



Faculté des Sciences

Année 2010

Département de Chimie

THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT

**SYNTHESE ET ACTIVITE ANTIBACTERIENNE
D'UNE NOUVELLE CLASSE D'OXAZOLIDINONES
CONTENANT LE GROUPEMENT SULFONYLE**

Option

Chimie Organique Appliquée

Par

M^{me} ATTOUI - BOUASLA Radia

Maître assistante A au Centre Universitaire El-Tarf

DIRECTRICE DE THESE : *Malika BERREDJEM* Professeur Université d'Annaba

DEVANT LE JURY

PRESIDENT : *Nour-Eddine AOUF* Professeur Université d'Annaba

EXAMINATEURS : *Zine-Eddine DJEGHABA* Professeur Université d'Annaba

***Zahia KABOUCHE* Professeur Université de Constantine**

***Nour-Eddine BENALI* Professeur Université de Khenchela**

***Houria DJEBBAR* Professeur Université d'Annaba**

ملخص

خلال هذا العمل قمنا باصطناع سلسلة جديدة من الأوكسزولدين-2-أون باستعمال كحول من نوع 1.3-ثنائي الكلور بروبان-2-أول الذي يؤدي إلى تشكيل كربوكسيل سيلفاميد أين يؤدي بنا تفاعل الغلق للمركبات السابقة الذكر الذي يتم في شروط حسنة للحصول على مركبات من نوع 5-كلورو ميتيل أوكسزولدينون .

من جهة أخرى قمنا باصطناع مركبات جديدة من النوع N'N , أسيل سيلفوناميد بيس أوكسزولدين-2-أون على ثلاثة مراحل: كربموولسيون سيلفامويلسيون تتبع بتداخل لكربوكسيل سيلفاميد مشتق من لكتات اتيل مع أوكسزولدينون كيرال.

لقد قمنا بإجراء تجارب بيولوجية باستعمال نوعين من مركبات هذه السلسلة على تزايد و حيوية نوعين من الخلايا الليفية و المتطفلة.

بالإضافة إلى هذا حضرنا كربوكسيل سيلفاميد و سيلفوناميد مشتق الملات المتيل بمرود مناسب . هذه الأخيرة تمثل صنف مهم من الأدوية مع طيف واسع من الفاعلية البيولوجية.

الفاعلية البيولوجية لبعض المركبات السيلفوناميدية مصنعة في هذا العمل تم تقييمها *in vitro* و *in vivo*.

المركبات المحضرة تم الكشف عنها بالطرق الطيفية تقنية تحت الحمراء , الرنين النووي المغناطيسي (^1H , ^{13}C) , الطيفية الكتلية و الكشف بطريقة الأشعة السينية.

الكلمات الدالة: ايزوسيانات كلورو سيلفونيل , كربوكسيل سيلفاميد , أوكسزولدينون , سيلفوناميد , N-أسيل سيلفوناميد . تفاعل التحليق الداخلي.

Abstract

In this work, we have developed the synthesis of new series of modified oxazolidinones starting from chlorosulfonyl isocyanate. The use of prochiral alcohol, 1, 3-dichloropropan-2-ol leads to the formation of the carboxylsulfamides. Intramolecular cyclization of these compounds under soft conditions giving the 5-chloromethyl oxazolidinones.

We also described the synthesis of a new series of *N, N'*-acylsulfonamides bis oxazolidin-2-ones in two steps: carbamoylation and sulfamoylation starting from chlorosulfonyl isocyanate, L-ethyl lactate and chiral oxazolidinone. Some of the newly synthesised compounds were tested *in vitro* against the virulent strain RH of *Toxoplasma gondii* and the human lymphocytes, and showed promising results.

We have synthesised the carboxylsulfamides and sulfonamides resulting from methyl malate and primary or secondary amines. We have established that chlorosulfonyl isocyanate is a suitable reagent allowing the introduction a sulfonamide moiety in bioactive molecules. The sulfonamide was prepared in two steps (carbamoylation-sulfamoylation). The biological activity of certain synthesised sulfonamides in this work has been evaluated *in vitro* and *in vivo*.

The structure of all compounds was unambiguously confirmed by usual spectroscopic methods infra-red, ¹H NMR, ¹³C NMR, mass spectrometry and diffraction of X-ray.

Key word: Chlorosulfonyl isocyanate, Carboxylsulfamide, Oxazolidinone, Sulfonamide, *N*-acylsulfonamide, intramolecular cyclization.

Résumé

Au cours de ce travail, nous avons développé la synthèse d'une nouvelle série d'oxazolidinones modifiées à partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle. L'utilisation d'un alcool prochiral, le 1,3-dichloropropan-2-ol conduit à la formation des carboxylsulfamides. La cyclisation intramoléculaire dans des conditions douces permet l'accès aux 5-chlorométhyl oxazolidinones.

Nous avons également réalisé la synthèse d'une nouvelle série des *N*, *N'*-acylsulfonamides bis-oxazolidin-2-ones en deux étapes : carbamoylation, sulfamoylation à partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle, L-lactate d'éthyle et l'oxazolidinone chirale. Nous avons testé deux molécules de cette série sur la croissance et la viabilité de deux types de cellules lymphocytaires et parasitaires qui montrent la présence d'un effet cytotoxique relativement faible.

Nous avons synthétisé des carboxylsulfamides et des sulfonamides issus de malate de méthyle et d'amine primaire ou secondaire avec des rendements satisfaisants. Notre choix est porté sur l'utilisation de l'isocyanate de chlorosulfonyle pour introduire le motif sulfonamide. L'activité biologique de certains sulfonamides synthétisés dans ce travail, a été évaluée *in vitro* et *in vivo*.

Les méthodes spectroscopiques, Infrarouge, RMN du proton et carbone 13, la spectrométrie de masse et la diffraction de rayon X ont été mises à profit pour établir les caractéristiques structurales propres à ces composés.

Mots clés : Isocyanate de chlorosulfonyle, Carboxylsulfamide, Oxazolidinone, Sulfonamide, *N*-acylsulfonamide, Cyclisation intramoléculaire.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

A mes très chers parents

A mon mari

A mes frères et sœurs

A ma belle mère

A mes belles sœurs et beaux frères

A mes neveux et nièces

A toutes ma famille grands et petits

A tous mes proches

A tous mes amis sans exception

REMERCIEMENTS

Les travaux présentés dans cette thèse ont été réalisés au sein de laboratoire de Chimie Organique Appliquée (LCOA) de l'Université Badji-Mokhtar d' Annaba.

Mes premiers remerciements vont à Dieu le tout puissant, qui grâce à lui nous avons eu la force et le courage pour achever ce modeste travail.

*Je tiens particulièrement à exprimer ma reconnaissance envers le Professeur **Malika BERREDJEM** ma directrice de thèse. Je la remercie de m'avoir fait confiance durant ces cinq années, d'avoir été aussi enthousiaste dans nos recherches et d'avoir toujours été disponible. Je lui témoigne un profond respect pour ses qualités non seulement scientifiques qui m'ont permis d'apprendre énormément, mais aussi pour ses qualités humaines.*

*Mes remerciements vont ensuite évidemment au Professeur **Nour-Eddine AOUF** un directeur de laboratoire idéal, il travail sans cesse pour avoir le mieux à son laboratoire. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour m'avoir donné la possibilité de travailler au sein de son groupe. Je le remercie aussi pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider ce jury.*

*Je remercie vivement **Zine-Eddine DJEGHABA** Professeur à l'Université d'Annaba qui a bien voulu accorder un intérêt particulier à ce travail en tant qu'examinateur.*

*J'adresse mes vifs remerciements à **Zahia KABOUCHE** Professeur à l'Université de Constantine d'avoir accepté de juger ce travail ; qu'elle trouve ici l'expression de mes vives considérations.*

*Je tiens aussi à remercier vivement **Nour-Eddine BENALI** Professeur à l'Université de Khenchela pour avoir accepté d'examiner ce travail et faire partie du jury.*

*Je remercie également le Professeur **Houria DJEBBAR** de l'Université d'Annaba pour avoir bien accepter de juger ce travail et de prendre part au jury.*

*Je tiens à associer à mes remerciements M^{elle} **Hadjira BERREDJEM** Maître de Conférences B à l'Université d'Annaba pour la réalisation des tests biologiques.*

*Mes sincères remerciements à Monsieur **Zine REGAINIA** Professeur à l'Université d'Annaba pour tous les bons conseils qu'il a pu me donner tout au long de ma thèse.*

*Je tiens également à remercier **Carole BARBEY**, Maître de Conférences à l'Université de Paris 13 pour la réalisation de l'étude cristallographique de quelques composés synthétisés au cours de ce travail.*

Je remercie également tous mes collègues de travail du centre universitaires El-Tarf.

Je remercie tout le groupe du laboratoire de Chimie Bioorganique pour leur bonne humeur, leur sympathie et pour tous les bons moments qu'ils m'ont fait passer.

Je remercie toute personne qui de près ou de loin m'a apporté aide, assistance, et soutien morale durant la réalisation de ce travail.

*Enfin, ce travail n'aurait pu être réalisé sans la compétence des services communs d'analyse de l'université de Montpellier II, de l'université de Constantine et de l'université de Paris 13 qui ont assuré l'enregistrement des spectres **RMN, IR, SM** et l'étude cristallographique.*

Ces travaux ont été financés par :

- Projet CMEP Tassili (France -Algérie) MDU 729.

-Projet CNEPRU N°. E01120060035

Liste des tableaux

<i>Tableau</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
1	Caractéristiques physico-chimiques des carboxylsulfamides issus d'un alcool prochiral.	49
2	Caractéristiques physico-chimiques des sulfonamide-oxazolidinones.	52
3	Caractéristiques physico-chimiques des β -aminoalcools.	58
4	Caractéristiques physico-chimiques des oxazolidin-2-ones chirales.	59
5	Caractéristiques physico-chimiques des carboxylsulfamides issus de l'actate d'éthyle.	62
6	Caractéristiques physico-chimiques des N, N'-acylsulfonamides bis-oxazolidinones.	64
7	Caractéristiques physico-chimiques des carboxylsulfamides issus de malate de méthyle.	69
8	Caractéristiques physico-chimiques des sulfonamides.	72
9	Caractéristiques physico-chimiques des sulfonamides acylés.	78
10	Liste des souches bactériennes utilisées.	112
11	Les différentes dilutions du sulfonamide.	113
12	Diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes vis-à-vis des deux sulfonamides 132a et 132b .	118
13	Résultats de la CMI des différentes souches bactériennes vis-à-vis des sulfonamides 132a et 132b .	120
14	Répartition des lots expérimentaux.	122
15	Valeurs de la glycémie chez les différents lots étudiés.	124
16	Variation de la glycémie entre les quatre lots diabétiques.	125
17	Valeurs des paramètres enzymatiques chez les différents lots.	126
18	Les résultats des valeurs de stimulation pour les cultures lymphocytaires.	130

Liste des figures

<i>Figures</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
1	Structure chimique de Linezolid, Eperzolid et PNU-288034.	3
2	Structure chimique de deux dérivés d'oxazolidinones synthétisés récemment.	4
3	Structure chimique de quelques sulfonamides utilisés en clinique.	5
4	Structure chimique de AZD2563 et PH-027 .	11
5	Structure chimique de Dup 105 et Dup 721 .	12
6	Structure chimique de quelques oxazolidinones antibactériennes.	13
7	Structure chimique de YC-20.	13
8	Structure chimique de composés pharmaceutiques contenant le motif sulfonamide.	28
9	Structure chimique de Célécoxib acylé.	28
10	Structure chimique de JNJ-7706621 avec leur dérivé acylé.	29
11	Structure chimique des deux molécules de sulfonamides testées.	113
12	Diamètre de la zone d'inhibition (32 mm) de la souche <i>Escherichia coli</i> (S3) par le Sulfonamide 132a .	116
13	Diamètre de la zone d'inhibition (30 mm) de la souche <i>Staphylococcus aureus</i> (S6) par le sulfonamide 132a .	116
14	Diamètre de la zone d'inhibition (25 mm) de la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (S8) par le sulfonamide 132a .	117
15	Diamètre de la zone d'inhibition pour la souche de <i>P.aeruginosa</i> (20 mm), sulfamide 132b .	117
16	Diamètre de la zone d'inhibition pour la souche de <i>E.coli</i> (20 mm), sulfonamide 132b .	117
17	Diamètre de la zone d'inhibition pour la souche de <i>S.aureus</i> (23 mm), sulfonamide 132b .	118
18	Diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes vis-à-vis des sulfonamides 132a et 132b .	119
19	Résultats de la CMI des différentes souches bactériennes vis-à-vis des sulfonamides 132a et 132b .	121
20	Valeurs de la glycémie initiale chez les rats étudiés.	125
21	Valeurs de la glycémie finale chez les rats étudiés.	125
22	Variation de la glycémie entre les quatre lots diabétiques.	126

24	Valeurs de l'activité de l'ASAT/TGO chez les lots étudiés.	127
25	Valeurs de l'activité de l'ALAT/TGP chez les lots étudiés.	127
26	Valeurs de l'activité de la PAL chez les lots étudiés.	128
27	Les différentes concentrations de drogues sur la multiplication du Toxoplasma gondii.	131
28	Prolifération de lymphocyte après stimulation avec les nouvelles molécules des sulfamides.	131

Liste des schémas

<i>Schéma</i>	<i>Titre de schéma</i>	<i>Page</i>
1	Synthèse de 3-alkyl-5-(toluènesulfonyloxyméthyl) oxazolidin-2-one.	14
2	Synthèse de pipérazinylphényloxazolidinone.	15
3	Synthèse des dérivés d'oxazolidinones contenant le motif cyclosulfonamide.	16
4	Synthèse des dérivés d'oxazolidinones contenant le motif sulfonyle.	17
5	Synthèse des dérivés d'oxazolidinones contenant le motif 1, 2, 3-triazole.	18
6	Synthèse de 5-halométhyl-2-oxazolidinone.	19
7	Synthèse d'oxazolidinone par une ouverture stéréosélective.	20
8	Synthèse d'oxazolidinone par cyclisation de N-chlorosulfonylcarbamate.	21
9	Synthèse de bis acétamide.	22
10	Synthèse des diastéréoisomères d'oxazolidinones substituées anti et syn.	22
11	La réaction de cycloaddition de Diels-Alder.	23
12	Synthèse de bis-oxazolidinone sulfone.	24
13	Synthèse des amino-alcools par l'ouverture du cycle d'oxazolidinone.	24
14	Synthèse de pseudonucléosides par glycosylation d'oxazolidinone chirale.	25
15	Synthèse de sulfonamide à partir de cyclopropylester.	30
16	Synthèse d'un dérivé de naphthalène sulfonamide.	31
17	Synthèse d'une série de sulfonamide à partir de p-acétamidobenzène chlorosulfonyle.	32
18	Synthèse des dérivés d'arylsulfonamides.	33
19	Synthèse d'un alkyl ou aryl sulfonamides.	34
20	L'acylation de sulfonamide JNJ-7706621.	35
21	L'acylation de benzothiophène sulfonamide.	36
22	L'acylation d'un arylsulfonamide en présence d'acide de Lewis ZnCl ₂	37
23	L'acylation catalytique de sulfonamide en présence d'acide sulfurique sur silice.	37
24	Synthèse de N-acylsulfonamide à partir d'aminoacides protégés.	38
25	Synthèse de l'isocyanate de chlorosulfonyle.	40
26	Synthèse de 1-pipéridinsulfonyl-isocyanate.	42
27	Synthèse de benzothiadiazine.	42

28	Synthèse de 2-alkyl-5-aryl-1, 3, 4-oxadiazolidinones.	43
29	Synthèse des cyclosulfamides protégés.	44
30	Synthèse des N-sulfamoyloxazolidinones achirales.	44
31	Réaction d'échange (amine tertiaire par une amine primaire et / ou amine secondaire).	45
32	Réaction d'échange (pyridine par une amine secondaire).	46
33	Synthèse des carboxylsulfamides chiraux.	47
34	Synthèse des carboxylsulfamides.	48
35	Synthèse de sulfonamide-oxazolidinones.	51
36	Mécanisme réactionnel proposé.	52
37	Synthèse d'un aminoalcool.	58
38	Synthèse d'oxazolidin-2-one chirale.	55
39	Synthèse de carboxylsulfamides et Bis oxazolidinones-sulfonamides.	60
40	Les essais de cyclisation d'un carboxylsulfamide dérivé de l'actate d'éthyle.	60
41	forme céto-énolique du proton porté par l'azote carbamique.	61
42	Mécanisme réactionnel proposé.	61
43	Synthèse des N, N'-acylsulfonamides bis-oxazolidinones.	64
44	L'accès aux carboxylsulfamides et des sulfonamides.	68
45	Les essais de réduction de carboxylsulfamides.	69
46	L'acylation des sulfonamides.	78

LISTE DES ABREVIATIONS

Unité :

°C	: Degré Celsius
g	: gramme
Hz	: hertz
ml, µl, N	: millilitre, microlitre, normale
mn	: minute
µg, µM, mM	: microgramme, micromole, milimole

Autres :

AcOEt	: Acétate d'éthyle
Ac₂O	: anhydride acétique
Bn	: Benzyle
Cbz	: benzyloxycarbonyl
TBAB	: bromure de tétrabutylammonium
CCM	: chromatographie sur couche mince
CMI	: concentration minimale inhibitrice
CMB	: concentration minimale bactéricide
J	: constante de couplage
TBAC	: chlorure de tétrabutylammonium
CDI	: 1,1-carbonyldiimidazole
DBU	: 1,8-diazabicyclo [5.4.0] undec-7-ène
DMSO	: diméthylsulfoxyde
DMF	: diméthylformamide
DIAD	: diisopropylazodicarboxylate
EDC	: 3-éthyl, 1-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide

LiAlH₄	: Hydrure de lithium aluminium
ICS	: Isocyanate de chlorosulfonyle
<i>i</i>Bu	: Isobutyle
<i>i</i>Pr	: Isopropyle
MeOH	: Méthanol
Me	: Méthyle
M	: masse moléculaire
DMAP	: N, N-diméthylamino-pyridine
<i>n</i>-BuLi	: <i>n</i> -buthyllithium
NCS	: N-chlorosuccinimide
Pb/C	: Palladium sur charbon
Ph	: Phényle
F	: Point de fusion
R_f	: Rapport frontal
Rdt	: Rendement
R et S	: Rectus et Sinister
RMN	: Résonance Magnétique Nucléaire
SM	: Spectrométrie de masse
SSA	: Sulfurique acide sur silice
t.a	: température ambiante
THF	: Tétrahydrofurane
TEA	: Triéthylamine

SOMMAIRE

Introduction générale	1
Schémas synoptiques	7
<u>Chapitre I</u>	
Aperçu Bibliographique sur les Oxazolidinones Modifiées : Activité Pharmacologique, Synthèse et Réactivité	10
I-1- ACTIVITE PHARMACOLOGIQUE DES OXAZOLIDINONES	11
I-2- METHODES D'ACCES AUX OXAZOLIDINONES MODIFIEES	14
I-2-1- A partir du (R, S) glucidol	14
I-2-2- A partir de pipérazine et le 1, 2-difluoro-4-nitrobenzène	14
I-2-3- A partir du fluoro-nitrobenzène et cyclosulfamide	15
I-2-4- A partir de carboxylsulfamides	16
I-2-5- A partir de l'isocyanate	17
I-2-6- A partir d'un alcool prochiral	18
I-2-7- A partir de (S)-epichlorohydrine	19
I-2-8- A partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle	20
I-3- REACTIVITE DES OXAZOLIDINONES	21
I-3-1- Réaction d'acylation	21
I-3-2- Réaction de cycloaddition	23
I-3-3- Réaction de condensation	23
I-3-4- Réaction d'ouverture	24
I-3-5- Réaction de glycosylation	25
CONCLUSION	25

Chapitre II

Aperçu Bibliographique sur les Sulfonamides et N-acylsulfonamides Synthèse et Activité Pharmacologique.

II-1- ACTIVITE PHARMACOLOGIQUE DES SULFONAMIDES ET N-ACYL SULFONAMIDES	27
II-2- METHODES D'ACCES AUX SULFONAMIDES	29
II-2-1- A partir de cyclopropylester	29
II-2-2- A partir de l'acide 4-aminonaphthalène-1-sulfonique	31
II-2-3- A partir de chlorure p-acétamidobenzène sulfonyle	31
II-2-4- A partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle	33
II-2-5- A partir de l' isocyanure	34
II-3- METHODES D'ACCES AUX N-ACYLSULFONAMIDES	34
II-3-1- A partir d'un acide carboxylique	34
II-3-2- A partir de 6-bromobenzèthiophène	35
II-3-3- A partir des alkyl ou aryl sulfonamides	36
II-3-3- a- En présence d'acide de lewis ZnCl ₂	36
II-3-3- b- En présence d'acide sulfurique sur silice (SSA)	37
II-3-4- A partir d'aminoacides protégés	38
CONCLUSION	38

Chapitre III

Synthèse des Sulfonamides, N-acylsulfonamides Oxazolidinones et Bis-oxazolidinones

III-1- CHIMIE DE L'ISOCYANATE DE CHLOROSULFONYLE	40
III-2- REACTIVITE DE L'ISOCYANATE DE CHLOROSULFONYLE	41

III-2-1- Préparation de 1-pipéridinsulfonyl-isocyanate	41
III-2-2- Accès aux benzothiadiazines	42
III-2-3- Accès aux 2-alkyl-5-aryl-1, 3, 4-oxadiazolidinones	42
III-2-4- Préparation des cyclosulfamides	43
III-2-5- Préparation des N-sulfamoyloxazolidinones achirales	44
III-3- METHODES D'OBTENTION DES CARBOXYLSULFAMIDES	45
III-3-1- l'accès aux carboxylsulfamides par réaction d'échange	
-Réaction d'échange (amine tertiaire par une amine primaire et / ou amine secondaire)	45
-Réaction d'échange (pyridine par une amine secondaire)	46
III-3-2- l'accès aux carboxylsulfamides chiraux	46
III-4- PREPARATION D'OXAZOLIDINONES CONTENANT LE MOTIF SULFONYLE	47
III-4-1- Synthèse des carboxylsulfamides	48
III-4-1-A- Carbamoylation- Sulfamoylation	48
a) Carbamoylation	48
b) Sulfamoylation	48
III-4-1-B- Caractérisation	49
III-4-2- Synthèse d'oxazolidinones sulfonamides	51
III-4-2-A- Cyclisation intramoléculaire	51
III-4-2-B- Caractérisation	52
III-4-2-C- Mécanisme réactionnel proposé	52
III-4-2-D- Etude cristallographique de 123a et 123b	54
III-5- SYNTHÈSE DES N, N'-ACYLSULFONAMIDES BIS-OXAZOLIDINONES	57
III-5-1- Synthèse des oxazolidin-2-ones chirales	57
III-5-1-a) Réduction des aminoacides	57
III-5-1-b) Préparation des oxazolidin-2-ones chirales	58
III-5-2- préparation des carboxylsulfamides	59
III-5-2-a- Mécanisme réactionnel proposé pour la synthèse des carboxylsulfamides	61

III-5-2-b- Caractérisation	62
III-5-3- préparation des N, N'-acylsulfonamides bis-oxazolidinones	64
III-5-3-a-Caractérisation	65
III-6- PREPARATION DES SULFONAMIDES	68
III-6-1- Préparation des carboxylsulfamides issus de malate de méthyle	68
III-6-1-a) Caractérisation de carboxylsulfamides	70
III-6-1-b) Caractérisation de sulfonamide	72
III-6-1-c) Etude cristallographique de 132a et 132b	75
III-7- ACYLATION DES SULFONAMIDES	78
III-7-a) Caractérisation des sulfonamides acylés	78
CONCLUSION	80

Chapitre IV

PROTOCOLES EXPERIMENTAUX	81
CONCLUSION GENERALE	107

Annexe

EVALUATION BIOLOGIQUE

I- Introduction	111
II- Evaluation biologique, <i>in vitro</i>, des deux molécules de sulfonamide	112
<u>132a</u> et <u>132b</u>	
II-1- Matériel biologique	112
II-2- Méthodes	113
II-2-a- Evaluation de l'activité des deux sulfamides	113
II-2-b- Méthode de diffusion en milieu gélose	114
II-2-c- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	114
II-2-d- Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)	115
II-3- Résultats	116

II-3-1- Mise en évidence de l'activité antibactérienne des deux molécules de sulfonamide 132a et 132b	116
II-3-2- Antibiogramme du sulfonamide 132a et 132b	118
II-3-3- Détermination de la CMI	120
II-3-4- Détermination de la CMB	121
III- Evaluation biologique, <i>in vivo</i>, des deux molécules de sulfamide 132a et Glibenclamide	121
III-1- Matériels	121
III-2- Méthodes	122
III-2-1 - Evaluation de l'activité hypoglycémique du nouveau sulfonamide 132a	122
III-3-1- Dosage du glucose	123
III-3-2- Dosage des paramètres biochimiques	123
III-3- Résultats	124
III-3-a- La Glycémie	124
III-3-b- L'activité enzymatique	126
IV- Evaluation toxicologique	129
-Evaluation de l'effet de deux molécules N, N'-acylsulfonamides Bis-oxazolidinones sur la viabilité et la multiplication de cellules lymphocytaires et toxoplasmiques.	

PREAMBULE

Ce travail rapporté dans cette thèse, en vue de l'obtention du titre de docteur, a fait l'objet de trois publications :

1- 1, 2, 3, 4-Tetrahydroisoquinoline-2-sulfonamide.

Radia Bouasla, Malika Berredjem, Nour-Eddine Aouf and Carole Barbey. *Acta Crystallographica*. **2008**, E64, o432.

2- Synthesis and Biological Activity of New Chiral N-Acylsulfonamide Bis-Oxazolidin-2-ones.

Radia Bouasla, Malika Berredjem, Assia Allaoui, Hadjira Berredjem, Marc Lecouvey, and Nour-Eddine Aouf. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. Sous press. **2010**.

3- Crystal Structure of 4-Phenyl-piperazine -1-sulfonamide.

Malika Berredjem, Radia Bouasla, Carole Barbey and Nour-Eddine Aouf. *Analytical Sciences: X-ray Structure Analysis Online*, **2010**, 26, 13.

Introduction générale

Introduction générale :

La résistance antibiotique est un problème croissant qui menace la santé humaine globalement¹. Ce n'est pas le corps humain qui devient résistant à l'antibiotique mais les bactéries elles-mêmes en devenant moins sensibles au médicament ou plus du tout.

Il s'agit d'un phénomène naturel, lié à l'évolution des espèces; au contact des antibiotiques, les bactéries sensibles à l'antibiotique administré disparaissent, mais d'autres parviennent à survivre ou s'adaptent grâce à des modifications de leurs gènes.

Ceci a stimulé la recherche de nouveaux antibiotiques de différentes familles. Les oxazolidinones et les sulfonamides sont l'un des points de départ préférés de la chimie médicinale pour élaborer de nouvelles molécules ayant des activités biologiques intéressantes².

Les oxazolidin-2-ones présentent une classe très importante de composés hétérocycliques. C'est l'une de classe des agents antibactériens synthétiques au cours des 30 dernières années³.

Cette nouvelle classe des composés montre une excellente activité contre les bactéries à Gram positives, aussi bien que plusieurs anaérobies et *Mycobacterium tuberculosis*^{4,5}.

Récemment, les oxazolidin-2-ones de type **Linezolid (1) (PNU 100766)** et le dérivé **Eperzolid (2) (PNU 100592)** ont présenté un bon index thérapeutique contre plusieurs agents pathogènes humains^{6,7} (**Fig. 1**).

¹ (a) Bozdogan, M.; Appelbaum, P. C. *Int. J. Antimicrob. Agents*. **2004**, 23, 113.

(b) Brickner, S. J. *Curr. Pharm. Des.* **1996**, 2, 175.

(c) Diekema, D. J. ; Jones, R. N. *Lancet*. **2001**, 358, 1975.

² (a) Wang, G. ; Ella-Menye, J-R. ; Sharma, V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 2177.

(b) Banwell, M. G.; Crasto, C. F.; Easton, C. J.; Forrest, A. K.; Karoli, T.; March, D. R.; Mensah, L.; Nairn, M. R.; O'Hanlon, P. J.; Oldham, M. D.; Yue, W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10, 2263.

³ (a) Brickner, S. J. ; Hutchinson, D. K. ; Barbachyn, M. R. ; Manninen, P. R. ; Ulanowicz, D. A.; Garmon, S. A. ; Grega, K. C. ; Hendges, S. K. ; Toops, D. S. ; Ford, C. W. ; Zurenko, G. *Z. J. Med. Chem.* **1996**, 39, 673.

(b) Jones, R. N. ; Biedenbach, D. J. ; Anderegg, T. R. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **2002**, 42, 119.

⁴ Moellering RC, *Drugs Drug Ther.* **2003**, 138, 135.

⁵ Molicotti, P. ; Ortu, S. ; Bua, A. ; Cannas, S. ; Sechi, L. A. ; Zanetti, S. *New Microbiol.* **2006**, 29, 275.

⁶ Rabasseda, X. ; Sorbera, L. ; Castaner, J. *Drugs Futur.* **1999**, 24, 1057.

⁷ Jones, T. K. ; Reamer, R. A. ; Desmond, R. ; Mills, S. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 2998.

Le linezolid est le premier composé de cette classe d'oxazolidinones, obtenu par synthèse en 1987. Il est actif contre de nombreux germes à Gram positifs aérobies (*Streptocoques*, *Staphylocoques*, *Entérocoques*....) ou anaérobies (*Clostridium perfringens*....).

Le linezolid a été approuvé en l'an 2000 pour le traitement des infections bactériennes résistantes de multi drogues⁸.

Actuellement, la plupart des efforts sont concentrés sur les oxazolidinones phényliques substituées. L'**eperzolid (2)** et le **PNU-288034 (3)** ont été intensivement employés comme précurseurs structuraux^{9, 10}. L'introduction du groupement sulfonyle, alkyle ou acyle sur la partie pipérazine de la famille d'oxazolidinone montre une activité antibactérienne efficace^{11,12}.

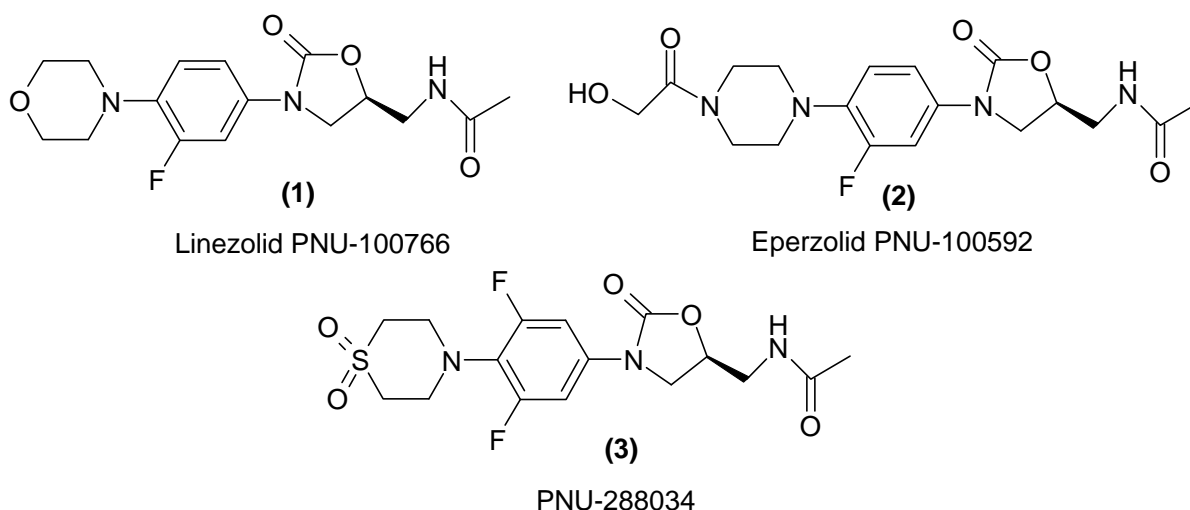


Figure 1 : La structure chimique de Linezolid, Eperzolid et PNU-288034.

⁸ (a) Clemett, D.; Markham, A. *Drugs*. **2000**, 59, 815.

(b) Ford, C. W. ; Zurenko, G. E. ; Barbachyn, M. R. *Curr. Drug Targets-Infect Disorders* **2001**, 1, 181.

⁹ Renslo, A. R. ; Luehr, G. W. ; Lam, S. ; Westlund, N. E. ; Gomez, M. ; Hackbarth, C. J. ; Patel, D. V. ; Gordeev, M. F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 3475.

¹⁰ Renslo, A. R. Gao, H. ; Jaishankar, P. ; Venkatachalam, R. ; Gomez, M. ; Blais, J. ; Huband, M. ; Vara Prasad, J. V. N. ; Gordeev, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 1126.

¹¹ Cui, Y.; Yang, Y.; Chen, K.; Ji, R.; Zhang, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 2311.

¹² Ji Young Kim.; Seok Hwan Kim.; Sukbok Chang. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 1745.

Récemment, plusieurs dérivés d'oxazolidin-2-ones ont été synthétisés dans le but d'augmenter la solubilité dans l'eau afin de pouvoir préparer des formulations pharmaceutiques pour différents usages^{13, 14, 15} (Fig. 2).

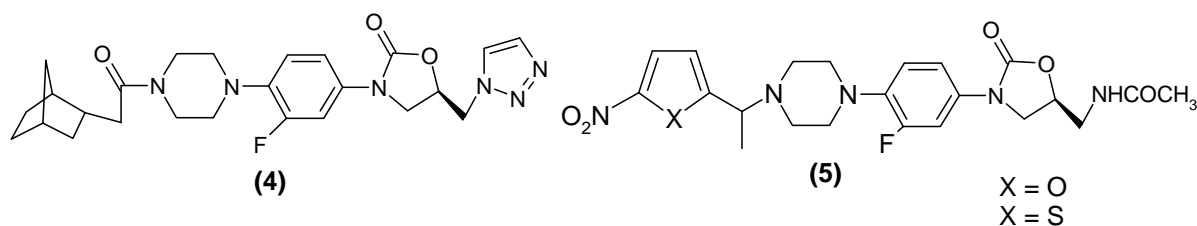


Figure 2 : La structure chimique de deux dérivés d'oxazolidinones synthétisés récemment.

La présence du motif oxazolidin-2-one dans une large variété de composés induit de nombreuses propriétés pharmacologiques : anti-dépresseurs⁶, immunosuppresseurs⁷ et dans d'autres applications¹⁶.

Dans ce cadre de recherche, nous sommes intéressés à la synthèse de nouveaux dérivés d'oxazolidinones contenant le motif sulfonyle.

Dans le domaine pharmaco chimique, l'introduction d'atome de soufre dans une molécule biologiquement active a souvent tendance à modifier ses propriétés physico-chimiques (surtout en terme de lipophilicité et de solubilité) et son profil pharmacologique^{17,18}.

Les études des relations structure-activité de composés soufrés ont permis de mettre en évidence l'importance de la chimie de soufre qui est devenue un sujet très étudié à l'heure actuelle. Parmi les composés chimiques qui contiennent le motif sulfonyle, on trouve les sulfonamides¹⁹, ces derniers sont des inhibiteurs d'enzymes de bactérie responsable de la synthèse de tétrahydrofolate²⁰, un aliment essentiel pour la croissance bactérienne.

¹³ Phillips, O. A. ; Udo, E. E. ; Ali, A. A. M. ; Samuel, S. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, 42, 214.

¹⁴ Philips, O. A.; Udo, E. E.; Samuel, S. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 1095.

¹⁵ Rudra, S. ; Yadav, A. ; Raja Rao, A. V. S. ; Srinivas, A. S. S. V. ; Pandaya, M. ; Bhateja, P. ; Mathur, T. ; Malhotra, S. ; Rattan, A. ; Salman, M. ; Mehta, A. ; Cliffe, I. A. ; Das, B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 6714.

¹⁶ Ishizuka, T.; Inshibushi, S.; Kunieda, T. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 49, 1841.

¹⁷ Joshi, S.; Khosla, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 52, 197.

¹⁸ Joshi, S.; Khosla, N.; Tiwari, P. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 571.

¹⁹ Nishimori, I. ; Minakuchi, T. ; Kohsaki, T. ; Onishi, S. ; Takeuchi, H. ; Vullo, D. ; Scozzafara, A. ; Supuran, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 3585.

²⁰ Masters, P. A. ; O'Bryan, T. A. ; Zurlo, J. ; Shankel, D. Q. ; Joshi, N. *Arch. Intern. Med.* **2003**, 163, 402.

La figure suivante montre la structure de quelques sulfonamides utilisés en clinique comme drogue pour le traitement des maladies infectieuses¹⁹.

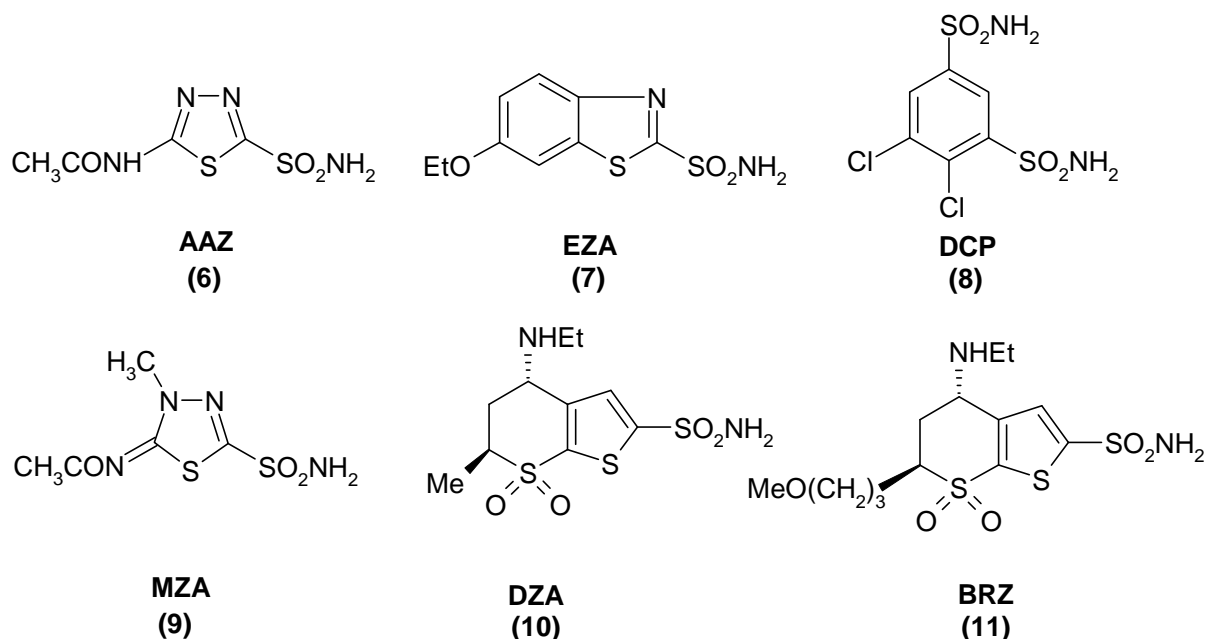


Figure 3 : La structure chimique de quelques sulfonamides utilisés en clinique.

La présence des deux motifs sulfonamide et oxazolidinone dans la même structure, peut améliorer largement l'activité d'agent antibactérien en particulier contre les Gram-positifs.

Notre présent travail se situe dans la recherche de nouveaux composés d'intérêt biologique contenant le motif oxazolidinone et le motif acylsulfonamide. Nous avons utilisé l'isocyanate de chlorosulfonyl pour introduire le motif sulfonamide. Notre approche réside dans l'amélioration de l'activité antibactérienne des oxazolidinones et les sulfonamides.

Dans le premier chapitre de notre travail, nous présenterons une mise au point bibliographique sur l'intérêt biologique et chimique des oxazolidinones, ainsi que les différentes méthodes de synthèse de ces hétérocycles.

Une mise au point bibliographique sur les applications biologiques et chimiques des sulfonamides et les N-acylsulfonamides fera l'objet d'un deuxième chapitre.

Dans le troisième chapitre, nous aborderons la synthèse des sulfonamides, N-acylsulfonamides oxazolidinones et Bis-oxazolidinones à partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle, ainsi que l'étude structurale et cristallographique des composés synthétisés.

Les protocoles expérimentaux seront rassemblés dans le quatrième chapitre.

En annexe nous décrirons l'évaluation biologique de certaines molécules synthétisées *in vitro* et *in vivo*.

Ci-dessous est présenté sous forme synoptique l'essentiel des synthèses que nous avons réalisées.

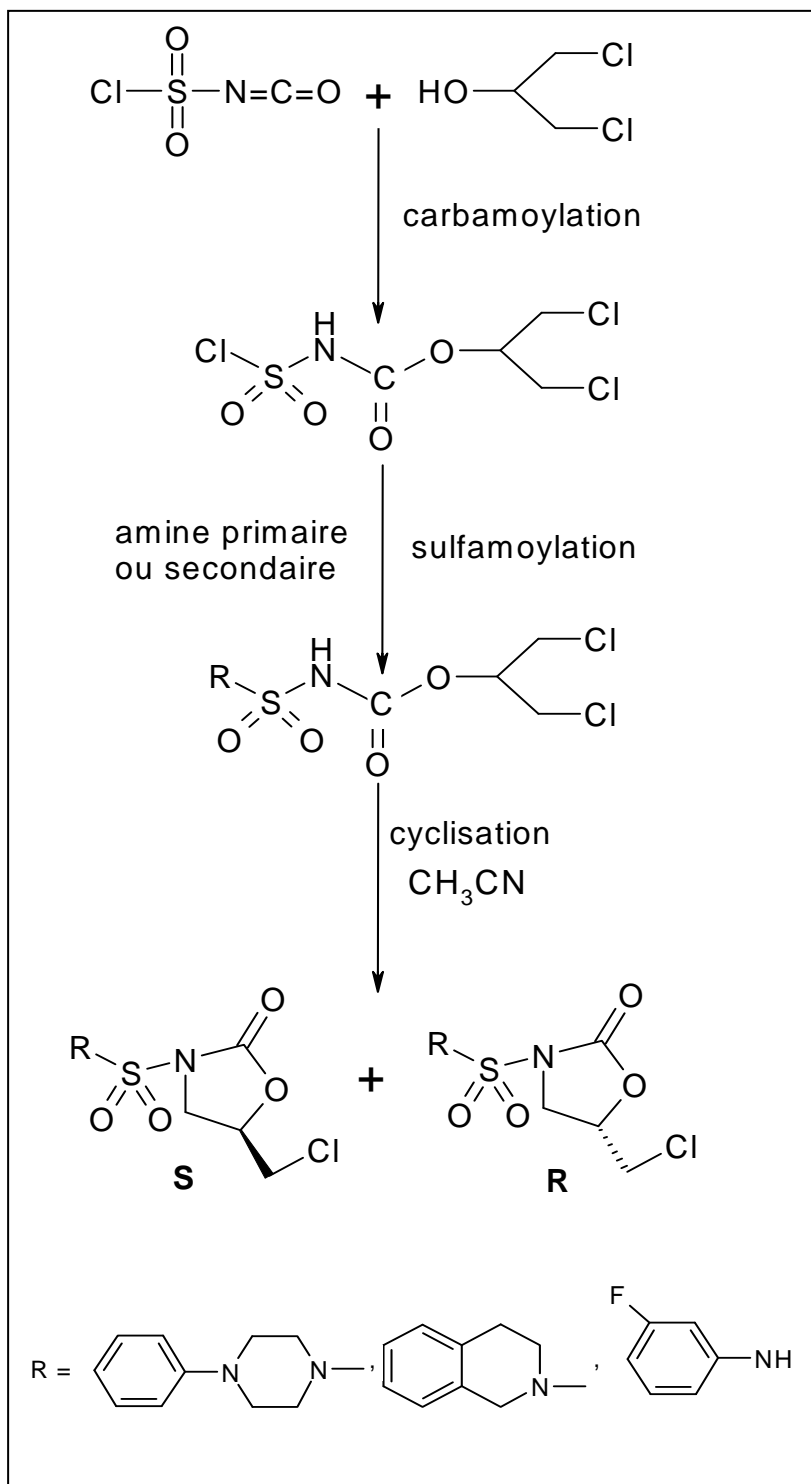
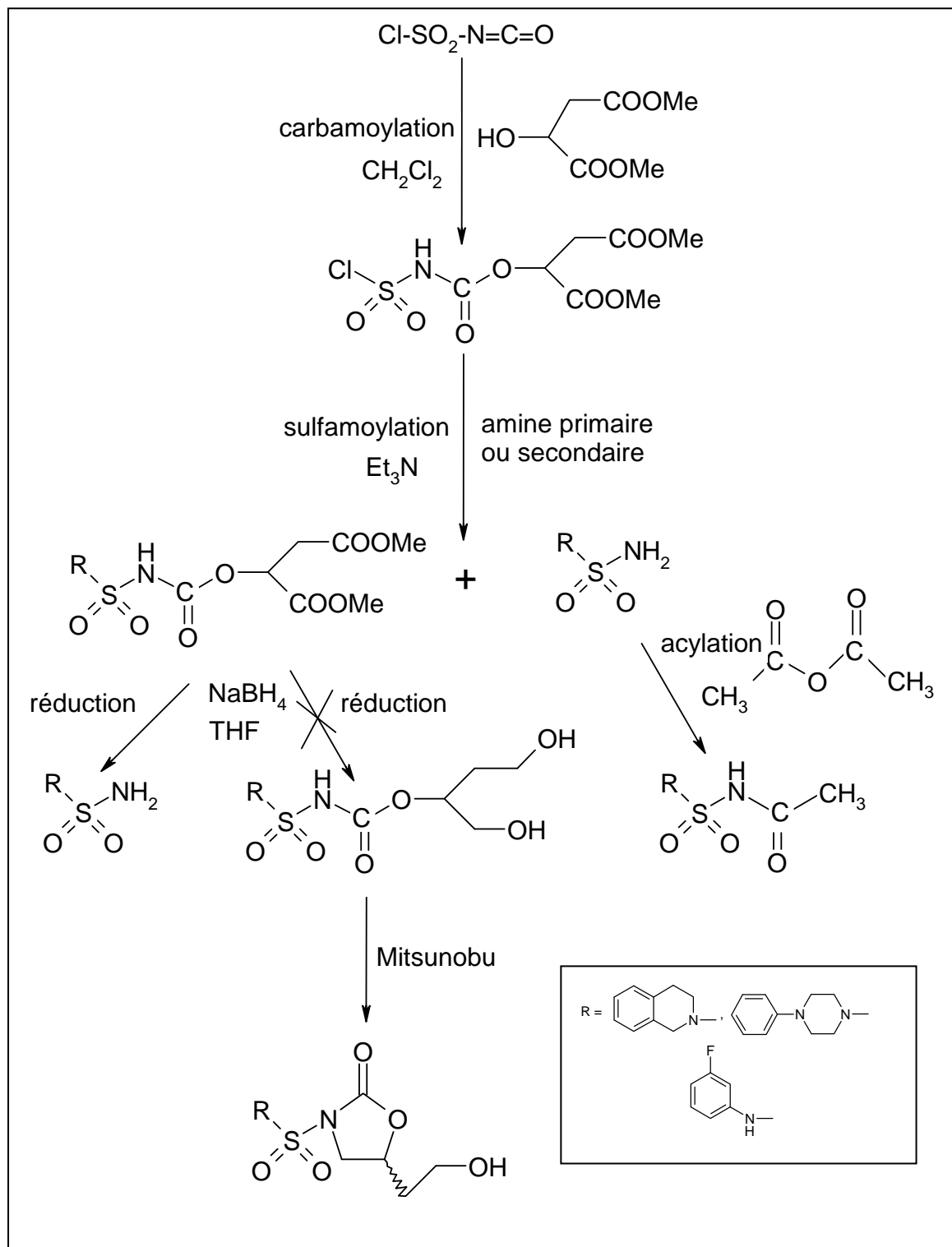
Schéma synoptique II

Schéma synoptique III

CHAPITRE I

***Aperçu Bibliographique sur les Oxazolidinones Modifiées :
Activité Pharmacologique,
Synthèse et Réactivité***

I-1- ACTIVITE PHARMACOLOGIQUE DES OXAZOLIDINONES :

Ces dernières années l'apparition de la résistance bactérienne aux antibiotiques pose une préoccupation profonde pour les professionnels médicaux, en particulier les bactéries à Gram-positifs résistantes¹ de multi drogue comprenant : methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)², methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) et vacomycin-resistant *Enterococci* (VRE)³. Les oxazolidinones présentent une nouvelle classe d'agents anti-bactériens synthétiques⁴, dont plusieurs dérivés sont en cours de développement. Ces composés se caractérisent par une activité sur les Cocci et les bacilles à Gram-positifs, leur mécanisme d'action consiste à une inhibition des processus ribosomaux initiant la synthèse protéique bactérienne⁵.

Une nouvelle molécule de type oxazolidinone nommée AZD2563 a été synthétisée par R. N. Jones et *al.*⁶ où l'activité antibactérienne de ce composé a été testée sur différentes bactéries à Gram-positifs. O. A. Phillips et *al.*^{7,8} ont synthétisé le PH-027 et ses analogues dans le but d'améliorer l'activité antibactérienne des oxazolidinones modifiées (**Fig. 4**).

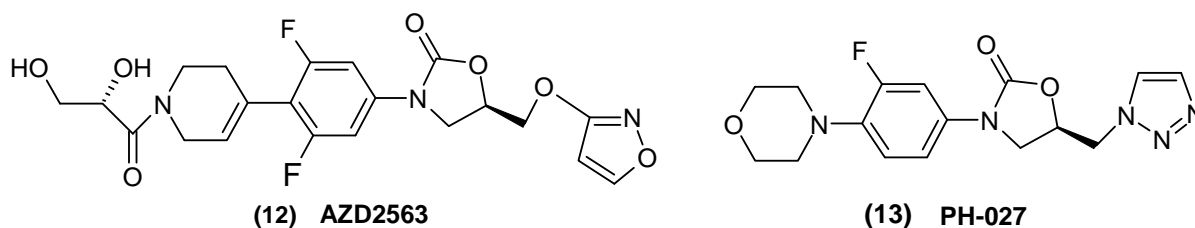


Figure 4 : La structure de **AZD2563** et **PH-027**.

¹ Swartz, M. N. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1994**, 91, 2420.

² Tomasz, A. N. *Engl. J. Med.* **1994**, 330, 1247.

³ Selvakumar, N.; Reddy, B. Y.; Kumar, G. S.; Khera, M. K.; Srinivas, D.; Kumar, M. S.; Das, J.; Iqbal, J.; Trehan, J.; Trehan, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 4416.

⁴ (a) Daniel J Diekema. ; Ronald N Jones. *The Lancet.* **2001**, 358, 1975. (b) Fred, L. ; Ciske, M. R. ; Barbachin, M. J. ; Genin, K. C. ; Crega, C. S. ; Lester, A. ; Dolak, E. P. ; Seest, E. P. ; Adams, J. M. ; Friis, C. W. ; Ford, C. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 4235. (c) Mohamed Takhi, C. ; Murugan, M. ; Munikumar, K. M. ; Gurpreet Singh, K. ; Sreenivas, M. ; Sitaramkumar, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 60, 2391.

⁵ Du, Y. ; Guo, H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12, 857.

⁶ Jones, R. N.; Biedenbach, D. J.; Anderegg, T. R. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* **2002**, 42, 119.

⁷ Phillips, O. A. ; Udo, E. E. ; Ali, A. A. M. ; Samuel, S. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 1095.

⁸ (a) Phillips, O. A. ; Udo, E. E. ; Ali, A. A. M. ; Samuel, S. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13, 4113. (b) Phillips, O. A. ; Udo, E. E. ; Ali, A. A. M. ; Samuel, S. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, 42, 214.

Dupont Merck, Pharmacia-Upjohn et Bayer ont développé la synthèse d'une série de molécules qui présente en commun le noyau d'oxazolidin-2-one, substitué en position cinq par une chaîne acétamide et un noyau phényle substitué en position trois⁹.

Il existe d'autres produits dérivés d'oxazolidinones décrits dans la littérature par Slee et al.¹⁰, ces composés nommés **Dup 105** et **Dup 721** se différencient par la chaîne en para du noyau : p-acétyle (Dup 721) et p-méthylsulfinyle (Dup 105) (**Fig. 5**). La présence d'une substitution en position cinq du squelette d'oxazolidinone introduit des propriétés pharmacologiques intéressantes sur le plan thérapeutique.

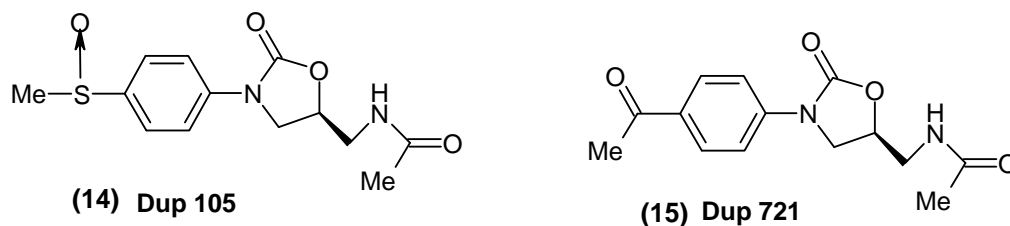


Figure 5: La structure chimique de **Dup 105** et **Dup 721**.

L'oxazolidinone de type Linezolid présente une activité efficace contre les pathogènes à Gram-positifs. Récemment plusieurs composés possédant une analogie structurale fonctionnelle avec le Linezolid ont été synthétisés dans le but d'améliorer l'index thérapeutique¹¹ (**Fig.6**). Des épreuves cliniques in vitro et in vivo ont été réalisées par Das et al.¹² confirmer l'activité des analogues de Linezolid pour traiter des infections causées par les Gram-positifs.

⁹ Daly, J. S.; Eliopoulos, G. M.; Willy, S.; Moellering, R. C. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **1988**, 32, 1341.

¹⁰ Slee, A. M.; Wunonola, M. A.; McRipley, R. J.; Zajac, I.; Zawada, M. J.; Bartholomew, P. T.; Gregory, W. A.; Forbes, M. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **1987**, 31, 1791.

¹¹ (a) Neha Gandhi. *Arkivoc.* **2006**, XVI, 109. (b) Fan, H.; Xu, G.; Chen, Y.; Jiang, Z.; Zhang, S.; Yang, Y.; Ji, R. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, 42, 1137.

¹² Das, B.; Rudra, S.; Yadav, A.; Ray, A.; Rao, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 4261.

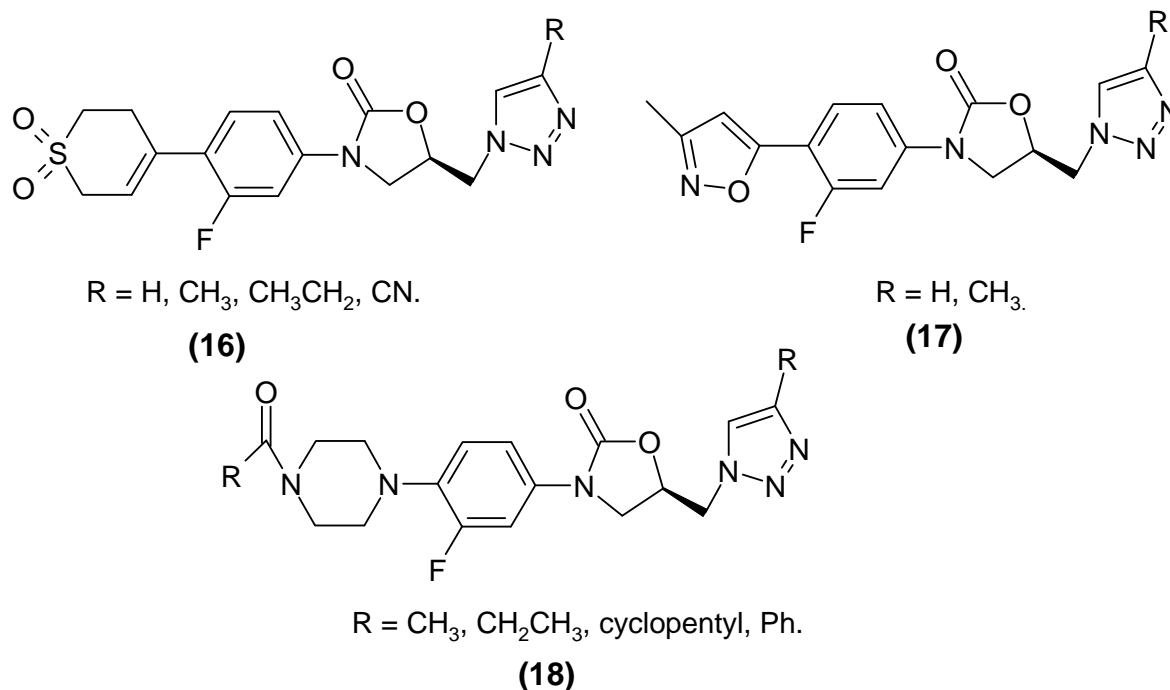


Figure 6 : La structure chimique de quelques oxazolidinones antibactériennes.

Des études récentes ont montré une excellente activité anti-bactérienne pour des oxazolidinones contenant le motif sulfonyle tel que **YC-20** (Fig. 7) en comparant avec le linezolid comme référence¹³.

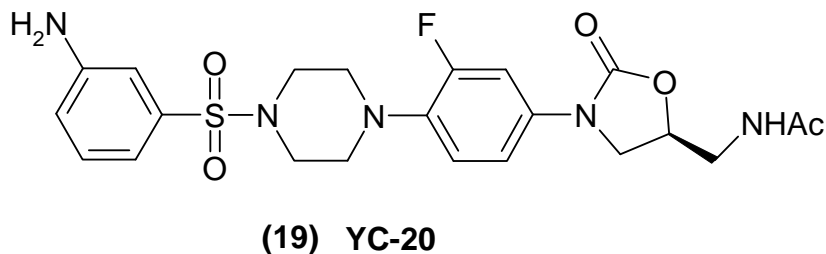


Figure 7 : La structure chimique de YC-20

La préparation des oxazolidinones modifiées a été décrite dans la littérature. Nous citerons dans cette partie les synthèses les plus significatives.

¹³ Fan, H.; Xu, G.; Chen, Y.; Jiang, Z.; Zhang, S.; Yang, Y.; Ji, R. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, 42, 1137.

I-2- METHODES D'ACCES AUX OXAZOLIDINONES MODIFIEES:**I-2-1- A partir du (R, S) glucidol :**

L'oxazolidin-2-one N-substituée (**22**) a été synthétisée par l'action d'un racémique de glucidol sur une amine primaire qui conduit à un diol (**20**), ce dernier est cyclisé avec le diéthylcarbonate en milieu basique pour former l'oxazolidinone (**21**). La réaction de l'oxazolidin-2-one sur le chlorure de p-toluènesulfonyle en présence de la pyridine à température ambiante conduit aux 3-alkyl-5-(toluènesulfonyloxyméthyl) oxazolidin-2-ones (**22**)¹⁴ (schéma 1).

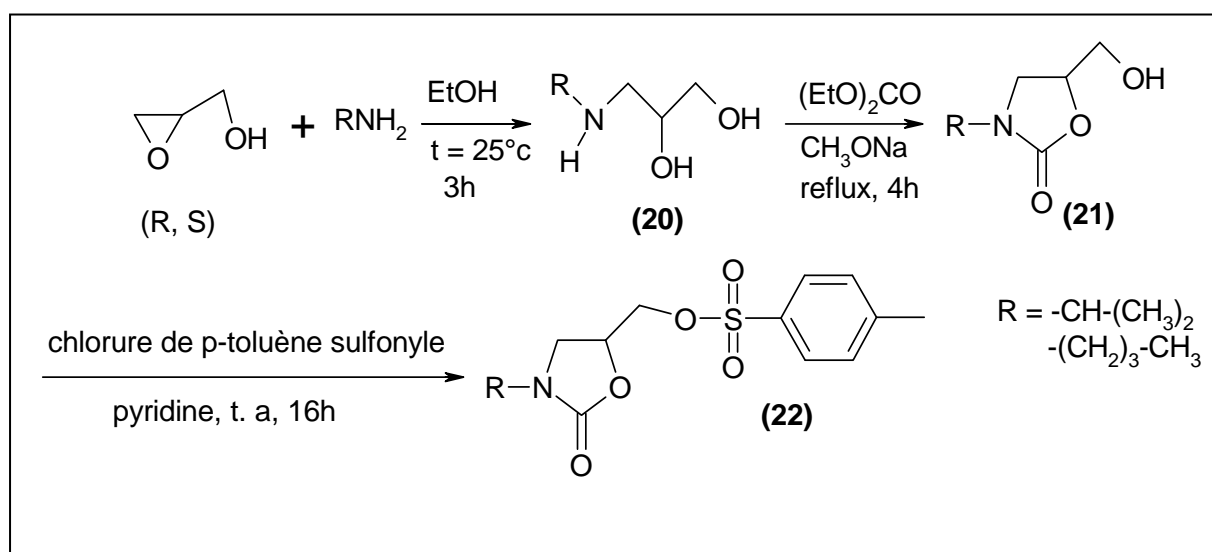


Schéma 1 : Synthèse de 3-alkyl-5-(toluènesulfonyloxyméthyl) oxazolidin-2-one.

I-2-2- A partir de pipérazine et le 1, 2-difluoro-4-nitrobenzène:

Barbachyn et *al.*¹⁵ ont synthétisé une nouvelle molécule de type Linezolid nommée pipérazinylphényloxazolidinone (**26**) en six étapes à partir de pipérazine et le 1, 2-difluoro-4-nitrobenzène selon le schéma réactionnel ci-dessous (schéma 2).

¹⁴ Lamanna, C. ; Sinicropi, M. S. ; Pietrangeli, P. ; Corbo, F. ; Franchini, C. ; Mondovi, B. ; Perrone, M. G. ; Scilimati, A. *Arkivoc.* **2004**, V, 118.

¹⁵ Barbachyn, M. R.; Ford, C. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 2010.

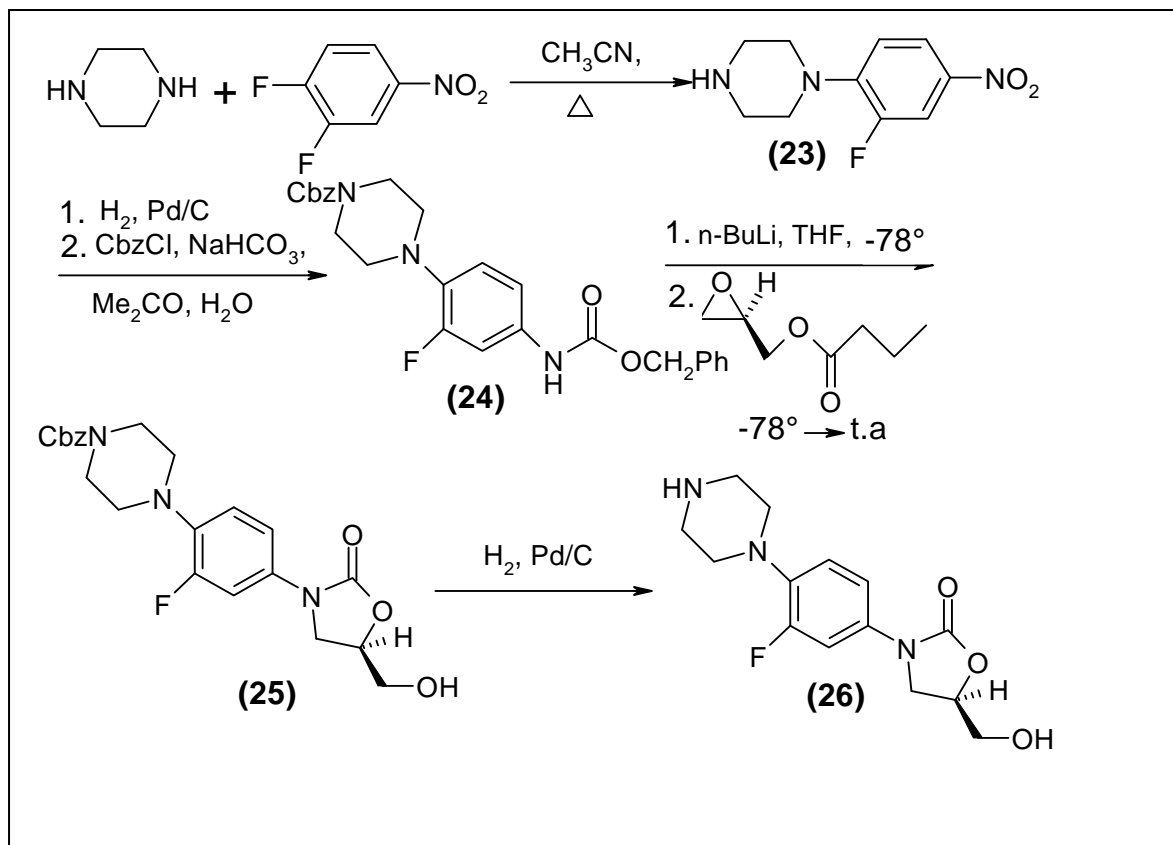


Schéma 2 : Synthèse de pipérazinylphényloxazolidinone.

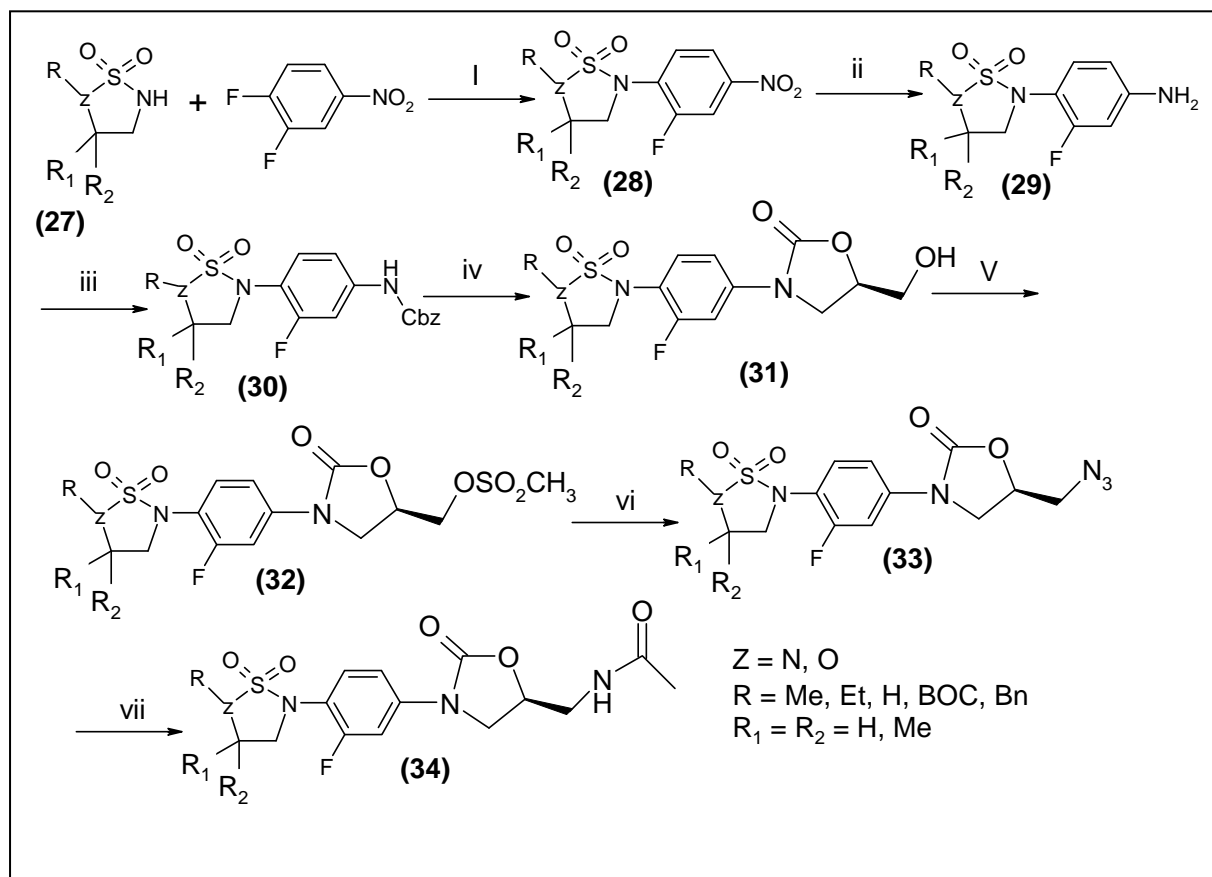
I-2-3- A partir du fluoro-nitrobenzène et cyclosulfamide:

Plusieurs méthodes de synthèse ont été décrites dans la littérature en utilisant le fluoro-nitrobenzène comme synthon de départ¹⁶. Récemment, S. J. Kim et *al.*¹⁷ ont décrit la synthèse des dérivées d'oxazolidinones contenant le motif sulfonamide par la condensation des cyclosulfamides (27) avec le 1,2-difluoro-4-nitrobenzène dans l'acétonitrile. L'intermédiaire formé (28) subit une réaction de réduction et de protection pour former le composé protégé (30). La transformation du composé protégé en oxazolidinone (31) est réalisée avec le butyrate de glycidyle en présence de $n\text{-BuLi}$.

¹⁶ (a) D'andrea, S. ; Zheng, Z. B. ; Denbleyker, K. ; Fung-Tomc, Joan C. ; Yang, H. ; Clark, J. ; Taylor, D. ; Bronson, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 2834. (b) Philips, O. A. ; Udo, E. E. ; Ali, A. A. ; Al-Hassawi, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 10, 7. (c) Dixit, P. P. ; Nair, P. S. ; Patil, V. J. ; Jain, S. ; Arora, S. K. ; Sinha, N. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 3005.

¹⁷ Kim, S. J. ; Jung, M. H. ; Yoo, K. H. ; Cho, J. H. ; Oh, C-H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 5815.

Cette transformation est suivie par une réaction avec le chlorure de sulfonyle puis avec l'azidure de sodium pour obtenir le composé (33). Ce dernier subit une réaction d'acylation pour donner une nouvelle famille d'oxazolidinones contenant le motif cyclosulfonamide (34). Cette famille a présenté une activité antibactérienne sur les Gram positives et les Gram négatives (schéma 3).



(i) CH_3CN , reflux, 3h. (ii) H_2 , Pd/C, THF, 3h. (iii) chloroformate de benzyle, $NaHCO_3$, acétone/eau, $5^\circ C$, 10 h. (iv) n-BuLi, (R)-butyrate de glycidyle, $-78^\circ C$. (v) MsCl, TEA, CH_2Cl_2 , $5^\circ C$, 1 h. (vi) NaN_3 , DMF, $75^\circ C$, 16 h. (vii) 1- H_2 , Pd/C, AcoEt, 20 h. 2- Ac_2O , pyridine, $-5^\circ C$, 3 h.

Schéma 3 : Synthèse d'oxazolidinone contenant le motif cyclosulfonamide.

I-2-4- A partir de carboxylsulfamides :

Dans un travail antérieur de notre groupe, la synthèse des oxazolidinones (37) a été réalisée en deux étapes à partir de carboxylsulfamide. La réduction des carboxylsulfamides (35) avec le borohydrure de sodium $NaBH_4$ dans le THF/ H_2O , permet l'accès aux dérivés hydroxylés (36).

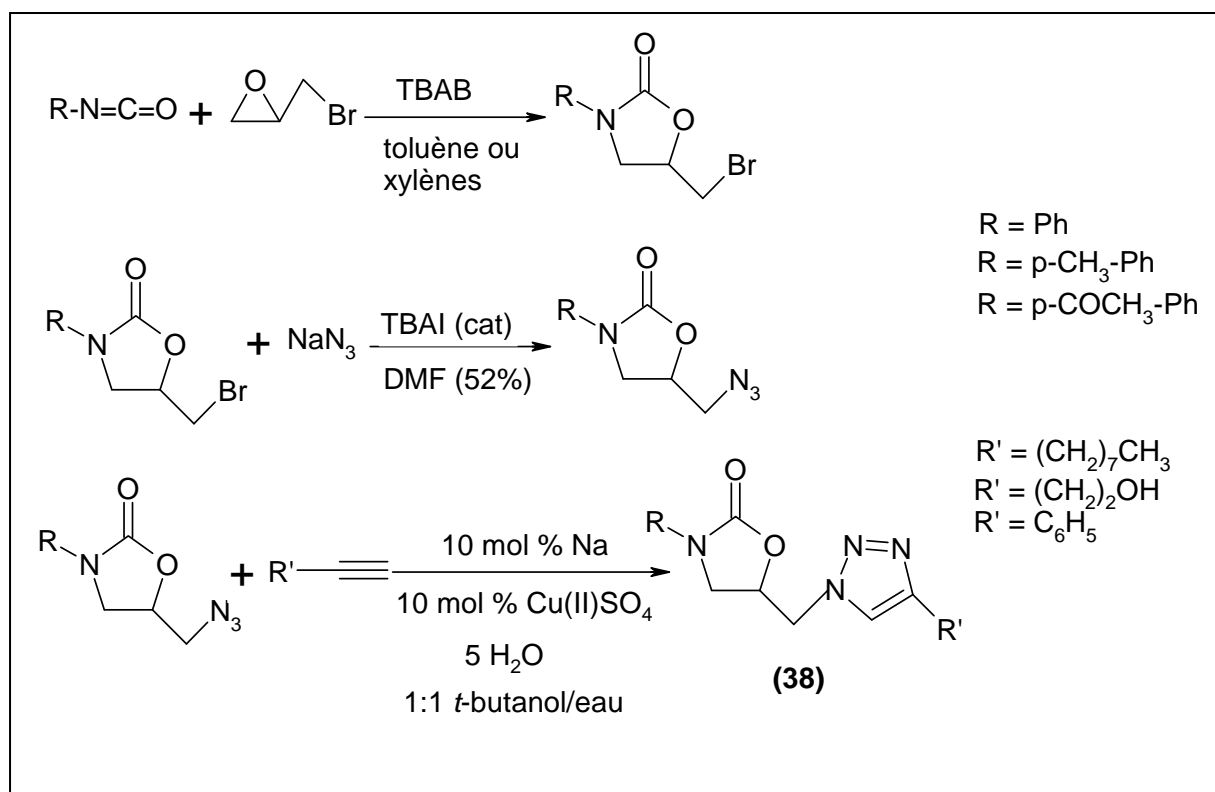


Schéma 5 : Synthèse des dérivés d'oxazolidinones contenant le motif 1, 2, 3-triazole.

I-2-6- A partir d'un alcool prochiral:

L'accès au 5-halométhyl-2-oxazolidinone est réalisé en deux étapes de synthèse à partir de l'isocyanate et un alcool secondaire prochiral²¹. Le carbamate (**39**) a été préparé par deux méthodes différentes: la première méthode consiste à faire réagir l'isocyanate avec l'alcool secondaire en présence de CuCl à température ambiante. La deuxième méthode est une condensation d'une amine primaire sur un alcool avec le triphosgène en présence de la pyridine et une quantité catalytique de DMAP à basse température. La cyclisation du carbamate (**39**) en milieu basique dans le THF ou le toluène à -78°C permet l'accès à des diastéréoisomères de 5-halométhyl-2-oxazolidinones (**40**) et (**41**) avec un bon rendement (schéma 6).

²¹ Sugiyama, S.; Morishita, K.; Ishii, K. *Heterocycles*, **2001**, 55(2), 353.

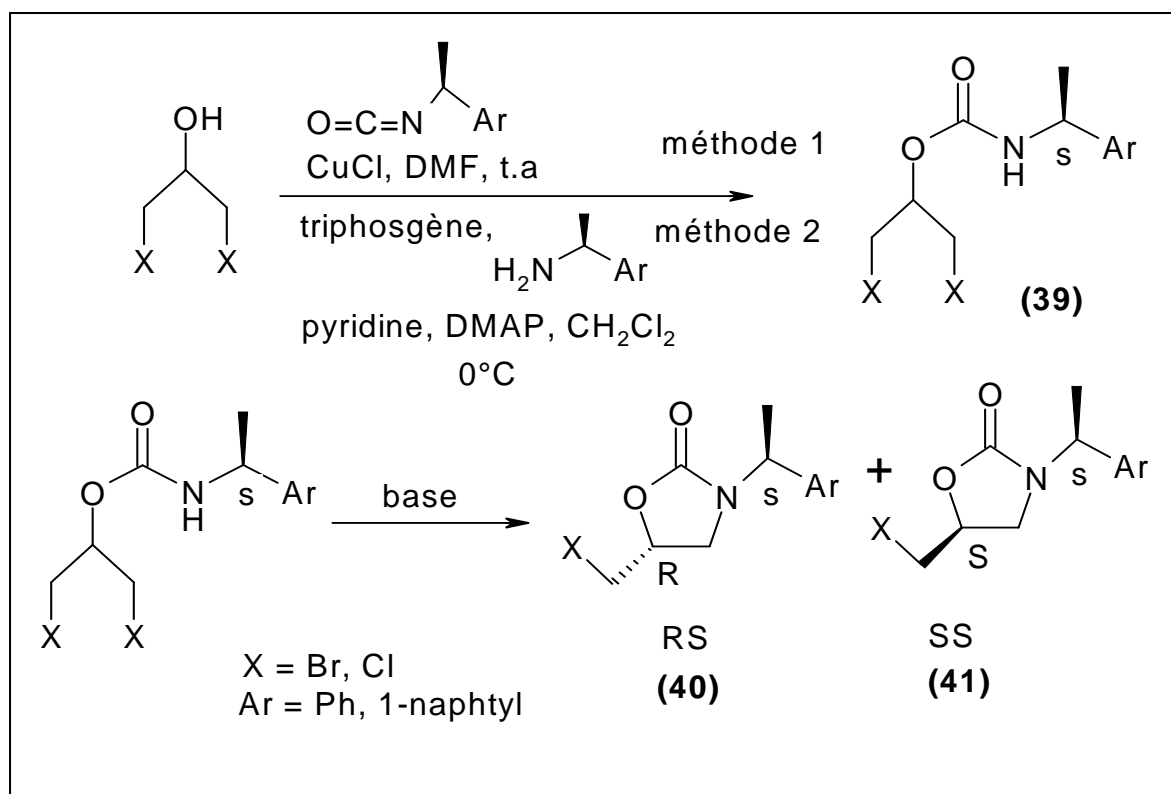


Schéma 6 : Synthèse de 5-halométhyl-2-oxazolidinone.

I-2-7- A partir de (S)-epichlorohydrine :

Une méthode récente décrite par Madhusudhan et *al.*²² permet l'accès au Linezolid à partir de (S)-epichlorohydrine : l'ouverture stéréosélective du cycle d'époxyde de (S)-epichlorohydrine avec l'azidure de sodium (NaN_3) dans le mélange $\text{H}_2\text{O/EtOH}$ et dans des conditions douces en utilisant le NH_4Cl fournit le (2S)-1-azido-3-chloropropan-2-ol (42). Le traitement de ce dernier par le $(\text{Boc})_2\text{O}$ à température ambiante, suivi par l'addition de l'azidure de sodium dans le DMF en présence d'un catalyseur le chlorure de tétrabutylammonium (TBAC) donne le composé azido (43). La cyclisation de ce composé (43) par le PPh_3 dans le CCl_4 en présence de Et_3N conduit à la formation de 5-azidométhyl-2-oxazolidinone (44). La condensation de (R)-oxazolidinone (44) avec le bromure d'aryle qui a été synthétisé dans un travail antérieur de Madhusudhan²³ permet l'accès au composé (45) (schéma 7).

²² Madhusudhan, G.; Om Reddy, G.; Rajesh, T.; Ramanatham, J.; Dubey, P. K. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 3060.

²³ Madhusudhan, G.; Om Reddy, G.; Ramanatham, J.; Dubey, P. K. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6323.

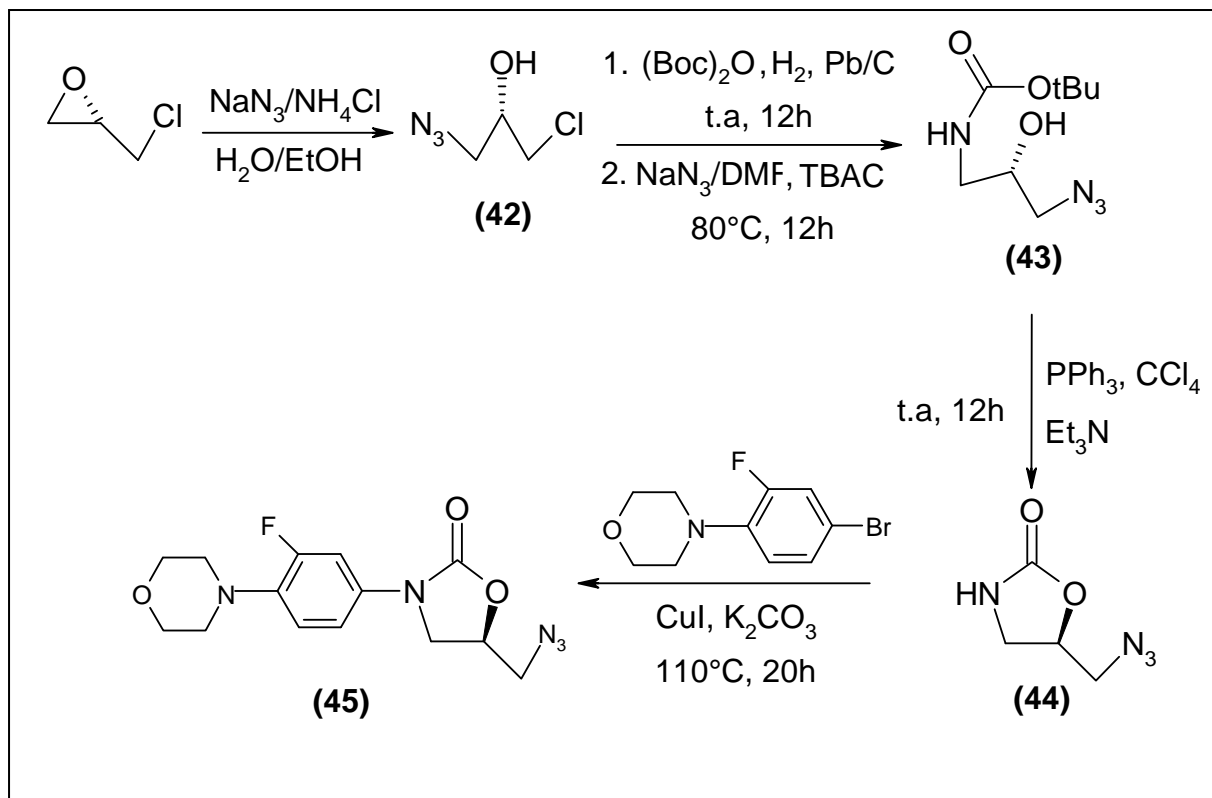


Schéma 7 : Synthèse d'oxazolidinone par une ouverture stéréosélective.

I-2-8- A partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle :

La réaction de l'isocyanate de chlorosulfonyle avec un alcool le *tertiobutanol* ou le 2-chloroéthanol donne le N-chlorosulfonylcarbamate (46) et (47), l'addition d'une amine sur ces derniers en présence d'une base conduit à la formation de carboxylsulfamide (48) et l'oxazolidinone (49) (schéma 8)²⁴.

²⁴ Hajri, H.; Dewynter, G.; Criton, M.; Dilda, P.; Montero, J. L. *Heteroatom Chemistry*. **2001**, 12, 1.

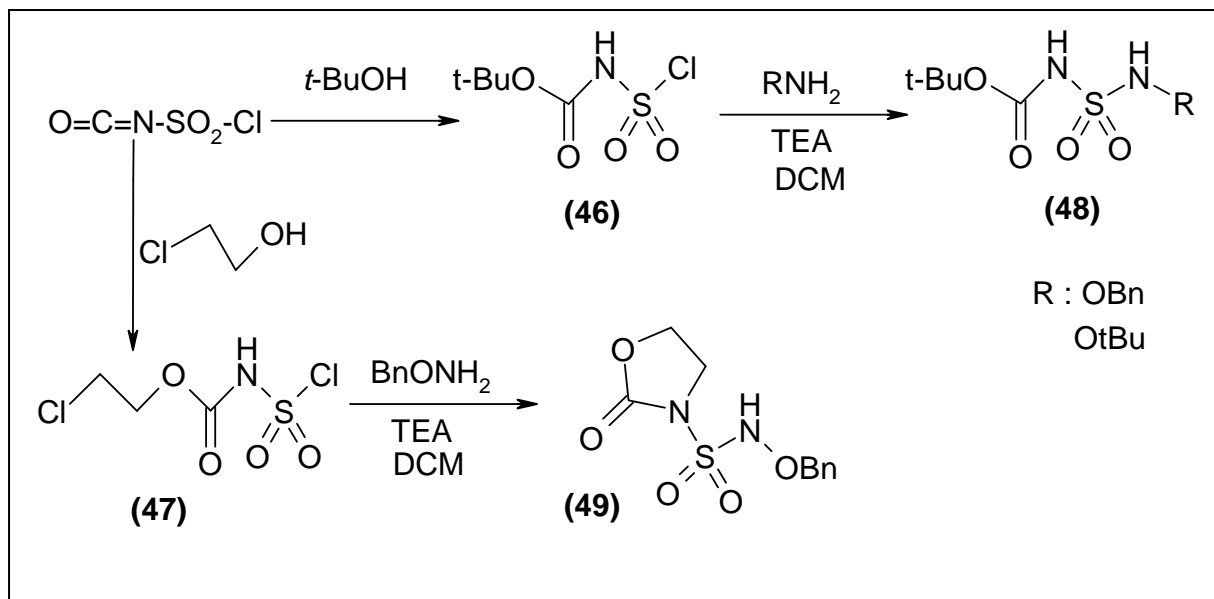


Schéma 8 : Synthèse d'oxazolidinone par cyclisation de N-chlorosulfonylcarbamate.

I-3- REACTIVITE DES OXAZOLIDINONES :

La réactivité particulière des oxazolidin-2-ones dans les différentes transformations synthétiques est expliquée par le caractère nucléophile de l'azote hétérocyclique.

I-3-1- Réaction d'acylation :

Dans le but de créer la liaison carbone - azote, plusieurs méthodes d'acylation d'oxazolidin-2-ones ont été décrites dans la littérature²⁵. K. Undheim et al.²⁶ ont synthétisé le bis acétamide (51) par la condensation de dichloro-1, 4-benzènediacétylène avec l'auxiliaire (50) en utilisant le n-buthyllithium dans le THF à basse température (schéma 9).

²⁵ Evans, D. A.; Bartroli, J.; Shih, T. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 2127.

²⁶ Undheim, K. ; Efskind, J.; Hoven, G. B. *Pure Appl. Chem.* **2003**, 75, 279.

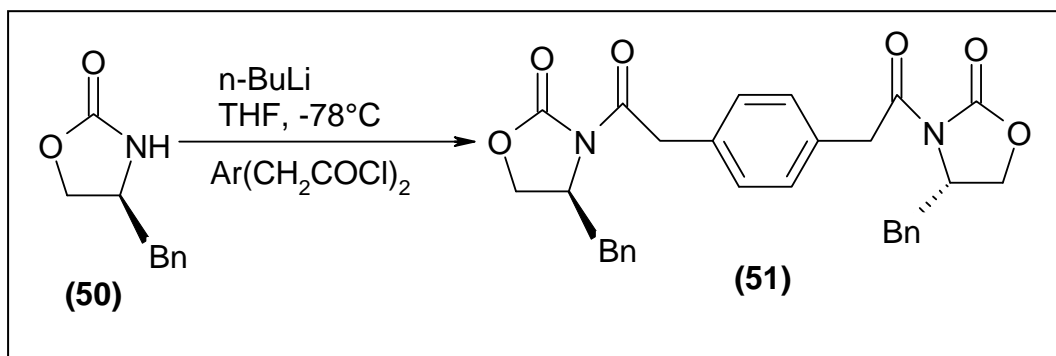


Schéma 9 : Synthèse de bis acétamide.

Ainsi Combarides et *al.*²⁷ ont réalisé l'acylation d'oxazolidinone d'Evans (52) par l'action d'un racémique de chlorure 2-phénylpropanoyle en présence de n-BuLi dans le THF à basse température pour former les deux diastéréoisomères d'oxazolidinones substituées anti (53) et syn (54) (schéma 10).

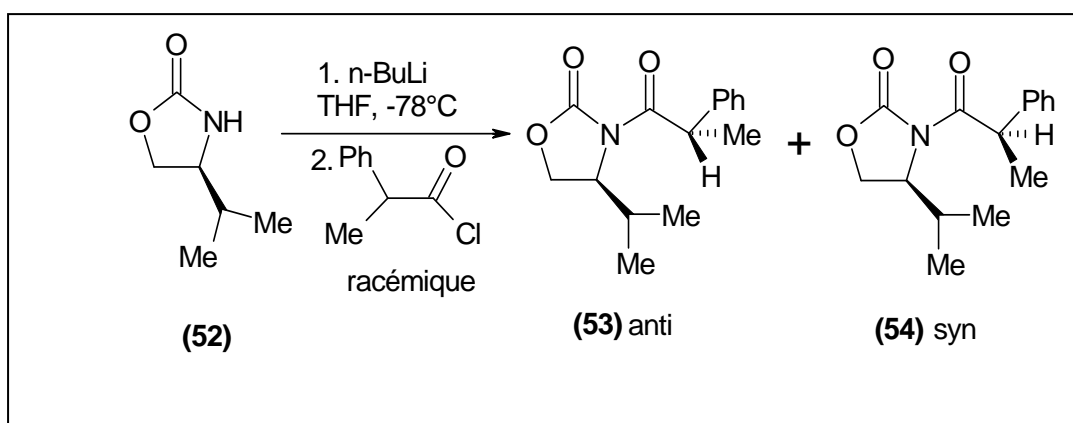


Schéma 10 : Synthèse des diastéréoisomères d'oxazolidinones substituées anti et syn.

²⁷ Combarides, G. S.; Dingjan, M.; Eames, J.; Flinn, A.; Northen, J.; Yohannes, Y. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 2897.

I-3-2- Réaction de cycloaddition :

La réaction de cycloaddition de Diels-Alder de 3-(vinylsulfonyl) oxazolidin-2-one avec le 1, 3-cyclopentadiène en présence d'un catalyseur Et_2AlCl ou EtAlCl_2 dans le dichlorométhane conduit à la formation de produit **(55)** (schéma 11)²⁸.

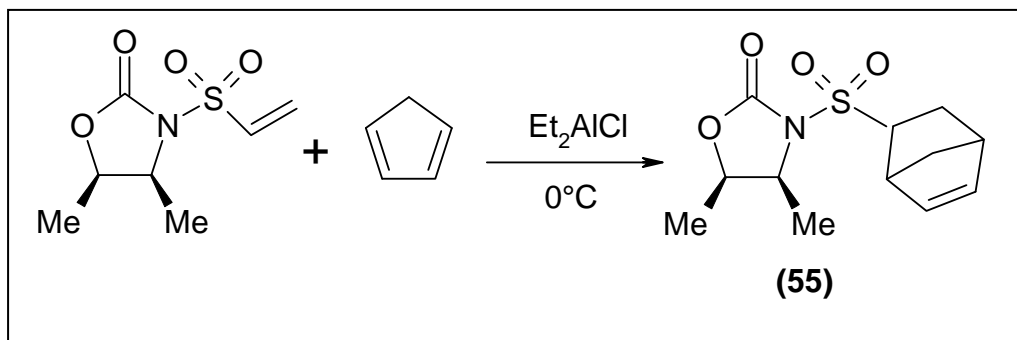


Schéma 11 : La réaction de cycloaddition de Diels-Alder.

I-3-3- Réaction de condensation :

Une nouvelle approche est mise au point par notre groupe²⁹, nous a permis d'accéder aux bis-oxazolidinones sulfone par deux voies synthétiques : La première voie consiste à faire réagir le chlorure de sulfonyle avec l'oxazolidinone chirale **(56)** à basse température, en présence de triéthylamine dans le dichlorométhane anhydre.

Dans la deuxième voie, la synthèse de bis-oxazolidinone sulfone **(58)** est réalisée en deux étapes, la formation du chlorosulfonyloxazolidinone **(57)** en milieu basique (triéthylamine) en présence de chlorure de sulfonyle à 0°C , suivi par la condensation d'un équivalent d'oxazolidinone (schéma 12).

²⁸ Bernabeu, M. C.; Chinchilla, R.; Falvello, L. R.; Najema, C. *Tetrahedron; Asymmetry*. **2001**, 12, 1811.

²⁹ Berredjem, M.; Regainia, Z.; Dewynter, G.; Aouf, N-E. *Heteroatom Chemistry*. **2006**, 17, 1.

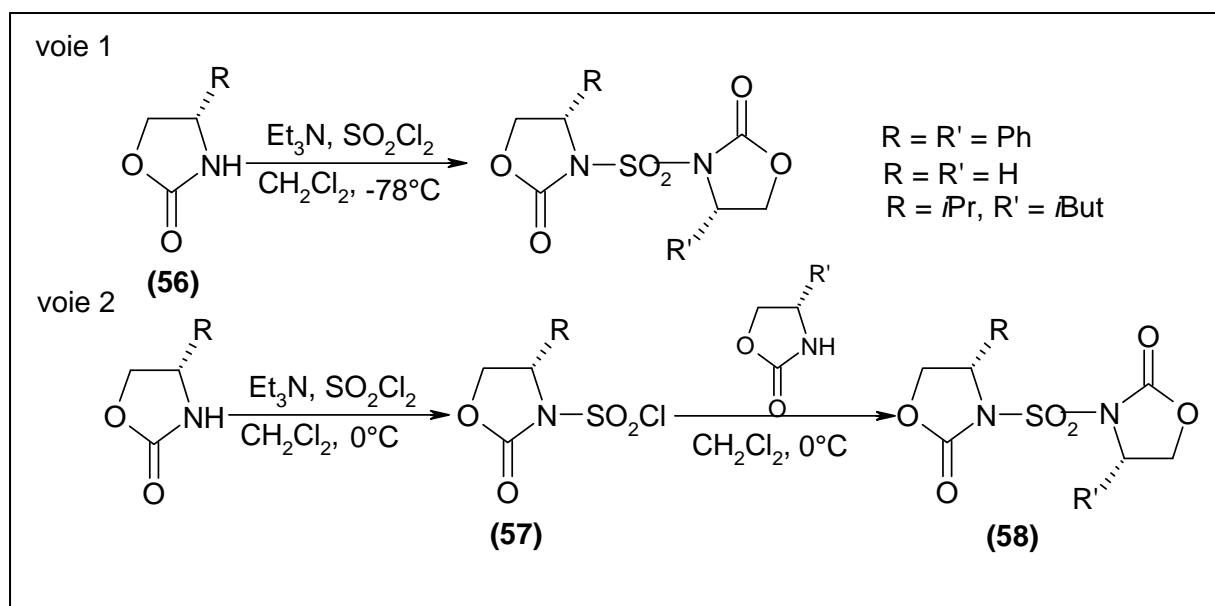


Schéma 12 : Synthèse de bis-oxazolidinone sulfone.

I-3-4- Réaction d'ouverture:

Le groupement sulfonyle a été introduit sur le cycle d'oxazolidinone (**59**) par la condensation de ce dernier avec le RSO_2Cl en présence de $n\text{-BuLi}$ dans le THF anhydre à basse température. L'ouverture du cycle oxazolidinone N-substituée (**60**) avec un agent réducteur LiAlH_4 dans le THF selon un protocole synthétique décrit³⁰, donne l'amino-alcool correspondant (**61**) (schéma 13).

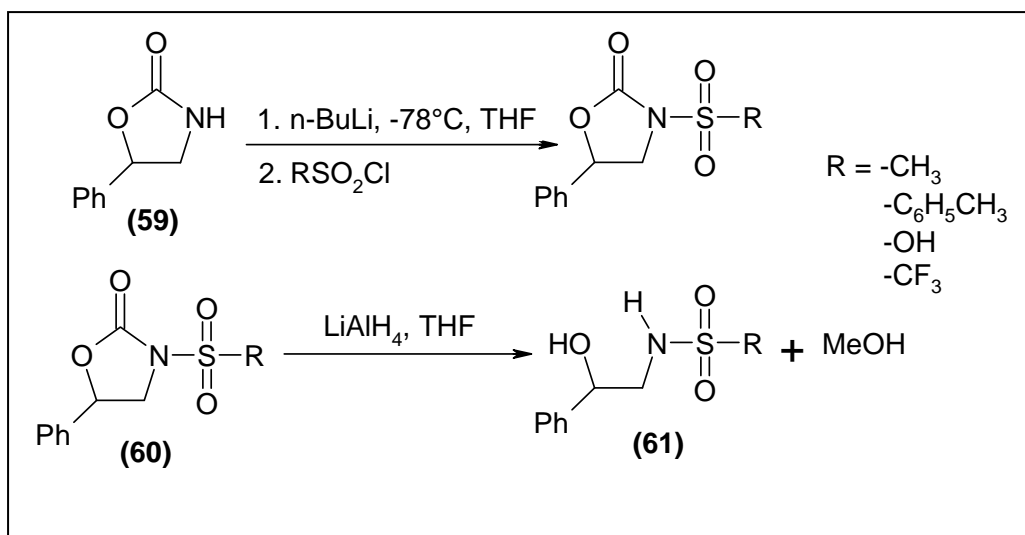


Schéma 13 : Synthèse des amino-alcools par l'ouverture du cycle d'oxazolidinone.

³⁰ Frohlich, J.; Berger, J. *Synlett*. **2005**, 16, 2522.

I-3-5- Réaction de glycosylation :

Précédemment, notre groupe a rapporté la synthèse des pseudo nucléosides en utilisant les oxazolidinones chirales (**62**)³¹. La condensation avec le D-ribofuranose (**63**) dans les conditions de la réaction de Mitsunobu fournit les dérivés nucléosidiques (**64**) (schéma 14).

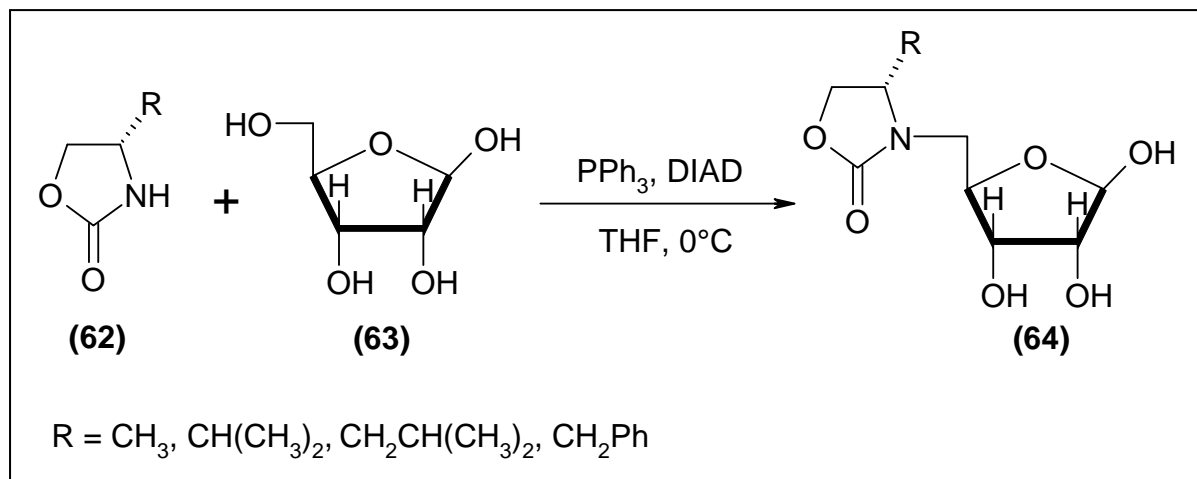


Schéma 14 : Synthèse de pseudonucléosides par glycosylation d'oxazolidinone chirale.

CONCLUSION:

-Dans ce chapitre nous avons présenté une mise au point sur l'activité biologique essentielle des oxazolidinones modifiées décrite dans la littérature, nous avons rapporté aussi les différentes méthodes d'accès aux oxazolidinones ainsi que leurs réactivités.

-L'amélioration de l'activité antibactérienne de l'oxazolidinone a été également discutée, il a été révélé que la présence du groupement sulfonyle peut améliorer largement l'activité antibactérienne des oxazolidinones en particulier contre les Gram-positifs.

-Les oxazolidinones sont des auxiliaires chiraux qui jouent un rôle très important dans les transformations asymétriques. Elles peuvent être utilisées comme intermédiaire important dans la synthèse de molécules d'intérêt biologique.

³¹ Boulegghem, H.; Berredjem, M.; Lecouvey, M.; Aouf, N-E. *Nucleosides & Nucleotides*. **2007**, 26, 1539.

CHAPITRE II

***Aperçu Bibliographique sur les Sulfonamides
et les N-acylsulfonamides,
Synthèse et Activité Pharmacologique***

II-1- ACTIVITE PHARMACOLOGIQUE DES SULFONAMIDES ET DES N-ACYL SULFONAMIDES:

Pour de multiples raisons, il est apparu utile et dans certains cas indispensables de contrôler le développement des microorganismes. Certains nombres de bactéries sont des agents hautement pathogènes pour l'homme. Il fallait tout naturellement se protéger de leurs effets néfastes, donc rechercher et sélectionner les moyens de lutte les plus efficaces.

Certaines substances chimiques, toutes en exerçant un pouvoir destructeur sur la bactérie, sont dépourvues de toxicité pour les autres cellules, humaines ou animales. Ces agents qualifiés de chimiothérapie comprennent les sulfamides et les antibiotiques.

L'introduction de sulfonamides en médecine clinique dans les années 1930 a marqué le début de la chimiothérapie. Ces composés représentent une importante classe de médicaments et présentent un large spectre d'activité biologique¹. Ils sont fréquemment employés en tant qu'agents diurétiques et hypoglycémiques, agents antiviraux, agents anti-inflammatoires, et comme inhibiteurs de protéase².

Beaucoup de drogues contenant le motif sulfonamide ont été classé parmi les composés pharmaceutiques tels que : le célécoxib³ (anti-inflammatoire), méthazolamide⁴ (un inhibiteur d'anhydrase carbonique), zonisamide⁵ (antiépileptique) et bendrofluméthiazide⁶ (pour traiter l'hypertension artérielle) (**Fig. 8**).

¹ (a) Hansch, C.; Sammes, P. G.; Taylor, J. B. *In Comprehensive Medicinal Chemistry*; Pergamon Press: Oxford, **1990**, Vol. 2. (b) Cannor, E. E. *Sulfonamide Antibiotics Prim. Care Update Ob. Gyn.* **1998**, 5, 32. (c) Hanson, P. R.; Probst, D. A., Robinson, R. E.; Yau, M. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 4761.

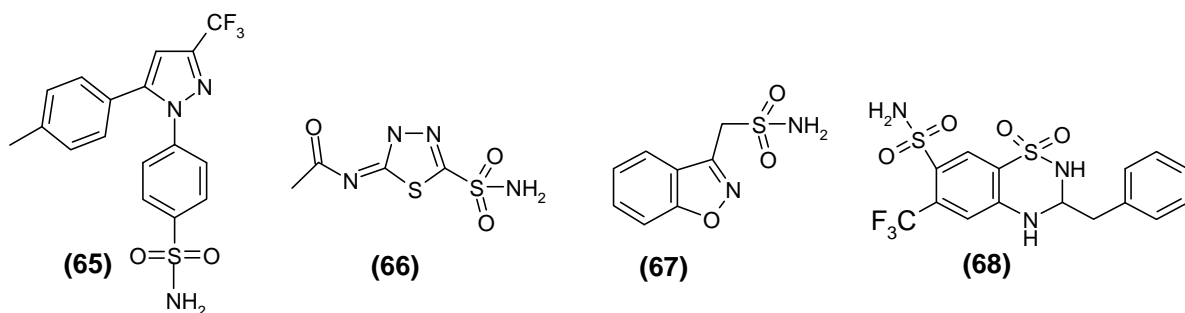
² Tu, H.; Powers, J.; Liu, J.; Ursu, S.; Sudom, A.; Yan, X.; Xu, H.; Meininger, D.; DeGraffenreid, M.; He, X.; Jaen, J. C.; Sun, D.; Labelle, M.; Yamamoto, H.; Shan, B.; Walker, N. P. C.; Wang, Z. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 8922.

³ Penning, D. T.; Talley, J. J.; Bertenshaw, R. S.; Carter, S. J.; Collins, W. P.; Docter, S.; Graneto, J. M.; Lee, F. L.; Malecha, W. J.; Miyashiro, M. J.; Rogers, S. R.; Rogier, J. D.; Yu, S. S.; Anderson, D. G.; Burton, G. E.; Cogburn, N. J.; Gregory, A. S.; Koboldt, M. C.; Perkins, E. W.; Seibert, K.; Veenhuizen, W. A.; Zhang, Y. Y.; Isakson, C. P. *J. Med. Chem.* **1997**, 40, 1347.

⁴ Nishimori, I.; Vullo, D.; Innocenti, A.; Scozzafara, A.; Mastrolorenzo, A.; Supuran, T. C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 3828.

⁵ Baulac, M. *Epilepsy Res.* **2006**, 68, S3-S9.

⁶ Pang, H. Y.; Yang, L. L.; Shuang, M. S.; Dong, C.; Thompson, M. J. *Photochem. Photobiol.* **2005**, 80, 139.



Célécoxib

Méthazolamide

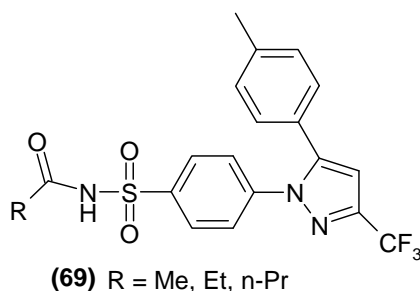
Zonisamide

Bendrofluméthiazide

Figure 8 : Structure de composés pharmaceutiques contenant le motif sulfonamide.

Les N-acylsulfonamides substitués ont été généralement appliqués en tant que bioisostères d'acides carboxyliques en chimie médicinale due à leur acidité comparable. Ces molécules ont présenté des activités biologiques diverses, avec plusieurs types d'agents pharmacologiques possédant les inhibiteurs antibactériens de synthétase de tRNA⁷, des précurseurs d'agents thérapeutiques pour la maladie d'Alzheimer⁸, des antagonistes pour l'angiotensine II⁹.

Un autre axe de recherche qui a été progressé pour les différents N-acylsulfonamides avec une activité antivirale remarquable. Un nombre très grand d'autres dérivés est synthétisé et constamment évalué afin d'obtenir des molécules avec un bon index thérapeutique contre des virus résistants à de telles drogues de génération comme le Célécoxib acylé (**Fig. 9**).

**Figure 9 :** La structure chimique de Célécoxib acylé.

⁷ Banwell, M. G.; Crasto, C. F.; Easton, C. J.; Forrest, A. K.; Karoli, T.; March, D. R.; Mensah, L.; Nairn, M. R.; O'Hanlon, P. J.; Oldham, M. D.; Yue, W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10, 2263.

⁸ Hasegawa, T.; Yamamoto, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2000**, 73, 423.

⁹ Chang, L. L.; Ashton, W. T.; Flanagan, K. L.; Chen, T. B.; O'Malley, S. S.; Zingaro, G. J.; Siegl, P. K. S.; Kivlighn, S. D.; Lotti, V. J.; Chang, R. S. L.; Greenless, W. J. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 4464.

Un sulfonamide nommé JNJ-7706621 présente une activité antiproliférative contre de diverses cellules humaines de tumeur. Pour améliorer l'effet anti-tumoral de cette molécule, S. Huang et al.¹⁰ ont réalisé une acylation sur le motif sulfonamide dans le but d'augmenter la lipophilité de la molécule (Fig. 10).

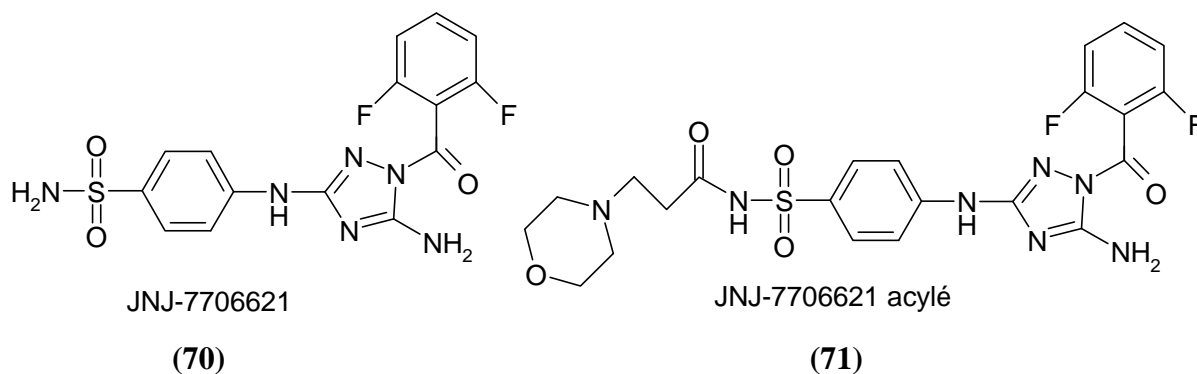


Figure 10: La structure chimique de JNJ-7706621 avec leur dérivé acylé.

Vu la grande activité biologique annoncée pour les N-acylsulfonamides, notre attention a été dirigée vers la préparation de leurs dérivés.

II-2- METHODES D'ACCES AUX SULFONAMIDES :

Plusieurs méthodes de synthèse des sulfonamides ont été décrites dans la littérature :

II-2-1- A partir de cyclopropylester :

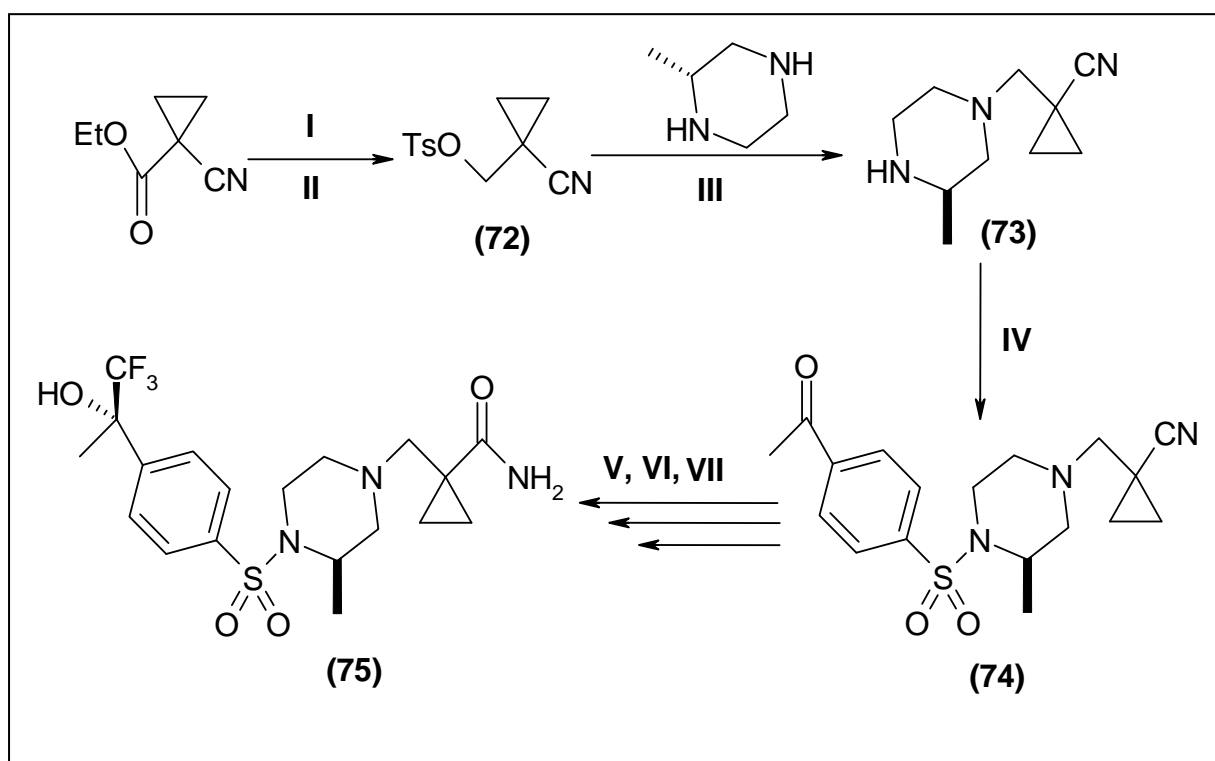
Tu et al.² ont décrit la préparation de sulfonamide (75), ce dernier joue le rôle d'un inhibiteur concurrentiel d'enzyme de type 11 β -HSD1 (11 β -Hydroxysteroid déshydrogénase de type 1), c'est l'enzyme principale qui contrôle l'excès du glucocorticoïde chez l'homme¹¹.

La préparation du sulfonamide (75) commence par la réduction du cyclopropyl ester avec le borohydrure de sodium dans un mélange de solvant (DME / MeOH) pour donner

¹⁰ Huang, S.; Connolly, P. J.; Lin, R.; Emanuel, S.; Middleton, S. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 3639.

¹¹ Sun, D.; DeGraffenreid, M.; He, X.; Jaen, J.C.; Powers, J. P.; Yan, X.; Di, Y.; Tu, H.; Ursu, S.; Ma, J.; Miao, S.; Tang, L.; Ye, Q.; Sodom, A.; Wang, Z. Discovery and optimization of arylsulfonamides as a novel class of 11-b-HSD1 inhibitors; 234th ACS National Meeting, **2007**, Boston, MA, United States.

l'alcool correspondant. Cet alcool est converti en tosylate (**72**) par le traitement avec le p-TsCl. La condensation de l'intermédiaire obtenu avec 1 équivalent de (R)-2-méthylpipérazine donne le dérivé aminé (**73**). L'amine obtenue est acylé avec le 4-acétylbenzène chlorosulfonyle pour former le pipérazine N, N'- substitué (**74**). Ce dernier a été utilisé comme précurseur pour former le sulfonamide (**75**) avec de bon rendement (**schéma 15**).



(I) NaBH_4 , DME/MeOH. (II) p-TsCl, Et_3N , CH_2Cl_2 . (III) (R)-(-)-2-Méthylpipérazine, CH_3CN . (IV) 4-acétylbenzène chlorosulfonyle, Et_3N , CH_2Cl_2 . (V) TMS- CF_3 , TBAF, THF. (VI) 1- 4-Nitrophényl chloroformate, DMAP, CH_3CN . (VII) 2- (S)-(+)-2-Amino-1-butanol. KOH, tBuOH.

Schéma 15 : Synthèse de sulfonamide à partir de cyclopropylester.

II-2-2- A partir de l'acide 4-aminonaphtalène-1-sulfonique:

Récemment, une série de dérivés de naphthalène sulfonamide a été développée en tant que antagoniste efficace. La synthèse de cette série a été décrite dans la littérature par M. Wang et al.¹² selon le schéma réactionnel suivant (schéma 16) :

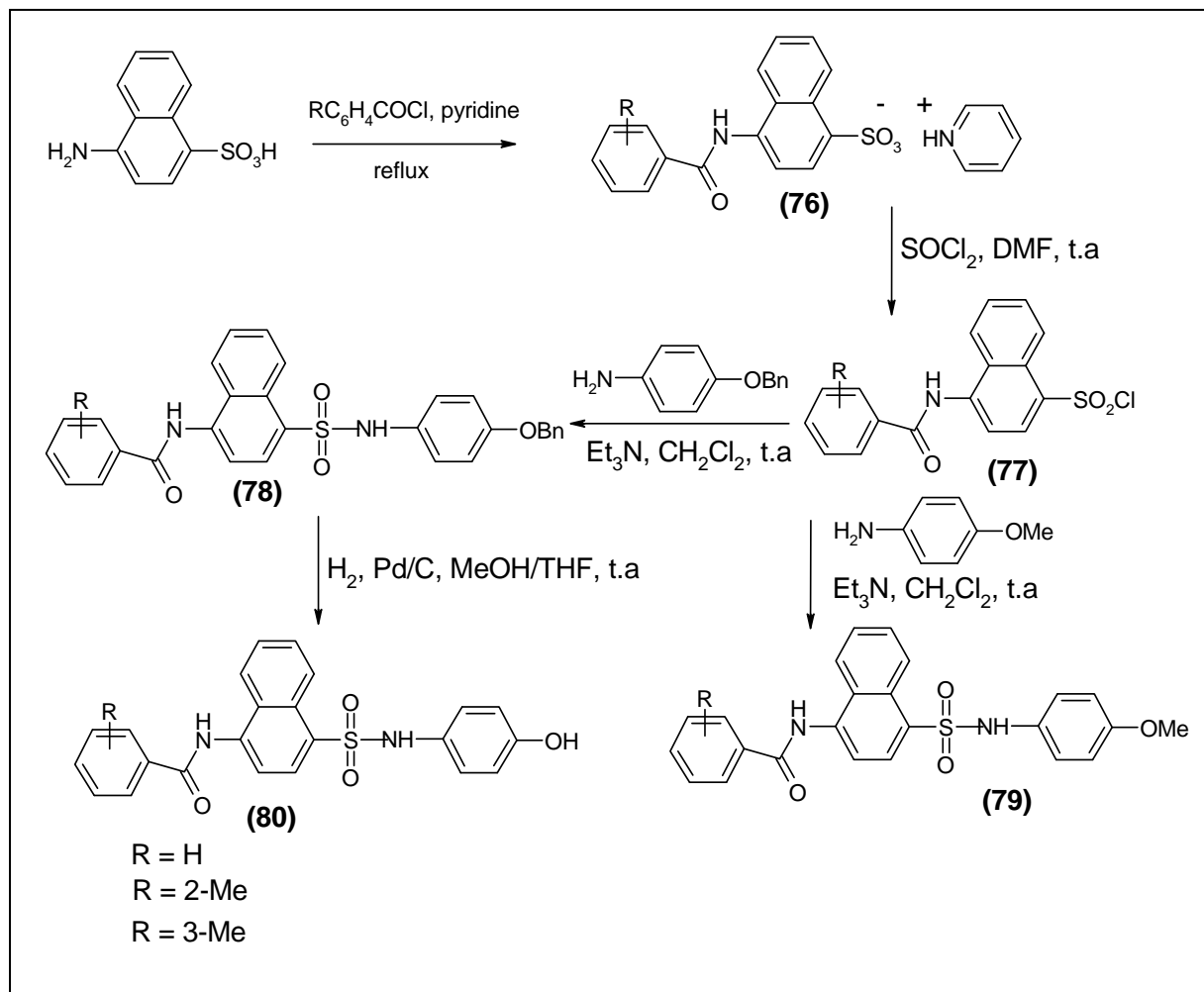


Schéma 16: Synthèse d'un dérivé de naphthalène sulfonamide.

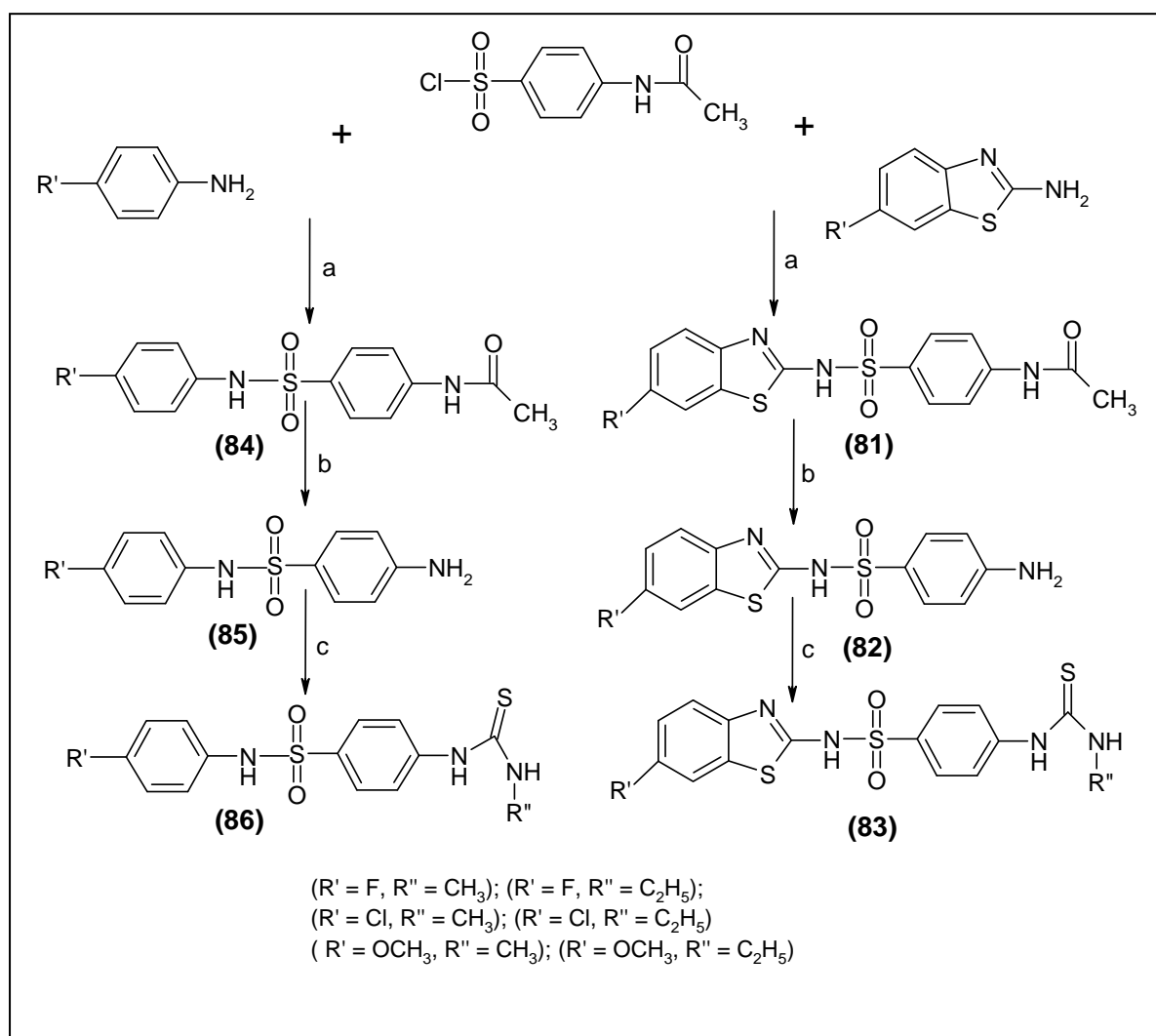
II-2-3- A partir de p-acétamidobenzène chlorosulfonyle:

Siddiqui et al.¹³ ont mis au point une méthode de synthèse simple d'une série de sulfonamide substituée par des noyaux aromatiques.

¹² Wang, M. ; Cooley, B. ; Gao, M. ; Miller, K. D. ; Sledge, G. W. ; Hutchins, G. D. ; Zheng, Q. *Applied Radiation and Isotopes*. **2008**, 66, 1406.

¹³ Siddiqui, N. ; Pāndeya, S. N. ; Khan, S. A. ; Stables, J. ; Rana, A. ; Alam, M. ; Arshad, M. F. ; Bhat, M. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 255.

Les molécules de cette série ressemblent à un dérivé de sulfonamide nommé Zonisamide¹⁴. Dans le but d'augmenter le caractère lipophile de ces dérivés de sulfonamides, cette équipe a choisi le phényle et le benzothiazole en tant qu'anneaux aryliques hydrophobes. La majorité des composés synthétisés ont été actifs dans des essais biologiques réalisés par le même groupe (schéma 17).



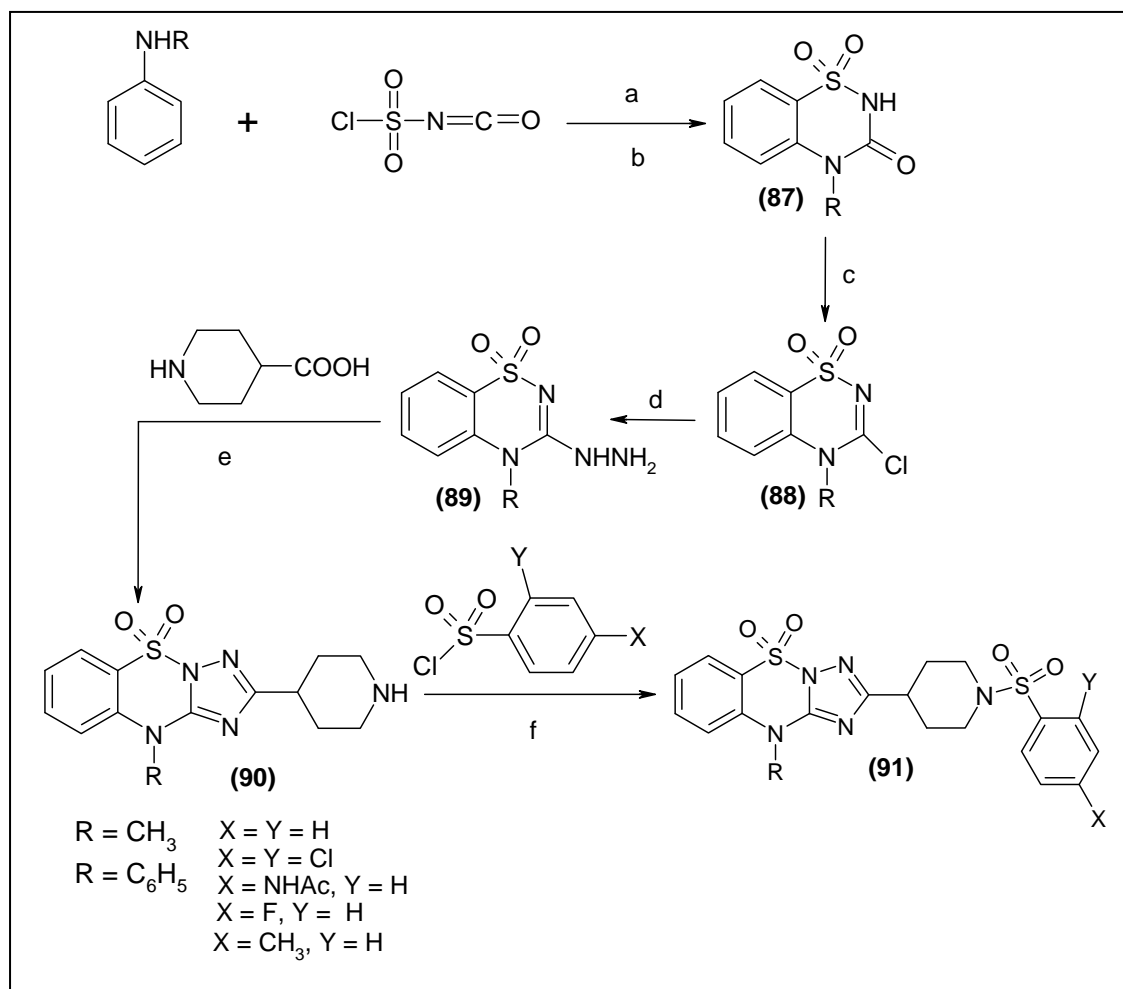
(a) pyridine/Ac₂O, (b) CH₃COOH (80%), reflux 6h, (c) R''NCS, EtOH/reflux, 2h.

Schéma 17: Synthèse des sulfonamides à partir de p-acétamidobenzène chlorosulfonyle.

¹⁴ Kubota, M.; Nishi-Nagase, M.; Sakakihora, Y. *Brain Dev.* **2000**, 22, 230.

II-2-4- A partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle :

Le motif structural arylsulfonamide est bien connu pour exhiber l'activité antibactérienne¹⁵⁻¹⁷. Kamal et al.¹⁸ ont rapporté la synthèse d'une série d' arylsulfonamides de type (91) à partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle (schéma 18). La majorité des composés arylsulfonamides synthétisés par ce groupe ont montré une activité antibactérienne prometteuse contre des contraintes bactériennes à Gram positives et à Gram négatives.



(a) CH_3NO_2 , 0°C , t.a, 30 min ; (b) AlCl_3 , 120°C , 30 min ; (c) PCl_5 , 190°C , 30 min ; (d) N_2H_4 , H_2O , CHCl_3 , 10°C ; (e) POCl_3 , 110°C , 3-4 h ; (f) pyridine, t.a, 4 h.

Schéma 18 : Synthèse des dérivés d' arylsulfonamides.

¹⁵ Chandra, J. N. N. S. ; Sadashiva, C. T. ; Kavitha, C. V. ; Rangappa, K. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 6621.

¹⁶ Joshi, S. ; Khosla, N. ; Khare, D. ; Sharda, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 221.

¹⁷ Kamal, A. ; Khan, M. N. A. ; Reddy, K. S. ; Rohini, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 1004.

¹⁸ Kamal, A. ; Khan, M. N. A. ; Reddy, K. S. ; Rohini, K. ; Sastry, G. N. ; Sateeh, B. ; Sridhar, B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 5400.

II-2-5- A partir de l'isocyanure:

Une nouvelle approche¹⁹ de synthèse d'un alkyl ou aryl sulfonamide (**91**) par la réaction de l'acide sulfonique avec l'isocyanure en présence de l'eau dans le dichlorométhane à température ambiante donne les dérivés de sulfonamides avec un bon rendement (**schéma 19**).

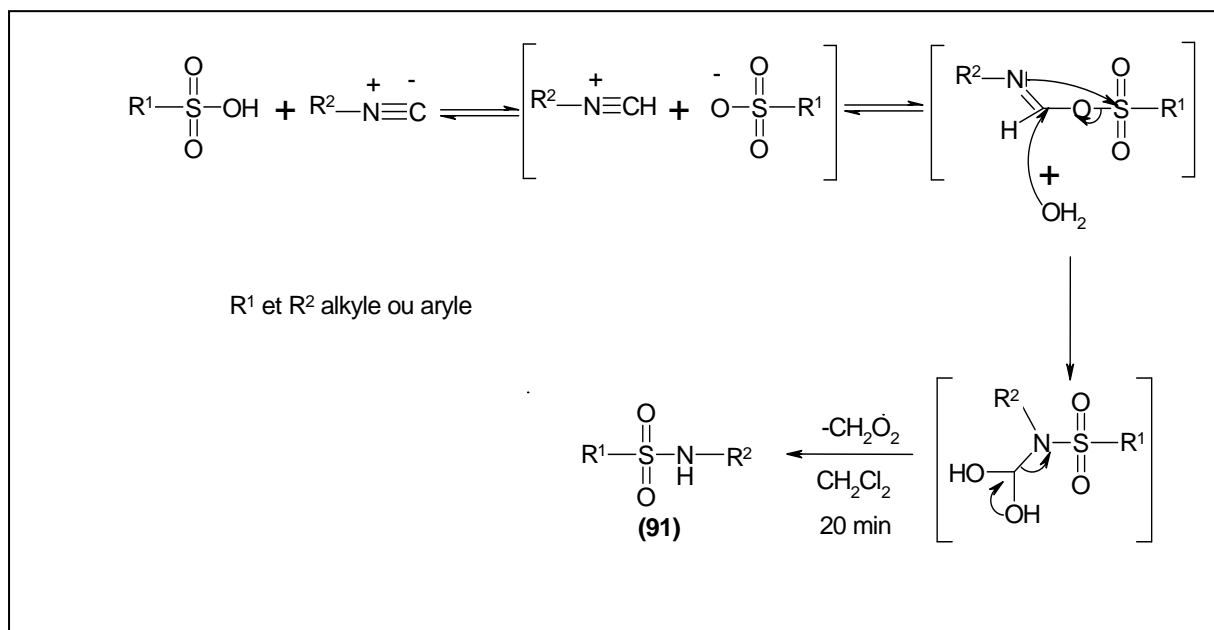


Schéma 19 : Synthèse d'un alkyl ou aryl sulfonamides.

II-3- METHODES D'ACCES AUX N-ACYLSULFONAMIDES :

Nous décrivons ci-dessous quelques exemples de synthèse de N-acylsulfonamides:

II-3-1- A partir d'un acide carboxylique :

Le sulfonamide JNJ-7706621 présente une activité antiproliférative contre de diverses cellules humaines de tumeur²⁰, pour augmenter l'efficacité de cette molécule S. Huang et al. ont réalisé une acylation sur le motif $-SO_2-NH_2$.

¹⁹ Shaabani, A.; Soleimani, E.; Rezayan, A. H. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 2185.

²⁰ (a) Lin, R.; Connolly, P. J.; Huang, S.; Wetter, S. K.; Lu, Y.; Murray, W.V.; Emanuel, S.; Gruninger, R. H.; Fuentes-Pesquera, A. R.; Rugg, C. A.; Middleton, S. A.; Jolliffe, L. K. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 4208. (b) Emanuel, S.; Rugg, C. A.; Gruninger, R. H.; Lin, R.; Fuentes-Pesquera, A. R.; Connolly, P. J.; Wetter, S. K.; Hollister, B.; Kruger, W. W.; Napier, C.; Jolliffe, L.; Middleton, S. A. *Cancer Res.* **2005**, 65, 9038.

Le traitement de l'acide 3-morpholin-4-yl propénoïque par le chlorure de pivaloyle en présence de Et_3N dans le THF fournit l'anhydride correspondant (**92**). La déprotonation régiosélective de sulfonamide JNJ-7706621 (**70**) par le sel de potassium dans le THF conduit à la formation d'un nucléophile, où l'attaque de ce dernier sur l'anhydride préparé précédemment donne le N-acylsulfonamide (**71**) avec le départ de 1 mole de $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{COOH}$ (schéma 20)²¹.

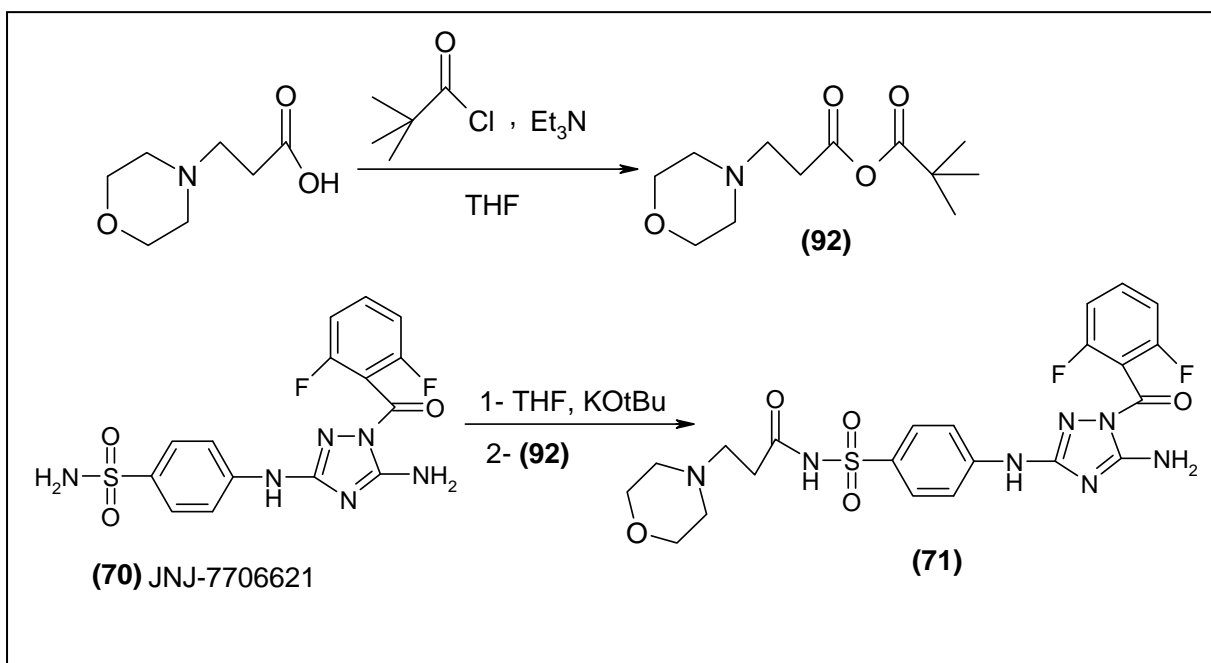


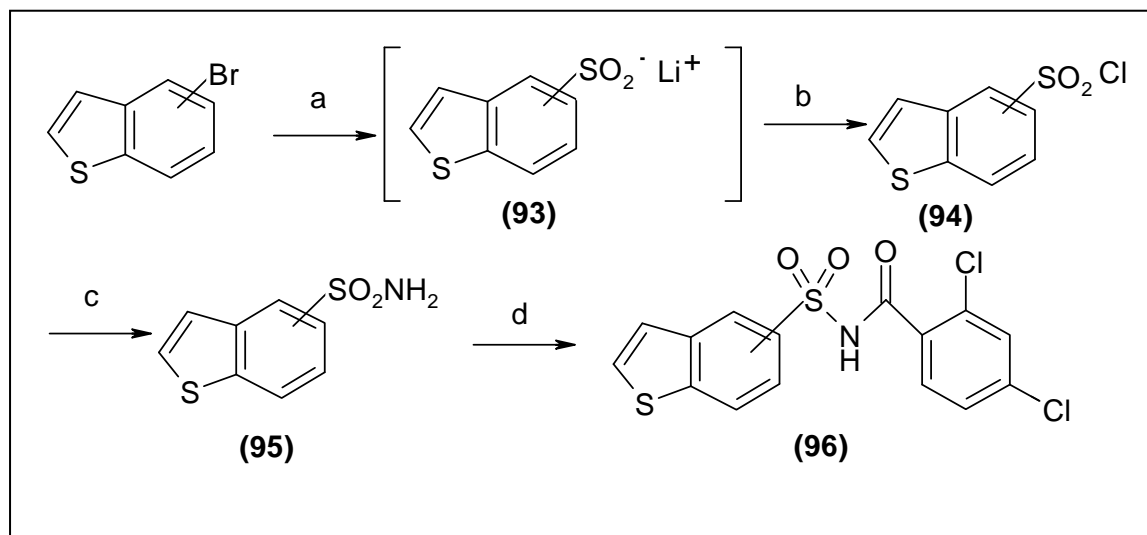
Schéma 20: L'acylation de sulfonamide JNJ-7706621.

II-3-2- A partir de bromobenzothiophène :

La préparation de benzothiophène sulfonamide acylé (**96**) a été réalisée respectivement par déprotonation de bromobenzothiophène sous l'action d'une base forte $n\text{-BuLi}$, puis par traitement avec le SO_2 à basse température pour former l'intermédiaire (**93**), suivie par une substitution par le chlore en utilisant le N-chlorosuccinimide (NCS). L'action de chlorure de sulfonyle sur l'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) donne le benzothiophène sulfonamide (**95**).

²¹ Huang, S.; Connolly, P. J.; Lin, R.; Emanuel, S.; Middleton, S. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 3639.

La condensation de ce dernier (**95**) avec l'acide 2,4-dichlorobenzoïque en présence de 3-éthyl, 1-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC) et N, N-diméthylaminopyridine (DMAP) donne le produit acylé (**96**) (schéma 21)²².



(a) 1. n-BuLi, THF, -78°C; 2. SO₂, -78°C; (b) NCS; (c) NH₄OH; (d) acide 2, 4-dichlorobenzoïque, EDC, DMAP, CH₂Cl₂, t.a.

Schéma 21 : L'acylation de benzothiophène sulfonamide.

II-3-3- A partir des alkyl ou aryl sulfonamides:

II-3-3- a) En présence d'acide de Lewis ZnCl₂ :

La réaction de N-acylation des sulfonamides avec des anhydrides acides carboxyliques en présence des acides de Lewis donne des produits acylés avec de bons rendements.

Le traitement des sulfonamides par l'acide carboxylique en présence de ZnCl₂ et l'anhydride benzoïque dans le CH₂Cl₂ à température ambiante fournit le N-acylsulfonamide correspondant (**97**) (schéma 22)²³.

²² Mader, M. M. ; Shih, C. ; Considine, E. ; De Dios, A.; Grossman, C. S.; Hipskind, P. A.; Lin, H. S.; Lobb, K. L.; Lopez, B.; Lopez, J. E.; Martin Cabrejas, L. M.; Richett, M. E.; White, W. T.; Cheung, Y.; Dinn, S. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 617.

²³ Raji Reddy, C.; Mahipal, B.; Rao Yaragorla, S. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 7528.

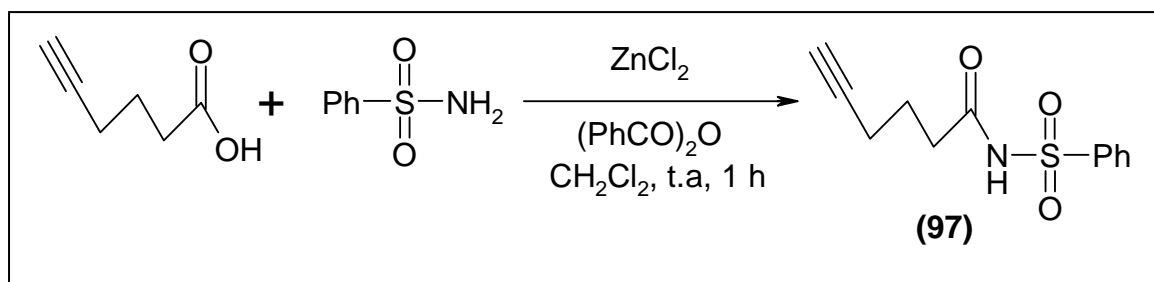


Schéma 22 : L'acylation d'arylsulfonamide en présence d'acide de Lewis ZnCl_2 .

II-3-3- b) En présence d'acide sulfurique sur silice (SSA) :

Récemment, le catalyseur acide sulfurique sur silice (SSA) a été introduit dans des réactions chimiques comme support solide inorganique²⁴. Massah et *al.* ont utilisé ce catalyseur pour la préparation de N-acylsulfonamides (**98**). L'activité biologique de ces composés a été testée sur une gamme de bactéries à Gram positive et à Gram négative en utilisant le sulfaméthoxazole comme référence (**schéma 23**)²⁵.

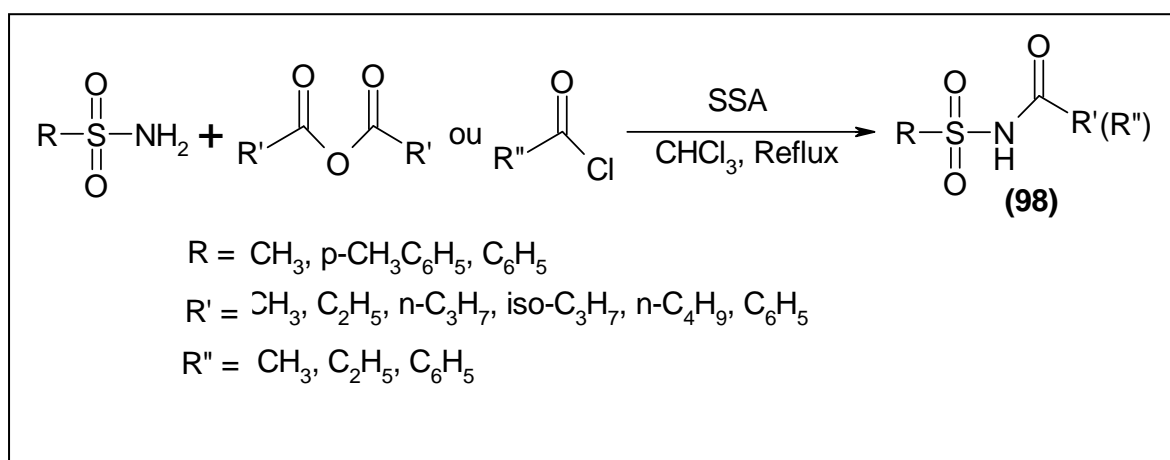


Schéma 23 : L'acylation catalytique de sulfonamide en présence d'acide sulfurique sur silice.

²⁴ Zolfigol, M. A. *Tetrahedron*. **2001**, 57, 9509.

²⁵ Massah, A. R. ; Adibi, H. Khodarahmi, R. ; Abiri, R. ; Majnooni, M. B. ; Shahidi, S. ; Asadi, B. ; Mehrabi, M. ; Zolfigol, M. A. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 5465.

II-3-4- A partir d'acides aminés protégés :

Les acides aminés protégés ont été condensés avec le benzènesulfonamide en présence de 1,1-carbonyldiimidazole (CDI) et le 1,8-diazabicyclo [5.4.0] undec-7-ène (DBU) dans le THF pour fournir le sulfonamide protégé (**99**).

Le clivage du Boc dans un milieu acide HCl donne le composé (**100**) qui a été traité par l'oxyde de propène dans l'éthanol permet d'accéder aux N-acylsulfonamides correspondants (**101**) (schéma 24)²⁶.

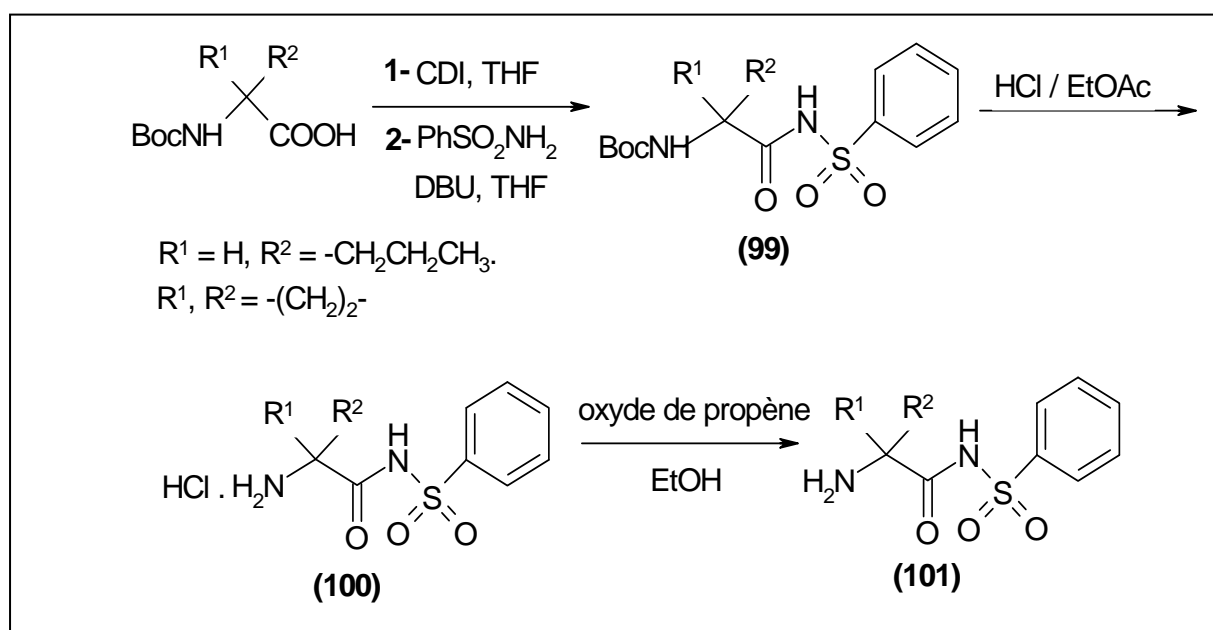


Schéma 24: Synthèse de N-acylsulfonamide à partir d'acides aminés protégés.

CONCLUSION:

Dans ce chapitre, nous avons rapporté l'essentiel des activités biologique des sulfonamides et les N-acylsulfonamide. Nous avons également fait le point sur les différentes méthodes d'accès aux sulfonamides et aux N-acylsulfonamide modifiées décrites dans la littérature.

²⁶ Johansson, A. ; Poliakov, A. ; Kerblom, E. A. ; Wiklund, K.; Lindeberg, G.; Winiwarter, S.; Danielson, U. H.; Samuelsson, B.; Hallberg, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 2551.

CHAPITRE III

***Synthèse des N, N'-acylsulfonamides Bis-oxazolidinones
et
des oxazolidinones modifiées***

Dans le cadre du présent travail, la stratégie de synthèse utilisée s'articule autour de l'isocyanate de chlorosulfonyle (ICS) qui a été la base de l'insertion du groupement sulfonyle.

III-1- CHIMIE DE L'ISOCYANATE DE CHLOROSULFONYLE:

L'ICS est un réactif très intéressant, il est utile dans de nombreuses réactions en synthèse organique, ce qui a entraîné le développement d'une chimie originale. Plusieurs mises au point lui ont été consacrées, la dernière de Dhar (2003)¹. L'ICS a montré une réactivité très particulière, puisqu'il permet d'effectuer des réactions de cycloaddition, d'addition et de substitution électrophile aromatique. Il fut découvert pour la première fois par Graf en 1952^{2,3}. C'est un réactif commercial qu'on peut aussi synthétiser dans le laboratoire à partir de trioxyde de soufre et de chlorure de cyanogène (**schéma 25**)^{4,5}.

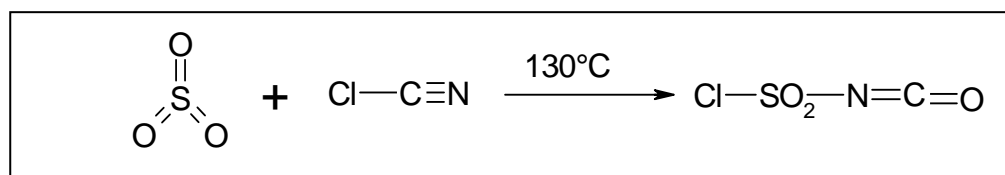


Schéma 25 : Synthèse de l'isocyanate de chlorosulfonyle.

La réactivité particulière de l'ICS est due à la présence de deux sites électrophiles, le carbone du groupement carbonyle et le soufre du chlorure de sulfonyle. Cette grande réactivité de l'ICS impose l'utilisation de solvants anhydres (dichlorométhane, chloroforme, l'éther diéthylique, benzène, l'acétonitrile et le toluène). Avec l'eau en quantité équimolaire, l'ICS donne après décarboxylation du chlorure de sulfamoyle $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{Cl}$.

¹ Dhar, D. N. *Chlorosulfonyl isocyanate. Word scientific.* **2003**.

² Graf, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1968**, 7, 172.

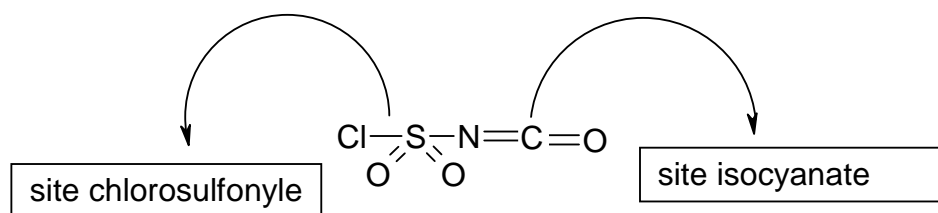
³ Rasmussen, J. K.; Hassner, A. *Chem. Rev.* **1976**, 76, 389.

⁴ Dhar, D. N.; Murthy, K. S. K. *Synth.* **1986**, 437.

⁵ Graf, R. *Chem. Ber.* **1956**, 89, 1071.

L'ICS peut subir des réactions de substitution nucléophile avec les composés contenant des hydrogènes mobiles tels que les phénols, les alcools, les amines, les thiols et les amides^{6,7}.

La bi-fonctionnalité de l'ICS a été mise en évidence par la réactivité de ces deux sites électrophiles. Il réagit d'abord par une réaction d'addition sur son site isocyanate puis par une substitution sur son site chlorosulfonyle.



De nombreuses réactions qui utilisent l'ICS ont été décrites dans la littérature, nous détaillerons quelques réactions caractéristiques.

III-2- REACTIVITE DE L'ISOCYANATE DE CHLOROSULFONYLE:

III-2-1- Préparation de 1-pipéridinsulfonyl-isocyanate :

La réaction de l'isocyanate de chlorosulfonyle avec la pipéridine conduit au 1-pipéridinsulfonyl-isocyanate (**102**) avec un bon rendement (**schéma 26**)⁸.

⁶ (a) Graf, R. *German Patent* 931467, **1952** (Farbwerke Hoechst AG); (b) Graf, R. *Chem. Zbl.* **1955**, 11094.

⁷ (a) Graf, R. *Chem. Ber.* **1963**, 96, 56 (b) Picard, J. A.; O'Brien, P. M.; Sliskovic, D.R.; Anderson, M. K.; Bousley, R. F.; Hamelshle, K. L.; Krause, B. R.; Stanfield, R. L. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1243 (c) Abdaoui, M.; Dewynter, G.; Aouf, N.; Favre, G.; Morere, A.; Montero, J.-L. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, 4, 1227 (d) Abdaoui, M.; Dewynter, G.; Montero, J.-L. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 32, 5695 (e) Regainia, Z.; Abdaoui, M.; Aouf, N.-E.; Dewynter, G.; Montero, J.-L. *Tetrahedron.* **2000**, 56, 381.

⁸ Youssef, K. M.; El-Khamees, H. *Synthesis of sulfonyl Analogs as antitumour agents. Part II. Medicinal Chemistry.* **2003** (brevet).

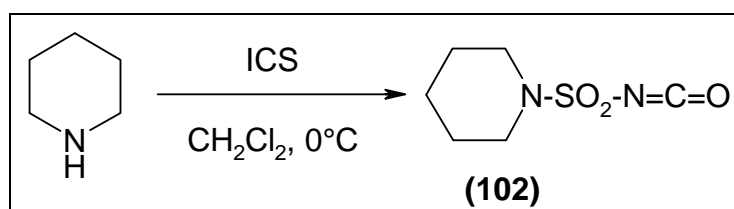


Schéma 26 : Synthèse de 1-pipéridinsulfonyl-isocyanate.

III-2-2- Accès aux benzothiadiazines :

Le traitement de 2-méthyl-4-chloro-aniline avec l'ICS en présence de nitroéthane à basse température conduit au produit ouvert, la cyclisation de ce dernier se fait selon la réaction de Friedel-Crafts pour former le composé **(103)** (schéma 27)⁹.

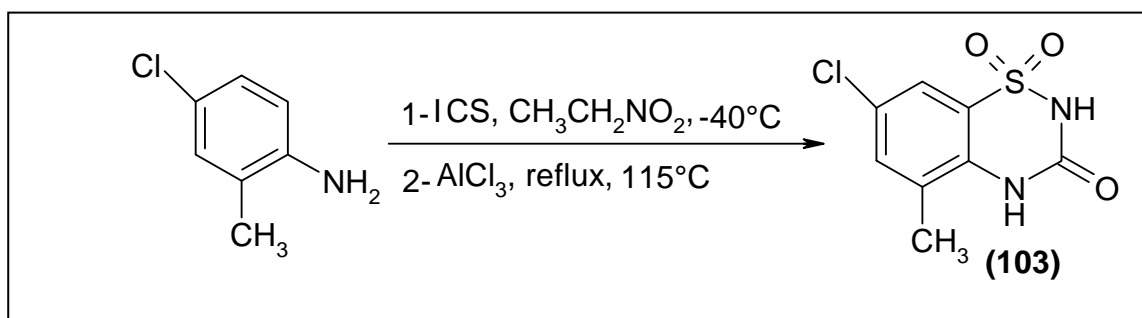


Schéma 27 : Synthèse de benzothiadiazine.

III-2-3- Accès aux 2-alkyl-5-aryl-1, 3, 4-oxadiazolidinones :

Les 2-alkyl-5-aryl-1, 2, 4-oxazolidin-3-ones **(105)** ont été préparées par cyclisation des 2-alkyl-3-aryl-1, 2-oxaziridine **(104)** avec l'isocyanate de chlorosulfonyle dans le CH_2Cl_2 anhydre. L'action de triéthylamine sur ce dernier **(105)** conduit à la formation de 2-alkyl-5-aryl-1, 3, 4-oxadiazolidinones **(106)** (schéma 28)¹⁰.

⁹ Zivkovic, I. D. M.; Thompson, M.; Bertolino, D.; Uzunov, M.; Dibella, E.; Costa, A.; Guidotti. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **2005**, 272, 300.

¹⁰ J, Kraiem. *Tetrahedron Lett*. **2001**, 42, 9131.

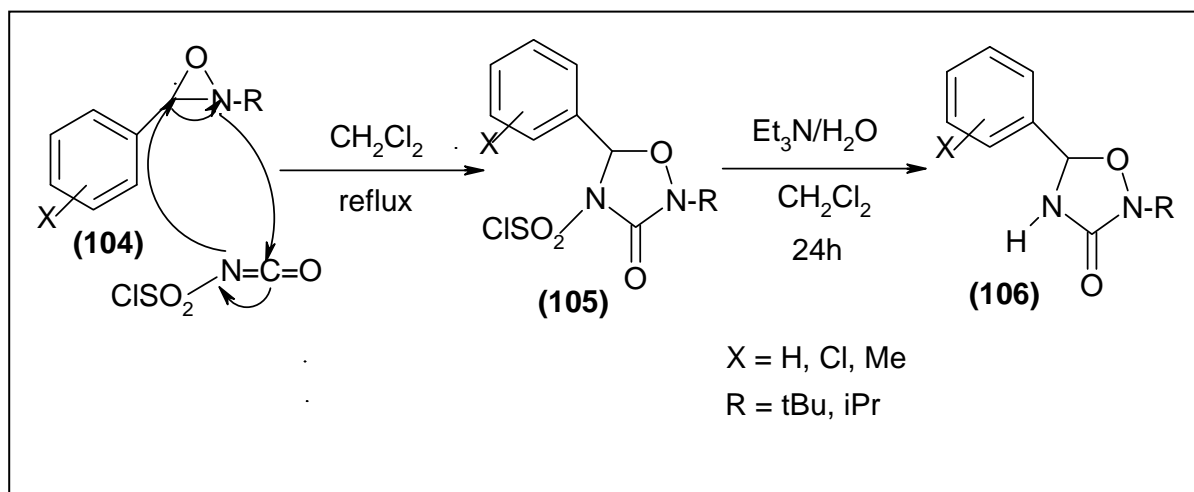
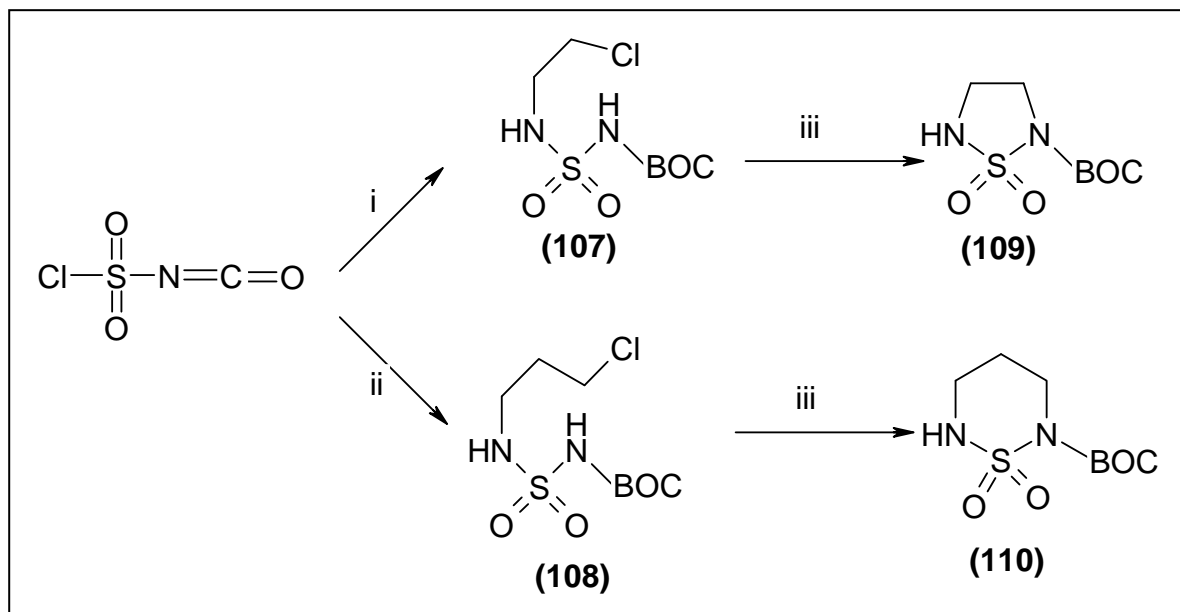


Schéma 28: Synthèse de 2-alkyl-5-aryl-1,3,4-oxadiazolidinone.

III-2-4- Préparation des cyclosulfamides :

Les cyclosulfamides de type (109) et (110) ont été synthétisés par S. J. Kim et *al.* les intermédiaires (107) et (108) ont été directement préparés par la réaction de l'isocyanate de chlorosulfonyl avec le *tert*iobuthanol en présence de 2-chloroéthylamine ou 2-chloropropylamine dans le CH₂Cl₂. Le traitement de ces composés par K₂CO₃ dans le DMSO donne les cyclosulfamides (109) et (110) avec de bons rendements (schéma 29)¹¹.

¹¹ Kim, S. J. ; Park, H. B. ; Lee, J. S. ; Jo, N. H. ; Yoo, K. H. ; Baek, D. ; Kang, B-W. ; Cho, J-H. ; Oh, C-H. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, 42, 1176-1183.



i) tBuOH, 2-chloroéthylamine, CH₂Cl₂. ii) tBuOH, 2-chloropropylamine, CH₂Cl₂. iii) K₂CO₃, DMSO.

Schéma 29 : Synthèse des cyclosulfamides protégés.

III-2-5- Préparation des N-sulfamoyloxazolidinones achirales :

L'addition de l'halogénoalcool sur l'ICS en présence d'une amine secondaire en milieu basique à basse température permet l'obtention des carboxylsulfamides (111), suivie d'une cyclisation interne pour former la partie oxazolidinone (112) (schéma 30)¹².

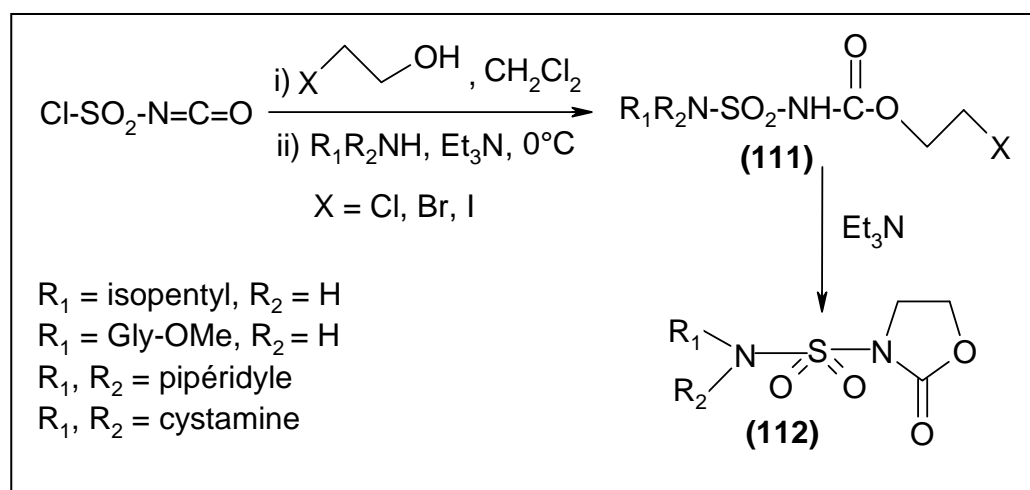


Schéma 30 : Synthèse des N-sulfamoyloxazolidinones achirales.

¹² (a) Abdaoui, M.; Dewynter, G.; Toupet, L.; Montero, J. L. *Tetrahedron*. **2000**, 56, 2427. (b) Abdaoui, M.; Dewynter, G.; Montero, J. L. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 5695.

III-3- METHODES D'OBTENTION DES CARBOXYLSULFAMIDES :

III-3-1- L'accès aux carboxylsulfamides par réaction d'échange :

Dans la littérature plusieurs travaux ont été consacrés à la réaction d'échange, notamment ceux de Yoshiyuki Masui¹³ et Winum, J. Y.¹⁴. L'application des réactions d'échange permet d'accéder facilement aux carboxylsulfamides avec de bons rendements.

-Réaction d'échange (amine tertiaire par une amine primaire et / ou amine secondaire) :

L'ICS réagit d'abord par une réaction d'addition d'alcool sur le site isocyanate et conduit à la formation de carbamate instable (113) l'intermédiaire (I), puis par substitution sur le site chlorosulfonyle par des bases tertiaires pour former (114) un sel stable l'intermédiaire (II). Ensuite, l'addition d'une amine secondaire ou primaire permet l'accès aux carboxylsulfamides (115) (schéma 31).

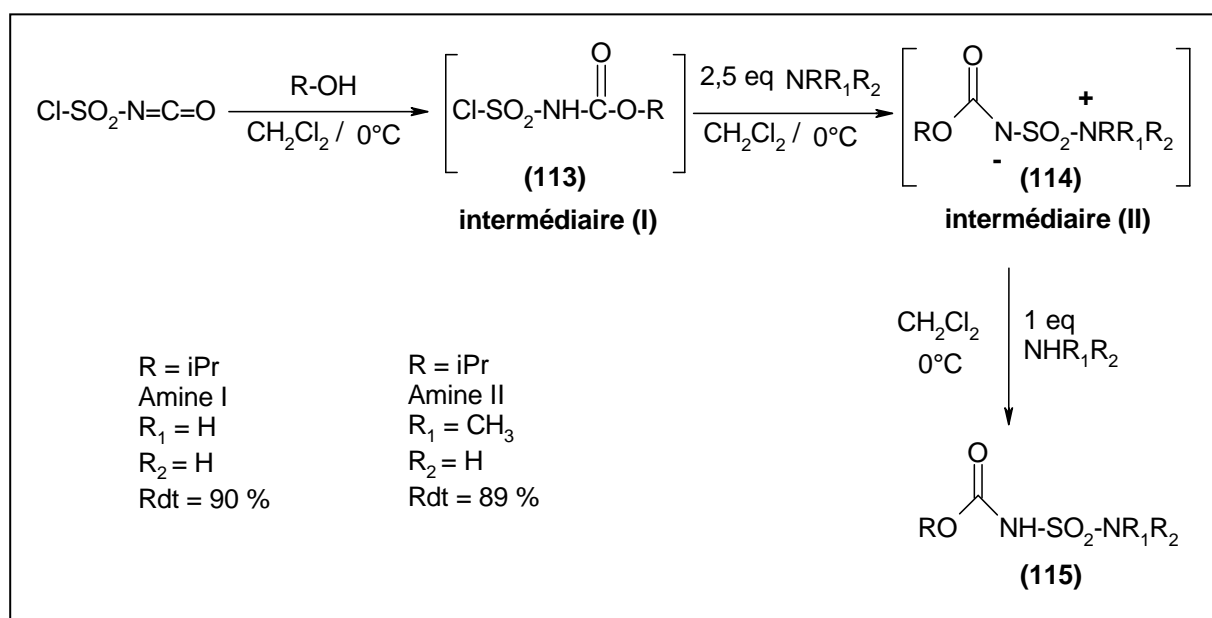


Schéma 31 : Réaction d'échange (amine tertiaire par une amine primaire et / ou amine secondaire).

¹³ Yoshiyuki, M.; Hideaki, W.; Toshiaki, M. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 1853.

¹⁴ Winum, J. Y.; Touplet, L.; Barragan, V.; Dewynter, G.; Montero, J. L. *Organic Letters.* **2003**, 314, 2241.

-Réaction d'échange (pyridine par une amine secondaire) :

Le même protocole expérimental peut conduire à un produit plus stable **(118)** (schéma 32).

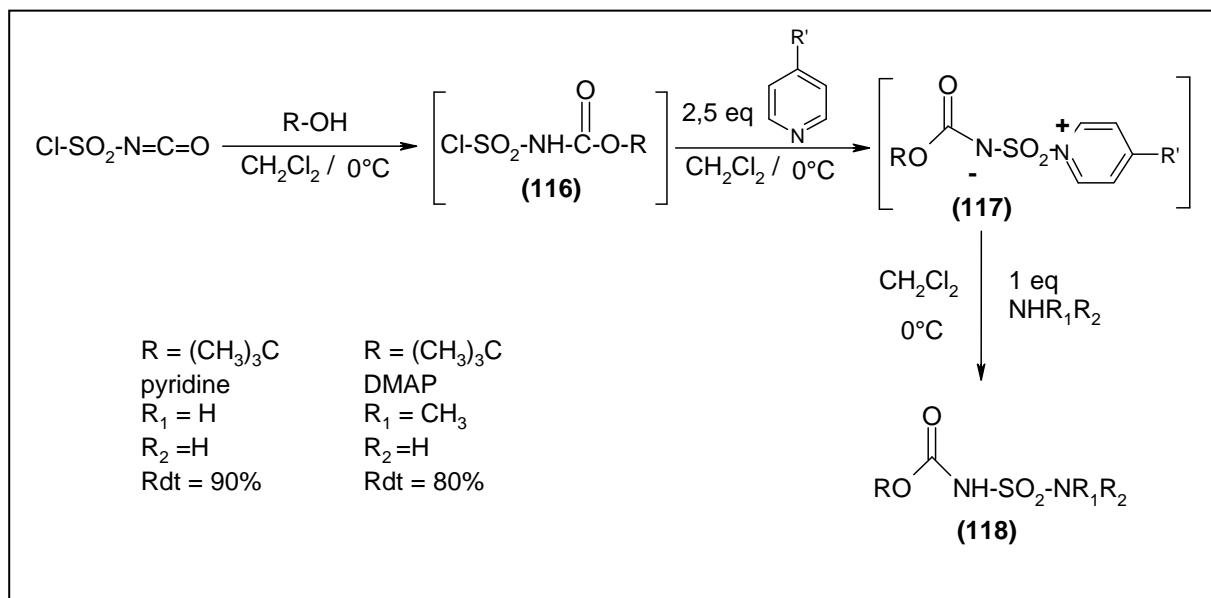


Schéma 32: Réaction d'échange (pyridine par une amine secondaire).

III-3-2- L'accès aux carboxylsulfamides chiraux :

L'addition de l'ICS sur les α -hydroxyester chiraux fournit des carbamate de chlorosulfonyle **(119)** qui réagit ensuite avec des amines primaires pour conduire aux carboxylsulfamides chiraux **(120)** (schéma 33)¹⁵.

¹⁵ Berredjem, M.; Regainia, Z.; Djahoudi, A.; Aouf, N-E.; Montero, J-L.; Dewynter, G. *Phosphorus Sulphur and Silicon*. **2000**, 165, 249.

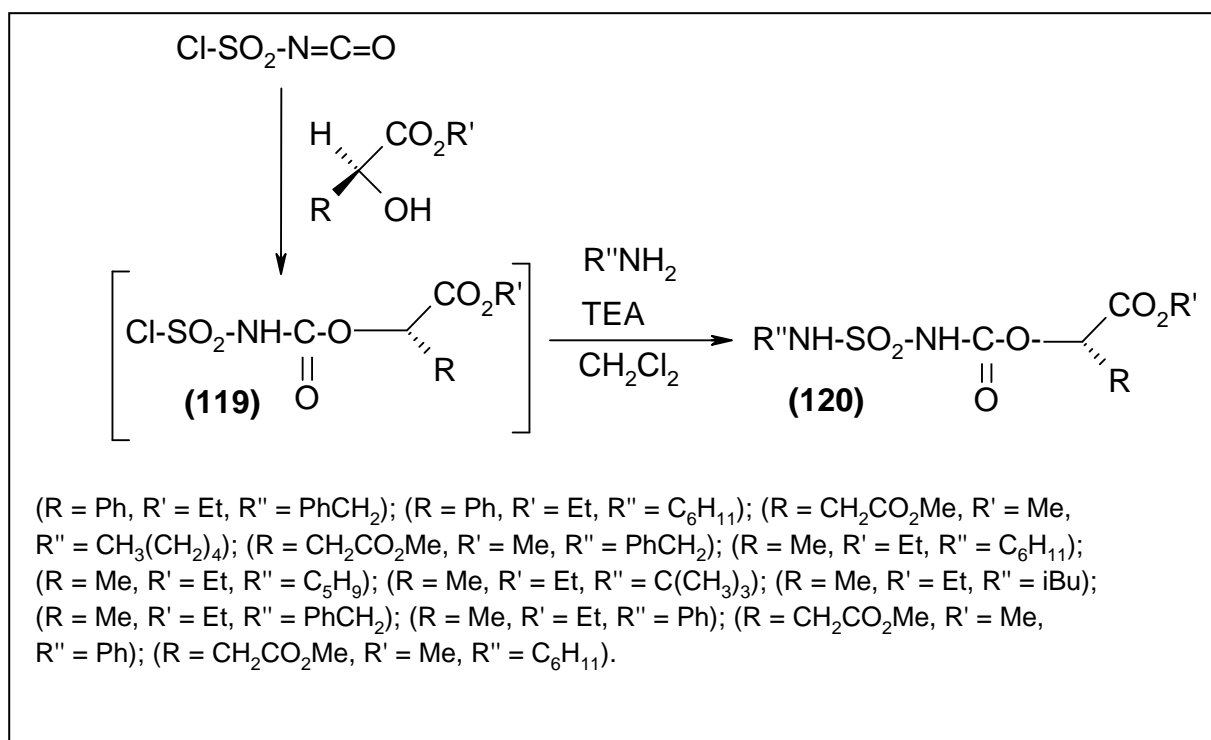


Schéma 33: Synthèse de carboxylsulfamides chiraux.

III-4- PREPARATION D'OXAZOLIDINONES CONTENANT LE MOTIF SULFONYLE :

La chimie hétérocyclique est un domaine très important en synthèse organique. Plusieurs types d'hétérocycles ont reçu une attention considérable en raison de leurs activités biologiques diverses.

Dans un travail antérieur, nous avons développé la synthèse et la réactivité des N-chlorosulfonyloxazolidin-2-ones¹⁶. Dans la continuité de ces recherches et dans le but de préparer des composés modèles (médicaments, biomolécules), il nous a semblé intéressant de synthétiser des composés hétérocycliques type oxazolidinones inédits à visée antibactérienne à partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle et d'amines primaires et secondaires.

La synthèse des 5-chlorométhyl oxazolidinones est menée en deux étapes en mettant à profit l'aménagement fonctionnel de l'isocyanate de chlorosulfonyl.

¹⁶ Berredjem, M. ; Winum, J. Y. ; Toupet, L. ; Masmoudi, O.; Aouf, N. E.; Montero, J. L. *Synthetic Communication*. **2004**, 34, 1.

III-4-1- Synthèse des carboxylsulfamides :

III-4-1-A- Carbamoylation- Sulfamoylation :

a) Carbamoylation :

Cette étape consiste en addition de l'alcool prochiral le 1, 3-dichloropropanol-2 sur l'isocyanate de chlorosulfonyle dans le dichlorométhane anhydre à basse température, pour former le carbamate de chlorosulfonyle.

b) Sulfamoylation :

La sulfamoylation se traduit par l'addition d'une amine primaire ou secondaire sur le carbamate de chlorosulfonyle en présence de triéthylamine à 0°C, pour former le carboxylsulfamide correspondant (**schéma 34**).

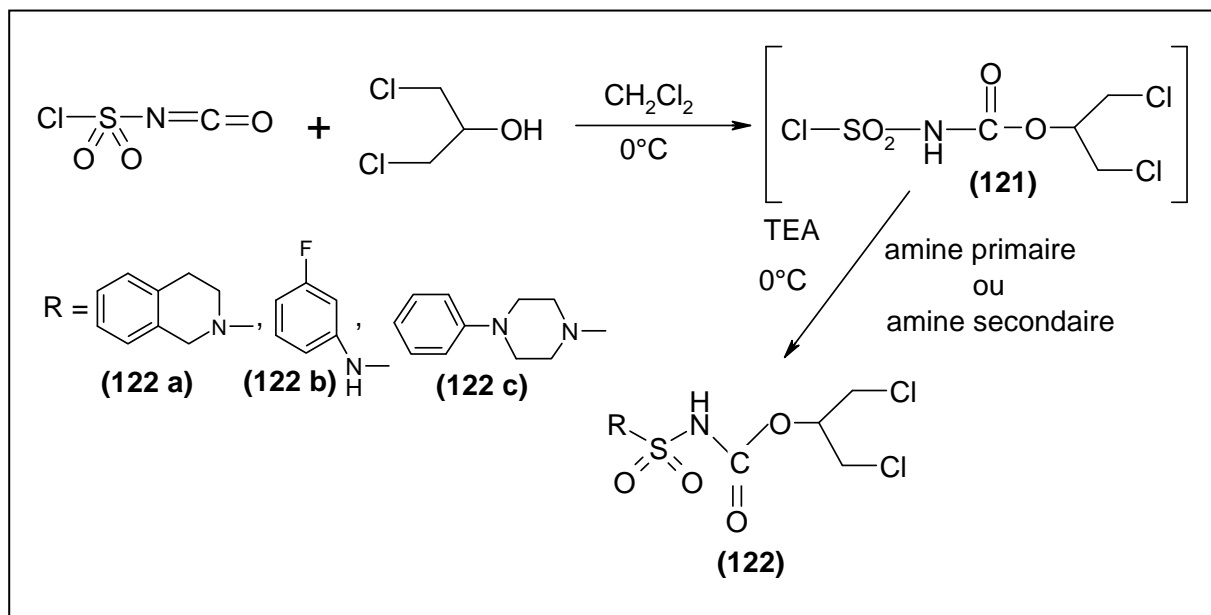


Schéma 34: Synthèse de carboxylsulfamides.

Les carboxylsulfamides ont été purifiés par chromatographie sur colonne de gel de silice éluée au dichlorométhane. Ces derniers sont obtenus sous forme d'une huile ou d'une poudre blanche avec un rendement global de 85%.

Tableau 1 : Caractéristiques physico-chimiques des composés 122a, 122b et 122c :

Réf	Formule Brut	Masse	Rf	F°C	Rdt %
(122a)	C ₁₃ H ₁₆ O ₄ N ₂ SCl ₂	366	0.63 (CH ₂ Cl ₂ /MeOH, 9 :1)	huile	82.77
(122b)	C ₁₀ H ₁₁ O ₄ N ₂ SFCl ₂	344	0.71 (CH ₂ Cl ₂ /MeOH, 9 :1)	139-140	83.20
(122c)	C ₁₄ H ₁₉ O ₄ N ₃ SCl ₂	395	0.68 (CH ₂ Cl ₂ /MeOH, 9 :1)	136-137	85.50

III-4-1-B - Caractérisation :

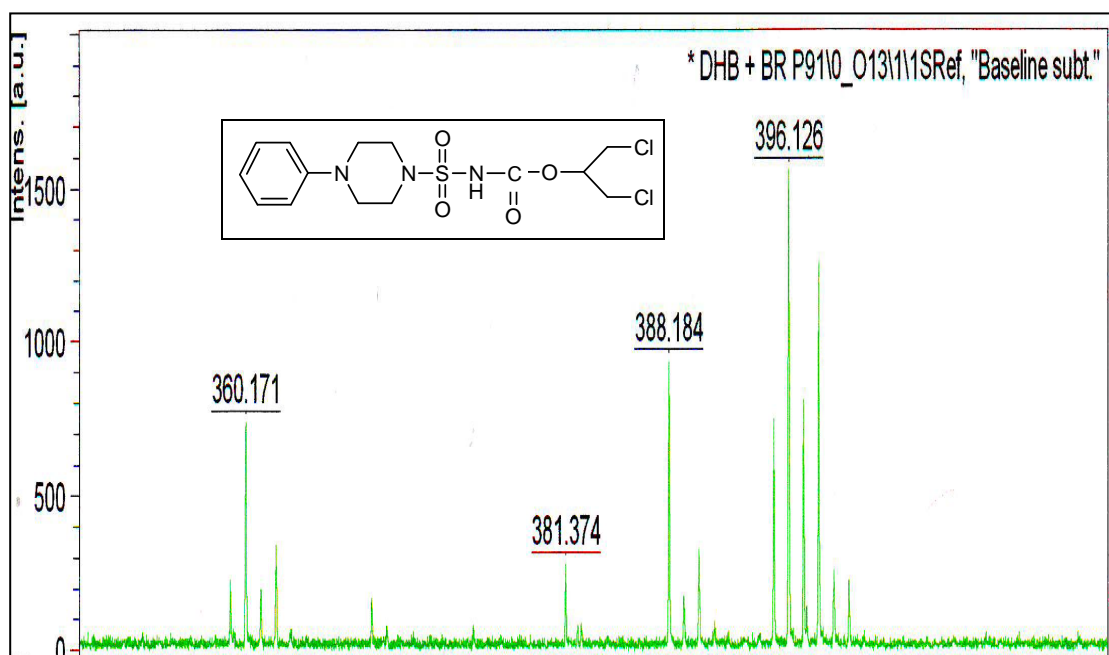
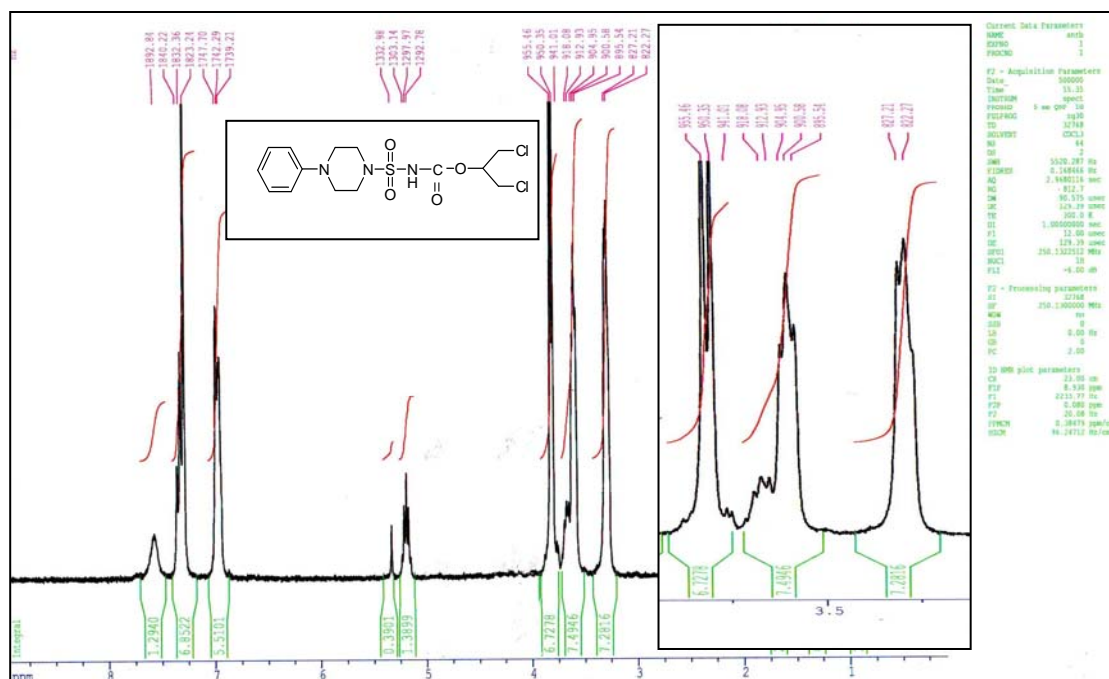
L'étude structurale des produits synthétisés a été établie sur la base des données spectroscopiques usuelles; infrarouge, résonance magnétique nucléaire ¹H et ¹³C et spectrométrie de masse.

En RMN ¹H les carboxylsulfamides sont caractérisées par l'apparition d'un singulet vers 8.0 ppm qui correspond au proton de l'azote carbamique. Les quatre protons de 2 CH₂-Cl résonnent sous forme d'un doublet entre 3.6 - 3.9 ppm avec une constante de couplage *J* = 5.2 Hz.

En infrarouge, ces structures sont confirmées par les bandes d'absorption suivantes: une bande vers 1751 cm⁻¹ qui caractérise le groupement C=O, une autre entre 3028 -3262 cm⁻¹ du groupement NH et deux bandes intenses vers 1372 et 1118 cm⁻¹ qui correspondent au groupement SO₂.

En spectrométrie de masse, un pic moléculaire à [M+1]⁺ et [M+23]⁺.

Spectre de RMN¹H et de masse du composé (122c) :



III-4-2- Synthèse d'oxazolidinones-sulfonamides :

III-4-2-A- Cyclisation intramoléculaire :

La cyclisation des carboxylsulfamides est réalisée facilement en présence d'une base K_2CO_3 dans le minimum d'acétonitrile ou d'acétone à température ambiante. Dans cette série, les groupements carbonyle et sulfonyle augmentent la nucléophilie de l'azote, ce qui permet une cyclisation intramoléculaire en milieu basique. Cette cyclisation conduit à la formation de 5-chlorométhylloxazolidinone sous forme d'un mélange racémique avec un bon rendement (**schéma 35**).

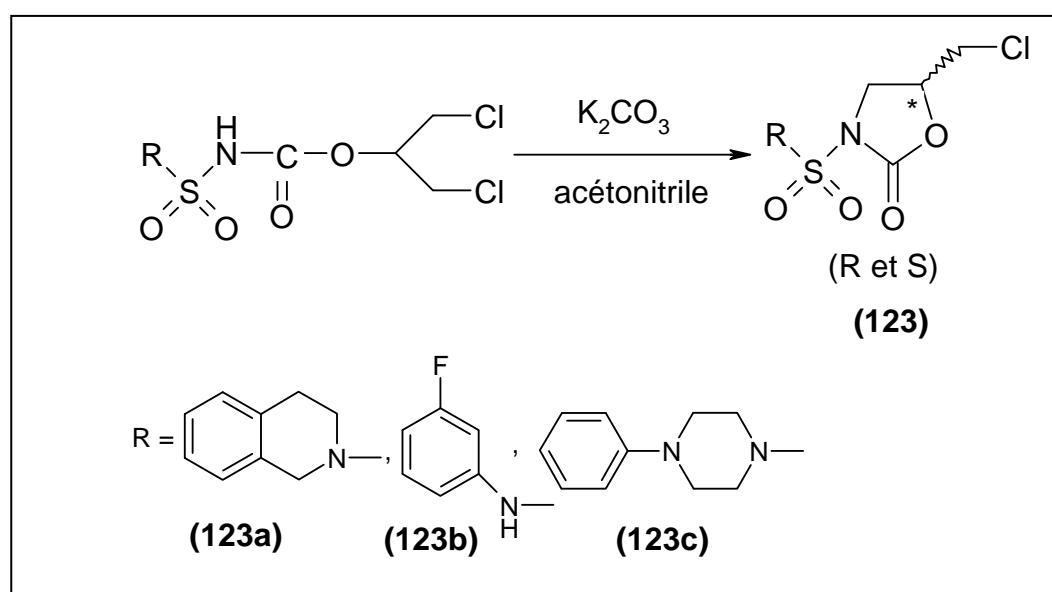


Schéma 35: Synthèse de sulfonamide-oxazolidinones.

La réaction de cyclisation des carboxylsulfamides avec le K_2CO_3 dans l'acétone ou l'acétonitrile à température ambiante a été contrôlée par ccm qui montre la formation d'un nouveau produit moins polaire que le produit de départ. Les sulfonamide-oxazolidinones sont obtenus sous forme d'une poudre blanche cristallisable dans le mélange dichlorométhane / éther, avec un rendement global de 95%.

Les rendements élevés observés lors de la réaction de cyclisation, s'expliquent par l'acidité prononcée de l'hydrogène porté par l'azote adjacent au groupement sulfonyle et carbonyle, fortement électroattracteurs.

Tableau 2 : Caractéristiques physico-chimiques des composés 123a, 123b et 123c :

Réf	Formule Brut	Masse	Rf	F°C	Rdt %
(123a)	C ₁₃ H ₁₅ O ₄ N ₂ SCl	330	0.67 (CH ₂ Cl ₂ /MeOH, 9 :1)	92-93	95
(123b)	C ₁₀ H ₁₀ O ₄ N ₂ SFCl	308	0.75 (CH ₂ Cl ₂ /MeOH, 9 :1)	191-192	96
(123c)	C ₁₄ H ₁₈ O ₄ N ₃ SCl	359	0.72 (CH ₂ Cl ₂ /MeOH, 9 :1)	126-127	91

III-4-2-B - Caractérisation :

Les sulfonamide-oxazolidinones sont caractérisées en RMN du proton par la disparition de signal de proton de l'azote carbamique et l'apparition d'un système ABX qui résonne sous forme d'un 2dd entre 4,1 - 4,2 ppm et qui indique la présence du CH₂-*CH. Le proton du carbone asymétrique résonne sous forme d'un multiplet vers 4.8 ppm.

Les bandes caractéristiques en IR apparaissent vers 1750 cm⁻¹, 1389 et 1160 cm⁻¹ correspondant respectivement aux groupements C=O et SO₂, on remarque aussi la disparition de la bande de NH.

En spectrométrie de masse, ces produits sont caractérisés par la présence d'un pic moléculaire [M+1]⁺ avec une abondance relative de 100%.

III-4-2-C -Mécanisme réactionnel proposé :

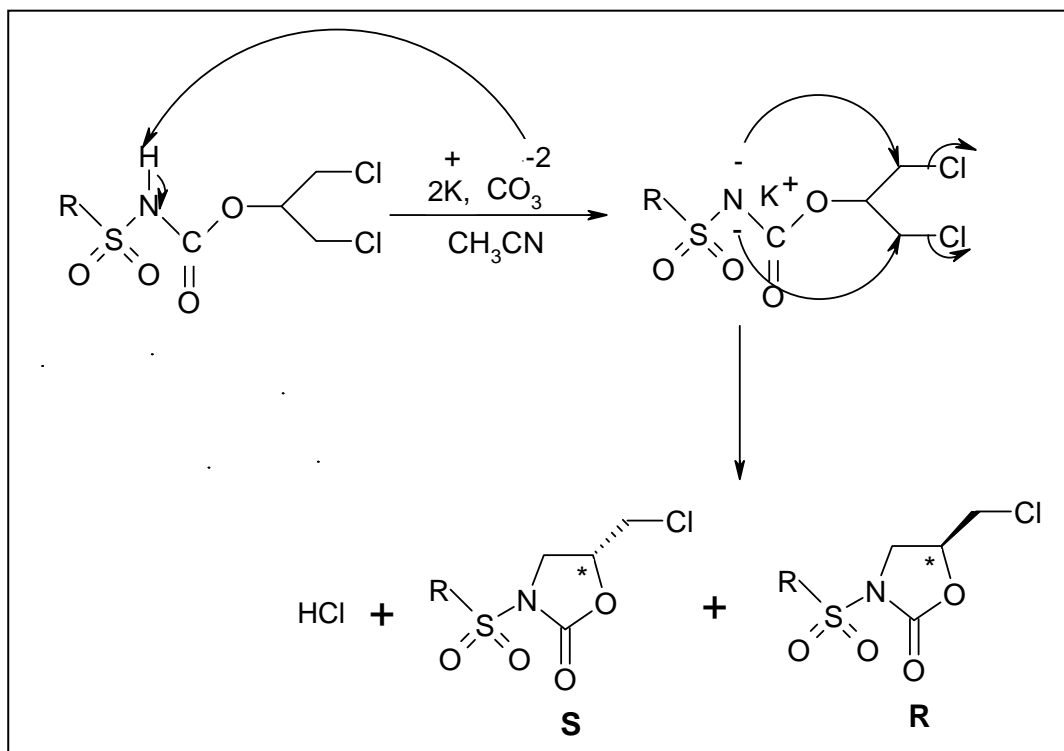
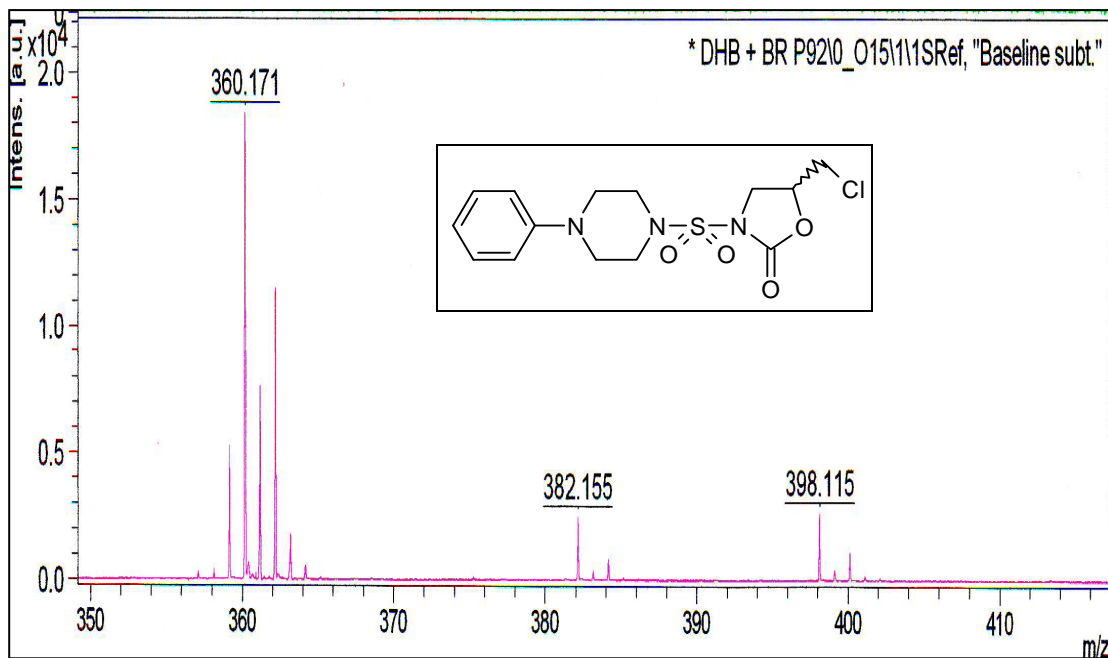
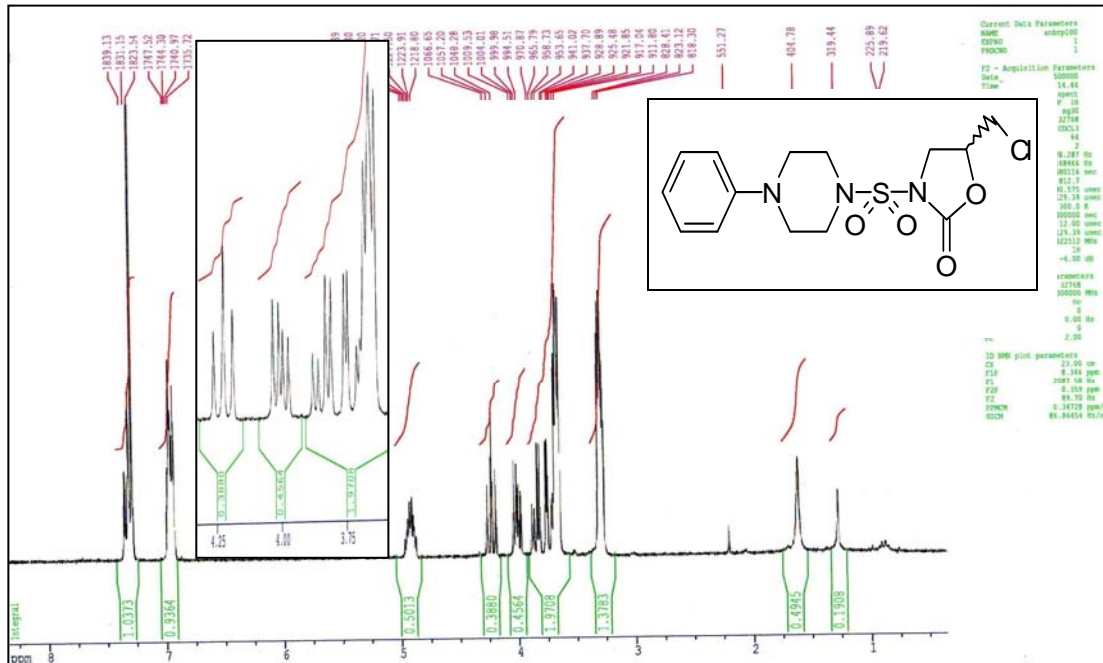


Schéma 36: Mécanisme réactionnel proposé.

Spectre de RMN¹H et de masse du composé (123c) :



III-4-2-D- Etude cristallographique de 123a et 123b :

Une étude cristallographique par diffraction des rayons-X a été menée sur les composés de 5-chlorométhyloxazolidinones **123a**, **123b** et les sulfonamides **132a**, **132b** en collaboration avec le Laboratoire de Chimie, Structures, Propriétés de Biomatériaux et d'Agents thérapeutiques de Paris-Nord, France.

Les données expérimentales ont été obtenues à température ambiante à l'aide d'un diffractomètre automatique Nonius Kappa CCD et du faisceau monochromatique correspondant à la raie $K\alpha$ du Molybdène $K\alpha$ ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$).

Pour l'analyse radiocristallographie des composés **123a**, **123b** les monocristaux ont été obtenus par recristallisation dans le mélange de solvant dichlorométhane/éther.

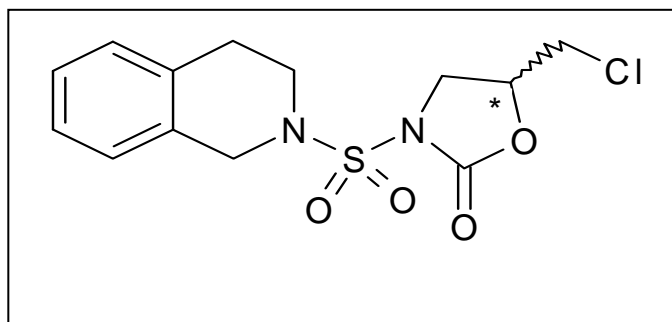
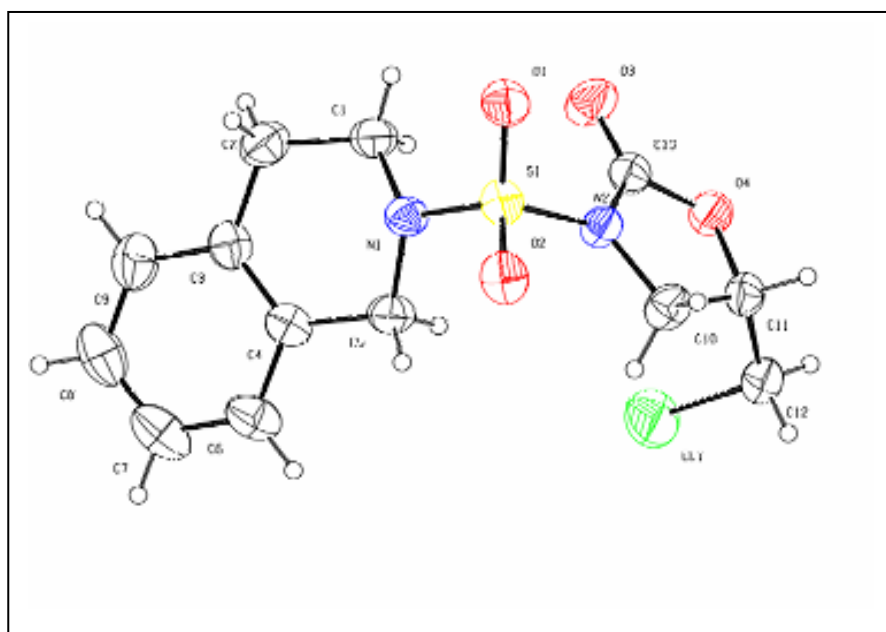
La détermination des différentes structures a été conduite par les méthodes directes à l'aide du programme SHELXS-97¹⁷ suivi d'un affinement par la méthode des moindres carrés basé sur les intensités de diffraction (F^2), effectué en utilisant le logiciel SHELXL-97¹⁸.

Le cristal sélectionné de la molécule **123a**, de formule $C_{13}H_{15}ClN_2O_4S$, de masse 330.5 g.mol^{-1} est transparent. Il appartient au groupe d'espace $P2_1/c$ dont les paramètres de maille obtenus sont les suivants : $a = 14.5010 (12) \text{ \AA}$, $b = 9.3963 (12) \text{ \AA}$, $c = 10.6178 (12) \text{ \AA}$, $\beta = 93.340 (7) \text{ \AA}$, $V = 1444.3 (3) \text{ \AA}^3$.

Un total de 14 474 réflexions ont été intégré dans un domaine $0.41^\circ < \theta < 24.11^\circ$ dont 2240 réflexions sont unique avec une R-merge de 0.052 et une redondance globale de 5.9. Le facteur cristallographique final est $R1 = 0.0448$ pour les 1728 réflexions de $F > 4\sigma(F)$, $R1 = 0.0640$ et $wR2 = 0.1163$ pour toutes les 2275 réflexions.

¹⁷ Otwinowski, Z. et Minor, w. *processing of X-ray Diffraction Data Collected in Oscillation Mode*, Methods in Enzymology, Volume **276** : Macromolecular Crystallography, part A, p 307-326, C.W. Carter, Jr et R.M. Sweet, Eds. Academic Press.

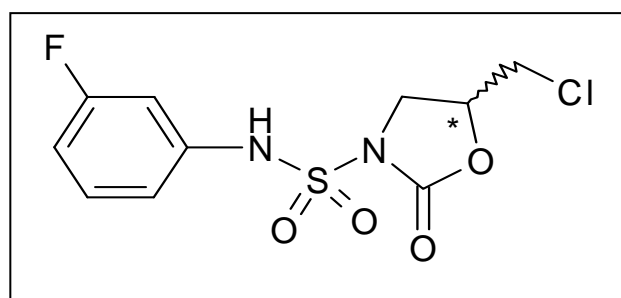
¹⁸ Sheldrick, G.M: SHELXL-97. A program for Refining Crystal Structures. University of Gottingen, Germany 1997.

**123a****ORTEP** de la molécule **123a**

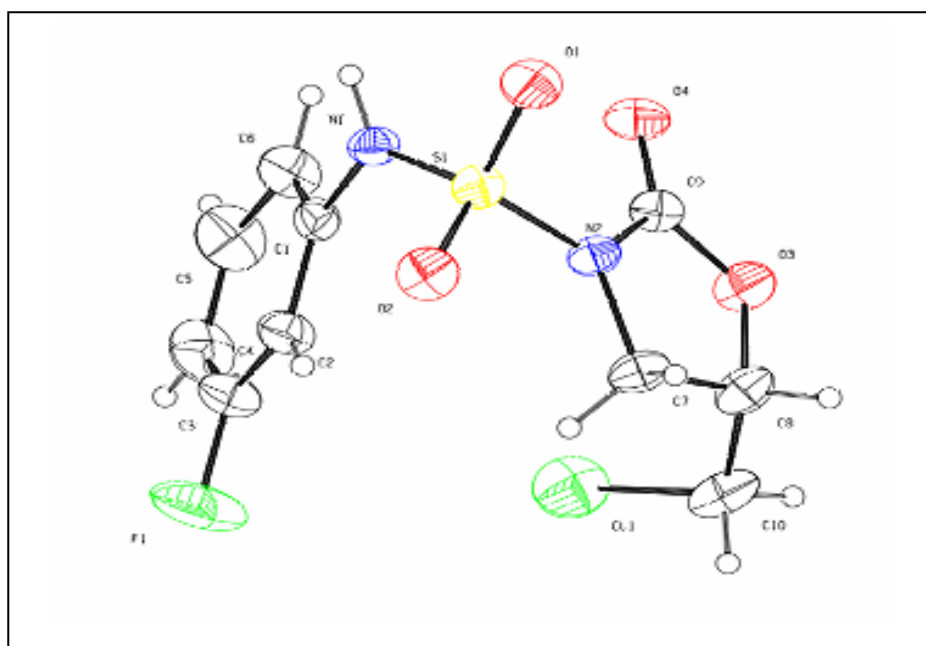
Le cristal sélectionné de la molécule **123b** est transparent. Il a pour formule $C_{10}H_{10}FCIN_2O_4S$, $M = 308$, il cristallise dans le système $P2_1/c$ et les paramètres de la maille obtenus sont les suivants : $a = 9.1300 (3) \text{ \AA}$, $b = 8.9369 (2) \text{ \AA}$, $c = 16.3629 (5) \text{ \AA}$, $\beta = 93.340 (7) \text{ \AA}$, $V = 1323.96 (7) \text{ \AA}^3$.

Un total de 19 795 réflexions ont été intégrées dans un domaine $1.00^\circ < \theta < 27.51^\circ$ dont 3240 réflexions sont uniques avec une R-merge de 0.043 et une redondance globale de 5.9.

Le facteur cristallographique final est $R1 = 0.0435$ pour les 2310 réflexions de $F > 4\sigma(F)$, $R1 = 0.0619$ et $wR2 = 0.1210$ pour toutes les 2310 réflexions.



123b



ORTEP de la molécule **123b**

III-5- SYNTHÈSE DES N, N'-ACYLSULFONAMIDES BIS OXAZOLIDINONES :

Ces dernières années beaucoup de travaux ont été consacrés à la recherche de nouveaux composés d'intérêt biologique contenant le motif acylsulfonamide. L'introduction de ce dernier sur des oxazolidinones modifiés peut générer d'intéressantes propriétés chimiques et pharmacologiques¹⁹.

Dans le présent travail, nous avons décrit la synthèse de N, N'-acylsulfonamide bis-oxazolidin-2-ones à partir des précurseurs simples et disponibles. L'utilisation des acides aminés a permis l'introduction d'une substitution sur le carbone cinq du cycle d'oxazolidin-2-one qui donne une configuration bien définie.

III-5-1- Synthèse des oxazolidin-2-ones chirales :

Les oxazolidin-2-ones chirales, sont utilisées comme inducteurs de chiralité en synthèse asymétrique, cette chimie particulière et intéressante a été introduite par Evans et coll²⁰. Plusieurs méthodes de synthèse de oxazolidin-2-ones ont été développées à partir des aminoacides, en utilisant le phosgène ou le diéthylcarbonate, ces méthodes nécessitent des conditions drastiques (haute température, bases ou des acides forts) et des réactifs toxiques (phosgène)²¹.

Dans notre étude, les oxazolidin-2-ones chirales sont obtenues à partir de la réduction des aminoacides naturels ces derniers sont capables d'améliorer les phénomènes de diffusion et d'assimilation au niveau de la cellule.

III-5-1-a) Réduction des aminoacides :

Plusieurs méthodes²² de préparation des aminoalcools ont été décrites dans la littérature, en ce qui nous concerne notre choix s'est porté sur l'utilisation du NaBH₄ comme agent réducteur. Ce dernier nous a permis de réduire facilement les aminoacides en aminoalcools avec de bons rendements (**schéma 37**).

¹⁹ Tu, H. ; Powers, J. P. ; Liu, J. ; Ursu, S. ; Sudom, A. ; Yan, X. ; Xu, H. ; Meininger, D. ; DeGraffenreid, M. ; He, X. ; Jaen, J. C. ; Sun, D. ; Labelle, M. ; Yamamoto, H. ; Shan, B. ; Walker, N. P. C. ; Wang, Z. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16, 8922.

²⁰ Evans, D. A. In *Asymmetric Synthesis*. J. D. Ed Morrison. Academic : Orlando. **1984**, 3, 87.

²¹ Sibi, M. P. ; Deshpande, P. K. ; Ji, J. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 49, 8965.

²² (a) Meyer, A. I. ; Dickman, D. A. ; Baley, T. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 7974.

(b) Lave, C. F. ; Myat, H. L. ; Danelo, J. ; Hopps, H. B. *J. Org. Chem.* **1974**, 40, 3527.

(c) Nicolas, E. ; Russell, K. C. ; Huly, V. J. *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 766.

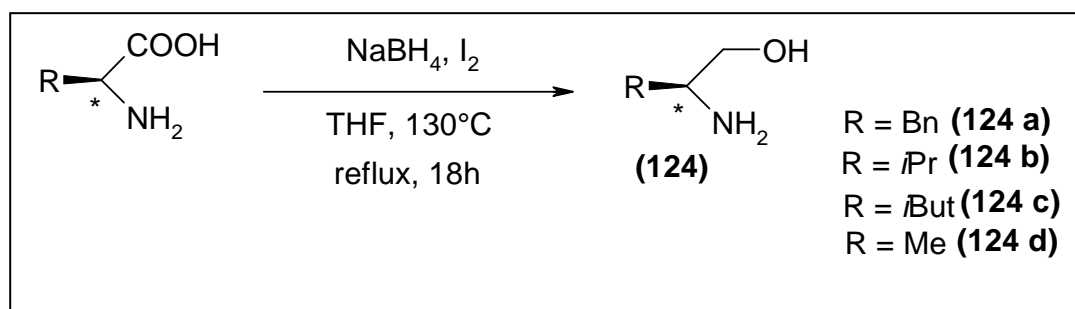


Schéma 37: Synthèse d'un aminoalcool.

Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques des β -aminoalcools:

Réf	R	Formule Brut	Masse	Rf*	F°C	Rdt %
(124a)	Benzyl	C ₉ H ₁₃ NO	151	0.60	90-92	73
(124b)	Isopropyl	C ₅ H ₁₃ NO	103	0.40	30-34	70
(124c)	Isobutyl	C ₆ H ₁₅ NO	117	0.50	88-89	75
(124d)	Méthyl	C ₃ H ₉ NO	75	0.42	82-84	80

*[AcOEt / MeOH, (9 :1)]

III-5-1-b) Préparation des oxazolidin-2-ones chirales :

Dans notre étude, les oxazolidin-2-ones chirales sont obtenues à partir d'une cycloaddition d'un β -aminoalcool avec le diéthylcarbonate en présence du carbonate de potassium (K₂CO₃) (schéma 38) :

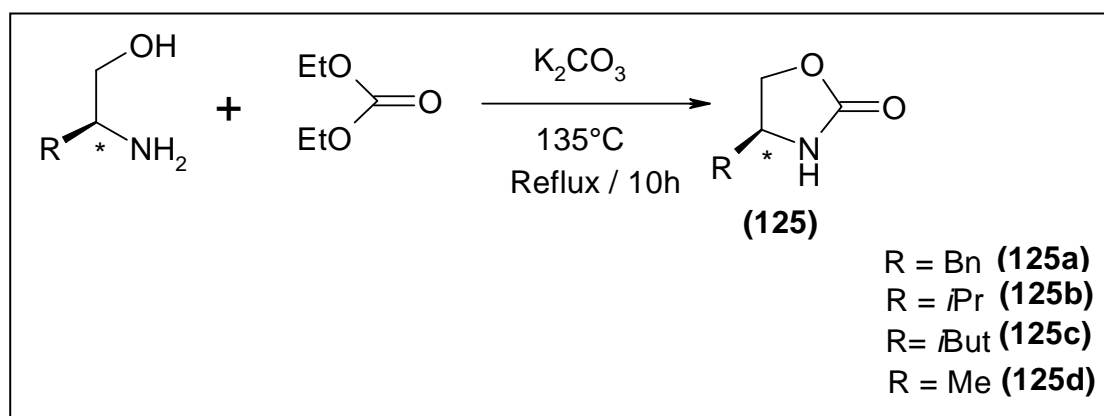


Schéma 38: Synthèse d'oxazolidin-2-one chirale.

Les oxazolidin-2-ones, chirales sont obtenues sous forme d'une poudre blanche avec un rendement global de 95 %.

Tableau 4 : Caractéristiques physico-chimiques des oxazolidin-2-ones chirales :

Réf	R	Formule Brut	Masse	Rf*	[α] _D	F°C	Rdt %
(125a)	Benzyl	C ₁₀ H ₁₁ NO ₂	177	0.78	-63	88-90	95
(125b)	Isopropyl	C ₆ H ₁₁ NO ₂	129	0.65	+14.6	72-74	98
(125c)	Isobutyl	C ₇ H ₁₃ NO ₂	143	0.70	+22	73-80	81
(125d)	Méthyl	C ₄ H ₇ NO ₂	101	0.62	-46	96-98	80

* [CH₂Cl₂ : MeOH, (9 :1)]

L'accès aux N, N'-acylsulfonamide bis-oxazolidin-2-ones est réalisé en trois étapes selon le mode opératoire décrit par Graf²³.

III-5-2- Préparation des carboxylsulfamides:

L'hydroxyester (L)-lactate d'éthyle est additionné à 0°C à une solution d'isocyanate de chlorosulfonyle dans le dichlorométhane anhydre en quantité équimoléculaire. Dans ces conditions, le site isocyanate réagit préférentiellement et on obtient le N-chlorosulfonylcarbamate (CSC) (**126**), ce dernier est alors opposé in situ à l'oxazolidinone, en présence de 1,1 équivalents de triéthylamine. Cette amine tertiaire permet la formation d'un mélange de deux produits : un carboxylsulfamide (**127**) avec un rendement de 14 - 17 % et le Bis oxazolidinones-sulfonamides (**128**) avec un rendement de 38 – 46 %. Ces produits sont facilement séparables par chromatographie sur colonne de gel de silice éluée au dichlorométhane (schéma 39).

²³ Graf, R. *Org. Synth.* **1966**, 46, 23.

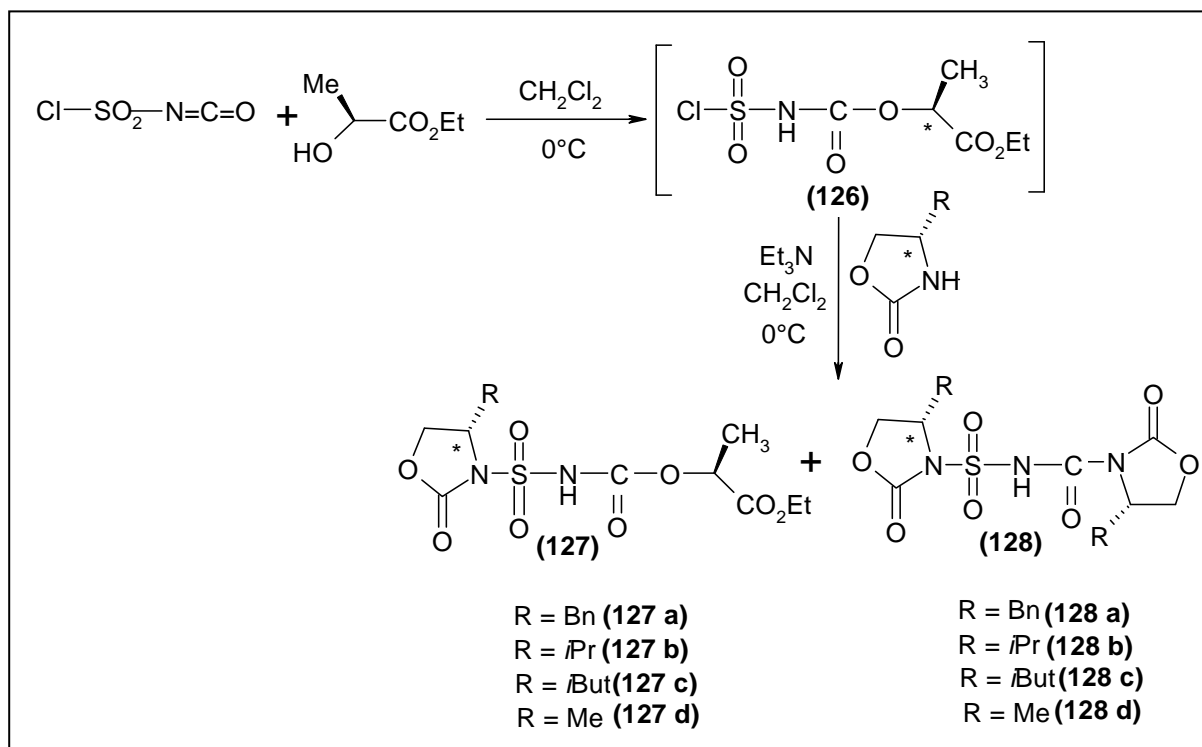


Schéma 39: Synthèse de carboxylsulfamides et Bis oxazolidinones-sulfonamides.

Après la séparation du mélange de la réaction nous avons tenté de cycliser le carboxylsulfamide obtenu (127) avec la triéthylamine, mais les essais de cyclisation n'ont pas abouti au composé (129) (schéma 40).

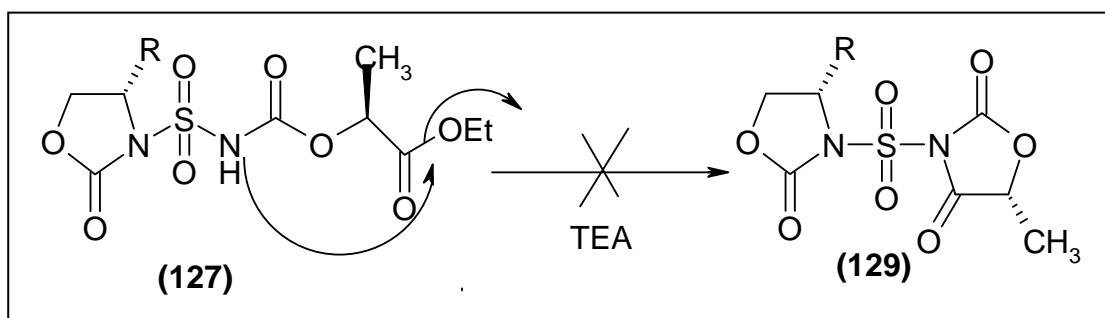


Schéma 40: L'essai de cyclisation de carboxylsulfamide dérivé de l'actate d'éthyle.

Les carboxylsulfamides dérivés d'hydroxyesters sont des solides blancs qui cristallisent dans l'éther ou l'hexane. Ils sont révélés à la ninhydrine, visible à l'UV et leur point de fusion est compris entre 90 et 129°C. Ils sont bien solubles dans les solvants polaires tels que l'acétate d'éthyle et le méthanol.

Le caractère acide particulier du proton porté par l'azote carbamique $-\text{SO}_2-\text{NH}-\text{COO}-$ est dû aux effets électroattracteurs cumulés des groupements SO_2 et CO_2 , mais aussi en l'absence de forme cétone-énolique qui délocaliserait ce proton.

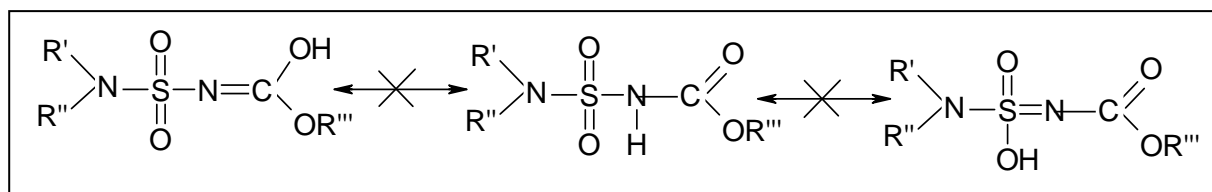


Schéma 41: Forme cétone-énolique du proton porté par l'azote carbamique.

III-5-2-a- Mécanisme réactionnel proposé pour la synthèse des carboxylsulfamides

(127) :

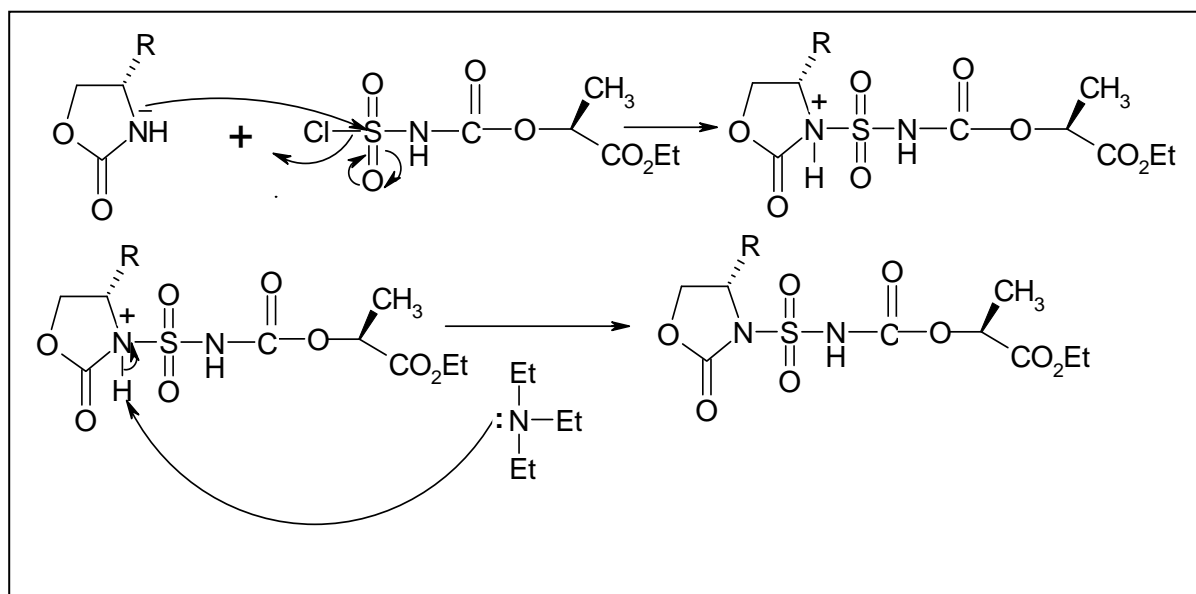


Schéma 42: Mécanisme réactionnel proposé.

Tableau 5 : Caractéristiques physico-chimiques des carboxylsulfamides (127a), (127b), (127c), (127d):

<i>Réf</i>	<i>R</i>	<i>Formule Brut</i>	<i>Masse</i>	<i>Rf*</i>	$[\alpha]_D$	<i>F°C</i>	<i>Rdt %</i>
(127a)	Benzyl	C ₁₆ H ₂₀ O ₈ N ₂ S	400	0.70	+4.2	117-118	16
(127b)	Isopropyl	C ₁₂ H ₂₀ O ₈ N ₂ S	352	0.85	+3.5	118-120	17
(127c)	Isobutyl	C ₁₃ H ₂₂ O ₈ N ₂ S	366	0.87	+8.5	90-92	14
(127d)	Méthyl	C ₁₀ H ₁₆ O ₈ N ₂ S	324	0.72	-11.5	127-129	15

*[CH₂Cl₂ : MeOH, (9 :1)]

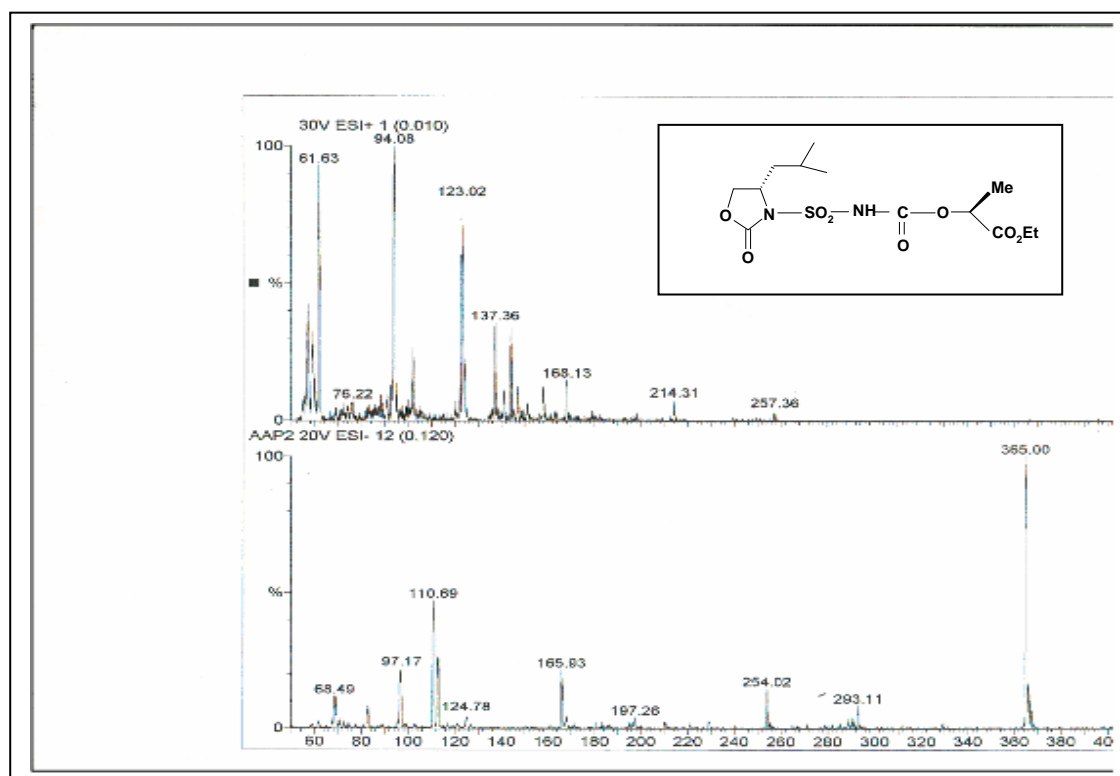
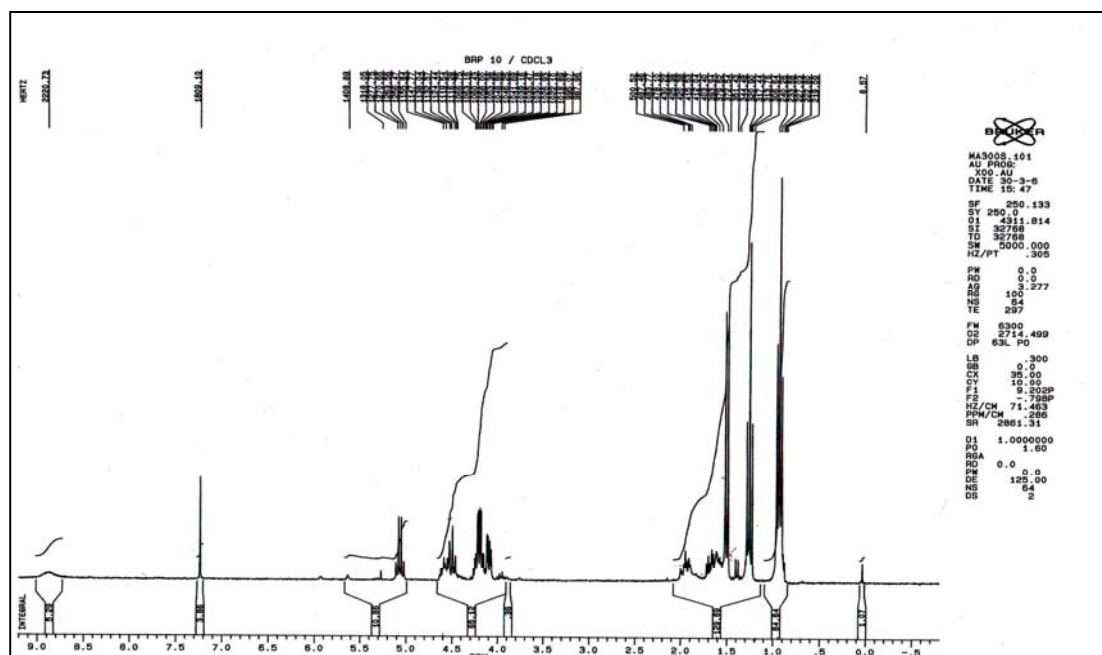
III-5-2-b- Caractérisation :

Les carboxylsulfamides sont caractérisées en RMN ¹H par le signal du proton porté par l'azote carbamique qui apparaît sous forme d'un singulet à champ faible (7 - 8 ppm), le proton porté par le carbone asymétrique apparaît sous la forme d'un multiplet vers 4,1 - 5,1 ppm.

En IR, le motif commun est identifié par la bande de l'ester carbamique vers 1730 cm⁻¹ les groupements NH sont responsables d'une absorption vers 3250 cm⁻¹, les bandes d'absorption de vibration d'élongation symétrique et asymétrique du SO₂ absorbent respectivement vers 1140 - 1190 cm⁻¹ et 1300 - 1350 cm⁻¹.

En spectrométrie de masse les carboxylsulfamides présentent un pic moléculaire [M+1]⁺ et [M+23]⁺.

Spectre de RMN¹H et de masse du composé (127c) :



III-5-3- préparation des N, N'-acylsulfonamides bis-oxazolidinones :

L'accès aux N, N'-acylsulfonamides bis-oxazolidinones a été basé sur l'aménagement bifonctionnel de l'isocyanate de chlorosulfonyle (ICS). La condensation d'oxazolidinone sur le carboxylsulfamides en présence de TEA conduit aux Bis oxazolidinones-sulfonamides avec des rendements satisfaisants (schéma 43).

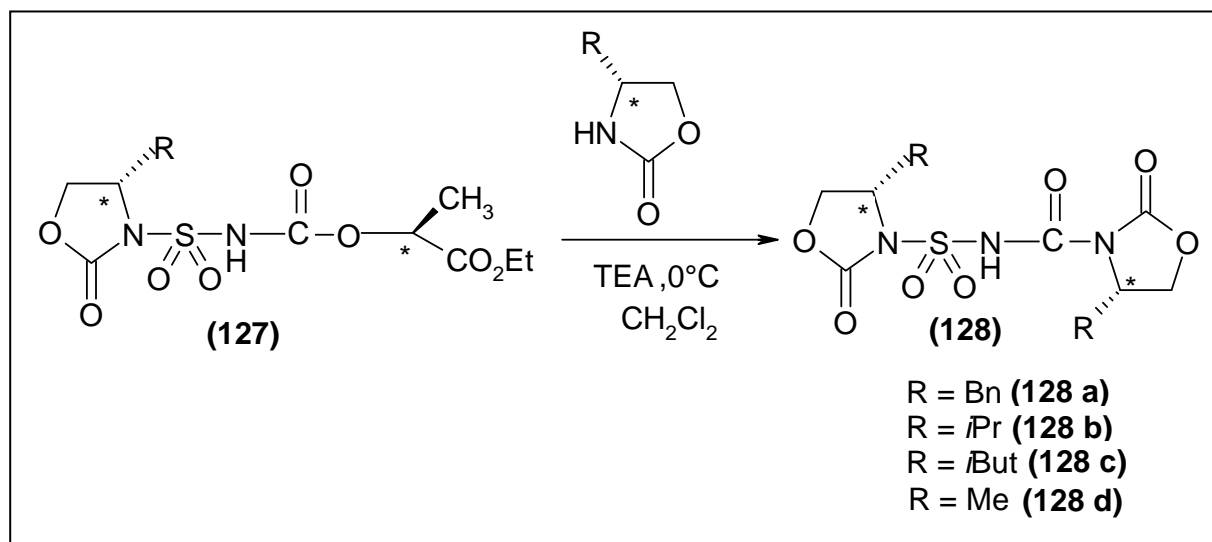


Schéma 43: Synthèse des N, N'-acylsulfonamides bis-oxazolidinones.

Tableau 6: Caractéristiques physico-chimiques des N, N'-acylsulfonamides bis-oxazolidinones 128a, 128b, 128c, 128d:

Réf	R	Formule Brut	Masse	Rf*	[α] _D	F ^o C	Rdt %
(128a)	Benzyl	C ₂₁ H ₂₁ O ₇ N ₃ S	459	0.56	+8.5	146-147	80
(128b)	Isopropyl	C ₁₃ H ₂₁ O ₇ N ₃ S	363	0.78	+7.5	145-146	70
(128c)	Isobutyl	C ₁₅ H ₂₅ O ₇ N ₃ S	391	0.62	-5.5	144-145	62
(128d)	Méthyl	C ₉ H ₁₃ O ₇ N ₃ S	307	0.78	-7.5	145-146	62

*[CH₂Cl₂ : MeOH, (9 :1)]

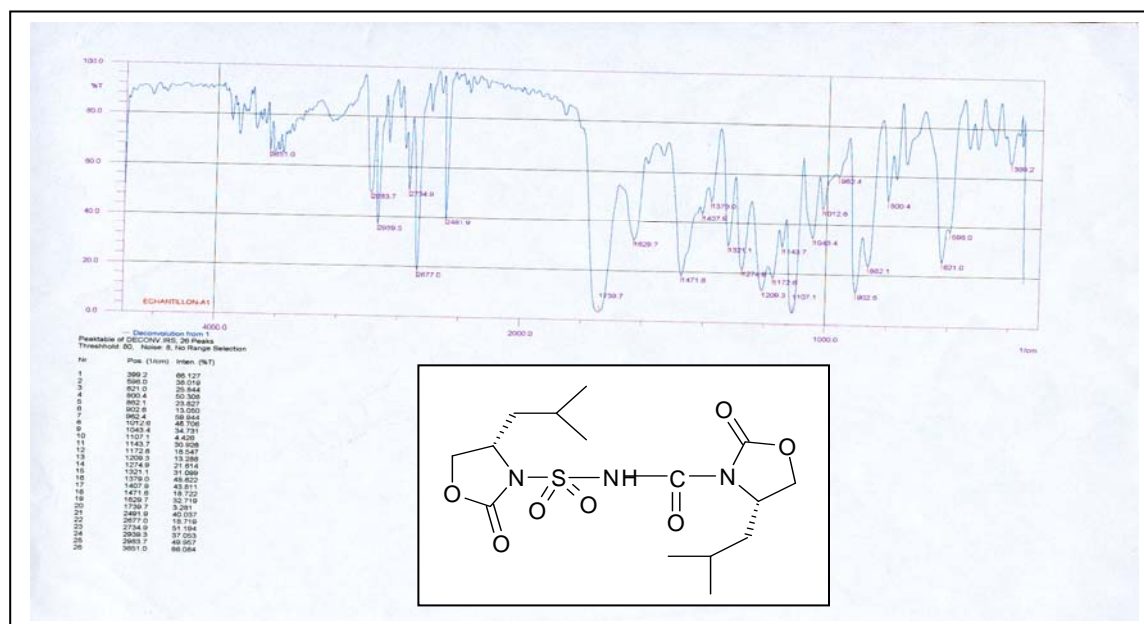
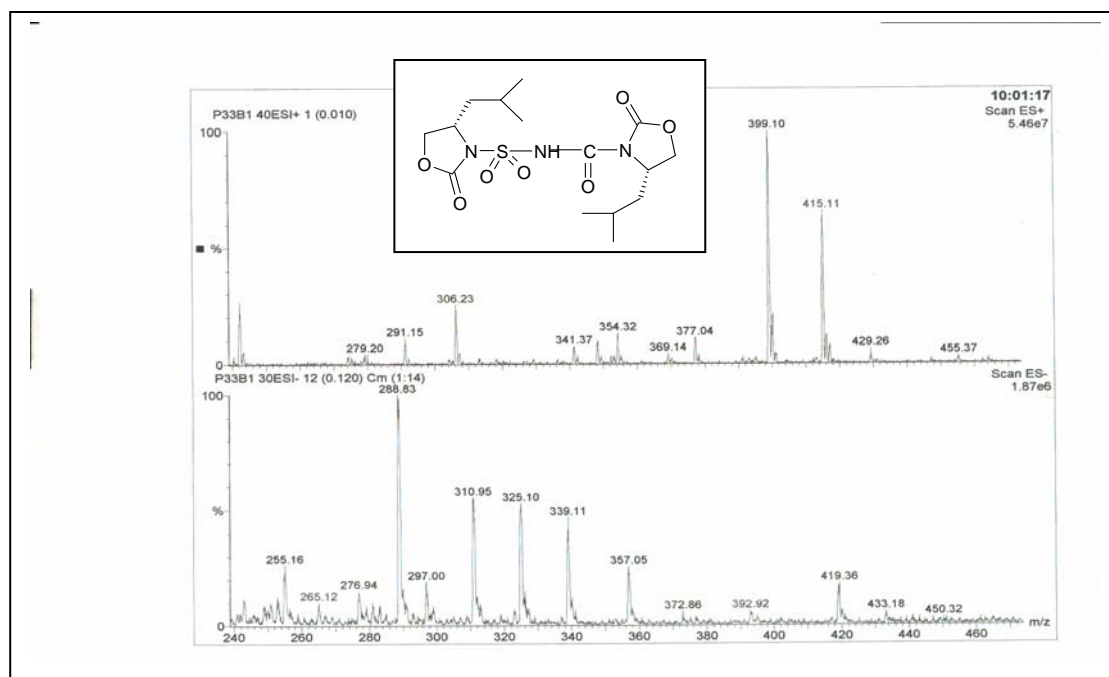
III-5-3-a- Caractérisation :

La condensation des dérivés d'oxazolidinones avec les carboxylsulfamides se traduit en **RMN¹H** par la disparition de la bande C=O de l'ester et le signal éthylrique confirme le déplacement du fragment de lactate et l'apparition d'un nouveau système ABX du groupement méthylène vers 4.8 ppm du deuxième cycle d'oxazolidinone.

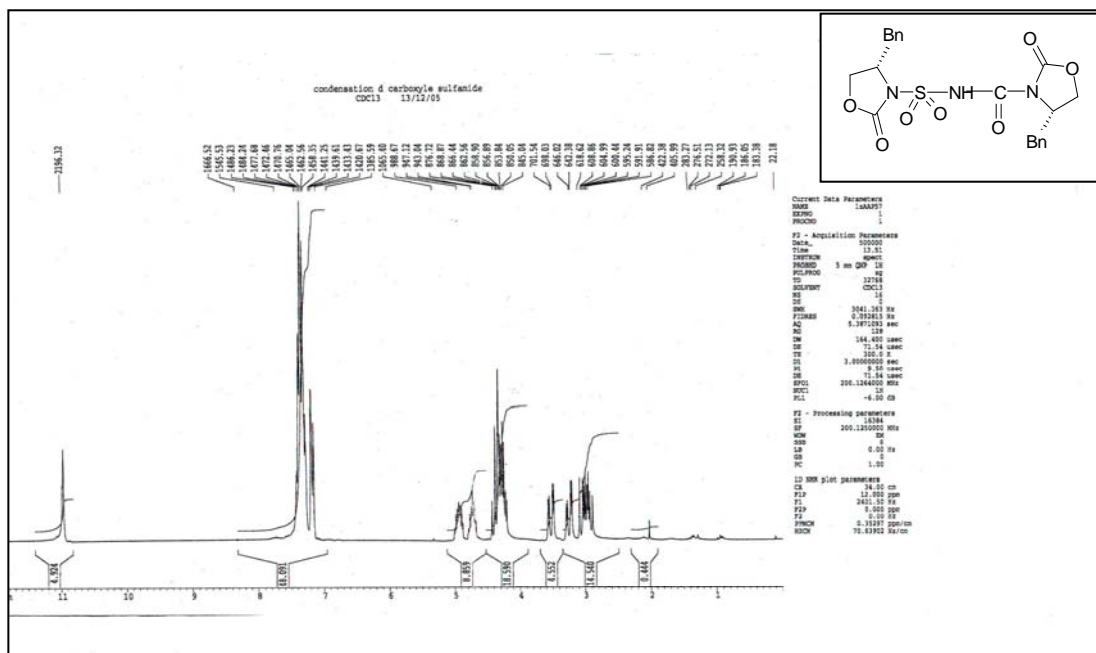
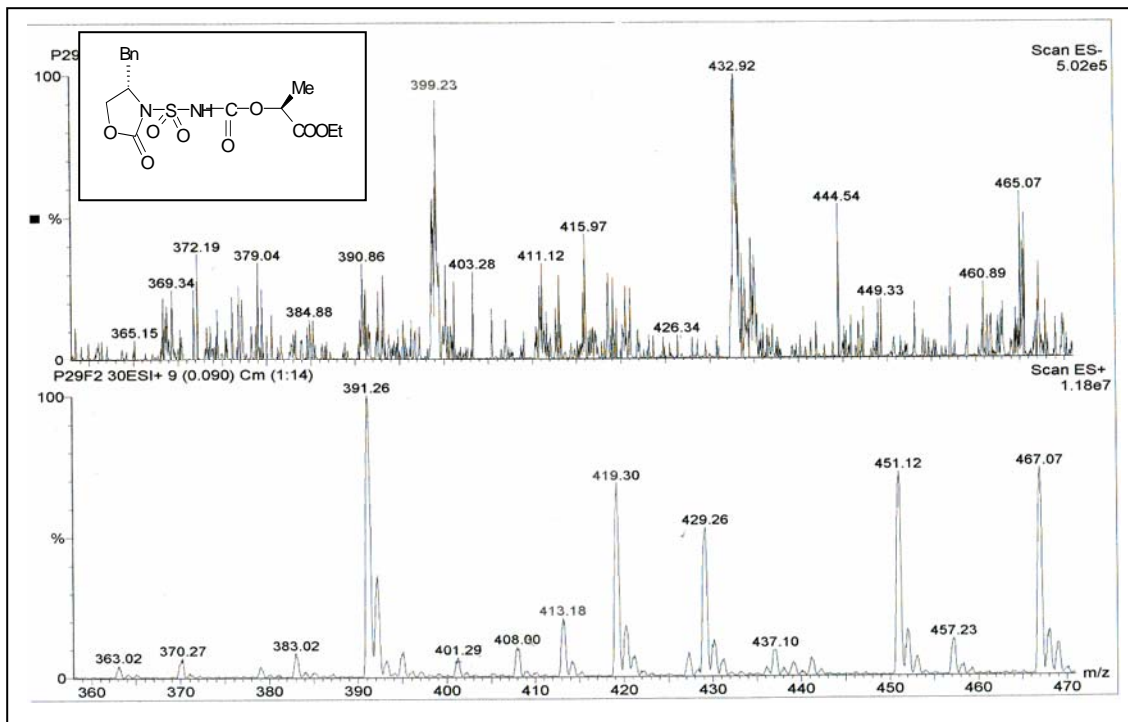
En **infrarouge**, ces structures sont confirmées par les bandes d'absorption suivantes : Une absorption entre 3170 et 3028 cm⁻¹ qui caractérise le groupement NH, une autre absorption vers 1350 et 1150 cm⁻¹ qui correspondent au groupement SO₂, et trois bandes de C=O vers 1789, 1702 et 1678 cm⁻¹.

En **spectrométrie de masse**, ces composés sont caractérisés par l'abondance non élevée du pic moléculaire [M-H]⁺.

Spectre de masse et de IR du composé (128c) :



Spectre de masse de carboxylsulfamide (**127a**) et de RMN¹H de leur dérivé cyclisé (**128a**) :



III-6- PREPARATION DES SULFONAMIDES :

III-6-1- Préparation des carboxylsulfamides issus de malate de méthyle :

La sulfamoylation dans les mêmes conditions opératoires précédents en utilisant le malate de méthyle en milieu basique (TEA) conduit à un mélange de deux produits le carboxylsulfamide et le sulfonamide.

Les carboxylsulfamides (**131**) sont obtenus en proportion plus faible que les sulfonamides (**132**), cela peut être expliqué par la présence d'un ester actif sur le NH carbamique.

La séparation des deux produits carboxylsulfamide et le sulfonamide a été réalisé par recristallisation dans le mélange dichlorométhane / éther (**schéma 44**).

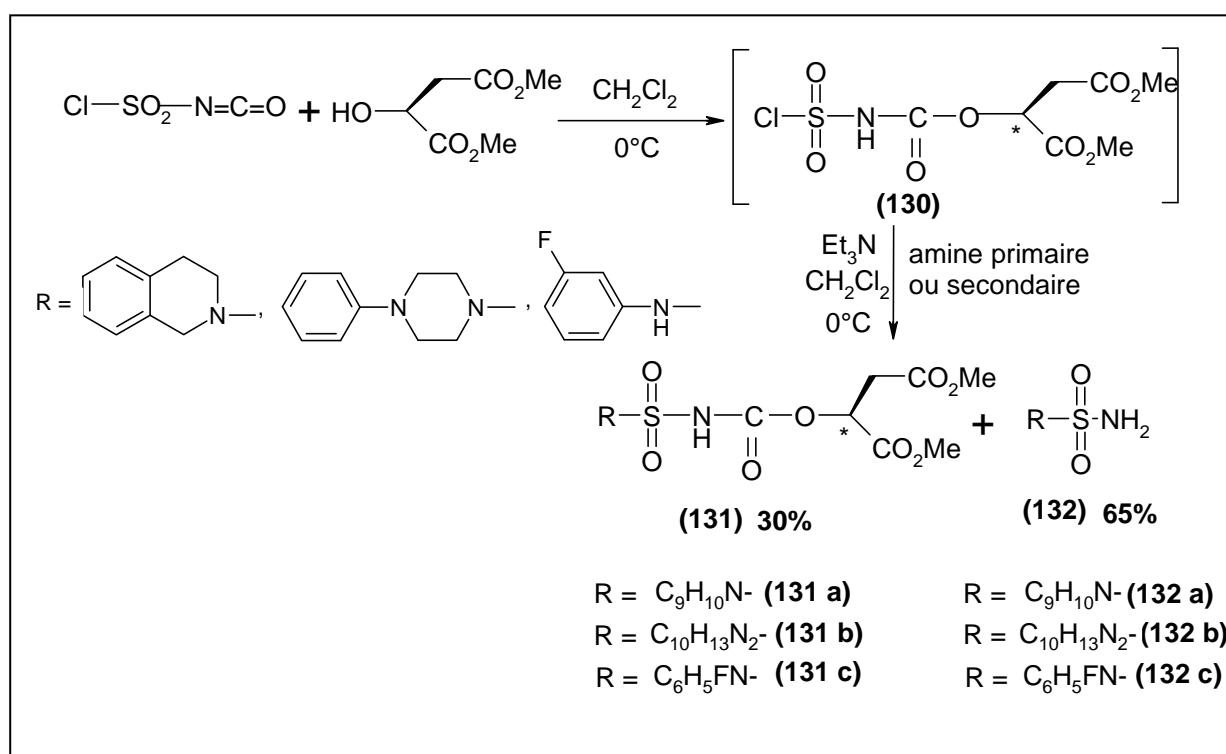


Schéma 44: L'accès aux carboxylsulfamides et des sulfonamides.

La réduction de carboxylsulfamides issus de malate de méthyle en utilisant le borohydrure de sodium (NaBH₄) comme agent réducteur nous a permis de réduire sélectivement l'amide pour obtenir des sulfonamides avec des rendements satisfaisants (**schéma 45**).

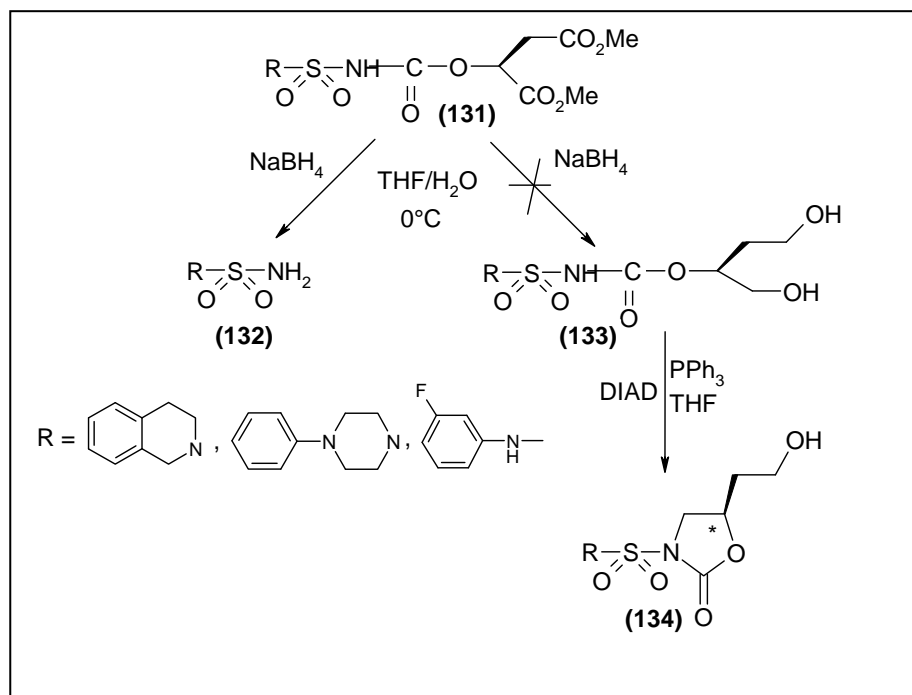


Schéma 45: Les essais de réduction des carboxylsulfamides.

Tableau 7 : Caractéristiques physico-chimiques des carboxylsulfamides issus de malate de méthyle (131a), (131b), (131c):

Réf	R	Formule Brut	Masse	Rf*	F°C	Rdt %
(131a)		$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_8\text{N}_2\text{S}$	400	0.61	huile	30.10
(131b)		$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{O}_8\text{N}_3\text{S}$	429	0.69	huile	30.33
(131c)		$\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{O}_8\text{N}_2\text{SF}$	378	0.57	huile	40.22

* $[\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{MeOH}, (9.9 : 0.1)]$

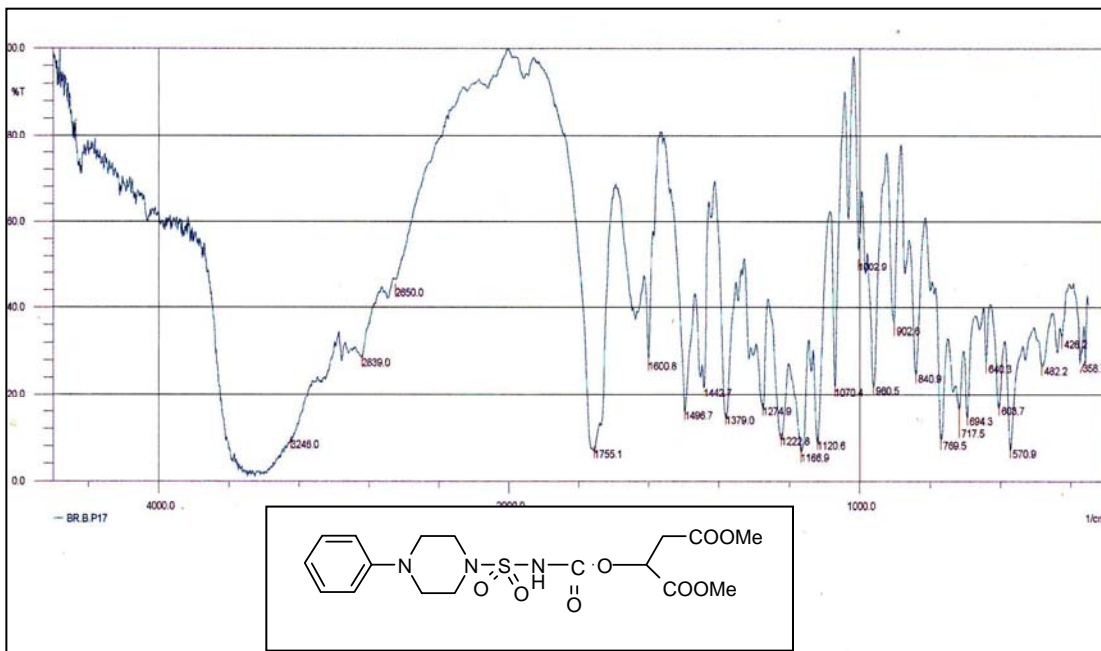
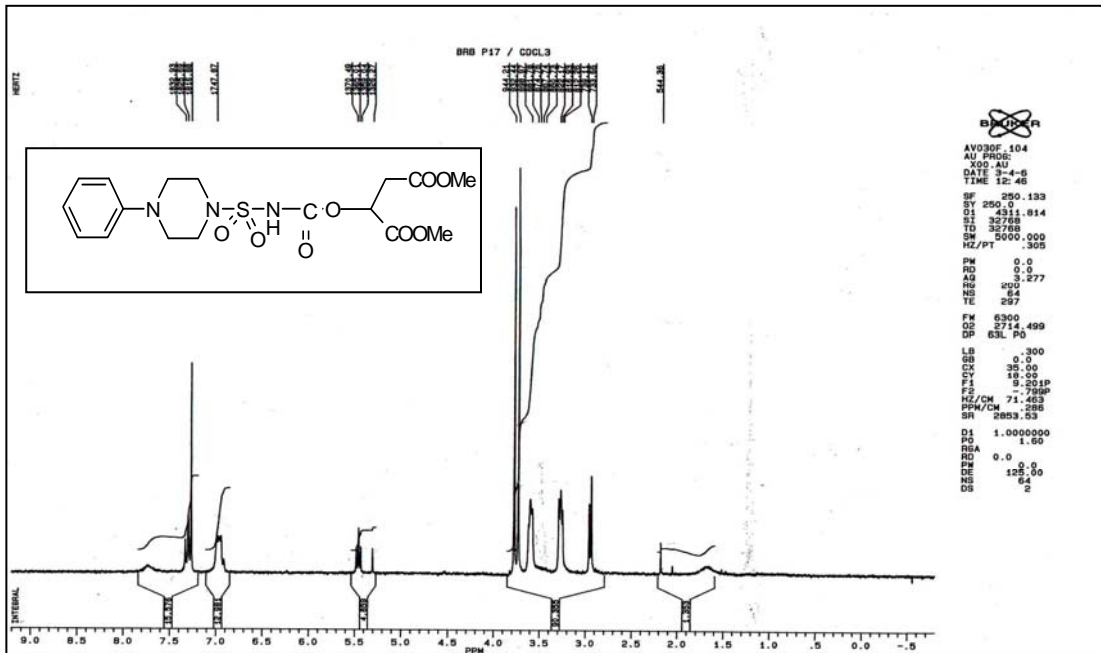
III-6-1-a) Caractérisation des carboxylsulfamides issus de malate de méthyle:

Les carboxylsulfamides issus de malate de méthyle (**131**) sont caractérisés en **RMN¹H** par la présence de deux singulets de groupements méthoxy à 3.7 et 3.9 ppm. Le proton de carbone asymétrique résonne sous forme d'un multiplet à 4.2 ppm.

En **infrarouge**, ces structures sont confirmées par les bandes d'absorption suivantes: une bande vers 1755 cm^{-1} qui caractérise le groupement C=O, une autre à 3246 cm^{-1} du groupement NH et deux bandes intenses vers 1379 et 1166 cm^{-1} qui correspondent au groupement SO₂.




En **spectrométrie de masse**, ces composés sont caractérisés par le pic moléculaire [M+1]⁺.

Spectre de RMN¹H et de IR du composé **131b** :



Les sulfonamides (**132**) se présentent sous forme de solides blancs, recristallisables dans le mélange dichlorométhane / éther. Ils sont bien solubles dans les solvants polaires, ils sont révélés à la ninhydrine.

Tableau 8 : Caractéristiques physico-chimiques des sulfonamides (132a), (132b), (132c):

<i>Réf</i>	<i>R</i>	<i>Formule Brut</i>	<i>Masse</i>	<i>Rf*</i>	<i>F°C</i>	<i>Rdt %</i>
(132a)		$C_9H_{12}O_2N_2S$	212	0.35	170-171	61.6
(132b)		$C_{10}H_{15}O_2N_3S$	241	0.39	179-180	60.10
(132c)		$C_6H_7O_2N_2SF$	190	0.29	91-92	57.87

*[CH₂Cl₂ : MeOH, (9.9 : 0.1)]

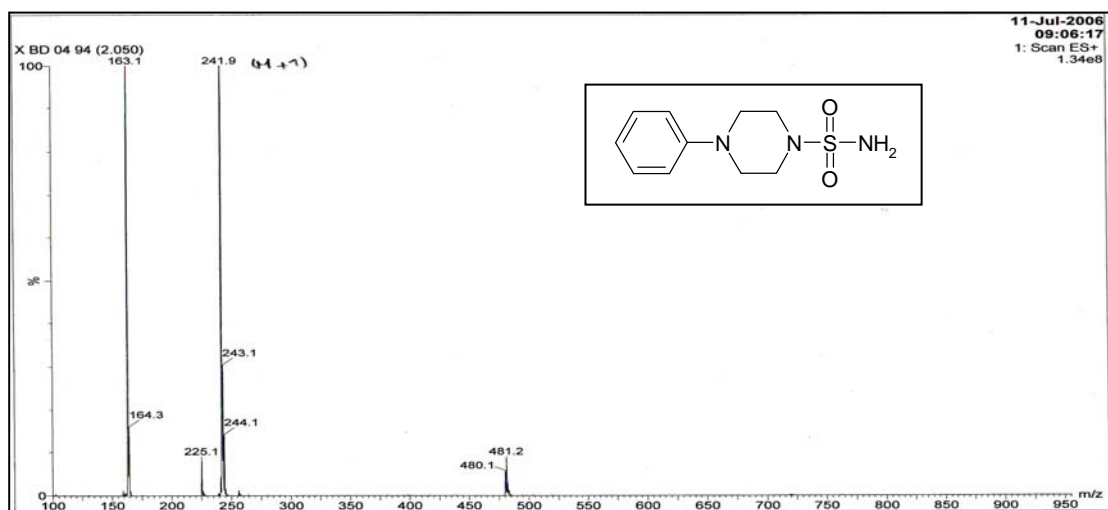
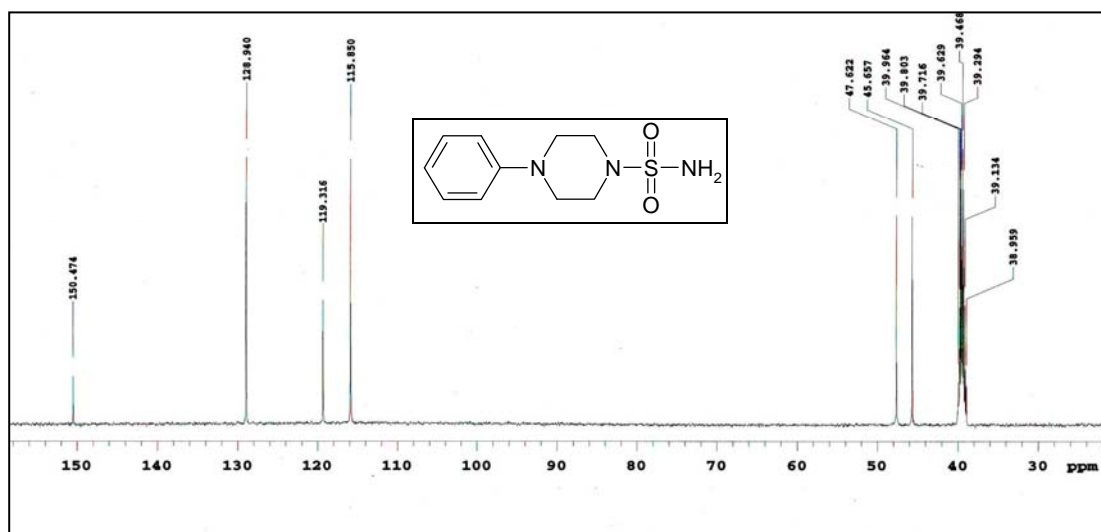
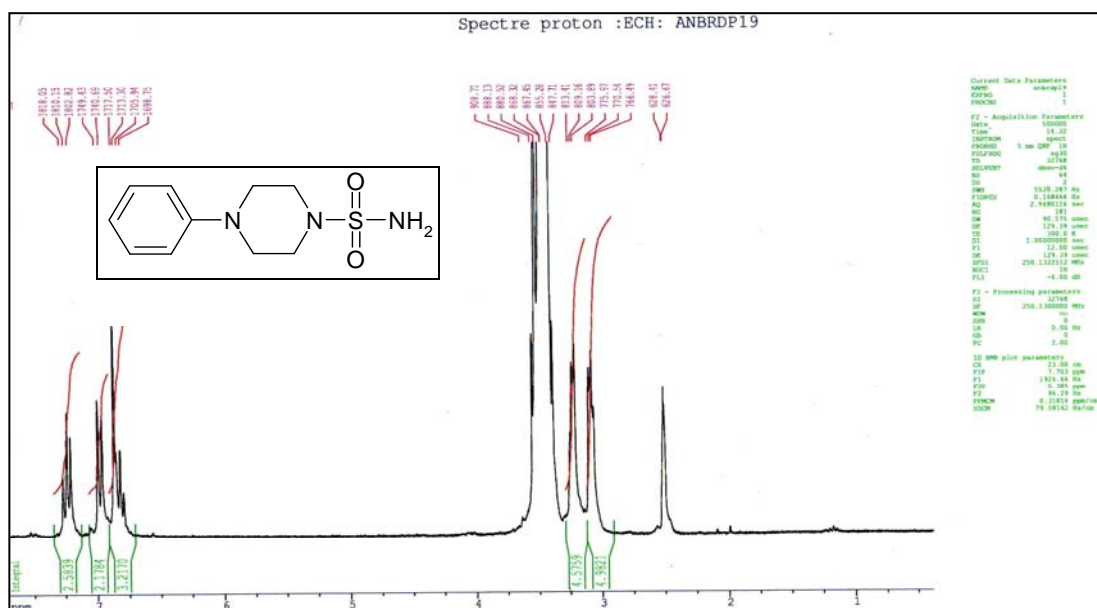
III-6-1-b) Caractérisation de sulfonamide :

Les sulfonamides sont caractérisées en **RMN** du proton par la disparition des deux groupements de méthoxy et l'apparition d'un singulet à 5.5 ppm de NH₂.

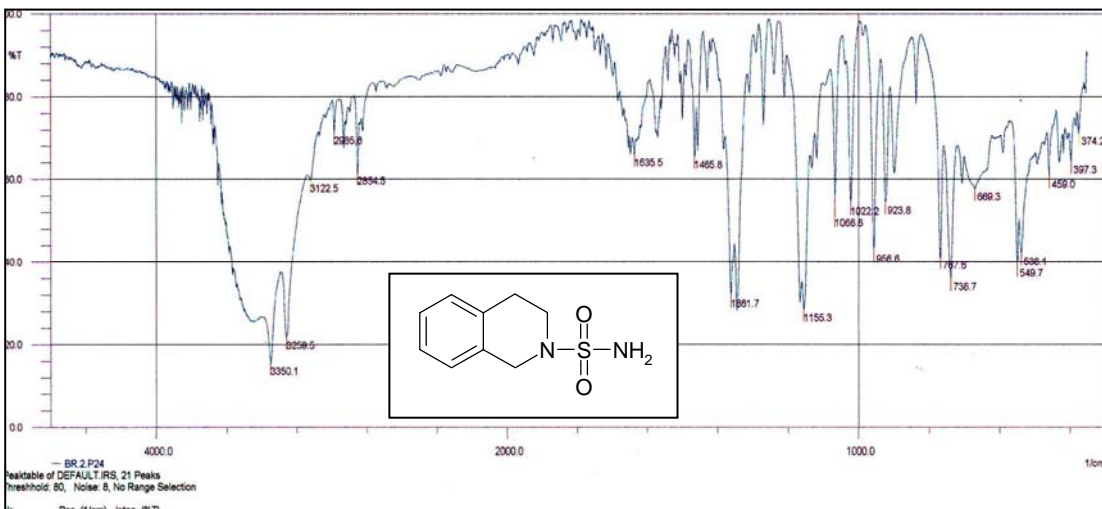
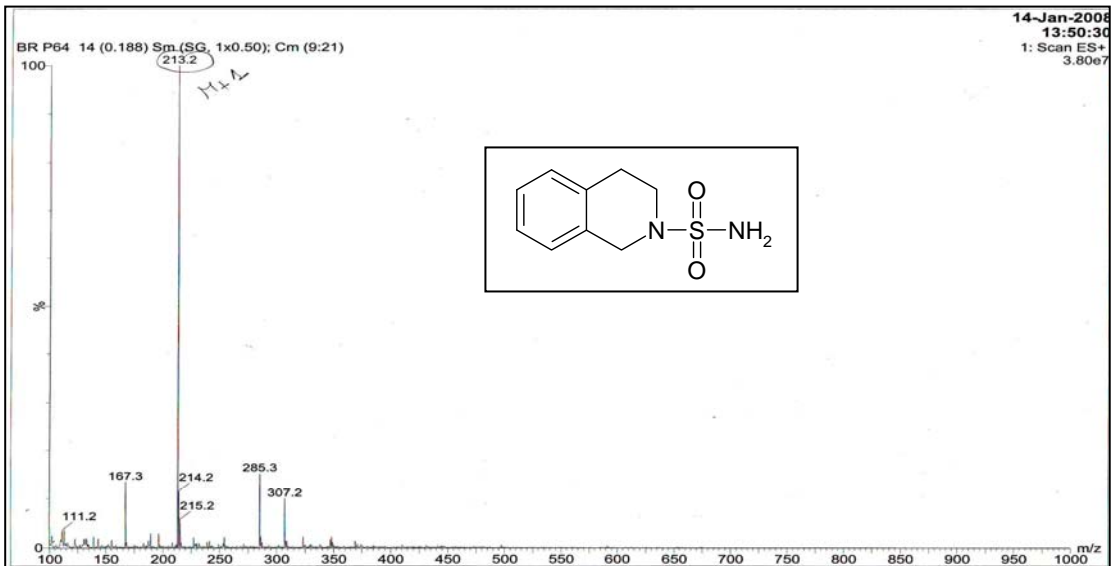
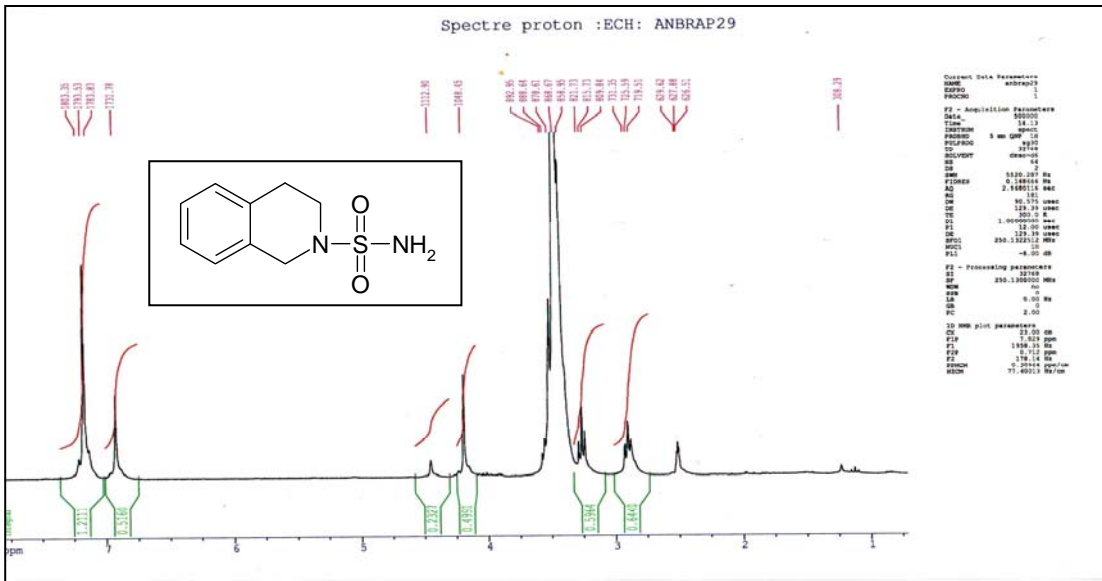
En **IR**, les bandes caractéristiques apparaissent vers 3350 cm⁻¹, 1362 et 1155 cm⁻¹ correspondent respectivement aux groupements NH₂ et SO₂.

En **spectrométrie de masse** ces produits sont caractérisés par le pic moléculaire [M+1]⁺ avec une abondance relative de 100%.

Spectre de RMN¹H, de C13 et de masse du composé (132b) :



Spectre de RMN¹H, IR et de masse du composé (132a) :



III-6-1-c) Etude cristallographique de 132a et 132b :

- La structure de 4-Phényl-piperazine-1-sulfonamide **132b** a été déterminée par l'étude cristallographique, et on trouve les paramètres suivants :

Formule chimique: $C_{10}H_{15}N_3O_2S$

Masse moléculaire = 241.31 g.mol⁻¹

T = 123 (2) K

Système cristallin: monoclinique

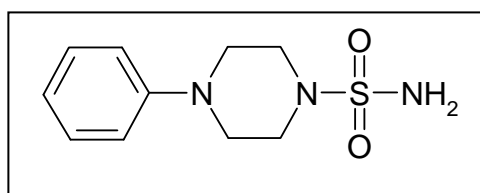
Groupe d'espace : P 2₁/c, Z = 4

Dimension de la maille: a = 24.1829 (7) Å, b = 9.5485 (3) Å, c = 9.7885 (3) Å, β = 86.75 (3)°.

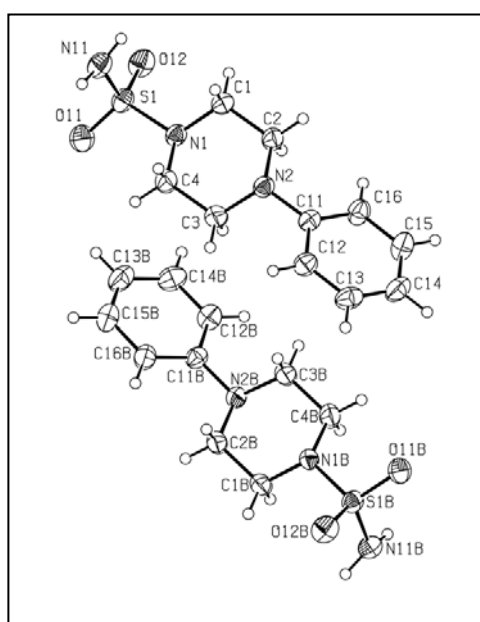
V = 2258.55 (11) Å³

D_x = 1.419 g.cm⁻³

Radiation: Mo K_α (λ = 0.71073 Å)



132b



ORTEP de la molécule 132b

- La structure de 1, 2, 3, 4-tétrahydroisoquinoline-2-sulfonamide **132a** a été déterminée par l'étude cristallographique.

Le cristal étudié est de forme parallélépipédique (0.10 x 0.10 x 0.10 mm). Sa densité mesurée est en accord avec la densité calculée.

Les principaux paramètres sont présentés ci-dessous:

$C_9H_{12}N_2O_2S$

$F_{000} = 224$

$M_r = 212.27$

$D_x = 1.399 \text{ Mg m}^{-3}$

Monoclinique, $P2_1$

Mo $K\alpha$ radiation

$\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$

Symbole de Hall : P 2yb

Paramètres de cellules 6025 réflexions

$a = 5.275 (1) \text{ \AA}$

$\theta = 2.0 - 27.5^\circ$

$b = 9.541 (1) \text{ \AA}$

$\mu = 0.30 \text{ mm}^{-1}$

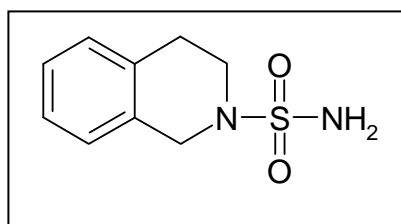
$c = 10.229 (1) \text{ \AA}$

$T = 293 (2) \text{ K}$

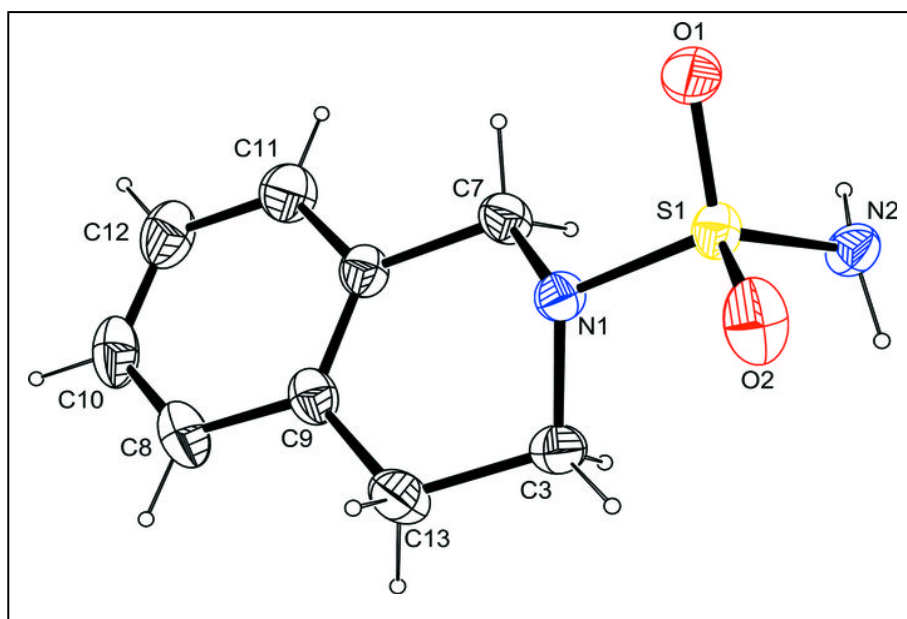
$\beta = 101.80 (5)^\circ$

$V = 503.93 (15) \text{ \AA}^3$

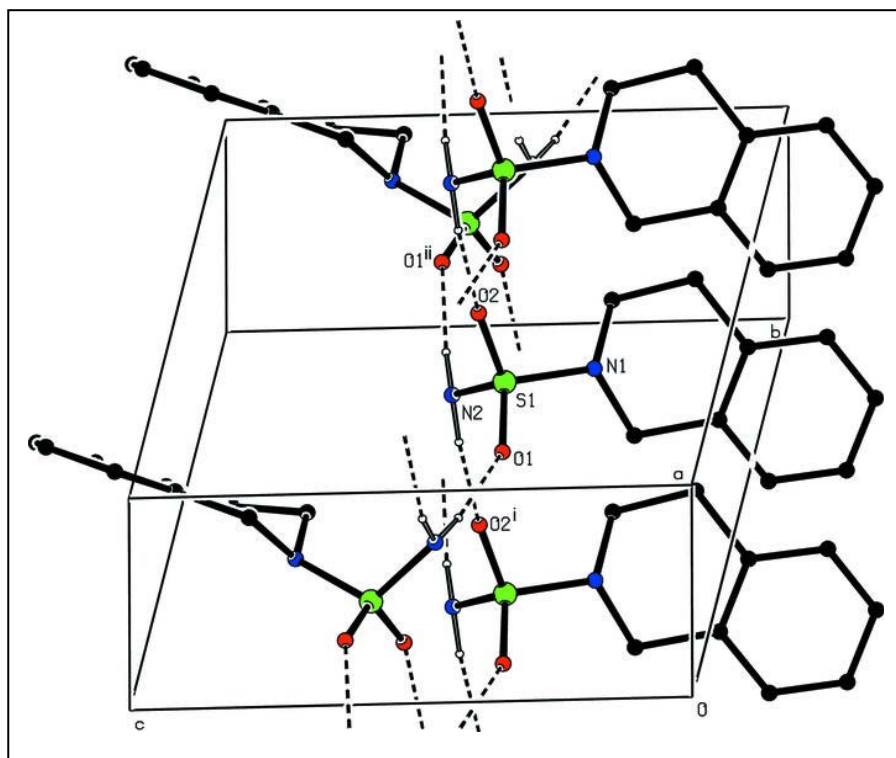
$Z = 2$



132a



ORTEP de la molécule **132a**



Vue partielle d'empilement montrant la formation du réseau bidimensionnel. Les liaisons Hydrogène sont représentées comme lignes tirées. [Codes de symétrie: (i) $X - 1, y, z$ (ii) $-x + 1, y + 1/2, -z + 1$]

III-7- ACYLATION DES SULFONAMIDES :

L'acylation des sulfonamides est réalisée facilement en présence d'anhydride acétique à basse température. Le doublet de l'azote attaque le site électrophile du carbonyle pour former le produit acylé avec des rendements satisfaisants.

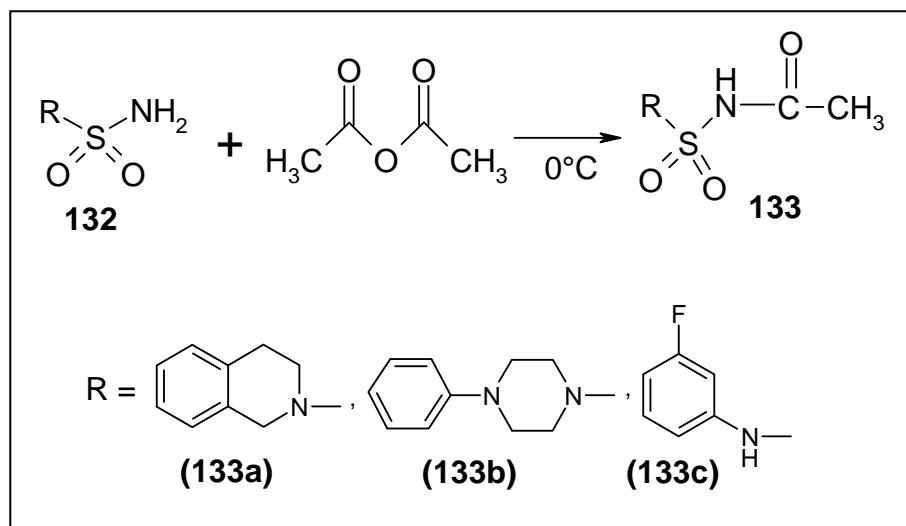


Schéma 46: L'acylation des sulfonamides.

Tableau 9: Caractéristiques physico-chimiques des sulfonamides acylés (133a), (133b), (133c):

Réf	R	Formule Brut	Masse	Rf*	F°C	Rdt %
(133a)		C ₁₁ H ₁₄ O ₃ N ₂ S	254	0.38	172-173	65
(133b)		C ₁₂ H ₁₇ O ₃ N ₃ S	283	0.42	175-176	67
(133c)		C ₈ H ₉ O ₃ N ₂ SF	232	0.33	110-111	70

*[CH₂Cl₂ : MeOH, (9.9 : 0.1)]

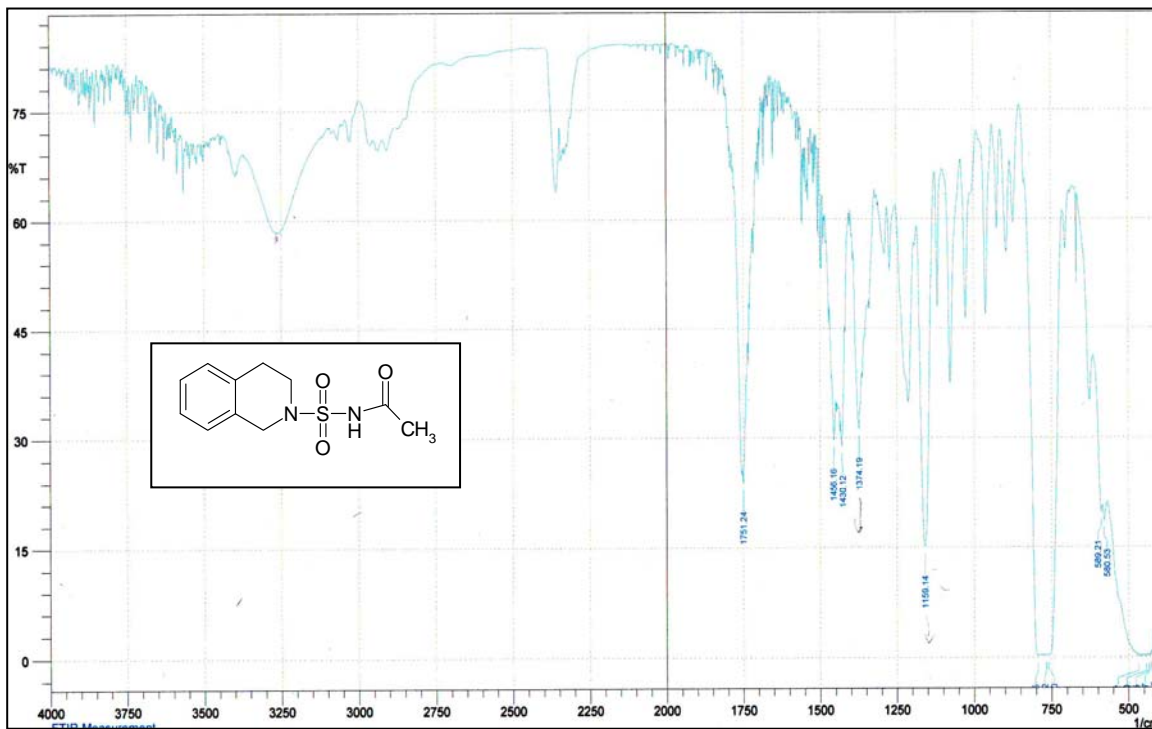
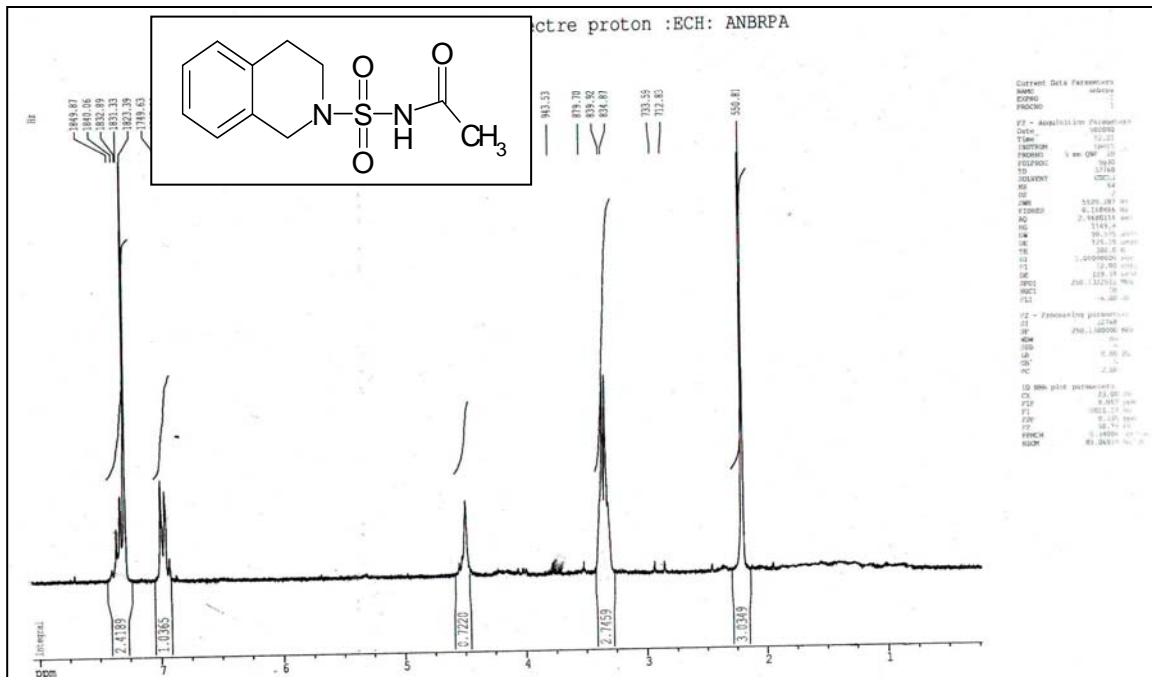
III-7-a- Caractérisation des sulfonamides acylés :

Les produits acylés sont caractérisés en RMN¹H par le signal des protons portés par le méthyle qui apparaît sous forme d'un singulet vers 2.04 ppm.

En IR, le motif commun est identifié par la bande de C=O vers 1711 cm⁻¹, les groupements NH sont responsables d'une absorption vers 3260 cm⁻¹, une autre absorption vers 1350 et 1150 cm⁻¹ qui correspondent au groupement SO₂.

En spectrométrie de masse les produits acylés présentent un pic moléculaire [M+1]⁺.

Spectre de RMN ^1H du composé (133a) :



CONCLUSION:

- Le caractère bi-fonctionnel et la forte réactivité de l'ICS font de lui un précurseur intéressant pour l'élaboration de structure contenant le motif sulfonyle. L'ICS présente également une différence de réactivité suffisante entre les sites chlorosulfonyle et isocyanate pour permettre la formation d'un carbamate de chlorosulfonyle.
- La synthèse de 5-chlorométhyl oxazolidin-2-ones a été réalisée en trois étapes simples, la préparation de carboxylsulfamides (carbamoxylation – sulfamoxylation) à partir d'un alcool prochiral et amines primaires ou secondaires suivie par une réaction de cyclisation intramoléculaire dans des conditions douces.
- Nous avons développé une nouvelle synthèse simple et performante de différents dérivés des N, N'-acylsulfonamides bis-oxazolidinones en trois étapes : carbamoxylation - sulfamoxylation suivie par une réaction de condensation à partir de l'actate d'éthyle et l'isocyanate de chlorosulfonyle, des réactifs simples et commerciaux.
- Nous avons également réalisé la synthèse d'une nouvelle famille de sulfonamides modifiés à partir de malate de méthyle.
- L'acylation des sulfonamides a été réalisée par une méthode simple à partir d'anhydride acétique.

CHAPITRE IV

Protocoles expérimentaux

CONDITIONS GENERALES

Chromatographie :

Le suivi des réactions a été fait par chromatographie sur couches minces (ccm) sur plaque de silice en aluminium **Merck 60 F₃₅₄ (Art. 5554)**. Selon leur nature les produits ont été révélés par pulvérisation de ninhydrine en solution 0.1 % dans l'alcool éthylique puis chauffage et à la lumière UV (**254 nm**) pour les composés comportant un ou plusieurs groupement(s) chromophore(s).

Les purifications par chromatographie sur colonne de gel de silice ont été réalisées avec de la silice **Carlo Erba** (Silica Gel 60 Å, granulométrie : 35-70 µm) ou **Merck 60 H (Art. 9385)**.

Pouvoirs rotatoires :

Les pouvoirs rotatoires ont été déterminés en utilisant un polarimètre **Perkin-Elmer 241** réglé sur la raie D du sodium.

Point de fusion :

Les points de fusion non corrigés ont été déterminés en capillaire sur un appareil Electrothermal **Barnstead / Electrothermal**.

Résonance magnétique nucléaire :

Les spectres de RMN du proton ont été enregistrés à température ambiante sur un appareil **AC 200 Brüker, AC 250 Brüker**. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au signal du CDCl₃ fixé à 7.24 ppm ou du DMSO d₆ fixé à 2.49 ppm. La multiplicité des signaux est indiquée par une ou plusieurs lettre(s) minuscule(s) : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (massif). Les constantes de couplages J sont exprimées Hertz (Hz).

Les spectres de RMN du carbone ont été enregistrés à température ambiante sur un appareil **Brüker 125.9 MHz**. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane pris comme référence interne.

Infrarouge :

Les spectres infrarouges ont été enregistrés sur deux appareils : **Perkin-Elmer FT-1600** et **Nicolet FTIR 380**.

Spectrométrie de masse :

Les spectres de masse ont été enregistrés sur :

Un appareil **Jeol SX 102** de haute résolution en mode positif ou négatif sur une Eau MicroMass ZQ par ionisation électronique (30eV).

Un appareil **MALDI-TOF (Biflex IV, Bruker Daltonique)** de haute et basse résolution, la matrice utilisée est l'acide de 2, 5-dihydroxybenzoïque

Un appareil **JEOL-JMS-DX 300** par la méthode d'ionisation FAB en mode positif ou négatif, la matrice utilisée est l'alcool 3-nitrobenzylique (NOBA).

Déshydratation des solvants utilisés :

Les solvants ont été distillés et rendus anhydres avant usage selon les procédures décrites par D. D Perrin et W. L. F Amarego, purification of labortory chemicals, Pergamon Press London, (1988).

La cristallographie :

Les analyses cristallographiques par diffraction des rayons X ont été effectuées à température ambiante et à basse température à l'aide d'un diffractomètre **Nonius KappaCCD**, par un faisceau monochromique correspondant à la raie $K\alpha$ du molybdène. Ces études ont été réalisées en collaboration avec le laboratoire de Chimie, Structures, Propriétés de Biomatériaux et d'Agents thérapeutiques de Paris-Nord, France.

IV-1- Préparation de carboxylsulfamides dérivés de 1, 3-dichloropropan-2-ol:*** Mode opératoire général :**

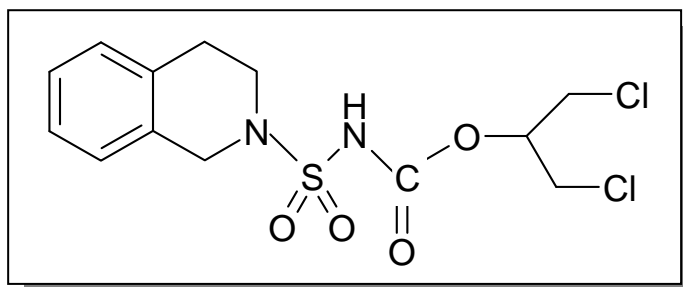
A une solution d'isocyanate de chlorosulfonyle (ICS) (1.62 g, 11.4 mmol) dans 10 ml du CH_2Cl_2 anhydre placée dans un ballon à fond rond émergé dans un bain de glace, un équivalent de 1, 3-dichloropropan-2-ol (1.47 g, 11.4 mmol) dans le même solvant est ajoutée à l'aide d'une ampoule à brome surmontée d'une garde à chlorure de calcium. La solution est maintenue sous agitation magnétique pendant une demi-heure à 0°C .

La solution de carbamate de chlorosulfonyle issu de la première étape, est transvasée dans une ampoule à brome surmontée d'une garde à chlorure de calcium puis additionnée goutte à goutte à 1 équivalent d'amine primaire ou secondaire (1.22 g, 11.4 mmol), dans le CH_2Cl_2 anhydre qui est placée dans un bicol émergé dans un bain de glace, en présence de 1.1 équivalents de triéthylamine (1.27 g, 12.5 mmol) dans le même solvant. La réaction est suivie par ccm, qui montre l'apparition d'un produit révélé par pulvérisation à la ninhydrine après chauffage. Le ballon est retiré du bain de glace et la réaction est abandonnée sous agitation magnétique à température ambiante. La réaction est complète en 1 heure jusqu' à 2 heure de temps.

Traitement :

La solution est diluée au dichlorométhane lavée par une solution de HCl 0,1 N jusqu'à pH acide puis à l'eau jusqu'à pH neutre. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre. Après évaporation du solvant sous vide, le carboxylsulfamide issus de cette réaction est recueilli par purification sur colonne de gel de silice éluée au CH_2Cl_2 .

IV-1-a) 1, 2, 3, 4-tétrahydroisoquinolyn, 1, 3-dichloropropan-2-yl sulfonamide carbamate 122a :



M = 366 [C₁₃H₁₆O₄N₂SCl₂].

Rdt = 82.77%.

R_f = 0.63 (CH₂Cl₂ /MeOH, 9:1).

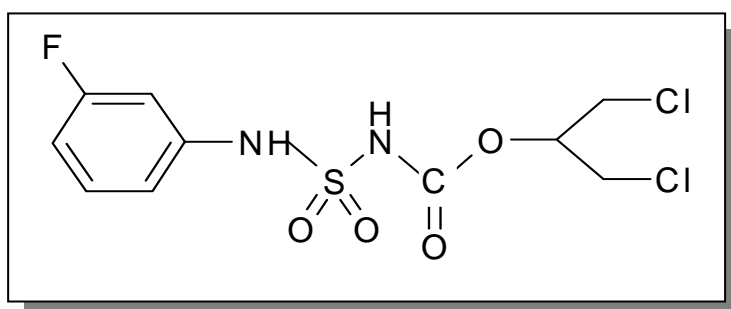
IR (CCl₄, ν en cm⁻¹): 3262 (NH), 1751 (C=O), 1374 et 1159 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.8 (s, 1H, NH), 7.2 - 7.0 (m, 4H, H-Ar), 5.1 (m, 1H, CH-CH₂), 4.6 (s, 2H, CH₂-N), 3.6 - 3.8 (m, 6H, CH₂-N-cyc + 2CH₂-Cl₂), 2.9 (t, J = 5.8 Hz, 2H, CH₂-Ph).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 159, 136.1, 134.1, 127.5, 126.9, 126.3, 125.7, 78.8, 47.4, 45, 44.3, 28.1.

SM ESI⁺: 367.1 [M+H]⁺, 389.1 [M+Na]⁺.

IV-1-b) 3-fluoroanilyn, 1, 3-dichloropropan-2-yl sulfonamide carbamate 122b:



M = 344 [C₁₀H₁₁O₄N₂SFCl₂].

Rdt = 83.20%.

F°C = 139-140°C.

R_f = 0.71 (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1).

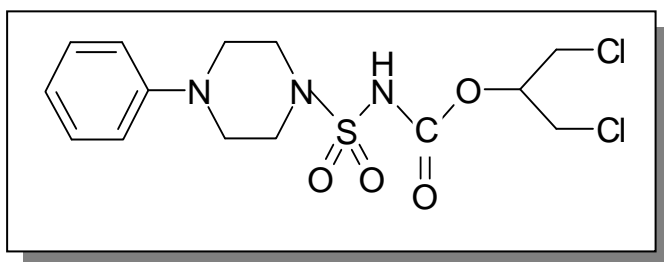
IR (KBr, ν en cm^{-1}): 3284 et 3219 (2 NH), 1715 (C=O), 1350 et 1189 (SO_2).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 8.0 (s, 1H, NH), 7.2 - 6.9 (m, 4H, H-Ar), 5.3 (s, 1H, NH-Ph), 5.1 (m, 1H, CH-CH₂), 3.7 (d, $J = 5.2$ Hz, 4H, 2CH₂-Cl₂).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 159.9, 159, 130.2, 124.6, 112.5, 78.8, 45.

SM ESI⁺: 367 [M+Na]⁺.

IV-1-c) Phénylpépérazinyl, 1, 3-dichloropropan-2-yl sulfonamide carbamate 122c:



M = 395 [C₁₄H₁₉O₄N₃SCl₂].

Rdt = 85.50%.

F^oC = 136-137°C.

R_f = 0.68 (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1).

IR (KBr, ν en cm^{-1}): 3028 (NH), 1739 (C=O), 1372 et 1167 (SO_2).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.6 (s, 1H, NH), 7.3 - 6.9 (m, 5H, H-Ar), 5.2 (m, 1H, CH-CH₂), 3.9 (d, $J = 5.2$ Hz, 4H, 2 CH₂-Cl₂), 3.5 (t, $J = 5.2$ Hz, 4H, CH₂-N), 3.2 (t, $J = 5.4$ Hz, 4H, CH₂-N).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 159, 149.6, 129.6, 121.9, 114.3, 78.8, 51.5, 45.8, 45.

SM ESI⁺: 396 [M+H]⁺ 100 %.

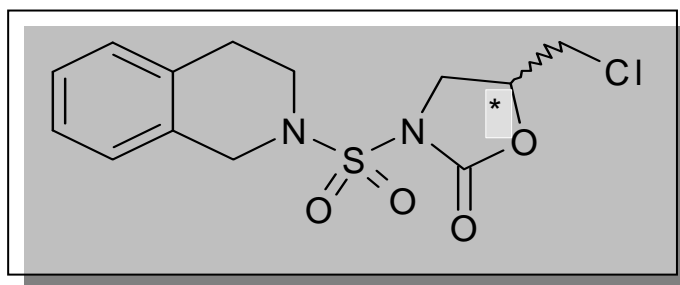
IV-2- préparation des sulfonyl-oxazolidinones :

*** Mode opératoire de cyclisation :**

A une solution de carboxylsulfamide (0.47 g, 1.28 mmol) dans l'acétonitrile anhydre (20 ml) est ajouté 1.5 équivalents de K₂CO₃ (0.17 g, 1.23 mmol) en une seule fraction. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation magnétique pendant une heure et demie.

La réaction est suivie par ccm, qui montre l'apparition d'un nouveau produit moins polaire que leur précurseur. A la fin de la réaction, le résidu est filtré, évaporé sous pression réduite puis purifié par une recristallisation dans le mélange CH₂Cl₂ / éther. Les produits cyclisés sont obtenus sous forme d'énantiomères R et S avec des bons rendements.

IV-2-a) 5-(chlorométhyl)-3-(3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-ylsulfonyl)-1,3-oxazolidin-2-one 123a :



M = 330 [C₁₃H₁₅O₄N₂SCI].

Rdt = 95%.

F°C = 92-93°C.

R_f = 0.67 (CH₂Cl₂ / MeOH, 9:1).

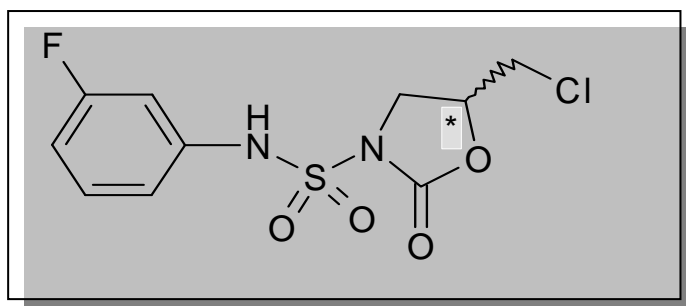
IR (KBr, ν en cm⁻¹): 1750 (C=O), 1389 et 1154 (SO₂).

RMN¹H (DMSO-d₆, δ ppm): 7.2 - 7.0 (m, 4H, H-Ar), 4.9 (m, 1H, *CH), 4.6 (s, 2H, CH₂-N-cyc), 4.2 - 4.0 (2dd, *J* = 9.4, 5.8, 3.9 Hz, 2H, CH₂Cl), 3.7 (m, 4H, CH₂cyc-*C + CH₂-N-cyc), 3.0 (t, 2H, *J* = 5.9 Hz, CH₂-Ph).

RMN¹³C (DMSO-d₆, δ ppm): 167.7, 151.9, 131.1, 115, 110.5, 104.8, 81.4, 43.3, 32.6.

SM ESI⁺ 30 eV m/z: 331.2 [M+H]⁺ 100%, 353.1 [M+Na]⁺ 35%.

IV-2-b) 5-(chlorométhyl)-N-(3-fluorophényl)-2-oxo-1,3-oxazolidine-3-sulfonamide 123b:



$M = 308$ [$C_{10}H_{10}O_4N_2SFCl$].

Rdt = 96%.

F°C = 191-192°C.

R_f = 0.75 (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1).

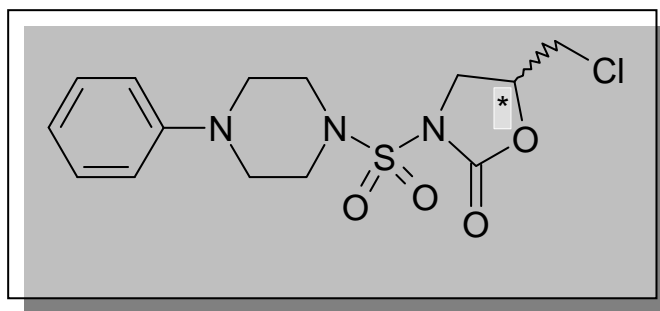
IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3250 (NH), 1739 (C=O), 1310 et 1188 (SO₂).

RMN¹H (DMSO-d₆, δ ppm): 7.5 - 7.0 (m, 4H, H-Ar), 4.8 (m, 1H, *CH), 4.1 - 3.9 (2dd, J = 9.3, 5.7, 3.7 Hz, 2H, CH₂Cl), 3.4 (m, 2H, CH₂cyc-*C).

RMN¹³C (DMSO-d₆, δ ppm): 151.9, 149.6, 129.6, 121.9, 114.3, 81.4, 50.3, 43.7.

SM ESI⁺ 30 eV m/z: 309.2 [M+H]⁺ 100%, 331.1 [M+Na]⁺ 30%.

IV-2-c) 5-(chlorométhyl)-3-[(4-phénylpipérazin-1-yl) sulfonyl]-1, 3-oxazolidin-2-one **123c**:



$M = 359$ [$C_{14}H_{18}O_4N_3SCl$].

Rdt = 91%.

F°C = 126-127°C.

R_f = 0.72 (CH₂Cl₂/Me OH, 9:1).

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 1770 (C=O), 1389 et 1154 (SO₂).

RMN¹H (DMSO-d₆, δ ppm): 6.9 - 7.4 (m, 5H, H-Ar), 5.0 (m, 1H, *CH), 4.2 - 3.8 (2dd, J = 9.4, 5.8, 3.9 Hz, 2H, CH₂Cl), 4.0 (m, 2H, CH₂cyc-*C), 3.5 (t, 4H, N-CH₂-CH₂), 3.2 (t, 4H, N-CH₂-Ph).

RMN¹³C (DMSO-d₆, δ ppm): 151.9, 149.9, 129.6, 121.9, 114.3, 81.4, 50.3, 43.7, 43.3, 32.9.

SM ESI⁺ 30 eV m/z: 360.1 [M+H]⁺ 100%.

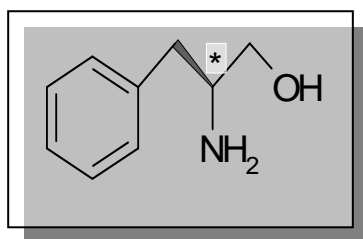
IV-3- Préparation des oxazolidinones chirales :**IV-3-1- Préparation des β -aminoalcools :***** Mode opératoire général :**

Dans un bicol sec de 250 ml et sous agitation magnétique, sont placés dans le THF anhydre 2.4 équivalents de NaBH_4 et 1 équivalent d'aminoacide.

A l'aide d'une ampoule à brome surmontée d'une garde à CaCl_2 , est additionné goutte à goutte, 1 équivalent d'une solution d'iode I_2 dans le même solvant à 0°C . Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 18 heures puis refroidit à température ambiante. La réaction est suivie par ccm qui montre l'apparition d'un produit plus polaire révélé à la ninhydrine.

Traitement :

Le traitement consiste à ajouter un volume de méthanol à la réaction jusqu'à ce que le mélange devienne clair. Après 30 minutes d'agitation, le solvant est évaporé sous pression réduite, on obtient une pâte blanche qui est dissoute dans une solution aqueuse de KOH (20%) pour détruire l'excès d'hydrure. Le mélange est abandonné sous agitation magnétique pendant 4 heures, ensuite la phase organique est extraite plusieurs fois par l'acétate d'éthyle, séchée sur Na_2SO_4 et concentrée sous vide.

IV-3-1-a) (S)-2-amino-3-phénylpropan-1-ol 124a:

$M = 151$ [$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}$].

$R_{dt} = 73\%$.

$F^\circ\text{C} = 92 - 94^\circ\text{C}$.

$R_f = 0.60$ ($\text{AcOEt}/\text{Me OH}$, 9:1).

$[\alpha]_D = -22.8$ ($C = 1.2$ 1N HCl).

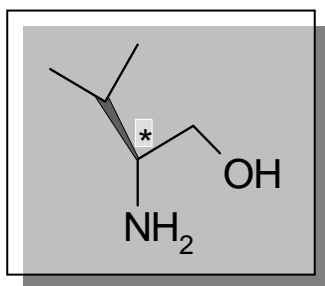
IR (KBr, ν en cm^{-1}): 3300 (NH), 3360 (OH).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.10 – 7.40 (m, 5H, H-Ar), 3.70 (dd, $J = 13.7$ Hz, 1H, HCHOH), 3.50 (dd, $J = 11.7$ Hz, HCHOH), 3.10 (m, 1H, *CH), 2.8 – 2.5 (2dd, $J = 13.5, 13.9$ Hz, 2H, CH₂Ph), 1.5 - 2.1 (s, 3H, NH₂ + OH).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 134, 129, 128, 127, 65, 54, 40.

SM (NOBA, FAB > 0): 152 [M + H]⁺ 100%.

IV-3-1-b) (S)-2-amino-3-méthyl-butan-1-ol 124b:



M = 103 [C₅H₁₃NO].

Rdt = 70%.

F°C = 30 - 34°C.

R_f = 0.45 (AcOEt/Me OH, 9:1).

[α]_D = +17 (C = 10, C₂H₅OH).

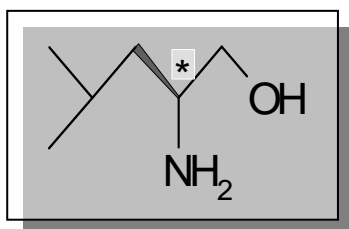
IR (KBr, ν en cm^{-1}): 3300 (NH), 3360 (OH).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 3.59 – 3.76 (dd, $J = 10.4$ Hz, 2H, CH₂OH), 3.31 (m, 1H, *CH), 1.79 – 1.61 (m, 1H, CHiPr), 1.78 (s, 3H, NH₂ + OH), 0.9 – 1.5 (2d, $J = 6.0$ Hz, 2CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 64, 58, 31.5, 18.3, 18.9.

SM (NOBA, FAB > 0): 104 [M + H]⁺ 100%.

IV-3-1-c) (S)-2-amino-4-méthyl-pentan-1-ol 124c:



M = 117 [C₆H₁₅NO].

Rdt = 75%.

$F^{\circ}C = 88 - 89^{\circ}C$.

$R_f = 0.50$ (AcOEt/Me OH, 9:1).

$[\alpha]_D = +4$ (C = 9, C₂H₅OH).

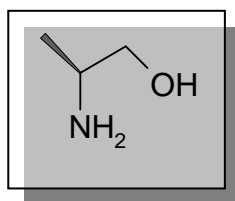
IR (KBr, ν en cm^{-1}): 3300 (NH), 3360 (OH).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 3.6 – 3.4 (dd, $J = 10.4$ Hz, 2H, CH₂OH), 3.3 (m, 1H, *CH), 2.50 – 2.57 (m, 2H, CH*i*Bu), 1.76 (m, 3H, NH₂ + OH), 1.96 – 1.61 (m, 1H, CH (CH₃)₂), 0.9 (2d, $J = 6.1$ Hz, 2CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 64, 58, 32, 19.5, 20.

SM (NOBA, FAB > 0): 118 [M + H]⁺ 100%.

IV-3-1-d) (S)-2-amino-propan-1-ol 124d:



$M = 75$ [C₃H₉NO].

Rdt = 80%.

$F^{\circ}C = 82 - 84^{\circ}C$.

$R_f = 0.40$ (AcOEt/Me OH, 9:1).

$[\alpha]_D = +6$ (C = 10, C₂H₅OH).

IR (KBr, ν en cm^{-1}): 3300 (NH), 3360 (OH).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 3.6 – 3.4 (dd, $J = 10.4$ Hz, 2H, CH₂OH), 3.3 (m, 1H, *CH), 1.76 (m, 3H, NH₂ + OH), 1.96 (m, 3H, CH₃).

SM (NOBA, FAB > 0): 76 [M + H]⁺ 100%.

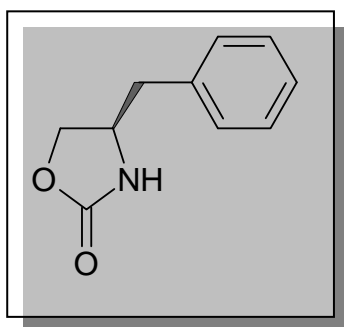
IV-3-2- Préparation des oxazolidinones chirales: (cyclisation)

*** Mode opératoire général :**

Dans un ballon équipé d'un système de distillation, on met 1 équivalent d'aminoalcool, 0.1 équivalent de K₂CO₃ et 2.05 équivalents de Et₂CO₃. Le mélange réactionnel est chauffé à 135°C sous agitation magnétique pendant 10 heures. L'évolution de la réaction est suivie sur ccm, qui montre la formation d'un produit moins polaire révélé à la ninhydrine. La distillation d'une quantité d'éthanol montre que la réaction est en cours.

Traitement :

Après refroidissement du système, le milieu réactionnel est dilué au CH_2Cl_2 , lavé par l'eau distillée jusqu'à pH neutre puis séchée sur Na_2SO_4 , la phase organique est concentrée sous pression réduite et on obtient une huile jaune. Une recristallisation est effectuée dans l'hexane afin d'obtenir un solide blanc.

IV-3-2-a) (S)-4-Benzyl-1, 3-oxazolidin-2-one 125a:

M = 177 [$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$].

Rdt = 80%.

F°C = 88 - 90°C.

R_f = 0.78 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9:1).

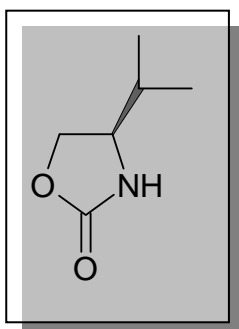
[α]_D = -63 (C = 1, CHCl_3).

IR (KBr, ν en cm^{-1}): 3300 (NH), 1750 (C=O).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.30 – 7.40 (m, 5H, H-Ar) ; 5.50 (d, $J = 7\text{Hz}$, 1H, NH) ; 4.00 – 4.40 (m, 3H, *CH + CH₂O) ; 2.90 (dd, $J = 14.6, 8.6\text{ Hz}$, 1H, HCH-Ph) ; 2.80 (dd, $J = 14.6, 10.1\text{ Hz}$, 1H, HCH-Ph).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 160.2, 139.6, 129.0, 128.7, 125.9, 72.5, 56.3 ; 48.

SM (NOBA, FAB > 0): 178 [$\text{M} + \text{H}$]⁺100%.

IV-3-2-b) (S)-4-isopropyl-1, 3-oxazolidin-2-one 125b:

M = 129 [C₆H₁₁O₂N].

Rdt = 77%.

F°C = 72 - 74°C.

R_f = 0.65 (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1).

[α]_D = +14.6 (C = 1, C₂H₅OH).

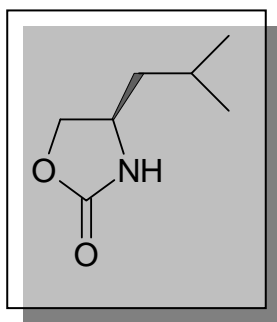
IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3300 (NH), 1770 (C=O).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.25 (s, 1H, NH); 5.50 (d, *J* = 7 Hz, 1H, NH) ; 4.30 (dd, *J* = 8.6, 6.3 Hz, 1H, HCHO); 4.00 (dd, *J* = 8.3, 6.3 Hz, 1H, HCHO) ; 3.55 (m, 1H, *CH) ; 1.74 (m, 1H, CH), 0.83 (2d, *J* = 6.9 Hz, 6H, 2CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 160, 68, 58, 32, 18.

SM (NOBA, FAB > 0): 130 [M + H]⁺100%.

IV-3-2-c) (S)-4-isobutyl-1,3-oxazolidin-2-one 125c:



M = 143 [C₇H₁₃O₂N].

Rdt = 75%.

F°C = 82 - 84°C.

R_f = 0.70 (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1).

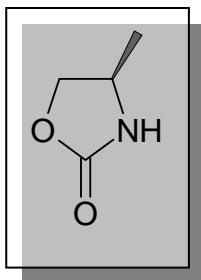
[α]_D = +22 (C = 1, C₂H₅OH).

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3280 (NH), 1775 (C=O).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.25 (s, 1H, NH); 4.40 – 4.10 (2dd, *J* = 6.3, 6.8, 8.5 Hz, 1H, CH₂O) ; 3.60 (m, 1H, *CH) ; 2.00 (m, 1H, CH), 1.62 (m, 2H, CH₂) ; 0.83 (2d, *J* = 6.6 Hz, 6H, 2CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 159, 67, 56, 31, 24, 21.

SM (NOBA, FAB > 0): 144 [M + H]⁺100%.

IV-3-2-d) (S)-4-Méthyl-1, 3-oxazolidin-2-one 125d:

M = 101 [C₄H₇O₂N].

Rdt = 80%.

F°C = 86 - 98°C.

R_f = 0.62 (CH₂Cl₂/MeOH, 9:1).

[α]_D = -46 (C = 1, C₂H₅OH).

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3300 (NH), 1778 (C=O).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 6.45 (s, 1H, NH); 4.45 (dd, *J* = 6.6, 5.2 Hz, 1H, HCHO); 4.00 (dd, *J* = 5.2, 1.1 Hz, 1H, HCHO); 3.95 (m, 1H, *CH); 1.25 (d, *J* = 5.9 Hz, 3H, CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 165, 70, 57, 20.

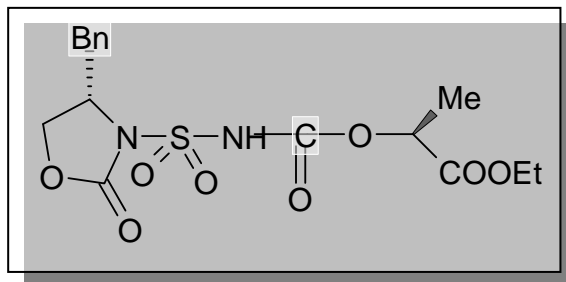
SM (NOBA, FAB > 0): 102 [M + H]⁺ 100%.

IV-4- Préparation de N-acylsulfonamides bis-oxazolidin-2-ones:**IV-4-1- Préparation de carboxylsulfamides dérivés de (L)-lactate d'éthyle:***** Mode opératoire général :**

A une solution d'isocyanate de chlorosulfonyle (1.62 g, 11.4 mmol) dans le dichlorométhane anhydre (20 ml), 1 équivalent de α-hydroxyester (L)-lactate d'éthyle (1.34 g, 11.4 mmol) dans le dichlorométhane est ajouté goutte à goutte à 0°C.

Après 30 minutes d'agitation le carbamate formé est ajouté à une solution d'oxazolidinone chirale dérivé d'acide aminé (2.01 g, 11.4 mmol) en présence de 1.1 équivalents de triéthylamine à 0°C. La réaction est laissée à température ambiante sous agitation magnétique pendant 1 heure. Le mélange réactionnel est lavé par une solution de HCl 0.1 N puis à l'eau distillée. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium, évaporée et purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice éluée au dichlorométhane pour donner 17 % de carboxylsulfamides et 46 % de N-acylsulfonamide bis-oxazolidinones.

IV-4-1-a) Ethyl(2S)-2-méthyl-3-([(4R)-4-benzyl-2-oxo-1,3-oxazolidin-3-yl]sulfonyl)amino)-3-oxopropanoate 127a:



M = 400 [C₁₆H₂₀O₈N₂S].

Rdt = 17%.

F°C = 117-119°C.

R_f = 0.61 (CH₂Cl₂-MeOH, 9/1).

[α]_D = +4.2 (c = 1, CH₂Cl₂).

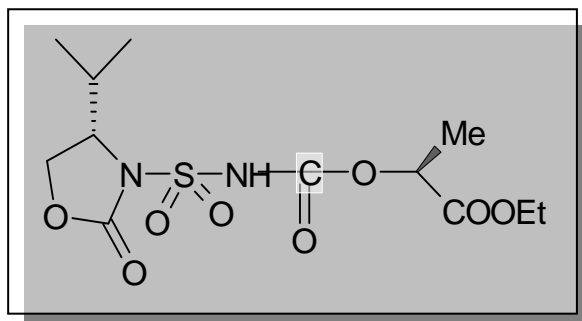
IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3150 (NH), 1781, 1745, 1685 (C=O), 1130 et 1340 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 8.9 (s, 1H, NH), 7.6 (m, 5H, H-Ar), 4.8 (q, J = 7.3 Hz, 1H, *CH-CH₃), 4.10 - 4.25 (2dd, J = 3.2, 9.8, 3.4, 2H, CH₂-cyc), 3.9 (q, J = 6.5 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 3.4-2.8 (2dd, J = 3.5, 9.8, 13.5, 2H, CH₂-Ph), 1.2 (d, J = 7.3 Hz, 3H, *CH-CH₃), 1.0 (t, J = 6.3 Hz, 3H, CH₂-CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 167.1, 157.2, 151.8, 138, 129, 128, 125, 67.4, 63.5, 61.3, 41.9, 40.1, 17.3, 15.5.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 401[M+H]⁺.

IV-4-1-b) Ethyl(2S)-2-méthyl-3-([(4R)-4-isopropyl-2-oxo-1,3-oxazolidin-3-yl]sulfonyl)amino)-3-oxo-propanoate 127b :



$M = 352$ [$C_{12}H_{20}O_8N_2S$].

Rdt = 17%.

F°C = 118-120°C.

R_f = 0.80 (CH₂Cl₂/MeOH, 9/1).

[α]_D = +3.5 (c = 1, CH₂Cl₂).

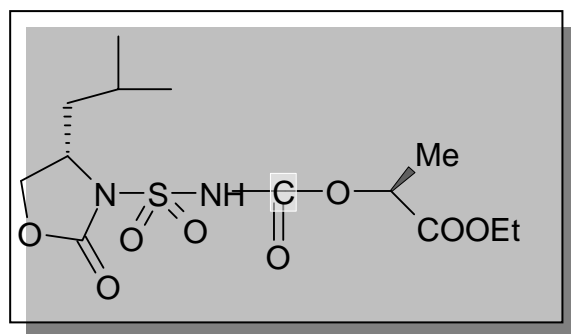
IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3200 (NH), 1787, 1734, 1705 (C=O), 1191 et 1398 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 8.2 (s, 1H, NH), 5.0 (q, 1H, *J* = 7.0 Hz, *CH-CH₃), 4.2 (q, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 4.0 - 4.1 (ddd, *J* = 3.5, 8.1, 7.9 Hz, 2H, CH₂-cyc), 3.9 (m, 1H, *CH-cyc), 1.6 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H, *CH-CH₃), 1.40 (m, 1H, CH-*iPr*), 1.15 (2d, *J* = 9 Hz, 6H, 2CH₃), 1.1 (t, *J* = 6.2 Hz, 3H, CH₂-CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 169.1, 159.6, 151.6, 67.4, 62.5, 61.3, 44.9, 32.1, 19.3, 15.5.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 353[M+H]⁺.

IV-4-1-c) Ethyl(2*S*)-2-méthyl-3-([(4*R*)-4-isobutyl-2-oxo-1,3-oxazolidin-3-yl]sulfonyl)amino)-3-oxopropanoate **127c**:



$M = 366$ [$C_{13}H_{22}O_8N_2S$].

Rdt = 14%.

F°C = 90-92°C.

R_f = 0.75 (CH₂Cl₂-MeOH, 9/1).

[α]_D = +8.5 (c = 1, CH₂Cl₂).

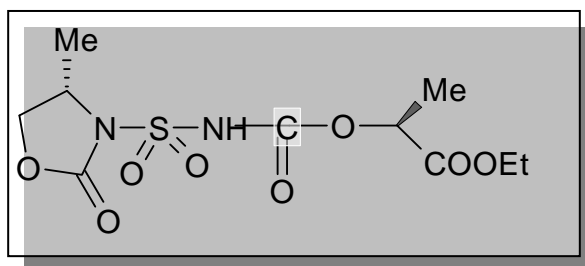
IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3250 (NH), 1784, 1742, 1702 (C=O), 1182 et 1386 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 8.9 (s, 1H, NH), 5.1 (q, *J* = 7.2 Hz, 1H, *CH-CH₃), 4.6 (m, 1H, *CH-cyc), 4.2 (q, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 4.3 - 4.0 (2dd, *J* = 3.5, 8.1, 7.9 Hz, 2H, CH₂-cyc), 2.0 (m, 1H, CH-*iso*-Bu), 1.6 (m, 2H, CH₂ *iso*-Bu), 1.5 (d, *J* = 7.2 Hz, 3H, *CH-CH₃), 1.3 (t, *J* = 6.3 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 0.9 (2d, *J* = 9 Hz, 6H, 2CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 172.2, 162.8, 151.6, 67.4, 65.5, 61.3, 43.9, 35.1, 25.2, 23.1, 17, 14.6.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 367[M+H]⁺.

IV-4-1-d) Ethyl(2S)-2-méthyl-3-([(4R)-4-méthyl-2-oxo-1,3-oxazolidin-3-yl]sulfonyl)amino)-3-oxopropanoate 127d:



M = 324 [C₁₀H₁₆O₈N₂S].

Rdt = 15%.

F°C = 127-129°C.

R_f = 0.72 (CH₂Cl₂-MeOH, 9/1).

[α]_D = -11.5 (c = 1, CH₂Cl₂).

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3220 (NH), 1785, 1705, 1735, (C=O), 1175 et 1385 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 8.7 (s, 1H, NH), 3.75 (q, J = 6.5 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 4.8 (q, J = 6.2 Hz, 1H, *CH-CH₃), 4.2 (m, 1H, *CH-cyc), 4.1 - 4.2 (m, 2H, CH₂-cyc), 1.6 (d, J = 6.2 Hz, CH₃-*CHcyc), 1.5 (d, J = 6.3 Hz, 3H, *CH-CH₃), 1.1 (t, J = 6.2 Hz, 3H, CH₂-CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 170.2, 160.3, 154.5, 67.8, 62.3, 33.4, 19.2, 18.1, 15.4.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 325[M+H]⁺.

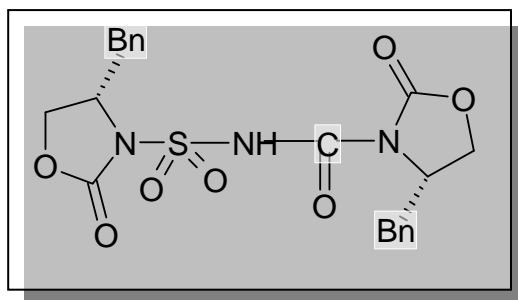
IV-4-2- Préparation de N, N'-acylsulfonamide bis-oxazolidinones :

* Mode opératoire général :

A une solution d'oxazolidinone chirale (2.01g, 11.4 mmol) dérivé d'acide aminé dans le dichlorométhane anhydre (20 ml) et en présence de 1.2 équivalents de triéthylamine (0.9 ml, 13.7 mmol) à température ambiante sont ajoutés 1 équivalent de carboxylsulfamide préparé précédemment. La réaction est laissée sous agitation magnétique pendant 2 heures. Le mélange réactionnel est traité avec une solution de HCl 0.1N puis à l'eau distillée.

La phase organique est séchée sur sulfate de sodium, concentrée, évaporée puis purifiée sur colonne de gel de silice éluée au $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EP}$ 9:1 pour donner le *N, N'*-acylsulfonamide bis-oxazolidinone sous forme de poudre blanche avec de bons rendements.

IV-4-2-a) (4*S*)-4-benzyl-*N*-[(4*S*)-4-benzyl-2-oxo-oxazolidin-3-yl]-2-oxo-oxazolidine-3-carbonyl sulfonamide 128a:



M = 459 [$\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_7\text{N}_3\text{S}$].

Rdt = 80%.

F°C = 147.2°C.

R_f = 0.56 (CH_2Cl_2 -MeOH, 9/1).

[α]_D = +8.5 (c = 1, CH_2Cl_2).

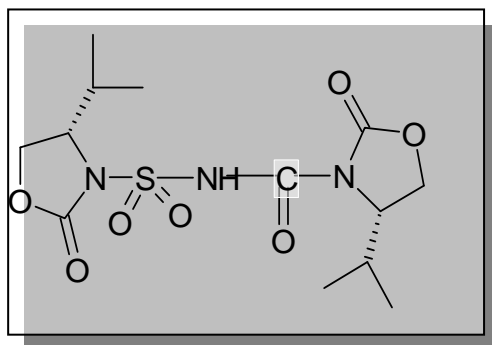
IR (KBr, ν en cm^{-1}): 3166-3045 (NH), 1769 et 1702 (CO), 1170 et 1375 (SO_2).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 9.1 (s, 1H, NH), 7.10 – 7.3 (m, 10H, H-Ar), 4.9 (m, 1H, *CH-cyc); 4,7 (m, 1H, *CH-cyc), 4.2 (m, 4H, 2CH₂-cyc), 3.6 (2dd, *J* = 3.5, 9.8, 13.5, 2H, CH₂-Ph), 3.1 (m, 2H, CH₂-Ph).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 161, 152.3, 151.8, 134, 130, 128, 124, 128, 65.6, 64.9, 40.9, 40.2.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 460 [M+H]⁺.

IV-4-2-b) (4*S*)-4-isopropyl-*N*-{[(4*S*)-4-isopropyl-2-oxo-1,3-oxazolidin-3-yl]sulfonyl}-2-oxo-1,3-oxazolidine-3-carboxamide 128b:



$M = 363$ [$C_{13}H_{21}O_7N_3S$].

Rdt = 62%.

F°C = 145.6°C.

$R_f = 0.78$ (CH_2Cl_2 -MeOH, 9/1).

$[\alpha]_D = +8.5$ ($c = 1$, CH_2Cl_2).

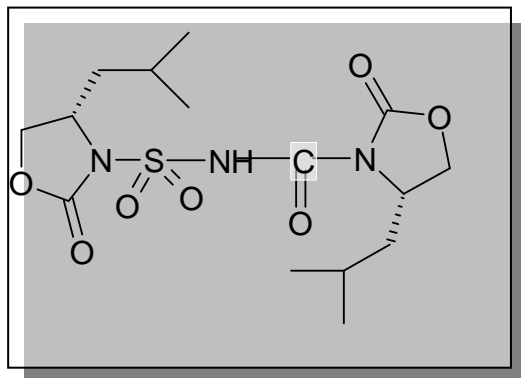
IR (KBr, ν en cm^{-1}): 3155-3031 (NH), 1787 et 1702, (CO), 1120 et 1345 (SO_2).

RMN¹H ($CDCl_3$, δ ppm): 11.2 (s, 1H, NH), 4.4 (m, 2H, CH_2 -cyc), 4.2 (m, 2H, CH_2 -cyc), 4.1 (m, 1H, *CH), 4.0 (m, 1H, *CH), 2.0 (m, 2H, 2CH-*iPr*), 1.1 - 0.9 (2d, $J = 9.2$ Hz, 12H, 4 CH_3).

RMN¹³C ($CDCl_3$, δ ppm): 162, 150.6, 151.2, 63.1, 62.2, 58.2, 59.1, 32. 32.3, 19.2, 18.4.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 362[M-H]⁺.

IV-4-2-c) (4*S*)-4-isobutyl-*N*-[(4*S*)-4-isobutyl-2-oxo-oxazolidin-3-yl]-2-oxo-oxazolidine-3-carbonyl sulfonamide **128c**:



$M = 391$ [$C_{15}H_{25}O_7N_3S$].

Rdt = 70%.

F°C = 144.9°C.

$R_f = 0.80$ (CH_2Cl_2 /MeOH, 9/1).

$[\alpha]_D = -5.5$ ($c = 1$, CH_2Cl_2).

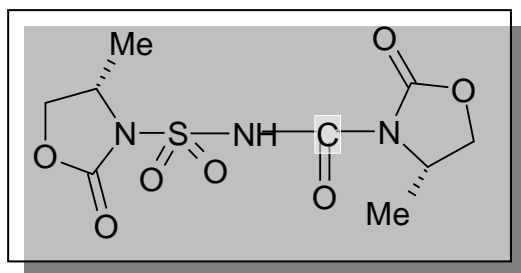
IR (KBr, ν en cm^{-1}): 3170-3028 (NH), 1789 et 1678 (CO), 1130 et 1335 (SO_2).

RMN¹H ($CDCl_3$, δ ppm): 11 (s, 1H, NH), 4.6 - 4.5 (m, 4H, CH_2 -cyc), 4.4 (m, 1H, *CH), 4.2 (m, 1H, *CH), 2.2 (m, 2H, CH_{iso-Bu}), 1.7 (m, 4H, CH_2_{iso-Bu}), 0.92 (d, $J = 8.8$ Hz, 12H, 4 CH_3).

RMN¹³C ($CDCl_3$, δ ppm): 162, 152.4, 151.7, 68.2, 67.1, 43.2, 42.2, 24.4, 24.1, 23.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 414[M+Na]⁺.

IV-4-2-d) (4S)-4-méthyl-N-[[(4S)-4-méthyl-2-oxo-1,3-oxazolidin-3-yl]sulfonyl]-2-oxo-1,3-oxazolidine-3-carboxamide 128d:



M = 307 [C₉H₁₃O₇N₃S].

Rdt = 62%.

F°C = 145.6°C.

R_f = 0.78 (CH₂Cl₂-MeOH, 9/1).

[α]_D = -7.5 (c = 1, CH₂Cl₂).

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3155-3031 (NH), 1769 et 1702 (CO), 1120 et 1345 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 9.9 (s, 1H, NH), 4.2 - 4.5 (m, 4H, 2CH₂-cyc), 4.1 (m, 2H, *CH-cyc), 1.3 (d, J = 7.2 Hz, 6H, 2CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 160, 152.6, 151.8, 68.2, 67.5, 37, 38.1 19.5, 19.2.

SM ESI 30ev m/z: 306 [M-H]⁺.

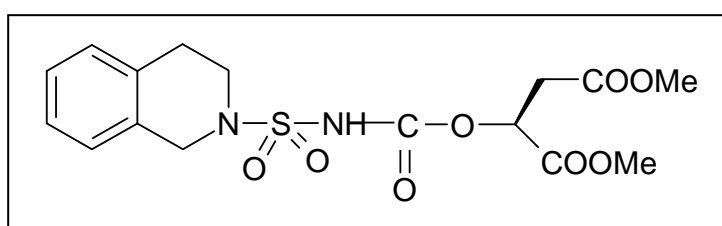
IV-5- Préparation des sulfonamides:

La solution de N-chlorosulfonylcarbamate (CSC) a été préparé par l'addition d'un équivalent de malate de méthyle sur l'isocyanate de chlorosulfonyle (ICS) (1.62 g, 11.4 mmol) dans (10 ml) du CH₂Cl₂ anhydre à 0°C. Cette solution est transvasée dans une ampoule à brome surmontée d'une garde à chlorure de calcium puis additionnée goutte à goutte à 1 équivalent d'amine primaire ou secondaire (1.22 g, 11.4 mmol), dans le CH₂Cl₂ anhydre qui est placée dans un bicol émergé dans un bain de glace, en présence de 1.1 équivalents de triéthylamine (1.27 g, 12.5 mmol) dans le même solvant. Le mélange réactionnel est abandonné sous agitation magnétique pendant 2 heures.

Traitement :

La solution est diluée au dichlorométhane lavée par une solution de HCl 0.1 N jusqu'à pH acide puis à l'eau distillée jusqu'à pH neutre. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium anhydre.

Après évaporation du solvant sous vide, le résidu de cette réaction est purifié sur colonne de gel de silice éluée par CH₂Cl₂ pour donner deux produits : un sulfonamide avec un rendement global de 60 % et un carboxylsulfamide avec un rendement global de 30 %.

IV-7-a) diméthyl (2S)-2-({[(3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-ylsulfonyl)amino] carbonyl} oxy) succinate 131a:

M = 400 [C₁₆H₂₀O₈N₂S].

Rdt = 30.10 %.

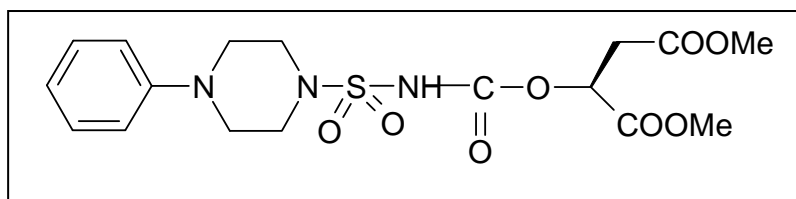
R_f = 0.61 (CH₂Cl₂-MeOH, 9.9/0.1).

IR (CCl₄, ν en cm⁻¹): 3261 (NH), 1751 (CO), 1319 et 1118 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.2 – 7 (m, 4H, H-Ar), 7.6 (m, 1H, NH), 4.5 (s, 2H, CH₂-N-cyc), 4.3 (m, 1H, *CH), 3.8 et 3.7 (2s, 6H, 2 OCH₃), 3.2 (t, 2H, J = 5.8 Hz, CH₂-N-cyc), 2.9 (m, 4H, CH₂-Ph + CH₂-*CH).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 177, 159, 135, 127.9, 126.8, 125.7, 62.7, 60.8, 48.2, 28.9, 25.3

SM ESI⁺ 30ev m/z: 400.7 [M+H]⁺ 100%, 422.8 [M+Na]⁺ 30%.

IV-7-b) diméthyl (2S)-2-({[phénylpépirazin-2(1H)ylsulfonyl]amino]carbonyl}oxy)succinate 131b:

M = 429 [C₁₇H₂₃O₈N₃S].

Rdt = 30.33 %.

R_f = 0.69 (CH₂Cl₂-MeOH, 9.9/0.1).

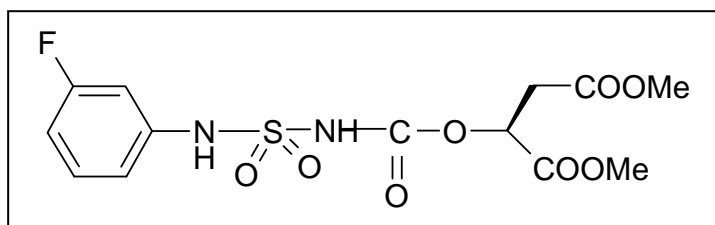
IR (CCl₄, ν en cm⁻¹): 3246 (NH), 1755 (CO), 1379 et 1166 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.5 (m, 1H, NH), 7.3 -6.9 (m, 5H, H-Ar), 5.4 (m, 1H, *CH), 3.8 et 3.7 (2s, 6H, 2 OCH₃), 3.6 (d, 2H, *CH-CH₂-). 3.3 (t, 4H, J = 5.2 Hz, 4H, CH₂-N), 2.9 (t, J = 5.4 Hz, 4H, CH₂-N-Ph).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 177, 159, 149.3, 129.6, 121.9, 114.3, 62.7, 60.8, 50.3, 43.4, 30.7.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 430 [M+H]⁺ 100%.

IV-7-c) diméthyl (2S)-2-[[[[(3-fluorophényl)amino]sulfonyl]amino]carbonyl]oxy}succinate 131c:



M = 378 [C₁₃H₁₅O₈N₂SF].

Rdt = 40.22 %.

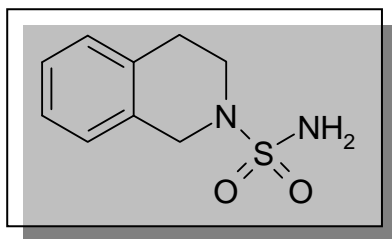
R_f = 0.57 (CH₂Cl₂-MeOH, 9.9/0.1).

IR (CCl₄, ν en cm⁻¹): 3370 et 3262 (2 NH), 1753 (CO), 1372 et 1163 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 8.0 (m, 1H, NH), 7.5 - 6.9 (m, 4H, H-Ar), 5.6 (m, 1H, *CH), 3.8 et 3.7 (2s, 6H, 2 OCH₃), 2.9 (m, 2H, *CH-CH₂-).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 177, 159, 163.7, 139.3, 131.1, 115.5, 110.5, 104.8, 62.7, 60.8, 30.7.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 379 [M+H]⁺.

IV-5- a) 1, 2, 3,4-Tetrahydroisoquinoline-2-sulfonamide **132a** :

M = 212 [C₉H₁₂O₂N₂S].

Rdt = 61.6%.

F°C = 170-171°C.

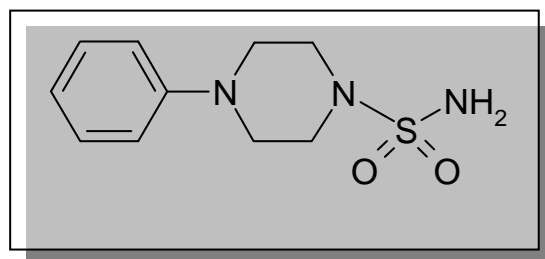
R_f = 0.35 (CH₂Cl₂-MeOH, 9.9/0.1).

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3350-3259 (NH), 1361 et 1155 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.2 - 6.9 (m, 4H, H-Ar), 4.2 (s, 2H, Ph-CH₂-N), 3.2 (t, J = 5.8 Hz, 2H, CH₂-N), 2.9 (t, 2H, J = 5.8 Hz, 2H, CH₂-Ph).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 167.7, 151.9, 131.1, 115, 110.5, 104.8, 81.4.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 213.2 [M+H]⁺ 100%.

IV-5-b) 4-phénylpipérazine-1-sulfonamide **132b** :

M = 241 [C₁₀H₁₅O₂N₃S].

Rdt = 60.10%.

F°C = 179-180°C.

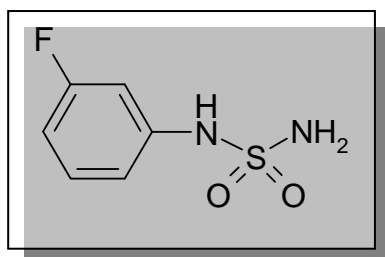
R_f = 0.39 (CH₂Cl₂-MeOH, 9.9/0.1).

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3350-3259 (NH), 1361 et 1155 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.3 - 6.7 (m, 5H, H-Ar), 3.2 (t, J = 5.2 Hz, 4H, CH₂-N), 3.1 (t, J = 5.4 Hz, 4H, CH₂-N-Ph).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 150.4, 128.9, 119.3, 115.8, 47.6, 45.6.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 242 [M+H]⁺.

IV-5-c) N-(3-fluorophényl) sulfamide 132c:

M = 190 [C₆H₇O₂N₂SF].

Rdt = 57.87%.

F°C = 91-92°C.

R_f = 0.29 (CH₂Cl₂-MeOH, 9.9/0.1).

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3370 et 3262 (2 NH), 1361 et 1155 (SO₂).

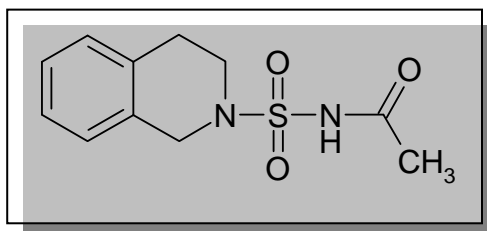
RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.0 - 6.3 (m, 4H, H-Ar), 4.7 (s, 2H, NH₂).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 159, 130.2, 124.6, 112.5, 78.8.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 191.2 [M+H]⁺ 70%, 213.3 [M+Na]⁺ 89%.

IV-6- L'acylation des sulfonamides:*** Mode opératoire général :**

Dans un ballon de 100 ml, on met 1 équivalent de sulfonamide préparé précédemment. A l'aide d'une ampoule à brome surmontée d'une garde à CaCl₂, est additionné goutte à goutte, 4 équivalents d'anhydride acétique à 0°C. L'évolution de la réaction est suivie par ccm. Après une heure d'agitation, on ajoute 20 ml d'eau froide, puis on filtre le solide formé. Le produit acylé ainsi obtenu est lavé plusieurs fois par l'éther éthylique.

IV-6-a) N-(3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-ylsulfonyl) acétamide 133a :

M = 254 [C₁₁H₁₄O₃N₂S].

Rdt = 65%.

F°C = 172-173°C.

R_f = 0.38 (CH₂Cl₂-MeOH, 9.9/0.1).

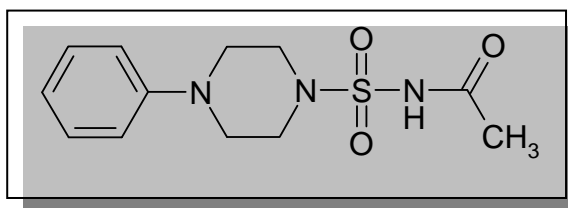
IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3260 (NH), 1711 (C=O), 1361 et 1155 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.4 - 7.0 (m, 4H, H-Ar), 4.6 (s, 2H, Ph-CH₂-N), 3.3 (m, 4H, CH₂-N + CH₂-Ph), 2.2 (s, 3H, CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 173, 134.1, 127.5, 126.9, 126.3, 125.7, 48.1, 47.2, 25.3, 21.6.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 255 [M+H]⁺ 100%.

IV-6-b) N-[(4-phénylpiperazin-1-yl)sulfonyl] acétamide 133b:



M = 283 [C₁₂H₁₇O₃N₃S].

Rdt = 67%.

F°C = 175-176°C.

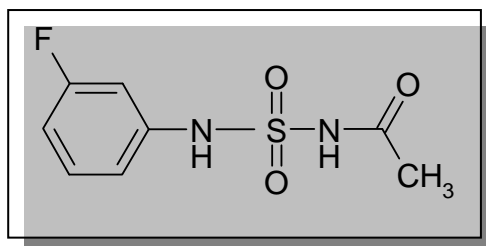
R_f = 0.42 (CH₂Cl₂-MeOH, 9.9/0.1).

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3260 (NH), 1710 (C=O), 1361 et 1155 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.7 - 6.9 (m, 5H, H-Ar), 2.5 (t, *J* = 5.2 Hz, 4H, CH₂-N), 3.1 (t, *J* = 5.4 Hz, 4H, CH₂-N-Ph), 2.3 (s, 3H, CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 173, 149.6, 129.6, 121.9, 114.3, 50.3, 43.4, 21.5.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 284 [M+H]⁺ 100%.

IV-6-c) N-[[3-fluorophényl]amino]sulfonyl] acétamide **133c** :

M = 232 [C₈H₉O₃N₂SF].

Rdt = 70%.

F°C = 110-111°C.

R_f = 0.33 (CH₂Cl₂-MeOH, 9.9/0.1).

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3372 et 3260 (2NH), 1710 (C=O), 1361 et 1155 (SO₂).

RMN¹H (CDCl₃, δ ppm): 7.1- 6.6 (m, 4H, H-Ar), 4.0 (s, 2H, NH-Ph), 2.4 (s, 3H, CH₃).

RMN¹³C (CDCl₃, δ ppm): 173, 163.7, 139.3, 131.1, 115.0, 110.5, 104.8, 21.8.

SM ESI⁺ 30ev m/z: 233 [M+H]⁺ 100%.

Conclusion générale

Conclusion générale :

Dans ce travail nous avons développé la synthèse d'une nouvelle famille d'oxazolidinones modifiées. Ces molécules ont été synthétisées sur la base de l'analogie structuro fonctionnelle des composés décrits dans la littérature comme le Linozolid et l'Eperzolid en introduisant le groupement sulfonyle.

L'accès aux 5-chlorométhyloxazolidinones a été réalisé en trois étapes à partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle et un alcool prochiral : carbamoylation, sulfamoylation et une cyclisation intramoléculaire dans des conditions douces.

Nous avons synthétisé les N, N'-acylsulfonamides bis oxazolidinones en mettant à profit la bifonctionnalisation de l'isocyanate de chlorosulfonyle. Il réagit d'abord par une réaction d'addition sur le site isocyanate, puis par une substitution sur le site chlorosulfonyle afin d'aboutir à des carboxylsulfamides. La condensation de ces derniers avec le motif oxazolidinone chirale permis l'accès aux N, N'-acylsulfonamides bis oxazolidinones avec de bons rendements.

L'effet de deux molécules de cette série, sur la croissance et la viabilité de deux types de cellules a été démontré *in vitro* sur culture cellulaire. Les cellules utilisées pour ces tests sont des lymphocytes humains obtenus à partir du sang périphérique humain et des cellules parasitaires.

Nous avons également préparé, une nouvelle série de sulfonamides et des carboxylsulfamides en deux étapes à partir de l'isocyanate de chlorosulfonyle et de malate de méthyle. Les carboxylsulfamides sont obtenus avec des proportions faibles par rapport aux sulfonamides qui peut être expliqué par la présence d'un ester actif.

Les sulfonamides préparés précédemment ont subi une réaction d'acylation dans des conditions douces pour donner les N-acylsulfonamides. Ces composés peuvent être intéressant sur le plan pharmacologique.

L'activité antibactérienne de deux sulfonamides a été évaluée *in vitro*, les résultats obtenus montre que ces deux molécules possèdent une activité bactériostatique intéressante.

L'étude biologique de l'un des sulfonamides *in vivo* a montré que ce produit présente une activité hypoglycémique.

Les méthodes spectroscopiques, infrarouge, **RMN** du proton et carbone 13, spectroscopie de masse et l'étude cristallographique par RX ont été mises à profit pour établir les caractéristiques structurales propres à ces produits.

Perspectives :

A la suite de ce travail, nous envisageons de :

- La séparation des énantiomères et l'évaluation biologique feront l'objet du développement futur.
- Les 5-chlorométhyloxazolidinones modifiés synthétisés dans ce travail possèdent un site nucléophile, ils peuvent être utilisés comme précurseurs dans d'autres réactions.
- Les résultats des tests biologiques obtenus avec les sulfonamides ouvrent un axe de recherche pour la réalisation de d'autres tests biologiques sur plusieurs aspects (antifongique et antiparasitaire, toxicogène et mutagène, l'étude des gènes de résistance).

ANNEXE

Evaluation biologique

I- Introduction :

A partir de 1939 des centaines d'antibiotiques sont isolés, sélectionnés, soumis aux essais thérapeutiques. C'est la période révolutionnaire des antibiotiques qui s'étend pendant une vingtaine d'années jusqu'en 1959.

C'est pendant cette époque que les principaux antibiotiques encore utilisés de nos jours ont été découverts : pénicillines, streptomycines, tétracyclines,...etc. C'est une véritable révolution en thérapeutique puisque, tour à tour, les maladies infectieuses les plus dangereuses sont maîtrisées, vaincues par les antibiotiques.

Les antibiotiques ont permis de sauver des millions de vie humaine, néanmoins l'apparition des premières résistances à la pénicilline a alerté la communauté scientifique.

De nos jours, la résistance des micro-organismes aux antibiotiques est considérée comme un problème majeur de santé publique. L'antibiotique est responsable de ce que l'on appelle une pression de sélection « une bactérie devenue résistante à un antibiotique va se développer prioritairement, les autres bactéries dites sensibles vont être éliminées, le champ est libre alors pour le développement de la bactérie résistante¹ ».

Le pouvoir d'adaptation des bactéries résistantes se manifeste par capacité à acquérir de nouvelles propriétés, soit par modification de leur génome, soit par gain d'information génétique nouvelle.

L'évolution rapide des bactéries pathogènes vers la multi résistance aux antibiotiques a réduit l'efficacité de ces derniers et touche en grande partie les sulfamides. Ainsi la mise en évidence de nouvelles molécules est indispensable afin de limiter cette progression et bien lutter contre les agents infectieux qui ne cessent pas d'évoluer.

L'objectif de ce travail est l'évaluation (*in vitro* et *in vivo*) de l'activité biologique de quelques molécules synthétisées au cours de ce travail:

¹(a) P. H. Roy. *Dissémination de la résistance aux antibiotiques : le génie génétique à l'œuvre chez les bactéries. Médecine/Science.* **1997**, 8 (13), 15.

(b) S. Schwarz, E. Chaslus-Dancla. *Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. Veterinal Research.* **2001**, 32 (3), 201.

II- Evaluation biologique, *in vitro*, des deux molécules de sulfonamide 132a et 132b :

II-1- Matériel biologique :

II-1-1- Souches bactériennes :

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont les suivantes (**Tab. 10**) :

3 souches de référence :

- *Escherichia coli* ATCC 25922.
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

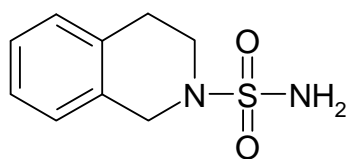
6 souches cliniques isolées à partir des urines de patients atteints d'infections urinaires :

- 2 souches d'*Escherichia coli*.
- 2 souches de *Staphylococcus aureus*.
- 2 souches *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau 10 : Liste des souches bactériennes utilisées.

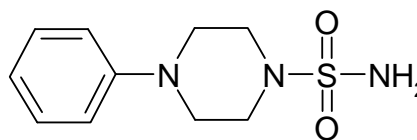
Nom de la souche	Numéro de la souche
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	S1
<i>Escherichia coli</i> 1 ^{er} souche	S2
<i>Escherichia coli</i> 2 ^{ème} souche	S3
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	S4
<i>Staphylococcus aureus</i> 1 ^{re} souche	S5
<i>Staphylococcus aureus</i> 2 ^{ème} souche	S6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	S7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1 ^{er} souche	S8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 2 ^{ème} souche	S9

II-1-2- Molécules de sulfonamide néosynthétisées :



3, 4-dihydroisoquinoline-2(1H)-sulfonamide

132a



4-phénylpipérazine-1-sulfonamide

132b

Figure 11: Structure chimique des deux molécules de sulfonamides testées.

II-2- Méthodes :

II-2-a- Evaluation de l'activité des deux sulfonamides 132a et 132b (détermination de la zone d'inhibition) :

Nous avons préparé différentes dilutions des sulfamides à tester à partir de la poudre diluée dans de l'acétone à 0,2% (Tab. 11).

Tableau 11 : Les différentes dilutions des sulfonamides testés :

Dilution mère (µg / ml)	Concentration en tube (µg / ml)
400	2
	4
	8
	16
1600	32
	64
	128
	256
	512

La sensibilité aux sulfonamides néosynthétisés a été étudiée par la méthode de diffusion en milieu solide (méthode des disques) qui permet de déterminer la sensibilité des bactéries à croissance rapide vis-à-vis d'une gamme d'antibiotiques.

II-2-b- Méthode de diffusion en milieu gélose :

➤ **Préparation de l'inoculum :**

À partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement on prépare une suspension bactérienne dans l'eau physiologique stérile (0,9 %), son opacité doit être équivalente à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.

Pour les méthodes de diffusion en milieu solide la suspension bactérienne est diluée au 1/100^{ème}.

➤ **Ensemencement :**

L'ensemencement se fait par la méthode de Kirby-Baur, par écouvillonnage (appelée méthode NCCLS) :

- Plonger un écouvillon stérile dans une suspension bactérienne et laisser s'imbiber.
- Le sortir du tube en l'essorant doucement sur la paroi.
- Ensemencer la boîte de Muller-Hinton dont l'épaisseur de la gélose est de 4 mm, en frottant l'écouvillon sur sa surface et en tournant la boîte 3 fois de 60° afin d'assurer une bonne distribution de l'inoculum.
- Laisser sécher les boîtes pendant 15 à 20 min.

➤ **Application des disques :**

Les disques ont été appliqués à l'aide d'un distributeur (6 antibiotiques par boîte) ou d'une pince bactériologique stérile, (une fois appliquée le disque ne doit pas être déplacé).

➤ **Incubation :**

- Incuber les boîtes à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

➤ **Lecture :**

Pour chaque souche, et pour chaque antibiotique :

- Mesurer avec précision en millimètre le diamètre de la zone d'inhibition
- Les résultats de l'antibiogramme indiquent alors si la bactérie est sensible (S),

Intermédiaire (I) ou résistante (R) à l'antibiotique.

II-2-c- Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) :

Cette technique permet principalement de définir le spectre d'activité d'un nouvel antibiotique et d'étudier la sensibilité d'une espèce bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotique(s).

Elle est utilisée pour déterminer la plus petite concentration d'antibiotique capable d'inhiber la croissance d'un germe, en incorporant cet antibiotique à des séries de milieu de culture, en suivant un protocole expérimental défini. Cette recherche a été pratiquée sur milieu solide^{2,3}.

II-2-d- Protocole expérimental :

- Mettre 2 ml de chaque dilution de sulfonamide dans des boîtes de pétri numérotées de 1 à 13 une boîte est laissée sans antibiotique (témoin).
- Ajouter 18 ml du milieu Mueller Hinton fondu (45°C).
- Homogénéiser par mouvements rotatoires et laisser solidifier.
- Sécher les boites.
- Ensemencer la surface de la gélose avec l'inoculum des souches à étudier sous forme de stries parallèles.
- Incuber 18 h à 24 h à 37°C.
- Déterminer la **CMI** qui correspond à l'inhibition de la croissance sur la boîte contenant la plus faible concentration d'antibiotique.

II-2-e- Détermination de la CMB (Concentration minimale bactéricide) :

C'est la plus petite concentration d'antibiotique ne laissant subsister que 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18 h de culture à 37° C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide d'un antibiotique³.

La concentration minimale bactéricide correspond à la plus petite concentration d'antibiotique pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée.

Un volume de 0,1 ml de tous les tubes qui ne montrent pas de turbidité est subcultivé sur un milieu de gélose nutritif et incubé à 37° C pendant 18 à 24 h.

² **Ganiere J.P., Mangion C., et Peridy M., (2004).** Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides de la cefquinome, la marbofloxacine, la tylosine et la spiramycine en solution dans du lait vis-à-vis de bactéries isolées de mammites bovines. *Revue Médecine vétérinaire*.155, 8: 411.

³ **Scior T., Raddatz G., Figueroa R., Roth J. H., and Bisswanger H.A. (1997).** Molecular Modeling Study on Dapsone and Sulfonamides Comparing Structures and Properties with Respect to Anti-Leprosy Activity. *Journal of molecular modelling*.Springer Berlin / Heidelberg. Vol: 3, 8: 332.

II-3- Résultats :

II-3-1- Mise en évidence de l'activité antibactérienne des deux molécules de sulfonamide 132a et 132b :

Après incubation à 37° C pendant 24h, nous avons observé, pour toutes les souches testées, des zones d'inhibition autour des disques imbibés du sulfonamide **132a** (Figures 12, 13 et 14) et du sulfonamide **132b** (Figures 15, 16 et 17).

Nous avons constaté qu'il n'y a pas une grande différence entre les diamètres des zones d'inhibition (Tab. 12) pour les différentes souches testées.



Figure 12: Diamètre de la zone d'inhibition (**32 mm**) de la souche *Escherichia coli* (**S 3**) par le Sulfonamide **132a**.



Figure 13: Diamètre de la zone d'inhibition (**30 mm**) de la souche *Staphylococcus aureus* (**S 6**) par le sulfonamide **132a**.

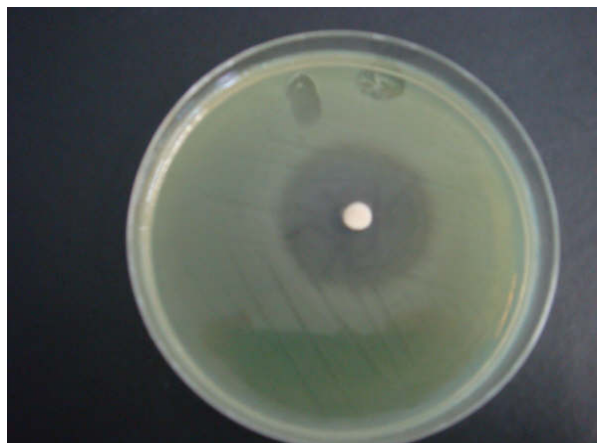


Figure 14: Diamètre de la zone d'inhibition (**25 mm**) de la souche *Pseudomonas aeruginosa* (**S 8**) par le sulfonamide **132a**.

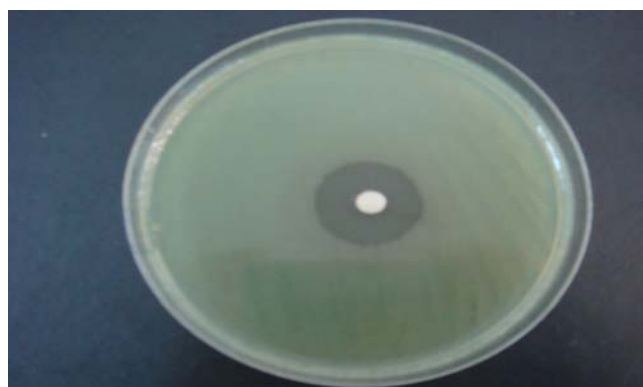


Figure 15: Diamètre de la zone d'inhibition pour la souche de *P.aeruginosa* (**S 8**) (**20 mm**), sulfonamide **132b**.

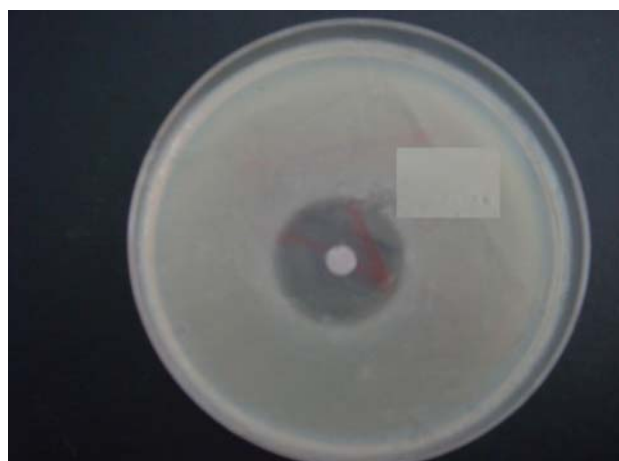


Figure 16: Diamètre de la zone d'inhibition pour la souche de *E.coli* (**S 2**) (**20 mm**), sulfonamide **132b**.

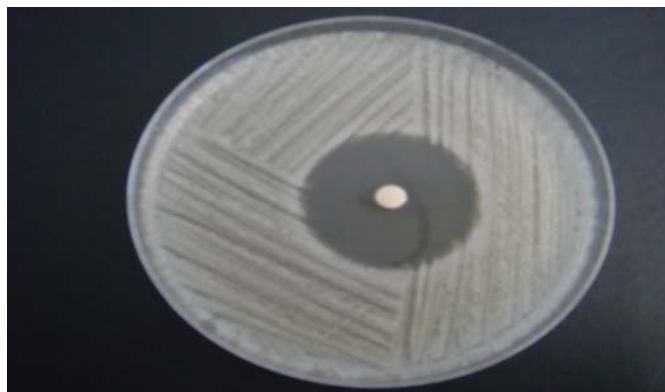


Figure 17: Diamètre de la zone d'inhibition pour la souche de *S.aureus* (S 5) (23 mm), sulfonamide 132b.

II-3-2- Antibiogramme des sulfonamides :

Les résultats de l'antibiogramme des deux molécules de sulfonamide réalisé par la technique de diffusion en milieu gélosé (Mueller-Hinton) sont représentés sur le tableau 12 et la figure 18.

Tableau 12: Diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes vis-à-vis des deux sulfonamides.

Souches bactériennes	Diamètres zones d'inhibition (mm) Mol. 132a	Diamètres zones d'inhibition (mm) Mol. 132b
S1	34	26
S2	29	20
S3	32	20
S4	32	24
S5	28	23
S6	30	22
S7	30	20
S8	25	20
S9	24	20

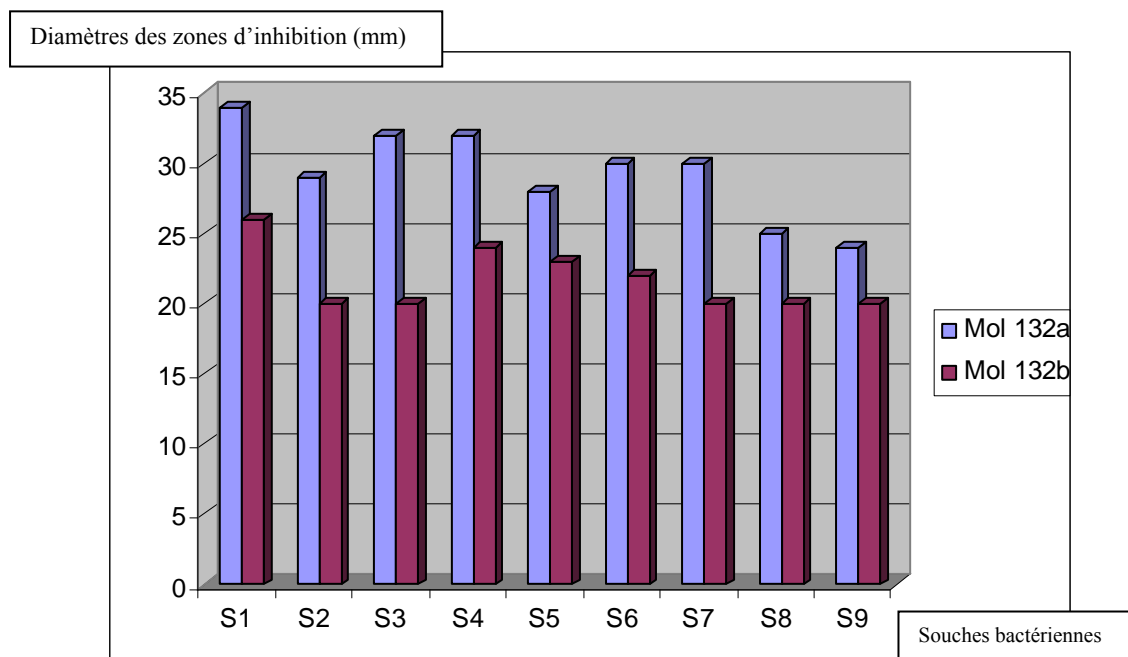


Figure 18: Diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes vis-à-vis des Sulfonamides **132a** et **132b**.

Après incubation l'activité du sulfonamide **132a** s'exprime chez toutes les souches étudiées par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques. Le diamètre de ces dernières varie entre 24 et 34 mm. Les souches de *P.aeruginosa* présentent les diamètres les plus petits (24 à 25 mm), contrairement aux souches d'*E.coli* et de *S.aureus* qui présentent des diamètres plus élevés variant entre 28 et 32 mm.

Le diamètre d'inhibition pour la molécule **132b** diffère d'une bactérie à une autre et varie de 20 à 26 mm. La souche qui présente le diamètre le plus petit est *Pseudomonas aeruginosa* et la souche qui présente le diamètre le plus élevé est *Escherichia coli* ATCC 25922.

Selon les valeurs du CASFM (Cavallo J. D. et coll., 2007), les diamètres obtenus sont supérieurs de 16 mm, ce qui permet de dire que les bactéries sont sensibles aux deux molécules **132a** et **132b**. On remarque toute fois que la molécule **132a** présente des zones d'inhibition plus importantes que la molécule **132b**. D'autre part, les souches de référence utilisées sont également sensibles aux deux molécules, particulièrement la souche de *P.aeruginosa*. En effet, les résultats obtenus pour cette souche sont très intéressants sachant que *P.aeruginosa* est une souche multi résistante.

II-3-3- Détermination de la CMI :

L'évaluation de l'activité antibactérienne de la molécule de sulfonamide a été réalisée par la méthode de dilution en milieu solide. Les résultats de la CMI sont représentés sur le tableau 13 et la figure 19.

Les résultats obtenus montrent nettement que la nouvelle molécule **132a** possède une activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées avec des CMI faibles de 4 à 8 µg/ml.

Toutes les bactéries sont inhibées par la nouvelle molécule **132b** de sulfonamide à des concentrations qui varient de 2 à 64 µg/ml. Les souches qui présentent la CMI la plus faible sont *E. coli* (S2) et *Staphylococcus aureus* (S5). La souche qui présente la CMI la plus élevée est *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (S7).

Tableau 13: Résultats de la CMI des différentes souches bactériennes vis-à-vis des sulfonamides **132a** et **132b**.

Souches bactériennes	CMI (µg/ml) (Mol. 132a)	CMI(µg/ml) (Mol. 132b)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	4	32
<i>Escherichia coli</i> souche1	4	2
<i>Escherichia coli</i> souche2	8	16
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	4	32
<i>Staphylococcus aureus</i> souche1	8	2
<i>Staphylococcus aureus</i> souche2	8	16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	8	64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> souche1	4	16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> souche2	4	8

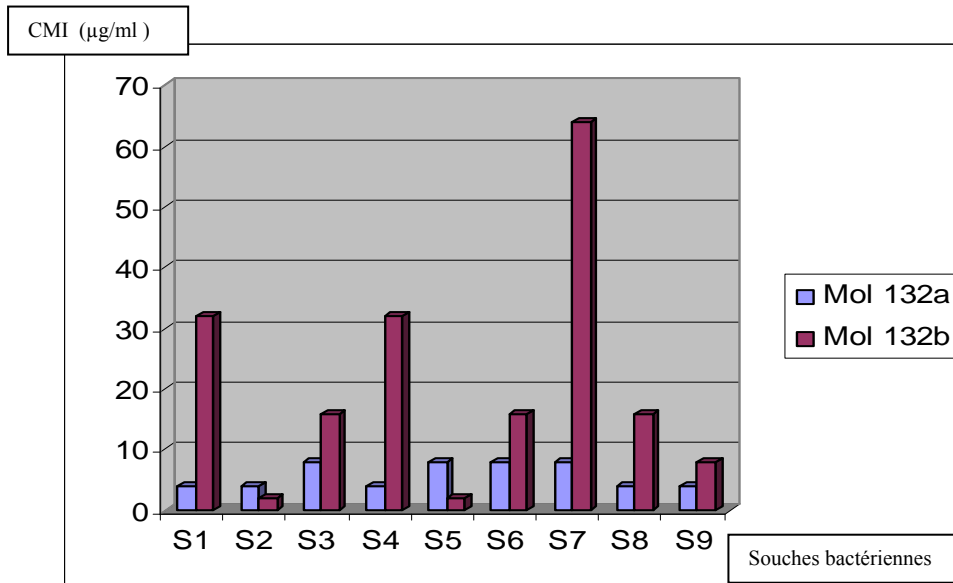


Figure 19: Résultats de la CMI des différentes souches bactériennes vis-à-vis des sulfonamides **132a** et **132b**.

II-3-4- Détermination de la CMB :

La comparaison des dénombrements bactériens effectué avant et après incubation en présence des molécules **132a** et **132b** a permis de déterminer un nombre supérieur à 10^2 UFC/ml dans toutes les boites ce qui correspond à un nombre supérieur à 0.01% du nombre initial des bactéries, ce qui signifie que ces molécules possèdent une action bactériostatique et non bactéricide.

III- Evaluation biologique, *in vivo*, des deux molécules de sulfamide **132a** et Glibenclamide :

III-1- Matériel :

III-1-a- Matériel biologique :

Notre étude a été réalisée sur un échantillon de 25 rats mâles pubères de la souche Uni, âgés d'environ 12 semaines et pesants 210 ± 17 g, fournis par l'institut de Pasteur d'Alger. Les rats sont regroupés en 5 lots de 5 rats.

III-1-b- Matériel chimique :

Constitué de la molécule **132a** et du glibenclamide (molécule commercialisée).

III-2- Méthodes :

III-2-1- évaluation de l'activité hypoglycémique du nouveau sulfonamide 132a :

III-2-1-a- Induction du diabète sucré expérimental chez le rat :

Le diabète sucré expérimental a été induit chez les rats sains après administration intra péritonéale d'une dose unique d'alloxane (140 mg/kg). La glycémie a été mesurée à j2 et à j5. Les rats ayant présenté une glycémie ≥ 200 mg/dl ont été considérés comme diabétiques.

Les rats alloxaniques utilisés dans cette expérience présentent une hyperglycémie franche et permanente entre 200 et 400 mg/dl, associée à une glycosurie.

III-2-1-b- Traitement :

Nous avons réparti 25 rats en 5 lots égaux (05 rats/lot), dont 20 rats diabétiques et 5 rats sains non diabétiques (témoins). Nous avons commencé le traitement à j6 avec la molécule **132a** et le glibenclamide⁴.

Les traitements par gavage (per os) ont été effectués comme suit :

Tableau 14 : Répartition des lots expérimentaux.

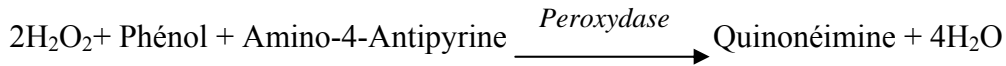
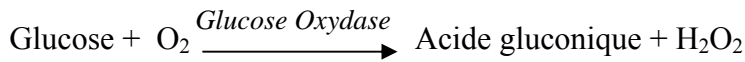
lots	Traitement	Les doses administrées
01	Témoin sain (T) (Non traité)	Reçoit la même quantité du liquide
02	Diabétique (D) (Non traité)	Reçoit la même quantité du liquide
03	Diabétique (G) (traité par le glibenclamide)	2,5 mg/kg
04	Diabétique SA1 (traité par le sulfonamide)	2,5 mg/kg
05	Diabétique SA2 (traité par le sulfonamide)	5,0 mg/kg

Ces traitements ont été poursuivis pour tous les groupes durant 09 jours, à raison d'une dose / jours.

⁴ **Scheen AJ (2003)**. Glucovance® dans le diabète de type 2, une association fixe metformine- glibenclamide pour faciliter le traitement d'une maladie bipolaire. *Rev Med Liege*, **58**, 448-452.

III-3-1- Dosage du glucose :

Détermination du glucose, à partir du sérum non hémolysé, selon les réactions :



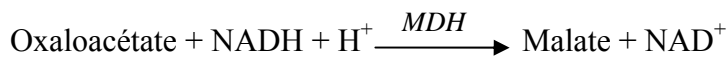
Mélanger et mesurer la variation d'absorbance (ΔA) pendant 75 secondes à 500 nm.

III-3-2- Dosage des paramètres biochimiques :

III-3-2-a- Dosage de l'Aspartate aminotransférase (ASAT / GOT) :

Le dosage est réalisé par méthode cinétique UV sur sérum non hémolysé.

L'aspartate aminotransférase (ASAT) précédemment appelée Glutamate oxaloacétate catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé de l'aspartate au α -cétoglutarate en formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate formé est ensuite réduit en Malate par le Malate déshydrogénase (MDH) et le NADH.



Le taux de la diminution dans la concentration de NADH, mesuré par photométrie, est proportionnel à la concentration catalytique de l'ASAT présentée dans l'échantillon.

Mélanger et incuber les tubes préparés pendant 1 minute puis lire l'absorbance à 340 nm, avec trois répétitions (chaque 1 minute d'incubation).

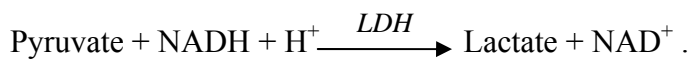
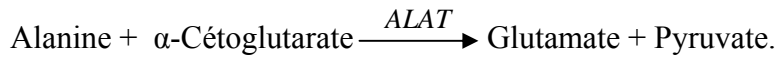
III-3-2-b- Dosage de l'Alanine aminotransférase (ALAT/TGP) :

Le dosage est réalisé par méthode cinétique UV sur sérum non hémolysé.

L'alanine Aminotransférase (ALAT) ou la transaminase glutamate pyruvate (TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé de l'alanine au α -cétoglutarate en formant le glutamate et le pyruvate⁵.

Le pyruvate formé est ensuite réduit en lactate par le lactate déshydrogénase (LDH) et le NADH.

⁵ **Gautier JF, Fetita S, Sobngwi E, Salaün-Martin C (2005).** Biological actions of the incretins on ASAT and ALAT and therapeutic perspectives in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 31:233-42.



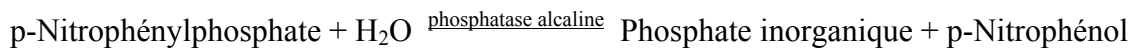
Le taux de la diminution dans la concentration de NADH, mesuré par photométrie, est proportionnel à la concentration catalytique de l'ASAT présentée dans l'échantillon.

Mélanger et incuber les tubes préparés pendant 1 minute et lire l'absorbance à 340 nm, avec trois répétitions (chaque 1 minute d'incubation).

III-3-2-c- Dosage de la Phosphatase alcaline (PAL) :

Le dosage est réalisé sur sérum non hémolysé.

En présence de Mg^{2+} et de diéthanolamine comme accepteur de phosphate, le p-Nitrophénylphosphate est scindé par les phosphatases alcalines en phosphate et p-Nitrophénol.



Mélanger puis, après 50 secondes d'incubation, mesurer la variation d'absorbance par minute ($\Delta A/\text{min}$) pendant 75 secondes à 405 nm.

III-3- Résultats :

III-3-a- La Glycémie :

Tableau 15: Valeurs de la glycémie chez les différents lots étudiés.

Glycémie	lots	Moyenne \pm écartype	Min	Max
Initiale Glucose (mg/dl)	DNT	298,51 \pm 18,04	274,34	321,43
	D + G 2,5 mg/kg	298,49 \pm 18,22	278,50	322,85
	D + Nv S 2,5 mg/kg	299,06 \pm 13,33	286,85	314,68
	D + Nv S 5 mg/kg	303,99 \pm 18,76	279,27	326,18
Finale Glucose (mg/dl)	DNT	396,20 \pm 27,50	356,80	430,50
	D + G 2,5 mg/kg	125,29*** \pm 12,44	112,40	145,62
	D + Nv S 2,5 mg/kg	153,46*** \pm 17,94	132,24	176,98
	D + Nv S 5 mg/kg	138,63*** \pm 16,06	118,35	159,46

*** Différence hautement significative par rapport au lot Diabétique non traité ($p \leq 0,001$).

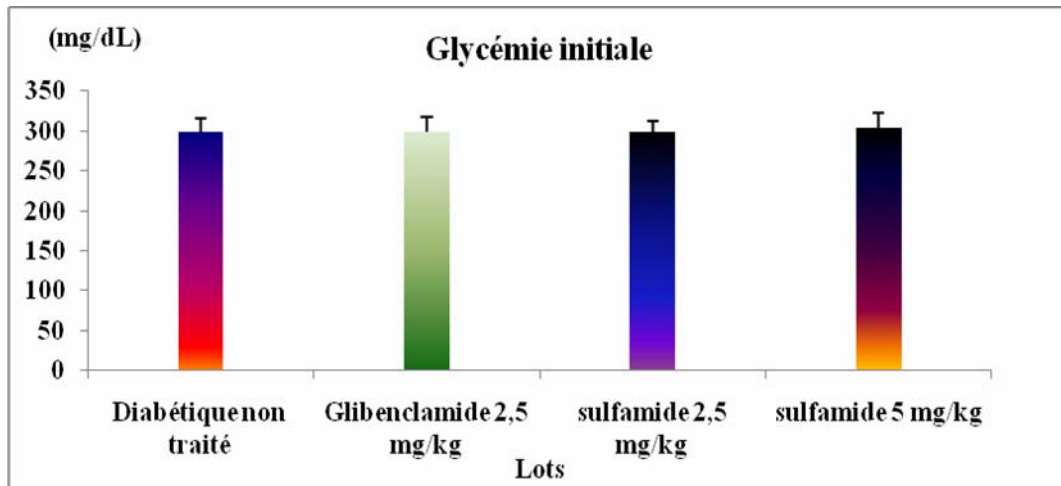


Figure 20 : Valeurs de la glycémie initiale chez les rats étudiés.

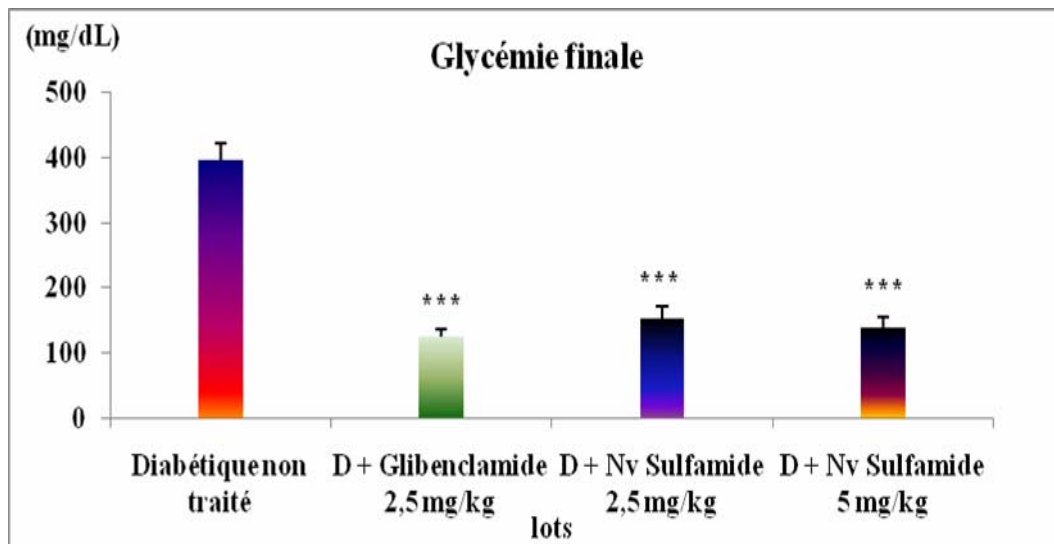


Figure 21 : Valeurs de la glycémie finale chez les rats étudiés.

Tableau 16 : Variation de la glycémie entre les quatre lots diabétiques

lots	Variation de la glycémie (mg/dL)								
	Jour 0	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5	Jour 6	Jour 7	Jour 8
DNT	298,51 ±18,04	307,08 ± 19,14	320,09 ± 19,11	341,60 ± 24,30	349,28 ± 10,19	361,21 ± 12,43	378,48 ± 14,57	391,30 ± 27,00	396,20 ± 27,40
D + G 2,5 mg/kg	298,49 ± 18,22	290,70 ± 28,40	266,80 ± 30,50	230,83 ± 18,95	205,70 ± 13,48	179,34 ± 16,96	142,63 ± 7,13	136,62 ± 13,36	125,29 ± 12,44
D + Nv S 5 mg/kg	299,06 ±13,33	290,60 ± 31,90	285,70 ± 23,10	263,02 ± 12,16	241,28 ± 21,92	203,28 ± 7,60	188,11 ± 8,73	178,11 ±12,80	152,27 ± 18,47
D +Nv S 2,5 mg/kg	303,99 ±18,76	299,18 ± 13,20	276,10 ± 25,70	234,33 ± 11,66	224,47 ± 17,19	186,29 ±15,40	177,19 ± 21,73	149,53 ± 16,53	138,63 ± 16,06

DNT : Diabétique Non Traité.

D + G 2,5 mg/kg : Diabétique + Glibenclamide 2,5 mg/kg.

D + Nv S 2,5 mg/kg : Diabétique +Nouveau Sulfamide 2,5 mg/kg.

D + Nv S 5 mg/kg : Diabétique + Nouveau Sulfamide 5 mg/kg.

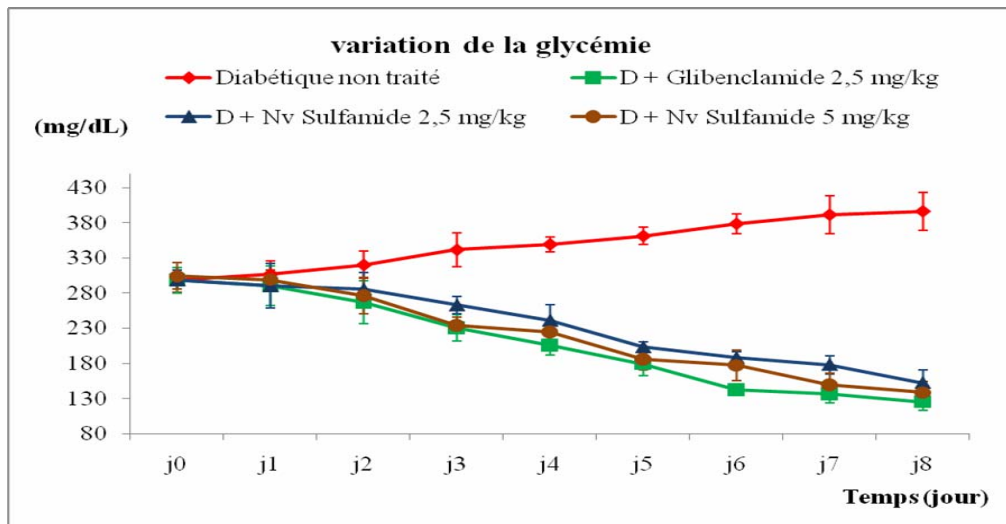


Figure 22: Variation de la glycémie entre les quatre lots diabétiques

Les résultats obtenus montrent une diminution hautement significative de la glycémie chez les trois lots diabétiques traités par rapport au lot diabétique non traité.

III-3-b- L'activité enzymatique :

Tableau 17 : Valeurs des paramètres enzymatiques chez les différents lots.

Paramètres	Lots	Moyenne ± écart	Min	Max
ASAT ou TGO (U/L)	DNT	376,60 ± 36,60	329,40	425,50
	D + G 2,5 mg/kg	329,98** ± 5,84	324,62	337,28
	D + Nv S 2,5 mg/kg	332,95* ± 16,55	315,35	351,66
	D + Nv S 5 mg/kg	328,70** ± 15,69	312,37	347,64
ALAT ou TGP (U/L)	DNT	308,60 ± 45,40	252,90	375,40
	D + G 2,5 mg/kg	254,13* ± 9,44	239,17	264,59
	D + Nv S 2,5 mg/kg	259,64* ± 10,57	242,54	269,37
	D + Nv S 5 mg/kg	262,10* ± 27,60	235,20	301,60
PAL (U/L)	DNT	43,74 ± 9,77	33,75	58,20
	D + G 2,5 mg/kg	27,40*** ± 2,09	25,25	30,75
	D + Nv S 2,5 mg/kg	38,00 ± 1,98	35,75	40,75
	D + Nv S 5 mg/kg	41,95 ± 2,02	39,75	44,75

*** Différence hautement significative par rapport au lot Diabétique non traité ($p \leq 0,001$).

** Différence très significative par rapport au lot Diabétique non traité ($p \leq 0,01$).

* Différence significative par rapport au lot Diabétique non traité ($p \leq 0,05$).

ASAT : Aspartate aminotransférase. / **TGO** : Transaminase glutamo-oxaloacétique.

ALAT : Alanine aminotransférase. / **TGP** : Transaminase glutamo-pyruvique.

PAL : Phosphatase alcaline.

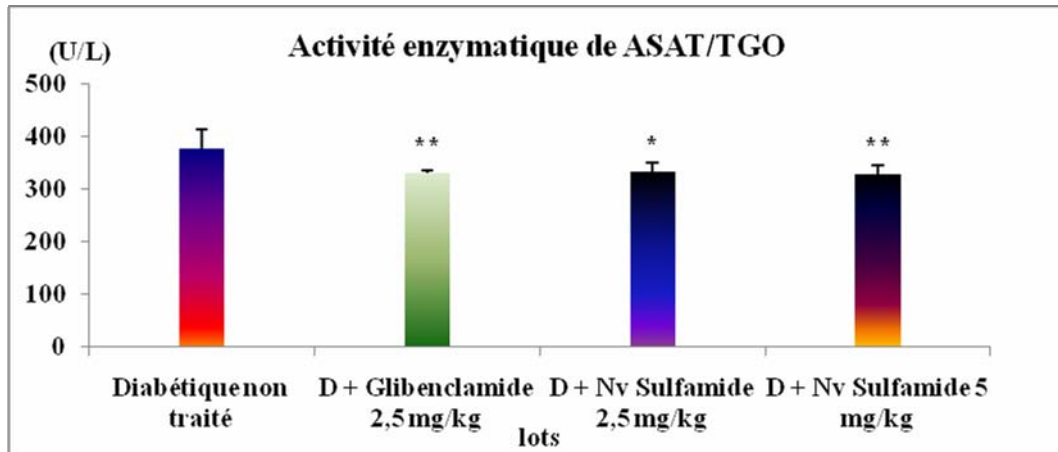


Figure 23: Valeurs de l'activité de l'ASAT/TGO chez les lots étudiés.

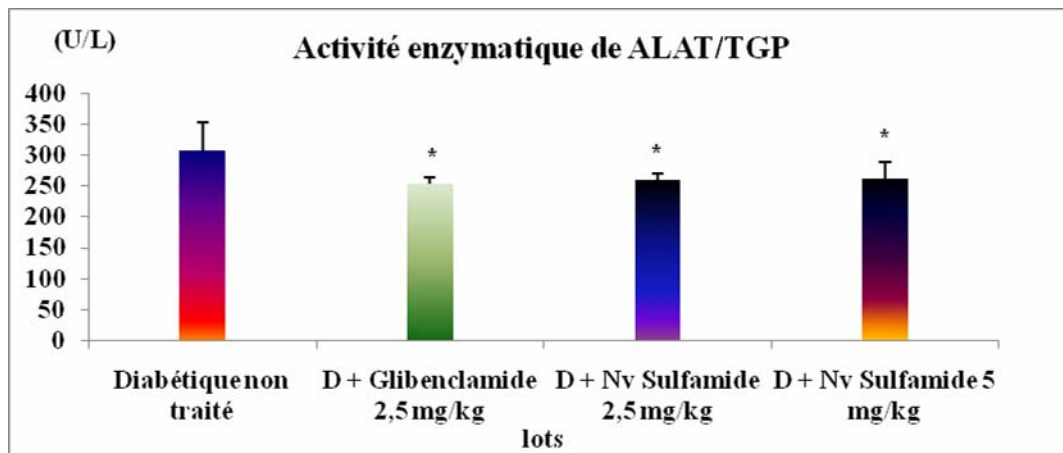


Figure 24 : Valeurs de l'activité de l'ALAT/TGP chez les lots étudiés.

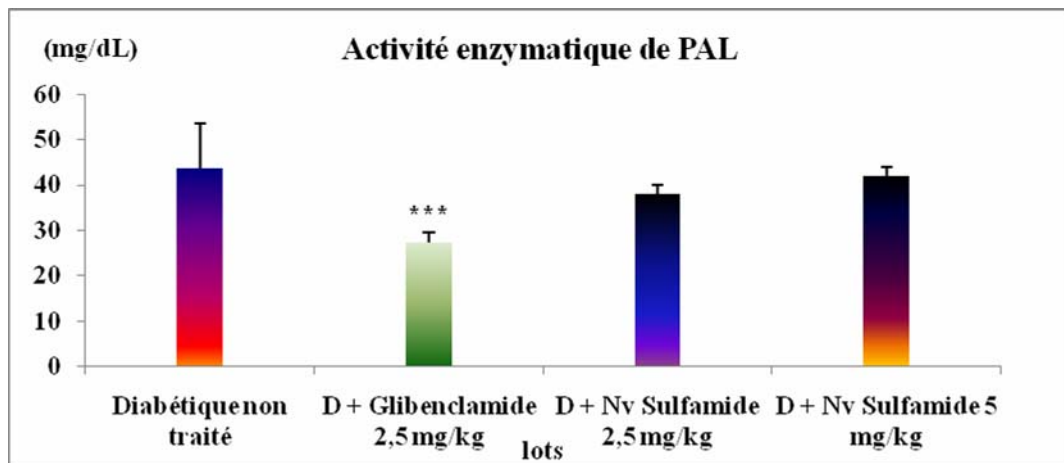


Figure 25 : Valeurs de l'activité de la PAL chez les lots étudiés.

Les résultats illustrés dans le tableau 17 et les figures 23, 24 et 25 révèlent une diminution très significative et significative de l'activité enzymatique de (ASAT/TGO) respectivement chez les rats diabétiques traités par (le G 2,5 mg/kg ou le Nv S 5mg/kg) et par (le Nv S 2,5mg/kg) par rapport aux rats diabétiques non traités.

On constate aussi une diminution significative de l'activité enzymatique de (ALAT/TGP) chez tous les rats diabétiques traités par rapport aux rats diabétiques non traités.

De plus, l'activité enzymatique de (PAL) a diminué d'une façon statistiquement hautement significative et non significative respectivement chez le lot diabétique traité par (le G 2,5 mg/kg) et par (le Nv S 2,5mg/kg ou le Nv S 5mg/kg).

IV- Evaluation de l'effet de deux molécules de type N, N'-acylsulfonamides bis oxazolidinones sur la viabilité et la multiplication de cellules lymphocytaires et toxoplasmiques :

L'effet de deux molécules de sulfonamides, nouvellement synthétisées (**128a** et **128b**), sur la croissance et la viabilité de deux types de cellules a été démontré *in vitro* sur culture cellulaire. Les cellules utilisées pour ces tests sont des lymphocytes humains obtenus à partir du sang périphérique humain et des cellules parasites de *Toxoplasma gondii* responsable de la toxoplasmose humaine et animale. Nous avons choisi de tester les molécules sur ces cellules, car parmi les principaux médicaments actifs contre *T. gondii*, les sulfonamides présentent un intérêt majeur. En effet, ils ont la capacité de bien diffuser dans l'organisme et de franchir la barrière placentaire. Ils ont la capacité de freiner la synthèse de l'acide folique par le toxoplasme en inhibant la dihydrofolate synthétase, sans entraver celle de l'hôte.

L'étude de la relation dose effet de ces deux molécules a été réalisée sur des cultures cellulaires en conditions stériles, à 37°C en présence de CO₂. Les cellules lymphocytaires et les cellules parasites (souche virulente RH Sabin) sont mises en culture dans le milieu RPMI, respectivement à une concentration finale de 2.10⁵ lymphocytes/ml et 10⁶ parasites/ml. Les molécules **128a** et **128b** ont été utilisées aux concentrations suivantes : 4 ; 3 ; 2 ; 1.5 ; 0.75 et 0.37 µg/ml.

Pour chaque concentration, il a été procédé à une culture en triplicate. Des contrôles étant pratiqués sur les lymphocytes parasites seuls et lymphocytes parasites plus l'acétone à 0.2%. 16 heures avant la fin de la culture, les lymphocytes sont additionnés de thymidine triée. Les cellules sont par la suite collectées sur fibre de verre. Elles seront additionnées de 3 ml de liquide de scintillation. La radioactivité exprimée en coups/minute est mesurée au compteur β à scintillation liquide. Les résultats sont exprimés en Index de Stimulation (SI).

Quant aux cellules parasites, elles sont observées quotidiennement au microscope optique pour évaluer leur viabilité et leur aspect morphologique. On arrête la culture au bout de 5 jours et on compte les parasites grâce à une cellule Malassez.

L'effet inhibiteur des N-N'acylsulfonamides bis oxazolidinones **128a** et **128b** est démontré en prolongeant le temps de contact entre le médicament et les cellules. Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 18: Les résultats des valeurs de stimulation pour les cultures lymphocytaires :

Culture lymphocytaire	Dose ($\mu\text{g/ml}$)	Valeurs de stimulation en cpm	IS
Témoin culture		1975.37 \pm 168.32	
Témoin-acétone		1886.49 \pm 157.16	
Témoin mitogène :			
PHA	10	117570.02 \pm 2984.23	54.32
ConA	250	68935.61 \pm 1658.09	31.16
Culture sulfamide :			
Sulfamide témoin	4	455.20 \pm 62.03	0.57
(sulfadiazine)	3	798.14 \pm 131.40	0.83
	2.5	1806.11 \pm 181.02	1.24
	1.5	2344.56 \pm 326.33	1.72
	0.75	4812.55 \pm 605.47	2.41
	0.37	4706.79 \pm 591.10	2.29
128a	4	468.25 \pm 120.35	0.49
	3	743.63 \pm 132.20	0.75
	2	1998.61 \pm 298.54	1.25
	1.5	2136.73 \pm 299.33	1.59
	0.75	2354.05 \pm 301.21	2.06
	0.37	3984.69 \pm 385.07	2.37
128b	4	98.16 \pm 51.21	0.16
	3	231.60 \pm 87.76	0.43
	2	695.08 \pm 127.72	0.66
	1.5	1030.41 \pm 148.16	0.87
	0.75	1266.32 \pm 217.03	1.03
	0.37	1651.24 \pm 253.05	1.12

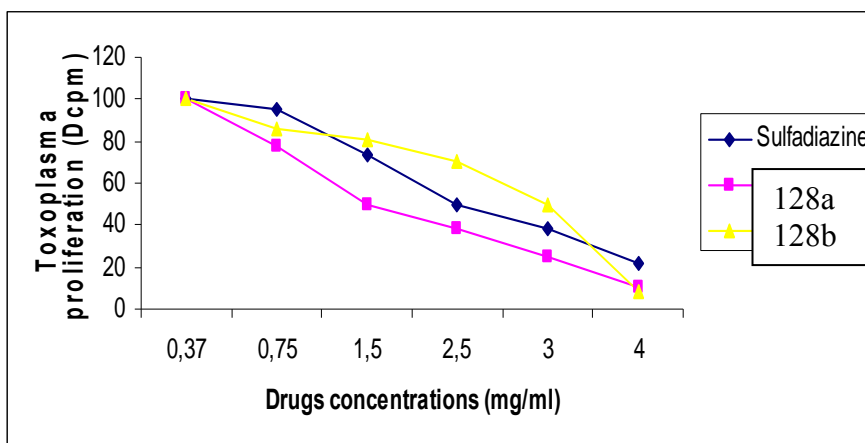


Figure 27: Les différentes concentrations de drogues sur la multiplication du *gondii de T.*

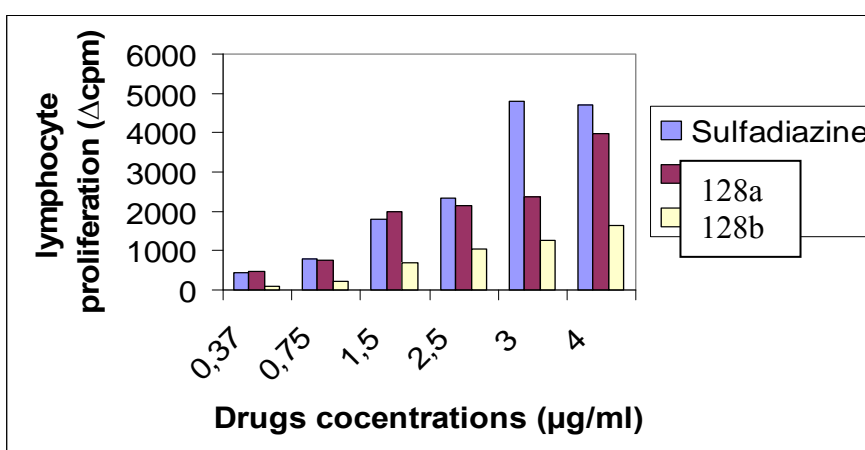


Figure 28 : Prolifération de lymphocyte après stimulation avec les nouvelles molécules des sulfamides.

Les résultats obtenus montrent que l'effet inhibiteur des molécules étudiées augmente à partir d'une concentration seuil estimée à 3 μg/ml et 0,75 μg/ml respectivement pour les molécules **128a** et **128b** et ce dans le cas d'une culture lymphocytaire.

Dans le cas de culture parasitaire, l'incubation des toxoplasmes avec les molécules **128a** et **128b** et après observation au microscope a montré que dans le cas de la molécule **128a** la CI50 est ≥ 2 μg/ml alors que dans le cas de la molécule **128b** la CI50 est ≥ 3 μg/ml. Aucun effet cytopathogène n'est observé sur les cellules parasitaires aux doses inhibitrices, traduisant ainsi une activité plutôt parasitostatique.

D'autre part ces résultats montrent que la molécule **128a** présenterait un seuil d'activité comparable à celui de la molécule témoin (sulfadiazine). Elle pourrait présenter un intérêt dans le traitement des infections toxoplasmiques aiguës et chroniques et pourquoi pas de certaines tumeurs. L'évolution actuelle de la recherche se fait vers l'étude de l'activité des médicaments sur les voies métaboliques de diverses pathologies ainsi que leur distribution tissulaire et leur action sur les sites de l'infection.

Conclusion :

- les études effectuées *in vitro* ont permis de mettre en évidence une activité antibactérienne des deux molécules **132a** et **132b**. Toute fois, la molécule **132a** a montré de meilleurs résultats. En effet, cette molécule est active à de faibles concentrations.
- les études effectuées *in vivo*, ont montré l'activité hypoglycémiant de la molécule **132a**. la molécule n'entraîne pas des perturbations du métabolisme hépatique. Les valeurs obtenues sont comparables à ceux du glibenclamide à l'exception de la phosphatase alcaline qui présente une légère augmentation pour les deux concentrations utilisées.
- En conclusion, les deux molécules **132a** et **132b** présentent une meilleur solubilité (caractéristique très importante) ainsi qu'une activité biologique intéressante.
- Les résultats dans le cas des cultures lymphocytaires, montrent que la molécule N, N'-acylsulfonamides bis-oxazolidinones dérivé de phénylalanine **128a** présente un effet inhibiteur sur la prolifération des lymphocytes aux concentrations 3 et 4 µg / ml.
- Aucun effet cytotoxique n'est observé sur les cellules parasitaires aux doses inhibitrices, traduisant ainsi une activité plutôt parasitostatique.