₂/MeOH = 95:5)); FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3291 (NH), 1702 (C = O), 1272, 1161 (SO₂); 1H RMN (300 MHz, CDCl₃) 1,92 (q, 2H), 3,62 (t, J = 6,20 Hz, 2H), 4,26 (t, J = 5,36 Hz, 2H), 7.23 à 7.27 (m, 2H), 7,40 à 7,43 (m, 2H), 7,82 (s large, 1H), ESI-MS [M+Na⁺] = 313,52.

f. N-[(N-4-nitrophényl)-sulfamoyl] perhydro-1,3-oxazine-2-one 27f. Selon le mode opératoire typique (3.2.1) en utilisant le 1,3 Chloropropanol comme halogéno-alcool, un solide jaune de **27f** a été obtenu avec un rendement de 69,22% après chromatographie sur colonne (éluant: CH₂Cl₂/MeOH = 95:5) et une recristallisation dans un mélange de CH₂Cl₂ / n-hexane.

Point de fusion 186-188 ° C; Rf: 0,48 (CH₂Cl₂/MeOH = 95:5)); FT-IR (KBr, cm⁻¹): 3165 (NH), 1693 (C = O), 1387, 1227 (SO₂); RMN 1H (300 MHz, DMSO-*d*₆) 1,99 (q, 2H), 3,78 (t, J = 6,41 Hz, 2H), 4,30 (t, J = 5,35 Hz, 2H), 7,83 à 7,88 (m, 2H), 8,17-8,20 (m, 2H); 7,49 (s large, 1H), ESI-MS [M+Na⁺] = 323,56

2.2. Les N-[(N, aryl)-sulfamoyl] oxazolide-2-ones (26a-26f) :

À température ambiante une solution d'isocyanate de chlorosulfonyle (ICS) (4,5g, 31,8 mmol) dans 40 ml de dichlorométhane (CH₂Cl₂) sous atmosphère d'azote, refroidie à environ 1°C. Une solution de bromoethanol ou chloroethanol (4,00 g, 32 mmol, 1,1 équivalent) dans 10 ml CH₂Cl₂ sec est ajouté lentement pendant 5 min à 0 ° C. Le mélange réactionnel a été poursuivi sous agitation à la même température pendant une période minimale de 20 min. le produit de carbamoylation ainsi obtenu et 2,2 équivalent de triéthylamine (TEA) sont ajoutés lentement (goutte à goutte) à 0 ° C à une solution 0,05 mole 1,1 équivalent dans 100 ml de CH₂Cl₂ d'amine

primaire (aniline ou anilines *para*-substitués). La progression de cette réaction a été suivie par CCM. Après presque 45 minutes la réaction est terminée. Le mélange réactionnel est diluée avec 100 ml de CH₂Cl₂, lavé avec deux fractions de HCl 0,1 N, puis la phase organique est séparé par décantation, lavée avec de l'eau, séchée et concentrée. Le résidu brut de *N*-[(*N*, aryl)-sulfamoyl] perhydro 1,3-oxazine-2-ones est ensuite purifiée par chromatographie sur colonne et le rendement globale de la réaction est entre 60-85%.

2.3. Les *N*, méthyl-[(*N*, aryle)-sulfamoyl]oxazolidin-2-ones **30** :

Dans un ballon protégé par une garde à chlorure de calcium, 3équiv. de carbonate de potassium en solution dans l'acétone anhydre sont ajoutés à température ambiante et sous agitation magnétique à 1 équiv. d'oxazolidinone **26** et 3 équiv d'iodure de méthyle sont ajoutées par la suite goutte à goutte. La réaction est contrôlée par CCM, celle-ci montre l'apparition d'un produit moins polaire que le précurseur. Dès que la réaction est terminée (120 min) la solution est filtrée, diluée au CH₂Cl₂ et lavée par une solution l'acide chlorhydrique 0.1 N puis à l'eau jusqu'à un pH neutre. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre et le solvant est évaporé sous pression réduite. Les produits ***N*-méthylés** sont obtenus avec des rendements entre de 60-97%. Pour plus de détails, Vous pouvez également consulter notre publication international Intitulée: "Synthesis of Substituted *N*-aryl-*N'*-sulfamoyloxazolidin-2-ones with Potential Antibacterial Activity". *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, (2007) 2, 131-139 (référence [5] citée dans le *Chapitre 2*)

2.4. Les Complexes mononucléaires de coordination ML₂(M = Ni (II), Cu (II), Co (II)) :

Pour une solution de ligand correspondant à 0,32 mmol dans environ 20 cm³ de éthanol ou solvant adéquat est ajoutée goutte à goutte à température ambiante 20 cm³ d'une solution éthanolique de sel métallique approprié; [NiCl₂.2H₂O (0,027 g, 0,16 mmol), CuCl₂.6H₂O (0,038 g, 0,16 mmol) ou CoCl₂.6H₂O (0,038 g, 0,16 mmol)]. Quelques gouttes de NaOH (0,1 N) sont ajoutées au milieu réactionnel. La réaction est laissée sous agitation pendant 1 à 2 h où un changement de couleur de la solution et une diminution de la valeur du pH de la solution ont été

observées. A la fin de la réaction des précipités de différentes couleurs sont obtenus. Tous les complexes mononucléaires sont séparés sous forme de poudre ou d'aiguilles pointues. Le mélange a été tout d'abord filtré, lavé successivement avec de l'eau et de Et₂O pour se débarrasser des impuretés organiques et inorganiques. Les produits obtenus sont séchés dans un dessiccateur à vide sur CaCl₂. Les complexes obtenus ont une bonne solubilité dans le DMF et le DMSO.

3. Les tests biologiques *in-vitro*:

3.1. Préparation de la culture bactérienne :

Trois à cinq colonies semblables de chaque souches cliniques (*S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*) ont été transférées dans 3 ml d'un milieu nutritif dans un tube à essais de 22 ml, puis une suspension dans de l'eau physiologique a été préparée. La culture obtenue a été diluée afin de donner une concentration approximative de 10⁶ à 10⁸ UFC / ml (0,5 Mc Farland standard) en conformité avec les recommandations (CLSI, 2008). Les souches de références *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* 25922 et *P. aeruginosa* 27853 ont été également utilisées comme des souches de contrôle afin de surveiller et de suivre les Tests de l'activité antibactérienne.

3.2. Méthode de diffusion sur disque :

Les molécules et les complexes organométalliques à tester ont été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO, Merck) avec des concentrations choisies. Des boîtes de Pétri (de 90 mm) contenant 20ml d'un milieu Muller-Hinton (Difco Laboratories, IPP, France) ont été préparées et ensuite séchées à 35 ° C pendant environ 30 min dans un incubateur. Des disques du papier absorbant (6 mm) de concentration finales de 300 mmol / dans le DMSO, ont été par la suite placés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé avec une culture bactérienne préparée (voir le paragraphe précédent). Des disques de même concentration finale d'antibiotiques de référence « Sulfisoxazole ST » ont été également utilisés pour contrôler le développement des souches. Les boites ont été incubées à 35 °C pendant 24 h. Après cela, le diamètre de la zone d'inhibition a été mesuré en millimètres. Pour une lecture facile de

l'antibiogramme, les zones d'inhibitions ont été classées en trois catégories : <10mm = faible activité;> 10 mm = activité modérée;> 16 mm = une activité importante (intéressante).

Afin de clarifier l'effet de DMSO sur le développement des souches bactériennes, des Tests séparés ont été effectués avec le DMSO seul, où il n'a montré aucun effet (activité) contre toutes les souches bactériennes testées. Tous les Tests ont été répétés trois fois pour minimiser l'erreur.

3.3. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) :

Les composés **26,27** qui ont montrés une activité antibactérienne significative (> 16 mm) ont été sélectionnés pour une évaluation de leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI) en utilisant la méthode de dilutions successives décrite dans littérature, une dilution double des composés à tester et la molécule de référence « Sulfisoxazole » ont été préparés afin de faire contrôler le développement des souches bactériennes.

En outre, pour préparer une solution mère, 10 mg de chaque composé d'essai a été dissoute séparément dans 1 ml de diméthylsulfoxyde (DMSO). Des dilutions progressives avec une gélose fondus Mueller-Hinton ont été effectuées pour obtenir les concentrations finaux de 500, 250, 125, 62,5, 31.25, 16, 8, 4, 2,1 µg / ml dans chaque boite. Les boîtes de Pétri ont été inoculées avec 1 à 5 x10⁴ (UFC / ml) et incubées à 37 ° C pendant 18 heures. Une boite dépourvue d'antibiotique sert de témoin de croissance bactérienne. La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été la plus faible concentration des composés testés qui ne donnent pas de croissance visible. Afin de s'assurer que le solvant n'avait aucun effet sur la croissance bactérienne, un contrôle a été effectué avec le milieu de culture et DMSO seul. Aucun effet de DMSO n'a été observé.

4. Corrélation entre la lipophilie et l'activité antibactérienne des molécules de synthèses

4.1. Mesure expérimentale du log P (log P_{o/w}) :

Des solutions de concentrations de l'ordre de 10⁻⁴ M des composés **26 a-f** et **27 a-f** dans le n-octanol ont été préparées. 3 ml de chaque solution sont ajoutés au même volume d'eau à 25±1°C; le mélange ainsi obtenu est agité par un appareil ultrason pendant 30 secondes. Les deux phases

sont par la suite séparées par centrifugation. Les longueurs d'ondes d'absorption maximale des deux phases de substances ont été mesurées entre 200-290 nm par un spectrophotomètre UV-Visible de type **Shimadzu UV-1065**. La longueur de la cuve (en quartz) est de 1cm. Le coefficient de partage a été calculé en utilisant l'équation suivante: $\log P_{o/w} = \log (C_{n\text{-octanol}}/C_{\text{eau}})$. Toutes les mesures ont été réalisées à température ambiante (25 ± 1 ° C). Afin de vérifier la performance de la méthode, l'aniline a été utilisée comme substance de référence.

4.2. Calcul théorique du log P (ClogP):

Les calculs théoriques des valeurs Clog P ont été obtenus en utilisant le logiciel ChemDraw (Chemoffice Ultra V 8.03 (2004))

4.3. Calculs Statistiques:

Le teste de corrélation de Spearman a été utilisé pour évaluer la corrélation entre les valeurs de $\log P_{o/w}$ obtenues par la méthode des flaon et les valeurs obtenues par le calculs théorique ainsi que la corrélation entre les CMI et la lipophilie des composés de synthèse. Tous les calculs statistiques ont été effectués en utilisant le logiciel de statistique « SPSS Statistics 17.0 (SPSS Inc., Etats-Unis) ».

5. Informations Cristallographiques supplémentaires :

Les données cristallographiques pour l'analyse structurale de composé **27d** ont été déposées auprès du Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC-N ° **790885**). Des exemplaires des fichiers d'informations cristallographiques peuvent être obtenus gratuitement sur demande auprès de CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, R.-U.; en citant la référence de publication et le numéro de dépôt. [Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk, <http://www.ccdc.cam.ac.uk>]

6. Financement des travaux de recherche :

Ce travail a été soutenu par la Direction Générale de la Recherche Scientifique et de Développement Technologique (DGRS-DT), du ministère d'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique (MESRS) à travers un projet de recherche (**E2401 / 51/06**).

Synthesis of Substituted *N*-aryl-*N'*-Sulfamoyloxazolidin-2-ones with Potential Antibacterial Activity

Mounir Nessaib^a, Mohamed Abdaoui^{a,*}, Abed el Ghani Djahoudi^a, Mekki Kadri^a and Jean-Yves Winum^b

^aLaboratoire de Chimie Appliquée, Université 08 Mai 1945, BP 401 Guelma, Algérie. ^bLaboratoire de Chimie Biomoléculaire, UMR 5032, Université Montpellier II, ENSCM, 8, rue de l'école normale, 34296 Montpellier Cedex, France

Received: November 7, 2006; Accepted: December 18, 2006; Revised: February 12, 2007

Abstract: Three series of derived compounds of *N*, Aryl-*N'*-Sulfamoyloxazolidin-2-ones were synthesized starting from chlorosulfonylisocyanate (CSI) by carbamoylation, sulfamoylation and intramolecular cyclization reactions followed by methylation and heterocyclic reopening reactions. This later is based on a new hydrolysis method which uses a solid support, in order to obtain the correspondent amino-alcohols, which allowed isolating a new amino-alcohol ester. Measurements of the hydro-solubility by determination partition coefficient (log p) in water/octanol system were carried out by spectrophotometry. The antibacterial activities *in vitro* of some synthesized compounds were evaluated on a "*Staphylococcus aureus*" strain in a Müller-Hintone medium, showing good activity for some of them. All the synthesized compounds are characterized by IR, ¹H NMR and mass spectroscopy (ESI-MS).

Keywords: Chlorosulfonylisocyanate, sulfamoyloxazolidinone, *N*-methylation, partition coefficient, antibacterial activity, *Staphylococcus aureus* culture, Müller-Hintone

INTRODUCTION

Multidrug resistance among Gram-positive bacteria, which are prominent causes of serious hospital infection, represent a growing problem for clinicians [1], and the search for new antibiotic classes represents a major challenge for scientists [2].

Oxazolidinones [3-5] constitute a new family of antibiotics with an activity spectrum covering Gram-positive bacteria and limited action against Gram-negative bacteria [6]. Linezolid (A) (Fig. 1) was the first non-toxic available agent in this new class of antimicrobials [7,8].

In connection with our previous work on sulfamoyloxa-zolidin-2-one, we are interested in preparing new agents that possess an oxazolidin-2-one core structure, separated from an aryl moiety by a sulfamide motif (B) (Fig. 1) [9-12]. The key sulfamide group constitutes the basic skeleton of a variety of biomolecules, including anticancer and antibacterial agents [13-18]. Moreover, the introduction of the sulfamide HNSO₂NH between the aryl ring and the oxazolidin-2-one can influence the geometry properties of the molecules and therefore increases the electron withdrawing properties which are important for biological activity [19]. In the literature, only one related structure (C) (Fig. 1) was reported so far in sulfonamide series which exhibited low antimicrobial activity (MIC>128) [20].

In the present paper, we describe a straightforward one pot synthesis of *N*-aryl-*N'*-sulfamoyloxazolidin-2-ones B and preliminary antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* strain.

1- CHEMISTRY

The access to *N*-Aryl-*N'*-sulfamoyloxazolidinones 1-14a (Scheme 1) is carried out starting from the CSI 1 as sulfonyl moiety donor in three successive one pot steps which are respectively:

- A carbamoylation reaction by the bromoethanol followed by a sulfamoylation reaction using a primary aromatic amine to form the carboxylsulfamide 2.
- An intra-molecular cyclization *in situ* is carried out spontaneously by an excess of triethylamine; between nucleophilic carbamic nitrogen and the bromoethylene group this is related to the excellent leaving group character of Br [19] to form the appropriate *N*, Aryl, *N'*-sulfamoyloxazolidinone (Table 1).

*Address correspondence to this author at the Laboratoire de Chimie Appliquée, Université 08 Mai 1945, BP 401 Guelma, Algérie; Tel/Fax: (213) 37 20 97 21; Email: abdaoui_med@yahoo.fr

2- PREPARATION OF *N*-METHYL-*N*-ARYL-*N'*-SULFAMOYLOXAZOLIDINONES

The access to *N*-Methyl-*N*-Aryl-*N'*-Sulfamoyloxazolidinones 1-14b (Scheme 1) is done according to the method described by CATT and MATIER [21] with good yields; in which we use a mixture of methyl iodide (CH₃I) and potassium carbonate in Acetone as a solvent. The electronic effects of the substituents on the aromatic ring give an acid character to the N-H proton of the aromatic amine in the compounds 1-14a and the existence of only one site of N-H facilitates the *N*-methylation reaction.

In infra-red spectroscopy the introduction of the methyl group is justified by disappearance of the N-H absorption band. In ¹H NMR we observe the disappearance of NH proton signal and the appearance of a new signal peak between 3 and 3.4 ppm attributed to the methyl protons introduced in the structure. The physico-chemical properties and the spectral characteristics are gathered in Table 2 below.

3- PREPARATION OF (2-HYDROXYÉTHYL) SULFAMIDES

The adopted synthesis to obtain sulfamides of (2-hydroxy-ethyl) sulfamide type, resulting from *N*-Methyl, *N*-Aryl, *N'*-sulfamoyloxazolidinones, 1e-3e, 9e, 10e and 12e-14e are done in one step according to a decarboxylative reopening reaction of the oxazolidinone ring. The reaction took place in a heterogeneous basic medium, using a polystyrenic solid support [22] (Scheme 1) to provide the correspondent amino-alcohol with good yields; which are improved compared to those obtained in the homogenous aqueous medium (NaOH/Methanol). This method as described in [23] presents a weak global yield. The solid support used in our work is a strong anionic resin (PUROLITE A400 and A500).

In this reaction the electrophilic character of the carbonyl group is the key of the oxazolidinone ring reactivity, in particular amino-alcohols preparation. A total regioselectivity hydrolysis of CO₂ group compared to SO₂ group is described [10,12]. Amino-alcohols also present many biological and synthetic importances [24, 25].

In ¹H NMR the structures of 1e-3e, 9e, 10e and 12e-14e compounds are justified by the appearance of two new singular signals between 4.8-5.5 ppm and 2.8-3.5 ppm respectively attributed to NH and OH protons. We notice the appearance of a triplet attributed to CH₂-NH. We also observe that the CH₂OH and CH₂NH proton signals are change by 0.5-0.8 ppm for all compounds.

HETEROCYCLES, Vol. 83, No. 5, 2011, pp. 1041 - 1068. © The Japan Institute of Heterocyclic Chemistry
Received, 21st January, 2011, Accepted, 3rd March, 2011, Published online, 10th March, 2011
DOI: 10.3987/COM-11-12145

**SYNTHESIS, CRYSTAL STRUCTURE AND ANTIBACTERIAL
EVALUATION OF *N*-SUBSTITUTED PERHYDRO-1,3-OXAZIN-2-ONES
CONTAINING *N*-PHENYLSULFONAMIDE**

Mounir Nessaib,¹ Abdelghani Djahoudi,² Achour Seridi,^{1,3} Hocine Akkari,³
Nour-Eddine Aouf,⁴ Jean-Claude Daran,⁵ and Mohamed Abdaoui^{1*}

¹Laboratory of Applied Chemistry, University of May 8th, 1945, BP 401, Guelma,
Algeria

²Laboratory of Microbiology, Faculty of Medicine, University of Badji Mokhtar,
BP 205, Annaba, Algeria

³Department of Fundamental Sciences, University of August 20th, 1955, BP 26,
Skikda, Algeria

⁴Laboratory of organic applied chemistry, University of Badji Mokhtar, BP 12,
Annaba, Algeria

⁵Laboratory of Coordination chemistry, UPR 8241, 205, 31077 Toulouse, France

Corresponding Author's: Professor Mohamed Abdaoui and Dr. Hocine Akkari
E-mail: abdaoui.mohamed@univ-guelma.dz and hocine_akkari@yahoo.fr

Abstract - The synthesis of a new series of *N*-substituted perhydro-1,3-oxazin-2-ones containing *N*-phenylsulfonamide is described. The compounds **7a–7f** were obtained in a *one-pot* reaction from chlorosulfonyl isocyanate, selected 1,3-halogenoalcohols and various aromatic amines in alkaline conditions, to give the target *N*-heterocyclic 6-membered ring compounds with good yields. The X-ray crystal structure of *N*-[(*N*-4-fluorophenyl)sulfamoyl]perhydro-1,3-oxazin-2-one **7d** was solved. All the synthesized compounds have been screened for their *in-vitro* antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Structures of **7d** and **6e** can be further optimized to give new potent antibacterial agents with structures significantly different from those of existing classes of antibiotics.

Figure 7.2. Publication 2 (2011)

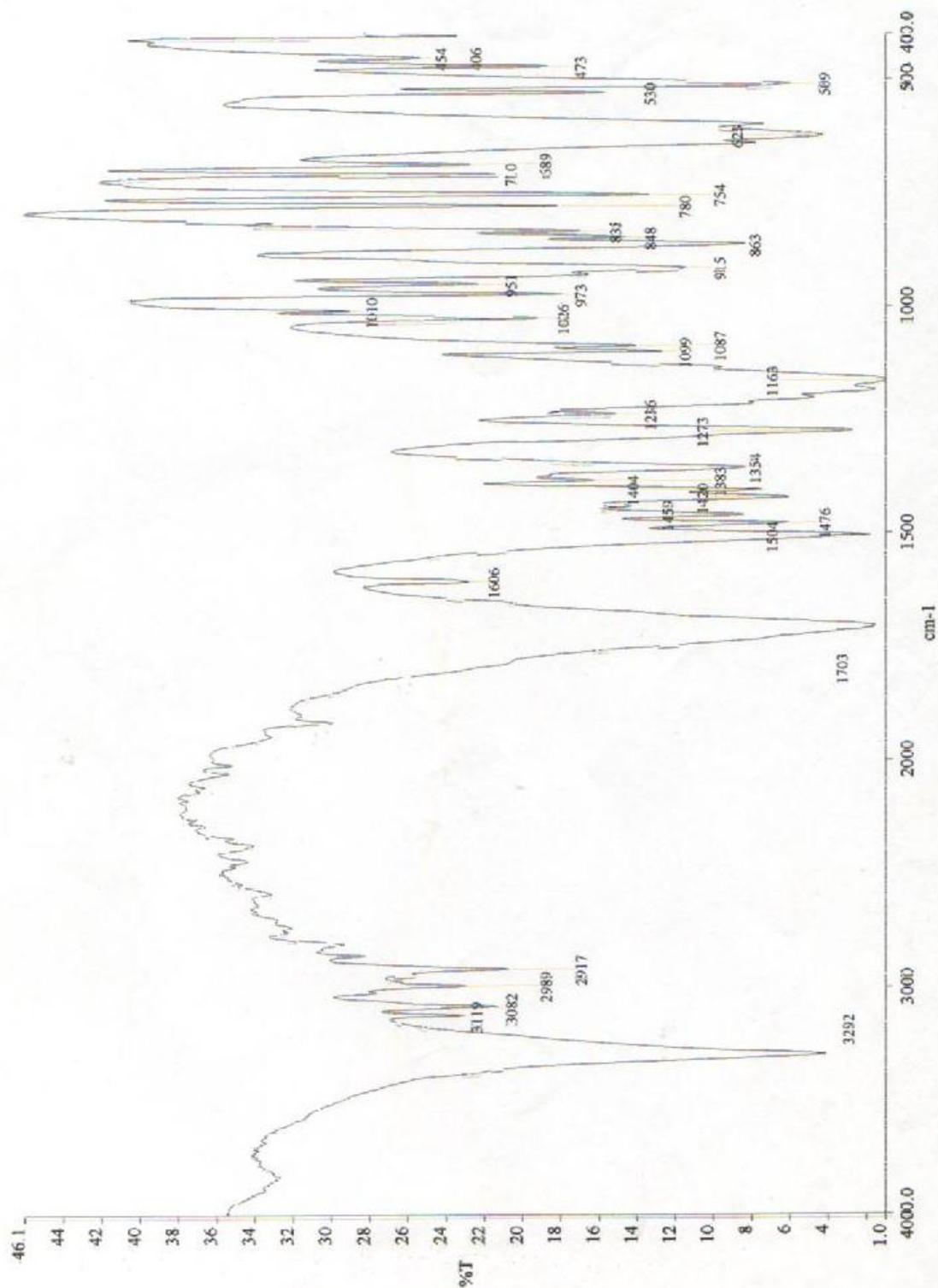


Figure 7.3. Spectre FT-IR de composé 27d

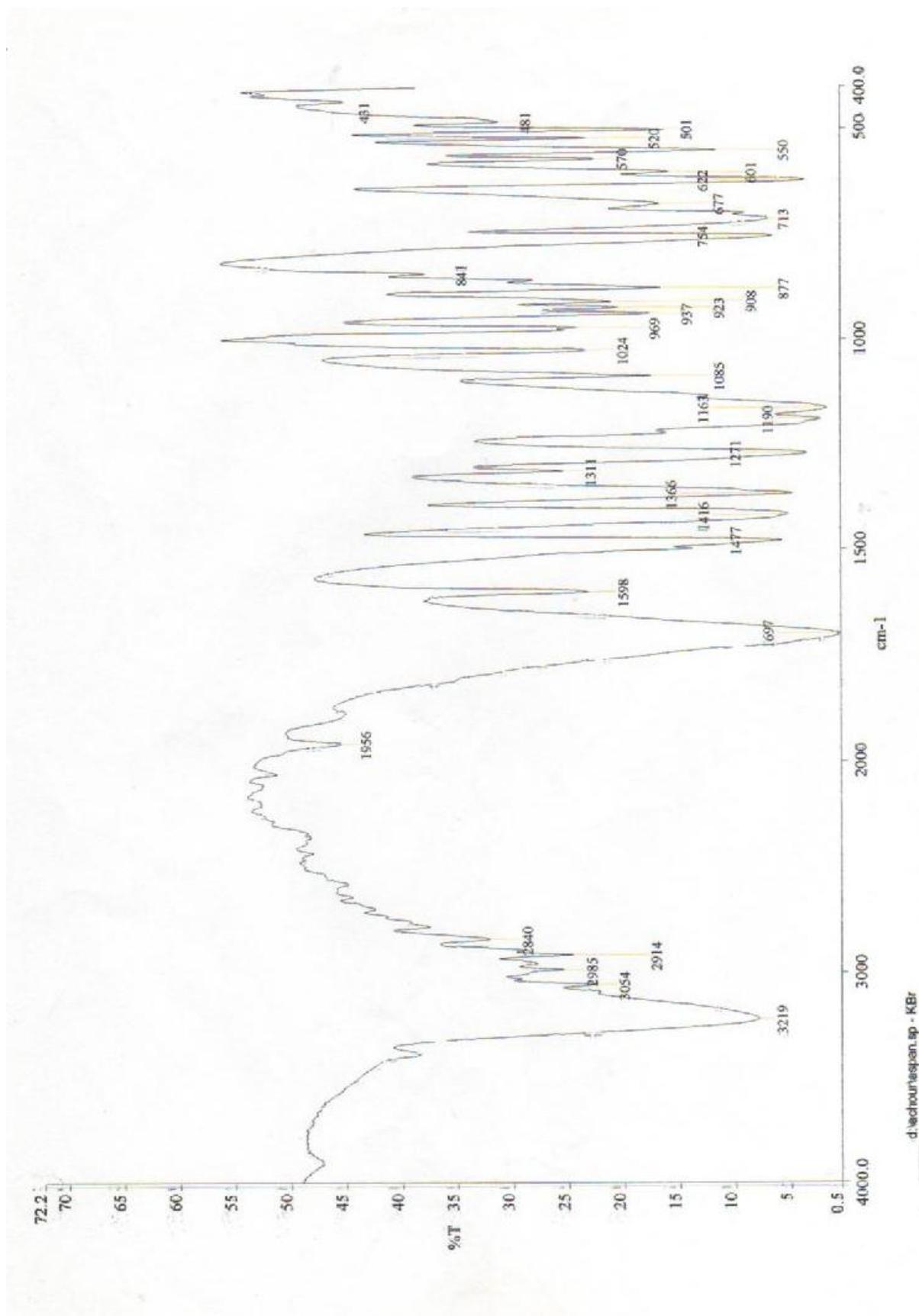


Figure 7.4. Spectre FT-IR de composé 27a

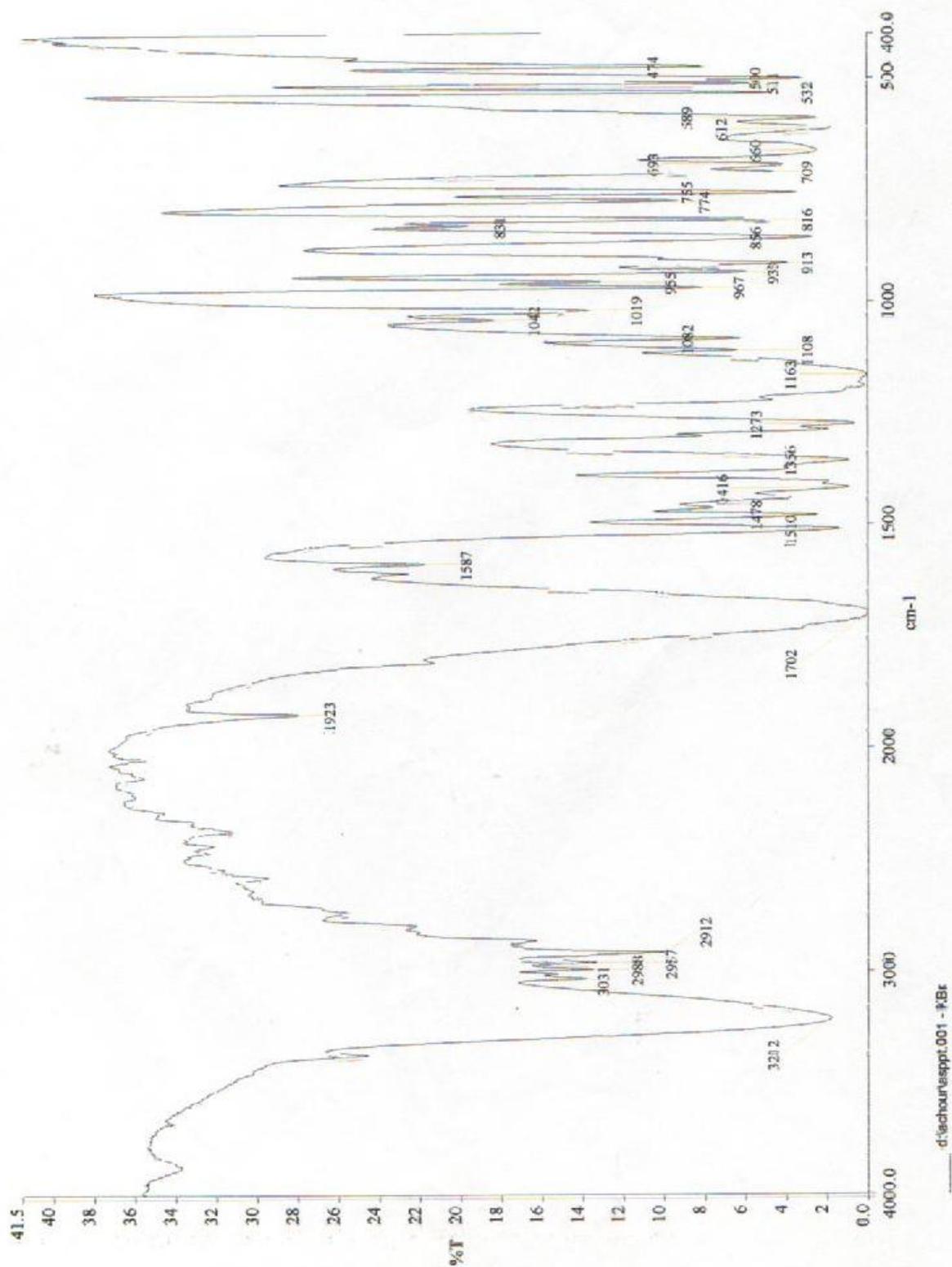
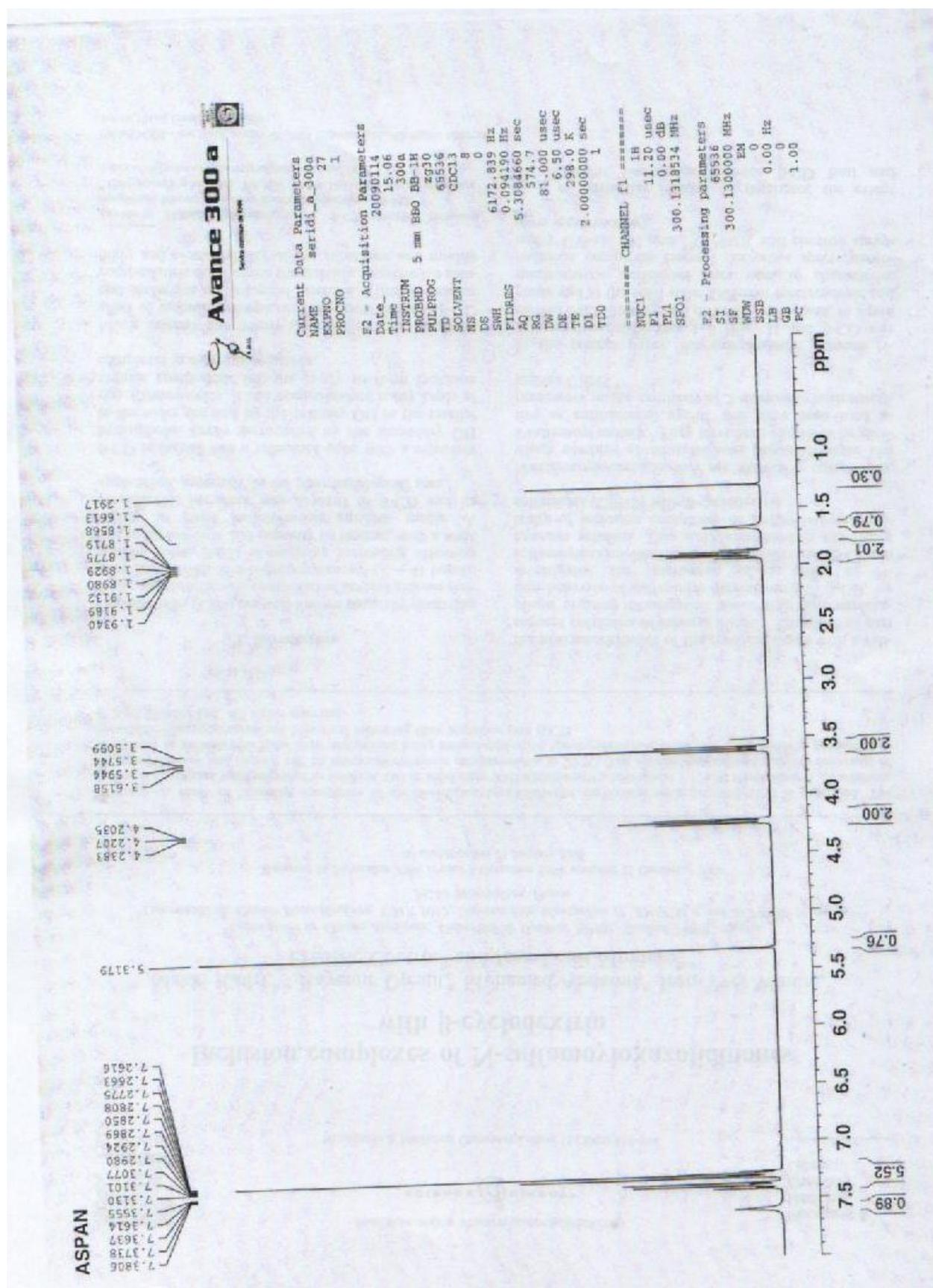
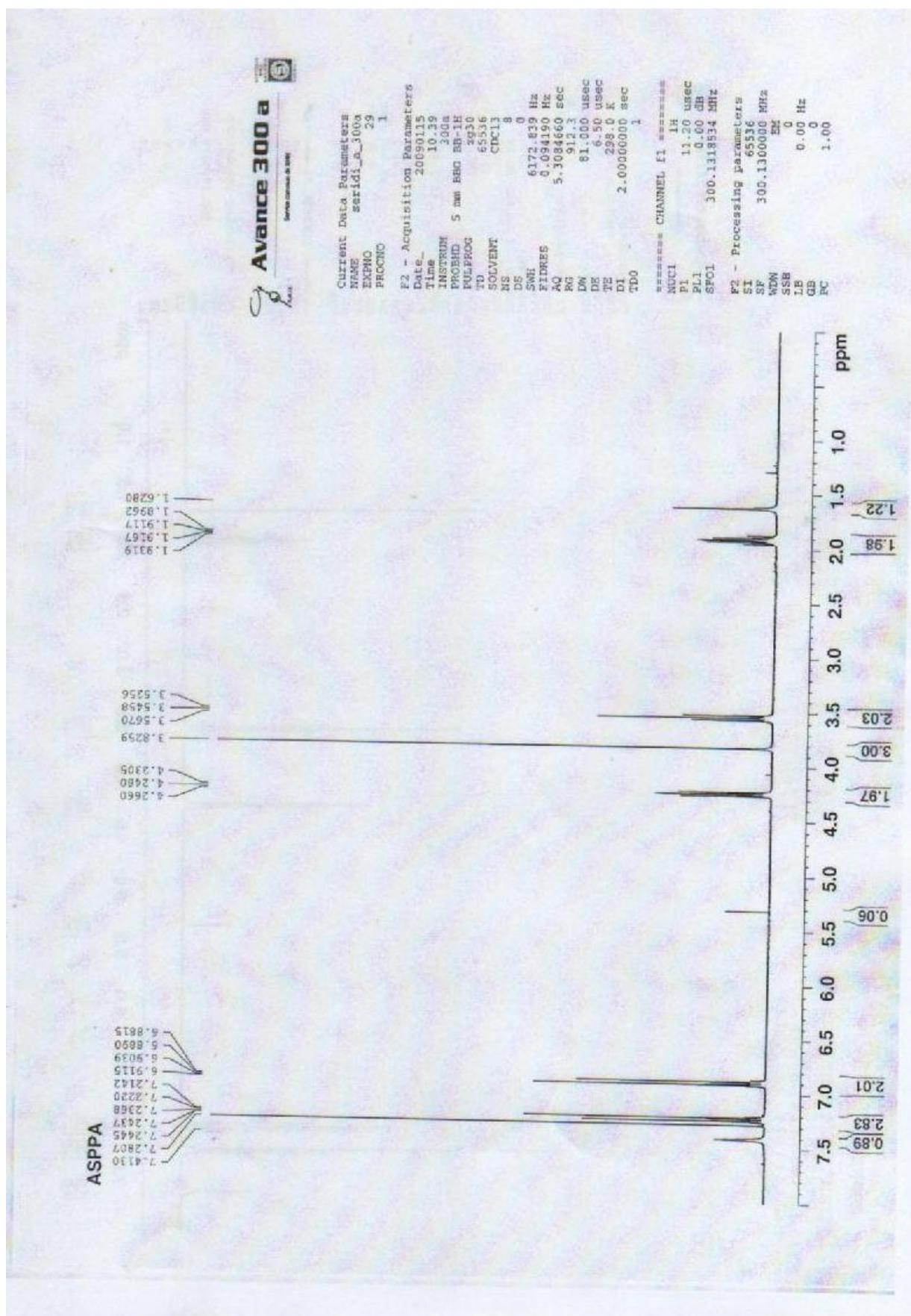
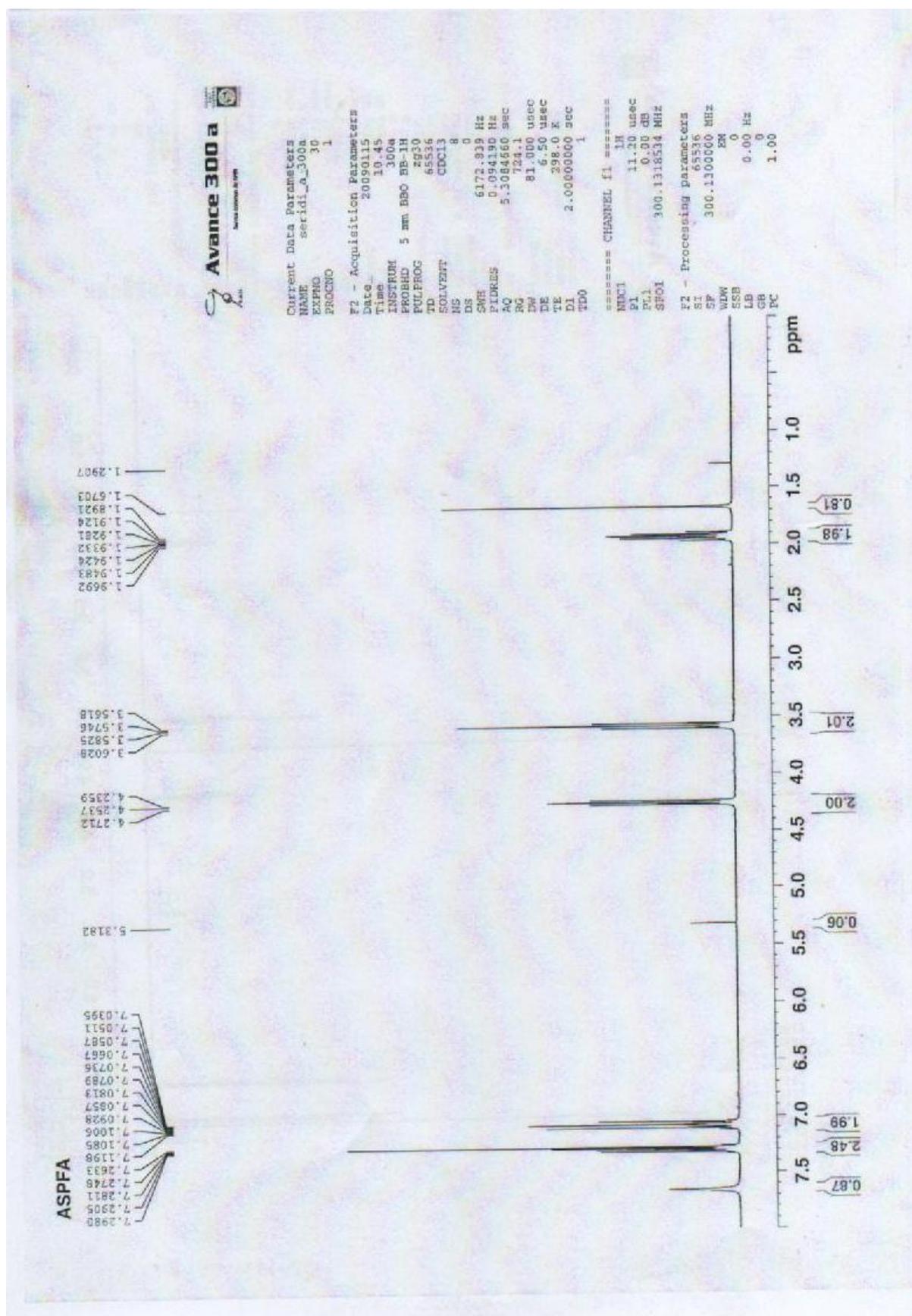


Figure 7.5. Spectre FT-IR de composé 27b

Figure 7.6. Spectre RMN ^1H de composé 27a

Figure 7.7. Spectre RMN ^1H de composé 27c

Figure 7.8. Spectre RMN ^1H de composé **27d**