

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Badji Mokhtar-Annaba

N° d'ordre : ...../2021



Faculté des Sciences  
Département de Chimie

## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de  
**Doctorat en Sciences**

Option : Chimie Organique

Par M<sup>r</sup>. Hocine BOULEGHLEM

## Thème

---

**Synthèse, Structure, Réactivité de Dérivés Phosphorylés  
Hétérocycliques Contenant la *D*-Glucosamine. Etude du  
Complexe d'Inclusion et Évaluation Biologique.**

---

Soutenue le 14/07/ 2021.

Devant le jury :

M <sup>r</sup> . Salah Eddine DJILANI	Président	Pr. Université Badji Mokhtar-Annaba
M <sup>r</sup> . Nour Eddine AOUF	Directeur de thèse	Pr. Université Badji Mokhtar-Annaba
M <sup>r</sup> . Achour SERIDI	Examineur	Pr. Université 8 Mai 45-Guelma
M <sup>me</sup> . Hadjira BERREDJEM	Examinatrice	Pr. Université Badji Mokhtar-Annaba
M <sup>me</sup> . Fouzia BOUCHAREB	Examinatrice	MCA. Université Chadli Bendjedid-Tarf
M <sup>r</sup> . Zinelaabidine CHERAIET	Examineur	MCA. Université Cheikh Larbi Tebessi-Tebessa

*« La vraie utilisation de la chimie  
n'est pas de faire de l'or mais de  
préparer des médecines »*

Paracelse (1493-1541)

# Remerciements

*Ces travaux de thèse ont été réalisés au sein du Laboratoire de Chimie Organique Appliquée (LCOA), à l'Université Badji Mokhater-Annaba, sous la direction du Professeur **Nour-Eddine AOUF**.*



*En premier lieu, je tiens à lui exprimer toute ma gratitude pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et pour m'avoir permis de mener ce travail dans d'excellentes conditions.*

*Merci aussi pour les nombreuses discussions scientifiques qui m'ont toujours permis d'avancer et d'avoir de nouvelles pistes à explorer. Il a su me guider tout en me laissant libre dans mes recherches. J'ai vraiment apprécié les douze-ans passées sous sa direction pendant lesquelles j'ai beaucoup appris.*

*Je remercie le Professeur **Peter GOEKJIAN** pour m'avoir accueilli au sein du Laboratoire de Chimie Organique 2-Glycosciences (CO2-GLYCO) CPE-Lyon à l'Unité Mixte de Recherche C.N.R.S.-U.C.B.L. 5246 ICBMS-Université Claude Bernard-Lyon 1. C.P.E. Lyon -France.*

*Je remercie sincèrement et de tout mon cœur, le Professeur **Yves CHEVALIER** pour m'avoir accueilli au sein du Laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés (LAGEP) - Université Claude Bernard-Lyon 1. Villeurbanne, France et d'avoir mis à ma disposition tous les moyens nécessaires.*



*J'adresse mes sincères remerciements et ma profonde reconnaissance à Monsieur le Professeur **Salah Eddine DJILANI** du département de chimie de l'université Badji Mokhater-Annaba d'avoir accepté de présider ce jury.*

*Je tiens également à remercier Monsieur **Achour SERIDI**, Professeur à l'université 8 Mai 45-Guelma pour l'effort consentit à juger mon travail.*

*Je suis reconnaissant envers Madame **Hadjira BERREDJEM**, Professeur à l'Université Badji Mokhater-Annaba- Département de Biochimie, et que Madame **Fouzia BOUCHARÉB**, Maître de conférences à l'Université Chadli Bendjedid-Tarf pour l'intérêt qu'elles portent à ce travail en acceptant de le juger et Monsieur **Zinelaabidine CHERAIET**, Maître de conférences à l'Université*

*Cheikh Larbi Tebessi-Tebessa d'avoir bien voulu se déplacer pour participer au jury de soutenance. Je leur exprime ma gratitude pour le temps consacré à lire et à juger mon travail.*

*Je tiens à remercier bien vivement le Docteur **David GUEYRARD** responsable du Laboratoire de Chimie Organique 2-Glycosciences (CO2-GLYCO) CPE-Lyon 1-France.*



*J'aimerais remercier les personnels du Centre Commun de Spectrométrie de Masse ainsi que le Centre RMN à l'Université de Claude Bernard -Lyon 1-Villeurbanne, France, pour leurs aides dans la caractérisation et l'identification de différents produits.*

*Un grand merci à toute l'équipe du Laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés (LAGEP) - Université Claude Bernard – Lyon 1.Villeurbanne-France, merci pour leur disponibilité et pour leur bonne humeur, ils m'ont soutenu en rendant agréables les moments passés ensemble. Je remercie également **M<sup>me</sup>. Salima ZIDANE** pour ses conseils qui m'ont permis de mettre un pied dans la chimie supramoléculaire.*

*Je remercie madame **Malika MAZZOUZA**, Maître de Conférences à l'université Aix-Marseille - Saint Jérôme- France, pour son aide et ses précieux conseils.*

*Mes remerciements vont également à tous mes amis, particulièrement, **M<sup>r</sup>. Yacine BOUHADJA**, **M<sup>me</sup>. Nassima BOUZEMI**, **M<sup>elle</sup>. Z'hour HATTAB**, **M<sup>me</sup>. Malika BERREDJEM**, **M<sup>me</sup>. Ismahene GRIB**, **M<sup>r</sup>. Mourad BOUKACHABIA**, **M<sup>r</sup>. Saoudi BOUDJEMAA**, **M<sup>r</sup>. Abd-Elbaki REFFAS** et **M<sup>r</sup>. El-Hadi DEBIH** et tous les autres car trop nombreux pour les nommer tous.*

*Je remercie l'Université Mohamed Boudiaf-M'sila pour la bourse qui m'a été accordée afin de réaliser la deuxième partie de mon travail de thèse.*

*Une pensée amicale pour tous les anciens thésards que j'ai rencontrés : **M<sup>r</sup>.Vinh TRINH HUU**, **M<sup>r</sup>. Idriss MAHMUD** et **M<sup>elle</sup>. Zahraa SHAHIN**.*

*Enfin, mes remerciements vont à toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à l'accomplissement de cette thèse.*

*Merci Beaucoup!*



## Dédicaces

*A la mémoire de mon fils Racim-Ziad,*

*A la mémoire de ma mère (Mammita),*

*A la mémoire de mon père (Papito).*

*Un grand merci, un merci très spécial, à ma très chère épouse Sabrina. Ton encouragement et ton soutien étaient la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments pénibles, de solitude et de souffrance.*

*Merci d'être toujours à mes côtés, par ta présence, par ton amour dévoué et ta tendresse, pour donner du goût et du sens à notre vie de famille.*

*Merci d'être à mes côtés dans les moments les plus difficiles de ma vie... encore merci.*

*A mes enfants adorés Maher El-Moatez, Hanine Rimas et Racim Montacer pour l'espoir que vous gravez de jour en jour dans mon cœur.*

*A mes frères et sœurs,*

*A toute ma famille,*

*A mes amis.*

*A tous ceux que j'aime.*

Unités	
°C	Degré Celsius
cm	Centimètre
G	Gramme
mg	Milligramme
H	Heure
Hz, MHz	Hertz, Méga hertz
min	Minute
mL	Millilitre
mol, mmol, $\mu$ M	Mole, Millimole, Micromole
ppm	Parties par million
W	Watt
$\mu$ m	Micromètre
Produits	
Ac <sub>2</sub> O	Anhydride acétique
APTS	Acide <i>p</i> -toluènesulfonique
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2, 2, 2]octane
PPTS	<i>p</i> -Toluènesulfonate de pyridinium
TFA	Acide trifluoroacétique
TFAA	Acide anhydride trifluoroacétique
T EA (Et <sub>3</sub> N)	Triéthylamine
MTPPBr	Bromure méthyltriphenylphosphonium
OTPPBr	Bromure octyltriphenylphosphonium
TPPPd <sup>0</sup>	Tetrakis (triphenylphosphine) palladium (0)
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyle
KBr	Bromure de potassium
DHP	Dihydropyridine
DCC	<i>N,N'</i> -dicyclohexylcarbodiimide
DIPEA	Di-isopropylethylamine
<i>m</i> CPBA	Acide métachloroperoxybenzoïque
NBS	<i>N</i> -Bromosuccinimide
PCC	Chlorochromate de pyridinium
BzMe	<i>P</i> -Méthoxybenzyle
Bz	Benzoyle
TBDMSCl	<i>tert</i> -butyldiméthylsilyle
4-DMAP ou DMAP	4-Diméthylaminopyridine
Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	[1,1'-bis(triphenylphosphine)]dichloropalladium (II)
PPh <sub>3</sub>	Triphénylphosphine
HMPA	Hexaméthylphosphoramide
MnO <sub>2</sub>	Dioxyde de manganèse
NaH	Hydruure de sodium
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Bicarbonate de potassium
KOAc	Acétate de potassium
NaHCO <sub>3</sub>	Hydrogénocarbonate de sodium
<i>t</i> -BuOK	<i>tert</i> -butanolate de potassium
$\beta$ -CD	<i>Bé</i> ta-Cyclodextrine
CDs	Cyclodextrines
DDPH	2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl
AllocOH	Alcool allylique
ABTS	Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique
<i>m</i> -CPBA	Acide méta-chloroperbenzoïque

AlLiH <sub>4</sub>	Tétrahydruroaluminate de lithium
NaOH	Hydroxyde de sodium
<i>n</i> BuLi	<i>n</i> -butyllithium
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Alumine basique (oxyde d'aluminium)
LDA	Di-isopropylamidure de lithium
BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O	Ethérate de trifluorure de bore
MeONa	Méthanolate de sodium
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfate de sodium
NH <sub>4</sub> Cl	Chlorure d'ammonium
PhP(O)Cl <sub>2</sub>	Dichlorure phénylphosphonique
Ti(O- <i>i</i> Pr) <sub>4</sub>	Titanium isopropoxide
SiH(CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	Triéthylsilane
I <sub>2</sub>	Iode moléculaire
ZnCl <sub>2</sub>	Chlorure de zinc
SnCl <sub>2</sub>	Chlorure d'étain
TBuOOH	Hydroperoxyde de <i>tert</i> -butyle
<i>t</i> -BuLi	<i>tert</i> -butyllithium
MeMgCl	Chlorure de méthylmagnésium
<i>O</i> -AnMgCl	Ortho-anisyl- bromure de méthylmagnésium
H <sub>2</sub> PO <sub>2</sub> Me	Hypophosphite de méthyle

### Solvants

DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
MeOH	Méthanol
EtOH	Ethanol
CH <sub>3</sub> CN	Acétonitrile
DMF	Diméthylformamide
THF	Tétrahydrofurane
DCM (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )	Dichlorométhane
CHCl <sub>3</sub>	Chloroforme
AcOEt	Acétate d'Éthyle
AcOH	Acide acétique
MsOH	Méthylsulfonyléthoxycarbonyle
EP	Ether de pétrole
Et <sub>2</sub> O	Ether éthylique

### Groupements et molécules chimiques

Ph	Phenyl
Et	Ethyl
Me	Methyl
OAc	Acétate ou éthanoate
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -butyl
<i>i</i> -But	Isobutyryle
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyle
R	Radical (substituant)
Ac	Acétyle
Alloc	Allyloxycarbonyle
All	Allyle
Fmoc	9-Fluorénylméthoxycarbonyle
MsOH	Méthylsulfonyléthoxycarbonyle
Troc	2,2,2-Trichloroéthoxycarbonyle
Tr	Chlorure de trityle

Ar	Aromatique
Bn	Benzyle
GP	Groupe protecteur
Phth	Phthalimide
CBz	Benzyloxycarbonyl
GlcNAc	<i>N</i> -acétyl- <i>D</i> -glucosamine
GlcN	Glucosamine
Ts	Tosyle
Z	Benzyloxycarbonyl
<i>i</i> -Pr	Isopropyle
MOM	Méthoxyméthyle
SEM	2-(triméthylsilyl)éthoxyméthyle
TBDMS	( <i>tert</i> -butyl)diméthylsilyl
TBDPS	( <i>tert</i> -butyl)diphénylsilyl
THP	Tétrahydro-2 <i>H</i> -pyranyle

### Chromatographie et spectroscopie

CCM	Chromatographie sur couche mince
<i>J</i>	Constante de couplage exprimée en Hz
RMN	Résonance magnétique nucléaire
TMS	Triméthylsilyl
$\delta$	Déplacement chimique relativement au TMS
$R_f$	Rapport frontal
SM	Spectroscopie de masse
UV	Ultra-violet
IR	Infra-rouge
FTIR	Infra-rouge à transformée de Fourier
RX	Rayons X
CDCl <sub>3</sub>	Chloroforme deutéré
CD <sub>3</sub> OD- <i>d</i> <sup>4</sup>	Méthanol deutéré
DMSO- <i>d</i> <sup>6</sup>	Diméthylsulfoxyde deutéré
ESI	Ionisation électrospray
$\nu$	fréquences d'absorption (IR)
HRMS	Spectroscopie de masse à haute résolution
<i>m/z</i>	masse par charge élémentaire (SM)
$\lambda$	Longueurs d'onde
EI	ionisation élémentaire (MS)
Silice	SiO <sub>2</sub>

### Autres abréviations

<i>cat.</i>	Catalyseur
éq	Nombre d'équivalents
MBFT's	Multiple bond-forming transformations
One-pot	Réaction en un seul pot (monotope)
Pf (F)	Point de fusion
RCM	Réaction à composants multiples
Rdt	Rendement
Tamb	Température ambiante
$\Delta$	Chauffage
MO	Micro-ondes
US	Ultrasons
$\alpha$ -CGTase	Alfa Cyclodextrin Glycosyltransferase
$\beta$ -CGTase	Béta Cyclodextrin Glycosyltransferase
$\gamma$ -CGTase	Gamma Cyclodextrin Glycosyltransferase

Log P	Lipophile
N-Accep ALH	Nombre d'Accepteurs de Liaisons Hydrogène
N-Donn DLH	Nombre de Donneurs de Liaisons Hydrogène
ADME	Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion
<i>e.e</i>	Excès énantiomérique
IUPAC	Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée
SN	Substitution nucléophile
CI <sub>50</sub>	Concentration en inhibiteur provoquant 50% d'inhibition
[O]	Oxydation
T.M	Tamis moléculaire
[α] <sup>D</sup>	Pouvoir rotatoire mesuré avec la raie D du sodium (λ : 589 nm)
pH	Poids en hydrogène (mesure de l'acidité)
<i>p</i>	<i>Para</i>
SN	Substitution nucléophile
Aq	Aqueux ou aqueuse
<i>D</i>	Configuration <i>D</i>
<i>L</i>	Configuration <i>L</i>
ee	Excès énantiomérique
<i>de</i>	Excès diastéréomérique
<i>Dr</i>	Ratio diastéréomérique
mol %	Pourcentage molaire
<i>c</i>	Concentration en g/100 mL
M	Molarité, concentration (mol/L)
QSAR	Relation quantitative structure-activité
RCPG	Récepteurs couplés aux protéines G
SET	(Single Electron Transfer) Transfert électronique unique
HAT	(Hydrogen Atom Transfer) Transfert d'atome d'hydrogène
NRB	Nombre des liaisons rotatives
PSA	Surface polaire (Polar surface area)
COP	Composés organophosphorés
HP	Hétérocycles phosphorylés
CPA	Cyclophosphamides
OMS	Organisation mondiale de la santé
IFA	Ifosfamide
TRFA	Trofosfamide
HWE	Horner-Wadsworth-Emmons (réaction HWE)
Ds	Dérivés
AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
ACS	American Chemical Society
D.O	Degré d'oxydation

Ce manuscrit de thèse couvre deux thématiques différentes, il est réparti en deux parties, la première partie comporte trois chapitres sur l'étude bibliographique et la seconde partie comporte la stratégie de synthèse, résultats et discussion, le protocole expérimental et l'évaluation de l'activité biologique. Les références bibliographiques sont mentionnées à la fin de chaque page.



### **Le choix des hétérocycles**

Les hétérocycles ont toujours suscité un intérêt particulier dans la recherche de nouveaux composés à visée thérapeutique. La synthèse d'hétérocycles est un axe de recherche développé au sein de notre équipe depuis plusieurs années au vue de l'importance de cette classe de composés. Parmi les hétérocycles les plus étudiés, les hétérosides (sucres aminés ou *D*-glucosamine), forment une substance très riche en potentialité pharmacologique.

D'ailleurs, les résultats prometteurs des tests des dérivés à base de *D*-glucosamine modifiée, nous encouragent toujours à s'engager plus dans cette direction.

L'absence de résultats d'évaluation thérapeutique de certains dérivés décrits dans ce manuscrit s'explique par le fait que les essais se poursuivent encore et certaines activités méritent une étude approfondie.

Les objectifs exposés dans le choix des molécules, nous guident vers la stratégie de synthèse à développer dans notre cas d'autres critères s'imposent:

-  Lorsque la réaction utilisée est décrite dans la littérature, nous nous attachons surtout à son originalité et à son efficacité.
-  Lorsque nous avons mis au point une stratégie de synthèse de dérivés à base de *D*-glucosamine, nous nous efforçons de proposer un mécanisme réactionnel, de bien cerner son domaine d'application et de la comparer à des méthodes connues.

Cette thèse s'articule autour de plusieurs axes dans le domaine de la synthèse des nouveaux composés à visée thérapeutique.

Dans un premier temps, nous avons étudié la réaction de déprotection régiosélective pour l'obtention du dérivé de la glucosamine qui est utilisé comme précurseur pour la synthèse de composés potentiellement actifs (carbamates et/ou imines). Nous avons ensuite étudié la réactivité du carbone anomérique C-1 de ces composés par la déprotection sélective suivie d'une hydrolyse pour générer l'alcool à la position  $\alpha$ . Dans la dernière étape, nous avons employé les conditions de la condensation de Wang et l'étude d'addition de DMAP de Ferry pour l'obtention des composés bicycliques phosphorylés avec de bons rendements. Tous les composés synthétisés ont été identifiés par les méthodes spectroscopiques usuelles (RMN, IR, SM et UV-Visible), et pour certains d'entre eux des analyses complémentaires ont été effectuées (analyses élémentaires).

L'évaluation de la règle de Lipinski qui nous renseigne de manière positive sur les propriétés pharmacocinétiques (ADME) et bioactives, nous avons étudié la solubilité de plusieurs dérivés (et la stabilité d'un dérivé dans les milieux aqueux à différents pH (**4.0**, **6.9** et **8.5**) par la formation d'un complexe d'inclusion à base de la  $\beta$ -CD ( $\beta$ -CD: dérivés) avec un rapport molaire 1/1. Les résultats montrent que la  $\beta$ -CD est capable d'encapsuler les dérivés étudiés, augmenter leurs solubilités et améliorer leurs stabilités. L'étude de l'activité biologique suggère que les complexes d'inclusion formés peuvent être considérés comme un outil prometteur pour l'optimisation des formulations pharmaceutiques car l'encapsulation a conservé les propriétés antibactérienne et antioxydante des dérivés.

**Mots clés:** Activité biologique, Bioactive, Carbone anomérique,  $\beta$ -CD, Complexes d'inclusion, D-glucosamine, Déprotection, diastéréosélectivité, Hétérocycles phosphorylés, Règle de Lipinski, Substitution nucléophile.

This thesis revolves around several axes in the field of the synthesis of the new original bioactive compounds. Firstly, we studied the regioselective deprotection reaction to obtain derivative (4) which is used as a precursor for the synthesis of potentially active compounds (carbamates and / or imines), we then studied the reactivity of the anomeric carbon C-1 of the latter by selective deprotection and then by hydrolysis to regenerate the alcohol at the  $\alpha$  position. In the last step, we used Wang's condensation conditions and Ferry's DMAP addition study to obtain the phosphorylated bicyclics with excellent diastereoselectivity. Yields are good in most cases. All the compounds synthesized were identified by the usual spectroscopic methods (NMR, IR, MS and UV-Visible), and for some of them additional analyzes were carried out (elemental analysis).

On the other hand and after evaluating Lipinski's rule which gives us positive information on the pharmacokinetic (ADME) and bioactive properties, we studied the solubility of the derivatives (**2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **7**, **6**, **7a**, **9b** and **6a**) and the stability of the derivative (**8a**) in aqueous media at different pH (**4.0**, **6.9** and **8.5**) by the formation of an inclusion complex based on  $\beta$ -CD ( $\beta$ -CD : derivatives) with a molar ratio 1/1. The results show that  $\beta$ -CD is able to encapsulate the studied derivatives, increase their solubility's and improve their stabilities. The study of the biological activity suggests that the inclusion complexes formed can be considered as promising tools for the optimization of pharmaceutical formulations because the encapsulation has retained the antibacterial and antioxidant properties of the derivatives.

**Keywords:** Anomeric carbon, Biological activity, Bioactives, Bioavailability,  $\beta$ -CD, Inclusion complexes, *D*-glucosamine, Deprotection, Diastereoselectivity, Phosphoryl heterocycles Lipinski's rule, Nucleophilic substitution.



تدور هذه الأطروحة حول عدة محاور في مجال تطور صناعة مركبات جديدة انطلاقاً من د-الجلوكوزامين ذو فعالية بيولوجية ودوائية. أولاً ، درسنا تفاعل نزع الحماية الانتقائية للحصول على المشتق (4) الذي يستخدم كمركب طليعي لتكوين المركبات النشطة و الفعالة (الكربامات و/أو الإيمينات) ، قمنا بعد ذلك بدراسة تفاعلية الكربون الأنوميري C-1 لهذه المركبات الأخيرة عن طريق نزع الحماية الانتقائية والتتبع بالتحليل المائي للحصول على الرابطة الكحولية في الموضع  $\alpha$ . في الخطوة الأخيرة ، استخدمنا طريقة تكثيف وانغ ودراسة إضافة (DMAP) بطريقة فيري للحصول على الحلقات الثنائية الفسفورية ذات الانتقائية الانبساطية الممتازة. لقد حصلنا على مردود جيد في معظم الحالات. تم معاينة جميع المركبات المحضرة بالطرق الطيفية المعتادة (الرنين المغناطيسي النووي والأشعة تحت الحمراء ومطيافية الكتلة والأشعة فوق البنفسجية المرئية) ، وفي بعض الحالات تم إجراء تحليلات إضافية مثل (التحليل العنصري). من ناحية أخرى ، ووفقاً لتقييم قاعدة ليبينسكي التي تعطينا معلومات إيجابية عن الحركية الدوائية (التحرر، الامتصاص، التوزيع، الاستقلاب، الإفراز) (ADME) والخصائص النشطة بيولوجياً ، درسنا قابلية ذوبان المشتقات ( **2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **7**, **6** ) ، **7a** و **6a** واستقرارية المشتق (**8a**) في وسط مائي عند درجة حموضة مختلفة (4.0 ، 6.9 و 8.5) عن طريق تحضير معقد تضمين يعتمد على  $\beta$ -دكسترين حلقي (  $\beta$ -CD : المشتقات) بمولارية 1/1. أظهرت النتائج أن  $\beta$ -دكسترين حلقي قادر على تضمين المشتقات المدروسة وزيادة قابليتها للذوبان وتحسين ثباتها. وتشير دراسة النشاط البيولوجي إلى أن معقدات التضمين المتكونة يمكن اعتبارها تقنية ناجعة لتحسين المستحضرات الصيدلانية لأن التغليف قد احتفظ بالخصائص المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة للمشتقات.

**الكلمات المفتاحية:** الكربون الأنوميري ، النشاط البيولوجي، النشاط الحيوي، التوافر الحيوي ،  $\beta$ -دكسترين حلقي، معقد التضمين ، د-الجلوكوزامين، نزع الحماية ، الانتقائية الانبساطية ، الفوسفوريل الحلقي ، قاعدة ليبينسكي ، استبدال نوكلئوفيلي .

**Partie .1**

Figure.I.1.Structure chimique de la glucosamine et du glucose	06
Figure.I.2.Structure des quatre formes de la <i>D</i> -glucosamine: Le sulfate de glucosamine (a), la glucosamine chlorhydrate (b), la glucosamine iode hydrate (c) et l'acétylglucosamine (d)	07
Figure.I.3.Structures chimiques des isomères des chaînes de la <i>D</i> -glucosamine	07
Figure.I.4.Structures chimiques des isomères des positions de la <i>D</i> -glucosamine	08
Figure.I.5.Structure chimique de la <i>D</i> -glucosamine chlorhydrate	09
Figure.I.6.Structure de <i>N</i> -acétyl-oses amines	10
Figure.I.7.Différentes sources d'invertébrés marins pour l'extraction de la chitine	10
Figure.I.8.Structure de Chitine et de Chitosane	11
Figure.I.9.Synthèse du glucosamine à partir de la chitine et du chitosane	12
Figure.I.10.Représentation de Haworth de la forme pyranose et la forme furanose de la <i>D</i> -glucosamine	15
Figure.I.11.Valeurs de pKa de différentes fonctions de la <i>D</i> -glucosamine	15
Figure.I.12.Différentes cites de modification de la <i>D</i> -glucosamine	17
Figure.I.13.Quelques groupes protecteurs du groupement amine de la <i>D</i> -glucosamine	19
Figure.I.14.Présentation de la structure d'imine dérivé de la <i>D</i> -glucosamine	27
Figure.I.15.Structure du catalyseur du dérivé de $\beta$ - <i>D</i> -glucosamine ( <i>Organocatalyseur</i> )	31
Figure.I.16.Mécanisme d'activation de la réaction de Michael et de Mannich dans la synthèse asymétrique par l'utilisation d'un organocatalyseur	32
Figure.II.1. Représentation du <i>P</i> -stéréogène dans les hétérocycles phosphorylés	34
Figure.II.2.Propriétés des hétérocycles phosphorylés en synthèses organiques	36
Figure.II.3.Structure des hétérocycles phosphorylés monocyclique et bicyclique (Oxazaphospholan-2-ones & Oxazaphosphinan-2-one)	36
Figure.II.4.Présentation de la conformation chaise de l'isomère <i>trans</i> de tricyclo-oxazaphospholidin-2-ones dérivée de $\beta$ - <i>D</i> -glucosamine	46
Figure.II.5.Application des hétérocycles <i>P</i> -stéréogènes dans les différents domaines	53
Figure.II.6.Exemples des hétérocycles phosphorés ayant des activités biologiques	54
Figure.III.1.Structure tridimensionnelle 3D d'un clathrate, d'un éther couronne, d'un calixarene et d'un cyclodextrine (de gauche à droite)	58
Figure.III.2.Nombre de publications parues sur les CDs en fonction de développement des CDs	60
Figure.III.3.Répartition des publications concernant les CDs	61
Figure.III.4.Schéma général de la dégradation enzymatique de l'amidon pour produire des CDs	63
Figure.III.5. Représentation schématique des CDs	64
Figure.III.6.Structure tridimensionnelle (3D) de la CD simplifiée la forme tronconique ( <i>forme spatiale</i> )	65
Figure.III.7.Structure tridimensionnelle des différentes cyclodextrines	66
Figure.III.8.Représentation de la numérotation de l'unité glucosidique $\alpha$ -(1→4) en conformation chaise	66
Figure.III.9.Schéma général (3D) de la formation d'un complexe d'inclusion entre une molécule hôte CD et une molécule invitée	70
Figure.III.10.Représentation (3D) des différentes stœchiométries des complexes d'inclusion	71
Figure.III.11.Représentations graphiques des profils de la phase de solubilité de d'après Higuchi et Connors	74
Figure.III.12.Représentation des différents facteurs qui affectent la formation du complexe d'inclusion de CD	77

**Partie .2**

Figure.I.1.Groupements protecteurs (PGs) convenables pour la protection des groupements hydroxyles et le groupement amine de <i>D</i> -glucosamine	85
Figure.I.2. Différentes réactions effectuées sur le composé <b>(4)</b>	95
Figure.I.3.Liaisons hydrogènes dans les carbamates ( <i>amide primaire</i> )	99

Figure.I.4.Effet de la substitution nucléophile sur la position anomérique C-1	109
Figure.I.5.Réaction générale de déprotection de la position anomérique C-1 du D-glucosamine	117
Figure.I.6.Comparaison des déplacements chimiques du carbone anomérique C-1 des composés ( <b>2a</b> , <b>5a<sub>1</sub></b> , <b>9a<sub>1</sub></b> et <b>8a<sub>1</sub></b> ) en RMN ( <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C)	122
Figure. I.7.Structures des bicyclo-oxazaphospholan-2-ones synthétisés	127
Figure.I.8.Constante de couplage $J_{1-2}$ , $J_{2-3}$ , avec les déplacements chimiques des dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones ( <b>2a<sub>1</sub></b> , <b>5a<sub>2</sub></b> et <b>9a<sub>2</sub></b> )	128
Figure.I.9.Constante de couplage $J_{1-2}$ , $J_{2-3}$ , $J_{CH-NH}$ et $J_{NH-H2}$ avec les déplacements chimiques du bicyclo-oxazaphosphinan-2-one chiral ( <b>8a2</b> )	132
Figure.II.1.Structures des dix-huit dérivés à base de la $\beta$ -D-glucosamine testés	135
Figure.II.2.Règles de Lipinski appliquées aux quelques modèles	137
Figure.II.3.Variation de la biodisponibilité en fonction de Log P de différents médicaments	138
Figure.II.4.Variation de la biodisponibilité en fonction de Log P de différents dérivés testés	138
Figure.II.5.Structures des dérivés qui ont montré des scores positifs en tant qu'inhibiteur de protéase et inhibiteur d'enzyme	141
Figure.II.6.Spectre RMN <sup>1</sup> H de la $\beta$ -CD	144
Figure.II.7.Spectre RMN <sup>1</sup> H du dérivé ( <b>9b</b> )	145
Figure.II.8.Spectre RMN <sup>1</sup> H de comparaison entre le complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé <b>9b</b> ) 1/1 et le dérivé ( <b>9b</b> ) dans D <sub>2</sub> O/MeOD (v/v) (10mM) , 300 MHz à 25°C	148
Figure.II.9.Spectre RMN <sup>19</sup> F de comparaison entre le complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé <b>9b</b> ) 1/1 et le dérivé <b>9b</b>	150
Figure.II.10.Spectres infrarouges dans la gamme de 0 à 4000 cm <sup>-1</sup> de (a) $\beta$ -CD; (b) complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé <b>9b</b> ) et (c) du dérivé ( <b>9b</b> )	151
Figure.II.11.Diagramme de phase de solubilité du dérivé ( <b>9b</b> ) en présence de différentes concentrations de $\beta$ -CD à 25°C	153
Figure.II.12.Absorbance du dérivé ( <b>9b</b> ) en présence de différentes concentrations de $\beta$ -CD à 25°C	153
Figure.II.13.Diffractionogramme DRX de l'imine dérivé ( <b>8a</b> ), de la $\beta$ -CD et du complexe formé via MO	156
Figure.II.14.Spectre d'absorption UV-Visible de comparaison entre l'imine dérivé ( <b>8a</b> ), la $\beta$ -CD et le complexe d'inclusion 1/1 formé dans les différents Ph	157
Figure.II.15.Diffractionogramme DRX du Dérivé ( <b>8a</b> ), $\beta$ -CD et complexes à différents pH	159
Figure.II.16.Spectre UV du dérivé ( <b>8a</b> ) dans une solution aqueuse de $\beta$ -CD à différentes concentration	160
Figure.II.17.Spectre d'Absorbance en fonction de la concentration de $\beta$ -CD	161
Figure.II.18.Courbe de la phase de solubilité du dérivé ( <b>8a</b> ) dans une solution aqueuse de $\beta$ -CD à température ambiante (25°C)	161
Figure.II.19.Évolution de l'énergie libre de Gibbs $\Delta G^\circ$ du processus de solubilisation du dérivé ( <b>8a</b> ) en fonction de la concentration de la $\beta$ -CD en milieu neutre à 298K	163
Figure.III.1.Effet du complexe d'inclusion (complexe à pH = 4.0), (dérivé ( <b>8a</b> ) libre), (complexe à pH = 8,5) et (complexe à pH = 6,9) sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i>	167
Figure.III.2.Histogramme des diamètres d'inhibition du dérivé ( <b>8a</b> ) libre et ses complexes d'inclusion 1/1 à différents Ph	168
Figure.III.3.Histogramme des diamètres d'inhibition des dérivés ( <b>9b</b> , <b>7a</b> et <b>6a</b> ) et leurs complexes d'inclusion 1/1	170
Figure.III.4.Histogramme de la capacité antioxydante déterminée par les deux tests de dérivé <b>8a</b> libre et en complexe à différents pH ( <b>6.9</b> , <b>8.5</b> et <b>4.0</b> )	174
Figure.III.5.Histogramme de la capacité antioxydante déterminée par le test DPPH <sup>•</sup> des dérivés ( <b>9b</b> , <b>7a</b> et <b>6a</b> ) libre et leurs complexes	175

**Partie .1**

Schéma.I.1. Protection de la fonction amine par chlorure d'allyloxycarbonyle	20
Schéma.I.2. Protection de la fonction amine par le groupement phthalique et acétylation totale des groupements hydroxyles	20
Schéma.I.3. Déprotection du <i>N</i> -phthalimide en présence d'hydrazine	21
Schéma.I.4. Protection de la fonction amine par l'acryloylation	21
Schéma.I.5. Allylation par la réaction de Koenigs-Knorr	22
Schéma.I.6. Protection régiosélective de l'alcool primaire par le chlorure de trityle	23
Schéma.I.7. Tosylation régiosélective de l'hydroxyle primaire (H-6)	23
Schéma.I.8. Réaction de benzylation sur la <i>D</i> -glucosamine	24
Schéma.I.9. Protection totale du <i>D</i> -glucosamine par l'anhydride acétique	25
Schéma.I.10. Glycosylation de la position anomérique (C-1)	25
Schéma.I.11. Réaction de synthèse du donneur de glycosyle	26
Schéma.I.12. Synthèse de différents $\beta$ - <i>D</i> -glucosamin-azométhines à partir de différents aldéhydes	28
Schéma.I.13. Synthèse d'azométhine- $\alpha$ - <i>D</i> -glucosamine à partir de <i>p</i> -anisaldehyde	28
Schéma.I.14. Equilibre tautomérique entre l'azométhine et 1, 3-oxazolidine	29
Schéma.I.15. Mécanisme d'équilibre tautomérique entre l'azométhine et 1, 3-oxazolidine	30
Schéma.I.16. Synthèse d'azométhine- $\beta$ - <i>D</i> -glucosamine à partir de <i>p</i> -Méthoxybenzaldehyde	30
Schéma.I.17. Réaction de Michael et de Mannich dans la synthèse asymétrique par l'utilisation d'un organocatalyseur	32
Schéma.II.1. Synthèse des deux diastéréoisomères (2 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )/(2 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i> )- 1,3,4-oxazaphospholan-2-ones dérivées de (1 <i>R</i> , 2 <i>S</i> )-(-)-éphédrine	38
Schéma.II.2. Synthèse des 1,3,2-oxazaphospholan-2-ones dérivées d'aminoalcool	38
Schéma.II.3. Synthèse des 1,3,2-oxazaphospholan-2-ones dérivé de <i>N</i> -benzyl ( <i>S</i> )-Valinol	39
Schéma.II.4. Synthèse des deux diastéréoisomères (2 <i>S</i> ,4 <i>S</i> )/(2 <i>R</i> ,4 <i>S</i> )-vinyl-1,3,2-oxazaphospholan-2-ones dérivé de ( <i>S</i> )- <i>N</i> -benzylvalinol	30
Schéma.II.5. Synthèse des 1,3,2-oxazaphospholidin-2-ones à partir de ( <i>R</i> )-glycidol	40
Schéma.II.6. Synthèse des bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones chirales dérivés des <i>L</i> -prolines	40
Schéma.II.7. Synthèse des bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones par l'oxydation du bicyclo-oxazaphospholidine	41
Schéma.II.8. Réactivité du groupement phosphonate du bicycle par la réaction de Koizumi	42
Schéma.II.9. L'effet de DMAP sur les rendements et les rapports diastéréoisomériques ( <i>dr</i> ) sur la synthèse des quater bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones	42
Schéma.II.10. Synthèse des bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones par la réaction L.Wang et l'addition de DMAP (X% mol) par Ferry	43
Schéma.II.11. Représentation schématique de l'addition de DMAP sur le PPDC	44
Schéma.II.12. Mécanisme réactionnel de la formation du bicyclo-( <i>R<sub>P</sub></i> )-phényl-oxazaphospholidin-2-one optiquement pur ( <i>dr</i> = 100 : 0)	45
Schéma.II.13. Synthèse de ( <i>P</i> -stéréogène) tricyclo-oxazaphospholidin-2-ones dérivée de <i>D</i> -glucosamine	46
Schéma.II.14. Ouverture de <i>trans</i> tricyclo-oxazaphospholidin-2-ones dérivée de <i>D</i> -glucosamine par différents réactifs	47
Schéma.II.15. Synthèse de 1,3,2-oxazaphosphinan-2-one à partir de le ( <i>S</i> )-aminoalcool	48
Schéma.II.16. Synthèse de 1,3,2- oxazaphosphinan-2-ones à partir d'alcool allylique	49
Schéma.II.17. Synthèse des 3-aryl-2-oxo-2-phenylbenzo[ <i>e</i> ]-1,4,2-oxazaphosphinanes à partir d'azométhine achirale	50
Schéma.II.18. Méthode générale de synthèse du 1,4,2-oxazaphosphinanes via la réaction de Volle et la réaction de Pirat	51
Schéma.II.19. Synthèse des tricyclo-oxazaphosphorinanes dérivés d'isoquinolines par la réaction de Fülöp (a et b)	52
Schéma.II.20. 1,3,2-Oxazaphospholidin-2-one <i>P</i> -stéréogène en tant que réactif chiral dans la réaction HWE	55
Schéma.II.21. Réaction d'addition-1,4 de Michael dans la synthèse asymétrique de l'oxazaphosphorinane (anion <i>P</i> -allyle) avec cyclopentén-2-one	56

**Partie .2**

Schéma.I.1.Différentes étapes de synthèse de dérivés à base de la <i>D</i> -glucosamine	84
Schéma.I.2.Synthèse de 1,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2-acétamido- $\beta$ - <i>D</i> -glucosamine ( <b>2</b> )	86
Schéma.I.3.Synthèse de 1,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2- <i>N</i> -tériobutyloxycarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ - <i>D</i> -glucosamine ( <b>3</b> )	89
Schéma.I.4.Mécanisme proposé pour l'acétylation totale par Ac <sub>2</sub> O et DMAP dans la pyridine	91
Schéma.I.5.Synthèse de 1,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2-amino- $\beta$ - <i>D</i> -glucosamine chlorhydrate ( <b>4</b> ) par trois voies différentes de déprotection	92
Schéma.I.6.Différentes réactions de formation du groupement carbamate du composé ( <b>4</b> )	97
Schéma.I.7.Mécanisme proposé pour la carbamation du composé ( <b>4</b> )	99
Schéma.I.8.Synthèse d' dérivés azométhines à base de $\beta$ - <i>D</i> -glucosamine ( <b>8</b> )	103
Schéma.I.9.Mécanisme réactionnel de la synthèse de dérivés azométhines à base de $\beta$ - <i>D</i> -glucosamine ( <b>8</b> )	106
Schéma.I.10.Réaction de substitution nucléophile (SN) sur la position anomérique C-1 des dérivés ( <b>9a</b> , <b>2</b> , <b>5a</b> , <b>7</b> et <b>5c</b> )	111
Schéma.I.11.Mécanisme proposé de la réaction de substitution sur la position anomérique en (C-1) par le thiophénol et catalysé par le BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O et DMAP	114
Schéma.I.12.Déprotection de la position anomérique par la bromation suivie de l'hydrolyse des dérivés ( <b>2</b> , <b>5a</b> , <b>9b</b> et <b>8a</b> ) à base de <i>D</i> -glucosamine	118
Schéma.I.13.Mécanisme réactionnel proposé pour la synthèse des dérivés ( <b>2a</b> , <b>5a<sub>1</sub></b> , <b>9a<sub>1</sub></b> et <b>8a<sub>1</sub></b> )	120
Schéma.I.14.Synthèse des dérivés bicycliques phosphorylés chiraux à base de la <i>D</i> -glucosamine modifiée	123
Schéma.I.15.Synthèse des dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones ( <b>2a<sub>1</sub></b> , <b>5a<sub>2</sub></b> et <b>9a<sub>2</sub></b> ) à base de la <i>D</i> -glucosamine modifiée	124
Schéma.I.16. Mécanisme réactionnel proposé pour la synthèse des dérivés bicyclo-1,3,2-oxazaphospholidin-2-ones à base de la <i>D</i> -glucosamine	126
Schéma.I.17.Synthèse de bicyclo-oxazaphosphinan-2-one chiral ( <b>8a<sub>2</sub></b> ) à base de la <i>D</i> -glucosamine modifiée	130
Schéma.I.18.Mécanisme proposé pour la synthèse de bicyclo-oxazaphosphinan-2-one chiral ( <b>8a<sub>2</sub></b> )	131
Schéma.II.1.Structure 3D du complexe d'inclusion 1/1 entre $\beta$ -CD et le dérivé ( <b>9b</b> ) généré par molinspiration Galaxy 3D Generator v2018.01	146
Schéma. II.2. Structure 3D du complexe d'inclusion 1/1 entre $\beta$ -CD et le dérivé ( <b>8a</b> ) généré par molinspiration Galaxy 3D Generator v2018.01	155
Schéma.III.1.Méthodologie suivie pour la détermination des activités biologiques des dérivés et de leurs complexes d'inclusion	166
Schéma.III.2.Réaction de piégeage du DPPH <sup>•</sup> par un antioxydant donneur de H <sup>•</sup>	171
Schéma.III.3.Formation et piégeage du radical ABTS <sup>•+</sup> par un antioxydant donneur de H <sup>•</sup>	172



**Partie .1**

Tableau.I.1.Propriétés physico-chimiques de la glucosamine	13
Tableau.I.2.Glycosylation de la position anomérique ( $\alpha/\beta$ ) avec différents alcools	26

Tableau.II.1.Etude de l'effet d'addition de DMAP par A.Ferry et <i>coll.</i>	44
Tableau.II.2.Ouverture du cycle diastéréosélective de l'oxazaphospholidine dérivée de <i>D</i> -glucosamine ( <i>dr</i> : Déterminé par RMN $^{31}\text{P}$ )	47

Tableau.III.1.Résumé de l'histoire des CDs, évolué pendant 128 ans (1891-2019)	59
Tableau.III.2.Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de CDs dans divers domaines d'applications.	61
Tableau.III.3.Propriétés structurales et principales caractéristiques et dimensions de l' $\alpha$ -, $\beta$ - et $\gamma$ -CDs natives	67
Tableau.III.4.Prix en (Dollar des états unis) en masse des tous les CDs	69

**Partie .2**

Tableau.I.1.Comparaison entre les trois voies d'acétylation du composé ( <b>1</b> )	87
Tableau.I.2.Comparaison entre les deux voies de synthèse du composé ( <b>3</b> )	90
Tableau.I.3.Comparaison entre les trois voies de déprotection du composé ( <b>2</b> ou <b>3</b> )	93
Tableau.I.4.Comparaison entre les voies de la déprotection des groupements Ac et Boc qui sont décrits dans la littérature	94
Tableau.I.5.Conditions réactionnelles optimisées pour la réaction du carbamate du composé ( <b>4</b> ) par différentes réactions chimiques	98
Tableau.I.6.Signaux caractéristiques et déplacements chimiques des dérivés carbamates ( <b>5a</b> , <b>6</b> , <b>6a</b> , <b>7</b> et <b>9a</b> ) en RMN $^1\text{H}$	100
Tableau.I.7.Signaux caractéristiques et déplacements chimiques des dérivés carbamates ( <b>5a</b> , <b>6</b> , <b>6a</b> , <b>7</b> et <b>9a</b> ) en RMN $^{13}\text{C}$	101
Tableau.I.8.Bandes d'absorptions de la formation des liaisons dans les dérivés carbamates ( <b>5a</b> , <b>6</b> , <b>6a</b> , <b>7</b> et <b>9a</b> ) en IR	102
Tableau.I.9.Etude de l'effet d'addition de NaOH et du solvant utilisé à la synthèse du composé ( <b>8a</b> )	104
Tableau.I.10.Conditions réactionnelles pour la réaction de condensation du composé ( <b>4</b> ) par différents aldéhydes	105
Tableau.I.11.Signaux caractéristiques au R-CH=N et déplacements chimiques des dérivés imines ( <b>8a</b> , <b>8b</b> et <b>8c</b> ) en RMN $^1\text{H}$	107
Tableau.I.12.Bandes d'absorption UV-Visible des dérivés ( <b>8a</b> , <b>8b</b> et <b>8c</b> )	108
Tableau.I.13.Bandes d'absorptions de la formation de la liaison iminique dans les dérivés azométhines ( <b>8a</b> , <b>8b</b> et <b>8c</b> ) en IR	108
Tableau.I.14.Conditions réactionnelles optimisées pour la réaction de substitution nucléophile (SN) sur la position anomérique C-1 des dérivés ( <b>9a</b> , <b>2</b> , <b>5a</b> , <b>7</b> et <b>5c</b> )	112
Tableau.I.15.Étude méthodologique de la synthèse du composé ( <b>9b</b> ) par l'addition de $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ et de DMAP	113
Tableau.I.16.Caractérisation des quelques propriétés physicochimiques dérivées ( <b>9b</b> , <b>2b</b> , <b>5b</b> , <b>5c</b> et <b>7a</b> )	115
Tableau.I.17.Signaux caractéristiques et déplacements chimiques des dérivés carbamates ( <b>9b</b> , <b>2b</b> , <b>5b</b> , <b>5c</b> et <b>7a</b> ) en RMN $^1\text{H}$	116
Tableau.I.18.Conditions réactionnelles optimisées pour la réaction de déprotection, suivie par hydrolyse sur la position anomérique (en <b>C-1</b> )	119
Tableau.I.19.Signaux caractéristiques et déplacements chimiques des dérivés ( <b>2a</b> , <b>5a<sub>1</sub></b> , <b>9a<sub>1</sub></b> et <b>8a<sub>1</sub></b> ) en RMN $^1\text{H}$	121
Tableau.I.20.Signaux caractéristiques et déplacements chimiques des dérivées ( <b>2a</b> , <b>5a<sub>1</sub></b> , <b>9a<sub>1</sub></b> et <b>8a<sub>1</sub></b> ) en RMN $^{13}\text{C}$	121
Tableau.I.21.Conditions réactionnelles optimisées pour la réaction de synthèse des dérivés ( <b>2a<sub>1</sub></b> , <b>5a<sub>2</sub></b> et <b>9a<sub>2</sub></b> ) bicyclo-oxazaphospholan-2-ones chiraux	124
Tableau.I.22.Effet de la quantité de DMAP sur le rendement de réaction à partir de dérive ( <b>9a<sub>1</sub></b> )	125
Tableau.I.23.Signaux caractéristiques et déplacements chimiques des dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones chiraux en RMN $^1\text{H}$	128
Tableau.I.24.Signaux caractéristiques et déplacements chimiques des dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-	

ones chiraux en RMN $^{13}\text{C}$ et $^{31}\text{P}$	129
Tableau.I.25.Conditions réactionnelles optimisées pour la réaction de synthèse de bicyclo-oxazaphosphinan-2-one chiral ( <b>8a<sub>2</sub></b> )	130
Tableau.II.1.Valeurs seuils des différentes propriétés physico-chimiques définissant la règle de Lipinski	134
Tableau.II.2.Prédiction de la règle de Lipinski des propriétés physico-chimiques pour les dix-huit dérivés à base de la $\beta$ -D-glucosamine	136
Tableau.II.3.Prédiction de la bioactivité pour les dix-huit dérivés à base de la $\beta$ -D-glucosamine à l'aide de molinspiration	140
Tableau.II.4.Prédiction du score Druglikeness des neuf dérivés à l'aide de Molsoft	142
Tableau.II.5.Efficacité d'Encapsulation (EE%)	144
Tableau.II.6.Attribution du RMN $^1\text{H}$ et du RMN $^{13}\text{C}$ de la $\beta$ -CD dans $\text{D}_2\text{O}$	145
Tableau II.7.Comparaison entre les trois méthodes de formation du complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé <b>9b</b> ) 1/1	146
Tableau.II.8.Déplacements chimiques des protons de la $\beta$ -CD libre et dans le complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : <b>9b</b> ) 1/1	147
Tableau.II. 9. Déplacements chimiques des protons de la dérivé ( <b>9b</b> ) libre et dans le complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD: <b>9b</b> ) 1/1	148
Tableau.II.10.Décalage des protons <b>H-3</b> et <b>H-5</b> dans les complexes d'inclusion à base de la $\beta$ -CD et les dérivés ( <b>2b</b> , <b>5a</b> , <b>5b</b> , <b>5c</b> , <b>7</b> , <b>6</b> , <b>7a</b> et/ou <b>6a</b> ) avec un rapport molaire 1/1.	149
Tableau.II.11.Déplacements chimiques du RMN $^{19}\text{F}$ du dérivé ( <b>9b</b> ) libre et dans le complexe	150
Tableau.II.12.Comparaison entre l'intensité des groupes principaux de $\beta$ -CD libre et complexé	151
Tableau.II.13.Comparaison entre l'intensité des groupes principaux du dérivé ( <b>9b</b> ) libre et complexé	152
Tableau.II.14.Présentation des résultats obtenus par irradiation via micro-onde du complexe ( $\beta$ -CD : dérivé ( <b>8a</b> )) 1/1	155
Tableau .II.15.Comparaison entre les points de fusion du dérivé ( <b>8a</b> ) libre, de la $\beta$ -CD libre, et du complexe d'inclusion.	156
Tableau.II.16.Comparaison entre le dérivé ( <b>8a</b> ), la $\beta$ -CD et le complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé <b>8a</b> ) 1/1 formé dans les différents pH	158
Tableau.II.17.Concentration du dérivé ( <b>8a</b> ) solubilisé en présence de $\beta$ -CD	160
Tableau.II.18.Energie libre ( $\Delta G^\circ$ ) pour le processus de solubilisation d'imine dans une solution aqueuse de $\beta$ -CD à 298K	163
Tableau.III.1.Tests biologiques d'activité antibactérienne ( $200\mu\text{mol/L}$ dans $\text{H}_2\text{O}$ ) du dérivé ( <b>8a</b> ) libre et ses complexes d'inclusion à différents pH	168
Tableau.III.2.Tests biologiques de l'activité Antibactérienne ( $200\mu\text{mol/L}$ dans $\text{H}_2\text{O}$ ) de ( <b>9b</b> , <b>7a</b> et <b>6a</b> ) et leurs complexes d'inclusion 1/1	169
Tableau.III.3.Valeurs de $\text{CI}_{50}$ du dérivé ( <b>8a</b> ) libre et en complexe à différents pH ( <b>6.9</b> , <b>8.5</b> et <b>4.0</b> ) pour le piégeage du radical DPPH $^\bullet$	173
Tableau III.4.Valeurs de $\text{CI}_{50}$ du dérivé ( <b>8a</b> ) libre et en complexe à différents pH ( <b>6.9</b> , <b>8.5</b> et <b>4.0</b> ) pour le piégeage du radical ABTS $^{+\bullet}$	174
Tableau.III.5.Valeurs de $\text{CI}_{50}$ des dérivés ( <b>9b</b> , <b>7a</b> et <b>6a</b> ) libre et leurs complexes pour le piégeage du radical DPPH $^\bullet$	175

Remerciements	II
Dédicace	IV
Liste des abréviations utilisées	V
Avant-Propos	IX
Résumé	X
Abstract	XI
ملخص	XII
Liste des figures	XIII
Liste des schémas	XV
Liste des tableaux	XVII
Sommaire	XIX
<b>Introduction générale</b>	<b>01</b>

## *Partie .1*

### *Chapitre. I*

#### *Etude Bibliographique et Généralités sur les Hétérocycles de type Osamines*

I.1.Introduction	05
I.2.Historique de la découverte de glucosamine	05
I.3.Généralité sur les osamines (oses aminés)	06
I.3.1.Structure chimique et caractéristiques structurales du glucosamine	06
I.3.2.Glucosamine chlorhydrate	09
I.3.3.N-acétyl-oses amines	10
I.4.Voie de synthèse de glucosamine	10
I.5.Propriétés physiques et chimiques de la glucosamine	13
I.5.1.Propriétés conformationnelles	14
I.5.1.1.Formes anomères ( $\alpha/\beta$ )	14
I.5.1.2.Formes pyranose et furanose	14
I.5.2.Propriétés acido-basiques	15
I.6.Domaines d'application de la D-glucosamine	16
I.7.L'importance de la synthèse des dérivés de glucosamine	16
I.8.Travaux de protection de glucosamine décrits dans la littérature	17
I.8.1.Synthèse et stéréochimie des dérivés de glucosamine par la protection des groupements fonctionnels	18
I.8.1.1.Protections sélective de la fonction amine ( $\text{NH}_2$ ) de glucosamine	18
I.8.1.1.a.Protection par le groupe allyloxycarbonyle (Alloc)	19
I.8.1.1.b.Protection par le groupe phtalique (Phth)	20
I.8.1.1.c.Protection par le groupe acryloyle (Acryl)	21
I.8.1.2.Protection des fonctions alcools	21
I.8.1.2.a.Protection de l'alcool (C-1) anomérique	21
I.8.1.2.b.Protection régiosélective de l'alcool primaire (C-6)	22
I.8.1.2.b.1.Protection par le chlorure de trityle (Tr)	22
I.8.1.2.b.2.Protection par le chlorure de tosyle (Ts)	23
I.8.1.2.c.Protection des alcools en positions C-3 et C-4	23
I.8.1.2.d.Protection totale par l'anhydride acétique	24
I.8.1.3.Réactions de glycosylations de la position C-1 par l'activation micro-ondes	25
I.8.1.4.Synthèse régiosélective via la procédure d'un monotope à partir de D-glucosamine chlorhydrate (native)	26
I.9.Réactions de condensation de la fonction amine primaire avec l'aldéhyde	27
I.9.1.Synthèse de D-glucosamin-azométhine	28
I.9.1.1.Synthèse d'azométhine- $\beta$ -D-glucosamine protégée à partir du benzaldéhyde substitué	28
I.9.1.2.Synthèse d'azométhine- $\beta$ -D-glucosamine protégée à partir de $\beta$ -D-glucosamine natif	28
I.9.1.2.a.Condensation par le p-anisaldehyde	28
I.9.1.2.b.Condensation par la p-méthoxybenzaldehyde	30



I.9.2. Propriétés des réactions de formation des azométhines à base de <i>D</i> -glucosamine	30
I.9.3. Caractérisation des <i>D</i> -glucosamin-azométhines	31
I.10. Etude de la réactivité chimique des dérivés de $\beta$ - <i>D</i> -glucosamine-modifiés	31
I.11. Différentes applications des dérivés à base de <i>D</i> -glucosamine	32
I.12. Conclusion	33

## Chapitre. II

### Développements issus de la bibliographie sur les hétérocycles contenant le motif phosphoryle

II.1. Introduction	34
II.2. Rappel bibliographique sur les méthodes de synthèse des hétérocycles contenant le motif phosphoryle	36
II.2.1. <i>P</i> -Hétérocycles à 5 chaînons ( <i>1,3,2-oxazaphospholan-2-ones</i> )	37
II.2.1.1. Synthèses des <i>1,3,2-oxazaphospholan-2-ones</i> à partir du l'éphédrine	37
II.2.1.2. Synthèse des <i>1,3,2-oxazaphospholan-2-ones</i> à partir du <i>N</i> -benzyl ( <i>S</i> )-Valinol	38
II. 2.1.3. Synthèse des <i>1,3,2-oxazaphospholan-2-ones</i> à partir de ( <i>R</i> )-glycidol	39
II. 2.1.4. Synthèse des bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones chirales à partir des dérivés de la L-proline	40
II. 2.1.5. Synthèse et la réactivité de bicyclo-oxazaphospholidin-2-one	41
II.2.1.6. Autres travaux portant sur la synthèse des bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones	42
II.2.1.7. Synthèse de phosphines ( <i>P</i> -stéréogène) dérivées de <i>D</i> -glucosamine	45
II. 2.2. <i>P</i> -Hétérocycles à 6 chaînons ( <i>Oxazaphosphinan-2-one</i> )	47
II.2.2.1. Synthèses des <i>1,3,2-oxazaphosphinan-2-one</i> à partir d'aminoalcool	48
II.2.2.2. Synthèses des <i>1,3,2-oxazaphosphinan-2-one</i> à partir d'alcool allylique	49
II.2.2.3. Synthèses des <i>1,3,2-oxazaphosphinan-2-one</i> à partir d'azométhine achirale	49
II.2.2.4. Synthèse des <i>1,2,3-oxazaphosphorin-2-ones</i> dérivés d'isoquinoline	51
II. 3. Applications des oxazaphosphorines <i>P</i> -stéréogéniques dans les différents domaines	52
II.3.1. Activités biologiques	53
II.3.2. Réactifs chiraux	55
II.4. Conclusion	56

## Chapitre. III

### Généralités et Rappels Bibliographiques sur la Chimie des Cyclodextrines

III.1. Introduction	57
III.2. Bref historique sur la CD	58
III.3. Synthèse des CDs	62
III.4. Structure et propriétés des CDs	64
III.4.1. Structure	64
III.4.2. Propriétés des cyclodextrines	65
III.4.3. Solubilité des CDs en solution	66
III.4.4. Stabilité des CDs en solution	69
III.4.5. Toxicité des CDs	70
III.5. Complexe d'inclusion	70
III.5.1. Méthodes et techniques de préparation du complexe d'inclusion (CD : invité)	72
III.5.2. Etude des complexes d'inclusion	73
III.6. Diagrammes de phase de solubilité	73
III.6.1. Méthodes de calculs de la constante de complexation	75
III.6.1.1. Méthode de Benesi-Hildebrand	75
III.6.1.2. Méthode de Scott	76
III.7. Propriétés complexantes des CDs et applications	76
III.7.1. Facteurs influençant la complexation des molécules organiques par les CDs.	76
III.7.1.1. Facteurs liés à la nature des molécules organiques (Hydrophobicité et hydrosolubilité)	77
III.7.1.2. Etat d'ionisation de la molécule	77
III.7.1.3. Taille et forme de la molécule	77
III.7.1.4. Influence du contexte chimique	78

III.7.1.4.1.pH	78
III.7.1.4.2.Force ionique	78
III.7.1.5.Influence de la présence d'un solvant organique	78
III.7.1.6.Influence de la température	78
III.8.Application des CDs	79
III.9.Avantages de la complexation	80
III.10.Conclusion	81

## Partie .2

### Chapitre. I

#### Synthèse, réactivité et Etude structurale de dérivés de la $\beta$ -D-glucosamine & Résultats et Discussion

I.1.Introduction	82
I.2.Objectifs et stratégie de synthèse	82
I.2.1.Stratégie de synthèse	82
I.2.1.1.Bilan de la stratégie de synthèse des dérivés de la $\beta$ -D-glucosamine	82
I.2.2.Synthèse de dérivés de la $\beta$ -D-glucosamine	83
I.2.3.Synthèses et modification des groupements fonctionnels des dérivés de la $\beta$ -D-glucosamine par des réactions de protection/déprotection	84
I.2.3.1.Choix des groupements protecteurs : temporaires et permanents	84
I.2.3.1.a.Réactivité relative des groupements OH	85
I.2.4.Protection de l'amine $\text{NH}_2$ et les quatre hydroxyles libres	85
I.2.4.1.Protection totale du $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate ( <b>1</b> ) par l'acétylation	86
I.2.4.1.1.Conclusion	88
I.2.4.2.Protection du $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate ( <b>1</b> ) par la carbamoylation suivie par l'acétylation	88
I.2.4.2.1.Déprotection de la fonction amine	92
I.2.4.2.2.Conclusion	95
I.3.Synthèse et étude de la réactivité de 1,3,4,6-tétracétyl-amino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate ( <b>4</b> )	95
I.3.1.Synthèse des dérivés de 1,3,4,6-tétracétyl-amino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine chlorhydraté ( <b>4</b> ) par la formation de carbamate	96
I.3.1.1.Conclusion	102
I.3.2.Synthèse et étude de la réactivité des dérivés azométhines à base de $\beta$ -D-glucosamine ( <b>8</b> )	103
I.3.2.1.Conclusion	109
I.4.Etude de la réactivité du carbone anomérique C-1 par l'activation de la position anomérique	109
I.4.1.Conclusion	117
I.5.Déprotection de la position anomérique C-1 par la bromation et suivie de l'hydrolyse	117
I.5.1.Conclusion	122
I.6.Synthèse des dérivés bicyclique phosphorylés chiraux à base des dérivés de la D-glucosamine	122
I.6.1.Synthèse des dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones chiraux	124
I.6.1.1.Conclusion	129
I.6.2.Synthèse de bicyclo-oxazaphosphinan-2-one ( <b>8a<sub>2</sub></b> ) chiral	130
I.6.2.1.Conclusion	132

### Chapitre. II

#### Optimisation théorique & Formation des complexes d'inclusion

II.1.Introduction	133
II.2.Représentation des Calculs « drug-like » sur la base de Lipinski	133
II.2.1.Évaluation des profils médicaments pour les dix-huit dérivés de la $\beta$ -D-glucosamine	134
II.2.1.1.Interprétation des résultats	136
II.3.Prédiction de la bioactivité des dix-huit dérivés (Scores de drug likeness et de bioactivité)	139
II.3.1.Conclusion	142

II.4. Formation des complexes d'inclusion et étude de la solubilité des dérivés insoluble	143
II.4.1. Détermination de l'efficacité d'encapsulation EE%	143
II.4.2. Etude structurale de $\beta$ -CD native et du dérivé (9b)	144
II.4.2.1. Etude structurale de $\beta$ -CD native	144
II.4.2.2. Etude structurale de 3,4,6-tri- <i>O</i> -acétyl-1-phénylthio-(heptafluorobutanamido)- $\beta$ -D-glucosamine (9b)	145
II.4.3. Préparation du complexe d'inclusion formé entre la $\beta$ -CD et dérivé (9b) avec le rapport molaire 1/1	146
II.4.4. Caractérisation du complexe d'inclusion formé entre la $\beta$ -CD et le dérivé (9b) avec le rapport molaire 1/1	147
II.4.4.1. Caractérisation du complexe d'inclusion formé par RMN $^1\text{H}$	147
II.4.4.2. Caractérisation du complexe d'inclusion formé par RMN du fluor (RMN $^{19}\text{F}$ )	149
II.4.4.3. Caractérisation du complexe d'inclusion formé par infrarouge (IR)	150
II.4.5. Etude de la solubilité par les spectres d'absorption UV visible	152
II.4.6. Conclusion	154
II.5. Formation du complexe d'inclusion et étude de la stabilité du dérivé (8a)	155
II.5.1. Formation du complexe en phase solide par irradiation via micro-onde	155
II.5.1.a. Evaluation du point de fusion	155
II.5.1.b. Analyse du complexe d'inclusion formé par DRX	156
II.5.2. Formation du complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé 8a) 1/1 à l'état liquide	157
II.5.2.1. Analyse du complexe formé dans les différents pH par DRX	158
II.5.3. Etude de la phase de solubilité de l'imine en présence de la $\beta$ -CD dans le milieu neutre	156
II.5.4. Conclusion	164

### Chapitre. III

#### Effets de l'encapsulation sur les caractéristiques biologiques des dérivés

III.1. Introduction	165
III.2. Activité Biologique	165
III.2.1. Tests d'activité antibactérienne <i>in-vitro</i>	166
III.2.1.1. Méthodologie utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne	167
III.2.1.2. Résultats et discussion	167
III.2.1.3. Conclusion	170
III.2.2. Activité antioxydante <i>in-vitro</i>	171
III.2.2.1. Test avec le radical DPPH $^{\bullet}$	172
III.2.2.2. Test avec le radical ABTS $^{+\bullet}$	173
III.2.2.3. Conclusion	176

### Chapitre. IV

#### Procédures et Caractérisation des Molécules Synthétisées

IV.1. Méthodes de caractérisation	177
IV.2. Modes opératoires et caractérisation	185
IV.2.1. Synthèse de 1,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2-acétamido- $\beta$ -D-glucosamine (2)	185
IV.2.2. Synthèse de 2,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2- <i>N</i> -tériobutyloxycarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine (3)	187
IV.2.3. Synthèse de 1,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2-amino- $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate (4)	189
IV.2.4. Synthèse de 1,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2- <i>N</i> -allyloxycarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine (5a)	191
IV.2.5. Synthèse de 1,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2- <i>N</i> -benzylcarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine (6) et 1,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2- <i>p</i> -nitrobenzylloxycarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine (6a)	192
IV.2.6. Synthèses du 1,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2-(trichloroéthoxycarbonyl)-amino-2-déoxy- $\beta$ -D glucosamine (7)	194
IV.2.7. Synthèse d'azométhin-1,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl- $\beta$ -D-glucosamine (8)	195
IV.2.8. Synthèse de 1,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-2-(heptafluorobutyl)-amino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine (9a)	198
IV.2.9. Synthèse de 3,4,6-tri- <i>O</i> -acétyl-1- phénylthio-2-(heptafluorobutyl)-amino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine (9b)	199
IV.2.10. Synthèse de 3,4,6-tri- <i>O</i> -acétyl-1-benzyl-2-acétamido- $\beta$ -D-glucosamine (2b)	201

IV.2.11.Synthèse de 3,4,6-tri- <i>O</i> -acétyl-2- <i>N</i> -allyloxycarbonyl-2-amino-2-déoxy- $\beta$ - <i>D</i> -glucosamine ( <b>5b</b> )	<b>202</b>
IV.2.12.1-Ethyl-3,4,6-tri- <i>O</i> -acétyl-2-(trichloroéthoxycarbonyl)-amino-2-déoxy -1-thio- $\beta$ - <i>D</i> -glucosamine ( <b>7a</b> )	<b>203</b>
IV.2.13.1-Ethyl-3,4,6-tri- <i>O</i> -acétyl-2- <i>N</i> -allyloxycarbonyl-2-amino-2-déoxy-1-thio- $\beta$ - <i>D</i> -glucosamine ( <b>5c</b> )	<b>204</b>
IV.2.14.Déprotection de la position anomérique C-1 par la bromation et le suivie par l'hydrolyse des composés ( <b>2a</b> , <b>5a<sub>1</sub></b> , <b>8a<sub>1</sub></b> et <b>9a<sub>1</sub></b> )	<b>205</b>
IV.2.15.Synthèse d'oxazaphospholidin-2-one ( <b>2a<sub>1</sub></b> , <b>5a<sub>2</sub></b> et <b>9a<sub>2</sub></b> )	<b>209</b>
IV.2.16.Synthèse des composés bicycliques 1,4,2-oxazaphosphinanes	<b>212</b>
IV.3.Formation des complexes d'inclusion et étude de la solubilité des séries de $\beta$ - <i>D</i> -glucosamine modifiée	<b>213</b>
<b>Conclusion générale et perspectives</b>	<b>214</b>

---

# *Introduction Générale*

---

Actuellement, les applications de la chimie organique existent partout dans nos quotidiennes: médicaments, cosmétiques, produits ménagers, matériaux, carburants, etc... Par conséquent, durant ces dernières années, la recherche scientifique s'est concentrée sur la découverte de nouvelles méthodologies de synthèse flexibles et modulables permettant l'acquisition de nouvelles molécules biologiquement actives.

Dans ce contexte, développer un chemin de synthèse des substances bioactives à base d'hétérocycles est l'un des défis les plus passionnants pour le chimiste chercheur. Ce défi demande beaucoup d'imagination, mais aussi de grandes connaissances et une longue expérience dans le domaine.

Les hétérocycles sont une classe de composés dans lesquels un atome ou plus d'un carbocycle est remplacé par un hétéroatome comme l'oxygène, l'azote, le phosphore, le soufre,... etc, mais les plus courants contiennent de l'azote et de l'oxygène. Ils sont très intéressants sur le plan synthétique et biologique en raison de leurs potentialités d'application dans différents domaines, pour cela leur synthèse est devenue un sujet très important et toujours d'actualité. Il existe plusieurs types hétérocycliques : les sucres, les bases puriques et les pyrimidiques...etc. Approximativement deux tiers des publications en chimie concernent de près ou de loin les hétérocycles.

On note que les deux-tiers des composés organiques connus dans la littérature sont des hétérocycles de type hétérosides<sup>[1]</sup>, ce sont des molécules organiques très largement répandues dans les principaux types cellulaires décrits : bactéries, les tissus conjonctifs, les membranes cellulaires des animaux et les cellules végétales. Ce sont des composés formés au cours de la photosynthèse; Ils sont donc très importants dans le domaine biologique<sup>[2]</sup>. Les hétérocycles sont subdivisés principalement en des monosaccharides ou oses<sup>[3]</sup> et des osides...etc.

Depuis quelques années, notre laboratoire développe un axe de recherche consacré essentiellement à la synthèse des hétérocycles potentiellement actifs sur le plan thérapeutique, biologique et pharmaceutique, via l'exploitation des réactions multi-composants et la chimie des groupements protecteurs<sup>[4]</sup>.

---

<sup>1</sup>. A-G. Montalban. Heterocycles in Natural Product Synthesis. Eds. Wiley-VCH. New York. **2011**, 299 – 339.

<sup>2</sup>. B-K. Sohanpal, S. El-Labany, M. Lahooti, J-A. Plumbridge, I-C. *Proc Natl Acad Sci. U.S.A.* **2004**, 101(46), 1632 – 16327.

<sup>3</sup>. D. Lednicer. The Organic Chemistry of Drug Synthesis. Eds. John Wiley & Sons: Hoboken. New Jersey. **2007**, 7, 84 – 216.

<sup>4</sup>. V-J.Lee, S-J. J. Hecker. *J.Med. Res. Rev.* **1999**, 19, 521 – 542.

Plus particulièrement, notre équipe a synthétisé plusieurs hétérocycles azoté mono et/ou poly-substitués notamment les 1,4,3,5-oxathiadiazepanes<sup>[5]</sup> ; 4,4-dioxides<sup>[6]</sup>; oxathiazolidine-2<sup>[7]</sup> ; 1, 1'-Sulfonyl Bisaziridines<sup>[8]</sup>; *N*-acylsulfonamide oxazolidin-2-ones<sup>[9]</sup>, 3- benzyl-2-phenyl-1,3,2-oxazaphospholidin-2-ones<sup>[10]</sup> et les dérivés de  $\beta/\alpha$ -D-glucosamines. Dans le cadre de ce travail, nous avons axé nos recherches sur la  $\beta$ -D-glucosamine.

La D-glucosamine est un hétéroside dérivé du glucose où le groupe hydroxyle (-OH) porte le carbone C-2 est remplacé par une fonction amine (NH<sub>2</sub>). C'est l'un des composés de base du cartilage, il est utilisé dans les traitements d'Ostéoarthrite<sup>[11,12]</sup>.

Les dérivés de D-glucosamine modifiée sont utilisés dans le traitement de quelques maladies, comme par exemples dans les traitements:

d'Alzheimer<sup>[13]</sup>, comme agent anti-cancéreux<sup>[14]</sup>, en tant que des agents anti-thrombotique<sup>[15]</sup>, anti-infectieux<sup>[16]</sup>, anti-cancéreux<sup>[17,18,19,20]</sup>, anti-corps anti-nucléaires (AAN) et anti-mitochondrie<sup>[21]</sup>, anti-biotiques<sup>[22-25]</sup> .... etc.

Les travaux actuels pour la synthèse des nouvelles séries de la D-glucosamine sont basés sur le précurseur  $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate (**1**) comme un produit de départ. Les modifications

<sup>5</sup>. M. Berredjem, H. Djebbar, Z. Regainia, N-E Aouf, G.Dewynter, J-Y Winum. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2003**, 178(4), 693 – 705.

<sup>6</sup>. Z.Regainia, M. Abdaoui, N-E Aouf, G-Dewynter, J-L Montero. *Tetrahedron*. **2000**, 56(3), 381 – 387.

<sup>7</sup>. C. Barbey, R. Bouasla, M. Berredjem, N. Dupont, P. Retailleau, N-E Aouf. *Tetrahedron*. **2012**, 68(44), 9125 – 9130.

<sup>8</sup>. N. Khettache, A.Bendjedou M. Berredjem. Z. Regainia,V. Montero, C. Menut, N-E Aouf, J-Y. Winum. *Synth. Commun.* **2006**, 36(16), 2299 – 2305.

<sup>9</sup>. A. Bouzina, I. Grib, H. Bechlem, B. Belhani, N-E. Aouf, M. Berredjem. *Karbala International Journal of Modern Science*. **2016**, 2(2), 98 – 103.

<sup>10</sup>. Z. Hattab, C. Barbey, M. Monteil, P. Retailleau, N-E. Aouf, M.Lecouvey, N.Dupont. *J. Mol. Struct.* **2010**, 973(1-3), 144 – 151.

<sup>11</sup>. D. Uebelhart, M. Malaise, R. Marcolongo, F. De Vathaire, M.Piperno, E. Mailleux. *Osteoarthr. Cartil.* **2004**, 12, 269 – 276.

<sup>12</sup>. N. Barroca, R-R. Schmidt. *Organic Letters*. **2004**, 6(10), 1551 – 1554.

H. Singh, M. Kumar, K.Nepali, M-K. Gupta, A-K.Saxena, S.Sharma,P-M. S. Bedi. *Eur. J. Med. Chem.***2016**, 116, 102 – 115.

<sup>14</sup>. S-T. Liew, A. Wei. *Carbohydr. Res.***2002**, 337, 1319 –1324..

<sup>15</sup>. H. Singh, M.Kumar, K. Nepali, M-K. Gupta, A-K.Saxena, S. Sharma, P-M. S. Bedi. *Eur. J. Med. Chem.***2016**, 116, 102– 115.

<sup>16</sup>. K. Skarbek, I. Gabriel, P. Szweda, M. Wojciechowski, M-A. Khan, B. Görke, S. Milewski, M-J. Milewska. *Carbohydr Res.* **2017**, 448, 79 – 87.

<sup>17</sup>. C. Anthony, P. Joanna, L. J.Dustin, H-P. Lynne, N.Mark. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, 10(35), 7103 –7107.

<sup>18</sup>. F. Zahedipour, R. Dalirfardouei, K. Gholamreza, K. Jamialahmadi. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, 95, 1051–1058.

<sup>19</sup>. A. Kovalová, M. Ledvina, D. Šaman, D. Zyka, M. Kubíčková, L. Židek, V. Sklenář, P. Pompach, D. Kavan, J. Bílý, O. Vaněk, Z. Kubínková, M. Libigerová, L. Ivanová, M Antolíkova, H. Mrázek, D. Rozbeský, K. Hofbauerová, V. Křen, K. Bezouška. *J. Med. Chem.* **2010**, 53(10), 4050 – 4065.

<sup>20</sup>. Y. Fujishima, K. Kigawa, Y.Ogawa, M. Kiso, A. Hasegawa. *Carbohydr. Res.* **1987**, 167, 317 – 324.

<sup>21</sup>. R-A.Ossendza, P. Grandval, F. Chinoune, F. Rocher, F. Chapel, D. Bernardini. *Gastroenterol Clin Biol.* **2007**, 31(4), 449 – 450.

<sup>22</sup>. F-I. Guerra, J-I. Candela, E. Blanco, F.Alcudia. J-M.V. Pérez. *Carbohydr. Res.* **2002**, 14(2-3), 199–203.

<sup>23</sup>. R-G.Glen. *Can. J. Microbiol.* **1964**, 10, 887 – 896.

<sup>24</sup>. J-J. Thomas, B-J. Thomas, R-H Jones, E-C. Folger. *Can. J. Microbiol.* **1976**, 22(10), 1492 – 1496.

<sup>25</sup>. Y-H. Kim, T. Nakayama, J. Nayak. *Allergy Asthma Immunol. Res.* **2018**, 10(1), 6 – 11.



structurales de la glucosamine offrent à la fois d'énormes opportunités et de réels défis pour les chimistes, elles peuvent permettre d'améliorer leurs propriétés physico-chimiques, biologiques et pharmacologiques, c'est également un moyen de créer des molécules originales avec des fonctions spécifiques, trouvant des applications variées au-delà des frontières de la chimie classique. Le défi qui est posé aux chimistes est celui de développer des méthodes efficaces pour protéger de manière sélective les quatre fonctions hydroxyles et la fonction amine portées par le *D*-glucosamine, ces méthodes vont éventuellement conduire à des nouvelles séries de la  $\beta$ -*D*-glucosamine modifiée, par la mise en œuvre des réactifs simples et très peu coûteux et des procédures expérimentales douces et bien adaptées aux composés polyfonctionnels.

Dans ce contexte, nous proposons une voie de synthèse simple et facile, permettant de synthétiser une série de dérivés de  $\beta$ -*D*-glucosamine originale, dans le but d'élaborer des composés bicyclique phosphorylés à base de *D*-glucosamine à cinq et six chaînons sélectionnés comme squelettes de base en raison de leur rigidité structurelle. Le but est d'apporter un intérêt notable aux structures désirées, les bicycliques phosphorylés doivent en principe avoir en plus d'une réactivité chimique satisfaisante intéressante, une activité thérapeutique.

Avec le développement des outils informatiques dans ces dernières années, la modélisation moléculaire et plus précisément la règle de Lipinski s'est très vite introduite dans le domaine de la recherche pharmaceutique<sup>26</sup>.

L'application de cette règle permettra de nous renseigner sur les propriétés pharmacocinétiques: Absorption, Distribution, Métabolisation et Elimination (ADME) des composés proposés. De bons scores de drug-likeness et de bioactivité indiquaient en outre le potentiel probable de ces composés en tant que futurs médicaments, mais le problème de solubilité dans l'eau et la stabilité dans les milieux aqueux posent un problème dans certains dérivés, ce qui rend leurs utilités difficiles, pour cette raison, il nous a semblé tout indiqué de former un complexe d'inclusion de type (hôte : invité) pour améliorer la solubilité et la stabilité de ces dérivés<sup>27</sup>.

Parmi les molécules cages qui existent, nous avons choisi la  $\beta$ -Cyclodextrine ( $\beta$ -CD), celle-ci est déjà largement utilisée dans le milieu pharmaceutique, principalement comme adjuvant de solubilisation pour améliorer la solubilité et/ou augmenter la stabilité. La structure moléculaire des cyclodextrines en forme de cône présente une surface externe hydrophile et une cavité plus hydrophobe. Elles peuvent ainsi encapsuler un grand nombre de molécules organiques hydrophobes pour former des complexes d'inclusion.

---

<sup>26</sup>. C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W.Domini, P.J. Feney, *Advanced Drug Delivery Reviews*. **1997**, 23:pp.3-25.

<sup>27</sup>. T. Loftsson, M.D. M.Orteg, C.A.Lorenzo, A.Concheiro. *Royal Pharmaceutical Society, Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **2016**, 68 : pp. 544-555.



Il est donc utile d'améliorer la solubilité de dérivés synthétisés et d'augmenter leur stabilité à différents pH. Leurs propriétés biologiques *in vitro* (activité antibactérienne et activité antioxydante) seront particulièrement visées. Les résultats obtenus seront soumis par la suite à une étude de la relation structure-activité.

Ce manuscrit s'articule sur deux grandes parties: Nous aborderons dans **la première partie** une étude bibliographique qui est subdivisée en trois chapitres:

**Le premier chapitre** rassemble les informations essentielles sur les hétérocycles de type osamines, et en particulier la *D*-glucosamine et les travaux de protection/déprotection de *D*-glucosamine. **Le deuxième chapitre** comporte un bref aperçu sur les méthodes de synthèse des hétérocycles phosphorylés à cinq et six chaînons et leurs réactivités.

Dans **le troisième chapitre**, nous présentons un rappel historique sur les cyclodextrines, et les différentes méthodes de formation d'un complexe d'inclusion.

**La deuxième partie** est consacrée aux résultats expérimentaux et à l'exposition de l'ensemble des discussions. Elle sera subdivisée en quatre chapitres:

**Le premier chapitre**, regroupe les résultats de la synthèse et la réactivité des dérivés du glucosamine et leurs caractérisations.

**Le deuxième chapitre** de cette thèse, présente l'optimisation théorique de différents dérivés à base de *D*-glucosamine testés par ADME, l'étude de formation des complexes d'inclusion, l'étude de la solubilité et la stabilité des séries de *D*-glucosamine modifiée.

**Le troisième chapitre** est consacré à l'étude de l'effet de l'encapsulation par la  $\beta$ -CD sur les caractéristiques biologiques des dérivés synthétisés.

Les indications générales, les procédures expérimentales des composés synthétisés et caractérisés au cours de ce travail de thèse sont rassemblées dans le **quatrième chapitre**.

La conclusion générale résume l'essentiel des résultats obtenus.

# *Partie 1*

---

## *Chapitre.I*

---

### *Etude Bibliographique et Généralités sur les Hétérocycles de type Osamines*

---

## I.1.Introduction

La chimie des hétérocycles a connu au cours de ces dernières décennies un essor considérable qui s'est traduit par un nombre impressionnant de composés contenant dans leurs structures au moins un hétérocycle. En effet sur les 65 millions de composés chimiques, plus des deux tiers contiennent un système hétérocyclique. Les hétérosides de la classe de l'hexosamine de type osamines (sucres aminés) sont importants, non seulement en raison de leurs abondances et de leurs extraordinaire diversités, mais surtout en raison de leur utilité aussi bien dans le domaine biologique, médicinal et thérapeutique (vitamines<sup>1</sup>, hormones<sup>2</sup>, antibiotiques<sup>3</sup>,...etc) que dans le secteur industriel et technologique<sup>4</sup>.

Les osamines sont très abondantes dans le milieu naturel, elles sont connus pour former des complexes avec les ions métalliques, et sont souvent combinés avec des polysaccharides ou des monosaccharides d'origine animale ou végétale et jouent un rôle important dans les processus physiologiques<sup>5</sup>.

Les sucres aminés contenus dans les parois cellulaires des plantes assurent le transfert des ions métalliques vitaux pour leur croissance<sup>6,7</sup>. La *D*-glucosamine (*D*-GlcN) est le composé de base pour cette recherche, il s'agit d'un produit naturellement synthétisé par l'organisme<sup>8</sup>, elle joue un rôle prépondérant dans le maintien de l'intégrité du cartilage de l'ensemble des articulations<sup>9</sup> de plus elle joue aussi le rôle d'un anti-inflammatoire<sup>10</sup>. Pour modifier sa propriété pharmacologique, nous avons synthétisé des nouvelles séries de  $\beta$ -*D*-glucosamine, ces composés sont en général insoluble dans l'eau, ce qui rend difficile à manipuler.

## I.2.Historique de la découverte du glucosamine

La glucosamine a été préparée pour la première fois en 1876 par **G Ledderhose**<sup>11</sup> par l'hydrolyse de la chitine avec de l'acide chlorhydrique concentré<sup>12,13</sup>. La stéréochimie a été déterminée en 1939 par

---

<sup>1</sup>. R-R. Simon, V.Marks. *Diabetes Metab Res Rev.* **2011**, 27(1), 14 – 27.

<sup>2</sup>. H-R. Appelt, J-S. Oliveira, R-C.V. Santos, O-E. D. Rodrigues, M-Z. Santos, E-F. Heck, L-C.Rosa. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*.**2013**, 20(13), 1 – 5.

<sup>3</sup>. G.R Gale. *Can. J. Microbiol.***1964**, 10, 887– 896.

<sup>4</sup>. C.Anthony, P. Joanna, D-J. Little. *Organic & Biomolecular Chemistry*.**2012**, 10(35), 7103 – 7107.

<sup>5</sup>. E-J. Hewettet, T-A. Smith, Plant Mineral Nutrition, *English Universities Press Ltd.* London, **1975**, 30 – 52.

<sup>6</sup>. M-E. Faragoet, I-E.D.A.W. Mahmoud, *Inorg. Chim.Acta*.**1983**, 80, 273 – 278.

<sup>7</sup>. J. M. Bremner. Nitrogenous Compounds. In *Soil Biochemistry* (A. D. McLaren and G. H. Peterson, Eds) Marcel Dekker, New York. **1967**, 19 – 66.

<sup>8</sup>. S. Phoon, N. Manolios. Glucosamine. *Aust Fam Physician.* **2002**, 31(6), 539 – 541

<sup>9</sup>. Y. Z.Lim, S. M.Hussain, F. M. Cicuttini, Y.Wang. In *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases.* Elsevier, 1<sup>st</sup> Edition, **2019**, 97– 137.

<sup>10</sup>. E-D. Kantor, J-W .Lampe, S-L. Navarro, X. Song, G-L Milne, E .White. *J Altern Complement Med.* **2014**, 20(6), 479 – 485.

<sup>11</sup>. G.Ledderhose.On glucosamine hydrochloride. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1876**, 9(2), 1200 – 1201.

<sup>12</sup>. G. Ledderhose. On chitin and its hydrolysis products. *Biol. Chem.* **1879**, 213 – 227.

<sup>13</sup>. G. Ledderhose. Glycosamine. *Biol. Chem.* **1880**, 139 – 159.

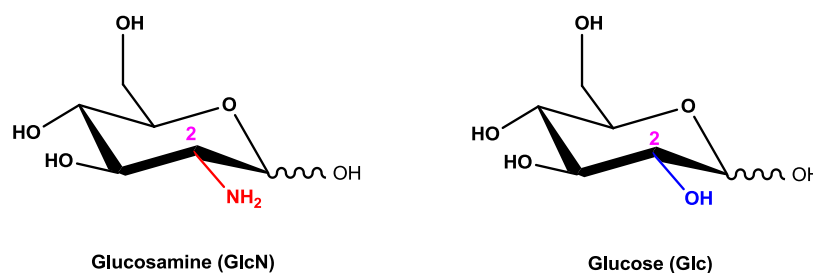
Walter Haworth<sup>14</sup>. En 1969, des médecins allemands faisaient état pour la première fois de l'utilisation clinique de la glucosamine pour traiter des patients souffrant d'arthrose. La substance thérapeutique était alors injectée directement dans les articulations atteintes ou administrée par voie intraveineuse ou intramusculaire.

À la fin des années 1970, une firme italienne (*Rotta Research Laboratorium*) a mis au point des comprimés de sulfate de glucosamine, ce qui facilitait l'administration de cette substance. D'abord très populaire en Europe, la glucosamine a gagné les faveurs du public nord-américain, si bien que, en 1998, plus d'un milliard de capsules ont été vendues aux États-Unis. En 2006, une étude clinique réalisée sur 1583 personnes par une équipe de chercheurs américains a porté sur l'efficacité de la prise de glucosamine et/ou de chondroïtine seul ou en association contre un placebo<sup>15</sup>. Une étude européenne menée sur 318 sujets, revendique également les effets bénéfiques de la glucosamine sur les douleurs articulaires<sup>16</sup>.

### I.3.Généralité sur les osamines (oses aminés)

#### I.3.1.Structure chimique et caractéristiques structurales du glucosamine

La D-glucosamine appartenant à la famille des osamines<sup>17</sup>, dans lequel l'oxhydryle alcoolique porté par le carbone 2 est remplacé par un groupement aminé NH<sub>2</sub> orienté de la même façon sur le carbone asymétrique (**Figure.I.1**).



**Figure. I.1.**Structure chimique de la glucosamine et du glucose

La glucosamine est l'une des amino-monosaccharides les plus abondants<sup>18</sup> produit à partir de l'acide glutamique, acide aminé retrouvé dans les protéines alimentaires<sup>19</sup>. Il existe quatre formes différentes de glucosamine : le sulfate de glucosamine<sup>20</sup>(a), la glucosamine chlorhydrate (b), la

<sup>14</sup>. W-N. Haworth, W-H. G. Lake, S. Peat. *J. Chem. Soc.* **1939**, 271 – 274.

<sup>15</sup>. R. Hughes, A. Carr. *J. Rheumatol.* **2002**, 41(3), 279 – 284.

<sup>16</sup>. G-H. Beaumont, J-A. Roman, M-C. Trabado. *Arthritis Rheumatol.* **2005**, 52, 460 – 462.

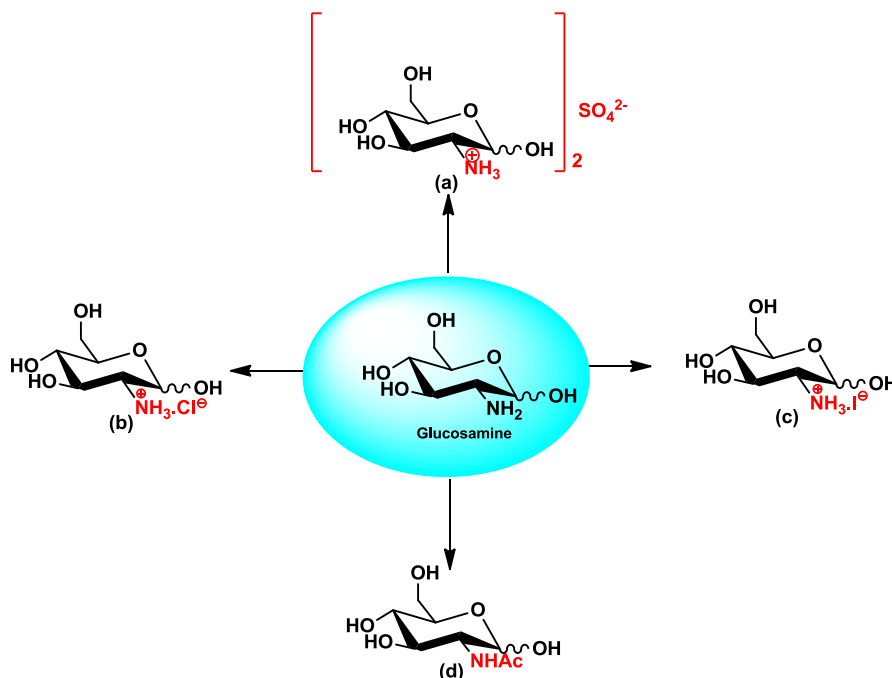
<sup>17</sup>. D. Lafont, J. D'Attoma, R. Gomez, P. Goekjian. *Tetrahedron: Asymmetry.* **2011**, 22(11), 1197 – 1204.

<sup>18</sup>. W-W Pigman, D. Horton, J-D. Wander. *Carbohydrates*. New York: Academic Press. **1980**, 1, 727 – 728.

<sup>19</sup>. C-S. Cummins, H. Harris. *J. Microbial.* **1958**, 18, 173 – 189.

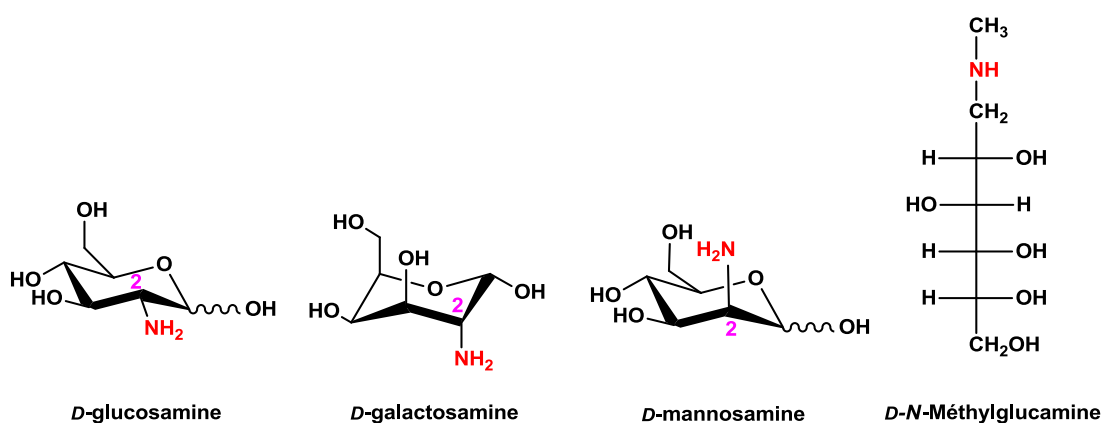
<sup>20</sup>. O. Bruyere, K. Pavelka. *Osteoarthr. Cartil.* **2008**, 16(2), 254 – 260.

glucosamine iode hydrate (c) et l'acétylglucosamine (d), (Figure.I.2) qui n'est pas utilisée chez l'humain<sup>21</sup>.



**Figure. I.2.** Structure des quatre formes de la *D*-glucosamine: le sulfate de glucosamine (a), le glucosamine chlorhydrate (b), la glucosamine iode hydrate (c) et l'acétylglucosamine (d)

Les plus connues sont la *D*-glucosamine, la *D*-mannosamine<sup>22</sup>, la *D*-galactosamine<sup>23</sup> et la méglumine (*D*-*N*-Méthylglucamine)<sup>24</sup> (Figure. I.3).



**Figure. I.3.** Structures chimiques des isomères des chaînes de la *D*-glucosamine

<sup>21</sup>. A-R. Bérengère. *Rev.Med Suisse*. **2012**, 8, 571 – 576

<sup>22</sup>. G.Blix, E. Lingberg, L.Odin, I.Werner. *Acta Soc.Med.Ups*.**1956**, 61, 1 – 26

<sup>23</sup>. P-W. Cheng, T-F. Boat. *Anal. Biochem*.**1978**, 85, 276 – 282.

<sup>24</sup>. L-A. Shinobu, S-G. Jones, M-M. Jones. *Acta Pharmacol Toxicol*. **1984**, 54(3), 189 – 194.

Les trois oses aminés les plus fréquemment rencontrés en biologie sont la *D*-mannosamine, la *D*-galactosamine et la *D*-*N*-Méthylglucamine, mais la *D*-glucosamine est plus utilisée en chimie moléculaire. Ces oses sont particulièrement abondants dans les glycoconjugués.

En parallèle, il existe le groupe des amino-déoxy-glucoses qui englobe des molécules aminées dérivées du glucose dans lesquelles au moins un hydroxyle autre que celui du carbone anomérique est remplacé par un groupe amine. Ces molécules sont fréquemment retrouvées dans les êtres vivants.

Le 1-amino-1-déoxy-3-*D*-glucose (*D*-glucopyranosylamine)<sup>25</sup>, le 3-amino-3-déoxy-3-*D*-glucose (glucosylamine ou kanosamine)<sup>26</sup>, le 4-amino-4-déoxy-4-*D*-glucose<sup>27</sup> et le 6-amino-6-déoxy-6-*D*-glucose<sup>28</sup> (Figure.I.4) sont les plus simples de la série.

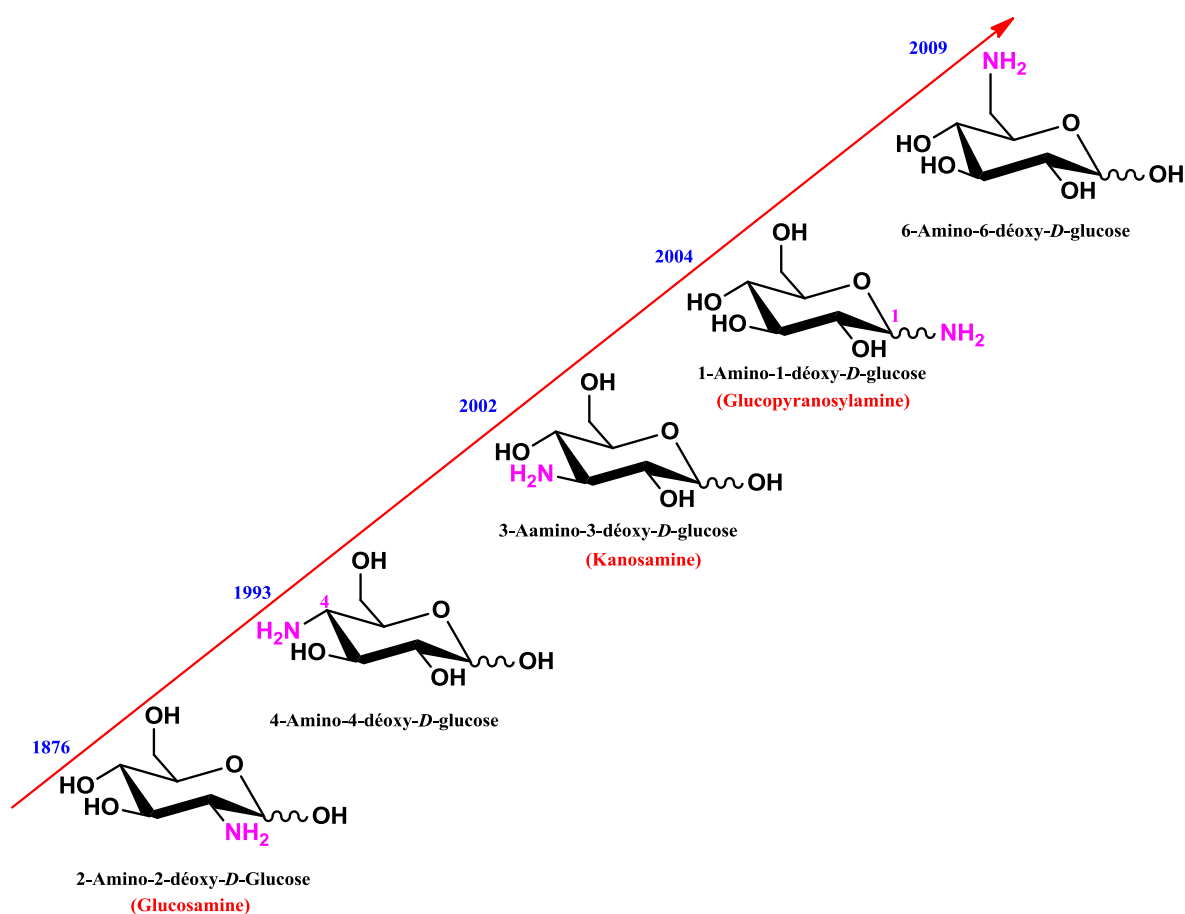


Figure.1.4.Structures chimiques des isomères des positions de la *D*-glucosamine

### I.3.2.Glucosamine chlorhydrate

La glucosamine chlorhydrate, endogène synthétisée à partir du glucose qui est utile dans le traitement des maladies des articulations chez les humains et les animaux<sup>29</sup>. La glucosamine

<sup>25</sup>. J-G.Fernández-Bolaños, Ó. López, V.Ulgar, I. Maya, J. Fuentes. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45(21), 4081 – 4084.

<sup>26</sup>. L-M.Likhoshervostov, O-S. Novikova, V-N. Shibaev. *Dokl. Chem.* **2002**, 383(4), 500 – 503.

<sup>27</sup>. S. Knapp, Y. H. Choe, E. Reilly. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 4443 – 4446.

<sup>28</sup>. T.Muhizi, S. Grelier, V. Coma. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, 57(19), 8770 – 8775.

<sup>29</sup>. A. Das, T-A Hammad. *Osteoarthr. Cartil.* **2000**, 8(5), 343 – 350.

chlorhydrate a été choisi à la place du sulfate de glucosamine pour un certain nombre de raisons<sup>30</sup>. La forme du chlorhydrate est plus concentrée que la forme du sulfate, et la forme du chlorhydrate contient sensiblement moins de sodium par dose efficace que la forme du sulfate.

Le sulfate de glucosamine est stabilisé avec du chlorure de sodium (NaCl) et peut contenir jusqu'à 30% de sodium. Ceci est une considération pour les personnes qui veulent réduire leur apport alimentaire en sodium.

La glucosamine chlorhydrate offre la promesse de la même efficacité que le sulfate de glucosamine<sup>31</sup>. Pratiquement toutes les recherches scientifiques portent sur le sulfate de glucosamine<sup>32,33</sup> (figure.I.5).

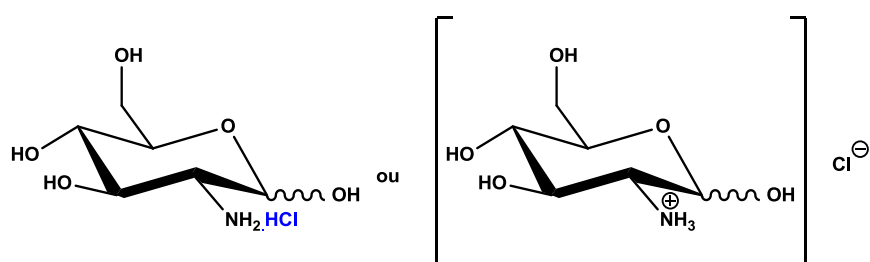


Figure.I.5. Structure chimique de la D-glucosamine chlorhydrate

La glucosamine chlorhydrate est une forme légèrement plus douce. Il y a eu peu de recherches au sujet du glucosamine chlorhydrate qui semble un peu moins efficace dans la pratique. Grâce à sa forme, la glucosamine chlorhydrate a l'avantage de provoquer moins de réactions d'hypersensibilité gastro-intestinale.

Le sulfate de glucosamine provoque des réactions d'intolérance gastro-intestinale chez environ 3-5% des utilisateurs<sup>34</sup>, lesquels devraient peut-être préférer la glucosamine chlorhydrate. Il importe de faire la distinction entre les diverses formes de glucosamine car elles n'ont pas nécessairement toutes les mêmes effets<sup>35</sup>.

### I.3.3. N-Acétyl-oses amines

Les oses aminés se retrouvent très souvent sous forme N-acétylée. La plupart des chitinases isolées de bactéries sont utilisées pour obtenir des chitooligosaccharides N-acétylés avec un degré de

<sup>30</sup>. P. Nguyen, S-E. Mohamed, D. Gardiner, T. Salinas. *Cranio: J.Craniomandibular Pract.* **2001**, 19(2), 130 – 139.

<sup>31</sup>. M. Meulyzer, P. Vachon, F. Beaudry, T. Vinardell, H. Richard, G. Beauchamp, S. Laverty. *Osteoarthr. Cartil.* **2008**, 16(9), 973 – 979.

<sup>32</sup>. R-M. Rozendaal, B-W. Koes. *Ann Intern Med.* **2008**, 148(4), 268 – 277.

<sup>33</sup>. O. Bruyere, K. Pavelka. *Menopause.* **2004**, 11(2), 138 – 143.

<sup>34</sup>. J. Couture. L'utilisation de la glucosamine pour traiter l'arthrose. *Le Médecin du Québec.* **2001**, 36(9), 75 – 90.

<sup>35</sup>. K. Jamialahmadi, O. Arasteh, M-M. Riahi, S. Mehri, B-R Zanjani, G. Karimi. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2014**, 38(1), 212 – 229.

polymérisation supérieur à deux. Quant aux *N*-acétylchitoooligosaccharides ainsi produits, ils peuvent être hydrolysés par la *N*-acétylglucosaminidase pour conduire à la formation du monosaccharide *N*-acétyl-*D*-glucosamine<sup>36</sup>, on trouve aussi *N*-acétyl-galactosamine<sup>37</sup> ou *N*-acétylmannosamine<sup>38,39</sup>, et ils peuvent être modifiés par voie chimique et cela se fait par la condensation d'une molécule d'acide acétique<sup>40</sup> (figure.I.6).

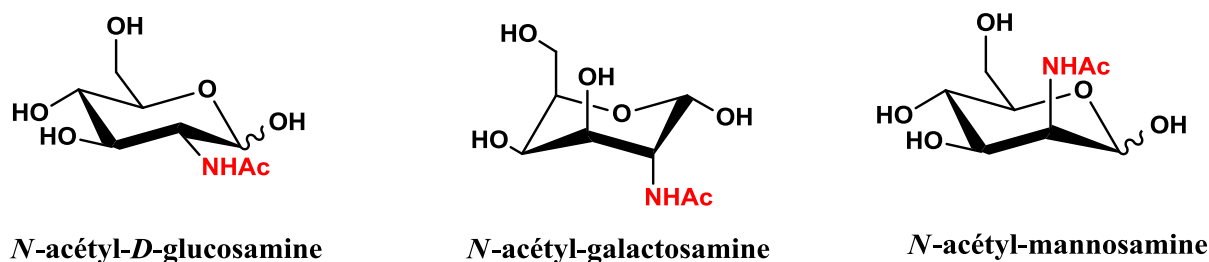


Figure.I.6. Structure de *N*-acétyl-oses amines

Le *N*-acétyl-*D*-glucosamine est un sucre aminé ayant un rôle important dans de nombreux processus cellulaires de la bactérie jusqu'à l'homme. Il peut faire partie d'éléments structuraux des organismes, être impliqué dans la modification postraductionnelle des protéines via la glycosylation ou être utilisé comme source d'énergie par le métabolisme.

#### I.4.Voie de synthèse de glucosamine

La glucosamine peut être obtenue de façon naturelle par extraction de la chitine, qui provient surtout d'invertébrés marins<sup>18</sup> (carapaces, crevettes, crabes, homards et céphalopodes...etc.) (Figure.I.7).



Figure.I.7. Différentes sources d'invertébrés marins pour l'extraction de la chitine

<sup>36</sup>. D.Garrido, S-R. Moyano, D-A. Mills. *Anaerobe*. **2012**, 18(4), 430 – 435.

<sup>37</sup>. M..Kamel, M. Hanafi, M. Bassiouni. *Clin. Exp. Rheumatol*. **1991**, 9(1), 17 – 21.

<sup>38</sup>. D-G. Roseman-Comb. *J. Biol. Chem.***1960**, 235, 2529 – 2537.

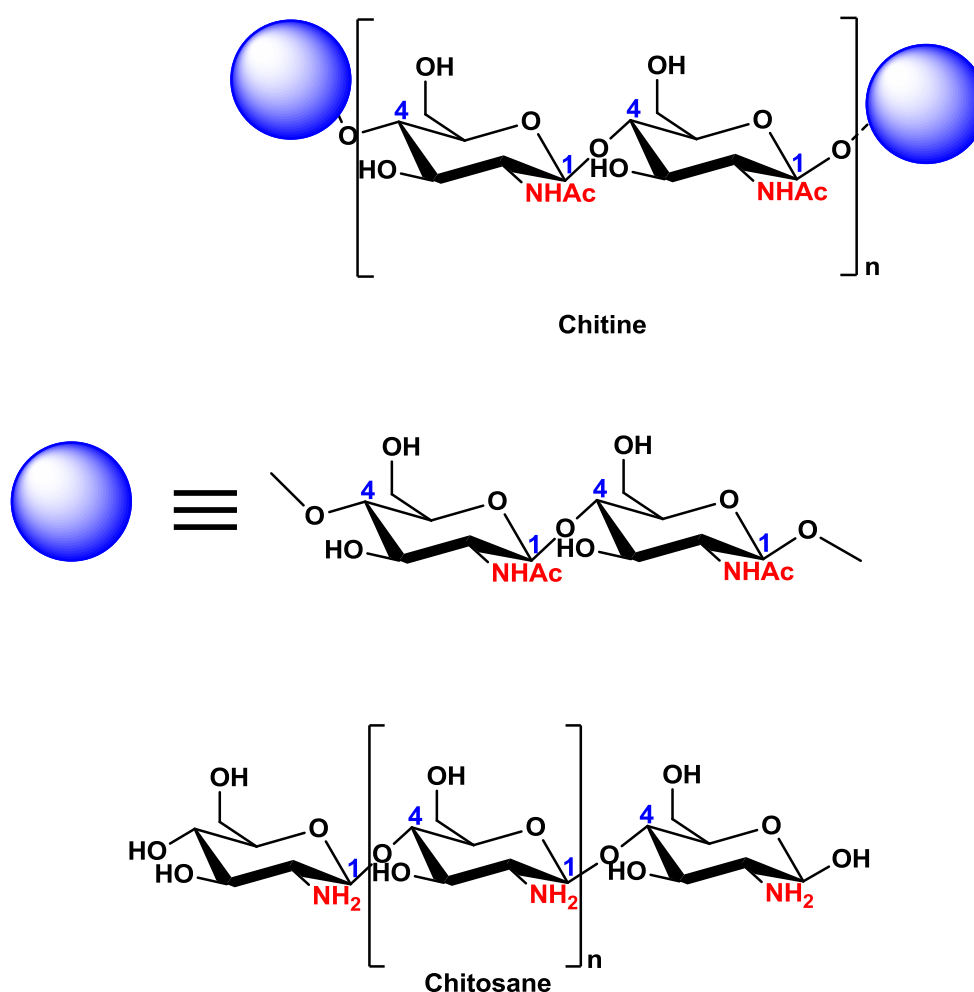
<sup>39</sup>. S. Blayer, J.Woodley, M. Dawson, M. Lilly. *Biotechnol. Bioeng.***1999**, 66(2), 131 – 136.

<sup>40</sup>. X.Chen,Y.Liu, F-M. Kerton, N.Yan. *RSC Advances*. **2015**, 5, 20073 – 20080.



La glucosamine peut être synthétisée à partir de chitine et du chitosane (**Figure.I.8**) par hydrolyse enzymatique<sup>18, 41</sup> ou par hydrolyse chimique<sup>42</sup>. L'hydrolyse enzymatique présente des limites majeures du coût élevé de l'enzyme, de l'instabilité enzymatique et de l'hydrolyse incomplète de la glucosamine monomère.

En approche chimique, en présence d'acide chlorhydrique concentré, on effectue deux réactions catalysées, c'est-à-dire la dépolymérisation et la désacétylation de la chitine et du chitosane<sup>43</sup>, qui convertissent ces polymères en chlorhydrate de glucosamine<sup>44</sup> (**Figure.I.9**).



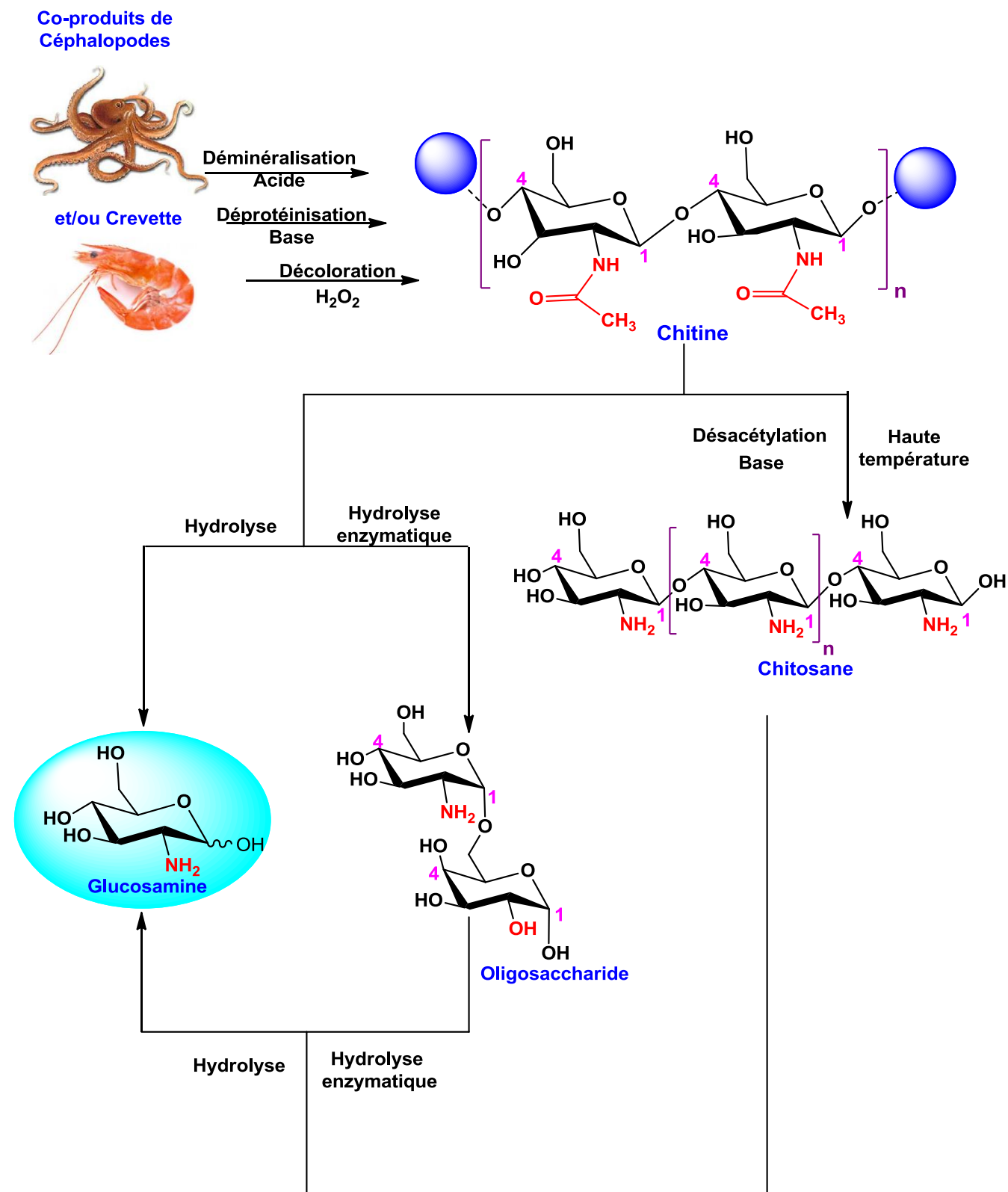
**Figure.I.8. Structure de chitine et de chitosane**

<sup>41</sup>. P-S. Mcnamara, S-A. Johnston, R-J. Todhunter. *J.Small.Anim Pract.***1997**, 27(4), 863 – 881.

<sup>42</sup>. J. Couture. L'utilisation de la glucosamine pour traiter l'arthrose. *Québec Pharmacie*. 2001, 36(9), 75 – 79.

<sup>43</sup>. M. Soltani, K. Karimi, A. Zamani. *Int. J. Res. Stud.Biosc.* **2017**, 5(1), 56 – 64.

<sup>44</sup>. G.Crini, É.Guibal, M.Morcellet, G.Torri, et P-M Badot. Chitine et Chitosane: du biopolymère à l'application,. *Presses universitaires de franche-comté*. Chap. I, **2009**, 19 – 54.

Figure.I.9.Synthèse du glucosamine à partir de la chitine et du chitosane<sup>45</sup>

<sup>45</sup>.R-S. Rasmussen, M-T. Morrissey. Chitin and chitosan. In: F-C.S. Barrow (Ed.) Marine nutraceuticals and functional foods. *Nutraceutical Science and Technology*, New York. **2008**. 155 – 182.

### I.5. Propriétés physiques et chimiques de la glucosamine

Les différentes propriétés physico-chimiques de la glucosamine sont regroupées dans le tableau ci-dessous (**Tableau.I.1**)

**Tableau .I.1. Propriétés physico-chimiques de la *D*-glucosamine<sup>46</sup>**

Nom de l'UICPA	
(3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> )-3-Amino-6-(hydroxyméthyl)oxane-2,4,5-triol	
2-Amino-2-déoxy- <i>D</i> -glucose	
Autres noms :	2-Amino-2-déoxy- <i>D</i> -glucosamine
	2-amino-2-déoxy- <i>D</i> -glucopyranose
	<i>D</i> -(+)-glucosamine
Synonymes:	Chitosamine
Symbole:	GlcNH <sub>2</sub>
<b>Propriétés</b>	
Formule chimique:	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>5</sub>
Masse molaire	179.17 g·mol <sup>-1</sup>
Masse volumique:	1.563 g/cm <sup>3</sup>
Point de fusion:	150°C
log P ou Log Kow (Mesure de la solubilité) <sup>47</sup> ∗:	-2.175
Acidité (pK <sub>a</sub> ) à 37°C:	12.273
Basicité (pK <sub>b</sub> ) à 37°C:	1.724

∗  $LogP = Log(C_{Octanol} / C_{eau})$

D'après le tableau ci-dessus, le pK<sub>a</sub> de la glucosamine est donc très favorable à une absorption au niveau de l'intestin grêle et lui permet de traverser facilement les barrières biologiques du corps. Par contre, dans l'estomac la glucosamine existe sous une forme très polaire, ce qui constitue un obstacle au passage à travers les membranes cellulaires<sup>48</sup>.

Ces molécules présentent donc toutes les propriétés chimiques des oses (pouvoir réducteur, cyclisation, mutarotation...etc.) auxquelles s'ajoutent celles de l'amine primaire (équilibre acido-basique, formation d'amides (NH-C=O)).

<sup>46</sup>. W-M. Haynes. CRC Handbook of Chemistry and Physics. Boca Raton, Florida. : CRC Press. 96<sup>th</sup> ed, 2015.

<sup>47</sup>. B-A. Berit , E-B. Heggset, A-L. Norberg, M. Sorlie, K-M. Vårum, V-G.H. Eijsink. *Mar Drugs*. 2010, 8(5), 1482 – 1517.

<sup>48</sup>. I .Setnikar, C. Giacchetti, G. Zanol. *Drug Res*. 1986, 36(4), 729 – 735.

### I.5.1. Propriétés conformationnelles

#### I.5.1.1. Formes anomères ( $\alpha/\beta$ )

La glucosamine est un carbohydrate aminé<sup>49</sup> qui possède différentes conformations. Un équilibre existe entre sa forme ouverte et ses formes cycliques anomères  $\alpha$  et  $\beta$ . Le passage d'un anomère à un autre par l'ouverture du cycle est un phénomène spontané appelé mutarotation.

Pour représenter un ose aminé sous sa forme linéaire, nous adoptons généralement la représentation de Fischer. Dans le cas des formes cycliques, la représentation sous forme chaise peut être employée.

Plusieurs études ont montré que les formes anomériques de la glucosamine ou de monosaccharides tels que le glucose pouvaient être identifiées et séparées en HPLC<sup>50,51</sup> ou en électrophorèse capillaire<sup>52</sup>.

Ces études ont permis de déterminer les proportions de chacune des formes en équilibre<sup>53</sup>, alors que dans le cas du glucose, il a été montré que la forme prédominante est la forme  $\beta$  (64 %), suivie de la forme  $\alpha$  (35 %) et de la forme linéaire (< 0.1 %), dans le cas de la glucosamine, une étude en électrophorèse capillaire après dérivation de la glucosamine par la fluorescamine<sup>33</sup> a montré que la forme prédominante est la forme  $\alpha$ . Ces proportions sont toutefois dépendantes des conditions opératoires utilisées tel que le pH, la température et les réactifs.

#### I.5.1.2. Formes pyranose et furanose

Lorsqu'elle se cyclise, la glucosamine peut se trouver sous forme pyranose (cycle à 6 chaînons), qui est la forme la plus stable, ou sous forme furanose (cycle à 5 chaînons). L'équilibre est majoritairement déplacé vers la formation de la forme pyranose. Une autre représentation des formes cycliques est généralement employée pour mettre en évidence ces deux conformères : Il s'agit de la représentation de Haworth. La forme pyranose et la forme furanose de la *D*-glucosamine sont représentées sur la **Figure.I.10**.

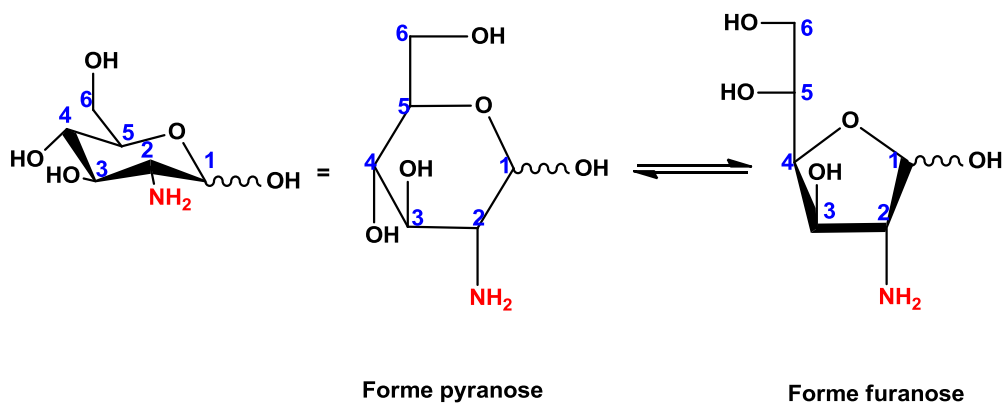
<sup>49</sup>. S. Kwon Kim. Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives. Biological Activities and Applications. Boca Raton, CRC Press. 1<sup>st</sup> ed., **2010**, 672 – 785.

<sup>50</sup>. K. Brunt. *J. Chromatogr. A.* **1983**, 267, 347 – 354.

<sup>51</sup>. D. Schumacher, L. W. Kroh., *Food Chem.* **1995**, 54 (4), 353 – 356.

<sup>52</sup>. A-M. Skelley, R-A. Mathies. *J. Chromatogr. A.* **2006**, 1132 (1-2), 304 – 309.

<sup>52</sup>. J-O. Baker, M-Y. Tucker, S-M. Lastick, M-E. Himmel. *J. Chromatogr. A.* **1986**, 357, 161 – 181.

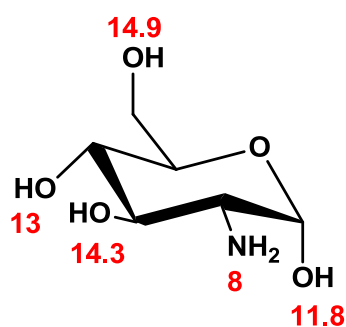


**Figure.I.10.Représentation de Haworth de la forme pyranose et la forme furanose de la D-glucosamine**

Par conséquent, la glucosamine possède différents isomères dont la conformation et la proportion sont à prendre en compte lorsqu'on veut complexer la glucosamine. Dans le cas où un seul isomère est requis pour effectuer une réaction, il est possible de bloquer une conformation en protégeant le groupement hydroxyle du carbone anomérique par un groupement protecteur.

### I.5.2. Propriétés acido-basiques

La glucosamine possède de nombreuses fonctions ionisables. Les valeurs de pKa de ces différentes fonctions ont été déterminées grâce au logiciel *Marvin software 4.1.11* et à la littérature<sup>54</sup>, elles sont indiquées sur la (Figure.I.11).



**Figure.I.11.Valeurs de pKa de différentes fonctions de la D-glucosamine**

Ainsi, à un pH acide, **90 %** de la fonction amine, la glucosamine est protonée. Celle-ci peut alors développer des interactions ioniques avec un monomère acide. A l'inverse, à un pH basique, la fonction amine n'est pas sous forme ionisée et peut alors former des liaisons hydrogène ou des liaisons covalentes amide ou imine avec des acides carboxyliques et des aldéhydes respectivement.

<sup>54</sup>. H. K. Zimmerman Jr. *J. Phys. Chem.* **1958**, 62 (8), 963 – 965.

**I.6. Domaines d'application de la D-glucosamine**

Les principaux domaines explorés sont l'agriculture<sup>55</sup>, l'alimentation<sup>56</sup>, la médecine et la chirurgie<sup>57</sup>, les biotechnologies et les textiles, la cosmétique, le traitement des eaux<sup>58</sup>, les polymères tel que : peptidoglycane<sup>59,60</sup> ou muréine ou mucocomplexe<sup>61,62</sup>. La glucosamine est utilisée pour lutter contre les symptômes de l'arthrose<sup>63</sup> lorsque celle-ci est légère ou modérée. La glucosamine permet en effet de soulager les douleurs et de rendre une partie de la mobilité aux articulations touchées. Elle est surtout employée en cas d'arthrose du genou mais également en cas d'arthrose de hanche (elle se révèle peut efficace en cas d'arthrose vertébrale). De plus, la glucosamine est utilisée pour ralentir l'évolution de l'arthrose. Dans certains cas, elle permet d'éviter une intervention chirurgicale visant à mettre en place une prothèse. On l'utilise pour accélérer la guérison chez les athlètes ayant été victimes d'une blessure articulaire (notamment au niveau du genou). Ces mécanismes expliqueraient également que la glucosamine puisse faire régresser la maladie<sup>64</sup>.

La biodisponibilité<sup>65, 66</sup> de la glucosamine n'est que de **26%** lorsqu'elle est administrée par voie orale<sup>67</sup>. En tant que complément alimentaire, la glucosamine peut être employée en toute tranquillité car elle est réputée sans danger (*elle présente moins d'effets indésirables que les anti-inflammatoires non stéroïdiens AINS*)<sup>68</sup>.

**I.7.L'importance de la synthèse des dérivés de glucosamine**

En raison de l'importance biologique du glucosamine, la préparation des dérivés de la glucosamine est devenue un sujet important en synthèse organique. La plupart de ces composés ne sont pas abondants dans la nature et/ou ne sont pas accessibles rapidement à partir de molécules qui sont abondantes.

<sup>55</sup>. P-K. Dutta, S. Tripathi, G-K Mehrotra. *J. Dutta. Food Chem.* **2009**, 114, 1173 – 1182

<sup>56</sup>. P-S. Fernandez-, C.Soler, J-M. Lagaron, M-J. Ocio. *Int. J. Food Microbiol.* **2010**, 137(2-3), 287 – 294

<sup>57</sup>. J.Zhang, W.Xia, P.Liu, Q.Cheng, T.Tahirou, W. Gu, L. Bo. *Marine drugs.* **2010**, 8, 1962 – 1987

<sup>58</sup>. Y.Hrynets, A. Bhattacharjee, M. Ndagijimana, D-J. Hincapie Martinez, M.Betti. *J. Agric. Food Chem.*, **2016**, 64(16), 3266 – 3275

<sup>59</sup>. Y. Funakoshi, T.Suzuki. *Biochim. Biophys. Acta.* **2009**, 1790(2), 81 – 94

<sup>60</sup>. J. Stepper, S. Shastri, T-S. Loo, J-C Preston, P.Novak, P.Man, C-H Moore, V. Havlíček, M-L. Patchett. *Wiley on behalf of FEBS.* **2011**, 585(4), 645 – 650.

<sup>61</sup>. L-M, Prescott, J-P. Harley. D-A. Klein. *Microbiology. Edition. Mcgraw-Hill Publishing Company, UK New York.* 6<sup>th</sup> ed **2005**, 652-668.

<sup>62</sup>. G-J. Tortora, B-R. Funke, C. L. Case. *Microbiology: An Introduction with My Microbiology Place Website, Pearson Education, Inc, San Francisco, Calif.* 9<sup>th</sup> ed. **2007**.

<sup>63</sup>. M-C. Hochberg. *Osteoarthr. Cartil.* **2012**, 5, 460 – 483.

<sup>64</sup>. J. Couture, L'utilisation de la glucosamine pour traiter l'arthrose, *Québec Pharmacie*, **2001**, 36(9), 75 – 79.

<sup>65</sup>. M. Piperno, P. Reboul, M. Hellio Le Graverant, M. Peschard, M. Annefeld, M. Richard, E. Vignon, *Osteoarthr. Cartil.* **2000**, 8(3), 207 – 212.

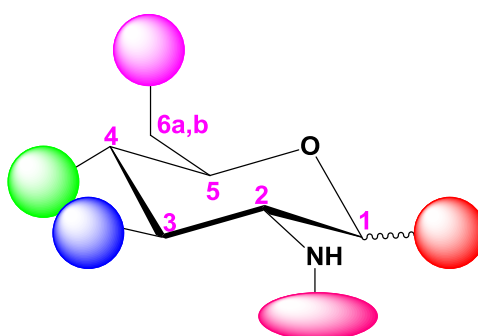
<sup>66</sup>. J-M. Pujalte, E-F. lavore, F-R. Ylescupidéz. *Curr Med Res Opin.* **1980**, 7(2), 110 – 114.

<sup>67</sup>. P. Chevalier. Glucosamine et/ou chondroïtine pour la gonarthrose. *Minerva*, **2006**, 5(10), 156 – 158.

<sup>68</sup>. S-E. Gulmez, R.Lassalle, J. Jové, A.Grolleau, N.Moore. *Rev. épidémiol. santé publique.* **2016**, 64(5), 275 – 283.

Généralement, ces composés sont préparés via des séquences synthétiques multi-étapes à partir de glucosamine, plusieurs étapes sont nécessaires pour cliver les groupements hydroxyles et le groupement amine, incorporer de nouveaux groupements fonctionnels ou encore transformer la configuration  $\alpha$  à  $\beta$  du carbone anomérique C-1 ou (*OH hémiacétalique*) et vice-versa<sup>69,70</sup>. Tous ces problèmes peuvent être surmontés par la synthèse totale asymétrique utilisant des méthodologies qui permettent un haut degré de stéréosélectivité<sup>71</sup>. Au fil des années, de nouvelles technologies et des stratégies innovatrices ont émergé pour la synthèse des nouvelles séries de la glucosamine avec une activité biologique très puissante<sup>72,73</sup> et une activité pharmacologique<sup>74,75</sup> très importante.

La stratégie de synthèse choisie nécessite la protection sélective et successive des différentes fonctions de la glucosamine. Plusieurs travaux ont étudié les réactions de protection de *D*-glucosamine avec différents groupements protecteurs pour l'objet de protéger la fonction amine primaire ( $\text{NH}_2$ ) et/ou les quatre groupements hydroxyles (**H-1**, **H-3**, **H-4** et **H-6**). Cette modification peut en effet permettre d'améliorer leurs propriétés physico-chimiques, pharmacologiques et biologiques (**Figure.I.12**).



**Figure.I.12.** Différentes sites de modification de la *D*-glucosamine

### I.8. Travaux de protection de glucosamine décrits dans la littérature

La principale difficulté rencontrée aux protections régiosélective des groupements fonctionnels de la glucosamine est l'obtention des nouvelles séries de la glucosamine.

Dans la littérature, la synthèse avec des glucosamines nécessite certaines précautions afin d'obtenir une bonne sélectivité. En effet, puisque les glucosamines contiennent quatre fonctions

<sup>69</sup>. A. Martin, A. Arda, J. Désiré, A. Martin-Mingot, N. Probst, P. Sinaÿ, J. Jiménez-Barbero, S. Thibaudeau, Y. Blériot. *Nat. Chem.* **2015**, 8(2), 186 – 191.

<sup>70</sup>. W. Li, B. Yu. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2020**, 77, 1 – 69.

<sup>71</sup>. E. A. Mensah, F. Yu, H.-M. Nguyen. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132(40), 14288 – 14302.

<sup>72</sup>. H.-F. Gonçalves-Barbosa, M. Attjioui, A.-P. Garcia-Ferreira, E.-R. Dockal, N.-E. El-Gueddari, B.-M. Moerschbacher, É.-T. Gomes-Cavaleiro. *Molecules.* **2017**, 22(11), 1987 – 2006.

<sup>73</sup>. X. Liu and S. Ma. *ChemistrySelect.* **2020**, 5(5), 1718 – 1727.

<sup>74</sup>. A. Walczewska, D. Grzywacz, D. Bednarczyk, M. Dawgul, A. Nowacki, W. Kamysz, H. Myszk. *Beilstein J. Org. Chem.* **2015**, 11, 869 – 874.

<sup>75</sup>. N.-M. Parekh, B.-M. Mistry, M. Pandurangan, S.-K. Shinde, R.-V. Patel. *Chin. Chem. Lett.* **2017**, 28(3), 602 – 606.



alcools et une fonction amine, celles-ci doivent être partiellement protégées afin d'éviter la formation de plusieurs produits pendant la réaction<sup>76</sup>. Dans les glucosamines, le premier groupement fonctionnel à protéger est l'amine car les amines sont généralement plus réactives que leurs homologues hydroxyles<sup>77</sup>. En effet, dans les différentes synthèses qui seront présentées ci-après, diverses stratégies ont été mises en œuvre afin de les préparer à partir de composés facilement accessibles.

### **I.8.1.Synthèse et stéréochimie des dérivés de glucosamine par la protection des groupements fonctionnels**

#### **I.8.1.1.Protections sélective de la fonction amine (NH<sub>2</sub>) de glucosamine**

Les amines susceptibles d'être protégées<sup>78</sup>, à cause de leurs réactivités : nucléophiles, acides et basiques (*pour les amines primaires et secondaires*). Les amines peuvent être protégées sous la forme d'imides, d'amides, de carbamates, d'imines, d'énamines, de dérivés sulfonylés, *N*-sulfénylés, *N*-alkylés ou *N*-silylés<sup>79</sup> et plus de **350** groupes protecteurs (**statistiques 2018**) des amines ont été décrits<sup>80</sup> (**Figure.I.13**).

<sup>76</sup>. E-L. Eliel, S-H. Wilen, M-P. Doyle. Basic Organic Stereochemistry. John Wiley & Sons. New York. **2001**.

<sup>77</sup>. K-L.Chang,M-M-L Zulueta, X-A. Lu et Y-Q.Zhong. *J. Org. Chem.* **2010**, 75 (21), 7424 –7427.

<sup>78</sup>. P-J. Kocienski. Protecting Groups: Foundations of Organic Chemistry. 3<sup>rd</sup> Edition. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **2006**, 15(1), 74 –75

<sup>79</sup>. P-G. M. Wuts, T-W. Greene. Greene's Protective Groups in Organic Synthesis. John Wiley & Sons, Inc. 4<sup>th</sup> ed, **2007**.

<sup>80</sup>. R. Enugala, L.Carvalho. M. Dias Pires. *Chem. Asian. J.* **2012**, 7(11), 2482 – 2501.

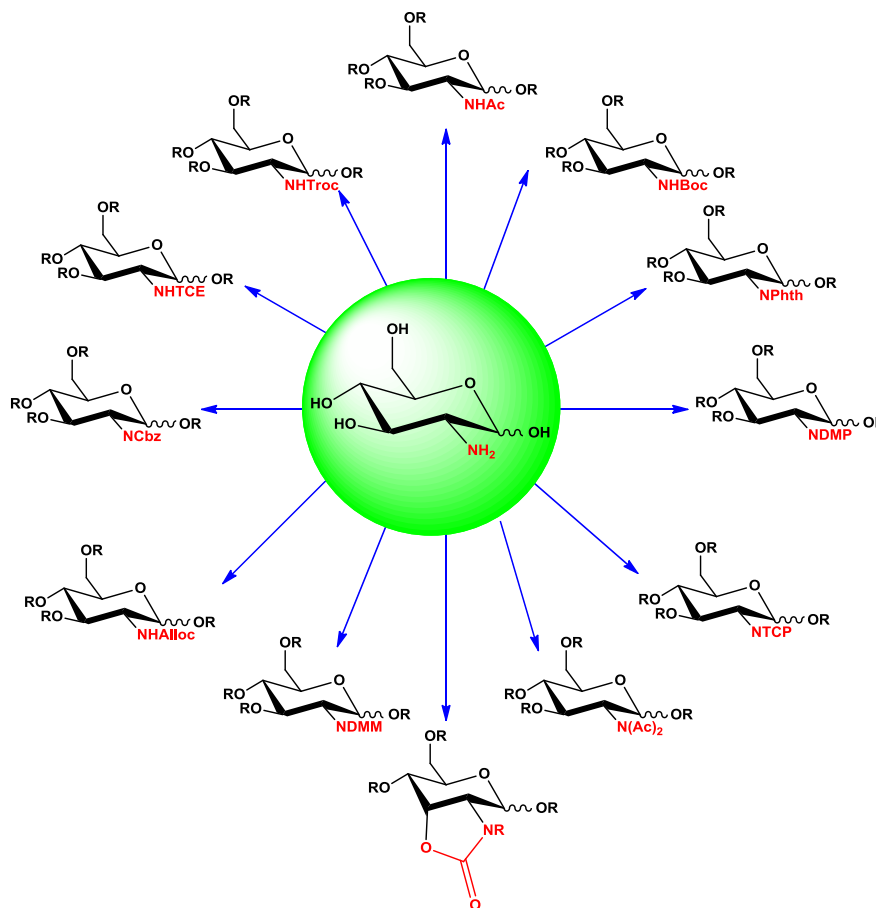


Figure.I.13. Quelques groupes protecteurs du groupement amine de la *D*-glucosamine

#### I.8.1.1.a. Protection par le groupe allyloxycarbonyle (Alloc)

La méthodologie développée par **P. Boullanger**<sup>81</sup> pour protéger la fonction amine de la *D*-glucosamine par chlorure d'allyloxycarbonyle, l'utilisation de ce robuste groupement protecteur de fonction amine permet la modification sélective des fonctions hydroxyles. L'introduction de ce groupe entraîne une augmentation de la solubilité du produit obtenu dans les solvants organiques tels que le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (Schéma.I.1).

<sup>81</sup>. P.Boullanger, J.Banoub, G.Descotes, *Can. J. Chem.* **1987**, 65(6), 1343 – 1348.

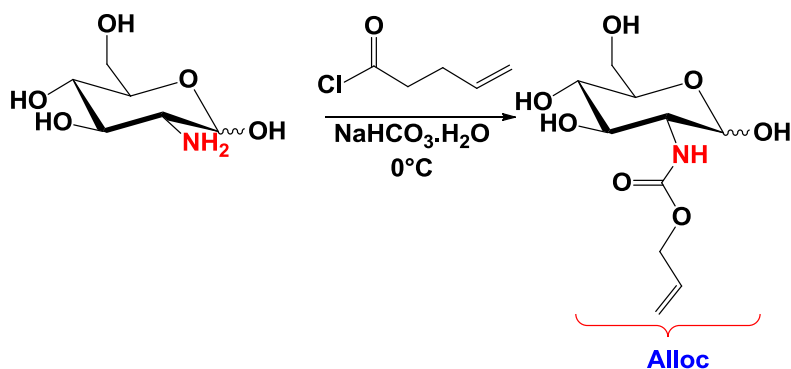


Schéma.I.1. Protection de la fonction amine par chlorure d'allyloxycarbonyl

Le clivage du groupe allyloxycarbonyl peut être réalisé par le tetrakis (triphenylphosphine) palladium (0)<sup>82</sup> (TTPPd<sup>0</sup>). Comme le *N*- allyloxycarbonyl est un groupement protecteur robuste, sa suppression entraîne potentiellement des réactions secondaires indésirables.

#### I.8.1.1.b. Protection par le groupe phthalique (Phth)

L'introduction du groupement phthalique sur l'amine exige une réaction d'acétylation, qui permet de fermer le cycle imidique<sup>83,84</sup>, l'anhydride phthalique a été largement utilisé dans la protection des fonctions amines. Après protection de la fonction amine par le groupement phthalimido et acétylation in situ des groupes hydroxyles. Les différentes étapes sont représentées dans le schéma.I.2.

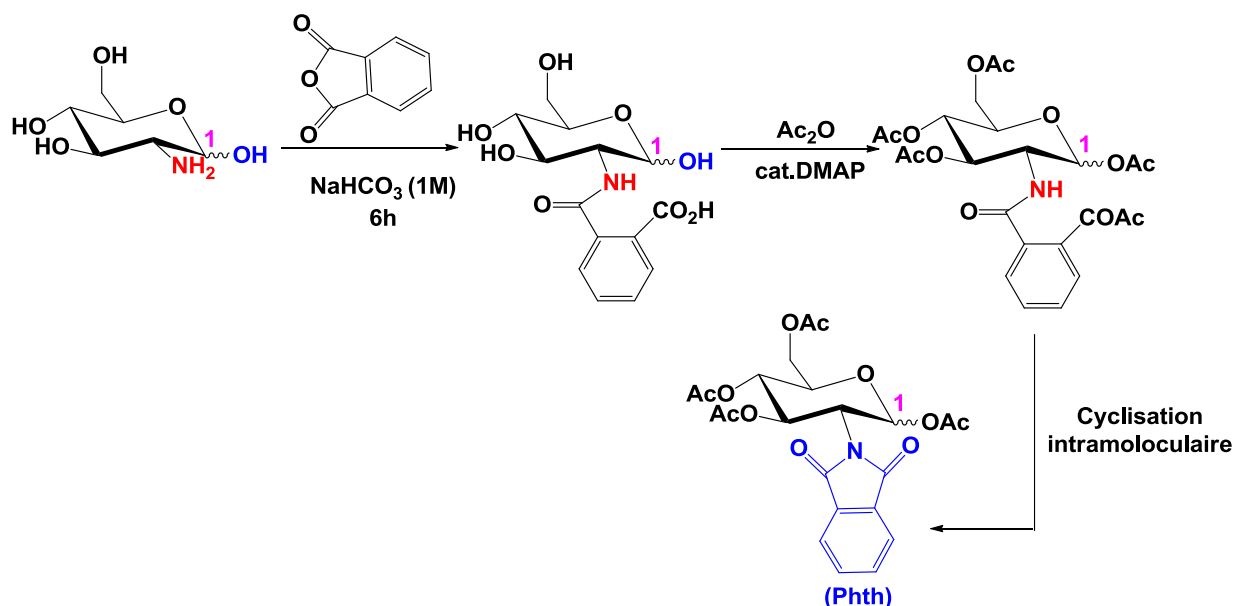


Schéma.I.2. Protection de la fonction amine par le groupement phthalique et acétylation totale des groupements hydroxyles

<sup>82</sup>. G.Francois, *Tetrahedron*. **1998**, 54(13), 2967 – 3042.

<sup>83</sup>. H. Toiserkani, H.Sheibani, K. Saidi. *Eur. Polym. J.* **2010**, 46, 185–194.

<sup>84</sup>. R-R Schmidt, W. Kinzy. *Adv Carbohydr Chem Biochem.* **1994**, 50, 221 – 213.

Le clivage de l'anhydride phtalique se fait en milieu hydrazine ( $N_2H_4$ ) dans l'éthanol (Schéma.I.3), avec un rendement de 76%.

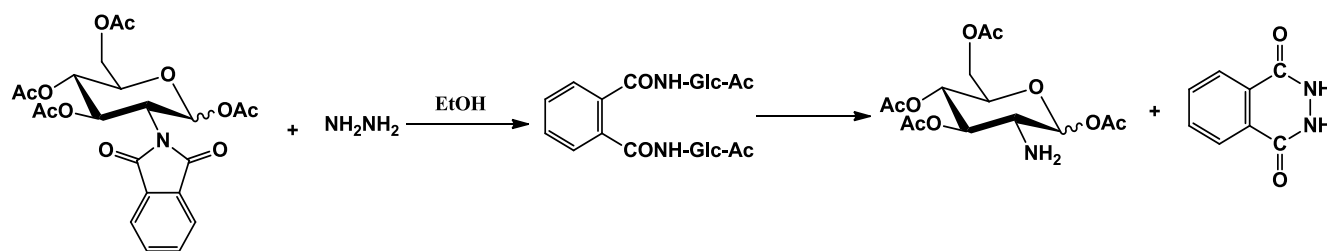


Schéma.I.3. Déprotection du N-phthalimide en présence d'hydrazine

#### I.8.1.1.c. Protection par le groupe acryloyle (Acryl)

La protection de la fonction amine par *N*-acryloylation est une procédure clés pour la préparation de *N*-acryloyl-*D*-glucosamine. Y. Zhao<sup>85</sup> et J. Bernard<sup>86</sup> décrit une procédure pour la *N*-acryloylation du *D*-glucosamine par irradiation aux fréquences micro-ondes en quelques minutes (6 min)(Schéma.I.4).

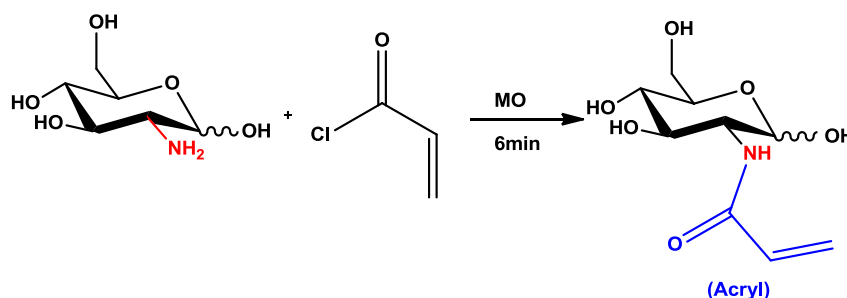


Schéma.I.4. Protection de la fonction amine par l'acryloylation

#### I.8.1.2. Protection des fonctions alcools

Dans certains cas, il faut protéger les alcools car ils peuvent être incompatibles avec d'autres réactifs. Cette incompatibilité est due à l'acidité de l'alcool (*H acide*) et à la nucléophilie de l'alcool. De très nombreuses stratégies de protection d'alcools ont été développées et ont l'objet de nombreuses recherches scientifiques ces dernières années.

##### I.8.1.2.a. Protection de l'alcool (C-1) anomérique

La réaction de glycosylation est la mise en place d'un aglycone nucléophile (**ROH**, **RSH**,...etc.) autre que le sucre aminé. La protection de la position anomérique est souvent réalisée par la réaction de Fischer en catalyse acide<sup>87</sup>. Traditionnellement, l'aglycone est utilisé sous forme liquide

<sup>85</sup>. Y. Zhao, S. Perrier. *Chem. Commun.* **2007**, 41, 4294 – 4296.

<sup>86</sup>. J. Bernard, X. Hao, T. P. Davis, C-B. Kowolik, M-H. Stenzel. *Biomacromolecules.* **2006**, 7(1), 232 – 238.

<sup>87</sup>. H-P. Wessel. *J. Carbohydr. Chem.* **1988**, 7, 263 – 269.

comme solvant de réaction, par exemple la protection sélective de la position anomère (C-1) du *D*-glucosamine par un groupement allyle s'effectue lors d'une réaction de Fischer. Le groupement allylique est un groupement protecteur utilisé pour la protection sélective de l'hydroxyle en position anomérique (C-1), ce groupement a été choisi car il est stable dans des conditions à la fois acides ou basiques<sup>88</sup>.

La réaction d'allylation s'effectue par la bromation de la fonction alcool en position anomérique suivie par la réaction de **W. Koenigs** et **E. Knorr**<sup>89</sup> en présence de **HgCl<sub>2</sub>** (Schéma.I.5).

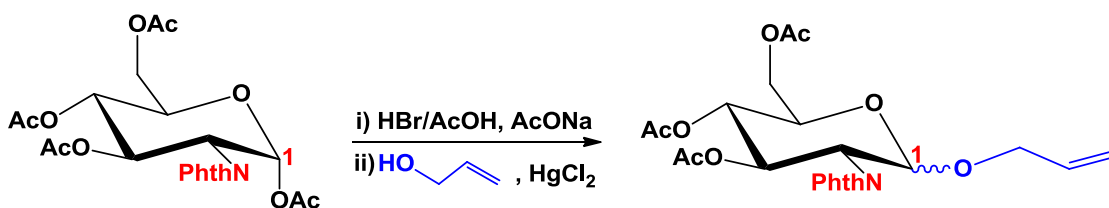


Schéma.I.5. Allylation par la réaction de Koenigs-Knorr<sup>89</sup>

Cette procédure s'est avérée inefficace ; c'est une réaction en deux étapes qui utilise des réactifs hautement sensibles (**HBr/AcOH**) et dangereux (**HgCl<sub>2</sub>**). La formation du bromoglycoside (intermédiaire) est très instable, l'hydroxyle de ce dernier a été hydrolysé (anomère déprotégé). Il peut être éliminé sélectivement par l'utilisation du catalyseur à l'iridium. L'alcool allylique peut être utilisé comme solvant et l'acide trifluorométhanesulfonique (**CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H**) en tant que catalyseur acide<sup>86</sup>.

### I.8.1.2.b. Protection régiosélective de l'alcool primaire (C-6)

#### I.8.1.2.b.1. Protection par le chlorure de trityle (Tr)

Le trityle (triphenylméthyle), est largement utilisé en synthèse hétéroside. Le grand succès de ce groupement est dû à son caractère hydrophobe qui permet l'augmentation de la solubilité des osamines semi-protégés dans les solvants organiques. L'introduction de ces dérivés sur la *D*-glucosamine s'effectue dans des conditions douces qui permettent la protection sélective des fonctions alcools primaires<sup>90</sup> (Schéma.I.6).

<sup>88</sup>. T.Matsuda, T.Sugawara. *Macromolecules*. **1996**, 29(16), 5375 – 5383

<sup>89</sup>. W. Koenigs, E. Knorr. *Chem. Ber.* **1901**, 34(1), 957 – 981.

<sup>90</sup>. T-V.Tyrtys, N-E. Byramova, N-V. Bovin. *Russ. J. Organ. Chem.* **2000**, 26(6), 414 – 418.

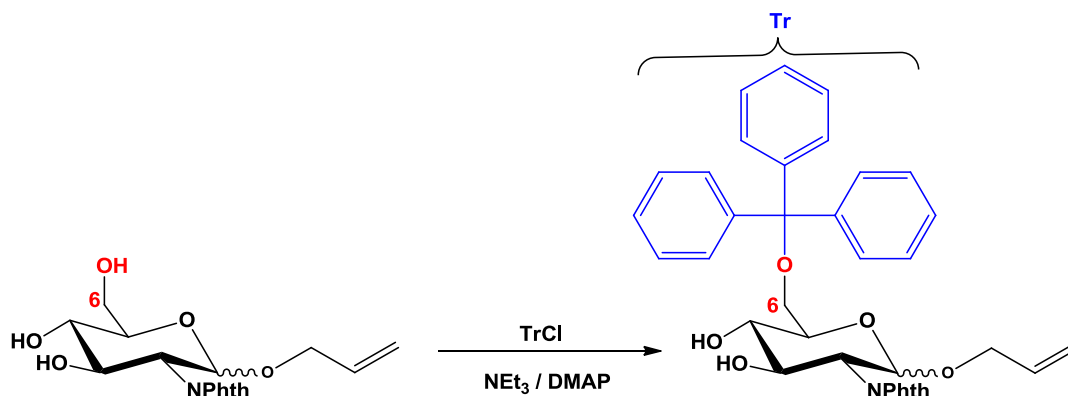


Schéma.I.6. Protection régiosélective de l'alcool primaire par le chlorure de trityle

Le trityle est un groupement protecteur très stable qui nécessite des conditions de déprotection difficiles.

#### I.8.1.2.b.2. Protection par le chlorure de tosyile (Ts)

La tosylation réalisée sur la *D*-glucosamine, donnant un groupe hydroxyle protégé en **C-6**, ensuite l'acétylation est effectuée, la protection de l'hydroxyle primaire se fait avec un faible rendement 10%<sup>91</sup> (Schéma.I.7).

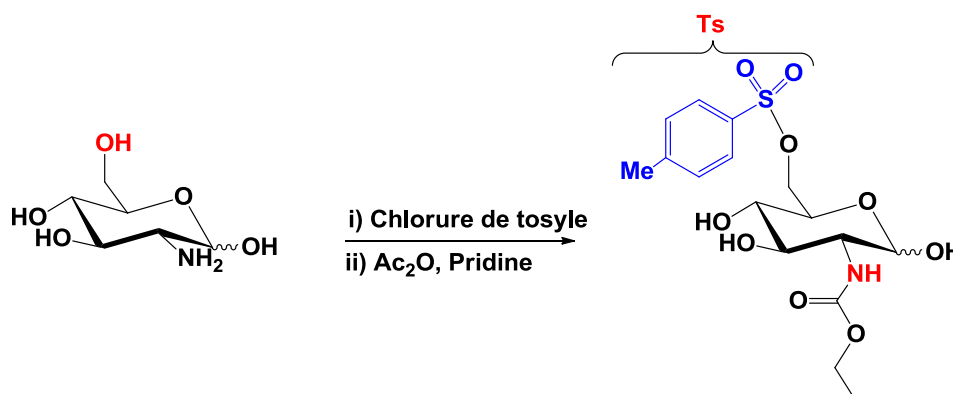


Schéma.I.7. Tosylation régiosélective de l'hydroxyle primaire (H-6)

La méthode de déprotection sélective de l'hydroxyle primaire H-6<sup>92</sup> se fait en milieu  $\text{Ti}(\text{O-}i\text{-Pr})_4$ ,  $\text{Me}_3\text{SiCl}$ / THF à 50°C.

#### I.8.1.2.c. Protection des alcools en positions C-3 et C-4

Le groupement benzylique est très employé pour la protection sélective des fonctions hydroxyles en positions **C-3** et **C-4**. La réaction de benzylation s'effectue en milieu alcalin dans le

<sup>91</sup>. J. Yan, J. Li, D. Cheng. *Synlett*. **2007**, 15, 2442 – 2444.

<sup>92</sup>. N. Shohji, T. Kawaji, S. Okamoto. *Org. Lett.* **2011**, 13, 2626 – 2629.

*N,N'*-diméthylformamide (Schéma.I.8), la réaction de benzylation légèrement favorisée avec un rendement très élevé<sup>93</sup>.

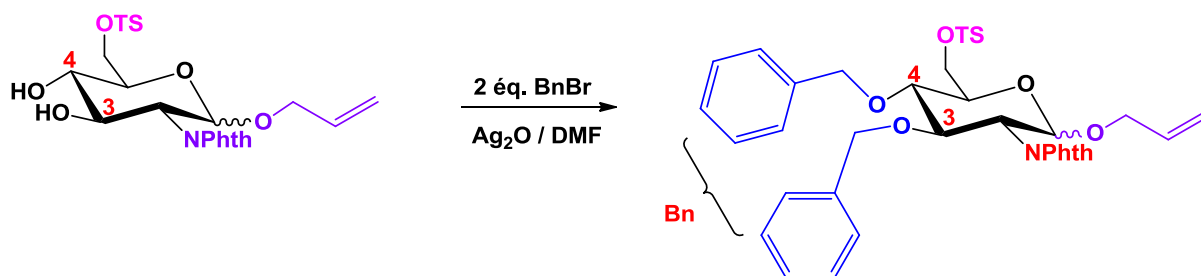


Schéma. I.8. Réaction de benzylation sur la *D*-glucosamine

Il est rapporté dans la littérature que le groupement benzyle (*O*-Bn) est très stable, il nécessite des conditions de déprotection très dures, par exemple la déprotection homolytique de liaisons (*O*-Bn) par l'utilisation des réactions radicalaires donne de bons rendements<sup>94</sup>, d'autres auteurs utilisent le triéthylsilane en présence d'iode moléculaire, cette méthode offre d'excellents rendements<sup>95</sup>.

#### I.8.1.2.d. Protection totale par l'anhydride acétique

Plusieurs méthodes de protection avec le groupement acétyle ont été développées dans la chimie des osamines<sup>96,97</sup>. La protection totale des alcools des sucres amines par le groupement acétyle est généralement décrite en solubilisant le sucre aminé dans la pyridine et en ajoutant de l'anhydride acétique<sup>98,99</sup>. La protection d'un mélange racémique en présence d'une quantité catalytique de **ZnCl<sub>2</sub>** ou **DMAP** et/ou d'autres catalyseurs acides **HClO<sub>4</sub>** dans l'**Ac<sub>2</sub>O**, permet de protéger l'anomère  $\alpha$  le plus stable<sup>100</sup>. Il est possible d'orienter la réaction vers la formation de l'anomère  $\beta$  en opérant dans l'anhydride acétique à **100%** en présence d'**AcONa**<sup>101</sup> (Schéma.I.9).

<sup>93</sup>. P-R. Skaanderup, C-S. Poulsen, L. Hyldtoft, M-R. Jørgensen, R. Madsen. *Synthesis*. **2002**, 12, 1721 – 1727.

<sup>94</sup>. P. Lu, T. Hou, X. Gu, P. Li. *Org. Lett.* **2015**, 17, 1954 – 1957

<sup>95</sup>. R. Panchadhayee, A-K. Misra. *Synlett*. **2010**, 8, 1193 – 1196.

<sup>96</sup>. G. Zempen, E. Pascu. *Chem. Ber.* **1929**, 62, 1613 – 1614.

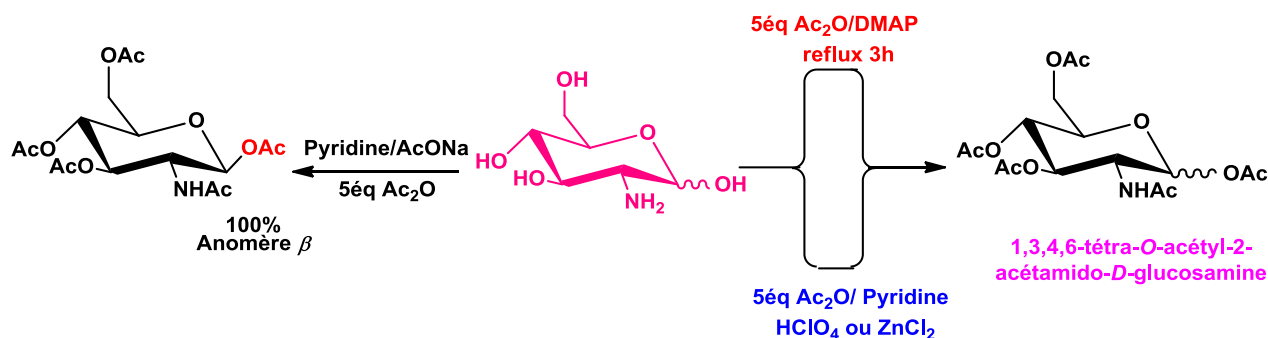
<sup>97</sup>. H.A Shenawy, C. Schuerch. *Carbohydr. Res.* **1984**, 13(1), 239 – 246

<sup>98</sup>. T.Wang, S-S. Nigudkar, J-P. Yasomanee, N-P. Rath, K-J. Stine. *Org.Biomol.Chem.* **2018**, 16(19), 3596 – 3604.

<sup>99</sup>. D. Rituparna et M. Balaram. *ChemistryOpen*. **2016**, 5(5), 401 – 433.

<sup>100</sup>. M-N. Khan. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 45 – 36.

<sup>101</sup>. H-G Khorana. *Pure Appl. Chem.* **1968**, 17(3-4), 349 – 382.

Schéma.I.9. Protection totale du *D*-glucosamine par l'anhydride acétique

La méthode qui est probablement la plus utilisée pour déprotéger ce groupement est la procédure de **G. Zemplén**<sup>102</sup>. Il s'agit d'une réaction de trans-estérification effectuée dans le méthanol et catalysée par des traces d'**AcONa**. Les alcools peuvent aussi être déprotégés en présence de **CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>3</sub>**<sup>103</sup>. La meilleure méthode de déprotection sélective de la position anomérique est celle qui se fait dans le **(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/DMF**<sup>104,105</sup>.

### I.8.1.3. Réactions de glycosylations de la position C-1 par l'activation micro-ondes

La *O*-glycosylation avec les micro-ondes a été rapportée, entre autres, par l'équipe de **B. Mukhopadhyay** et *coll*<sup>106</sup>. Ces chercheurs ont effectué la synthèse entre le 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-*N*-acétyl-  $\beta$ -*D*-glucosamine et le **ROH** en présence de **ZnCl<sub>2</sub>** et/ou **SnCl<sub>2</sub>** (Schéma. I.10).

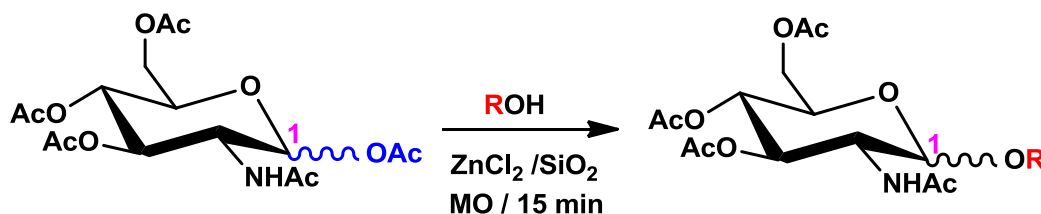


Schéma.I.10. Glycosylation de la position anomérique (C-1)

Les réactifs sont adsorbés sur un support solide tel que **SiO<sub>2</sub>** ou **HSC** (*Hyflo Super cel*). Les rendements rapportés sont de **75 à 85%** avec un temps relativement court environ. (**Tableau.I.2**).

<sup>102</sup>. G.Zemplén, E. pacsu. *Chem. Ber.***1929**, 62, 1613 – 1614.

<sup>103</sup>. J-J. Plattner, R-D.Gless, H. Rapoport. *J.Am.Chem.Soc.* **1972**, 94, 8613 – 8615.

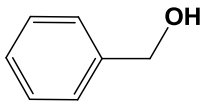
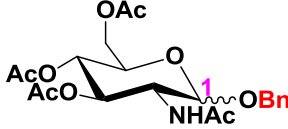
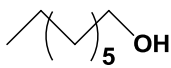
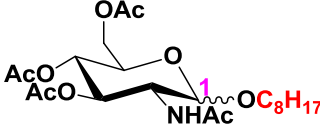
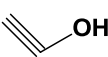
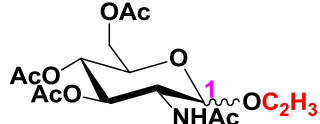

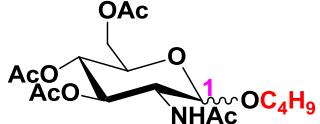
<sup>104</sup>. H.A El-Shenawy, C. Schuerch. *Carbohydr.Res.* **1984**, 131, 239 – 246.

<sup>105</sup>. Y. Guindon, H-E .Morton, C.Yoakim. *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 3969 – 3972.

<sup>106</sup>. S. Mandal, N. Sharma, B. Mukhopadhyay. *Synlett.* **2009**, 19, 3111 – 3114.



Tableau. I.2. Glycosylation de la position anomérique ( $\alpha/\beta$ ) avec différents alcools

ROH	Produit	Rdt (%)
		85
		81
		74
		83

#### I.8.1.4. Synthèse régiosélective via la procédure d'un monotope à partir de *D*-glucosamine chlorhydrate (native)

Une synthèse monotope ou synthèse one-pot est une réaction de synthèse chimique dans laquelle un réactif subit plusieurs réactions successives et/ou simultanées dans un seul mélange réactionnel, donc en évitant les longs processus de séparation et de purification des composés intermédiaires. Le processus par lequel une synthèse à multiples étapes est réduite à une synthèse monotope est appelé télescopage. La synthèse de cet imidate est réalisée en trois étapes successives à partir de la *D*-glucosamine chlorhydrate<sup>107,108</sup>. (Schéma.I.11).

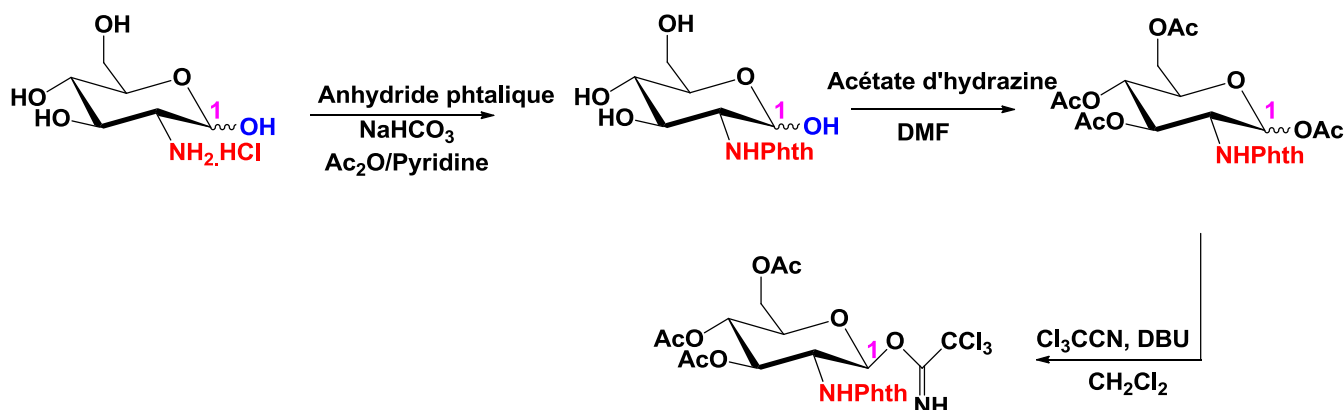


Schéma.I.11. Réaction de synthèse du donneur de glycosyle

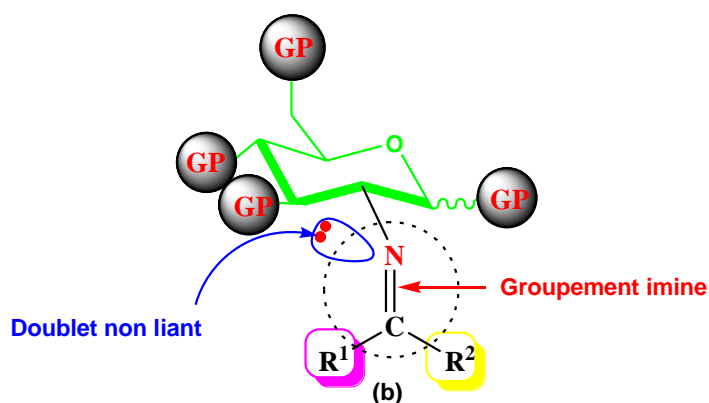
<sup>107</sup>. J.-S. Debenham, R. Rodebaugh, B. Fraser-Reid. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 6478 – 6479.

<sup>108</sup>. N. Afza, A. Malik, F. Latif, W. Voelter. *Liebigs Ann. Chem.* **1985**, 10, 1929 – 1934.

### I.9. Réactions de condensation de la fonction amine primaire avec l'aldéhyde

C'est en **1864** que la première synthèse des composés iminiques fut réalisée par Schiff <sup>109</sup>. C'est ainsi que ces composés ont pris ensuite son nom. Elles sont des ligands largement exploités en chimie médicale et en chimie de coordination à cause de la simplicité de leurs préparations, la diversité de leurs applications par le biais de la stabilité relative de leurs complexes avec la majorité des métaux de transition, ces ligands présentent des intérêts potentiels très variés pour un grand nombre de domaines interdisciplinaires <sup>110</sup>. Plusieurs études ont décrit la formation des imines secondaires résultant de la réaction entre une amine primaire et un aldéhyde ou une cétone, en milieu organique <sup>111,112</sup>, mais aussi en milieu aqueux <sup>113,114</sup>.

Une imine (ou azométhine) est un composé organique caractérisé par une double liaison carbone-azote et un doublet non liant <sup>115</sup>. De plus, l'azote est lié grâce à son troisième électron de valence à un second groupe alkyle ou à un hydrogène. Dans notre cas, l'azométhine-*D*-glucosamine formé est caractérisé par une double liaison **carbone-azote** et un doublet non liant. De plus, l'azote est lié grâce à son troisième électron de valence à un *D*-glucosamine protégé. (**Figure.I.14**).



Stéréochimie de la double-liaison (Z/E)

**Figure.I.14. Présentation de la structure d'imine dérivée de la *D*-glucosamine**

L'importance et la réactivité des azométhine-*D*-glucosamine nous a incité pour la réalisation de ce travail. Nous avons fait une recherche dans la littérature sur les différentes méthodes de synthèse des imines afin de choisir une, pour la synthèse d'une série de dérivés des azométhine-*D*-glucosamines.

<sup>109</sup>. D-O. Clegg. *N. Engl. J. Med.* **2006**, 18, 354(20), 2184 – 2185.

<sup>110</sup>. G-H. Beaumont, J. Roman, M-C Trabado, F-J Blanco, P. Benito, E. Martin-Mola, J. Paulino, J-L Marengo, A. Porto, A. Laffon, D. Araujo, M. Figueroa, J. Branco. *Wiley-Blackwell*. **2005**, 52(9), 460 – 470.

<sup>111</sup>. A. Enz, D. Feuerbach, M-U. Frederiksen, C. Gentsch, K. Hurth, W. Müller, J. Nozulak, B-L. Roy. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19(5), 1287 – 1291.

<sup>112</sup>. V. Saggiomo, U. Lüning. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 5(32), 4663 – 4665.

<sup>113</sup>. G. Wulff, W. Best, A. Akelah. *React. Polym.* **1984**, 2(3), 167 – 174.

<sup>114</sup>. W. Yao, B. Ning, H. Zhou, Y. Fang, Z. Gao. *J. Sep. Sci.* **2008**, 31(2), 413 – 418.

<sup>115</sup>. M-H Gilzad-Kohan, F. Jamali. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2012**, 47(2), 387 – 393.

### I.9.1.Synthèse de *D*-glucosamin-azométhine

La littérature fait mentionner de nombreux travaux concernant la réaction de condensation des aldéhydes ou des acétones avec  $\beta$ -*D*-glucosamine natif et/ou greffé par les groupements protecteurs (GPs).

#### I.9.1.1.Synthèse d'azométhine- $\beta$ -*D*-glucosamine protégée à partir du benzaldéhyde substitué

Dans la littérature, une synthèse chimique des  $\beta$ -*D*-glucosamin-azométhines est effectuée par une réaction de condensation de différents benzaldéhydes substitués ou non substitués, avec de la  $\beta$ -*D*-glucosamine protégée en présence de pyridine, cette condensation a permis d'obtenir les produits désirés<sup>116</sup> avec la formation d'une molécule d'eau. (Schéma.I.12).

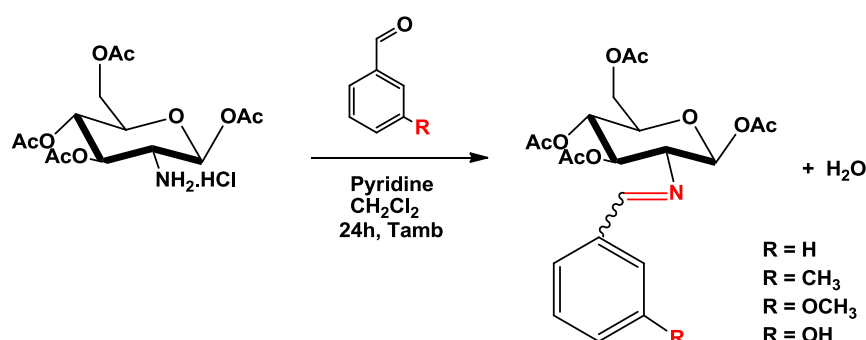


Schéma.I.12.Synthèse de différents  $\beta$ -*D*-glucosamin-azométhines à partir de différents aldéhydes

#### I.9.1.2.Synthèse d'azométhine- $\beta$ -*D*-glucosamine protégée à partir de $\beta$ -*D*-glucosamine natif

##### I.9.1.2. a.Condensation par le *p*-anisaldéhyde

En 2016<sup>117</sup> une réaction de condensation a été réalisée entre la  $\alpha$ -*D*-glucosamine et *p*-anisaldéhyde selon le Schéma.I.13. L'azométhin- $\alpha$ -*D*-glucosamine est obtenu avec un rendement de 15%.

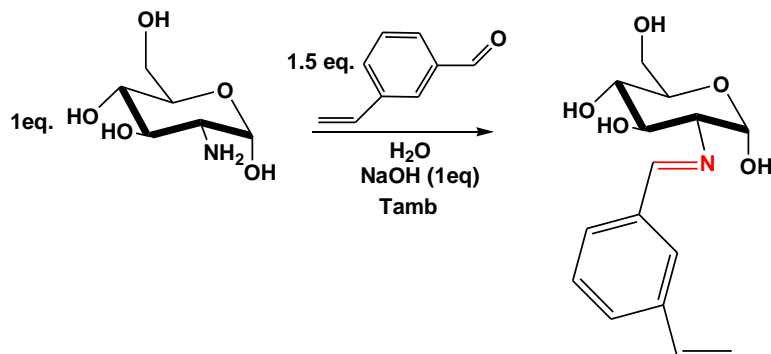


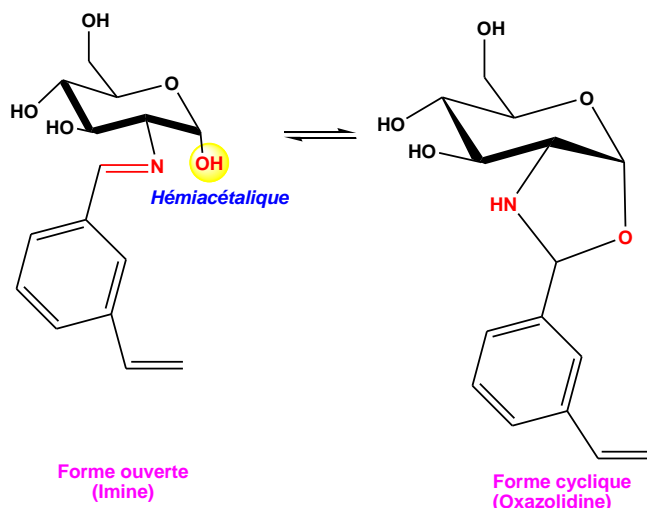
Schéma.I.13.Synthèse d'azométhin- $\alpha$ -*D*-glucosamine à partir de *p*-anisaldéhyde

<sup>116</sup>. F. Safoura. *J. Chem. Res.* **2014**, 4(2), 25 – 28.

<sup>117</sup>. N-B. Nripendra, Y. Tsz-Tin, K. Önder, N. Shashidhar, R-G. Christopher, M. Mike, G. Renate, S<sup>i</sup>C-B. David, K.Naresh. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, 24(12), 1 – 19.

Le faible rendement observé pour cette voie pourrait s'interpréter par l'équilibre tautomérique d'imine qui peut avoir lieu dans le groupement hydroxy (OH *hémiacétalique*) non protégé.

La stabilité d'azométhines est étudiée à partir de l'équilibre tautomérique pouvant exister entre la forme cyclique<sup>118</sup> et la forme ouverte<sup>119</sup> (Schéma.I.14). La proportion des différentes espèces à l'équilibre dépend notamment des paramètres structuraux<sup>120</sup>.



**Schéma.I.14. Equilibre tautomérique entre l'azométhine et 1,3-oxazolidine**

La première interprétation du phénomène s'est appuyée sur le mécanisme d'équilibre tautomérique entre l'azométhine et 1,3-oxazolidine. Le mécanisme communément admis pour la formation d'une oxazolidine fait apparaître deux grandes étapes (Schéma.I.15):

- ✚ La première étape correspond globalement à une réaction d'addition de la fonction amine primaire sur le groupement carbonyle du *p*-anisaldehyde avec élimination d'une molécule d'eau pour conduire à une azométhine;
- ✚ Au cours de la deuxième étape, l'addition nucléophile intramoléculaire du groupement hydroxyle anomérique non protégé sur l'azométhine conduit au cycle à cinq chaînons.

<sup>118</sup>. R-F. Martínez, M. Ávalos, R. Babiano, P. Cintas, J-L. Jiménez, M-E. Light, J-C. Palacios, E-M. S. Pérez. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 27, 5263 – 5273.

<sup>119</sup>. D. E. Bergmann. *Chem. Rev.* **1953**, 53, 309 – 352.

<sup>120</sup>. L. Lázár, F. Fülöp. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 16, 3025 – 3042.

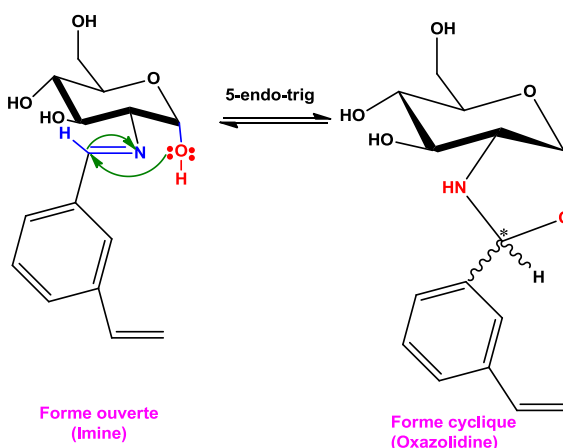
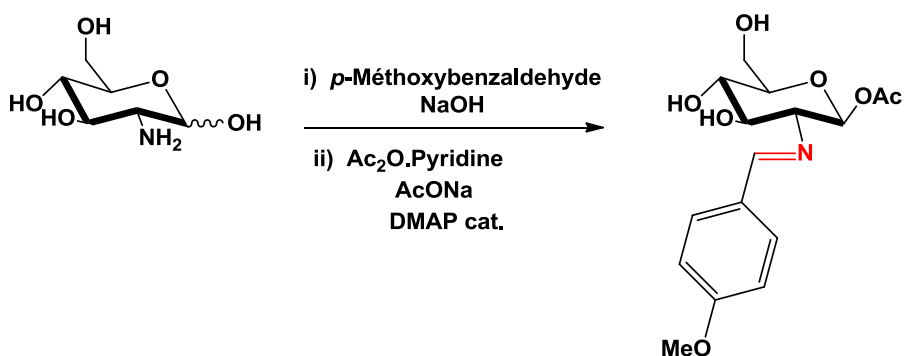


Schéma. I.15. Mécanisme d'équilibre tautomérique entre l'azométhine et 1,3-oxazolidine

Les règles empiriques de **J-E. Baldwin**<sup>121,122</sup> pour les processus de cyclisation par addition nucléophile intramoléculaire sur une double liaison ont été proposées pour justifier la stabilité relative de la forme cyclique.

#### I.9.1.2. b. Condensation par la *p*-méthoxybenzaldehyde

**G. Blatter** et *coll*<sup>123</sup> ont décrits la protection de fonction amine de la *D*-glucosamine par *p*-méthoxybenzaldehyde suivie de l'acétylation de la position anomérique **C-1** sélectivement en présence de l'acétate de sodium et **DMAP** pour fournir l'azométhin- $\beta$ -*D*-glucosamine avec un rendement de **97%**. (Schéma.I.16).

Schéma.I.16. Synthèse d'azométhin- $\beta$ -*D*-glucosamine à partir de *p*-méthoxybenzaldehyde

#### I.9.2. Propriétés des réactions de formation des azométhines à base de *D*-glucosamine

La formation d'azométhine dérivé de la *D*-glucosamine est plus rapide dans le cas de l'utilisation des solvants apolaires et en présence d'une base minérale, qui rend l'activation de la fonction amine

<sup>121</sup>. J-E. Baldwin. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1976**, 18, 734 – 736.

<sup>122</sup>. J-E. Baldwin, R-C. Thomas, L-I. Kruse, L. Silberman. *J. Org. Chem.* **1977**, 42(24), 3846 – 3852.

<sup>123</sup>. S. Hanashima, K-I. Inamori, S. Manabe, N. Taniguchi, Y. Ito. *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 3449 – 3462.

plus réactive et la vitesse de condensation très rapide. Donc on peut dire que la formation de l'azométhine dérivée de  $\beta$ -D-glucosamine ressemble à une réaction biologique: elle est plus rapide au voisinage de la neutralité<sup>124</sup>. Les azométhines à base de la D-glucosamine sont instables, par rapport au composé carbonyle et à l'amine de départ avec l'élimination d'eau du mélange réactionnel. Ils sont facilement hydrolysés en carbonyle et en amine par les acides aqueux en fait, la plupart peuvent être hydrolysés par l'eau<sup>125</sup>.

### I.9.3.Caractérisation des D-glucosamin-azométhines

Les bandes de vibration du groupe azométhine (C=N) des ligands-imines sont comprises entre 1603 - 1680  $\text{cm}^{-1}$  selon la nature des différents substitutions sur les atomes du carbone et d'azote. Cette propriété fait de la spectroscopie infrarouge une technique de choix pour l'identification de ce groupement fonctionnel. En UV-Visible, les composés contenant un chromophore non-conjugué sont caractérisés par des spectres de transition de type ( $n - \pi^*$ ) dans l'intervalle (235- 272) nm<sup>126</sup>.

### I.10.Etude de la réactivité chimique des dérivés de $\beta$ -D-glucosamine-modifiés

A.Puglisi et coll<sup>127</sup>. ont utilisé des catalyseurs dérivés de la N,N-diméthyl-D-glucosamine possédant une fonction urée en position anomérique (figure.I.15).

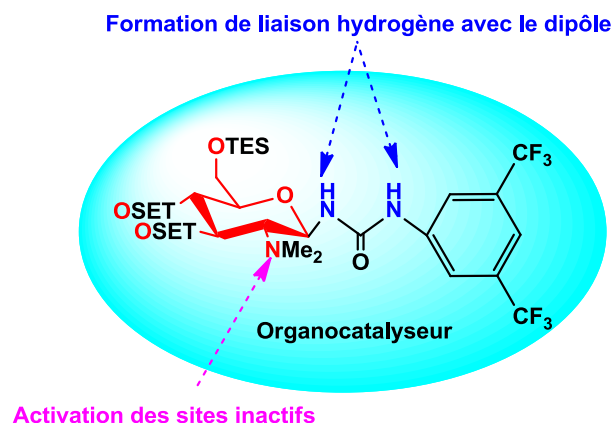


Figure.I.15. Structure du catalyseur à base de  $\beta$ -D-glucosamine (Organocatalyseur)

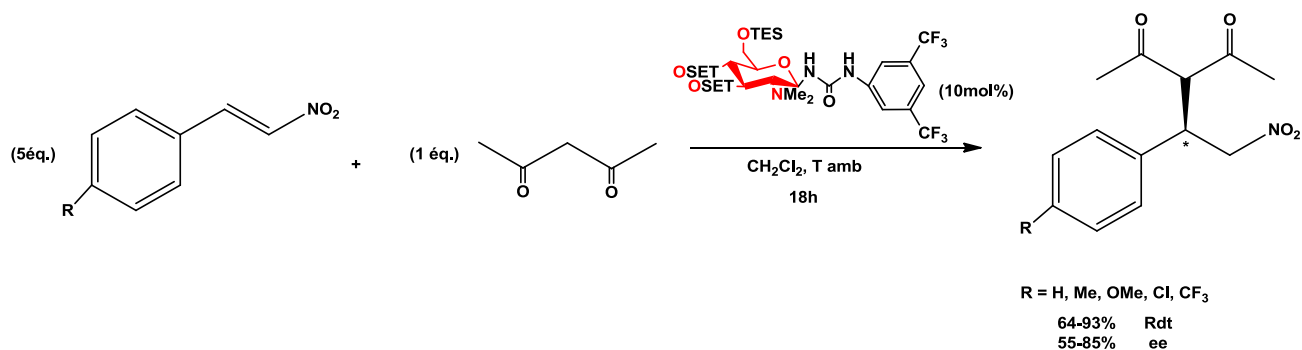
Par exemple, la réaction de Michael et de Mannich dans la synthèse asymétrique, utilise le dérivé  $\beta$ -D-glucosamine comme catalyseur (Schéma.I.17).

<sup>124</sup>. G.Clyden, W. Warren. Chimie Organique. Edition Jacquemont Paris. **2003**, 349-356 et 1500 – 1508.

<sup>125</sup>. B. Kołodziej, E. Grech, W.Schilf, B. Kamiński, M. Makowski, Z. Rozwadowski, T. Dziembowska. *J. Mol. Struct.* **2007**, 844, 32 – 37.

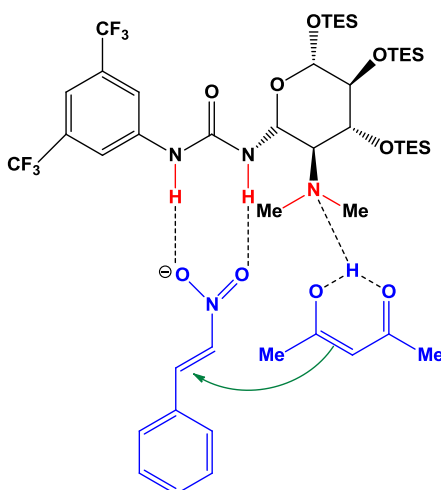
<sup>126</sup>. Y. Ma, D-Y. Fan, Wang. *Int. J. Appl. Eng. Res.* **2005**, 143, 2278 – 9480.

<sup>127</sup>. A. Puglisi, M. Benaglia, L. Raimondi, L. Lay, L. Poletti. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, 9, 3295 – 3302.



**Schéma.I.17. Réaction de Michael et de Mannich dans la synthèse asymétrique par l'utilisation d'un organocatalyseur**

Le mécanisme d'activation de ces réactions a été expliqué sur la réaction de Michael comme modèle. L'organocatalyseur à base de glucosamine permet d'activer le  $\beta$ -nitrostyrène par les liaisons hydrogènes. Alors que la forme émol du dicétone serait stabilisée par une troisième liaison hydrogène impliquant l'amine tertiaire (**Figure.I.16**).



**Figure.I.16. Mécanisme d'activation de la réaction de Michael et de Mannich dans la synthèse asymétrique par l'utilisation d'un organocatalyseur**

### I.11. Différentes applications des dérivés à base de *D*-glucosamine

Les dérivés à base de la *D*-glucosamine modifiée chimiquement par des groupements protecteurs se trouvent dans de nombreux agents commercialisés pour un large éventail de thérapies. L'incorporation structuro-fonctionnelle du motif tel que l'acétate, carbamate ou l'imine...etc. dont la *D*-glucosamine permet d'améliorer leur activité biologiques et thérapeutiques. Au cours des dernières années, l'activité des molécules contenant ces dérivés a également, été étudiée comme l'activité antibactérienne, antifongique, antioxydante, anticancéreuse, antivirale et anti-inflammatoire (*les*

références sont citées dans l'introduction générale Page I), ainsi leurs capacités de capturer des ions ont aussi été étudiées. Par exemple les imines à base de *D*-glucosamine jouent un rôle important dans la chimie analytique et industrielle, comme elles ont l'habitude de résister à la corrosion des métaux<sup>128</sup>...ect. Ces dérivés sont des molécules biocompatibles<sup>129</sup>, biodégradables<sup>130</sup> et non toxiques<sup>131</sup> permettant ainsi leurs utilisations dans des domaines allant de la pharmaceutique<sup>132</sup> à la médecine<sup>133</sup> et à l'agriculture<sup>134</sup>. Ils ont l'exceptionnelle particularité d'être chargé positivement (en milieu acide), ce qui lui permet de réagir avec tous les composés biologiques chargés négativement (membranes des muqueuses, parois des bactéries, lipides ...ect.)<sup>135</sup> et de les fixer solidement par liaison ionique. Cette particularité leur confère de très nombreuses propriétés chimiques et physiques<sup>136,137</sup>.

## I.12.Conclusion

Au cours de ce chapitre nous avons présenté une généralité sur les hétérocycles de type osamines. Nous avons rapporté des travaux de protection de glucosamine décrits dans la littérature, afin de choisir le meilleur protocole qui rend la réaction plus sélective, au moindre coût, au moindre risque, et avec de bons rendements. La stratégie utilisée repose essentiellement sur la manière de l'introduction et du clivage des groupements protecteurs, nous avons aussi rapporté des exemples sur la réactivité et l'activité de la  $\beta$ -*D*-glucosamine pour mettre en évidence une relation entre la structure et l'activité.

En effet, il a été montré dans la littérature que toute modification sur les groupements fonctionnels s'accompagne d'un changement de ses propriétés physiques, chimiques, biologiques et/ou pharmacologiques, nous avons retenu dans ce chapitre, les protocoles les plus importants et surtout ceux qui nous semblent être réalisables et qui s'inscrivent aussi dans le contexte de la chimie verte.

Nous avons rapporté également une explication sur l'activité biologique et chimique des dérivés à base de *D*-glucosamine, qu'elle semble être très importante.

<sup>128</sup>. S. Dutta, A. Chakravorty. *Polyhedron*. **1994**, 13(12), 1811 – 1816.

<sup>129</sup>. M-C. Da Silva, H-N. Da Silva, R-D. C. Alves Leal Cruz, S-K. Sagoe Amoah, S-M. D. Lima Silva, M-V. Lia Fook. *Materials*. **2019**, 12(11), 1807 – 1827.

<sup>130</sup>. X.Chen, J-H. Ahn. *J. Mater. Chem. B*. **2020**, 8, 1082 – 1092.

<sup>131</sup>. J-W. Anderson, R-J. Nicolosi, J-F. Borzelleca. *Food Chem. Toxicol*. **2005**, 43(2), 187 – 201.

<sup>132</sup>. A-M. Agiba. *Int J Curr Pharm Res*. **2017**, 9(2), 1 – 7.

<sup>133</sup>. J.Zhang, W.Xia, P.Liu, Q.Cheng, T.Tahirou, W.Gu, L. Bo. *Marine drugs*. **2010**, 8, 1962 – 1987

<sup>134</sup>. L. Balogh, A. Polyak, D. Mathe. *J. Agric. Food Chem*. **2008**, 56 (22), 10582 – 10593.

<sup>135</sup>. T.Monauni, M-G. Zenti, A. Cretti, M-C. Daniels, G. Targher, B. Caruso, M. Caputo, D-M Clain, S. Del Prato, A. Giaccari. *Diabetes*. **2000**, 49(6), 926 – 935

<sup>136</sup>. M.Song, T-J. Hang, C. Wang, L. Yang, A-D. Wen. *J.Pharm.Anal*. **2012**, 2(1), 19 – 28.

<sup>137</sup>. V.Coma. *Polímeros. Polímeros*. **2013**, 23(3), 287 – 297.



# *Chapitre.II*

---

## *Etude bibliographique sur les hétérocycles contenant le motif phosphoryle*

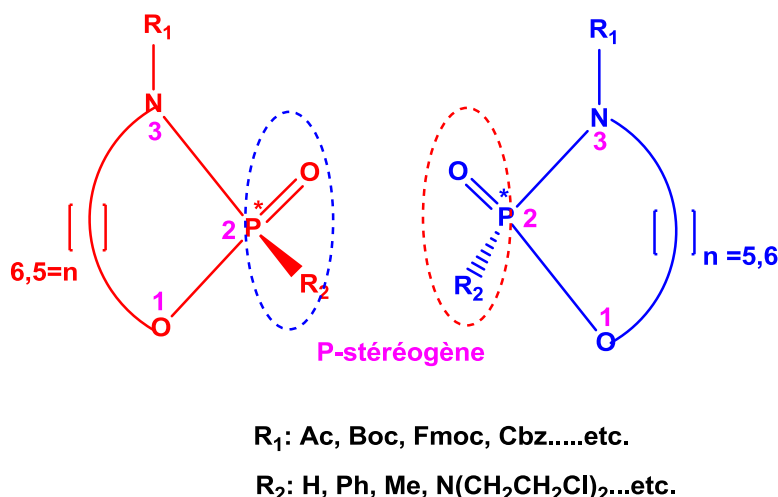
---

## II.1.Introduction

La chimie du phosphore est en perpétuelle évolution et semble gagner en intensité au fil des années<sup>1</sup>. L'incorporation d'un atome de phosphore dans un composé organique permet de moduler ses propriétés chimiques et physico-chimiques, biologiques et peut améliorer l'index thérapeutique des composés modèles<sup>2</sup>.

Les composés organophosphorés (**COP**) sont des intermédiaires importants dans la synthèse organique moderne et ont été largement utilisés comme produits pharmaceutiques<sup>3,4</sup>, agricoles<sup>5</sup>. Les COP et leurs dérivés présentent également un grand intérêt en synthèse organique<sup>6,7</sup> par leurs emplois comme précurseurs<sup>8</sup>, ou comme auxiliaires chiraux<sup>9</sup>.

Les composés organiques ayant une chiralité sur un atome de phosphore sont appelés composés *P*-stéréogènes, *P*-chirogènes ou *P*-chiraux<sup>10</sup> (**Figure.II.1**).



**Figure.II.1. Représentation du *P*-stéréogène dans les hétérocycles phosphorylés**

<sup>1</sup>. R-K. Bansal. Phosphorus Heterocycles II. Top Heterocycl Chem. Springer-Dordrecht Heidelberg, London New York. **2010**, 21, 1 – 22 et 149 – 173.

<sup>2</sup>. M. D. McReynolds, J. M. Dougherty, P. R. Hanson. *Chem. Rev.* **2004**, 104(5), 2239 – 2258.

<sup>3</sup>. P. Kafarski, B. Lejczak. *Curr Med Chem.* **2001**, 1, 301 – 312.

<sup>4</sup>. O-M. Colvin. *Curr. Pharm. Des.* **1999**, 5(8), 555 – 560.

<sup>5</sup>. J-E. Franz, M-K. Mao, J-A. Sikorski. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120(3), 564 – 565.

<sup>6</sup>. D-W. Allen, J-C. Tebby, N. Bricklebank. *Organophosphorus Chemistry. Eds.; London: RSC.* **2003**, 33, 289 – 320.

<sup>7</sup>. O-I. Kolodiazhnyi, V-P. Kukhar. Chemistry of Organophosphorus Compounds. A-N. Pudovik (Ed.), Mir: Moscow. **1989**, 261 – 271.

<sup>8</sup>. M. Eddleston, N-A. Buckley, P. Eyer, A-H. Dawson. Management of Acute Organophosphorus Pesticide Poisoning. *The Lancet*, **2008**, 371(9612), 597 – 607.

<sup>9</sup>. X. Jiang, A-J. Minnaard, B. Hessen, B-L. Feringa, A-L. L. Duchateau, J-G. O. Andrien, J-A. F. Boogers, J-G. De Vries. *Org. Lett.* **2003**, 5(9), 1503 – 1506.

<sup>10</sup>. M. Dutartre, J. Bayardon, S. Jugé. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, 45, 5771 – 5794.

Ces composés sont largement utilisés en agrochimie<sup>11,12</sup> en tant que pesticides<sup>13,14</sup> en pharmacie en tant que molécules biologiquement actives,<sup>15,16</sup> en chimie de coordination où ils aident à la détermination de la structure tridimensionnelle du complexe métallique,<sup>17,18</sup> en catalyse asymétrique, utilisés comme des ligands chiraux.<sup>19,20</sup> Les composés incorporant un groupe phosphonate (**P=O** avec **D.O : +V**) ont également reçu un vif intérêt en industrie pharmaceutique<sup>21</sup>. En effet, certains de ces composés se sont révélés capables de traiter quelques infections et cancers<sup>22</sup>, d'autres se sont révélés de puissants inhibiteurs d'enzymes<sup>23,24</sup> et de microbes.<sup>25</sup>

Les hétérocycles phosphorylés (**HP**) et/ou bicyclique phosphorylés ont récemment suscité un intérêt considérable à cause de leurs activités biologiques uniques comme les inhibiteurs d'enzymes hydrolytiques<sup>26,27</sup> et leurs effets anticancéreux<sup>28,29</sup> et antivirales,<sup>30</sup> ainsi qu'en raison de leurs larges utilités en tant qu'intermédiaires synthétiques dans les synthèses organiques classiques<sup>31</sup> et/ou modernes<sup>32,33</sup> (**Figure.II.2**).

<sup>11</sup>. M. Kazemi, A-M. Tahmasbi, R. Valizadeh, A-A. Naserian, A. Soni, *Agricult. Sci. Res. J.* **2012**, 2, 512 – 522.

<sup>12</sup>. S. Zhou, K. Lin, L. Li, M. Jin, J. Ye, W. Liu. *Chirality*. **2009**, 21, 922 – 928.

<sup>13</sup>. S. Zhou, K. Lin, H. Yang, L. Li, W. Liu, J. Li. *Chem. Res. Toxicol.* **2007**, 20, 400 – 405.

<sup>14</sup>. F. Müller, P. Ackermann, P. Margot. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Wiley-VCH: Weinheim, Germany. **2011**.

<sup>15</sup>. E. Vasilieva, S. Dutta, R-K. Malla, B-P. Martin, C-D. Spilling, C-M. Dupureur. *Bioorg. Med.Chem.* **2015**, 23, 944 – 952.

<sup>16</sup>. A-J. Wiemer, D-F. Wiemer. Prodrugs of Phosphonates and Phosphates: Crossing the Membrane Barrier. In *Phosphorus Chemistry I. Top Curr Chem.* **2015**, 360, 115 – 160

<sup>17</sup>. J. Yang, T. Chen, Y. Zhou, S-F. Yin, L-B. Han. *Organometallics*. **2015**, 34, 5095 – 5098.

<sup>18</sup>. A. Preetz, W. Baumann, C. Fischer, H-J. Drexler, T. Schmidt, R. Thede, D. Heller. *Organometallics*. **2009**, 28, 3673 – 3677.

<sup>19</sup>. L. Horner, H. Siegel, H. Büthe. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1968**, 7, 942 – 943.

<sup>20</sup>. W-S. Knowles. Asymmetric hydrogenations. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 4, 1998 – 2007.

<sup>21</sup>. B. Stowasser, K-H. Budt, L. Jian-Qi, A. Peyman, D. Ruppert. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6625 – 6628.

<sup>22</sup>. I. Zgani, C. Menut, M. Seman, V. Gallois, V. Laffont, J. Liautard, J-P. Liautard, M. Criton, J-L. Montero. *J. Med. Chem.* **2004**, 47(18), 4600 – 4612.

<sup>23</sup>. V-I. Bunik, T-T. Denton, H. Xu, C-M. Thompson, A-J. L. Cooper, G-E. Gibson. *Biochemistry*. **2005**, 44(31), 10552 – 10561.

<sup>24</sup>. M. Salimo, C. Yolande, M. Attolini, M. Maffei. *Heteroat. Chem.* **2010**, 21(5), 332 – 338.

<sup>25</sup>. V. Point, R-K. Malla, F. Carri\_Ere, S. Canaan, C-D. Spilling, J-F. Cavalier. *J. Med. Chem.* **2013**, 56(11), 4393 – 4401.

<sup>26</sup>. J-W. Darrow, D-G. Drueckenhammer. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 2976 – 2982.

<sup>27</sup>. B. Cetinkaya, P-B. Hitchcock, M-F. Lappert, A-J. Thome, H. Goldwhite. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1982**, 691 – 695.

<sup>28</sup>. T-E. Ali, M-M. Ali, S-M. Abdel-Kariem, M-M. Ahmed. *Russ. J. Org. Chem.* **2017**, 53, 904 – 912.

<sup>29</sup>. A-V Boddy, Y. Furtun, S. Sardas. *J. Natl Cancer Inst.* **1992**, 84, 1744 – 1748.

<sup>30</sup>. E. De-Clercq. *Nat. Rev. Micro.* **2004**, 2(9), 704 – 720.

<sup>31</sup>. M. Attolini, G. Iacazio, G. Peiffer, Y. Charmasson, M. Maffei. *Tetrahedron : Asymmetry*, **2004**, 15, 827 – 830.

<sup>32</sup>. K-C. Majumdar, R-K. Nandi, S. Ganai. *Tetrahedron Lett.* **2014**, 55, 1247 – 1250.

<sup>33</sup>. K. Vaheesar, C-M. Kuntz, B-T. Sterenberg. *J. Organomet. Chem.* **2013**, 347, 745 – 746.



The diagram illustrates the classification of cyclic phosphonates into monocyclic and bicyclic structures. It features two chemical structures with atom numbering and labels.

**Monocyclic:** The structure on the left shows a single ring system. The phosphorus atom (P) is bonded to an oxygen atom (O) labeled '1', a double-bonded oxygen atom (O), and two other groups (R<sub>1</sub> and R<sub>2</sub>). The nitrogen atom (N) is labeled '3' and is part of a ring structure with a label  $n = 5, 6$  in magenta.

**Bicyclic:** The structure on the right shows two fused ring systems. The phosphorus atom (P) is bonded to an oxygen atom (O) labeled '1', a double-bonded oxygen atom (O), and two other groups (R and R<sub>1</sub>). The nitrogen atom (N) is labeled '3' and is part of a ring structure with a label  $n = 5, 6$  in magenta.

**Figure.II.3. Structure des hétérocycles phosphorylés monocyclique et bicyclique (Oxazaphospholan-2-ones & Oxazaphosphinan-2-one)**

La bibliographie s'enrichit chaque année par la découverte de nouvelles structures, méthodes et applications en rapport avec les structures-activités.<sup>34,35</sup> Plusieurs études ont été consacrées à la synthèse et au développement des monocycliques, bicycliques et tricycliques saturé de 5 à 6 chaînons. Cependant, malgré leurs immenses importances dans plusieurs domaines susmentionnés, l'accès à ces *P*-hétérocycliques (oxazaphospholan-2-ones et oxazaphosphinan-2-one) contenant des centres chiraux

<sup>34</sup>. L-J. N. Rohde Jr, M. Zeller, J-A. Jackson. *Acta Cryst.* **2018**, 74(9), 1330–1335.

<sup>35</sup>. P. Bagi, R. Herbay, N. Péczka, Z. Mucsi, I. Timári, G. Keglevich. *Beilstein J. Org. Chem.* **2020**, 22(16), 818 – 832.

P(<sup>+</sup>V) est plutôt difficile étant donné la complexité des méthodes de synthèse existantes, qui reposent souvent sur des procédures fastidieuses et multi-étapes.

L'exploitation de ces hétérocycles contenant le motif phosphoryle dans la synthèse de nouveaux produits bioactifs a été développée ces dernières années en témoignent les nombreuses publications consacrées à ce sujet, nous ne citerons que quelques exemples, parmi les plus récents parus dans la littérature scientifique, afin d'illustrer la palette de ces oxazaphospholan-2-ones et oxazaphosphinan-2-ones et de ses analogues<sup>36</sup>, nous avons choisi quelques articles intéressants qui concernent ces synthèses hétérocycliques monocycliques et bicycliques phosphorylés de type oxazaphospholan-2-one saturé de 5 chaînons et oxazaphosphinan-2-one de 6 chaînons.

### II.2.1.P- Hétérocycles à 5 chaînons (*1,3,2-Oxazaphospholan-2-ones*)

Les oxazaphospholan-2-ones à cinq chaînons qui nous intéressent dont très peu de données existent dans la littérature<sup>37</sup>. Il s'en sont souvent utilisés comme ligands<sup>38,39</sup>, organocatalyseurs<sup>40,41</sup>, et promédicaments (prodrogues)<sup>42</sup>. En raison de leurs propriétés stéréochimiques et biochimiques uniques.

Les 1,3,2-oxazaphospholan-2-ones contiennent des liaisons **P-N**, **P-O** ou **P=O** et **P-C** autour d'un centre organophosphore, ce qui entraîne la chiralité du phosphore, ainsi les hétérocycles *P*-chiral peuvent être utilisés comme organocatalyseurs et précurseurs dans la synthèse de phosphines<sup>43</sup>.

#### II.2.1.1.Synthèses des 1,3,2-oxazaphospholan-2-ones à partir de l'éphédrine

L'éphédrine, c'est une  $\beta$ -aminoalcool chiral, elle est couramment utilisée comme auxiliaire chiral dans la synthèse asymétrique<sup>44</sup>.

La stéréochimie des dérivés hétérocycliques phosphorés dérivés de l'éphédrine a été intensivement étudiée. Une série d'étude a été consacrée à l'utilisation de (1*R*, 2*S*)-(-)- Éphédrine. La réaction de l'éphédrine avec le PPDC par la présence de triéthylamine conduit à deux

<sup>36</sup>. I-D. Spiers, C-H. Schwalbe, A-J. Blake, K-R. H. Solomons, S. Freeman. *Carbohydr. Res.* **1997**, 302, 43 – 51.

<sup>37</sup>. L. Wang, Z. Du, Q. Wu, R. Jin, Z. Bian, C. Kang, L. Gao. *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 11, 2024 – 2028.

<sup>38</sup>. X. Zhang, K. Huang, G. Hou, B. Cao, X. Zhang. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 6421 – 6424; *Angew. Chem.* **2010**, 122, pp.6565 – 6568.

<sup>39</sup>. S. Rast, M. Stephan, B. Mohar. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 2214 – 2225.

<sup>40</sup>. S-A. Shaw, P. Aleman, J. Christy, J-W. Kampf, P. Va, E. Vedejs. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 925 – 934.

<sup>41</sup>. M. Gicquel, Y. Zhang, P. Aillard, P. Retailleau, A. Voituriez, A. Marinetti. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 5470–5473; *Angew. Chem.* **2015**, 127, 5560-5563.

<sup>42</sup>. G. Vredenburg, S. den Braver-Sewradj, B-M. A. Van Vugt-Lussenburg, N-P. E. Vermeulen, J-N. M. Commandeur. *J. Chromatogr. B.* **2015**, 232, 182 – 192.

<sup>43</sup>. C-M. Thompson, J-A. Frick, D-L. C. Green. *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 111 – 116.

<sup>44</sup>. J. Dunst, G. Haensgen. *Strahlenther Onkol.* **2001**, 177(12), 635 – 640.

diastéréoisomères de  $(2R,3S,4R)/(2S,3S,4R)$ -2-benzyl-4-méthyl-5-phényl-1,3,2-oxazaphospholan-2-ones<sup>45,46</sup> (Schéma.II.1).

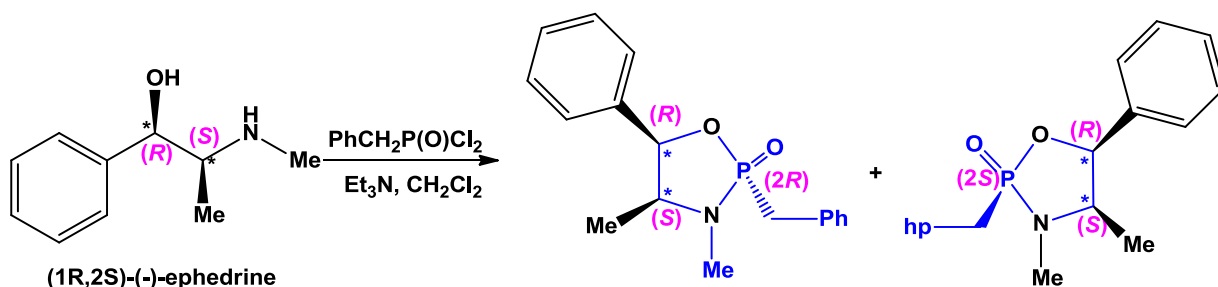


Schéma.II.1.Synthèse de deux diastéréoisomères  $(2R,4S,5R)/(2S,4S,5R)$ - 1,3,4-oxazaphospholan-2-ones dérivées de (1R, 2S)-(-)-Éphédrine

En 2010, alors que nos travaux étaient déjà bien avancés, **Z.Hattab** et coll<sup>47</sup> ont également synthétisé des 1,3,2-oxazaphospholan-2-ones à partir de (S)-aminoalcools dérivés d'acides aminés protégés par le groupement benzyle, par la réaction de condensation du dichlorure phénylphosphonique. La caractérisation faite par la diffraction des rayons X a démontré la formation de deux diastéréoisomères, la séparation des deux diastéréoisomères s'établit par une colonne chromatographique de gel de silice et avec un rendement de 50% à 90% (Schéma.II.2).

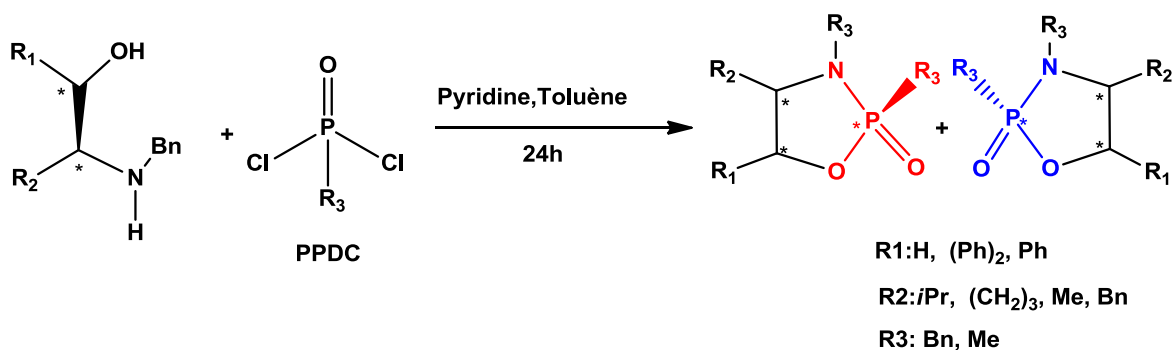


Schéma.II.2.Synthèse des 1,3,2-oxazaphospholan-2-ones dérivés d'aminoalcool

### II. 2.1.2. Synthèse des 1,3,2-oxazaphospholan-2-ones à partir du *N*-benzyl (S)-Valinol

En 1991, **N. Katagiri** et coll<sup>48</sup>, ont décrit la réaction de condensation de *N*-benzyl (S)-valinol avec le PPDC, cette réaction a fourni un mélange de deux diastereoisomères  $(2R, 4S)/(2S, 4S)$ -3-

<sup>45</sup>. C-C.Kotoris, W.Wen, A. Lough, S-D. Taylor. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **2000**, 1, 1271 – 1281.

<sup>46</sup>. C-A. Boulet, S-J. Tregear, A-S. Hansen. *Heterocycles*.**1991**,32, 2105 – 2110.

<sup>47</sup>. Z. Hattab, C. Barbey, M. Monteil, P. Retailleau, N-E. Aouf, M. Lecouvey, N. Dupont. *J. Mol. Struct.* **2010**, 973(1-3), 144 – 151.

<sup>48</sup>. N. Katagiri, M.Yamamoto, T.Waoka, C. Kaneko. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 31(20), 1429 – 1430.

benzyl-4-isopropyl-2-phényl-1,3,2-oxazaphospholan-2-one<sup>49</sup> par simple séparation entre eux<sup>50</sup>. (Schéma.II.3).

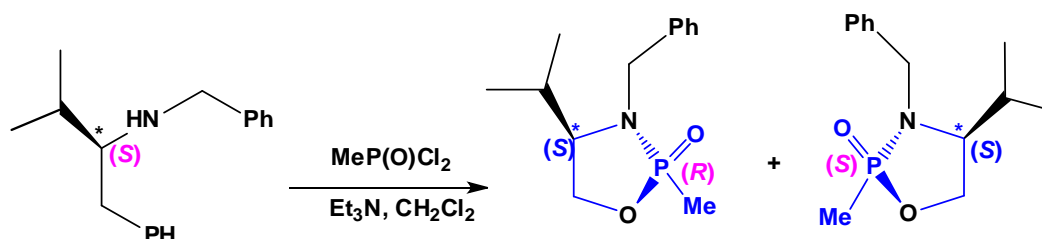


Schéma.II.3.Synthèse des 1,3,2-oxazaphospholan-2-ones dérivés de *N*-benzyl (*S*)-Valinol

Par la suite en 2011, N.Katagiri et coll<sup>51</sup>, ont synthétisé les 2-vinyl-1,3,2-oxazaphospholan-2-ones (Schéma.II.4). La réaction a été réalisée par la condensation de (*S*)-*N*-benzylvalinol, et dichlorure de vinyle phosphonique en présence de la triéthylamine en excès pour produire le mélange des deux diastéréoisomères. La séparation des deux diastéréoisomères est réalisée sur colonne chromatographique de gel de silice suivie par une recristallisation. Les deux diastéréoisomères (2*S*,4*S*)/(2*R*,4*S*)-vinyl-1,3,2-oxazaphospholan-2-ones ont été obtenu avec un rendement de 82 % et avec un rapport diastéréoisomérique (*dr* = 90 : 10) tandis que l'excès diastéréoisomérique (*ed* = 80 %).

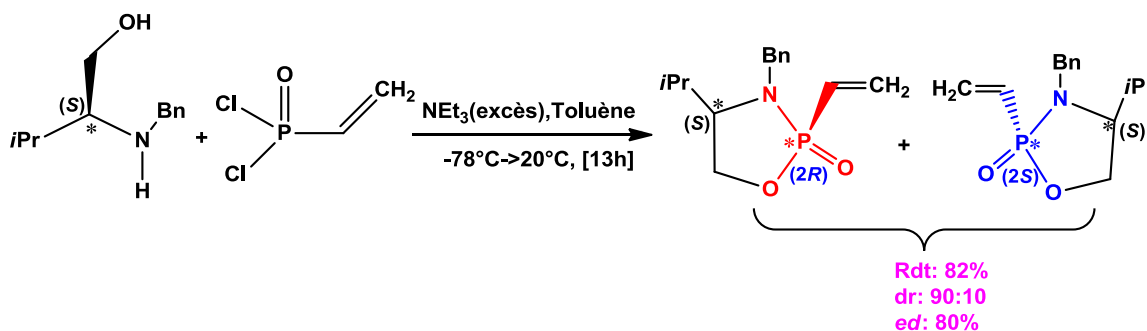


Schéma.II.4.Synthèse des deux diastéréoisomères (2*S*,4*S*)/(2*R*,4*S*)-vinyl-1,3,2-oxazaphospholan-2-ones dérivé de (*S*)-*N*-benzylvalinol

### II. 2.1.3.Synthèse de 1,3,2-oxazaphospholan-2-ones à partir de (*R*)-glycidol

M-P. Gamble et coll<sup>52</sup> ont décrit la synthèse de 1,3,2-oxazaphospholan-2-ones à partir du (*R*)-glycidol (Schéma.II.5).

<sup>49</sup>. J. Drabowicz, D. Krasowska, A. Lopusiński, T-S. A. Heugebaert, C-V. Stevens. *Top. Heterocycl. Chem.* **2010**, 21, 103 – 147.

<sup>50</sup>. J-L. Vasse, S. Goumain, V. Levacher, G. Dupas, G-Q. Guiner, J. Bourguignon. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 1871 – 1873.

<sup>51</sup>. N. Katagiri, M.Yamamoto, T.Iwaoka, C. Kaneko. *ChemInform.* **2010**, 23(15), 241 – 241.

<sup>52</sup>. M-P. Gamble, J-R. Studley, M. Wills. *Tetrahedron: Asymmetry.* **1996**, 7(1), 3071 – 3074.

L'intermédiaire est obtenu par la protection de l'époxyde par *t*-Butyldimethylchlorosilane (TBDMSCl), et ensuite l'ouverture de l'époxyde par (*R*)-(+)- $\alpha$ -méthylbenzylamine en présence de perchlorate de lithium. L'intermédiaire obtenu est immédiatement engagé dans une réaction de cyclisation intramoléculaire par la phosphorylation en présence de dichlorure phénylphosphonique à température ambiante dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  en présence de triéthylamine qui a permis l'obtention de 1,3,2-oxazaphospholan-2-one. La réaction se fait en quatre heures et le produit désiré est obtenu avec un rendement de **64%** sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères.

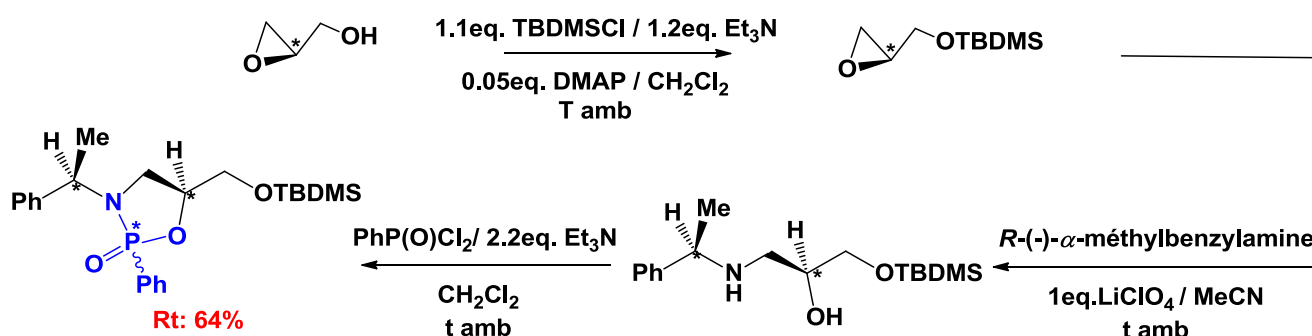


Schéma.II.5.Synthèse des 1,3,2-oxazaphospholidin-2-ones à partir de (*R*)-glycidol

#### II. 2.1.4. Synthèse de bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones chirales à partir des dérivés de la *L*-proline

Autre travail a été réalisé par M-P. Gamble et coll<sup>53</sup>, qui consiste à la synthèse de dérivés des bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones par l'utilisation de dérivés de la *L*-proline. La réaction de la cyclisation intramoléculaire est conduit en présence de la triéthylamine et du dérivé de dichlorophosphonate, afin d'obtenir les deux diastéréoisomères. La réaction est représentée par le Schéma.II.6.ci-dessous.

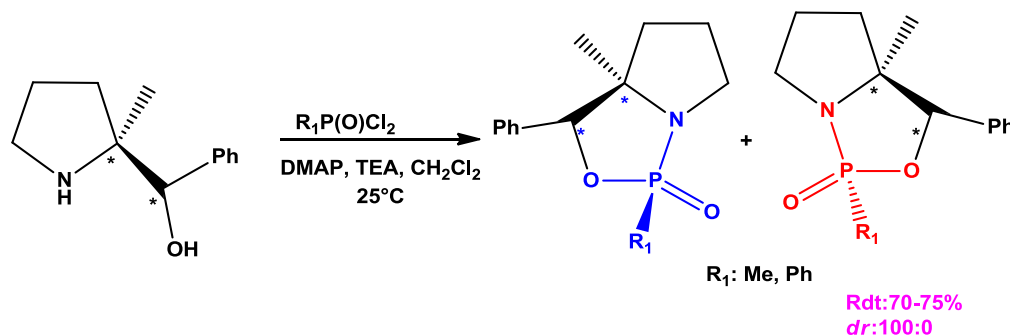


Schéma.II.6.Synthèse de bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones chirales dérivés des *L*-proline

<sup>53</sup>. M-P. Gamble, J-R. Studley, M.Wills. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 2853 – 2858.



Une excellente diastéréosélectivité ( $dr = 100:0$ ) a été obtenue dans la formation des liaisons P-N catalysées par DMAP dans la synthèse des bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones à partir du (*S*)-2-pyrrolidinemethanol en présence de dichlorure phénylphosphonique ( $\text{PhP}(\text{O})\text{Cl}_2$ ), avec un rendement de 70 à 75%.

### II. 2.1.5. Synthèse et réactivité de bicyclo-oxazaphospholidin-2-one

Le *L*-Prolinol a également été employé par **T. Koizumi** et *coll*<sup>54</sup>, et plus récemment par **G. Buono** et *coll*<sup>55</sup>. Les bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones sont synthétisées à partir de la condensation de la  $\text{RP}(\text{NMe}_2)_2$  et la *L*-(*S*)-Prolinol à reflux à haute température en présence du toluène, l'oxydation du bicyclo-oxazaphospholidine formé est réalisée par l'hydroperoxyde de tert-butyle<sup>57</sup> pour former le produit désiré avec une excellente diastéréosélectivité ( $dr : 100 : 0$ ) (valeur déterminée par  $\text{RMN}^{31}\text{P}$ ) et avec un rendement de 80% (Schéma.II.7).

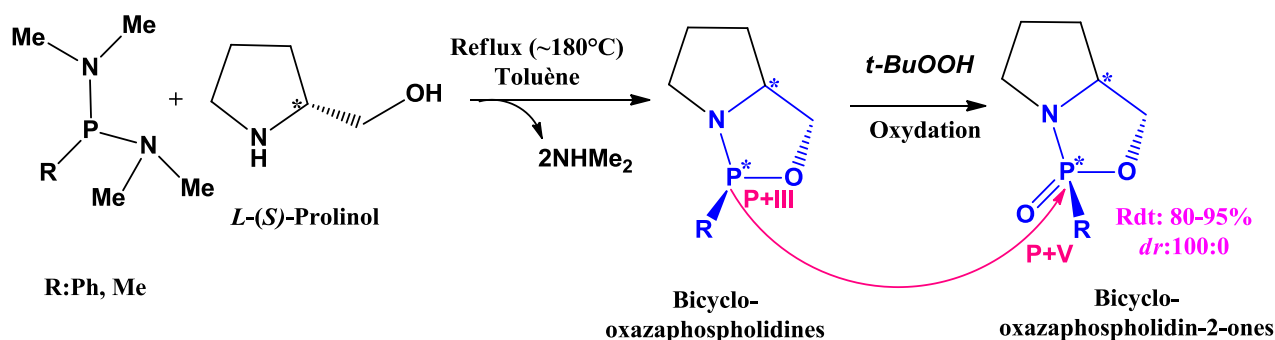


Schéma.II.7. Synthèse des bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones par l'oxydation du bicyclo-oxazaphospholidine

Ainsi, **T. Koizumi** et *coll*<sup>56</sup> ont montré que l'ouverture du cycle par l'utilisation du réactif de Grignard ( $\text{MeMgI}$ )<sup>57</sup> sur le bicyclo-oxazaphospholidin-2-one, s'effectue avec inversion de configuration au niveau du phosphonate. Au contraire, l'ajout de *tert*-butyllithium, a retenu la configuration du phosphonate<sup>58</sup>. L'utilisation des milieux acides dans les deux cas dans l'étape suivante a conduit au phosphonate de configuration *S* (100%) dans le cas de ( $\text{MeMgI}$ ), tandis que l'utilisation de *t*-BuLi a conduit à un mélange racémique (Schéma.II.8). Cette réaction porte aujourd'hui le nom de ses inventeurs, elle connue sous le nom de réaction de **Koizumi**.

<sup>54</sup>. T. Koizumi, R. Yanada, H. Takagi, H. Hirai, E. Yoshii. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 477 – 480.

<sup>55</sup>. A. Leyris, D. Nuel, L. Giordano, M. Achard, G. Buono. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 8677 – 8680.

<sup>56</sup>. T. Koizumi, R. Yanada, H. Takagi, H. Hirai, E. Yoshii. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 571 – 572.

<sup>57</sup>. Z-S. Han, N. Goyal, M-A. Herbage, J-D. Sieber, B. Qu, Y. Xu, Z. Li, J-T. Reeves, J-N. Desrosiers, S. Ma, N. Grinberg, H. Lee, H-P. R. Mangunuru, Y. Zhang, D. Krishnamurthy, B-Z. Lu, J-J. Song, G. Wang, C. H. Senanayake, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 2474 – 2477.

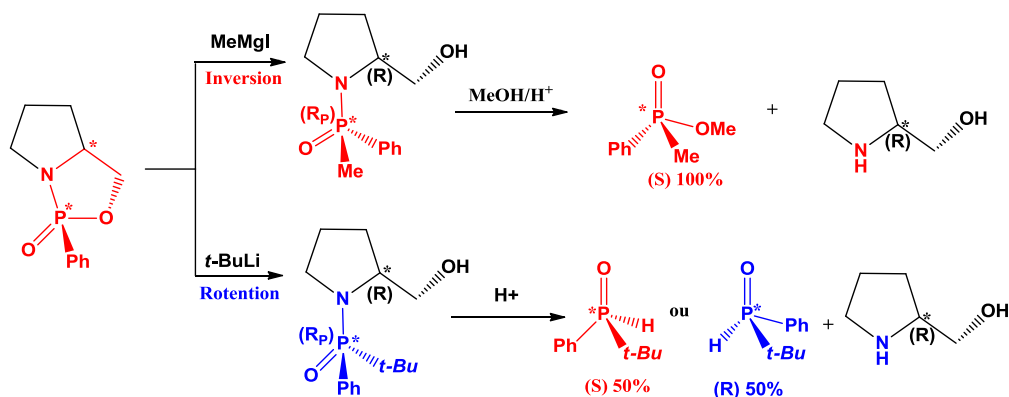


Schéma.II.8. Réactivité du groupement phosphonate du bicyclo par la réaction de Koizumi

## II.2.1.6. Autres travaux portant sur la synthèse des bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones

Le (S)-prolinol<sup>58,59</sup> est le composé le plus couramment utilisé pour synthétiser les bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones avec des différentes conditions opératoires. Les résultats de L.Wang et coll<sup>60</sup> sont regroupés dans le Schéma.II.9.

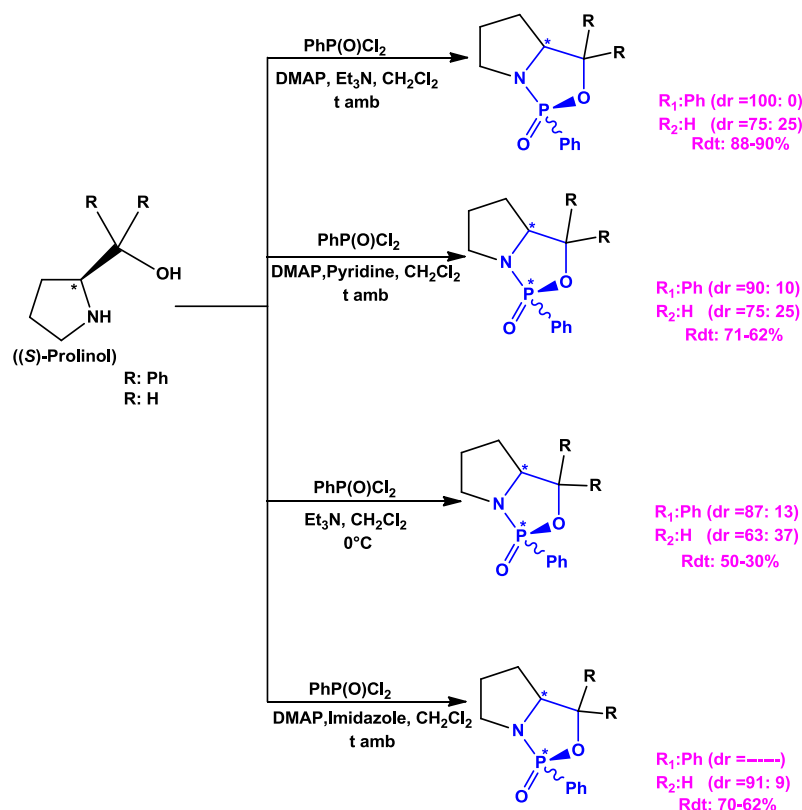


Schéma.II.9. L'effet de DMAP sur les rendements et les rapports diastéréoisomériques (dr) sur la synthèse des quatre bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones

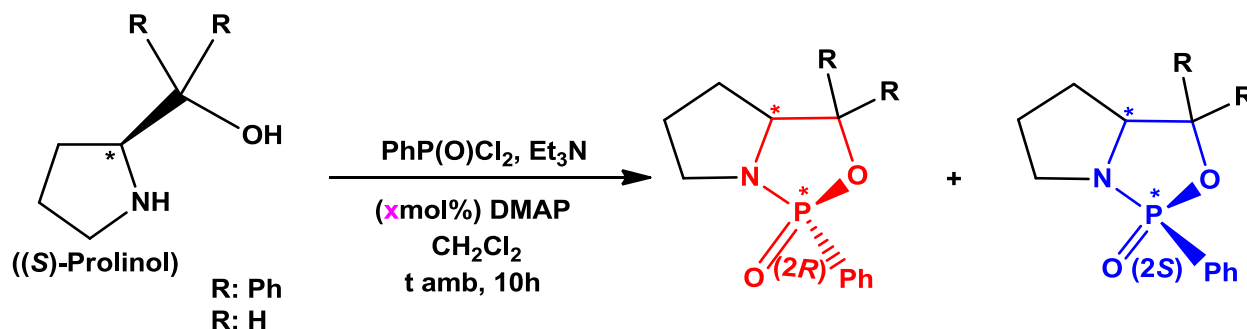
<sup>58</sup>. J. M. Brunel, O. Legrand, G. Buono. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 19, 3313 – 3321.

<sup>59</sup>. O. Chiodi, F. Fotiadu, M. Sylvestre, G. Buono. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37(1), 39 – 42.

<sup>60</sup>. L.Wang, S. Cao, Z. Du, Q. Wu, Z. Bian, C. Kang, J. Zhang. *RSC Advances.* **2016**, 6(92), 89665 – 89670.

Les quatre bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones ont été obtenues avec des rendements de **30 à 90%** et une excellente diastéréosélectivité (valeur de *dr* jusqu'à **100:0**) dans la formation de liaisons (P-N) catalysées par DMAP à partir de différentes conditions **L.Wang** et *coll*<sup>62</sup> ont montré que le TEA, la température ambiante et la présence de DMAP comme organocatalyseur<sup>61</sup> sont les conditions optimales de la réaction. L'effet de la quantité de DMAP sur l'excellente diastéréosélectivité et sur l'amélioration du rendement est à l'origine d'un grand nombre de travaux décrivant la synthèse des oxazaphospholidin-2-ones et leurs dérivés<sup>62,63</sup>.

Les travaux les plus intéressants sont ceux qui décrivent la synthèse bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones avec des protocoles plus réalisables, plus pratiques, avec une excellente diastéréosélectivité et des bons rendements<sup>64,65</sup>. Le groupe de **A. Ferry**<sup>66,67</sup> a étudié l'effet de l'addition molaire de DMAP par étude cinétique dynamique. Les résultats d'addition de DMAP par gradient de proportion de **x%** molaire dans le milieu réactionnel avec les mêmes conditions à celle de **L.Wang** (Schéma.II.10), sont regroupés dans le **Tableau.II.1**.



**Schéma.II.10. Synthèse des bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones par la réaction L.Wang et l'addition de DMAP (X%mol) par Ferry**

<sup>61</sup>. V. Lopez-Canut, J-J. Ruiz-Pernia, R. Castillo, V. Moliner, I. Tunon. *Chem. Eur. J.* **2012**, 18(31), 9612 – 9621.

<sup>62</sup>. M-A. Van Bochove, M. Swart, F-M. Bickelhaupt. *Phys.Chem. Chem. Phys.* **2009**, 11(2), 259 – 267.

<sup>63</sup>. T. Leon, A. Riera, X. Verdager. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133(15), 5740 – 5743.

<sup>64</sup>. R. Gurubrahmam, Y. Cheng, W. Huang, K. *ChemCatChem*. **2016**, 8, 86 – 96.

<sup>65</sup>. L.Wang, Z.Du, Q.Wu, R. Jin, Z. Bian, C. Kang, H. Guo, X. Ma, L. Gao. *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 11, 2024 – 2028.

<sup>66</sup>. A. Ferry, G. Malik, P. Retailleau, X. Guinchard and D. Crich. *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 6858 – 6867.

<sup>67</sup>. A. Ferry, X. Guinchard, P. Retailleau and D. Crich. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 12289 – 12301.

Tableau.II.1.Etude de l'effet d'addition de DMAP par A.Ferry et coll.<sup>63</sup>

Entrée	R	X% mol	Rdt <sup>b</sup>	dr <sup>c</sup> (R <sub>P</sub> /S <sub>P</sub> )
1 <sup>a</sup>	Ph	0	79%	87:13
2	Ph	10	51%	91:9
3	Ph	20	56%	92:8
4	Ph	25	68%	96:4
5	Ph	30	72%	100:0
6	Ph	40	65%	100:0
7	Ph	50	78%	100:0
8 <sup>d</sup>	Ph	30	99%	100:0
9 <sup>e</sup>	Ph	30	85% <sup>f</sup>	100:0
10 <sup>g</sup>	Ph	30	79%	79:21
11 <sup>g</sup>	Ph	80	93%	97:3
12 <sup>g</sup>	Ph	100	86%	93:7
13 <sup>g</sup>	Ph	110	81%	83:17
14 <sup>h</sup>	H	0	75%	63:37
15	H	30	65%	75:25
16	H	80	75%	75:25
17 <sup>h</sup>	H	50	89%	90:10

a : Conditions de réaction: 1 (0,3 mmol, si non indiqué 1,5 éq.), 2 (0,2 mmol), TEA (0,6 mmol), DMAP (X mol%), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL), t amb ; 10 h; b : isomère majeur déterminé par RMN <sup>1</sup>H; c : (R<sub>P</sub>) : (S<sub>P</sub>), déterminé par RMN <sup>1</sup>H; d : Temps de réaction: 24 h ; e : À partir de 2 g de (S)-prolinol dérivé de phenyl; F : séparation par cristallisation ; g : 0,22 mmol (1,1 éq) de (PPDC) ; h : Imidazole utilisé comme une base.

D'après les résultats obtenus par A.Ferry et coll.<sup>63</sup>, ont conclu que l'étude cinétique dynamique catalysée par DMAP donne la stéréosélectivité de la formation des liaisons **P-N** et **P-O** dans la synthèse de bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones (P<sup>+V</sup>). L'utilisation de 30% molaire de DMAP a amélioré la diastéréosélectivité de **87:13** à **100: 0** (Entrée 1 et 5). Ces résultats seraient précieux pour la conception d'organocatalyseur, et la formation d'une phosphonate *P*-stéréogène sur le bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones avec des bons rendements et une excellente diastéréosélectivité (Schéma.II.11 et Schéma.II. 12).

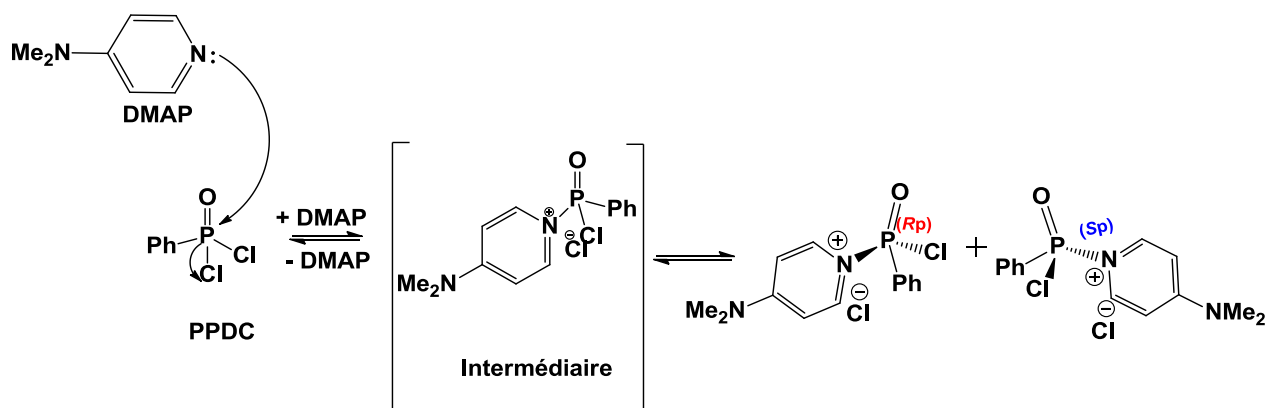


Schéma.II.11.Représentation schématisée de l'addition de DMAP sur le PPDC

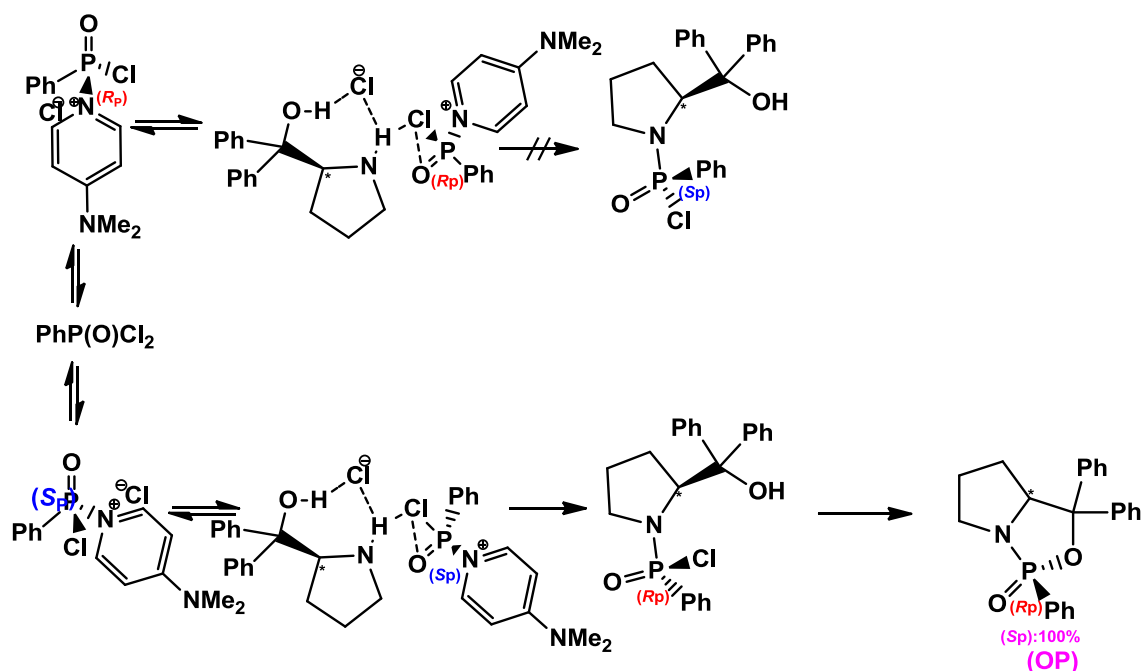


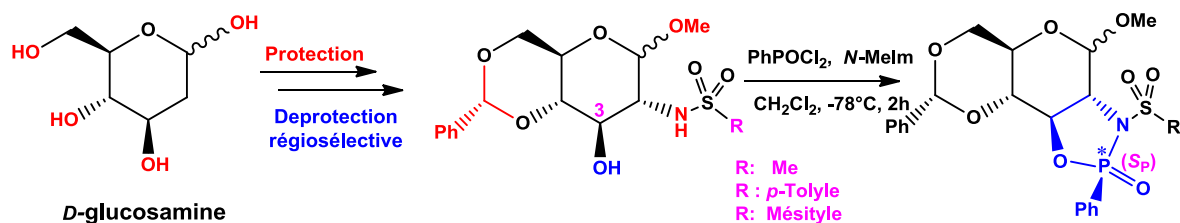
Schéma.II.12.Mécanisme réactionnel de la formation du bicyclo-(*R<sub>p</sub>*)-phenyl-oxazaphospholidin-2-one optiquement pur (*dr* = 100 :0)

### II.2.1.7. Synthèse de phosphines (*P*-stéréogène) dérivés de *D*-glucosamine

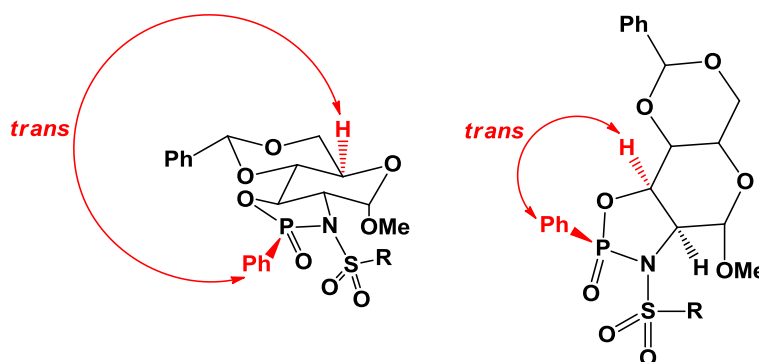
L'utilisation d'un autre aminoalcool issu de la biomasse tel que la *D*-glucosamine, a été utilisée avec succès comme auxiliaire chiral pour la synthèse énantiosélective des oxydes de phosphine. En particulier, le groupe de **E. Framery et coll**<sup>68</sup>. en 2015 a synthétisé le dérivé 1,3,2-oxazaphospholidin-2-one à partir d'une *D*-glucosamine (Schéma.II.13). La protection du groupements fonctionnel et ensuite la deprotection régiosélective du groupement hydroxy au position **C-3** permettent d'avoir les dérivés 4,6-*O*-benzylidène-2-déoxy-2-sulfonamido-*D*-glucopyranoses<sup>69</sup> désirés, et en enfin la cyclisation intramoléculaire en présence de dichlorure phénylphosphonique à température -78°C dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et du *N*-Méthylimidazole pour former le tricyclo-oxazaphospholidin-2-ones à base du *D*-glucosamine modifiée avec des rendements allant de **50** jusqu'à **75%** et une excellente diastéréosélectivité (*dr* : **5:95**).

<sup>68</sup>. A. D'Onofrio, L. Copey, L. Jean-Gérard, C. Goux-Henry, G. Pilet, B. Andrioletti, E. Framery. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 13(34), 9029 – 9034.

<sup>69</sup>. D-P. G. Emmerson, R.Villard, C.Mugnaini, A. Batsanov, J-A. K. Howard, W-P. Hems, R-P . Tooze, B-G. Davis. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 3826 – 3838.



Les tricyclo-oxazaphospholidin-2-ones à base de la  $\beta$ -*D*-glucosamine de jonction de cycle *trans* étant très peu représentées dans la littérature<sup>70</sup> (Figure II.4).



**Figure.II.4.Présentation de la conformation chaise de l'isomère *trans* de tricyclo-oxazaphospholidin-2-ones dérivé de  $\beta$ -*D*-glucosamine**

Les études de la stéréochimie du composé *trans*-tricyclo-oxazaphospholidin-2-one dérivé de *D*-glucosamine par l'ouverture et la substitution nucléophile. **L. Copey** et coll.<sup>70</sup> ont étudié une série de tricyclo-oxazaphospholidin-2-one dérivée du 2-*N*-*p*-tolylsulfonamido-4,6-*O*-benzylidène-2-déoxy-*D*-glucosamine<sup>69</sup> peut également être ouverte par l'addition d'une série de réactifs organométalliques avec la même stratégie de **T.Koizumi**. La réaction d'ouverture présente de bons rendements et une bonne diastéréosélectivité (*d.r* > 99%).

Le phosphate est ensuite libéré dans une dernière étape selon le **Schéma.II.14**. En revanche, l'ouverture d'anomérique ( $\beta$ ) par le *O*-AnMgBr a donné un faible rendement de 5% et une mauvaise diastéréosélectivité (**Entrée 3**). Les résultats de **L. Copey** sont présentés dans le **Tableau.II.2**.

<sup>70</sup>. L. Copey, L. Jean-Gérard, E. Framery, G. Pilet, V. Robert, B. Andrioletti. *Chem. Eur. J.* **2015**, 21, 9057 – 9061.

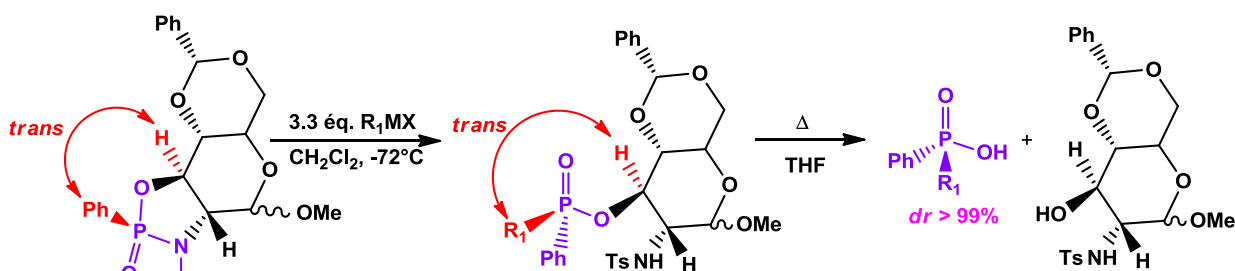


Schéma.II.14. Ouverture de *trans* tricyclo-oxazaphospholidin-2-ones dérivée de *D*-glucosamine par différents réactifs

Tableau.II.2.Ouverture de cycle diastéréosélectif de l'oxazaphospholidine dérivé de *D*-glucosamine (*dr* : Déterminé par RMN  $^{31}\text{P}$ )

Entrée	Anomère	$\text{R}_1\text{MX}$	<i>dr</i> % (du brut)	Rdt%	<i>dr</i> %	Phosphinate isolé Configuration du P*
1	<i>A</i>	<i>O</i> -AnMgBr	90	83	> 99	( <i>S</i> <sub>P</sub> )
2	<i>A</i>	MeMgCl	94	83	>99	( <i>R</i> <sub>P</sub> )
3	<i>B</i>	<i>O</i> -AnMgBr	14	5	/	/

D'après le **Tableau.II.2.** obtenu par **L. Copey**, l'ouverture du cycle des séries de réactifs organométalliques sur le composé *trans*-tricyclo-oxazaphospholidin-2-one à base de *D*-glucosamine s'effectue avec inversion de configuration au niveau du phosphonate avec une excellente diastéréosélectivité (*dr* ~ **100%**), ces résultats sont en accord avec les résultats de **T.Koizumi**, tandis que pour l'anomère (*β*), l'ouverture du cycle par *O*-AnMgBr (**Entrée 3**) a été formé avec un faible rendement de 5% et une mauvaise diastéréosélective à cause de l'encombrement stérique du groupement *p*-tolylsulfonamide.

### II.2.2.P-Hétérocycles à 6 chaînons (Oxazaphosphinan-2-one)

Les oxazaphosphinan-2-ones à 6 chaînons ont attiré l'attention de la communauté scientifique en raison du spectre d'activités biologiques<sup>71,72</sup>, et leurs effets pharmacologiques<sup>73</sup>, notamment ceux utilisés en tant qu'agents anti-inflammatoire<sup>74</sup> et anti-cancéreux<sup>75</sup>. Ces hétérocycles phosphorylés sont

<sup>71</sup>. G. Keglevich. *Curr. Org. Chem.* **2006**, 10(19), 93 – 111.

<sup>72</sup>. A. Grabulosa. *P-Stereogenic ligands in enantioselective catalysis*. Royal Society of Chemistry. *RSC catalysis series*, Cambridge, UK. 1<sup>st</sup> edn, **2011**, 173–234.

<sup>73</sup>. L. Clarion, C. Jacquard, O. Sainte-Catherine, S. Loiseau, D. Filippini, M-H. Hirlemann, J-N.Volle, D.Virieux, M. Lecouvey, J-L. Pirat, N. Bakalara. *J. Med. Chem.* **2012**, 55(5), 2196 – 21211.

<sup>74</sup>. W-M. Abdou, A-A. Kamel, A-A. Shaddy. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45(11), 5217 – 5224.

<sup>75</sup>. J. Liang, M. Huang, W. Duan, X-Q. Yu, S. Zhou. *Curr. Pharm. Des.* **2007**, 13(9), 963 – 978.

également utilisés comme ligand en catalyse asymétrique<sup>76,77</sup>. Ces applications récentes ont constitué l'un des propulseurs qui ont contribué au développement important de voies de synthèse<sup>78</sup>. Parmi les exemples qui ont été rapportés dans la littérature, on trouve les oxazaphosphinan-2-ones et ses analogues<sup>79,80</sup>.

D'après la littérature, les aminoalcools et les alcools allyliques et les azométhines,...etc. peuvent être efficacement utilisés dans la synthèse des dérivés du 1,3,2-oxazaphosphinan-2-one. Ainsi, l'étude du comportement conformationnel des oxazaphosphinanes monocycliques, bicycliques, tricycliques...etc. a été examinée en détail par W-G. Bentrude et coll<sup>81,82,83</sup>, et autres<sup>84</sup>.

### II.2.2.1. Synthèses des 1,3,2-oxazaphosphinan-2-one à partir d'aminoalcool

La synthèse des oxazaphosphinan-2-ones peut être effectuée également par une réaction de condensation. Par exemple, P.Hadvary et coll<sup>85</sup> ont fait réagir le (S)-aminoalcool avec le dichlorure de N-(2-bromoéthyl) phosphoramidique en présence de triéthylamine qui a conduit à la formation de deux diastéréoisomères de 1,3,2-oxazaphosphinan-2-ones (Schéma. II.15).

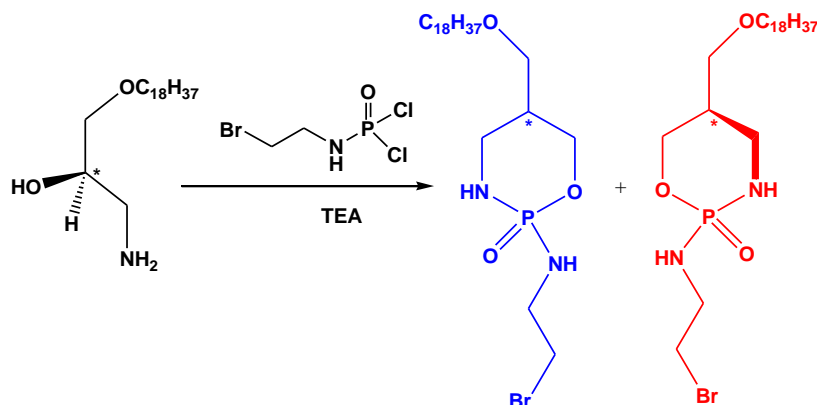


Schéma.II.15.Synthèse de 1,3,2-oxazaphosphinan-2-one à partir de le (S)-aminoalcool

<sup>76</sup>. A. Börner. Phosphorus Ligands in Asymmetric Catalysis: Synthesis and Applications, Wiley-VCH, Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany. **2008**, 1–3, 1546 – 1560.

<sup>77</sup>. W-A. Munzeiwa, B. Omondi, V-O. Nyamori. *Beilstein J. Org. Chem.* **2020**, 16, 362 – 383.

<sup>78</sup>. Majumdar, K. C. Nandi, R. K.; Ganai, S. *Tetrahedron Lett.* **2014**, 55, 1247 – 1250.

<sup>79</sup>. S. Cruz-Gregorio, M. Sánchez, A. Clara-Rosa, S.Bèrnes, L.Quintero, F.Sartillo-Piscil. *J. Org. Chem.* **2005**, 70(18), 7107-7113.

<sup>80</sup>. K.Vaheesar, C-M. Kuntz, B-T. Sterenberg. *J.Organomet.Chem.* **2013**, 347, 745 – 746.

<sup>81</sup>. W- G. Bentrude, W-N. Setzer. The values of  $^3J_{\text{HaHa}}$  are somewhat small: In phosphorus-31 NMR spectroscopy in stereochemical analysis: *Organic Compounds and MetalComplexes*. J-G. Verkade, L-D. Quin (Eds). VCH Publishers, Inc., Deerfield Beach, FL, Chap. XI, **1987**, 365 – 377.

<sup>82</sup>.W-G. Bentrude. In Phosphorus-31 NMR spectral properties in compound characterization and structural analysis. L-D. Quin, J. G. Verkade (Eds). *VCH Publishers, New York*, Chap.IV, **1994**, 41-57.

<sup>83</sup>. W-G. Bentrude. In Methods in Stereochemical Analysis. E. Juaristi (Ed). *VCH Publishers, New York*, Chap.VII, **1995**.

<sup>84</sup>. B-E. Maryanoff, R. O.Hutchins, C. A. Maryanoff, *Top. Stereochem.* **1979**, 11, 187 – 326.

<sup>85</sup>. P. Hadvary, T. Weller. *Helv Chim Acta.* **1986**, 69, 1862 – 1871.



## II.2.2.2. Synthèses des 1,3,2-oxazaphosphinan-2-one à partir d'alcool allylique

Par exemple, **F-R. Borch** et *coll*<sup>86</sup> ont décrit une stratégie synthétique pour la préparation des 1,3,2-oxazaphosphinan-2-ones à partir d'un alcool allylique, il est facilement synthétisé en quatre étapes, transformation d'alcool allylique en allylphosphonamidate, ensuite l'ozonolyse de la double liaison conduit à la formation d'un complexe instable. Ce complexe est hydrolysé pour former le 3-hydroxypropylphosphonamidate, il peut subir la cyclisation intramoléculaire pour fournir un mélange de deux diastéréoisomères des 1,3,2-oxazaphosphinan-2-ones avec un rendement de **70%** et une très bonne diastéréosélectivité (**90/10**) (**Schéma.II.16**).

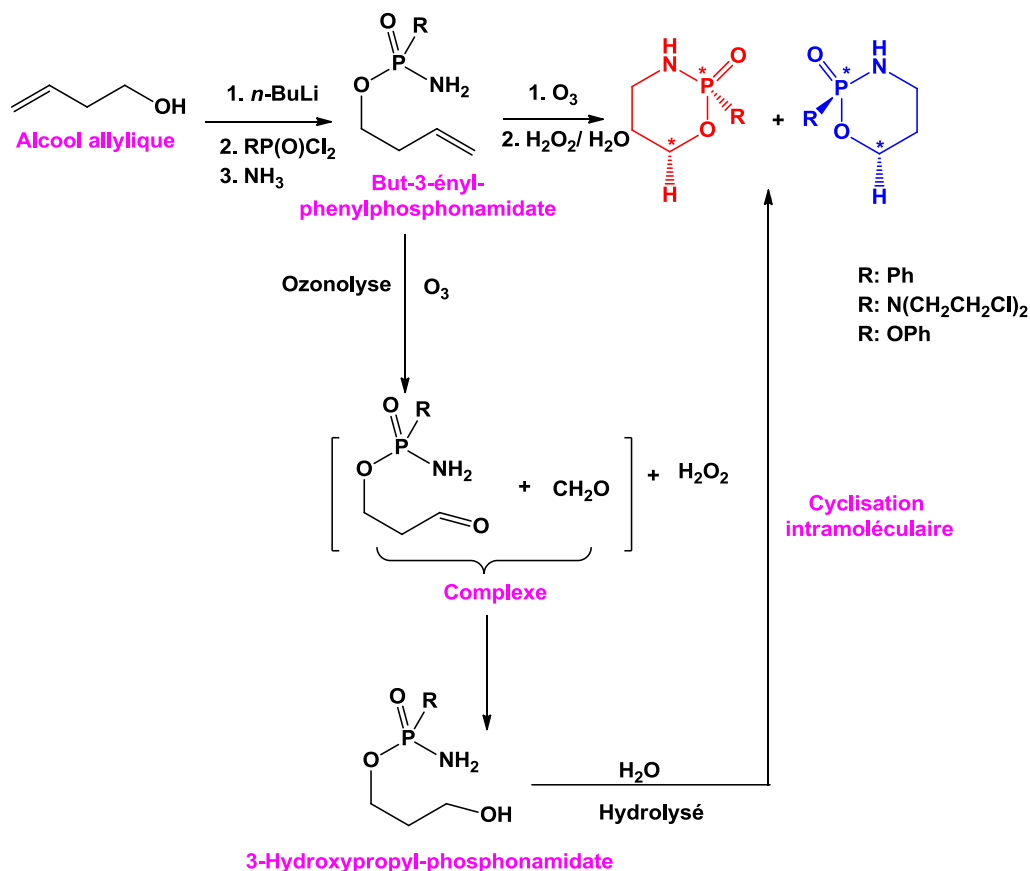


Schéma.II.16. Synthèse de 1,3,2-oxazaphosphinan-2-ones à partir d'alcool allylique

## II.2.2.3. Synthèses des 1,3,2-oxazaphosphinan-2-one à partir d'azométhine achirale

**M-N. Dimukhametov** et *coll*<sup>87</sup> ont décrit une nouvelle méthode de synthèse des tricyclic-pirophosphoranes à partir de 2-arylidéneiminophenols achirale, commençant par la préparation d'un intermédiaire potentiellement réactif en faisant réagir l'azométhine achirale avec le dichlorophénylphosphine en présence de triéthylamine qui a conduit à la formation d'intermédiaire de

<sup>86</sup> F-R. Borch, G-W. Canute. *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 3044 – 3052.

<sup>87</sup> M-N. Dimukhametov, V-F. Mironov, E-V. Mironova, D-B. Krivolapov, A-B. Dobrynin, I-A. Litvinov, R-Z. Musin. *Russ. Chem. Bull.* **2013**, 62(8), 1882 – 1891.

chlorophenylphosphonites. L'intermédiaire obtenu subi une oxydation en présence d'eau et ensuite la cyclisation intramoléculaire par la réaction de Pudovik<sup>88</sup> pour former un mélange de deux diastéréoisomères de 3-aryl-2-oxo-2-phenylbenzo[e]-1,4,2-oxazaphosphinanes avec un rendement 79% et une mauvaise diastéréosélectivité (Schéma.II.17).

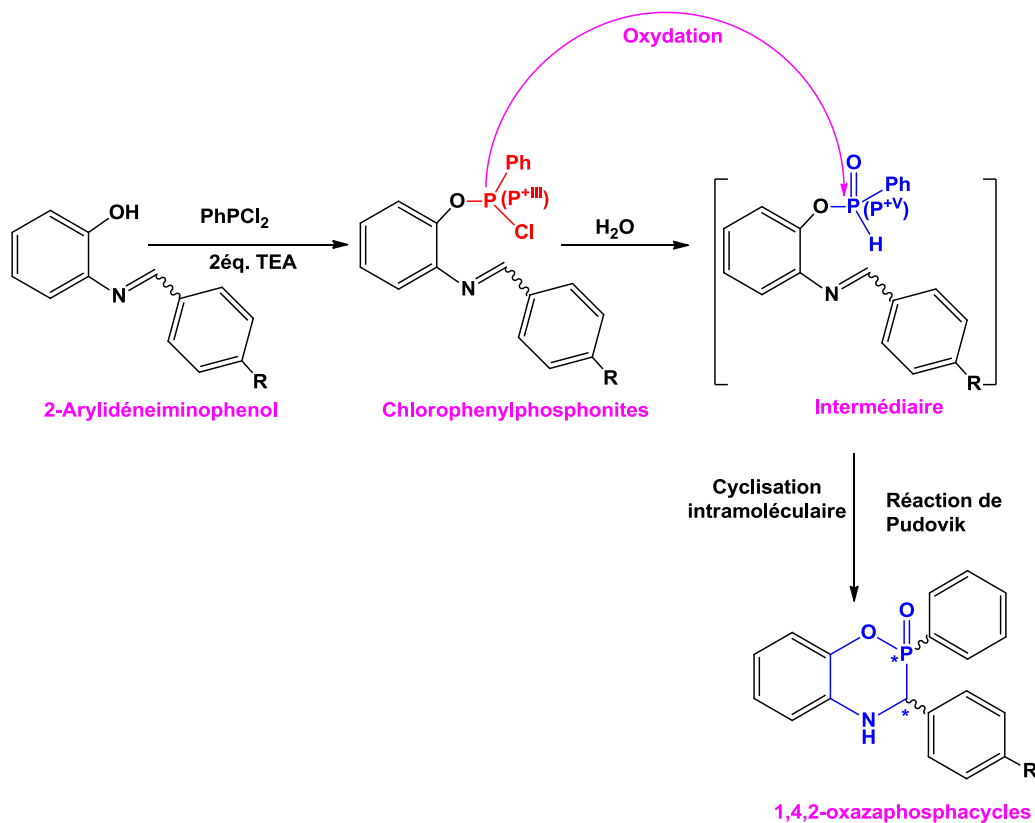


Schéma.II.17.Synthèse des 3-aryl-2-oxo-2-phenylbenzo[e]-1,4,2-oxazaphosphinanes à partir d'azométhine achirale

Même si le rendement de la réaction est bon, l'utilisation d'azométhine dans l'eau possède une réaction d'hydrolyse de la double liaison, qui rend le chlorophenylphosphonites instable et qui ne peut pas être ozonolysé. Pour éviter ce problème, J.-N. Voile et coll<sup>89,90</sup> et J.-L. Pirat et coll<sup>91</sup>, ont synthétisé le 1,4,2-oxazaphosphacycle, en deux étapes successives par des voies similaires. Tout d'abord ils ont commencé par la phosphorylation d'imine chirale par hypophosphite de méthyl à température ambiante dans le THF qui conduit à la formation d'un intermédiaire.

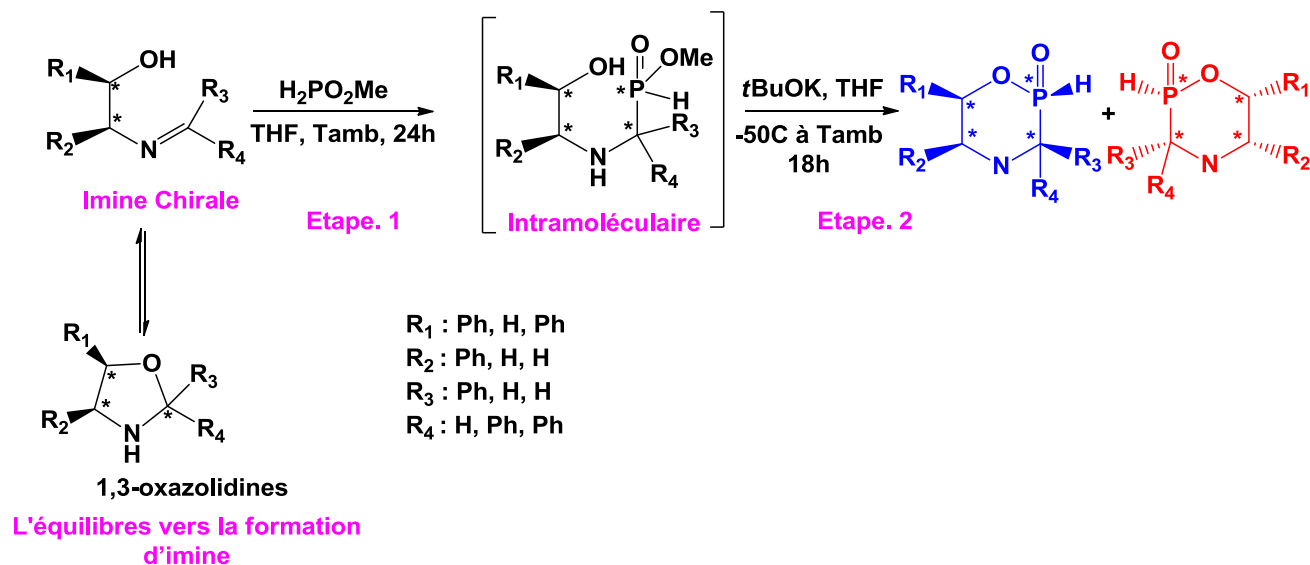
<sup>88</sup>. A.-N. Pudovik. *Chem. Abstr.* **1953**, 47, 4300 – 4310.

<sup>89</sup>. J.-N. Voile, D. Virieux, M. Starck, J. Monbrun, L. Clarion, J. L. Pirat. *Tetrahedron Asymmetry*. **2006**, 17, 1402 – 1408.

<sup>90</sup>. J.-N. Voile, N. Kaloyanov, M. C. Saada, D. Virieux, J.-L. Pirat. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 4695 – 4697.

<sup>91</sup>. J.-L. Pirat, J. Monbrun, D. Virieux, H.-J. Cristau. *Tetrahedron*. **2005**, 61, 7029 – 7036.

Ce dernier, est traité avec le *tert*-butylate de potassium dans le THF à température ambiante et il a subi une cyclisation intramoléculaire donnant lieu à la formation des produits désirés avec un rendement de **90%** et une excellente diastéréosélectivité (**Schéma.II.18**).



**Schéma.II.18.**Méthode générale de synthèse de 1,4,2-oxazaphosphinanes par la réaction de Volle et la réaction de Pirat

Cette méthode est plus pratique à celle de **M-N. Dimukhametov**. Dans notre travail, nous avons utilisé cette méthode pour accéder au 1,4,2-oxazaphosphacycle à partir du dérivé **8a** à base de *D*-glucosamine (*imine 8a achirale*).

#### II.2.2.4.Synthèse des 1,2,3-oxazaphosphorin-2-ones dérivés d'isoquinoline

Les tricyclo-1,2,3-oxazaphosphorino[4,3-*a*]-isoquinolines ont été synthétisés par la réaction de **F. Fülöp** et *coll*<sup>92,93</sup>. Cette réaction est effectuée entre le homocalycotomine et des dérivés phosphorés appropriés du dichlorophosphore, tels que le dichlorure de phénylphosphonique, le bis (2-chloroéthyl) phosphoniquedichlorure ou phosphorylechlorure. En dépit de l'effet de blocage de la liaison isoquinoline "système d'anneau", l'oxazaphosphorinane existe avec un équilibre *chaise-croisé*, où les rapports de conformères dépendent fortement de la configuration et les propriétés stéréoélectroniques des substituants (**Schéma.II.19**).

<sup>92</sup>. F.Fülöp, E. Forró, T.Martinek, G.Günther, R. Sillanpää. *J. Mol. Struct.* **2000**, 554(2-3), 119 – 125.

<sup>93</sup>. T. Martinek, E. Forro, G. Guenther, R. Sillanpaeae, F.Fülöp. *J. Org. Chem.* **2000**, 65(2), 316 – 321.

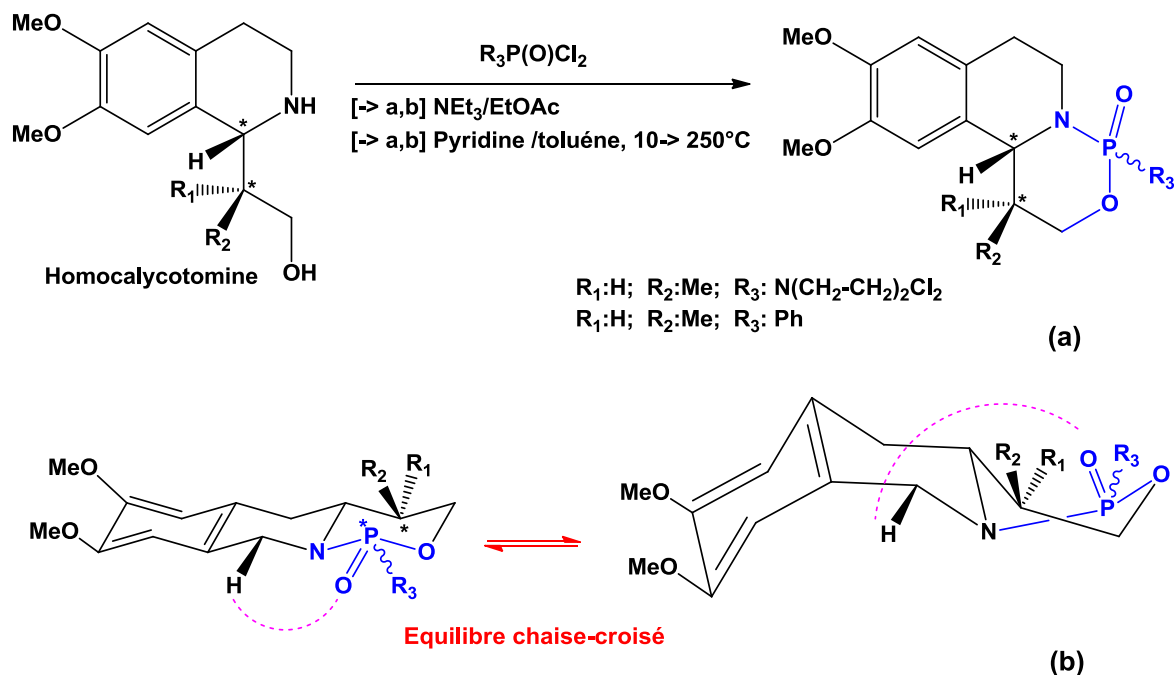


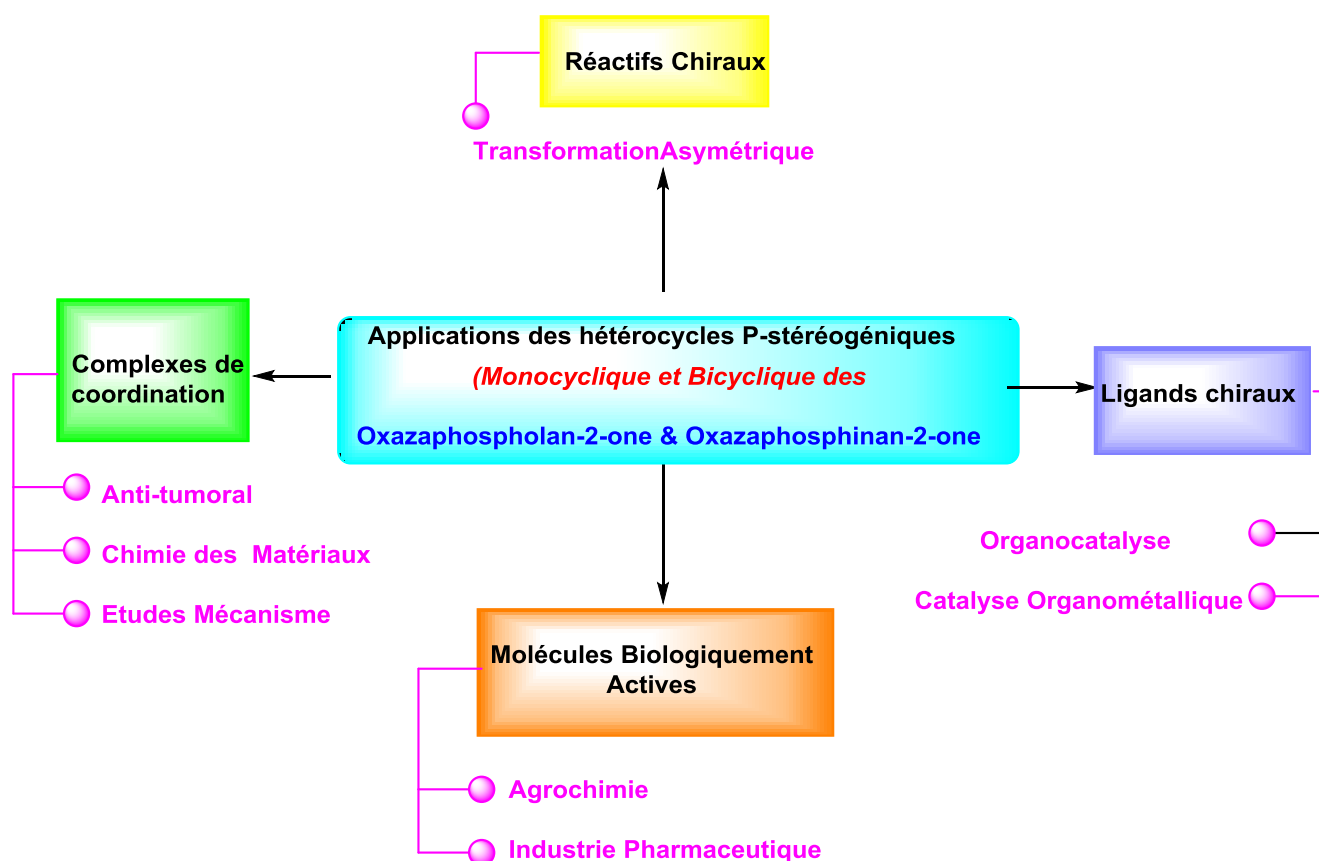
Schéma.II.19.Synthèse des tricyclo-oxazaphosphorinanes dérivés d'isoquinolines par la réaction de Fülöp (a et b)

Huit ans plus tard, le même groupe a réalisé une étude similaire, complétée par l'analyse conformationnelle de tricyclooxazaphosphino[4,3-*a*]-isoquinolines et le dérivé 1,2,3-oxathiazino[4,3-*a*]-isoquinolines avec différents substituants<sup>94</sup>.

### II.3. Applications des oxazaphosphorines P-stéréogéniques dans les différents domaines

Un bref compte rendu des applications des oxazaphosphorines *P*-stéréogènes dans divers domaines de la science sera développé. Les oxazaphosphorines à 5 et 6 chaînons et leurs dérivés sont plus fréquents dans la littérature, mais la plupart des molécules synthétisées à base de cet hétérocycle sont douées de plusieurs applications importantes dans l'industrie pharmaceutique, biologique, chimique ...etc. (Figure.II.5).

<sup>94</sup>. I. Schuster, A. Koch, M. Heydenreich, E. Kleinpeter, L. Lázár, F. Fülöp. *J. Mol. Struct.* **2008**, 888(1-3), 124 – 137.

Figure.II.5. Application des hétérocycles *P*-stéréogènes dans les différents domaines

### II.3.1. Activités biologiques

Ces dernières années, une attention particulière a été portée à la synthèse des dérivés d'oxazaphospholidin-2-ones et d'oxazaphosphorinanes, qui sont connus comme analogues des acides aminés (d'aminoalcools), *L*-proline, *D*-glucosamine et d'azométhines chiraux,...etc. ce qui leur donne un large spectre d'activités biologiques très importants. Par exemple, les cyclophosphamides sont des agents alkylants bifonctionnels de type oxazaphosphorine de la famille des moutardes azotées, ce sont des molécules anticancéreuses<sup>95,96</sup>, utilisée dans le traitement du cancer du sein<sup>97</sup>, ou dans certaines chimiothérapies en hématologie dans le traitement des lymphomes<sup>98</sup>, ils font partie de la liste des médicaments essentiels de l'organisation mondiale de la santé (OMS) en 2015<sup>99</sup>.

De nombreux dérivés d'oxazaphosphorines sont largement utilisés en pratique clinique pour leurs activités antitumorales et immunomodulatrices, nous citons:

<sup>95</sup>. G-A Sarosy, M-M Hussain, M-V Seiden. *Cancer*. **2010**, 116(6), 1476 –1484.

<sup>96</sup>. G. Sosnovsky, B-D. Paul. *Z. Naturforsch. B.* **1983**, 38(9), 1146 – 1155.

<sup>97</sup>. A. Emadi, R.J.Jones, R.A Brodsky. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2009**, 6(11), 638 – 647.

<sup>98</sup>. N-P.Risken, H.Gehlmann, M-V. Deuren. *Clin. Rheumatol.* **2013**, 32(1), 41 – 42.

<sup>99</sup>. WHO Model List of Essential Medicines, EML. 19<sup>th</sup> ed, **2015**.

Le ifosfamide<sup>100,111</sup> et le trofosfamide<sup>101,102</sup>, ce sont des des précurseurs chiraux optiquement purs ou enrichis de type phosphinate<sup>103</sup>. Il a été décrit dans la littérature la synthèse d'une série d'oxazaphospholan qui constitue une nouvelle famille de sucres phosphorylés<sup>104</sup>, ainsi que le 3-diméthyl-2-méthoxy-1,2,4-oxazaphosphin-2-one analogue de l'hydroxybupropion, qui a été évaluée en tant qu'antidépresseur<sup>105,106</sup>.

Le 5-[2-(9h-4-carbazolyl)éthyl]-3-isopropyl-2-phenoxy-1,3,2λ<sup>5</sup> oxazaphospholan-2-one a été évalué pour l'activité antimicrobienne afin de déterminer leur efficacité pour l'inhibition de la croissance des bactéries<sup>107</sup> (Figure.II.6).

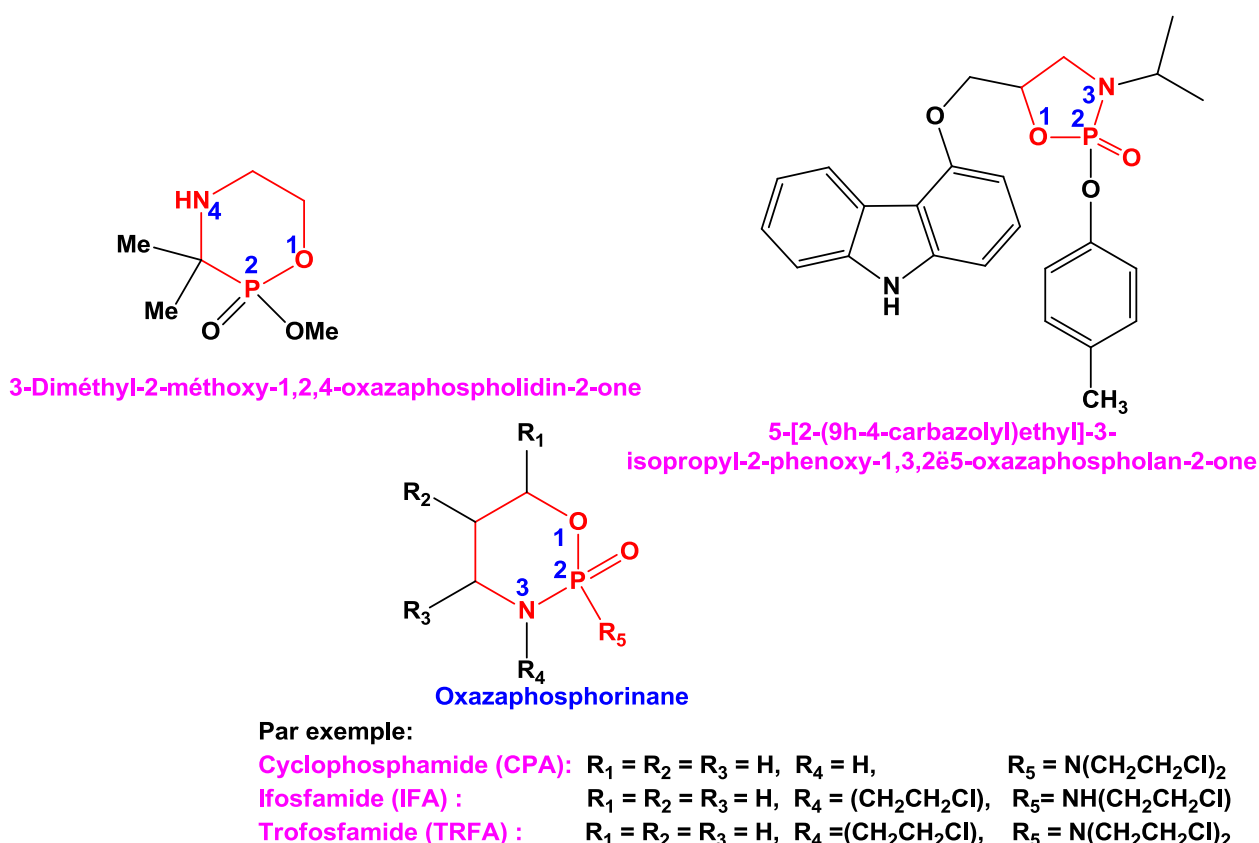


Figure.II.6.Exemples des hétérocycles phosphorés ayant des activités biologiques

<sup>100</sup>. T. Ajithkumar, C. Parkinson, F. Shamshad, P. Murray. *Clin Oncol.* **2007**, 19(2), 108 – 114.

<sup>101</sup>. K. Jahnke, E. Thiel, N-E. Bechrakis. *J. Neurooncol.* **2008**, 93(2), 213 – 217.

<sup>102</sup>. B.Giraud, G.Hebert, A. Deroussent, G-J.Veal, G.Vassal, A. Paci. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2010**, 6(8), 919 – 938.

<sup>103</sup>. W-L. Benoit, M. Parvez, B-A. Keay, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2009**, 20(1), 69 – 77.

<sup>104</sup>. H-J. Cristau, J. Monbrun, J.Schleiss, D.Virieux, J-L. Pirat. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 3741 – 3744.

<sup>105</sup>. J-N.Volle, N.Kaloyanov, C.Saada, D.Virieux, J-L. Pirat. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 4695 – 4697.

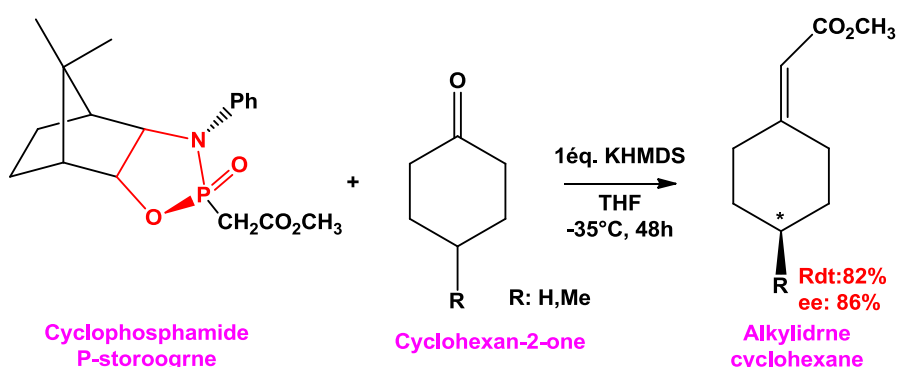
<sup>106</sup>. M-D. Sorensen, L-K. A. Blæhr, M-K. Christensen, T. Hoyer, S. Latini, P-J. V. Hjarnaa, F. Björkling. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 5461 – 5461.

<sup>107</sup>. C-B. Reddy, K-S. Kumar, K-U. M. Rao, B-S. Reddy, C-S. Reddy, C-N. Raju, C-D Reddy. *J. Chem. Pharm. Res.* **2011**, 3(4), 84 – 91.

## II.3.2. Réactifs chiraux

Les dérivés de 1,3,2-oxazaphospholidin-2-one, ont le potentiel de transférer la chiralité de l'atome **P** à l'atome **C** lors d'une transformation chimique, où ces composés agissent comme des inducteurs asymétriques. Cependant, les composés *P*-stéréogènes ont rarement été exploités comme réactifs chiraux. En effet, seules quelques réactions asymétriques ont été rapportées dans la littérature, telles que l'alkylation (*type de Wittig, types de Claisen et Michael*) et la réaction d'addition-1,4.

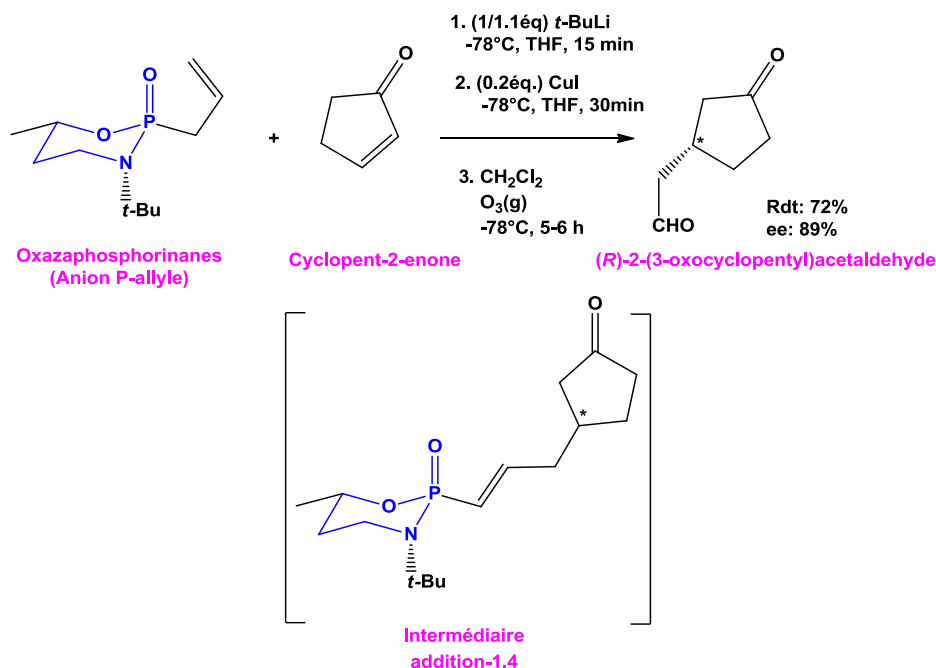
En **1994**, il a été signalé qu'en utilisant le dérivé de 1,3,2-oxazaphospholidin-2-one comme réactif chiral dans la réaction de Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) pour conduire l'alkylidène cyclohexane avec un rendement de **82%** et un excès énantiomérique jusqu'à **86%**<sup>108</sup>(schéma.II.20).



**Schéma.II. 20.** 1,3,2-Oxazaphospholidin-2-one *P*-stéréogène en tant que réactif chiral dans la réaction HWE

Certaines réactions d'addition-1,4 asymétriques sur les composés carbonyle  $\alpha, \beta$ -insaturés ont également utilisé des hétérocycles *P*-stéréogènes comme réactifs chiraux, par exemple, la réaction d'addition-1,4 de Michael sur le cyclopentén-2-one et d'oxazaphosphorinane (anion *P*-allyle) afin d'avoir l'intermédiaire d'addition-1,4. Ce dernier est immédiatement engagé dans une réaction d'ozonolyse pour former le (*R*)-2-(3-oxocyclopentyl)-acétaldéhyde avec un rendement de **72 %** et un excès énantiomérique de **89 %** (Schéma.II.21).

<sup>108</sup>. S-E. Denmark, I. Rivera. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 6887 – 6889.



**Schéma.II.21.Réaction d'addition-1,4 de Michael asymétrique de l'oxazaphosphorinane (anion *P*-allyle) avec cyclopentén-2-one**

#### II.4.Conclusion

Au cours de ce chapitre nous avons passé la synthèse et la réactivité des hétérocycles phosphorylés à cinq et six chaînons sur le plan bibliographique. L'insertion du motif phosphoryle permet l'accès aux hétérocycles phosphorylés qui peuvent présenter des propriétés biologiques, chimiques et pharmaceutiques intéressantes.

La réactivité des hétérocycles phosphorylés apparaît dans leurs différentes utilisations et leurs réactivités, l'étude de la relation structure-activité apparaît comme une alternative pour comprendre certains phénomènes. Il paraît évident que la présence du groupement phosphonate (*P*-chiral; D.O:+V) dans différentes molécules génèrent des activités biologiques diverses et très intéressantes. Jusqu'à présent, bien que les chercheurs aient décrits des hétérocycles phosphorylés dérivés d'aminoalcools,...etc., n'ont pas étudié les hétérocycles du type oxazaphosphinane à base de  $\beta$ -D-glucosamine.

Sur la base de ces travaux et dans le domaine de la synthèse des composés d'intérêt chimique et/ou biologique contenant le motif phosphoryle, il nous a semblé intéressant de préparer une nouvelle série hétérocyclique d'oxazaphosphinane à base de  $\beta$ -D-glucosamine modifiée en utilisant des méthodes simples et efficaces, dans le but d'une évaluation biologique.



# *Chapitre. III*

---

## *Généralités et Etude Bibliographique sur la Chimie des Cyclodextrines*

---

### III.1.Introduction

La chimie supramoléculaire<sup>1,2</sup> fait son apparition dans les années soixante-dix<sup>3</sup>. Elle est basée sur l'étude des interactions non covalentes entre les espèces chimiques<sup>4,5</sup>. Ces interactions, semblables à celles existant dans les systèmes naturels, ont inspiré les chimistes à développer de nouveaux concepts<sup>6</sup>. L'un des premiers chimistes qui s'orienta vers ces interactions intermoléculaires fut **J-M. Lehn**, définit la chimie supramoléculaire comme la chimie des assemblages de molécules et des liaisons intermoléculaires ou la chimie au-delà de la molécule individuelle, il réussit en **1996** à synthétiser des molécules tridimensionnelles creuses capables d'enfermer des cations à l'intérieur d'une cavité crypte<sup>7</sup>, qui sont constitués d'atomes d'azote, de carbone et d'oxygène. Le plus souvent, l'espèce qui va reconnaître le substrat est un macrocycle fonctionnalisé qui forme, par l'arrangement tridimensionnel de ses atomes et de ses fonctions, une cavité dans laquelle le substrat sera piégé<sup>8</sup>.

Depuis sa naissance, la chimie supramoléculaire a développé des récepteurs moléculaires aptes à complexer les cations, les anions<sup>9</sup> et/ou les molécules neutres<sup>10</sup>. La structure du récepteur détermine la nature du ou des substrats qu'il est capable de lier. La fixation de ses substrats donne lieu à un complexe d'inclusion et le phénomène ainsi observé, est appelé complexation<sup>11,12</sup>. Ces derniers jouent un rôle important dans la multitude de processus chimiques<sup>13</sup> et biologiques<sup>14</sup>. Nombreuses classes de macromolécules peuvent former des complexes d'inclusion<sup>15</sup>, comme par exemple: Les **clathrates**<sup>16</sup>, les **éthers couronnes**<sup>17</sup>, les **calixarenes**<sup>18</sup> et les **cyclodextrines** (CDs)<sup>19,20</sup> ...etc., dont une représentation schématique de leurs structures est donnée ci-dessous (**Figure.III.1**).

<sup>1</sup>. J-M. Lehn. *Pure Appl. Chem.* **1978**, 50, 871– 892.

<sup>2</sup>. J-M. Lehn. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, 27, 89 – 112.

<sup>3</sup>. B. Dietrich, J-M. Lehn, J-P. Sauvage. *Tetrahedron Lett.* **1969**, 10, 2889 – 2892.

<sup>4</sup>. F. Biedermann, H-J. Schneider. *Chem. Rev.* **2016**, 116(52), 5216 – 5300.

<sup>5</sup>. J. M. Lehn. *Aust. J. Chem.* **2010**, 63, 611 – 623.

<sup>6</sup>. M-J.Webber, E-A. Appel, E-W. Meijer, R. Langer. *Nature Mater.* **2015**, 15(1), 13 – 26.

<sup>7</sup>. J-M. Lehn, B-O. Kneisel, G. Baum, D. Fenske. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 1838 – 1840.

<sup>8</sup>. Y.Fang, J.A. Powell, E. Li, Q.Wang, Z. Perry, A. Kirchon, X.Yang, Z. Xiao, C. Zhu, L. Zhang, F. Huang, H-C. Zhou. *Chemical Society Reviews* . **2019**, 48(17), 4707 – 4730.

<sup>9</sup>. G-V.Oshovsky, D-N. Reinhoudt, W. Verboom. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46(14), 2366 – 2393.

<sup>10</sup>. J-L. Putaux, C-L. Pin, F-X. Legrand, M. Pastrello, L. Choïnard, A. Gèze, C Rochas, D.Wouessidjewe. *Langmuir*. **2017**, 33(32), 7917 – 7928.

<sup>11</sup>. K-D. Daze, T. Pinter, C-S. Beshara, A. Ibraheem, S-A. Minaker, R-J.M. Courtemanche, R-E. Campbell, F.Hof. *Chem. Sci.* **2012**, 3, 2695 – 2699.

<sup>12</sup>. J-M. Lehn. *Angew Chem Int Ed Engl.* **1990**, 29(11), 1304 – 1319.

<sup>13</sup>. F. Dickert. *Trends Anal. Chem.* **1999**, 18(3), 192 – 199.

<sup>14</sup>. S. Zhang. *Nat. Biotechnol.* **2003**, 21(10), 1171 –1178.

<sup>15</sup>. G. Yu, K. Jie, F. Huang. *Chem. Rev.* **2015**, 115(16), 7240 – 7548.

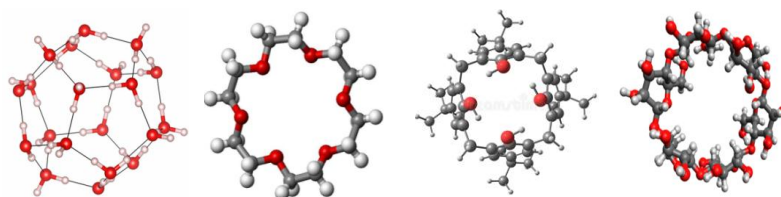
<sup>16</sup>. J-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry: Receptors, Catalysts, and Carriers. Science.* **1985**, 227(4689), 849 – 856.

<sup>17</sup>. C-J. Pedersen. The discovery of crown ethers. *Science.* **1988**, 241(4865), 536 – 540.

<sup>18</sup>. J-N. Rebilly, O.Reinaud. *Supramol Chem.* **2014**, 26, 454 – 479.

<sup>19</sup>. P-G. De Gennes. *Scaling Concept in Polymer Physics. Cornell University Press. Ithaca, New York.* **1979**, 38 – 113.

<sup>20</sup>. C-E.Williams, M. Nierlich, J-P.Cotton, G. Jannink, F. Boué, M. Daoud, B. Farnoux, C. Picot, P-G. D. Gennes, M. Rinaudo, M. Moan, C-J. Wolff. *Polym. Sci Polym. Lett.* **1979**, 17, 379 – 384.



**Figure. III.1. Structure tridimensionnelle (3D) d'un clathrate, d'un éther couronne, d'un calixarene et d'une cyclodextrine (de gauche à droite)**

Ces molécules cages sont capables d'encapsuler d'autres molécules et elles ont des applications aussi bien en pharmacologie<sup>21</sup>, alimentation<sup>22</sup>, cosmétologie<sup>23</sup>, ainsi que dans d'autres secteurs industriels<sup>24</sup>. Parmi tous les hôtes potentiels, les CDs font partie de ces molécules creuses qui possèdent l'aptitude à encapsuler à l'intérieur de leurs cavités de nombreuses molécules invitées. Elles sont intéressantes pour plusieurs raisons que nous allons développer par la suite en citant quelques-unes avec leurs propriétés.

Dans ce chapitre, nous avons choisi de limiter la présentation des CDs et leurs propriétés structurales et géométriques qui conditionnent leurs réactivités. La structure moléculaire des CDs en forme de cône présente une surface externe hydrophile et une cavité plus hydrophobe. Elles peuvent ainsi encapsuler un grand nombre de molécules organiques pour former des complexes d'inclusion<sup>25</sup>.

Enfin, dans l'optique de notre travail de recherche, une partie importante sera consacrée à la formation d'un complexe d'inclusion entre la  $\beta$ -CD et les dérivés de  $\beta$ -D-glucosamines modifiée [ $\beta$ -CD/ invité] pour but d'augmenter la solubilité et l'amélioration de la stabilité des produits qui ont été synthétisés.

### III.2. Bref historique sur la CD

Une cyclodextrine ou cycloamylose est une molécule-cage d'origine naturelle qui permet d'encapsuler diverses molécules<sup>26,27</sup>. Les CDs furent découverts il y a un peu plus d'un siècle. G. Crini<sup>28,29</sup>, l'une des récentes revues intitulée «*Historique des CDs*» a divisé l'histoire des CDs en cinq

<sup>21</sup>. N. Bertrand, M-A. Gauthier, C-L. Bouvet, P. Moreau, A. Petitjean, J-C. Leroux, J. Leblond. *J. Control. Release*. **2011**, 155(2), 200 – 210.

<sup>22</sup>. S. Saffarionpour. *Food Bioprocess Technol.* **2019**, 12(7), 1157 – 1173.

<sup>23</sup>. D. Duchêne, A. ochot, T. oftsson. *S.T.P. Pharma Pratiques*. **2009**, 19(1), 27 – 35.

<sup>24</sup>. É. Euvrard, N-M. Crini, C. Druart, J. Bugnet, B. Martel, C. Cosentino, V. Moutarlier, G. Crini. *Beilstein J. Org. Chem.* **2016**, 12, 1826 – 1838.

<sup>25</sup>. J. Li, S. Geng, B. Liu, H. Wang, G. Liang. *Food Sci. Technol. Int.* **2018**, 112, 136 – 142.

<sup>26</sup>. K. Gessler, I. Usón, T. Takaha, N. Krauss, S-M. Smith, S. Okada, G-M. Sheldrick, W. Saenger. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **1999**, 96, 4246 – 4251.

<sup>27</sup>. S. Menuel, J-P. Joly, B. Courcot, J. Élysée, N-E. Ghermani, A. Marsua. *Tetrahedron*. **2006**, 67(7), 1706 – 1714.

<sup>28</sup>. Crini, G. Review: A History of Cyclodextrins. *Chem. Rev.* **2014**, 114, 10940 – 10975.

<sup>29</sup>. G. Crini, M. Morcellet, N. Morin. *L'actualité chimique*. **2001**, 247, 18 – 25.

périodes: la découverte, la période de doute, la période de maturation, l'exploration, l'utilisation et l'application. Quelques étapes clés sont résumées dans le **Tableau.III.1**.

**Tableau.III.1.Résumé de l'historique des CDs, évolué pendant 128 ans (1891-2019)**

Années	Evènements	Références
1891	Découverte des celluloses par <b>Villiers</b>	30
1903	Première publication sur les $\alpha$ - et $\beta$ -dextrines a <b>Shardinger</b>	31
1911	Publication du dernier article de <b>Shardinger</b> sur les dextrines	32
1924-1938	Description et préparation des CDs méthylées	33
1938	Découverte de la $\gamma$ -CD	34
1938-1952	Elucidation de la structure de l' $\alpha$ -, $\beta$ - et $\gamma$ -CDs	35
1953	Premier brevet sur l'application des CDs pour <b>Freudenberg, Cramer et Plieninger</b> en Allemagne	36
1954	Premier livre sur les CDs et leur capacité de complexation	37
1950-1965	Découverte de CDs renfermant jusqu'à 12 unités de glucose	38
	Premières études de toxicité des CDs Classification des complexes d'inclusion selon leurs profils de diagrammes de solubilité	39
1965-1968	Monographies sur les CDs	40
1976	$\alpha$ - et $\beta$ -CDs sont approuvées au Japon comme additifs alimentaires. La prostaglandine E <sub>2</sub> /β-cyclodextrine (Prostarmon ETM) est commercialisée au Japon par <b>Ono Pharmaceutial Co.</b>	41
1982	Organisation du premier symposium international sur les CDs à Budapest par <b>Szejtli</b>	42
1982-1986	Recrudescence dans la synthèse des dérivés de CDs et des brevets en Europe et aux Etats Unis	41
1988	Commercialisation des tablettes de Piroxicam/β-CD (Brexin) en Europe par <b>Chiesi Farmaceutici</b> (Italie)	41
1990	Un brevet sur la sulfobutyl-éther-β-cyclodextrine par <b>Stella et Rajewski</b>	43
1997	Commercialisation de la solution pharmaceutique à administration orale Itraconazole/HP-β-CD (Sporanox) aux Etats Unis	44

<sup>30</sup> . A. Villiers. *Compt. Rend. Acad. Sci.* **1891**, 112, 536 – 538.

<sup>31</sup> . F. Schardinger. *Z. Untersuch. Nahr. u. Genussm.* **1903**, 6, 865 – 880.

<sup>32</sup> . F. Schardinger. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenk.* **1911**, 29, 188 – 197.

<sup>33</sup> . K. Freudenberg, M. Meyer-Delius. *Ber. Chem.* **1938**, 71, 1596 – 1600.

<sup>34</sup> . K. Freudenberg, R.Jacobi. *Liebigs Ann. Chem.* **1935**, 518, 102 – 108.

<sup>35</sup> . K. Freudenberg, E. Schaaf, G. Dumpert, T. Ploetz. *Naturwiss.* **1939**, 27, 850 – 853.

<sup>36</sup> .K. Freudenberg, F.Cramer, H. Plieninger. Verfahren zur Herstellung vonEinschlussverbindungen physiologisch wirksamer organischer Verbindungen. Knoll A-G. *Chemische Fabriken, Germany*. Patent N°. 895,769, **1953**.

<sup>37</sup> . F. Cramer. *Einschlussverbindungen. Springer-Verlag, Berlin.* **1954**, 438 – 439.

<sup>38</sup> . T. Higuchi, K-A. Connors. *Adv. Anal. Chem. Instrum.* **1965**, 4, 117 – 210.

<sup>39</sup> . D. French, A-O. Pulley, J-A. Effenberger, M-A. Rougvie, M. Abdullah. *Arch. Biochem. Biophys.* **1965**, 111(1), 153 – 160.

<sup>40</sup> . J-A.Thoma, L. Stewart. Chemistry and Technology. R-L.Whistler, E-F .Paschall (Eds). *Academic Press, New York.* **1965**, 1, 209 – 213.

<sup>41</sup> . M-E. Brewster, T. Loftsson. *Adv. Drug Deliver. Rev.* **2007**, 59(7), 645 – 666.

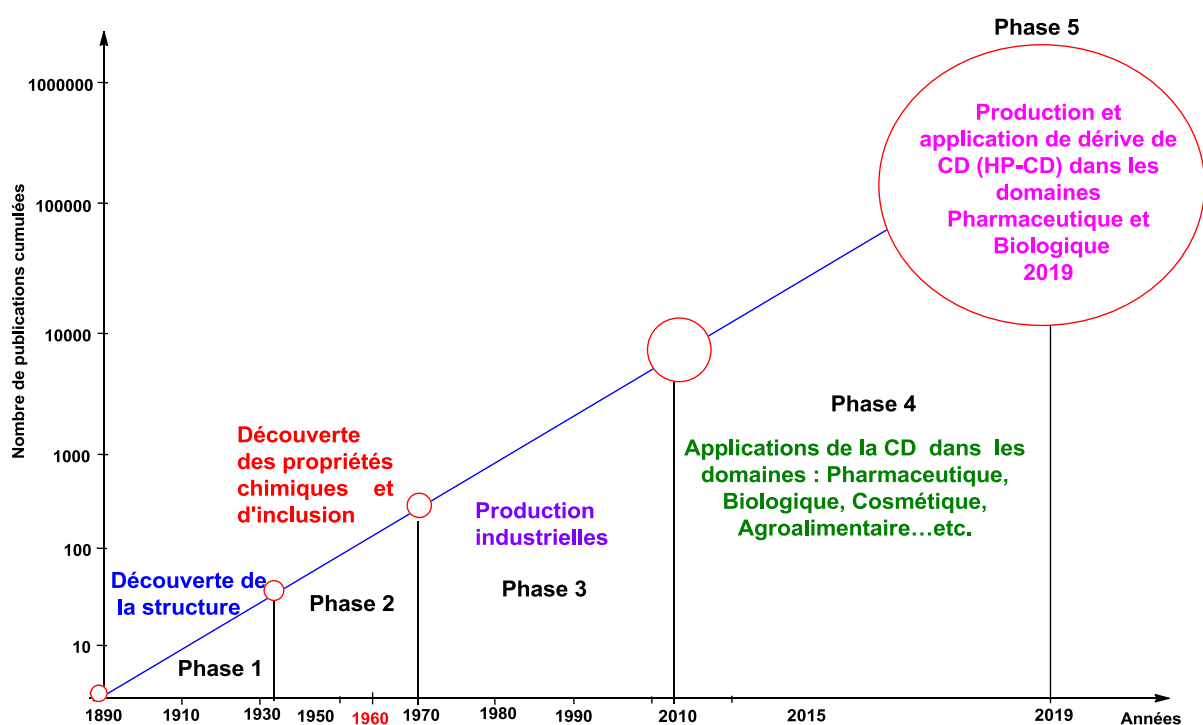
<sup>42</sup> . J. Szejtli, E-B. Pusztai, M. Kajtar. *Pharmazie.* **1982**, 37(10), 725 – 728.

<sup>43</sup> . R-A. Rajewski, V-J. Stella. **1996**. Cyclodextrins: Their Future in Drug Formulation and Delivery. *J. Pharm. Sci.* 85(11), 1142 – 1169.

<b>2004</b>	26000 publications sur les CDs	<b>44</b>
<b>2007-2010</b>	Commercialisation du BRIDION® : $\gamma$ -CD modifiée utilisée comme antidote de certains anesthésiques	<b>45,46</b>
<b>2010-2016</b>	Applications des CDs dans les domaines : pharmaceutique, cosmétique, catalyse, dépollution, chromatographie, textile,...etc.	<b>27</b>
<b>2019</b>	Applications des CDs dans le domaine biologie cellulaire comme translocation membranaire	<b>47</b>

Le nombre de publications concernant les CDs n'a cessé de croître depuis la fin des années 1960, période à laquelle les méthodes de production, les structures, les propriétés physiques et chimiques et la formation du complexe d'inclusion ont été découverts.

Les caractéristiques structurales et physico-chimiques des CDs ont fait que l'intérêt des chercheurs pour les CDs est toujours grandissant, comme le montre la constante augmentation du nombre de publications sur les CDs<sup>48</sup> (Figure.III.2).



**Figure. III.2.** Nombre de publications parues sur les CDs en fonction de développement des CDs

<sup>44</sup> J. Szejtli. *Pure Appl. Chem.* **2004**, 76(10), 1825 – 1845.

<sup>45</sup> T. Loftsson, D. Duchene, *Int. J. Pharm.* **2007**, 329(1-2), 1 – 11.

<sup>46</sup> G. Crini. *Dyes Pigm.* **2008**, 77(2), 415 – 426.

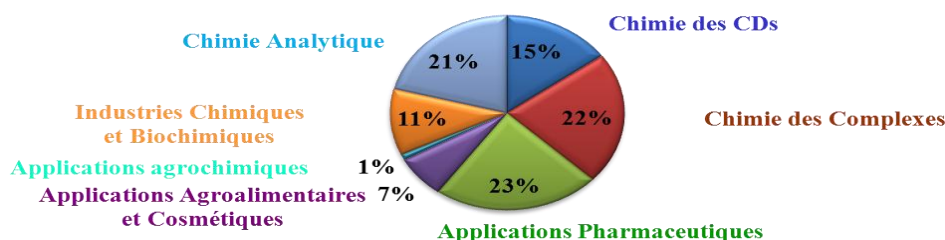
<sup>47</sup> K-I. Assaf, B. Begaj, A. Frank, M. Nilam, A-S. Mougharbel, U. Kortz, J. Nekvinda, B. Grüner, D. Gabel, W-M. Nau. *J. Org. Chem.* **2019**, 84 (18), 11790 – 11798.

<sup>48</sup> J. Szejtli. *J. Mater. Chem.*, **1997**, 7, 575 – 587.

Sur la totalité des publications concernant les CDs, environ 15% traitent de la chimie des CDs (production, propriétés physicochimiques, toxicologie, dérivés,...etc.) et près de 22% sont dédiées à l'étude du phénomène de complexation (thermodynamique et cinétique de l'inclusion, analyse des complexes, étude des corrélations entre les complexes et divers paramètres structuraux,...etc.).

Une grande partie des publications restantes concerne l'application des CDs dans différentes industries. Le domaine le plus étudié concerne les applications pharmaceutiques et plus précisément, la formulation avec 23% des publications<sup>49</sup>. Grâce à l'absence de toxicité de certains dérivés de CDs, il existe de nos jours une trentaine de produits pharmaceutiques incorporant des CDs.

Toutefois, l'industrie chimique et biochimique utilise moins de 11% de la quantité produite de CDs. Bien que le domaine des industries agroalimentaire et cosmétique ne soit pas très représenté dans la littérature (7% des publications), elles constituent les plus gros consommateurs de CDs (70% de la production)<sup>50</sup> (**Figure.III. 3**) et le **Tableau.III.2** regroupe des exemples d'utilisation des CDs.



**Figure.III.3. Répartition des publications concernant les CDs<sup>51</sup>**

**Tableau.III.2. Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de CDs**

Exemples de propriétés	Produits ou substances concernés
<b>Pharmaceutiques</b>	
Augmentation de la solubilité, protection contre la lumière, et la chaleur ou encore l'oxygène	Prostaglandines, vitamines A, D, E, K et C ( <i>ils sont sensibles à la dégradation</i> )
Amélioration de la biodisponibilité	Indométacine
Diminution des effets secondaires	Phénylbutazone
<b>Alimentaires<sup>52</sup></b>	
Stabilité des produits volatils	Menthol, moutarde, confiseries
Extraction de composants indésirables	Cholestérol (beurre, lait, œuf...etc.)
<b>Cosmétologiques</b>	
Masquage d'odeurs désagréables	Mercaptans
Stabilité des parfums	Essence de citron
<b>Agrochimiques</b>	
Diminution de la toxicité	Herbicides, fongicides

<sup>49</sup>. R. Baiping, J. Binbo, H. Rundong, Z. Mingzhen, C. Hong, M. Jie, S. Yan, J-Z. Jie. *Chem. Chem. Phys.* **2016**, 18, 20476 – 20485.

<sup>50</sup>. Z. Zhao, X. Zhang, Y. Cui, Y. Huang, Z. Huang, G. Wang, R. Liang, X. Pan, L. Tao, C. Wu. *Adv Powder Technol.* **2019**, 358, 29 – 38.

<sup>51</sup>. T. Loftsson, M-D. M. Orteg, C-A. Lorenzo, A. Concheiro. *J. Pharm. Pharmacol.* **2016**, 68, 544 – 555.

<sup>52</sup>. J. Szejtli, L. Szenté. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2005**, 61(3), 115 – 125.

### III.3.Synthèse des CDs

Ces molécules hôtes naturelles, sont obtenues par dégradation enzymatique suivie d'une *trans-glycosylation* intramoléculaire de l'amidon sous l'action de la CGTase<sup>53</sup>. Une large proportion de CGTase provenant de bacilles, exigent avant leur emploi, un traitement de l'amidon par une amylase d'origine bactérienne *Bacillus macerans* donne un mélange d' $\alpha$ -cyclodexterine ( $\approx 20\%$ ),  $\beta$ -cyclodexterine ( $\approx 60\%$ ) et de  $\gamma$ -cyclodexterine ( $\approx 20\%$ ) associé à de petites quantités de cyclodextrines contenant plus de huit unités de glucose<sup>54</sup>, le traitement demande une très grande énergie.

Pour cela, de nombreuses investigations ont été effectuées pour obtenir des CDs à partir d'une action directe sur l'amidon brut<sup>45</sup>. L'habilité de la CGTase à produire des CDs du type ' $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ ' ainsi que des oligosaccharides linéaires<sup>55,56</sup>, a été largement étudiée ces dernières décennies<sup>57</sup>, il se trouve que cette enzyme n'est pas la seule à pouvoir produire des CDs même si elle est la plus utilisée, d'autres enzymes ont aussi cette capacité à les produire<sup>58</sup> (Figure.III.4).

<sup>53</sup>. W. Saenger. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, 19(5): pp.344 – 362.

<sup>54</sup>. L-R. Lumholdt, R. Holm, E-B. Jorgensen, K-L. Larsen. *Carbohydr. Res.* **2012**. 362, 56 – 61.

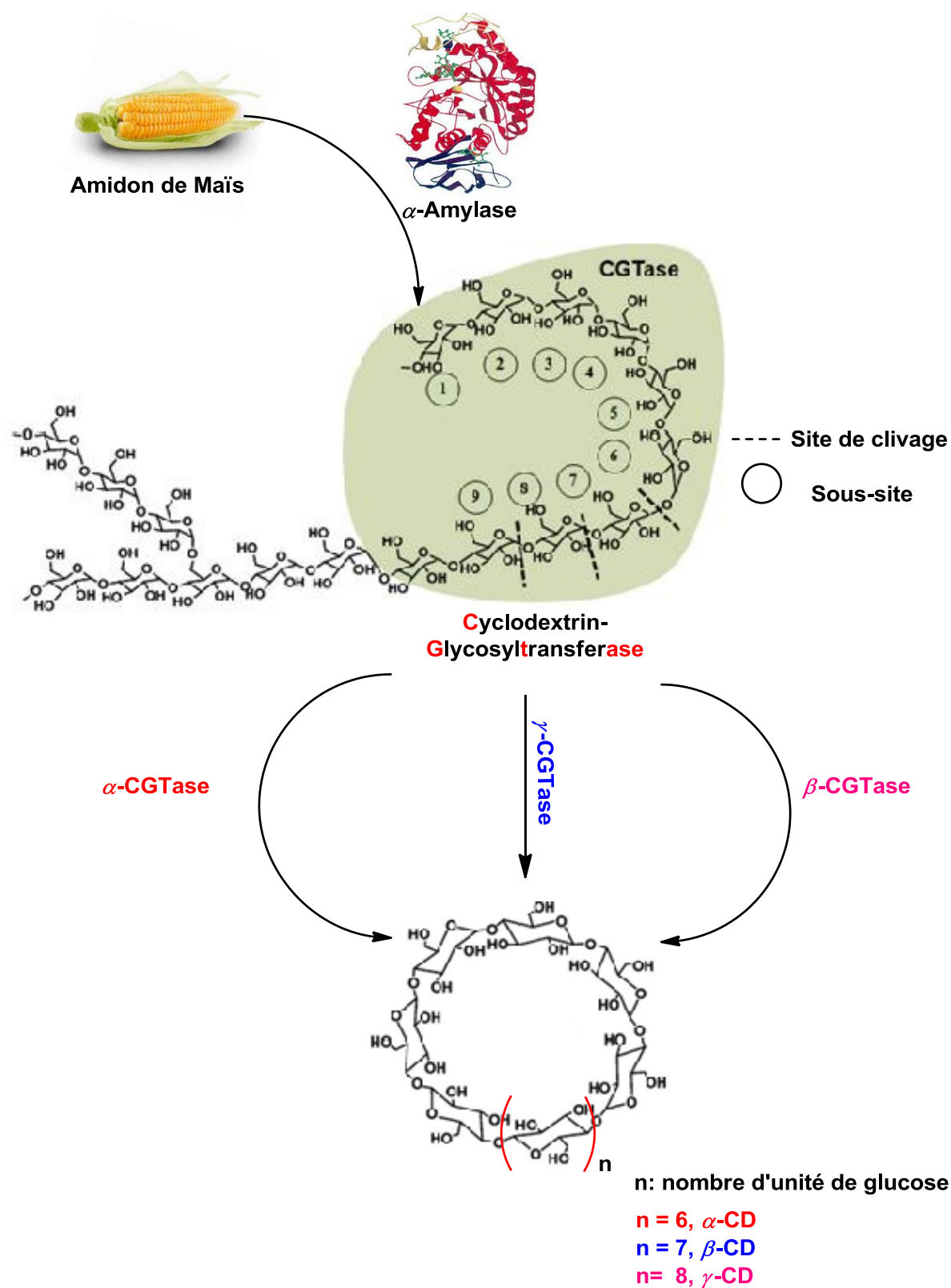
<sup>55</sup>. K-L. Larsen, W. Zimmermann. *J. Chromatographie A.* **1999**, 836, 3 – 14.

<sup>56</sup>. G-C. Samanta, K. Maiti, N. Jayaraman. *ACS Omega.* **2018**, 3(7), 7466 – 7473.

<sup>57</sup>. K-H. Fromming, J. Szejtli. *Cyclodextrins in Pharmacy. Topics in Inclusion Science. Springer Netherlands.* **1994**, 5, 45 – 104.

<sup>58</sup>. T. Endo, H. Nagase, H. Ueda, A. Shighira, S. Kobayashi, T. Nagai. *Chem. Pharm. Bull.* **1997**, 45, 1856 – 1859.



Figure.III.4.Schéma général de la dégradation enzymatique de l'amidon pour produire des CDs<sup>59</sup>

<sup>59</sup>. J. Jacob, K. Geüller, D. Hoffmann, H. Sanbe, K. Koizumi, S-M. Smith, T. Takaha, W. Saenger. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 605 – 609.

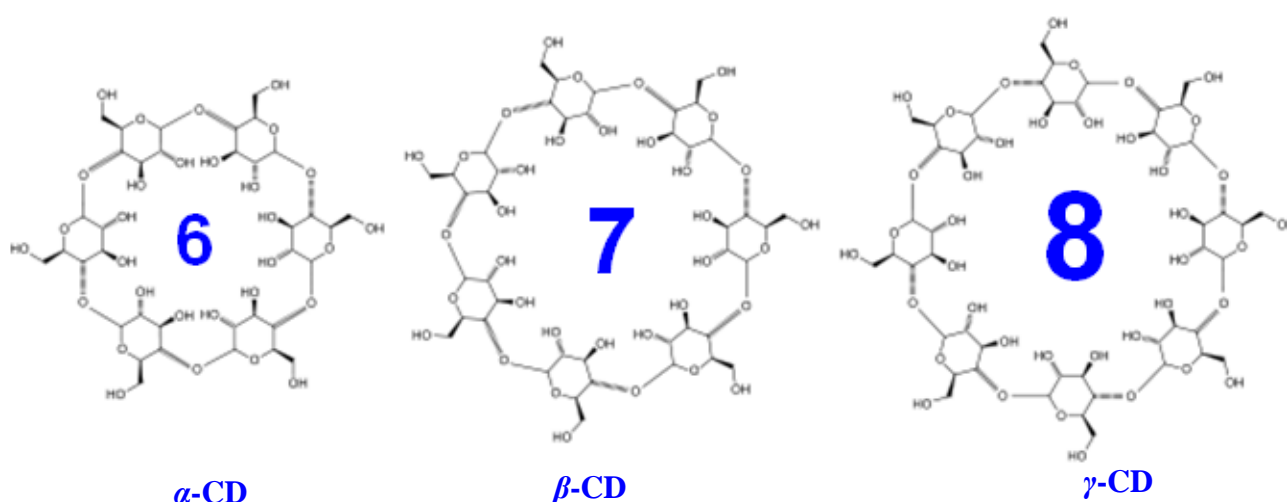


### III.4. Structure et propriétés des CDs

#### III.4.1. Structure

Les CDs sont des maltooligosaccharides cycliques<sup>60,61</sup> naturelles non réducteurs de formule brute  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , constitués généralement de 6 à 12 unités de  $\alpha$ -D-glucopyranose de conformation chaise  ${}^4C_1$  reliés entre eux par des liaisons  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4).

Les trois cyclodextrines les plus rencontrées comportent 6, 7 et 8 unités glucosidiques, et sont nommées respectivement  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -cyclodextrine (**Figure.III.5**). Il existe de nombreuses nomenclatures pour ces composés: ainsi la  $\beta$ -cyclodextrine peut être désignée par les termes  $\beta$ -dextrine de Schardinger<sup>30,31</sup>, cyclomaltoheptaose, cycloheptaglucone, cycloheptaamylose ou encore cyclo- $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glucoheptaoside<sup>62</sup>.



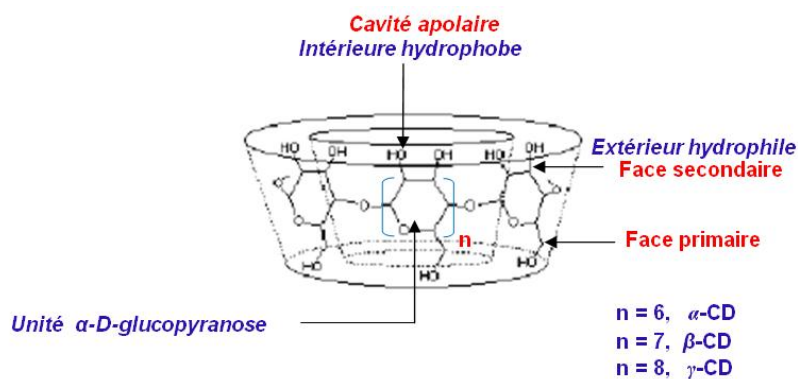
**Figure.III.5.Représentation schématique des CDs**

Les CDs ont attiré l'attention des chercheurs grâce à leurs propriétés spécifiques qui sont principalement dues à leurs structures uniques. La face la plus étroite est constituée par les groupements hydroxyles primaires (un par glucose en position **C-6**) alors que les groupements hydroxyles secondaires (en position **C-2** et **C-3**) sont situés à l'opposé sur la partie large de la couronne (**Figure.III.6**).

<sup>60</sup>. W. Saenger, J. Jacob, K. Geüller, T. Steiner, D. Hoffmann, H. Sanbe, K. Koizumi, S-M.Smith, T.Takaha. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1787 – 1802

<sup>61</sup>. L. Stominska, A. Szostek, A. Girzeskowiak. *Carbohydr. Polym.* **2002**, 50, 423 – 428.

<sup>62</sup>. S. Makedonopoulou, I-M. Mavridis. *Carbohydr. Res.* **2001**, 335(3), 213 – 220.



**Figure.III.6.Structure tridimensionnelle (3D) de la CD simplifiée la forme tronconique**  
(forme spatiale)

La proximité des deux types d'hydroxyles secondaires conduit à la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires, et ce d'une unité de glucose à une autre. De telles liaisons conduisent à une stabilisation du macrocycle. Ce phénomène est particulièrement important dans le cas de la  $\beta$ -CD<sup>63,64</sup>.

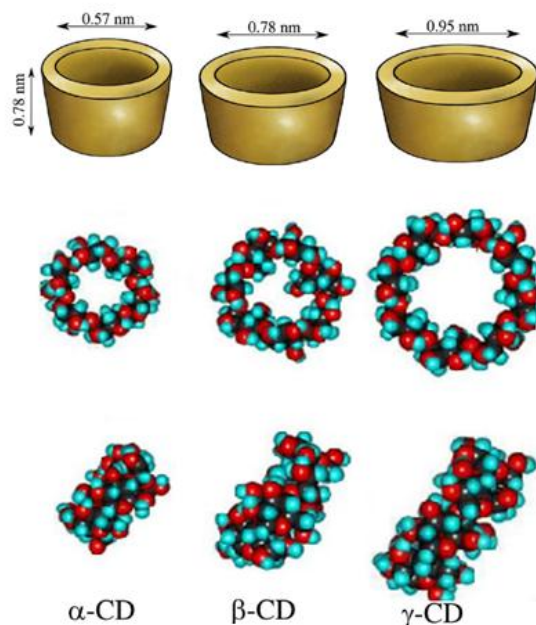
#### III.4.2.Propriétés des cyclodextrines

Il existe des CDs plus grandes (appelées géant) qui peuvent contenir jusqu'à quatorze unités glucopyranosiques. Grâce aux structures tridimensionnelles obtenues par diffraction des RX, la forme tronconique des CDs a pu être déterminée<sup>7</sup>, ainsi que le réseau de liaisons hydrogènes interglycosidiques des hydroxyles primaires et des hydroxyles secondaires. La structure du cône est formée autour d'un squelette carboné construit par les unités de glucoses reliées entre elles par les atomes d'oxygène glucosidiques.

Ce squelette crée une cavité moléculaire possédant des propriétés très originales dues aux positions spatiales des différents groupements constitutifs de la cyclodextrine. Cette cavité d'environ **0,57 à 0,95 nm** de diamètre (**Figure.III.7**) qui leur permet d'inclure de nombreux composés organiques pour former des complexes d'inclusion à l'état solide ou en solution.

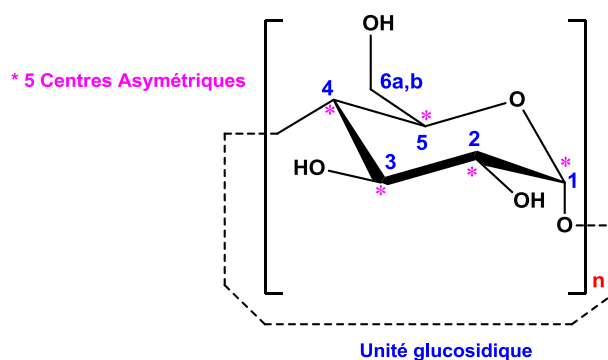
<sup>63</sup>. W. Khuntawee, P. Wolschann, T. Rungrotmongkol, J-W. Ekkabut, S. Hannongbua. *J. Chem. Inf. Model.* **2015**, 55(9), 1894 – 1902.

<sup>64</sup>. C. De-Oliveira, N. Ferreira, G. Mota. *Spectroc. Acta A.* **2016**, 153, 102 – 107.



**Figure.III.7. Structure tridimensionnelle des différentes cyclodextrines<sup>27</sup>**

La structure tridimensionnelle des CDs est de type tronc-conique, dont la paroi est constituée d'unités glucose en conformation chaise C-1. De plus, la formation de deux couronnes de liaisons hydrogène, sur les deux faces, donne à l' $\alpha$ - et la  $\beta$ -CD une structure relativement rigide. Selon la numérotation communément employée dans la chimie des sucres, les protons **H-1**, **H-2**, **H-4** et les deux protons **H-6<sub>a,b</sub>** sont dirigés vers l'extérieur, tandis que les protons **H-3** et **H-5** sont orientés vers l'intérieur de la cavité (**Figure.III.8**). Ces derniers sont les seules pouvant interagir avec un substrat inclus dans la cavité.



**Figure.III.8. Représentation de la numérotation des unités glucosidiques  $\alpha$ -(1→4) en conformation chaise**

### III.4.3. Solubilité des CDs en solution

A cause de la structure tronconique et de la position particulière des hydroxyles, les cyclodextrines sont amphiphiles et possèdent donc deux zones de polarité distinctes. La présence des

hydroxyles sur la CD lui confère son caractère hydrophile. Les protons de **C-3** et de **C-5** (**H-3** et **H-5** respectivement), ainsi que les oxygènes inter-glycosidiques **O-4**, pointant vers l'intérieur de la cavité, lui confèrent un caractère hydrophobe, responsable des remarquables capacités d'inclusion de molécules à caractère apolaire (ou partiellement apolaire), et leurs paires d'électrons non liantes sont dirigés vers l'intérieur de la cavité moléculaire.

Cette orientation conduit l'intérieur de la cavité de la cyclodextrine à posséder une forte densité électronique ce qui lui confère les caractéristiques d'une base de Lewis. La ceinture de l' $\alpha$ -CD est incomplète quand celle de la  $\gamma$ -CD est assez lâche (*très ample*) ce qui les autorisent à créer des interactions avec l'eau<sup>65</sup>. Les dimensions et certaines caractéristiques physico-chimiques des CDs sont présentées dans le **tableau. III.3**.

**Tableau.III.3.Propriétés structurales et principales caractéristiques et dimensions de l'  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ - CDs natives<sup>66,67</sup>**

Caractéristiques	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
Nombre d'unités répétitives de glucose	6	7	8
Formule brute	C <sub>36</sub> H <sub>60</sub> O <sub>30</sub>	C <sub>42</sub> H <sub>70</sub> O <sub>35</sub>	C <sub>48</sub> H <sub>80</sub> O <sub>40</sub>
Masse moléculaire (kg.mol <sup>-1</sup> )	972	1135	1297
Diamètre interne de la cavité (Å)	4.7–5.3	6.0–6.5	7.5–8.3
Diamètre externe de la cavité (Å)	14.6 ± 0.4	15.4 ± 0.4	17.5 ± 0.4
longueur de la cavité (Å)	7.9±0.1	7.9±0.1	7.9±0.1
Volume approximatif de la cavité (Å <sup>3</sup> )	174	262	427
Pouvoir rotatoire spécifique [ $\alpha$ ] <sub>D</sub> <sup>25</sup>	+150.5	+162.5	+177.4
pKa, 25°C	12.33	12.20	12.08
$\Delta H^{\circ}_{\text{(ionisation)}}$ (kcal.mol <sup>-1</sup> )	8.36	9.98	11.22
$\Delta S^{\circ}_{\text{(ionisation)}}$ (cal.mol <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup> )	-28.3	-22.4	-17.6
$\Delta H^{\circ}_{\text{(solution)}}$ (kcal.mol <sup>-1</sup> )	7.67	8.31	7.73
$\Delta S^{\circ}_{\text{(solution)}}$ (cal.mol <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup> )	13.8*	11.7*	14.7*
$\Delta G^{\circ}$ de dissolution (kJ/mol, 25°C)	15	20	14
Solubilité (eau, 25°C), mol.l <sup>-1</sup> <sup>68</sup>	0.1211	0.0163	0.168
Solubilité dans l'eau à 25°C ( g/100mL)	14.5	1.85	23.2
Température de fusion (°C)	275	280	275
Molécules dans la maille	4	2	6
Forme des cristaux (obtenus de l'eau)	Plaques hexagonales	Parallélogrammes monocliniques	Prismes quadriques
Constante de diffusion à 40°C <sup>69</sup>	3.443	3.224	3.000
Hydratation (CD. nH <sub>2</sub> O) <sup>70</sup>	n = 6 à 7	n = 10 à 12	n = 7 à 13

\*\* : Etat standard de fraction molaire

<sup>65</sup>. A.Decottignies. Catalyse dans l'eau en présence de cyclodextrine native ou modifiée - Application au couplage croisé de type Suzuki. Thèse de doctorat : Génie des Procédés Industriels et du Développement Durable. Compiègne : Université de Technologie de Compiègne. **2013**.

<sup>66</sup>. R-I. Gelb, L.M. Schwartz, D.A. Laufer. *Bioorg. Chem.* **1982**, 11, 274 – 280.

<sup>67</sup>. C-A.R. Barragán, E-D.Fornué, J-A.A. Ortega, G-T. González, H-J.C. Quiñones. *J. Org. Chem.* **2016**, 6, 192 – 206.

<sup>68</sup>. J-S. Paginton. *Chem. Br.* **1987**, 23(5), 455 – 458.

<sup>69</sup>. R-I. Gelb, L-M. Schwartz, J-J.Bradshaw, D-A. Laufer. *Bioorg. Chem.* **1980**, 9, 299 – 304.

<sup>70</sup>. J.Szetjli. *Chem. Rev.* **1998**, 98(5), 1743 – 1753.

Le diamètre de la cavité et la masse moléculaire augmentent avec le nombre d'unités glucopyranose constitutives. Toutes les valeurs du **Tableau.III.3.** montrent une évolution régulière pour les séries  $\alpha$ -CD et  $\beta$ -CD et  $\gamma$ -CD. Le  $pK_a$ , les enthalpies, les entropies d'ionisation et les valeurs structurales concordent dans cette progression. Néanmoins, le comportement de la solubilité est très différent.

Les termes thermodynamiques en solution montrent que la solubilité relativement faible de la  $\beta$ -CD est associée à un  $\Delta H^\circ$  et un  $\Delta S^\circ$  moins favorable. Ces valeurs montrent que malgré une forte similitude structurale, les CDs n'ont pas un comportement comparable vis à vis des molécules d'eau<sup>68</sup>. Leur solubilité dans l'eau augmente dans le sens:  $\beta$ - <  $\alpha$ - <  $\gamma$ -CD. La faible solubilité dans l'eau de la  $\beta$ -CD en comparaison des deux autres, s'explique par la rigidité de la structure due à la présence d'une ceinture complète de sept liaisons hydrogènes au niveau de la couronne secondaire. Ces liaisons hydrogènes mettent en jeu un groupe hydroxyle d'une unité glucose (**OH-2**) avec un autre groupe hydroxyle (**OH-3**) de l'unité adjacente<sup>71</sup>. Cette faible solubilité est aussi attribuée à la formation d'agrégats de  $\beta$ -CD<sup>72</sup>.

Une étude systématique sur l'influence d'un environnement ionique a montré que la solubilité augmente dans des solutions de cations métalliques avec la concentration. **E. Fenyvesi** et *coll*<sup>73</sup> ont étudié la solubilité de la  $\beta$ -CD dans des solutions aqueuses de différents acides organiques. Ils ont montré que les acides hydroxyliques, tels que les acides citrique et tartrique augmentent la solubilité de la  $\beta$ -CD dans l'eau, tandis que les acides carboxyliques la diminuent. Dans le cas de l' $\alpha$ -cyclodextrine, cette ceinture de liaison hydrogène est incomplète car une unité glucose se trouve en position distordue par rapport aux autres unités glucose. Moins rigide que la  $\beta$ -CD, l' $\alpha$ -cyclodextrine possède ainsi une plus grande solubilité dans l'eau. De la même façon, la très grande solubilité de la  $\gamma$ -cyclodextrine est due à sa très grande flexibilité.

Les CDs cristallisent sous forme d'hydrates non définis (**CD.nH<sub>2</sub>O**) et leur taux d'hydratation est largement dépendant de la pression de vapeur d'eau du milieu environnant<sup>74</sup>. Concernant la  $\beta$ -CD qui a été la plus étudiée, l'hydratation moyenne est de 10 à 12 molécules d'eau. Les CDs sont des molécules chirales dans lesquelles chaque unité de glucose possède cinq centres asymétriques.

D'après ces propriétés structurales et principales caractéristiques de l'  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -CDs natives, et d'après la littérature, il existe de nombreux exemples sur la  $\beta$ -CD qui ont été le plus utilisés pour la

<sup>71</sup>. M-J. Jozwiakowski, K-A. Connors. *Carbohydr. Res.* **1985**, 143, 51 – 55.

<sup>72</sup>. J. Szejtli. Cyclodextrins and Their Inclusion Complexes. *Akademiai Kiado, Budapest.* **1982**, 94 – 109.

<sup>73</sup>. E. Fenyvesi, M. Vikmon, J. Szeman, E. Redenti, M. Delcanale P. Ventura, J. Szejtli. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **1999**, 33, 339 – 344.

<sup>74</sup>. M. Bilal, C-D.Brauer, P. Claudy, P. Germain. *Thermochim. Acta.* **1995**, 249, 63 –73.

réalisation de complexes d'inclusion, est la plus couramment employée et elle représente au moins **95%** de la production de CD<sup>75</sup>. Ceci est pour plusieurs raisons:

- ✓ *Diamètre de cavité ;*
- ✓ *Prix;*
- ✓ *Approbation;*
- ✓ *Disponibilité.*

Aujourd'hui, la production de  $\beta$ -CD est supérieure à 1000 T/an et son prix continue de baisser (quelques \$ par kilogramme). Leur prix initial élevé est devenu abordable grâce à une augmentation de la production (voir le tableau ci-dessous).

D'autres CDs naturelles sont produites industriellement (*la production industrielle de ces molécules est entreprise: la matière première (l'amidon) est peu coûteuse et la technique de production par dégradation enzymatique relativement simple*).

**Tableau.III.4.Prix en (Dollar des états unis) en masse des tous les CDs**

	Prix en masse (USD/kg)	Prix en masse (USD/kg)
Année	2004 <sup>76</sup>	2016 <sup>77</sup>
$\alpha$ -Cyclodextrine	45	100
$\beta$ -Cyclodextrine	5	8
$\gamma$ -Cyclodextrine	80	150

*Le prix de revient de la  $\gamma$ -CD est resté longtemps trop élevé (sa production est difficile) pour permettre d'envisager un emploi industriel (alimentaire ou pharmaceutique) rentable<sup>47,48</sup>.*

#### III.4.4.Stabilité des CDs en solution

La stabilité des CDs en solution est relativement peu influencée par les conditions de pH et de température. Selon V.Stella et coll<sup>78</sup>, l'hydrolyse des CDs peut avoir lieu dans certaines conditions de pH très acide (<1) et à 80 °C. En milieu très basique (pH > pK<sub>a</sub>), il y a possibilité de former des ions alcoolates plus solubles que les CDs neutres. Les valeurs des constantes pK<sub>a</sub> sont données dans le **Tableau.III.3** pour les trois cyclodextrines natives.

<sup>75</sup>. A. Merzlikine, Y-A. Abramov, S-J. Kowsz, V-H. Thomas, T. Mano. *Int. J. Pharm.* **2011**, 418(2), 207 – 216.

<sup>76</sup>. E-M.M . Del Valle. *Process Biochem.* **2004**, 39(9), 1033 – 1046.

<sup>77</sup>. E. Fenyvesi, M.Vikmon, L.Szente. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2016**, 56(12), 1981 – 2004.

<sup>78</sup>. V . Stella, R.A. Rajewski. *Pharm. Res.* **1997**, 14(5), 556 – 5567.

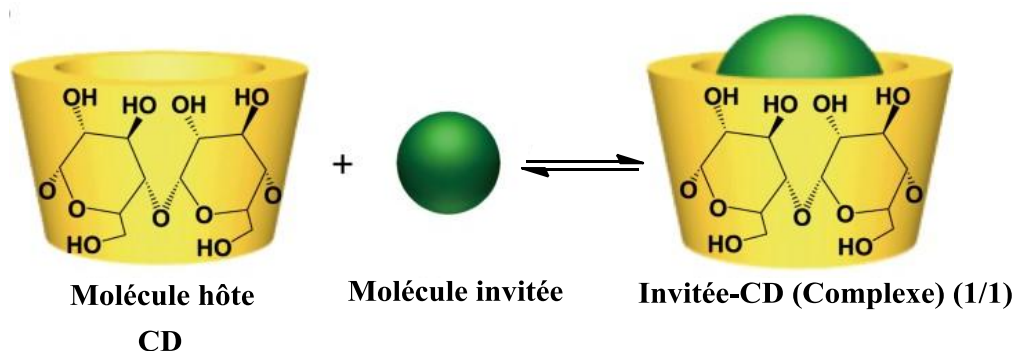


### III.4.5.Toxicité des CDs

En général, les CDs sont considérées comme relativement peu toxiques par administration par voie orale<sup>50</sup>. Ces molécules ne diffusent quasiment pas au travers des membranes biologiques et ne sont pas absorbées lors du transit intestinal<sup>79</sup>. Plusieurs études ont montré que les CDs ne présentent aucun effet toxique<sup>80</sup>. Nous pouvons alors les considérer comme des agents de formulation plutôt que comme des réactifs chimiques ordinaires (contrairement aux agents de complexation ou de solubilisation tels que les solvants organiques).

### III.5. Complexe d'inclusion

Les CDs forment des complexes d'inclusion avec un grand nombre de molécules (neutres, chargés, polaires ou apolaires)<sup>81</sup>. Cette propriété, mise en évidence dans les années trente<sup>82,83</sup> et largement acceptée à partir des années cinquante<sup>84,85</sup>, est à l'origine de la plupart des applications industrielles des CDs<sup>86</sup>. La formation des complexes d'inclusion peut se produire aussi bien en solution qu'à l'état solide. Un complexe d'inclusion est la résultante d'une multitude d'interaction mettant en jeu la CD, l'invité et le solvant visant à acquérir l'état thermodynamique le plus stable<sup>87,88</sup> (Figure.III.9).



**Figure.III.9.Schéma général (3D) de la formation d'un complexe d'inclusion entre une molécule hôte CD et une molécule invitée<sup>89</sup>**

<sup>79</sup>. F. Fava, D. Di-Gioia, L. Marchett. *Biotechnol. Bioeng.* **1998**, 58(4), 345 – 355.

<sup>80</sup>. B-J. Reid, J-D. Stokes, K-C. Jones, K-T.Semple. *Sci. Technol.* **2000**, 34(15), 3174-3179.

<sup>81</sup>. M. Erdős, R. Hartkamp, T-J. H. Vlugt, O-A. Moulτος. *J. Phys. Chem. B.* **2020**, 124(7), 1218 – 1228.

<sup>82</sup>. H. Pringsheim. In a Comprehensive Survey of Starch Chemistry. R-P. Walton (Ed). *Chemical Catalog Co. Inc.* New York. 1928, **13**. 35.

<sup>83</sup>. H. Pringsheim. The Chemistry of the Monosaccharides and of the Polysaccharides, *McGraw-Hill and Co.* New York. **1932**, 99 – 120.

<sup>84</sup>. K. Freudenberg, F.Cramer, H. Plieninger. *Ger. Patent.* **1953**, 895 – 769.

<sup>85</sup>. D. French. *Adv. Carbohydr. Chem.* **1975**, 12, 189 – 205

<sup>86</sup>. G. Crini, S. Fourmentin, É.Fenyvesi, G.Torri,M. Fourmentin, N-M.Crini. *Environ. Chem. Lett.* **2018**, 16(4), 1361-1375.

<sup>87</sup>. L. Liu, Q.X. Guo. *J. Inclusion Phenom.***2002**, 42(1), 1 – 14.

<sup>88</sup>. K-A. Connors. *Chem Rev.* **1997**, 97(5), 1325 – 1358.

<sup>89</sup>. H-M.C. Marques. *Flav. Frag. J.* **2010**, 25(5), 313 – 326.

En solution, la cavité de CD est occupée par des molécules d'eau. Cela crée un état énergétique défavorable du fait des interactions polaire-apolaire<sup>90</sup>. Les molécules d'eau sont donc facilement remplacées par des molécules moins polaires. La formation d'un complexe d'inclusion (CD : invité) peut être décrite en cinq étapes<sup>54</sup>:

**Etape 1 :** Les molécules d'eau sont libérées de la cavité de la CD suite au rapprochement de l'invité de la CD. En conséquence, le degré de liberté des molécules d'eau expulsée augmente du fait de la diminution des interactions et du nombre de liaisons hydrogène avec la cavité;

**Etape 2 :** L'invité hydrophobe se débarrasse de la couche d'hydratation qui l'enveloppe;

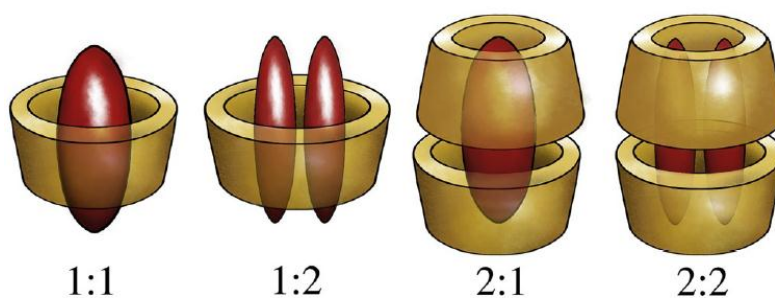
**Etape 3 :** L'invité pénètre et occupe la cavité de CD formant ainsi un complexe d'inclusion stabilisé par des interactions de Van der Waals, interactions hydrophobes et/ou par des liaisons hydrogène;

**Etape 4 :** Les molécules d'eau libres se réarrangent et forment des liaisons hydrogène entre elles;

**Etape 5 :** La structure de l'eau est restaurée autour de l'invité non complexé.

La principale force gouvernant la formation de ces complexes est la stabilisation énergétique du système par le remplacement, dans la cavité, des molécules d'eau à haute enthalpie par des molécules hydrophobes qui créent des associations de type « apolaires-apolaires<sup>91</sup>».

Autrement dit, l'exclusion des molécules d'eau suite à l'inclusion du composé « invité » dans la cavité de la CD peut être considérée comme une des étapes clés de la complexation<sup>92</sup>. L'exemple le plus simple et le plus fréquent est l'obtention d'un complexe (hôte : invité) de stœchiométrie 1/1<sup>93</sup>. Des complexes de structure et stœchiométrie plus compliqués 2/1, 1/2 et 2/2 peuvent également être obtenus<sup>94</sup> (Figure.III.10).



**Figure.III.10. Représentation (3D) des différentes stœchiométries des complexes d'inclusion<sup>27</sup>**

<sup>90</sup>. Q-D. Hu, G-P. Tang, P-K. Chu. *Acc. Chem. Res.* **2014**, 47(7), 2017 – 2025.

<sup>91</sup>. L. Lui, E.S. Song k, S. Lix, X. Guoq. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2001**, 40, 35 – 45.

<sup>92</sup>. L. Lui, Q-X. Guo. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2002**, 42(1), 1 – 8.

<sup>93</sup>. M-P. Merlin. *Energétique des interactions moléculaires eau/cyclodextrines ( $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ ). Thèse de doctorat Université Claude Bernard-Lyon 1, Institut National des Sciences Appliquées (INSA) de Villeurbanne, Lyon -France. 1998, 250 – 255.*

<sup>94</sup>. D. Landy, F. Tetart, E. Truant, P. Blach, S. Fourmentin, G. Surpateanu. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2007**, 57(1-4), 409 – 413



La formation d'un complexe d'inclusion entre une CD et une molécule invitée confère à ce complexe des propriétés physico-chimiques et biologiques différentes de celles de la CD et de la molécule incluse prise séparément. Parmi ces modifications, on peut citer:

- ✓ L'amélioration de la dissolution et de la solubilité du soluté et l'augmentation de sa biodisponibilité (dans le cas des principes actifs)<sup>43</sup>;
- ✓ La modification de ses propriétés spectrales<sup>27</sup> (déplacements chimiques en RMN, longueur d'onde du maximum d'absorption en UV, intensité de la fluorescence,... etc.);
- ✓ La modification de sa réactivité<sup>95</sup>. Le soluté bénéficie ainsi d'une protection contre la dégradation thermique ou photochimique, l'oxydation, l'hydrolyse et voit sa stabilité accrue<sup>41</sup>;
- ✓ La diminution de sa diffusion, de sa volatilité et de sa sublimation<sup>96</sup>.

### III.5.1. Méthodes et techniques de préparation du complexe d'inclusion (CD : invité)

Il existe diverses techniques de préparation des complexes d'inclusion. La méthode de préparation doit être choisie selon les applications envisagées car elle influence sur les caractéristiques physico-chimiques et la dissolution du complexe<sup>24</sup>. La préparation peut s'effectuer en milieu liquide ou solide en allant de simples méthodes de laboratoire jusqu'à l'échelle industrielle<sup>97</sup>.

Généralement la CD est dissoute en présence de l'invité puis laisser un équilibre s'établir. Le complexe sera par la suite récupéré sous forme solide. Les méthodes souvent utilisées sont les suivantes<sup>98,86</sup>:

- ✱ L'inclusion par co-précipitation<sup>99</sup>;
- ✱ L'inclusion par co-mélange<sup>100</sup>;
- ✱ L'inclusion par co-évaporation<sup>101</sup>;
- ✱ L'inclusion par atomisation/ pulvérisation (*spray drying*)<sup>102</sup>;
- ✱ L'inclusion par lyophilisation (*freeze drying*)<sup>103,104</sup>.

<sup>95</sup>. S. Weisse, Complexes cyclodextrines / ester de vitamine A : stabilisation, solubilisation et promotion de l'absorption cutanée. *Thèse de Doctorat Université Paris XI, Faculté de Pharmacie de Chatenay-Malabry*. **2002**.

<sup>96</sup>. M. Kfoury, D. Landy, S. Fourmentin. *Molecules*. **2018**, 23(5), 1204–1263.

<sup>97</sup>. C-Cavallari, B. Abertini, M-L. G. Rodriguez, L. Rodriguez. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2002**, 54,(1), 65 – 73.

<sup>98</sup>. A-R. Hedges. *Chem. Rev.* **1998**, 98(5), 2035 – 2044.

<sup>99</sup>. T. Loftsson, D. Hreinsdottir, M. Masson. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2007**, 57, 545 – 552.

<sup>100</sup>. A-G. Guimaraes, M-A. Oliveira, R-D.S. Alves, P-D.P. Menezes, M-R. Serafini, A-A. De Souza Araújo, D-P. Bezerra, L-J. Quintans. *Chem-Biol. Interact.* **2015**, 227, 69 – 76.

<sup>101</sup>. G. Yurtdas, M. Demirel, L. Genc. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2011**, 70, 429 – 435.

<sup>102</sup>. C-L. D.Toro-Sanchez, J-F.A. Zavala, L. Machi, H. Santacruz, M-A. Villegas-Ochoa, E. Alvarez-Parrilla, G-A. G. Aguilar. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2010**, 67, 431 – 441.

<sup>103</sup>. L-E.C. Hill, T-M. Gomes. *Taylor. LWT-Food Sci. Technol.* **2013**, 51(1), 86 – 93.

<sup>104</sup>. C. Yuan, Z. Lu, Z. Jin. *Food Chem.* **2014**, 152, 140 – 155.

### III.5.2. Etude des complexes d'inclusion

Il existe plusieurs techniques permettant d'étudier ces complexes d'inclusion. Elles permettent, d'une part de mettre en évidence leurs formations, et d'autre part, de déterminer leurs stœchiométries et leurs stabilités. Ces différentes techniques reposent sur les modifications des propriétés physicochimiques ou optiques de la molécule complexée liée à la modification de sa solubilité ou de son microenvironnement.

Les techniques couramment utilisées sont : la méthode de solubilisation<sup>105</sup>, la spectroscopie d'absorbance (UV et visible)<sup>106</sup>, la spectroscopie d'émission moléculaire (fluorescence)<sup>107,108</sup>, la Résonance Magnétique Nucléaire, RMN<sup>61,109</sup>, la titration microcalorimétrique<sup>110</sup>, l'électrophorèse capillaire, le suivi de la tension superficielle et d'autres méthodes électrochimiques. Les techniques spectroscopiques consistent à suivre l'intensité d'absorbance ou de fluorescence de la molécule complexée. Le passage d'une molécule de la phase aqueuse vers la cavité de la cyclodextrine modifie la polarité de son microenvironnement. Ceci provoque une augmentation de son intensité d'absorption ou d'émission<sup>111</sup>.

Ces techniques sont aussi utilisées pour améliorer la solubilité et éviter la dégradation des composés instables.

### III.6. Diagrammes de phase de solubilité

Cette approche, telle que développée par Higuchi et Connors<sup>112,113</sup>, est très couramment utilisée pour l'évaluation de l'utilisation potentielle des CDs afin d'augmenter la solubilité de composés hydrophobes en milieu aqueux. Elle permet en effet d'obtenir le profil de la courbe de solubilité de la molécule invitée en fonction de la concentration en cyclodextrine et donc de prouver l'augmentation de la solubilité en présence de la cyclodextrine.

Le principe de cette méthode consiste à ajouter le composé invité en quantité excédentaire à des solutions de cyclodextrine de concentrations croissantes, puis à doser la quantité du composé invité dissous. Un diagramme de solubilité de l'invité en fonction des concentrations de cyclodextrine peut ainsi être établi. Les différents types de diagrammes caractérisant les interactions substrat-ligand,

<sup>105</sup> X. Wang, M-L. Brusseau. *Environ. Sci. Technol.* **1995**, 29 (9), 2346 – 2351.

<sup>106</sup> X. Wang, M-L. Brusseau. *Environ. Sci. Technol.* **1993**, 27, 2821 – 2825.

<sup>107</sup> M. Suzuki, Y. Sasaki. *Chem. Pharm. Bull.* **1979**, 27(3), 609 – 619.

<sup>108</sup> S. Zidane, A. Maiza, H. Bouleghlem, B. Fenet, Y. Chevalier. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2019**, 93, 253 – 264.

<sup>109</sup> J. Chyba, M. Novák, P. Munzarová, J. Novotný, R. Marek. *Inorg. Chem.* **2018**, 57(15), 8735 – 8747.

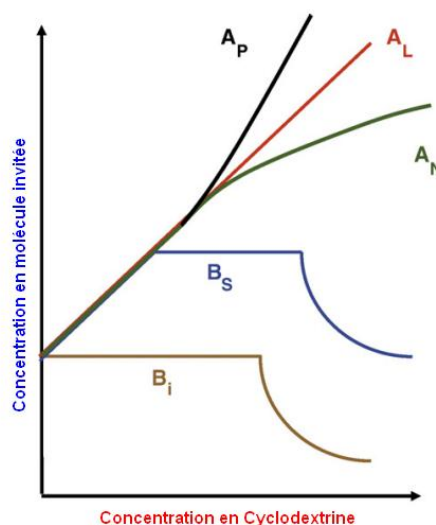
<sup>110</sup> M-L.E. McBain, E. Hutchinson. *Solubilization and related phenomena. Academic press : New York.* **1955**.

<sup>111</sup> B-A. Demian. *Carbohydr. Res.* **2000**, 328(4), 635 – 639.

<sup>112</sup> T. Higuchi, K-A. Connors. In: C-N. Reilly (Ed). *Adv Anal. Chem Instrum. Wiley-Interscience, New York.* **1965**, 4, 117 – 212.

<sup>113</sup> K-A. Connors. Measurement of cyclodextrin complex stability constants. In: J. Szejtli, T. Osa (Eds.). *Comprehensive Supramolecular Chemistry. Elsevier, Oxford, UK,* **1996**, 3, 205 – 241.

auxquelles peuvent être assimilées les interactions cyclodextrine-molécule invitée ont été classé (Figure.III.11).



**Figure.III.11.Représentations graphiques des profils de la phase de solubilité d'après Higuchi et Connors<sup>113</sup>**

Deux types de diagrammes sont généralement observés: types A et B selon Higuchi et Connors: Dans le **diagramme de type A**, la solubilité de l'invité augmente avec la concentration en cyclodextrine. Il y a formation d'un ou plusieurs complexes solubles, en distingue trois profils:

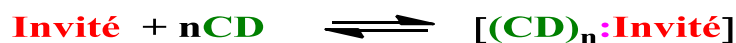
- ⊕ Le **profil A<sub>L</sub>** (linéaires) est généralement attribué à la formation des complexes 1/1.
- ⊕ Un **profil A<sub>P</sub>** traduit la formation simultanée de complexes de stœchiométries différentes (1/1 à l'origine, puis 1:2 ou 1:3, ...).
- ⊕ Un **profil A<sub>N</sub>** peut être difficile à interpréter. La chute de solubilité par rapport au profil linéaire peut être liée à des modifications de la solubilité du complexe, de la constante diélectrique du milieu ou à l'association de molécules de CD entre elles.

Le **diagramme de type B** indique la formation d'un complexe à solubilité limitée dans le milieu, on distingue deux profils:

- ⊕ Le **profil B<sub>S</sub>** suit au départ le profil A<sub>L</sub> puis à partir d'un point particulier, tout l'ajout de cyclodextrine entraîne une précipitation du complexe avec l'apparition d'un plateau (au fur et à mesure que le complexe précipite, le principe actif non encore dissous se solubilise sous forme libre) ; la courbe décroît ensuite (*l'excès du principe actif est dissous et cette fraction libre dissoute est progressivement complexée et précipitée*);
- ⊕ Le **profil B<sub>I</sub>** peut être interprété de la même manière mais dans ce cas, le complexe est tellement insoluble que l'augmentation initiale de solubilité ne peut être détectée.

### III.6.1.Méthodes de calculs de la constante de complexation

L'équilibre thermodynamique de tel processus est caractérisé à une température donnée par une constante d'équilibre<sup>114,115</sup>.



La constante de complexation K peut être exprimée par la relation suivante, selon sa stœchiométrie:

$$K = \frac{[(\text{CD})_n:\text{Invité}]}{[\text{Invité}].[\text{CD}]^n} \dots\dots\dots(1)$$

Où

**Invité**: Concentration aqueuse du l'invité libre;

**CD**: Concentration aqueuse en cyclodextrine;

**n**: (nombres des moles) : le coefficient stœchiométrique (n =1,2,3....);

**((CD)<sub>n</sub> : Invité)**: Concentration aqueuse du complexe (CD: Invité).

Les complexes ((CD)<sub>n</sub> : Invité) formés sont généralement du type 1/1<sup>27</sup>, c'est-à-dire qu'une CD complexe une molécule de soluté. Dans les mêmes conditions les valeurs de la constante d'équilibre nous permettent de comparer les stabilités de différents complexes. Nous présentons ci dessous l'essentiel des méthodes les plus usuelles pour la détermination de la constante de stabilité des complexes d'inclusion.

#### III.6.1.1.Méthode de Benesi-Hildebrand

Dans la littérature, la constante de stabilité du complexe d'inclusion a été déterminée par différentes méthodes, nous allons présenter les méthodes les plus utilisées telles que: la mesure de la solubilité, la spectroscopie d'absorption, la fluorimétrie, l'électrophorèse capillaire et la résonance magnétique nucléaire...etc. La plupart des déterminations de constante de stabilité sont des méthodes graphiques permettant d'avoir une relation linéaire entre A<sub>Invité</sub> et K.

Différentes représentations graphiques existent, provenant de la même équation initiale qui a été proposée pour la première fois par **Benesi et Hildebrand**<sup>116</sup>. Cette méthode exprime le rapport de concentration de l'invité et l'absorbance maximale en fonction de l'inverse de la concentration de la CD selon l'équation ci- dessous.

$$\frac{[\text{Invité}]}{A} = \frac{1}{K \cdot \epsilon} \cdot \frac{1}{[\text{CD}]} + \frac{1}{\epsilon} [\text{CD}] \gg [\text{Invité}] = C^{\text{te}} \dots\dots\dots(2)$$

Où

<sup>114</sup>. M. Suzuki, Y. Sasaki. *Chem. Pharm. Bull.* **1979**, 27(3), 609 – 619.

<sup>115</sup>. X. Wang, M-L. Brusseau. *Environ. Sci. Technol.* **1993**, 27(13), 2821 – 2825.

<sup>116</sup>. J-A. Hildebrand . H-A. Benesi. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, 71(8), 2703 – 2710.

**[Invité]**: La concentration de l'invité;

**[CD]**: La concentration de la cyclodextrine;

**A<sub>Invité</sub>**: L'absorbance maximale;

**ε** : Les coefficients d'extinction molaire (L.mole<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>);

**K**: La constante de stabilité du complexe.

### III.6.1.2.Méthode de Scott<sup>117</sup>

Cette méthode exprime le rapport du produit de la concentration de l'invité et celle de la cyclodextrine et la variation d'absorbance en fonction de la concentration de cyclodextrine selon l'équation suivante.

$$\frac{[\text{Invité}].[CD]}{\Delta A} = \frac{1}{K \cdot \epsilon} + \frac{[CD]}{\epsilon} \dots\dots\dots (3)$$

Où

**ΔA** = (**A<sub>complexe</sub>** - **A<sub>Invité</sub>**): Le changement de l'absorbance de la molécule invitée causé par l'addition de la CD.

**A<sub>complexe</sub>** : L'absorbance de l'invité en présence de la CD.

**A<sub>Invité</sub>**: L'absorbance de l'invité libre.

**K** : La constante de stabilité du complexe.

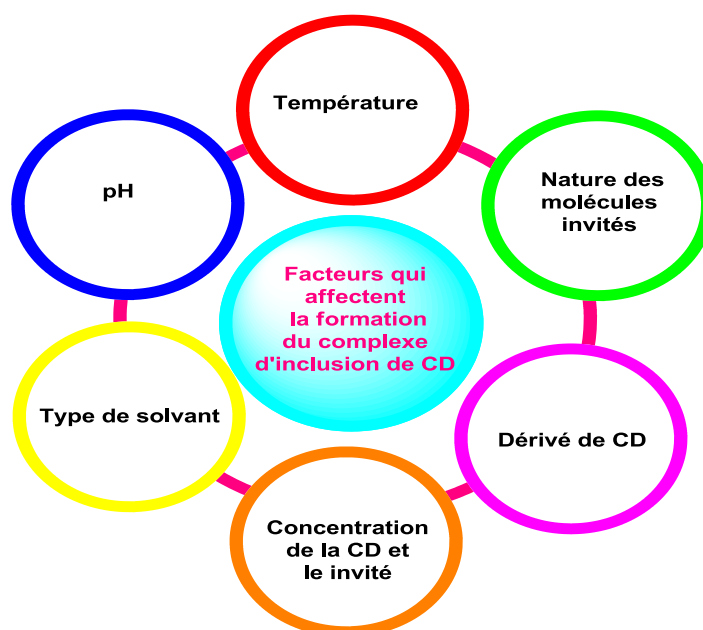
## III.7.Propriétés complexantes des CDs et applications

### III.7.1. Facteurs influençant la complexation des molécules organiques par les CD

**J.Szejtli**<sup>118,42,44</sup> a résumé dans la **Figure.III.12**, les données de la littérature sur les facteurs influençant la formation des complexes d'inclusion.

<sup>117</sup>. R-L. Scott. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*. **1956**, 75(8), 787 – 789.

<sup>118</sup>. J. Szejtli. *Cyclodextrin Technology. Springer Science & Business Media*. Chap VIII, **1988**, I, 104 – 154.



**Figure.III.12.Représentation des différents facteurs qui affectent la formation du complexe d'inclusion de CD**

#### III.7.1.1.Facteurs liés à la nature des molécules organiques (Hydrophobicité et hydrosolubilité)

Grâce à l'environnement relativement apolaire de la cavité, les CD sont capables d'accueillir des molécules hydrophobes. Ces molécules ont plus d'affinité pour la cavité de la CD que pour la phase aqueuse<sup>119</sup>. En effet si les composés organiques hydrophobes sont plus petits que la cavité, il existe une bonne corrélation (linéaire) entre les constantes de complexation et le coefficient de partage octanol/eau qui est un bon indicateur de l'hydrophobicité<sup>60</sup>. En résumé, plus la molécule est hydrophobe, plus le complexe formé est stable.

#### III.7.1.2.Etat d'ionisation de la molécule

Selon le pH, les acides faibles ou les bases faibles existent sous plusieurs formes ioniques en solution. Ces différentes formes du soluté ne présentent pas les mêmes caractéristiques physico-chimiques (solubilité, hydrophobicité)<sup>120</sup>. Par conséquent, l'affinité de la CD ne sera pas la même pour chacune des formes. La complexation des CD avec les molécules ionisables devra nécessairement prendre en compte l'influence du pH<sup>55, 56</sup>.

#### III.7.1.3.Taille et forme de la molécule

Un des paramètres importants pour la complexation des molécules est leurs tailles par rapport à celle de la cavité de la cyclodextrine<sup>60</sup>. Les tailles relatives de la cavité de la cyclodextrine et du

<sup>119</sup>. S .Tanada, T.Nakamura, N. Kawasaki, Y.Torii, S. Kitayama. *J. Colloid Interface Sci.* **1999**, 217, 417 – 419.

<sup>120</sup>. J. Cao, C. Zhao, L. Huang, Y. Ding, L.Wang, S. HAN. *Chemosphere.* **2000**, 40(12), 1411 – 1416.

substrat conditionnent aussi souvent la stœchiométrie du complexe. Plus la taille de la molécule invitée est ajustée par rapport à celle de la cavité, plus le complexe formé sera stable (plus de contact avec la cavité de CD, plus d'interactions de Van der Waal's)<sup>60</sup>. Toutefois, la complexation peut aussi dépendre d'autres facteurs comme la surface moléculaire du composé ou son orientation dans la cavité.

#### III.7.1.4. Influence du contexte chimique

##### III.7.1.4.1. pH

Le pH des solutions influence évidemment la nature (neutre ou ionisée) des molécules ionisables (selon leur constante d'acidité pKa). Comme il a déjà été expliqué dans le paragraphe **III.7.1.2**, la complexation, par les CD, des différentes formes ioniques d'un soluté ne résultent pas du même type d'interactions<sup>55</sup>.

##### III.7.1.4.2. Force ionique

L'effet de la force ionique sur la solubilité aqueuse des molécules ainsi que sur leurs complexations par les CD est différente selon leurs natures (molécules ionisables ou non ionisables)<sup>121, 122</sup>.

##### III.7.1.5. Influence de la présence d'un solvant organique

Bien que les CDs puissent former des composés d'inclusion dans certains solvants organiques comme les alcools, le DMSO, ou le DMF, l'association est en général plus faible que celle observée pour le même composé en milieu aqueux<sup>123,124</sup>.

Comme il a déjà été indiqué, l'addition d'un solvant organique peut permettre de déplacer les équilibres CD/soluté et de modifier la solubilité du complexant et du soluté.

##### III.7.1.6. Influence de la température

La température a un double effet sur le complexe formé : d'une part elle augmente généralement sa solubilité, mais en même temps elle modifie sa stabilité. La plupart des complexes commencent à se décomposer vers **50-60°C**, bien que certains soient stables à de plus hautes températures, particulièrement si la molécule est fortement hydrophobe. L'effet de la température dépend alors de la nature du substrat et aussi de celle de la CD<sup>125</sup>.

<sup>121</sup>. C-J Daughney, J-B. Fein. *Geochim. Cosmochim. Acta*. **1997**, 61, 719 – 729.

<sup>122</sup>. J-M. Wang, E-M. Marlowe, R-M. Maier, M-L. Brusseau. *Environ. Sci. Technol.***1998**, 32(13), 1907 – 1915.

<sup>123</sup>. H. Khalil. Etude de faisabilité de l'utilisation de molécules cage dans la dépollution des sols: Solubilisation et extraction de polluants organiques par les cyclodextrines. *Thèse de doctorat, Ecole doctorale de Lyon I*. **2004**.

<sup>124</sup>. S-A. Mogal, P-N. Gurjar, D-S. Yamgar, A-C. Kamod. *Der Pharmacia Lettre*. **2012**, 4 (5), 1574 – 1586.

<sup>125</sup>. E. Simer, C. Kurvits. *Thermochimica Acta*, **1998**, 140, 161 – 168.

### III.8. Application des CDs

Dans les années 1940, cinquante ans après la découverte des CDs seule une cinquantaine de publications était recensée. Aujourd'hui, l'utilisation et l'étude des CDs sont observées puisque plus de treize mille travaux sur les CD ont été publiés. Toutes ces applications découlent des propriétés complexantes des CDs en milieu aqueux et touchent en générale la stabilité, la solubilité, la biodisponibilité et la toxicité des molécules ciblées. Les CDs, fournissent aussi à la recherche fondamentale un modèle d'étude des réactions enzymatiques, catalytiques ou de complexation. Nous citons à titre d'exemples quelques divers domaines d'applications.

#### Applications pharmaceutiques:

- ✓ Les CDs agissent en tant que système de transport des médicaments<sup>126</sup>;
- ✓ Elles ont un rôle essentiel à jouer dans la formulation des anticancéreux<sup>127</sup>;
- ✓ Elles peuvent encore éliminer une odeur ou un goût désagréable, en cas de la voie orale<sup>128</sup>.

*«Néanmoins leurs coûts de production prohibitifs rendent le développement d'applications pratiques et leur utilisation dans le secteur pharmaceutique limité<sup>129</sup>».*

#### Applications agrochimiques:

- ✓ Les CDs sont utilisés pour diminuer la volatilité des parfums et les relarguer instantanément;
- ✓ Les principaux avantages des CDs dans ce secteur sont la stabilisation, le relargage, la protection et la livraison des arômes<sup>130</sup>.

#### Applications agroalimentaires<sup>131</sup>:

- ✓ Les CDs forment des complexes d'inclusion avec une variété de molécules comprenant des arômes, des graisses et des colorants<sup>132</sup>;
- ✓ Elles sont utilisées pour masquer des composants indésirables, ou relarguer des constituants désirés tels que les arômes<sup>133</sup>.

#### Applications environnementales

- ✓ Les CDs sont utilisés pour la solubilisation de contaminants organiques;

<sup>126</sup>. K. Uekama, F. Hirayama, T. Irie. *Chem. Rev.* **1998**, 98(5), 2045 – 2076.

<sup>127</sup>. I-M. Mavridis, K. Yannakopoulou. *J. Med. Chem.* **2020**, 63(7), 3391 – 3424.

<sup>128</sup>. J-G. Zhang, Z-H. Zhou, L. Li, Y-L. Luo, F. Xu, Y. Chen. *Mol. Pharm.* **2020**, 17(4), 1100 – 1113.

<sup>129</sup>. J. Szejtli. *Chem. Rev.* **1998**, 98(5), 1743 – 1753.

<sup>130</sup>. H-J. Bushmann, E. Schollmeyer. *J. Cosmet Sci.* **2002**, 53(3), 185 – 191.

<sup>131</sup>. B. Tian, D. Xiao, T. Hei, R. Ping, S. Hua, J. Liu. *Polym. J.* **2020**, 69(7), 597 – 603.

<sup>132</sup>. G. Astray, J-C. Mejuto, J-S. Gandara. *Food Hydrocolloids*. **2020**, 106, 105882 – 105892.

<sup>133</sup>. N. Prasad, D. Strauss. G. Reichardt. *European Patent* **1999**, 84, 625 – 630.



- ✓ Elles sont utilisées dans le traitement de l'eau afin d'éliminer les agents contaminants<sup>29</sup>;
- ✓ Elles sont également présentes dans la formulation de certains pesticides<sup>134</sup>.

#### Applications dans le domaine d'analyse:

- ✓ En synthèse organique asymétrique<sup>135</sup> ou encore en tant que séparateurs énantiomériques en électrophorèse capillaire, en chromatographie en phase gazeuse ou en chromatographie liquide à haute performance<sup>136, 137</sup>;
- ✓ Elles sont encore utilisées en tant que ligands chimiquement collés ou absorbés dans la phase stationnaire ou dans la phase mobile<sup>138</sup>;
- ✓ Actuellement, les séparations chirales sont un des domaines les plus importants de l'application des CDs et leurs dérivés<sup>64</sup>.

#### Applications dans le domaine textile

- ✓ Le finissage du textile est un secteur où les CDs attirent l'attention;
- ✓ Elles peuvent être directement greffées sur les textiles dans le but d'éliminer ou masquer des odeurs gênantes<sup>66</sup>;
- ✓ Elles permettent de renforcer la prise des colorants par le tissu afin de réduire la quantité de colorant perdue au lavage<sup>63</sup>.

### III.9. Avantages de la complexation

L'inclusion d'une molécule invitée dans une molécule de CD constitue donc une encapsulation moléculaire susceptible de modifier les propriétés physico-chimiques, voire biologiques, du substrat.

Les avantages qui en découlent sont multiples: l'invité peut bénéficier d'une protection contre la dégradation thermique ou photochimique, l'oxydation, l'hydrolyse ou la sublimation, d'une amélioration de la biodisponibilité des principes actifs et de leurs relargages<sup>130</sup>. La micro-encapsulation peut, en outre, diminuer la volatilité des produits en augmentant le point d'ébullition<sup>139</sup> et augmenter la solubilité de nombreuses substances naturellement insolubles dans l'eau<sup>140</sup>.

### III.10. Conclusion

<sup>134</sup>. Y. Shuang, T. Zhang, L. Li. *J. Chromatogr. A*. **2020**, 1614, 460702 – 460710.

<sup>135</sup>. R. Vespalec, P. Bocek. *Electrophoresis*. **1999**, 20(13), 2579 – 2591.

<sup>136</sup>. D. Duchene. *Int. J. Pharm.* **2007**, 329(1-2), 1 – 11.

<sup>137</sup>. S-H. Hun. *Biomed. Chromatogr.* **1997**, 11(5), 259 – 271.

<sup>138</sup>. E. Schneidermann, A-M. Stalcup. *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.* **2000**, 745(1), 83 – 102.

<sup>139</sup>. A. Celebioglu, F. Topuz, T. Uyar. *ACS. Appl. Polym. Mater.* **2019**, 1(1), 54 – 62.

<sup>140</sup>. L. Zerroune, S. Lesieur, J-L. Putaux, L. Choissard, A. Gèze, D. Wouessidjewe, B. Angelov, C-V. Nardin, J. Douth, A. Angelova. *Soft Matter*. **2016**, 12(36), 7539 – 7550.

La structure particulière des CDs a suscité l'intérêt et la curiosité de nombreux chimistes depuis sa découverte. En effet, nous avons pu passer en revue dans ce chapitre des généralités sur la chimie des CDs, le potentiel d'utilisation des CDs.

L'affinité remarquable des CDs pouvait accueillir de nombreuses molécules à l'intérieur de leurs cavités et est donc appelée pour cela molécules-cages ou hôtes. Les CDs sont utilisées en chimie en tant que agent complexant, dès lors, les propriétés d'inclusion et de solubilisation des CDs ont été mises à profit et ont été largement utilisées dans de nombreux domaines.

De plus, elles offrent de nombreuses possibilités de modifications de leurs structures, ce qui permet, d'une part d'améliorer la solubilisation des molécules actives, et d'une autre part d'élargir leurs champs d'application vers de nouveaux domaines.

# *Partie.2*

---

## *Chapitre. I*

---

*Synthèse, réactivité et Etude  
structurale de dérivés de la  $\beta$ -D-  
glucosamine  
&  
Résultats et Discussion*

---

## I.1.Introduction

Dans les chapitres précédents, nous nous sommes fixés comme objectif la préparation des dérivés de la *D*-glucosamine pour les utiliser comme précurseurs dans la synthèse bicyclique phosphorylés chiraux. En effet, la présence de cinq hydroxyles et d'un groupement amine primaire sur la *D*- glucosamine, rend la réaction sur un site isolé considérablement difficile. Sans précaution particulière, il serait impossible de faire une chimie sélective sur la *D*-glucosamine. Il sera donc nécessaire de passer par des étapes de protection/déprotection des différentes fonctions pour chaque stratégie de synthèse envisagée.

Les méthodes de protection et/ou déprotection des groupements alcools et du groupement amine de ce composé ont été décrites dans la littérature<sup>1,2</sup>. La protection totale du chlorhydrate de la  $\beta$ -*D*-glucosamine (**1**) est suivie d'une déprotection sélective sur la fonction amine pour accéder au composé (**4**) déprotégé sélectivement, qui est utilisé comme précurseur pour la synthèse de composés potentiellement actifs. La réactivité et l'action des réactions sur le groupement amine pour conduire à la formation des carbamates et/ou l'imine à partir du composé (**4**) déprotégé sera donc étudié, afin d'obtenir des précurseurs très intéressants pour la synthèse des bicyclique phosphorylés chiraux.

## I.2.Objectifs et stratégie de synthèse

L'objectif principal de ce chapitre est la protection de la fonction amine, puis la protection totale des groupements hydroxy de la  $\beta$ -*D*-glucosamine par l'utilisation des différentes méthodes de protection dont le but est la modification des propriétés physico-chimique, biologique et pharmacologique du produit de départ. Ensuite, la déprotection de la fonction amine est réalisée.

Enfin, nous nous sommes intéressés au développement d'une stratégie de synthèse d'accès à une nouvelle série de *D*-glucosamines protégées contenant le motif phosphoryle ( $P^{+V}$ ) chirale protégé par différents groupements protecteurs au niveau de l'atome d'azote.

### I.2.1.Stratégie de synthèse

#### I.2.1.1. Bilan de la stratégie de synthèse des dérivés de la $\beta$ -*D*- glucosamine

Le  $\beta$ -*D*-glucosamine chlorhydrate (**1**) est un produit commercial qui peut être un bon précurseur pour accéder à des nouveaux composés potentiellement actifs, c'est pour cette raison que nous avons

---

<sup>1</sup> . P-G. M. Wuts, T-W. Greene. Greene's Protective Groups in Organic Synthesis. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey. 4<sup>th</sup> ed, 2006.

<sup>2</sup> . P-G. M. Wuts. Greene's Protective Groups in Organic Synthesis. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken-New York. 5<sup>th</sup> ed, 2014.

de travailler sur cet amino-sucre . Le **Schéma. I.1.** décrit la stratégie que nous avons mise au point pour synthétiser les dérivés de ce composé.

Notre stratégie est divisée en deux parties:

- ✓ Synthèse des dérivés de la  $\beta$ -D-glucosamine par des réactions de protection/déprotection;
- ✓ Etude de la réactivité du comportement de la position anomérique **C-1** de ces dérivés (*réaction de substitution nucléophile et déprotection de la position anomérique C-1*).

### **I.2.2. Synthèse de dérivés de la $\beta$ -D-glucosamine**

Sur le plan de la synthèse, nous avons pu accéder à partir des dérivés (**5a<sub>1</sub>**, **2a**, **9a<sub>1</sub>** et **8a<sub>1</sub>**) à base de la  $\beta$ -D-glucosamine protégée à une série de bicycliques phosphorylés chiraux protégés par différents groupements protecteurs **Alloc**, **Ac**, **HFB** et imine au niveau de l'atome d'azote de la  $\beta$ -D-glucosamine. Les bicyclo-oxazaphospholidinones (**5a<sub>2</sub>**, **2a<sub>1</sub>** et **9a<sub>2</sub>**) sont obtenus en cinq étapes à partir de le  $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate (**1**): carbamation/acétylation, déprotection régiosélective, carbamation, hydrolyse régiosélective de **C-1**, condensation par dichlorophényle phosphonate et cyclisation intramoléculaire.

En parallèle, nous avons obtenu le bicyclo-oxazaphosphinane (**8a<sub>2</sub>**) en cinq étapes aussi du composé (**1**): carbamation/acétylation, déprotection régiosélective, carbamation, hydrolyse régiosélective de C-1, condensation par dichlorophénylphosphine (**PhPCl<sub>2</sub>**) et cyclisation intramoléculaire, selon le schéma réactionnel général (**Schéma.I.1.**) illustré ci-dessous:

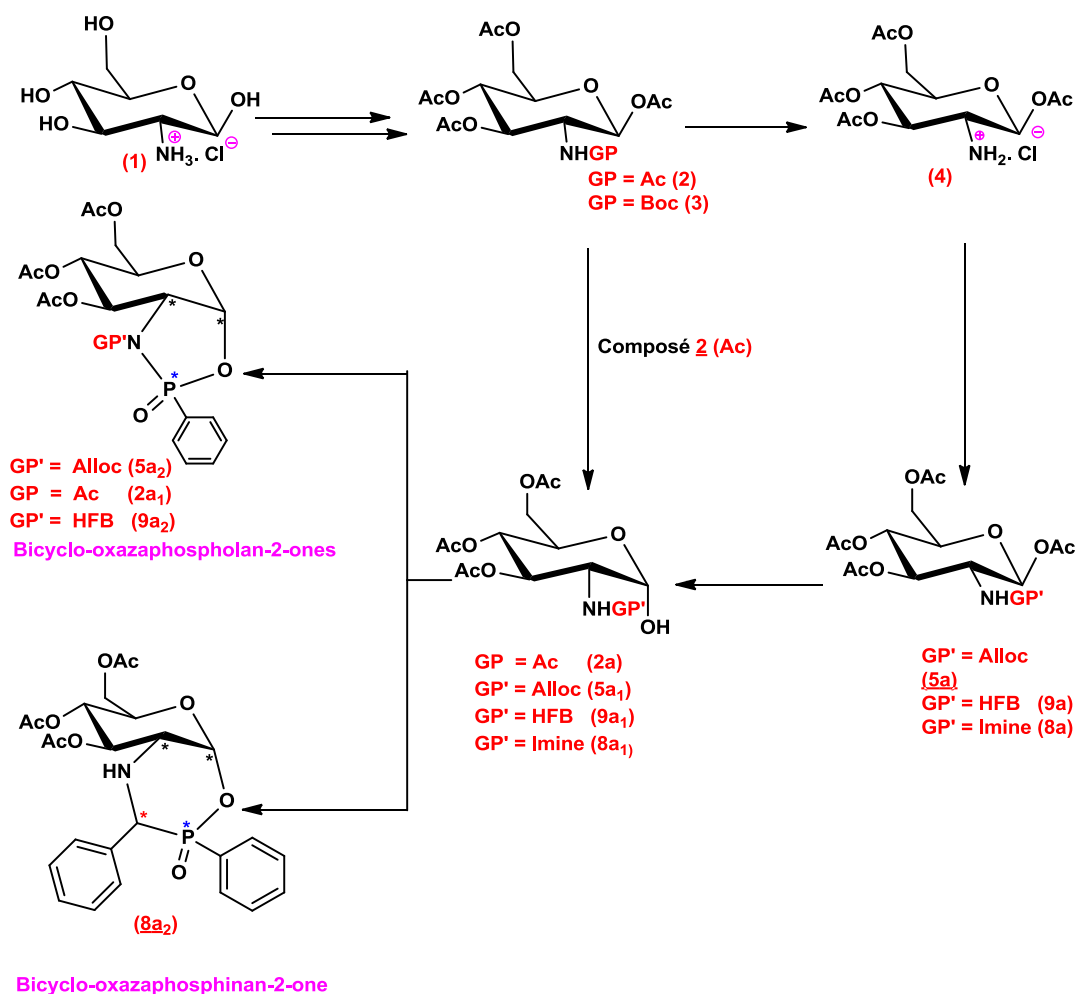


Schéma.I.1. Différentes étapes de synthèse des dérivés à base de la D-glucosamine

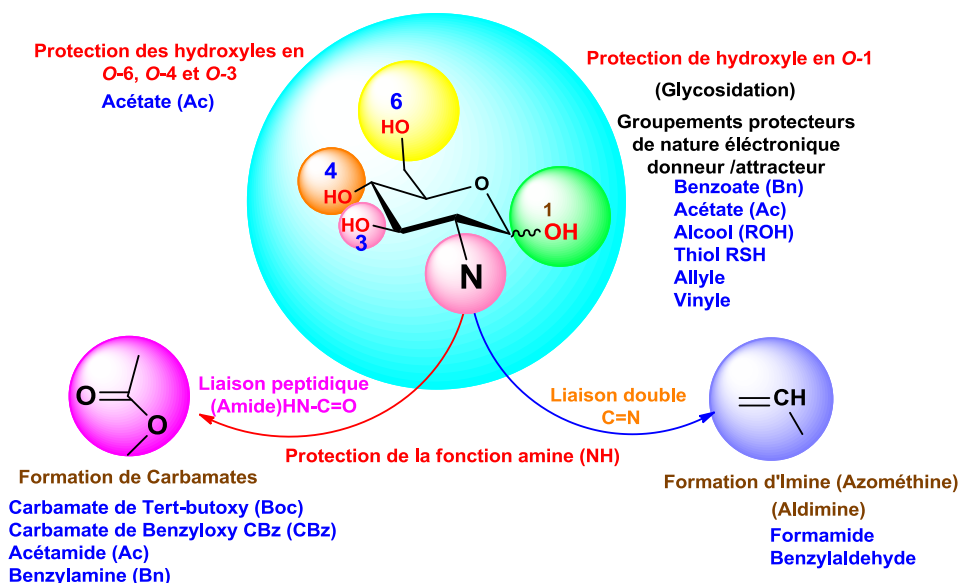
### I.2.3. Synthèses et modification des groupements fonctionnels des dérivés de la $\beta$ -D-glucosamine par des réactions de protection/déprotection.

La stratégie suivie consistera à la synthèse de dérivés à partir de  $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate (**1**) (l'anomère  $\beta$ ) et la série D), parce qu'il est le plus stable, moins utilisable à la synthèse organique. Cette stratégie repose essentiellement sur la manière de la protection totale, suivie d'une déprotection régiosélective de la fonction amine par différentes méthodes pour accéder à la 1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-amino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate (**4**).

#### I.2.3.1. Choix des groupements protecteurs : temporaires et permanents

Les groupements protecteurs (GPs) sont toujours un sujet de recherche d'actualité. Une des difficultés réside dans le choix des groupements protecteurs de la fonction amine et les quatre groupements hydroxyles dans les différentes positions (**H-1**, **H-3**, **H-4** et **H-6**) du composé (**1**). L'introduction d'un groupe protecteur a pour but d'améliorer la sélectivité des réactions suivantes,

parce que le choix des groupements protecteurs convenables est une étape importante lors de l'élaboration d'une stratégie de synthèse organique et plus particulièrement pour la  $\beta$ -D-glucosamine (Figure.I.1).



**Figure .I.1. Groupements protecteurs (PGs) convenables pour la protection des groupements hydroxyles et le groupement amine de D-glucosamine**

#### I.2.3.1.a. Réactivité relative des groupements OH

La synthèse à partir de la  $\beta$ -D-glucosamine nécessite certaines précautions afin d'obtenir une bonne sélectivité, car elle présente quatre groupements alcools et une fonction amine qui peuvent tous être: acylés, acétylés, benzoylés, mésylés, tosylés...etc. Par contre, les différents groupes alcools et le groupement amine ne vont pas réagir à la même vitesse. En général, la réactivité des groupements hydroxyles se fait dans cet ordre: **OH-1 (anomérique) > OH-6 > OH-3 (équatorial) > OH-4 (équatorial)**, d'une manière encore générale, les alcools *équatoriaux* (éq) sont plus réactifs que les alcools *axiaux* (a); mais la réactivité du groupement amine est très puissante que les quatre groupements alcools.

#### I.2.4. Protection de l'amine NH<sub>2</sub> des hydroxyles libres

Le but d'une protection est de préserver une fonction intacte. La fonction ainsi protégée n'est plus la fonction d'origine, elle ne réagit donc plus de la même façon vis-à-vis des différents réactifs. Il est alors possible de protéger une fonction réactive de façon de faire de nombreuses étapes d'aménagement fonctionnel sur d'autres parties de la molécule. Puis, lors d'une ultime étape de déprotection, on récupère la fonction protégée précédemment. Il apparaît alors que les étapes de protection et de déprotection sont des étapes qui doivent se faire avec des rendements élevés.

### I.2.4.1. Protection totale du $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate **1** par acétylation

Le recours à une protection temporaire lors de la formation de liaison *N*-acylation (**N-Ac**) est permanent pour la formation de liaison *O*-acylations (**O-Ac**) à partir de dérivés du  $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate (**1**) en présence de l'anhydride acétique en excès, pour conduire au dérivé (**3**). Nous avons donc repris l'étude de la réaction déjà réalisée au sein du laboratoire. Sur le  $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate **1**, l'acétylation est réalisée par trois voies différentes. La première est celle employée dans la littérature (**Ac<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>COONa**): acétylation classique, alors que la deuxième utilise un autre système qui est l'irradiation via microondes et la troisième voie utilise l'activation par les ultrasons. (Schéma.I.2).

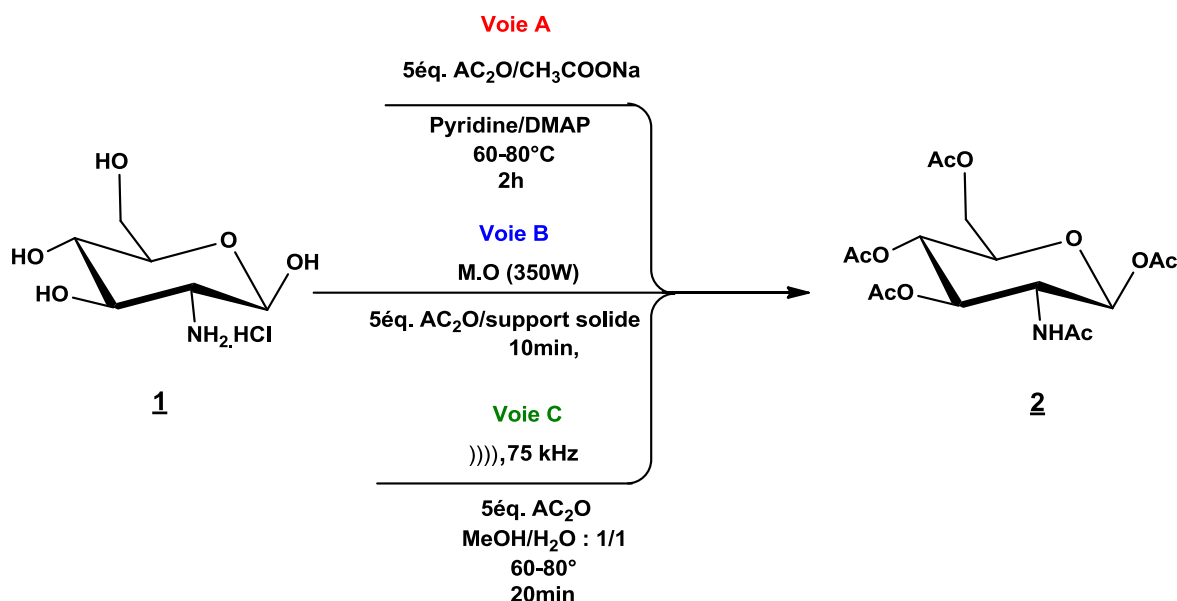


Schéma.I.2. Synthèse de 1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-acétamido- $\beta$ -D-glucosamine (**2**)

#### Voie A. Acétylation par la technique classique :

L'acétylation totale quantitative du composé (**1**) est effectuée au milieu basique, en utilisant de l'anhydride acétique et de la pyridine comme solvants, en présence d'un catalyseur **DMAP**. En effet, c'est une réaction exothermique. L'effet cinétique est alors prépondérant, donc le 1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-acétamido- $\beta$ -D-glucosamine (**2**) est majoritairement isolé après la cristallisation dans de l'éther/méthanol **9/1**. On obtient un liquide visqueux translucide qui cristallise sous forme de cristaux blancs après quelques heures à température ambiante.

#### Voie B. Acétylation par l'irradiation via microondes

Dans le cas de l'acétylation totale du composé (**1**), un mode opératoire a été mis au point, il nécessite un temps de réaction très limité (**10 min**), l'emploi de 5 éq d'anhydride acétique comme un réactif/solvant et de gel de silice (**SiO<sub>2</sub>**) comme un support solide et donneur d'électrons, le traitement



conciste en une simple filtration suivie d'une concentration sous pression réduite. Enfin, le produit obtenu est recristallisé dans un solvant adéquat.

### Voie C : Acétylation par l'activation par les ultrasons (*Nouvelle méthode*)

La recherche d'une stratégie de protection totale efficace nous a orienté vers l'exploitation d'une voie d'acétylation totale du composé (**1**) par l'activation via les ultrasons.

L'acétylation est effectuée dans un mélange anhydride acétique (**5éq.**) / MeOH/H<sub>2</sub>O : **1/1**, il est ensuite soumis aux ultrasons (**75kHz**) pendant **20 min** à température variant entre **60** et **80°C**. Cette technique est très propre et ne nécessite en outre aucun traitement complémentaire.

Afin de bien comparer entre les trois voies d'acétylation totale du composé (**1**), nous avons rassemblé tous les résultats obtenus dans le **Tableau.I.1.** ci-dessous pour mettre en évidence les différences observées entre les paramètres expérimentaux, les techniques de caractérisation et les rendements de la réaction.

**Tableau.I.1.Comparaison entre les trois voies d'acétylation du composé (**1**)**

Voies	Technique Classique	Microondes (MO)	Ultrasons (US)
<b>Rdt (%)</b>	<b>75</b>	<b>90</b>	<b>80</b>
<b>Temps (min)</b>	120	10	20
<b>T (°C)</b>	60-80	-	60-80
<b>néq.</b>	5	5	5
<b>Traitement</b>	Extraction, filtration et purification	Filtration	Sans traitement
<b>Recristallisation</b>	Ether/Méthanol 9/1	-	-
<b>Caractérisation</b>	Point de fusion, RMN <sup>1</sup> H et <sup>13</sup> C, IR, SM et Analyse élémentaire		

La première voie étant la moins appropriée, puisque nous obtenons les produits désirés en (2h) du temps, en plus ils sont impurs contrairement aux deux autres modes d'activation, microonde et ultrasons où le composé **2** est préparé dans des temps réduits (**10 min** et **20 min**), avec un très bon rendement (90% et 80%) respectivement et avec une grande pureté.

L'acétylation permet une protection totale due aux nombres d'équivalences de l'anhydride acétique. Le produit obtenu a été identifié par les méthodes spectroscopiques :

En RMN <sup>1</sup>H, la structure du composé **2** a été caractérisé par un singulet vers 1.92 ppm correspond aux trois protons du groupement *N*-Ac, et des singulets vers 2.02-2.17 ppm correspond aux douze protons du groupement *O*-Ac.

En RMN <sup>13</sup>C, l'apparition des cinq signaux (**4x**C=OAc et **N**C=O) caractéristiques du groupement introduit (**C=O** carbonyle sp<sup>2</sup>) vers 169.1-171.8 ppm et 168.7 ppm respectivement et cinq

signaux ( $4\alpha\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$ ,  $\text{NCH}_3\text{C}=\text{O}$ ) caractéristiques du groupement acétyle introduit ( $\text{CH}_3 \text{ sp}^3$ ) vers 20.6 - 21.0 ppm et 23.66ppm respectivement. On a observé aussi un déplacement chimique aux niveaux des carbones **C-1**, **C-2**, **C-3**, **C-4**, **C-5** et **C-6**.

En **IR**, la première remarque qui peut être faite concerne l'apparition de deux bandes : une bande vers  $1666 \text{ cm}^{-1}$  du groupement **N-H** ( $\text{NHC}=\text{O}_{\text{amide}}$ ) d'amine secondaire qui confirme la structure du produit protégé et une bande apparait vers  $1750\text{-}1735 \text{ cm}^{-1}$  du groupement d'ester **OAc** ( $\text{O-C}=\text{O}_{\text{Ac}}$ ), confirme la structure du produit protégé totalement et la deuxième remarque est l'observation du décalage d'autres bandes vers  $3257\text{cm}^{-1}$  (**N-H**) et vers  $1371\text{-}1229\text{cm}^{-1}$  (**C-C(O)-C**), ce qui confirme la structure du produit désiré.

#### **I.2.4.1.1.Conclusion**

D'après ces observations, on peut conclure que le groupement acétate (**Ac**) est facilement généré, il est possible d'activer l'acétylation du composé (**1**) en utilisant la technique classique (chaleur conventionnelle) à condition que la température ne dépasse pas **80°C** ou bien la technique d'irradiation par micro-ondes. Aussi, il est possible d'activer l'acétylation à l'aide des ultrasons. Toutes les voies qui utilisent l'anhydride acétique (**Ac<sub>2</sub>O**) comme solvant et réactif au même temps. Les rendements sont presque similaires pour les trois voies de synthèse.

#### **I.2.4.2.Protection du $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate (**1**) par la carbamoylation suivie par l'acétylation**

La carbamoylation conduit à la formation du groupement (**Boc**) dans lequel le doublet libre présent sur l'atome d'azote n'est pas disponible et est engagé dans la mésomérie avec la fonction carbamate. L'objectif de transformer le groupe amine en carbamate (**N-Boc**), ou groupe moins réactif qui est l'amide est la diminution de l'acidité du proton stéréogène de la fonction amine primaire activé. Pour l'introduction du groupement (**Boc**) au composé (**1**), nous avons appliqué deux voies de protections. Les deux voies de synthèse pour l'obtention de composé (**3**) sont représentées sur le **Schéma.I.3** ci-après.

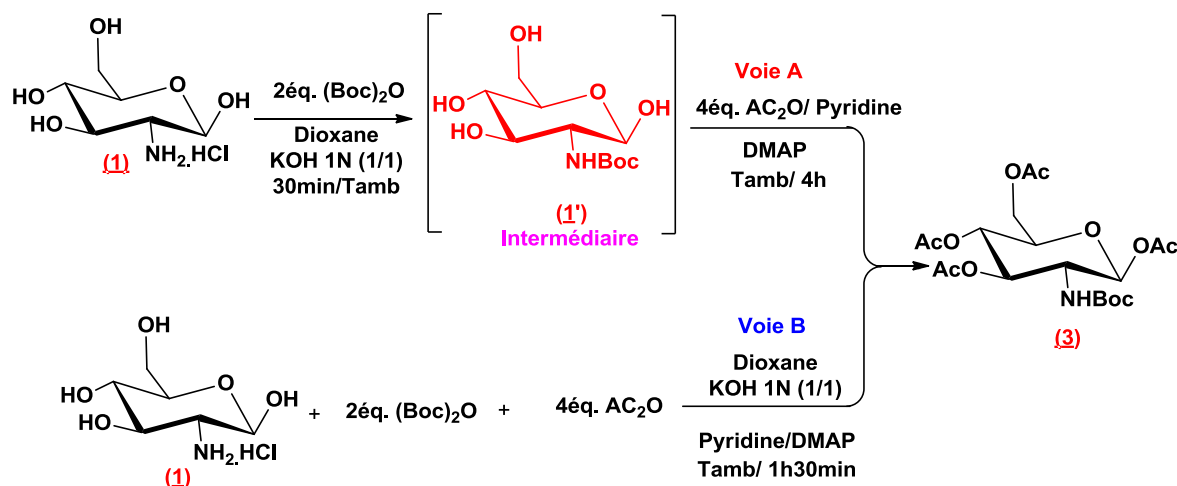


Schéma.I.3. Synthèse de 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-*N*-tert-butyloxycarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine (**3**)

#### Voie A : Réaction par intermédiaire

La synthèse du composé **(3)** nécessite deux étapes successives. Tout d'abord, la carbamoylation du groupement amine par dicarbonate de di-*tert*-butyle ( $\text{Boc}_2\text{O}$ ) ce qui conduit à la formation d'un carbamate de *tert*-butyle (**1'**) (intermédiaire), suivie de l'acétylation de ce dernier dans un mélange d'anhydride acétique/pyridine en présence d'une quantité catalytique de **DMAP**, qui joue le rôle du catalyseur nucléophile, lors de l'acétylation des quatre groupements hydroxyles. La pyridine permet de capter le proton de l'alcool, ce qui permet de créer un intermédiaire tétraédrique instable car l'atome de carbone triangulaire ( $sp^2$ ) du groupe carbonyle change d'hybridation pour devenir ( $sp^3$ ), entraînant le départ d'un groupement acétate (*O*-Ac), pour aboutir au composé **3** où les quatre groupements hydroxyles sont acétylés totalement.

#### Voie B : Réaction par one-pot

La réaction one-pot de la formation du composé **(3)** a été réalisée facilement, en une seule étape à partir de trois composants, donc la synthèse a été tentée avec cette réaction, mais avec les mêmes conditions réactionnelles que celle de la première réaction.

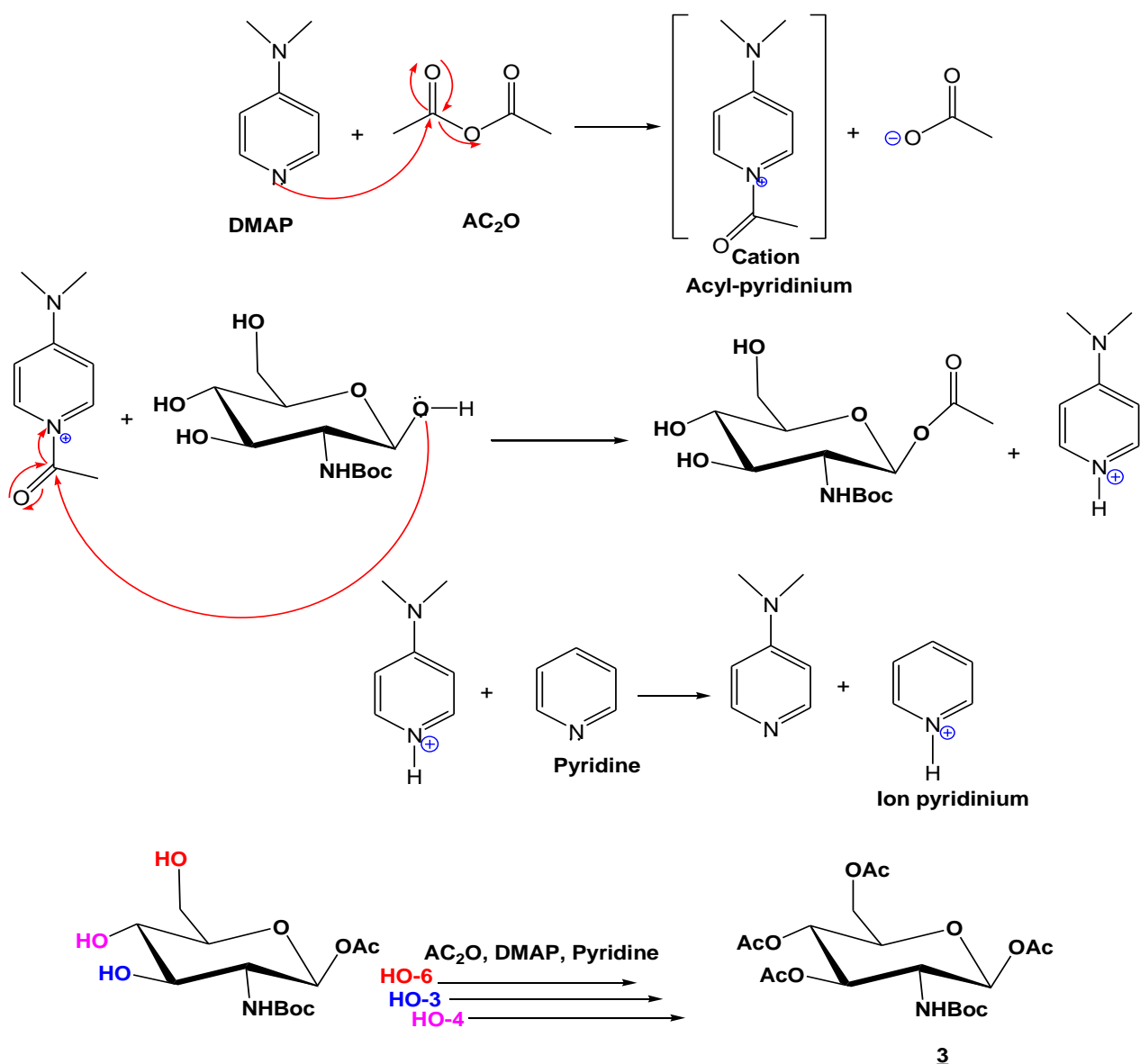
La réaction consiste à faire réagir un composé **(1)** et un dicarbonate de di-*tert*-butyle en présence de 4 éq. anhydride acétique, solubilisé dans la pyridine et une quantité catalytique du **DMAP** à température ambiante, nous avons obtenu le produit attendu. Cette réaction par mono-tape est très courte, simple et propre. Pour déterminer la voie idéale pour la synthèse du composé **(3)**, nous avons réalisé une étude comparative entre les deux réactions (**Tableau I.2**).

Tableau.I.2. Comparaison entre les deux voies de synthèse du composé (3)

Carbamoylation et l'acétylation du composé (1)		
Voies	Réaction par intermédiaire	Réaction One-pot
<b>Rdt (%)</b>	80	90
<b>Temps</b>	4h30min	1h30min
<b>T (°C)</b>	T amb	T amb
<b>Traitement</b>	Extraction, filtration, purification et recristallisation	Extraction, filtration, purification et recristallisation

Deux voies différentes de la protection du composé (1) pour conduire au composé (3) sont utilisées, soit la réaction par le passage d'un intermédiaire (méthode classique) ou par la réaction one-pot (méthode moderne). Les résultats obtenus font apparaître que la deuxième voie (sans passage par un intermédiaire) a l'avantage d'être beaucoup plus rapide que la première voie. On constate que la réaction en une seule étape a donné un meilleur rendement, par rapport à celle qui passe par un intermédiaire.

Ce résultat était prévisible, étant donné la diminution du nombre d'étapes, la réaction en une seule étape ne présente pas de complications (réactions parasite, produits secondaires...etc.). Le mécanisme réactionnel de la protection du composé (1) est résumé par l'attaque du **DMAP** sur l'**Ac<sub>2</sub>O** pour former un ion acétate et un cation acylpyridinium réactif. Un alcool libre à la position anomérique **C-1** du produit protégé **N-Boc** vient attaquer au premier lieu le cation acylpyridinium pour produire un groupement acétyle (*un alcool protégé*) et du **DMAP** protoné qui se fait déprotoner par la pyridine du milieu. La **DMAP** est ainsi régénérée et peut recommencer l'acétylation d'un autre hydroxyle (*voir le paragraphe IV.2.3.1.a.Réactivité relative des groupements OH*) jusqu'à ce que tous les groupes alcools soient protégés (**Schéma.I.4**).

Schéma.I.4.Mécanisme proposé de l'acétylation totale par  $\text{Ac}_2\text{O}$  et DMAP dans la pyridine

Le produit obtenu est identifié par les méthodes spectroscopiques:

En RMN  $^1\text{H}$ , la structure du composé (**3**) est caractérisée par un singulet à 1.40 ppm qui correspond aux neuf protons du groupement  $\text{N-Boc}$  et des singlets dans l'intervalle 2.02-2.20 ppm qui correspondent aux douze protons du groupement  $\text{O-Ac}$ .

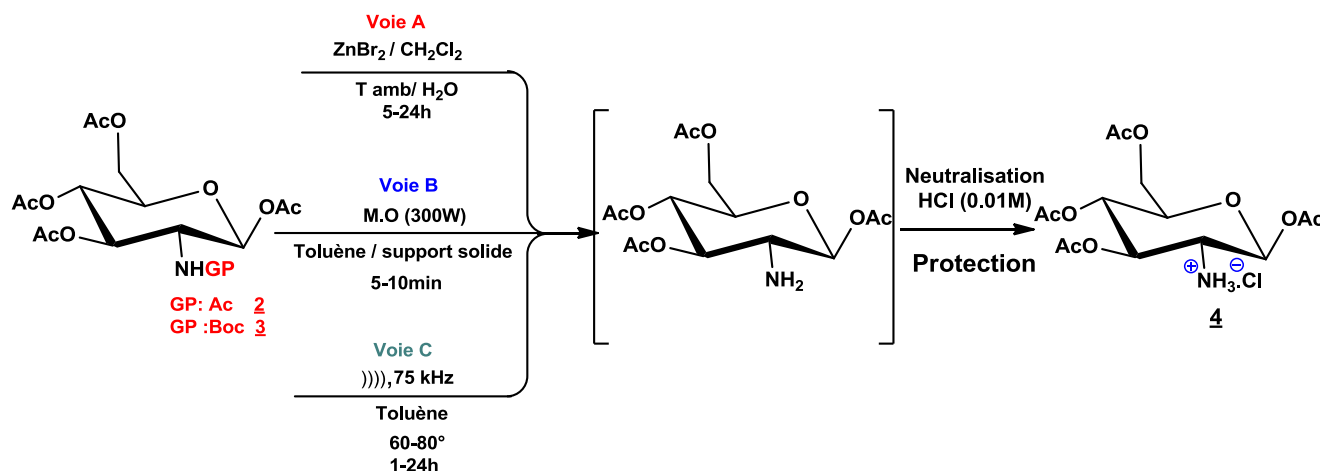
En RMN  $^{13}\text{C}$ , la structure est confirmée par l'apparition des cinq signaux caractéristiques du groupement introduit ( $4\times\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$  et  $\text{NC}=\text{O}_{\text{Boc}}$ ) vers 168.70-171.13 ppm et 154.90 ppm respectivement et cinq signaux caractéristiques du groupement introduit ( $4\times\text{C}=\text{OCH}_3_{\text{Ac}}$ , et  $(\text{C}(\text{CH}_3)_3_{\text{Boc}})$ ) vers 20.70-21.90 ppm et 28.21 ppm respectivement, un singulet à 88.50 ppm correspond au groupement  $(\text{C}(\text{CH}_3)_3_{\text{Boc}})$  de plus on observe des différences de déplacement chimique entre des carbones C-1, C-2, C-3, C-4, C-5 et C-6.

En **IR**, l'apparition des deux bandes et le décalage d'autres bandes ont été remarquées. Trois bandes apparaissent vers  $1662\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{NHC}=\text{O}_{\text{amide}}$ ),  $1818\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{O}-\text{C}=\text{O}_{\text{Boc}}$ ) et  $1750\text{--}1735\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{O}-\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$ ) où on peut observer des décalages aux niveaux des bandes vers  $3332\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{N}-\text{H}$ ) et vers  $1110\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}-\text{C}(\text{O})-\text{C}$ ), ce qui confirme la structure du produit désiré.

#### I.2.4.2.1. Déprotection de la fonction amine

Il existe relativement peu de méthodes différentes dans la littérature concernant la déprotection de *N*-Boc. Le groupe tert-butoxycarbonyl (**Boc**) et le groupement acétate (**Ac**) sont très facilement clivés dans les conditions acides et à haute température.

Cependant, les composés (**2** et **3**) sont sensibles à l'acidité et ils se décomposent à haute température. On devrait donc utiliser idéalement une méthode faisant appel à des conditions très douces. La déprotection des groupements protecteurs acétate et tert-butoxycarbonyl peuvent être déprotégés selon les mêmes conditions. La déprotection peut être effectuée de façon régiosélective puisque le groupement amine est dans un environnement chimique différent par rapport aux autres groupements protecteurs. Dans ce cas, nous avons déprotégé les deux groupements (**Ac** composé **2** et **Boc** composé **3**), par trois voies (**Schéma.I.5**).



**Schéma.I.5. Synthèse de 1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-amino- $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate (**4**) par trois voies de déprotection**

#### Voie A. Déprotection par $\text{ZnBr}_2$

La déprotection des groupements **Ac** et **Boc** a été réalisée dans des conditions classiques<sup>3</sup> avec de  $\text{ZnBr}_2$  dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Dans cette méthode, la déprotection régiosélective du groupement *N*-acétyl (composé **2**) ou *N*-tert-butoxycarbonyl (composé **3**) est possible en utilisant le bromure de zinc en

<sup>3</sup>. P-G. M. Wuts, T-W Greene. Greene's Protective Groups in Organic Synthesis. Protection for the Amino Group. John Wiley & Sons. 4<sup>th</sup> ed, Chap. III, **2007**, 696 – 926.

excès dans le dichlorométhane à température ambiante pendant **24h**. D'après cette voie, le composé (**3**) est clivé plus efficacement que le composé (**2**) comme indiqué dans le **Tableau.I.3**. Cela peut suggérer la formation du complexe entre le **ZnBr<sub>2</sub>** et le substrat, et non l'hydrolyse ultérieure de l'eau qui est l'étape de limitation de la vitesse dans la déprotection.

#### **Voie B. Déprotection par l'irradiation aux microondes**

La déprotection du composé (**2** ou **3**) consiste à exposer le milieu réactionnel aux microondes en présence de support solide (**SiO<sub>2</sub>**). Le produit résultant à partir du composé (**3**) a été obtenu avec un bon rendement et un temps de réaction plus court par rapport à la voie A.

#### **Voie C. Déprotection par l'activation par les ultrasons**

La déprotection est effectuée par la solubilisation du composé (**2** ou **3**) dans le toluène et ensuite traités aux ultrasons (**75KHz**) pendant 1h, à température varie de **60** à **80°C**. Le produit (**4**) sous forme d'un sel chlorhydrate insoluble dans les solvants organiques, il apparait plus polaire que les produits de départ (**2** ou **3**) sur plaque CCM et il est bien révélé dans le mélange d'acide (**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O: 10/45/45**).

La déprotection de la fonction amine est réalisé par les trois voies de synthèse, ils sont présentés dans le **Tableau I.3** ci-dessous. Les mêmes conditions sont efficaces pour déprotéger les deux types de groupements protecteurs soit l'acétate ou le *tert*-butoxycarbonyle par l'activation par la microonde ou les ultrasons.

**Tableau.I.3. Comparaison entre les trois voies de déprotection du composé (**2** ou **3**)**

Déprotection Ac/Boc						
Voies	ZnBr <sub>2</sub>		Microondes (MO) (300W)		Ultrasons (US) (75 kHz)	
GPs	Ac	Boc	Ac	Boc	Ac	Boc
Rdt (%)	10	60	50	90	60	70
Temps	24h	5h	15min	5min	3h	1h
T (°C)	T amb	T amb	-	-	60-80	60-80
Solvant	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Toluène	Toluène	Toluène	Toluène

Le rendement de la réaction de la déprotection de *tert*-butoxycarbonyle avec le bromure de zinc dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> est moyen. Tandis que le mauvais rendement du groupement acétate est dû à sa faible réactivité. On constate que la régiosélectivité de la déprotection par les trois voies est identique pour les deux composés (**2** et **3**), confirmant l'obtention du même produit final. Les résultats montrent que la déprotection sous l'irradiation via les microondes ou l'activation par ultrasons sont les deux voies

idéales pour déprotéger les groupements protecteurs acétate et *tert*-butylocarbone. La structure de chacun de ces deux composés a été établie par les méthodes spectroscopiques usuelles RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  et IR.

En RMN $^1\text{H}$ , la disparition des signaux vers 1.92 ppm et 1.40 ppm qui correspondent aux groupements acétate (composé **2**) et *tert*-butoxycarbone (composé **3**) respectivement, confirme la déprotection du groupement **Ac** et **Boc** sur la fonction amine. L'analyse par RMN  $^{13}\text{C}$  vient de confirmer l'absence du groupement Ac et Boc, par la disparition des signaux ( $\delta$  ppm) : 23.66 ( $\text{CH}_3$ ), 168.7 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 28.21 ( $\text{CH}_3$ ) et 154.90 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ) ppm. De plus, les spectres IR montrent l'absence des bandes de vibration vers 1666- 1662  $\text{cm}^{-1}$  qui correspond à la disparition du carbonyle du groupement Ac (composé **2**) et Boc (composé **3**), l'apparition d'une bande large vers 3500 à 3200  $\text{cm}^{-1}$  correspond à la fonction amine primaire libre. Les analyses spectrales montrent que le clivage des groupements Ac et Boc des composés (**2** et **3**) a conduit à la formation de 1, 3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-amino- $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate (**4**).

Dans notre étude, nous avons amélioré la déprotection du groupement par les deux modes d'activation. En parallèle, pour connaître l'efficacité et l'amélioration proposée, nous avons comparé quelques méthodes qui sont décrites dans la littérature pour la déprotection des deux groupements Ac et Boc, nous avons rassemblé les résultats des travaux dans le **Tableau.I.4**.

**Tableau I.4. Comparaison entre les voies de la déprotection des groupements Ac et Boc qui sont décrits dans la littérature**

Entrée	Conditions	Quantité de Réactif	Temps	Rdt %	
				Ac	Boc
<b>1</b>	TFA, $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Tamb <sup>4</sup>	20 mL (TFA)	1-5h	-	25
<b>2</b>	MeONa, MeOH/T amb <sup>5</sup>	2000 mg (MeONa)	3h	-	65
<b>3</b>	$\text{I}_2$ , $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Tamb <sup>6</sup>	0.08 mmol ( $\text{I}_2$ )	5h	60	<b>80</b>
<b>4</b>	Réactif de Grignard, CuCN, THF, - 45 à 0°C <sup>7</sup>	100 mg*	10h	25	45
<b>5</b>	APTS, $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :EtOH (1 :1)/ reflux 100°C <sup>8</sup>	1500 mg (APTS)	6h	<b>82</b>	32

\* (2-méthylprop-1-ényl) magnesium-bromide

La comparaison à travers les deux tableaux (**I.3** et **I.4**), a montré l'effet important de micro-ondes et des ultrasons, ces deux dernières méthodes ont permis d'atteindre un rendement quantitatif et diminuer considérablement le temps de la réaction. Notons aussi que le milieu acide (**Entrée 1**) et la

<sup>4</sup> . N. Srinivasan, A. Yurek-George, A. Ganesan. *Mol. Divers.* 2005, 9(4), 291 – 293.

<sup>5</sup> . N-S. Shaikh, S-S. Bhor, A.S Gajare, V-H Deshpande, R-D. Wakharkar. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 5395 – 5398.

<sup>6</sup> . G. Pavan Kumar, D. Rambabu, M-V. B. Rao, M. Pal. *J. Chem.* **2013**, 1– 5

<sup>7</sup> . T.Lama, S-E. Del Valle, N. Genest, W-D. Lubell. *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2007**, 13, 355 – 366.

<sup>8</sup> . S. Zawadzki, A. Zwierzak. *Pol. J. Chem.* **2003**, 77(3), 315 – 319.



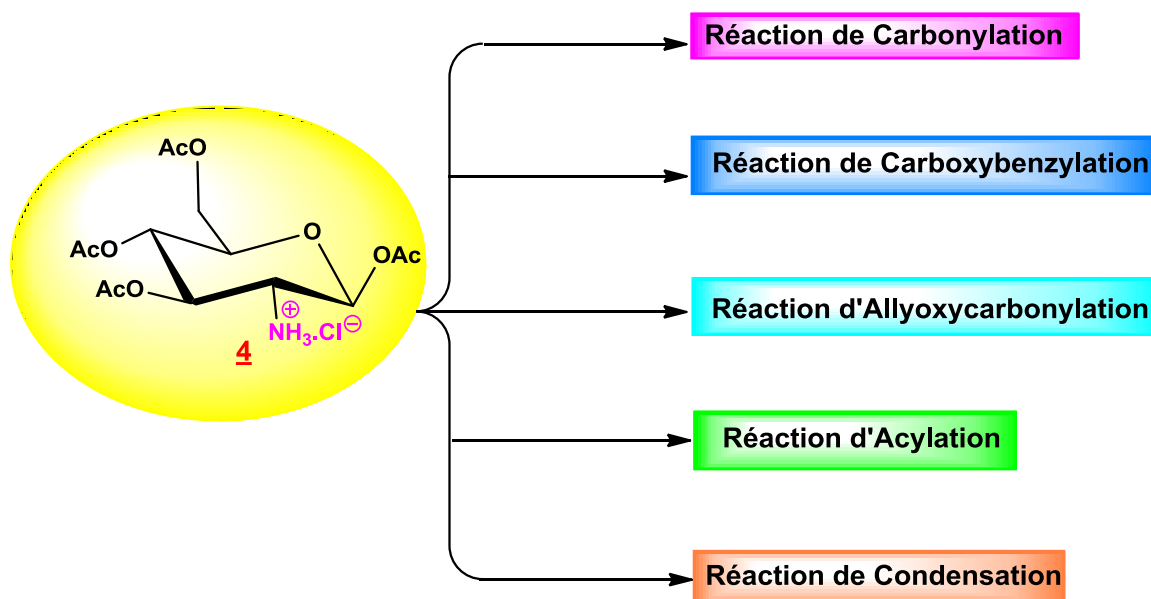
température élevée influent sur le rendement pour déprotéger le *N*-Boc (**Entrée 5**). Cette comparaison montre que chaque groupement est spécifique à chaque mode opératoire.

#### I.2.4.2.2. Conclusion

Nous avons donc mis au point une synthèse efficace du composé (**4**) à partir des deux dérivés **2** et **3** avec un rendement de 60% (déprotection d'Ac) et de 90% (déprotection Boc) à partir de deux modes d'activations (Microondes et Ultrasons). Nous avons également développé des voies originales de la déprotection des deux groupements Ac et Boc. Le but de cette déprotection est de remplacer les groupements Ac et Boc par un autre groupement protecteur tel que (Alloc, Cbz, PNz, Troc, HFB et/ou Imine) et l'étude de leurs réactivités, c'est le but de la deuxième stratégie.

### I.3. Synthèse et étude de la réactivité de 1,3,4,6-tétracétyl-amino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine chlorohydrate (**4**)

Les résultats de déprotection du composé (**4**) pourront être exploités pour la synthèse des dérivés carbamates (**5a**, **6**, **6a**, **7** et **9a**) avec différentes réactions, afin d'étudier leurs réactivités. La **Figure I.2.** résume toutes les réactions effectuées sur le composé (**4**).



**Figure.I.2. Différentes réactions effectuées sur le composé (**4**)**

La réactivité du composé **4** dépend principalement aux quatre groupements acétates, et la présence d'une fonction amine primaire induit une réactivité particulière, l'un des deux protons très labile porté par l'azote peut être substitué en milieu basique<sup>9</sup>.

<sup>9</sup>. H. K. Zimmerman Jr. *J. Phys. Chem.* **1958**, 62 (8), 963 – 965.

L'étude de la réactivité de 1,3,4,6-peracétyl-amino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine chlorohydrate (**4**) peut être envisagée selon cinq réactions:

1. Réaction d'allyloxycarbonylation par l'allylméthylcarbonate;
2. Réaction de carboxybenzylation par le chloroformate de benzyle et *p*-nitrobenzyloxycarbonyl;
3. Réaction de carbonylation par le chlorure de trichloroéthoxycarbonyl;
4. Réaction d'acylation par l'anhydride heptafluorobutyrique;
5. Réaction de condensation avec l'aldéhyde (Benzaldéhyde, Acétaldéhyde et Formaldéhyde).

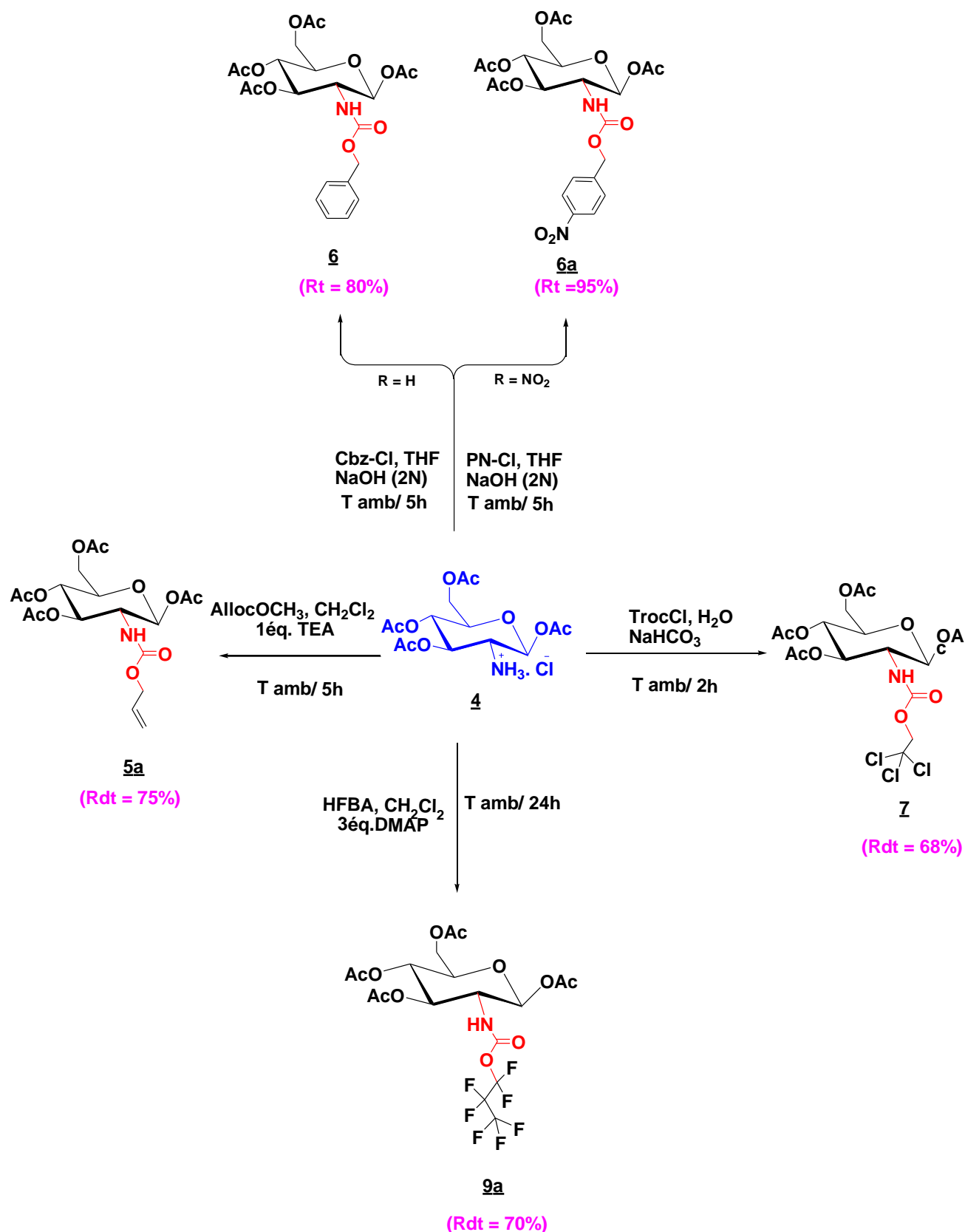
### **I.3.1.Synthèse des dérivés de 1,3,4,6-tétracétyl-amino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine chlorohydraté (**4**) par la formation de carbamate**

Les carbamates sont une famille de composés organiques porteurs d'une fonction (R-**HN**-(C=O) **O**-R'). Il s'agit d'un amide substitué. Les carbamates sont utilisés comme groupe protecteur pour les amines en raison de leurs stabilités et leurs réactivités importantes<sup>10</sup>.

Au cours de ce travail nous avons synthétisé des carbamates à partir du composé (**4**) par les réactions de l'allyloxycarbonylation, de la carboxybenzylation, de l'acétylation, de la carbonylation et/ou de l'acylation. Le schéma ci-dessous résume les différentes réactions de la formation du groupement carbamate du composé **4** (**Schéma.I.6**).

---

<sup>10</sup>. P. Kocienski. *Protecting groups*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart. New York. 3<sup>th</sup> ed, **2005**, 488 – 679.

Schéma.I.6. Différentes réactions de la formation du groupement carbamate du composé (**4**)

Les dérivés carbamates (**5a**, **6**, **6a**, **7** et **9a**) à base du composé (**4**) formés présentent une bonne réactivité dans toutes les réactions. En effet, le rendement obtenu varie entre **68 - 95%**. Le **Tableau.I.5.** présente les conditions et les résultats des différentes réactions.

**Tableau .I.5. Conditions réactionnelles optimisées pour la réaction du carbamate du composé **4** par différentes réactions chimiques**

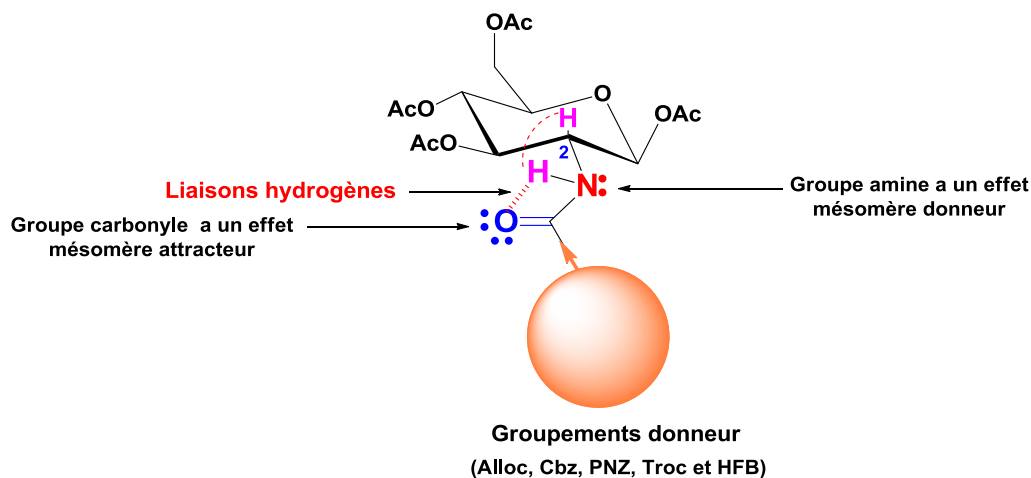
Réactions	Réactif	Conditions	Temps	R <sub>f</sub>	GP	Rdt (%)
<b>Réaction d'allyloxycarbonylation</b>	AllocOCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 1 éq. TEA T.amb	5h	0.53 <sup>a</sup>	<b>Alloc</b> <b>5a</b>	<b>75</b>
<b>Réaction de carboxybenzylation</b>	Cbz-Cl	THF, NaOH (2N) T.amb	5h	0.48 <sup>b</sup>	<b>Cbz</b> <b>6</b>	<b>80</b>
	PNz-Cl		5h	0.32 <sup>b</sup>	<b>PNz</b> <b>6a</b>	<b>95</b>
<b>Réaction de carbonylation</b>	TrocCl	H <sub>2</sub> O NaHCO <sub>3</sub> T.amb	2h	0.40 <sup>c</sup>	<b>Troc</b> <b>7</b>	<b>68</b>
<b>Réaction d'acylation</b>	HFBA	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 3 éq. DMAP T.amb	24h	0.50 <sup>a</sup>	<b>HFB</b> <b>9a</b>	<b>70</b>

<sup>a</sup>(AcOEt/Ep : 8/2) ; <sup>b</sup>(AcOEt/Hexane : 8/2) ; <sup>c</sup>(AcOEt/Heptane : 8/2)

Il a donc été envisagé, au vu de ces résultats, de procéder à la formation des carbamates (ou les amides primaires) par la substitution d'un atome d'hydrogène par des groupements protecteurs tel que (**Alloc**, **Cbz**, **PNz**, **Troc** et **HFB**). Les différentes réactions ont été réalisées à température ambiante, mais avec des temps variant de **2 à 24h**. Le composé (**4**) présente une bonne réactivité pour toutes les réactions proposées, ainsi les dérivés carbamates (**5a**, **6**, **6a**, **7** et **9a**) sont obtenus avec des rendements compris entre **68** et **95%** ; après purification (*par chromatographie sur gel de silice et/ou recristallisation*), les dérivés carbamates présentent l'avantage d'être stable.

D'après le **Tableau .I.5**, on observe que tous les dérivés carbamates sont polaires. En effet, cette polarité est due au doublet non liant sur l'atome d'azote qui est délocalisable dans le système  $\pi$  de la

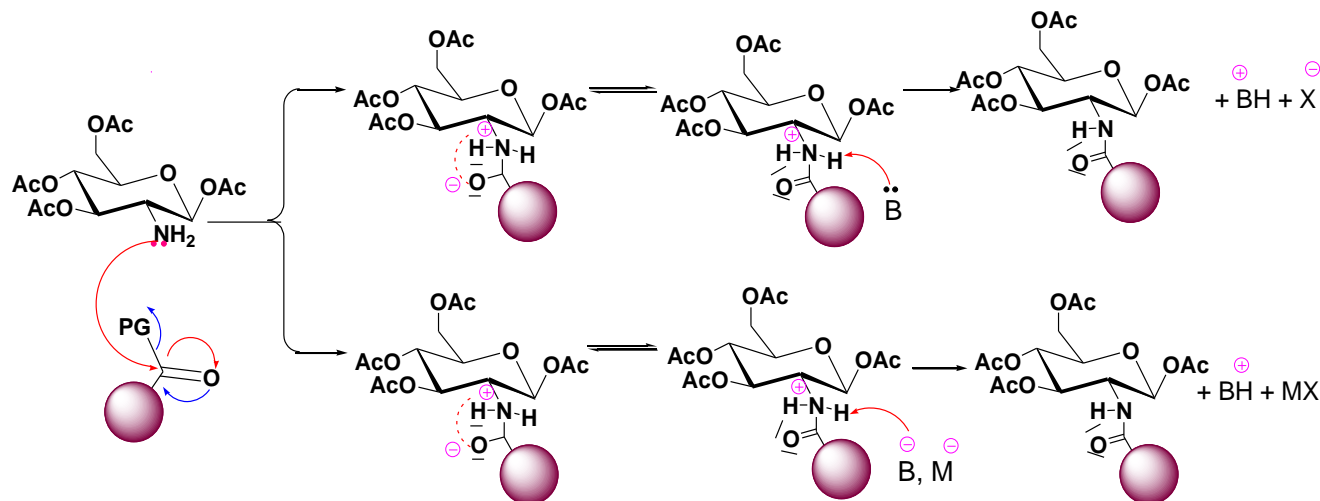
fonction amide (moins nucléophile que celui d'une amine). L'azote peut être protoné et participe alors à la formation des liaisons hydrogènes (**Figure. I.3**).



**Figure I.3.** Liaisons hydrogènes dans les carbamates (*amide primaire*)

Les étapes de synthèse sont rassemblées dans le **Schéma.I.7**. On peut résumer le mécanisme de carbamation du composé (**4**), en trois étapes:

- ✓ Aaddition nucléophile de l'amine sur l'halogénure d'acyle (sans activation) ;
- ✓ Elimination de  $X^-$  qui permet la reformation de la double liaison  $C=O$  ;
- ✓ Déprotonation du composé pour obtenir l'amide désiré.



**Schéma.I.7.** Mécanisme proposé pour la carbamoylation du composé (**4**)

(Ce mécanisme est similaire pour tous les dérivés obtenues)

La structure de ces dérivés est confirmée par la spectroscopie RMN<sup>1</sup>H, dans le CDCl<sub>3</sub> pour les dérivés (**5a**, **6**, **6a** et **7**) et dans CD<sub>3</sub>OD-*d*<sup>4</sup> pour le dérivé (**9a**). Le **tableau.I.6**. ci-dessous sont récapitulés tous les signaux caractéristiques attendus et les déplacements chimiques en RMN <sup>1</sup>H.

**Tableau.I.6. Signaux caractéristiques et déplacements chimiques des dérivés carbamates (5a, 6, 6a, 7 et 9a) en RMN  $^1\text{H}$**

Composés	$\delta$ (ppm)	Signaux et nombres de protons	Correspond	$J$ en Hz
<u>5a</u> <u>Alloc</u>	4.50-4.60	$m(2\text{H})$	$\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	-
	5.87	$dd(1\text{H})$	$\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	6.3,16.1( <i>trans</i> )
	5.03-5.23	$m(2\text{H})$	$\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	-
	7.88	$d(1\text{H})$	N-H	9.40
<u>6</u> <u>Cbz</u>	5.34	$s(2\text{H})$	$\text{CH}_2\text{Ar}$	-
	7.96	$brs(1\text{H})$	N-H	8.88
	7.33-7.35	$ddd(5\text{H})$	Ar-H	-
<u>6a</u> <u>PNz</u>	7.45-8.0	$dd(4\text{H})$	Ar-H	-
	5.40	$s(2\text{H})$	Ar- $\text{CH}_2$	-
	7.90	$brs(1\text{H})$	N-H	8.51
<u>7</u> <u>Troc</u>	4.72	$s(2\text{H})$	$\text{Cl}_3\text{CCH}_2\text{Troc}$	-
	8.19	$brs(1\text{H})$	N-H	8.80
<u>9a</u> <u>HFA</u>	8.02	$brs(1\text{H})$	N-H	9.00

On peut remarquer d'après le **Tableau.I.6** l'apparition d'un signal dans tous les dérivés synthétisée et qui caractérise le proton d'amide (**NH-GP**) qui est déblindé, nous avons remarqué aussi que le signal échangeable du proton porté par le NH-Troc est légèrement plus déblindé par rapport au proton porté par le **NH-HFA**, **NH-Cbz**, **NH-PNz** et **NH-Alloc**. Ce qui confirme bien le caractère plus acide du proton **NH-Troc** comparé à celui des autres protons porté par le carbamate. On peut observer que le proton porté par l'azote est couplé avec le proton voisin (**H-2**) avec une constante de couplage  $J_{\text{NH-H-2}}$  varie entre 8.51-9.40Hz. Ces données sont en faveur la structure de l'amide dans tous les dérivés carbamates.

Pour la même raison, nous observons un nouveau pic qui représente le carbonyle (**C=O**) du carbamate sur le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  dans tous les dérivés.

Le **Tableau.I.7** ci-dessous récapitule tous les signaux caractéristiques attendus et les déplacements chimiques en RMN  $^{13}\text{C}$ .

Tableau.I.7. Signaux caractéristiques attendus et déplacements chimiques des dérivés carbamates (5a, 6, 6a, 7 et 9a) en RMN  $^{13}\text{C}$ 

Composés	Déplacements chimiques $\delta$ (ppm)	Correspond	Hybridation du carbone
<u>5a</u> <u>Alloc</u>	133.87	CH=CH <sub>2</sub>	sp <sup>2</sup>
	117.11	CH=CH <sub>2</sub>	sp <sup>2</sup>
	65.73	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	sp <sup>3</sup>
	155.70	NHC=O	sp <sup>2</sup>
<u>6</u> <u>Cbz</u>	155.70	NHC=O <sub>amide</sub>	sp <sup>2</sup>
	129.0-127.0	Ar	sp <sup>2</sup>
	65.90	CH <sub>2</sub> -Ph	sp <sup>3</sup>
<u>6a</u> <u>PNz</u>	155.4	NHC=O	sp <sup>2</sup>
	68.20	CH <sub>2</sub> Ph	sp <sup>3</sup>
<u>7</u> <u>Troc</u>	75.90	Cl <sub>3</sub> CCH <sub>2</sub> Troc	sp <sup>3</sup>
	95.92	Cl <sub>3</sub> CCH <sub>2</sub> Troc	sp <sup>3</sup>
	156.0	NHC=O	sp <sup>2</sup>
<u>9a</u> <u>HFA</u>	159.5	NH-C=O	sp <sup>2</sup>
	114.2	OCF <sub>2</sub> CF <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	sp <sup>3</sup>
	109.0	OCF <sub>2</sub> CF <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	sp <sup>3</sup>
	116.7	OCF <sub>2</sub> CF <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	sp <sup>3</sup>

En RMN  $^{13}\text{C}$ , et par la comparaison des valeurs obtenues pour tous les dérivés du carbamates (5a, 6, 6a, 7 et 9a), on remarque un déplacement vers des valeurs déblindées, montrant la présence des groupements électrodonneurs NH-Alloc, NH-Cbz, NH-PNz, NH-Troc et NH-HFA sur tous les dérivés obtenus. Les dérivés carbamates ont été confirmés par IR, les valeurs obtenues pour les molécules (5a, 6, 6a, 7 et 9a) sont présentées dans le **Tableau.I.8**.

**Tableau.I.8.Bandes d'absorptions de la formation des liaisons dans les dérivés carbamates (5a, 6, 6a, 7 et 9a) en IR**

Composés	Attribution	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Intensité observée
<b><u>5a</u></b> <b><u>Alloc</u></b>	$\nu$ (N-H) amine secondaire	3266	M
	$\nu$ (C=O) viny	1770-1780	TF
	$\nu$ (C=C)	1529	M
	$\nu$ (NHCO)amide primaire	1662	M
<b><u>6</u></b> <b><u>Cbz</u></b>	$\nu$ (N-H) secondaire	3368	M
	$\nu$ (C=O) benzyle	1775	TF
	$\nu$ (NHCO)amide primaire	1662	M
	$\nu$ (C=C) aromatique	1650-1753	V
<b><u>6a</u></b> <b><u>PNz</u></b>	$\nu$ (N-H) amine secondaire	3336	M
	$\nu$ (C=O) PNz	1775	TF
	$\nu$ (NHCO)amide primaire	1662	M
	$\nu$ (C=C) aromatique	1652-1752	V
	$\nu$ (NO <sub>2</sub> ) asymétrique	1525	V
<b><u>7</u></b> <b><u>Troc</u></b>	$\nu$ (N-H) amine secondaire	3332	M
	$\nu$ (C=O) Troc	1736	TF
	$\nu$ (C-Cl)	650	F
	$\nu$ (NHCO)amide primaire	1662	M
<b><u>9a</u></b> <b><u>HFA</u></b>	$\nu$ (N-H) amine secondaire	3500	M
	$\nu$ (C=O)HFA	1712,7	TF
	$\nu$ (NHCO)amide primaire	1655	M
	$\nu$ (C-F)HFA	1100-1400	V

*M : Moyenne, TF : très Forte, V : Variable, F : Forte.*

La bande d'absorption de la fonction N-H (amine secondaire) confirme la substitution d'hydrogène par le groupement (NH-Alloc, NH-Cbz, NH-PNz, NH-Troc et NH-HFA) caractérisée par une bande d'élongation intense du groupement carbonyle (C=O) et le groupement amide primaire NHC=O.

### I.3.1.1.Conclusion

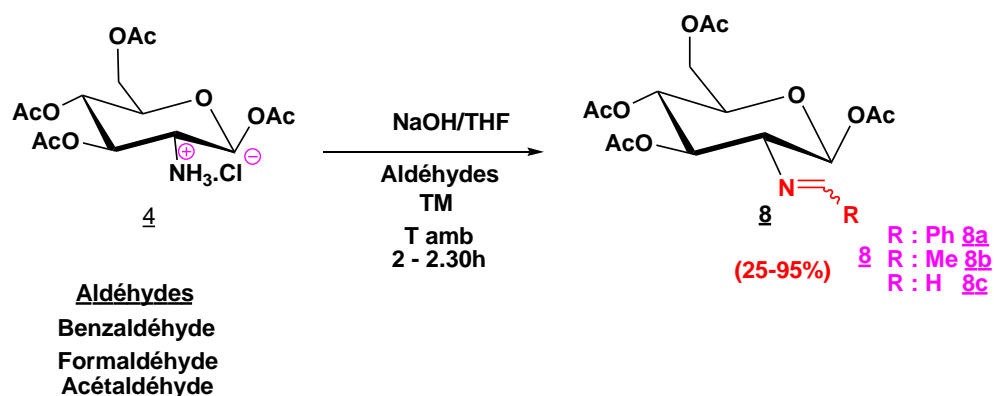
Que ce soit en termes d'introduction des groupements protecteurs ou de formation des carbamates, des meilleurs rendements ont été obtenus dans toutes les réactions réalisées. Par conséquent, il est important d'un point de vue stratégique de ne pas négliger les effets électroniques dans l'optique d'activer les réactions de carbamation. Les conditions réactionnelles favorisent les formations des dérivés carbamates qui sont sensible à la chaleur (*décomposition*), aux milieux acides



(protonation) et/ou milieux réactionnels aqueux (hydrolyse), c'est pour cette raison, que nous avons utilisé le milieu basique et la température ambiante. Les dérivés carbamates obtenus (**5a**, **6**, **6a**, **7** et **9a**) seront utilisés dans la suite de ce travail.

### I.3.2. Synthèse et étude de la réactivité des dérivés azométhines à base de $\beta$ -D-glucosamine (**8**)

À partir des diverses approches synthétiques des imines<sup>11,12</sup> nous avons mis au point une méthode originale pour avoir accès aux produits **8** (**a**, **b** et **c**) et qui consiste à l'utilisation d'un catalyseur NaOH/THF, en présence de tamis moléculaire, pour aboutir l'azométhine-1,3,4,6-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucosamine **8** selon le **Schéma.I.8.** suivant :



**Schéma.I.8.** Synthèse des dérivés d'azométhines à base de  $\beta$ -D-glucosamine **8**

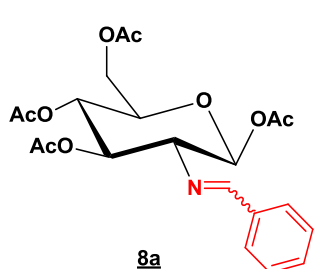
Le 1,3,4,6-tétracétyl-amino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate (**4**) synthétisé précédemment, est utilisé dans une réaction de condensation avec un dérivé d'aldéhyde (nous avons choisi le benzaldéhyde, l'acétaldéhyde et le formaldéhyde) en présence d'un catalyseur NaOH/THF, la réaction de condensation a été réalisée à reflux pendant **2h.30min**, la réaction conduit à la formation des imines **8** (**8a**, **8b** et **8c**), après nous avons procédé à une chromatographie sur colonne (éluant: hexane /AcOEt: 8/2).

Pour déterminer les meilleures conditions de la synthèse des dérivés, on a choisi le dérivé (**8a**) comme exemple et nous avons effectué plusieurs essais sur l'étude de l'effet de l'addition de NaOH et l'effet du solvant pour bien optimiser les conditions de la réaction de formation d'imine. Le **Tableau.I.9.** présente les conditions et les résultats des différents essais.

<sup>11</sup>. S. Tehranchian, T. Akbarzadeh, M-R. Fazeli, H. Jamalifar, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 23 – 26.

<sup>12</sup>. P. De-Shong. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128(21), 7111–7112.

**Tableau.I.9. Etude de l'effet de l'addition de NaOH et du solvant utilisé à la synthèse du composé (8a)**

Entrées	NaOH %	Solvant	Rdt <sup>a</sup> (%)	Conditions	Composé ( <u>8a</u> )
<b>1</b>	1	THF	-	<b>Reflux 80°C pendant 2h.30 min T.M</b>	 <b>8a</b>
		EtOH	-		
<b>2</b>	5	THF	25		
		EtOH	-		
<b>3</b>	10	THF	50		
		EtOH	10		
<b>4</b>	15	THF	90		
		EtOH	40		
<b>5</b>	20	THF	95		
		EtOH	45		
<b>6</b>	25	THF	80		
		EtOH	40		

<sup>a</sup>Déterminé par RMN <sup>1</sup>H du brut réactionnel.

Nous avons essayé d'optimiser la quantité massique de NaOH dans le (THF solvant apolaire ou EtOH solvant polaire), nous avons fixé le temps (2h30min) et la température de reflux à 80°C et tous ça est en présence de tamis moléculaire. À **1%** de NaOH dans le (THF et/ou dans EtOH) aucune réaction n'a été observée (**Entrée 1**), À **5%** de NaOH dans le (THF et/ou EtOH), le rendement en présence de THF est de 25%, mais en présence d'EtOH aucune réaction (**Entrée 2**). À **10%** de NaOH dans le (THF ou EtOH) ces conditions ne permettent pas l'obtention de bons rendements (50% en présence de THF et 10% en présence d'EtOH) (**Entrée 3**).

Lorsqu'on a augmenté la quantité de NaOH à **20%** dans (THF et EtOH), les résultats obtenus sont surprenants en présence de THF (le rendement est 95%), et sont insuffisants dans le cas d'EtOH (45%) (**Entrée 5**). En revanche, on a augmenté la quantité de NaOH à **25%** dans (THF et EtOH), on a observé une diminution du rendement (**Entrée 6**).

D'après le **Tableau.I.9.** le meilleur rendement a donc été obtenu pour **20%** de NaOH dans le THF.

Les résultats obtenus peuvent se généraliser aux autres dérivés (**8b** et **8c**), le rendement du composé **8b** semble plafonner vers 60% et le rendement du composé **8c** est mauvais. Le faible rendement du composé **8c** est probablement dû à la faible réactivité du formaldéhyde (voir le tableau ci-dessous).

**Tableau.I.10. Conditions réactionnelles pour la réaction de condensation du composé **4** par différents aldéhydes**

Composé <b>8</b>	Aldéhyde	Conditions	Temps	R <sub>f</sub> <sup>*</sup>	F°C	Rdt(%)
<b>8a</b>	Benzaldéhyde	NaOH 20%/THF		0.6	131-133	<b>95</b>
<b>8b</b>	Acétaldéhyde	reflux 80°C	2h30min	0.3	128-130	60
<b>8c</b>	Formaldéhyde	T.M 4Å		0.2	120-122	25

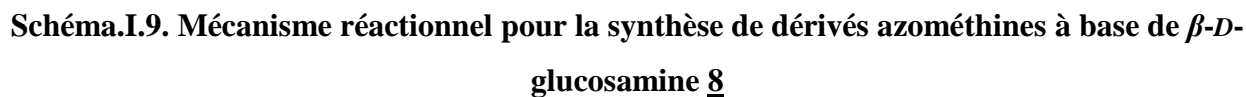
\* éluant (Ep/AcOEt: 8/2)

En conclure que les meilleures conditions de la synthèse d'imine avec l'utilisation d'un complexe NaOH/THF, permettent d'obtenir de très bons rendements (**95%** avec le composé **8a**). Ces conditions impliquent l'utilisation d'un catalyseur à base de 20% NaOH en présence de THF comme solvant. L'élimination de l'eau est nécessaire pour déplacer l'équilibre vers la formation de la fonction iminique, l'utilisation du solvant THF qui forme un mélange azéotropique avec l'eau permettant le déplacement d'équilibre vers la formation de l'eau et la présence de tamis moléculaire<sup>13,14</sup> qui absorbe l'eau dans le milieu réactionnel pour déplacer l'équilibre vers la formation de l'imine, et cette opération dite autocatalyse.

D'après ces résultats, nous avons développé une nouvelle réaction originale, très efficace et spécifique pour certaines réactions de condensation avec un temps assez court. À base de ces résultats on a pu proposer un mécanisme réactionnel de la condensation du composé (**4**) avec un aldéhyde, (*la réaction de formation des imines est similaire pour tous les dérivés obtenus*) et les étapes de synthèse sont rassemblé dans le **Schéma. I.9**. ci-dessous.

<sup>13</sup>. T. Kakinuma, T. Oriyama. *Tetrahedron lett.* **2010**, 51(2), 290 – 292.

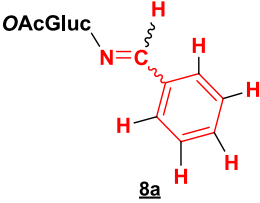
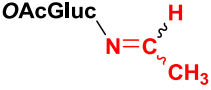
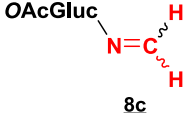
<sup>14</sup>. I. Pitsch, J.Deutsch, M-M. Pohl, A. Schulz, V-A.Tuan, N-D.Tuyen, L. Frunza, C. Jaeger, H. Kosslick. *Catal. Today.* **2010**, 152(1-4), 54 – 60



106

Le **Tableau.I.11.** récapitule tous les signaux en RMN du proton dans le  $\text{CDCl}_3$  caractéristiques pour la fonction  $\text{R-HC=N}$  attendus pour les imines (**8a**, **8b** et **8c**) et les déplacements chimiques.

**Tableau.I.11** Signaux caractéristiques attendus au ( $\text{R-CH=N}$ ) et déplacements chimiques des dérivés imines (**8a**, **8b** et **8c**) en RMN  $^1\text{H}$

Composés	$\delta$ (ppm)	Signaux et nombres de protons	Correspond
<b>8a</b> Benzaldéhyde	8.52	$s(1\text{H})$	$\text{HC=N}$
	7.30-7.45	$dd(5\text{H})$	Ar-H
			
<b>8b</b> Acétaldéhyde	8.40	$m(1\text{H})$	$\text{HC=N}$
	0.89	$d(3\text{H})$	$=\text{CHCH}_3$
			
<b>8c</b> Formaldéhyde	8.00	$s(2\text{H})$	$\text{H}_2\text{C=N}$
			

Les valeurs des déplacements chimiques des différentes imines sont en bon accord avec la structure proposée. On remarque d'après le **Tableau. I.11.** que le proton iminique ( $\text{HC=N}$ ) des dérivés (**8a**, **8b** et **8c**) apparaît entre 8.00 - 8.52 ppm par des multiplicités différentes.

Pour l'imine **8a**, ce proton centré à 8.52 ppm d'un singulet légèrement plus déblindé que celui du proton porté par les imines (**8b** et **8c**), ce qui confirme les effets électroniques de conjugaison entre le noyau phényle et la fonction imine.

La RMN  $^{13}\text{C}$ , montre que les dérivés formés (**8a**, **8b** et **8c**) possèdent la fonction imine ( $\text{C=N}$ ), les signaux résonnent à (170, 164 et 1630) ppm pour les dérivés (**8a**, **8b** et **8c**) respectivement, ce qui confirme la condensation. Pour bien étudier l'effet électronique de conjugaison qui a été signalé dans RMN  $^1\text{H}$ , nous avons caractérisé les dérivés (**8a**, **8b** et **8c**) par l'UV-Vis dans le domaine (300-600) nm dans l'EtOH. Les bandes d'absorption de ces dérivés sont rassemblées dans le **Tableau. I.12** suivant :

Tableau I.12. Bandes d'absorption UV-Visible des dérivés (**8a**, **8b** et **8c**)

Composés	$\lambda_{\max}$ en nm	Abs <sup>a</sup>	$\epsilon$ en L.mol <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup>	Transitions
<b>8a</b>	285	1.75	17500	$n \rightarrow \pi^*$
<b>8b</b>	280	2.52	25200	$n \rightarrow \pi^*$
<b>8c</b>	282	2.00	20000	$n \rightarrow \pi^*$

<sup>a</sup>C = 10<sup>-4</sup>M, pH= 6.9 et T = 25°C ; Abs : Absorbance ;  $\epsilon$  : Coefficient d'absorption

D'après le **tableau. I.12.** les dérivés présentent une bande caractéristique à des longueurs d'onde  $\lambda_{\max}$  varient entre 280 - 285 nm et des absorbances varient entre 1.75-2.52nm, qui sont due à la transition électronique de type  $n \rightarrow \pi^*$  de double liaison carbone-azote (C=N) avec une intensité plus forte dans toutes les dérivés. D'après la strcutre des deux composés (**8b** et **8c**), on n'observe pas le système conjugué, par contre le composé (**8a**) possède un système conjugué entre le noyau phényle et la fonction imine (la double liaison) de type  $\pi$ - $\sigma$ - $n$ .

Pour bien confirmer nos résultats, nous avons procédé à la vérification du groupement fonctionnel d'amine par spectroscopie infrarouge. Les fréquences de vibration du groupe azométhine (C=N) des dérivés imines (**8a**, **8b** et **8c**) sont comprises entre 1630 – 1675 cm<sup>-1</sup> selon la nature des différents substituants sur les atomes du carbone et d'azote.

Cette propriété fait de la spectroscopie infrarouge une technique de choix pour l'identification de ce groupement fonctionnel. Les bandes de vibration qui caractérise le groupement imine dans les composés (**8a**, **8b** et **8c**) sont rassemblées dans le **Tableau.I.13** ci-dessous.

Tableau.I.13. Bandes d'absorptions de la formation de la liaison iminique dans les dérivés azométhines (**8a**, **8b** et **8c**) en IR

Composés	Attribution	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Intensité observée
<b>(8a)</b>	$\nu_{\text{(C-N)}}$	1249	V
	$\nu_{\text{(C=N)imine}}$	1675	M
	$\nu_{\text{(C=C)benzyl}}$	1475-1620	F
<b>(8b)</b>	$\nu_{\text{(C-N)}}$	1241	V
	$\nu_{\text{(C=N)imine}}$	1634	M
<b>(8c)</b>	$\nu_{\text{(C-N)}}$	1228	V
	$\nu_{\text{(C=N)imine}}$	1630	M

M : Moyenne, V : Variable, F : Forte.

### I.3.2.1. Conclusion

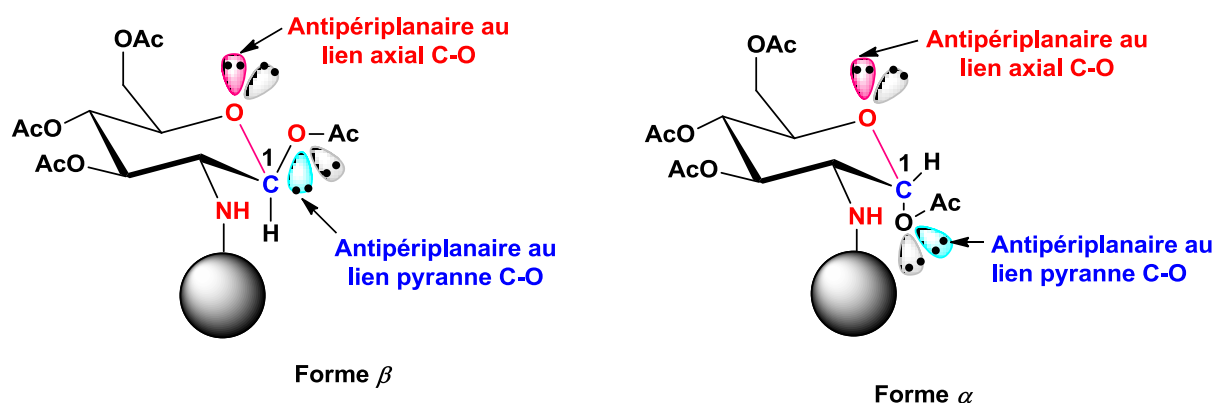
Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à la synthèse et à la caractérisation des dérivés d'azométhin- $\beta$ -D-glucosamines, la procédure utilisée pour la conversion du composé (**4**) en des dérivés azométhines (**8a**, **8b** et **8c**) est la condensation par un aldéhyde choisis. La condensation s'effectue par une méthode originale qui consiste à l'utilisation de 20 % de NaOH dans le THF comme solvant et en présence d'un tamis moléculaire.

Nous avons également cherché un moyen de synthèse et d'amélioration des conditions opératoires pour avoir accès aux azométhines plus stables avec d'excellents rendements. On conclut que le composé (**8a**) est un bon précurseur pour la synthèse organique, dans la suite de ce travail, nous avons utilisé ce dérivé dans la synthèse d'oxazaphospholidinebicyclique et au même temps, nous avons étudié l'effet de la complexation par la  $\beta$ -cyclodextrine sur la stabilité de ce dérivé. Le complexe obtenu sera testé biologiquement pour valoriser son activité antibactérienne et antioxydante.

### I.4. Etude de la réactivité du carbone anomérique C-1 par l'activation de la position anomérique

Les D-glucosamines modifiées par des groupements protecteurs déjà synthétisées subissent un effet anomérique à la position C-1, donc il est essentiel de le tenir en compte lors de l'élaboration d'une stratégie de synthèse. Cet effet se produit à cause de la présence de doublets d'électrons libres sur l'oxygène du cycle pyranne et sur le groupement OAc du carbone en position C-1.

Ces groupements préfèrent la position axiale plutôt que la position équatoriale en forme chaise; la position équatoriale étant habituellement la plus stable en raison de l'encombrement stérique. Ils subissent l'effet anomérique qui est présenté à la **Figure.I.4**, les propriétés associées à cet effet seront bien expliquées dans nos travaux.



**Figure.I.4.Effet de la substitution nucléophile sur la position anomérique C-1**

Dans les deux cas (forme  $\alpha$  et  $\beta$ ), un des doublets d'électrons libres de l'oxygène à la position anomérique est placé de façon antipériplanaire lié au C-O du cycle pyranne. Cependant, à cause de la présence d'électrons libres sur le groupement substituant en position C-1, la position axiale est

favorisée car une autre stabilisation est possible. En effet, un des doublets d'électrons libres de l'oxygène sur le cycle est placé de façon antipériplanaire au lien **C-1**, dans ce cas, le groupement est en forme  $\alpha$ . À cause de son environnement chimique différent de celui des autres carbones du *D*-glucosamines modifiées, le carbone anomérique possède une réactivité différente de celles d'autres carbones.

D'après la littérature, la forme  $\alpha$  est prioritaire par rapport à la forme  $\beta$  pour les dérivés sucres<sup>15,16</sup> dans ce contexte, nous avons cherché à développer une méthode simple, efficace, et sélective destinée à la préparation des dérivés (**9b**, **2b**, **5b**, **5c** et **7a**) à base de  $\beta$ -D-glucosamine par une réaction de substitution nucléophile dans les conditions optimales.

Dans ce cadre, nous avons donc souhaité établir une nouvelle méthode simple, qui consiste à l'augmentation de la proportion de l'anomère  $\beta$ . Cette nouvelle voie consiste à la réaction de substitution nucléophile sur la position anomérique **C-1** des dérivés (**9a**, **2**, **5a** et **7**). La réaction est réalisée sur plusieurs agents tels que les alcools et les thiols à température ambiante dans le dichlorométhane et en présence d'éthérate de trifluorure de bore (*acide de Lewis*), **K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** et **DMAP**. Les dérivés (**9b**, **2b**, **5b**, **5c** et **7a**) sont donc obtenus selon le **Schéma.I.10**.

---

15. R-R Schmidt, W.Kinzy. *Adv. in Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, 50, 21 – 213.

16. C. Truchet, G. Beau, J-M. Dénarié. *J. Plant. Physiol.* **1999**, 120(1), 83 – 92.



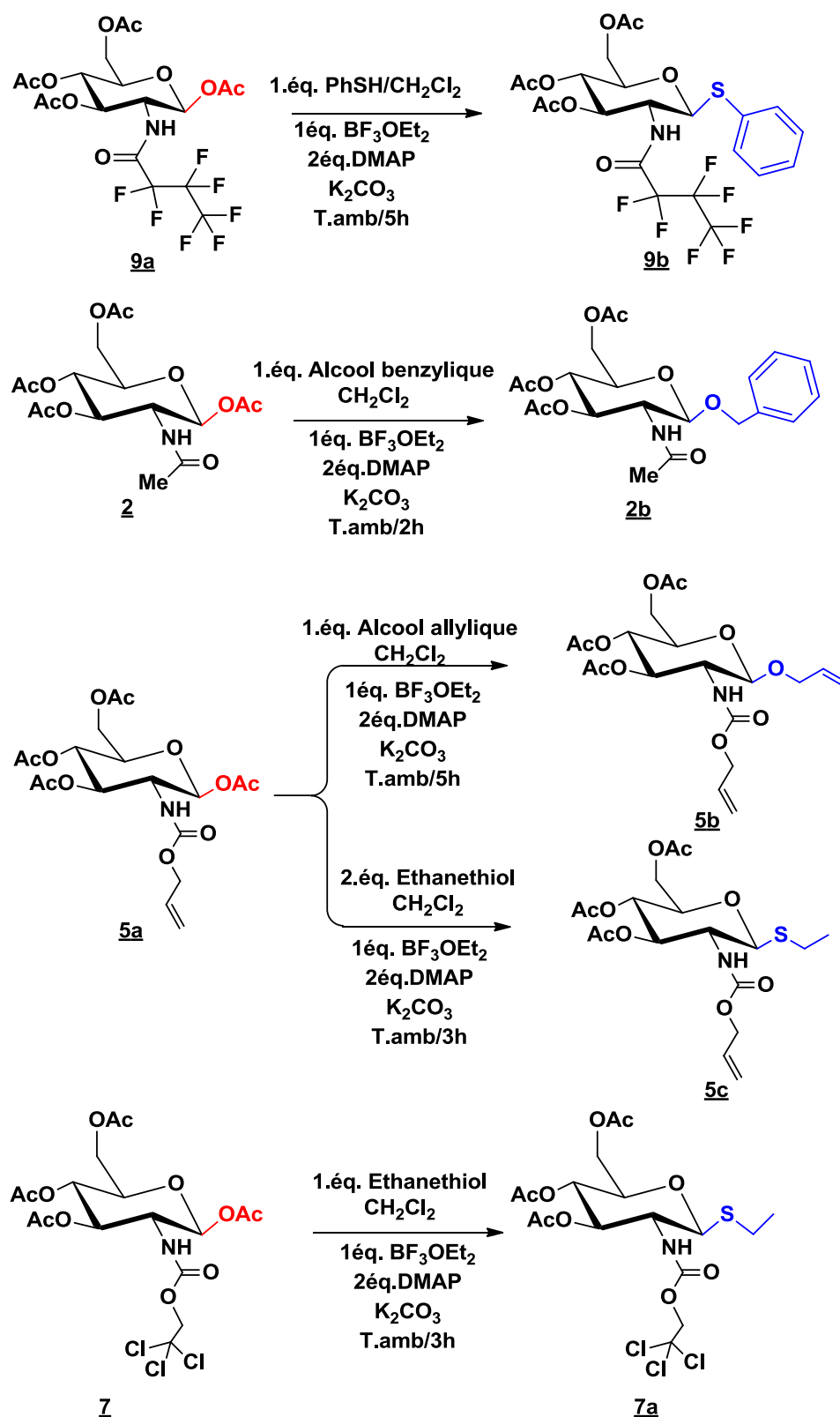


Schéma.I.10. Réaction de substitution nucléophile (SN) sur la position anomérique C-1 des dérivés (9a, 2, 5a, 7 et 5c)

Les dérivés (9b, 2b, 5b, 5c et 7a) formés présentent un seul anomère  $\beta$  (100%), cette sélectivité est due à l'utilisation du carbonate de potassium comme base, qui permet uniquement la

formation d'anomère  $\beta$ . En effet, le rendement obtenu varie entre **70-92%**. Le **Tableau I.14.** présente les conditions et les résultats des différentes réactions.

**Tableau .I.14. Conditions réactionnelles optimisées pour la réaction de substitution nucléophile (SN) sur la position anomérique C-1 des dérivés (**9a**, **2**, **5a** et **7**)**

Composés	Réactif (ROH ou RSH)	Conditions	Temps (h)	R <sub>f</sub> <sup>*</sup>	Rdt (%) <sup>e</sup>
<b>9a</b>	Thiophénol		5	0.25 <sup>a</sup>	<b>92</b>
<b>2</b>	Phénylméthanol	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 1éq. BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O 2éq.DMAP	2	0.50 <sup>b</sup>	75
<b>5a</b>	Alcool allylique	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	5	0.72 <sup>c</sup>	70
	Ethanéthiol	T.amb	3	0.35 <sup>d</sup>	<b>85</b>
<b>7</b>	Ethanéthiol		3	0.62 <sup>a</sup>	72

<sup>a</sup>(AcOEt/Ep : 8/2) ; <sup>b</sup>(Toluène/acétone : 7/3) ; <sup>c</sup>(AcOEt/hexane : 1/1) ; <sup>d</sup>(AcOEt / heptane : 2/1) ;

<sup>e</sup>Rendement isolé, purification par chromatographie sur gel de silice.

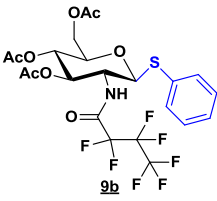
Les résultats du **Tableau.I.14.** montrent dans l'ensemble que le rendement de substitution nucléophile sur la position anomérique (en C-1) est dépendant du thiols et/ou d'alcools utilisés. En ce qui concerne le temps de réaction, il varie entre **2** à **5h**, cette méthode a pour avantage que le temps est réduit et elle déroule dans des conditions douces, et à la fin, on récupère un seul produit (*n'y a pas un mélange d'anomères*). D'un point de vu synthétique, l'utilisation du thiol comme agent donneur de la substitution nucléophile donne généralement de très bons rendements, par contre l'utilisation d'alcool donne des rendements varie entre **70 -75%**.

Pour déterminer l'effet de BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O en présence de DMAP sur la réaction de substitution nucléophile sur la position anomérique pour accéder aux dérivés (**9b**, **2b** , **5b**, **5c** et **7a**), nous avons effectué plusieurs essais sur l'étude de l'effet d'addition de BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O et de DMAP pour bien optimiser les conditions de la réaction de substitution nucléophile sur (**C-1**). Dans cette étude nous avons choisi le dérivé (**9a**) à titre d'exemple. Comme il n'existe aucune référence dans la littérature concernant la réaction de substitution nucléophile sur le dérivé (**9a**), nous avons cherché à optimiser les conditions qui nous permettraient d'obtenir le dérivé (**9b**) avec un bon rendement et une excellente sélectivité.

D'après la littérature nous avons trouvé que le choix de la base est très important, puisqu'il conditionne le caractère thermodynamique (obtention de l'anomère  $\alpha$ ) ou le caractère cinétique (obtention de l'anomère  $\beta$ ) de la réaction. L'anomère  $\beta$  sera favorisé par le traitement avec K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

La recherche des conditions optimales s'est appuyée sur la présence/absence des différents nombres d'équivalents d'acide de Lewis ( $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ) et DMAP. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **Tableau .I.15**.

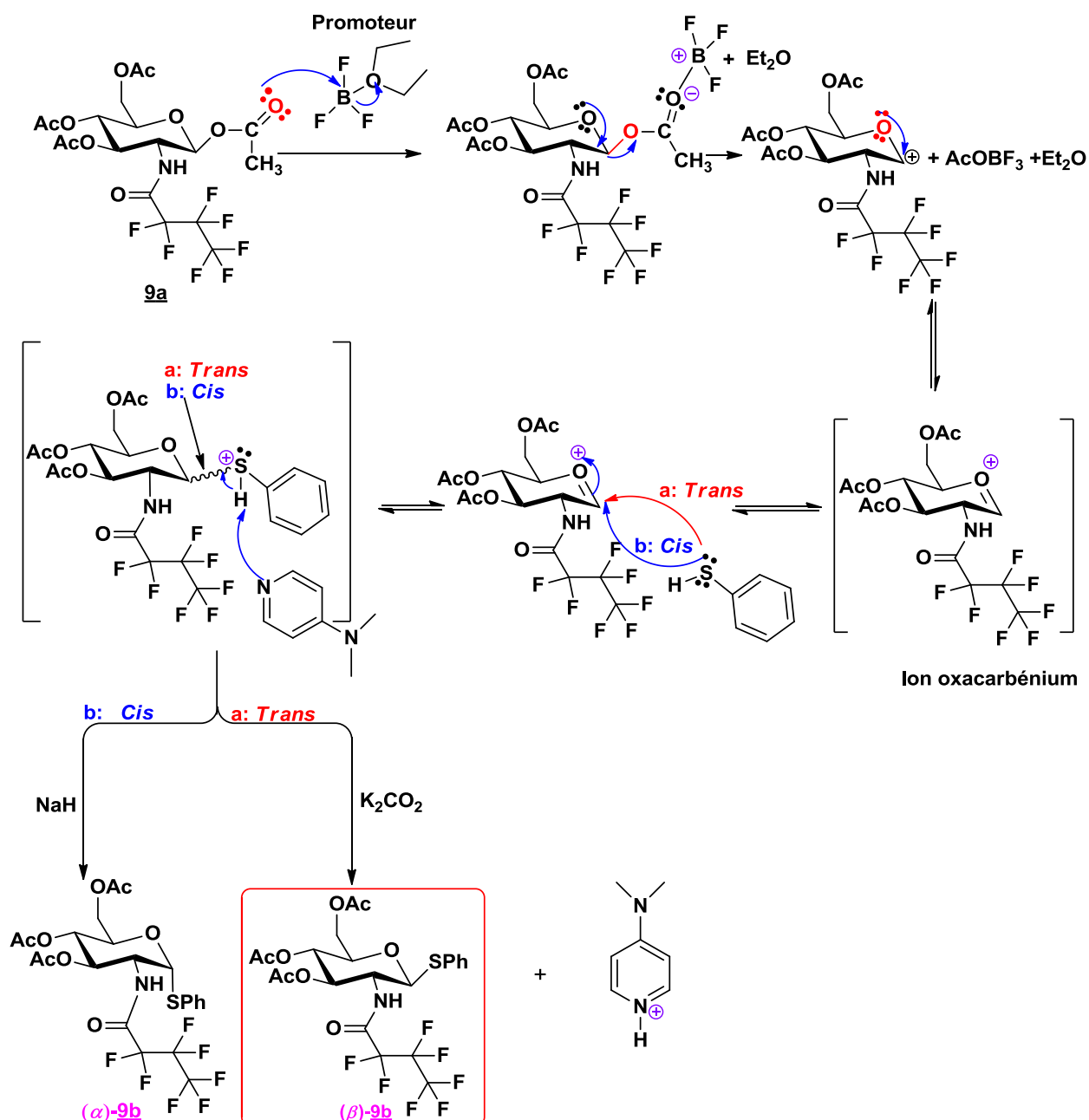
**Tableau.I.15. Etude méthodologique de la synthèse du composé **9b** par l'addition de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  et de DMAP**

Entrées	DMAP (xéq.)	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (xéq.)	Réactif	Conditions	Rdt (%) <sup>a</sup>	Composé <b>9b</b>
<b>1</b>	-	-			-	
<b>2</b>	1	0.5		$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	40	
<b>3</b>	1.5	1	Thiophénol	$\text{K}_2\text{CO}_3$	62	
<b>4</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	(PhSH)	T.amb	<b>92</b>	
<b>5</b>	-	1		5h	42	
<b>6</b>	2	-			5	

<sup>a</sup>Rendement isolé, purification par chromatographie sur gel de silice.

D'après le **tableau** ci-dessus, il n'y a aucune réaction de substitution sur le carbone **C-1**, en absence de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  et de DMAP (**Entrée 1**). En effet, la présence de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  et de DMAP dans le milieu réactionnel avec l'augmentation des nombres d'équivalents lors de l'étape de substitution, conduit à l'augmentation du rendement jusqu'à **92%** (**Entrée 4**). Le  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  et la DMAP jouent un rôle d'un catalyseur pour activer les sites. Sur le **Schéma.I.11**, nous proposons le mécanisme réactionnel le plus probable de substitution.

On sait que la réaction de substitution nucléophile à température ambiante avec 1éq.  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  et 2éq. DMAP dans un solvant apolaire  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  est de type  $\text{S}_\text{N}2$  et elle conduit à l'inversion de la configuration mais dans notre cas l'ajout de la base  $\text{K}_2\text{CO}_3$  a conservé la configuration.



**Schéma.I.11. Mécanisme proposé de la réaction de substitution sur la position anomérique en (C-1) par le thiophénol, catalysé par le  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  et DMAP**

L'étape clé de cette voie de synthèse est la substitution du groupement acétate en position anomérique (en C-1) du composé (**9a**) par un thiophénol (*il joue le rôle d'un donneur*). Le mécanisme réactionnel proposé explique la formation du composé (**9b**) par deux étapes successives, l'activation par l'acide de Lewis ( $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ) permet de rendre le carbone anomérique plus électrophile par formation d'intermédiaire sous forme d'un ion oxacarbenium afin de permettre l'attaque subséquente par le thiophénol dans les deux positions du C-1( $\text{sp}^2$ ), en présence de DMAP qui est utilisé comme

catalyseur pour accélérer la réaction de substitution du thiophénol et au même temps elle est considérée comme capteur des protons.

En effet, l'utilisation de  $K_2CO_3$  permet d'orienter la réaction afin d'obtenir un seul anomère avec une relation *trans*. Le carbone anomérique se stabilise en présence de  $K_2CO_3$  qui permet de rendre la position axiale inaccessible. Le couplage s'effectue alors seulement en position équatoriale pour obtenir l'anomère  $\beta$  pur (100%) ( $\beta$ -dérivé (**9b**) confirmé par RMN  $^1H$  :  $J_{1-2} = 9.8\text{Hz}$ ).

**Remarque :** Le mécanisme réactionnel de la réaction de substitution nucléophile sur la position anomérique en (C-1) en présence du  $BF_3Et_2O$ , DMAP et  $K_2CO_3$  est généralisé sur tous les dérivés.

En conclusion: même si la preuve directe n'a pu être fournie au cours de cette réaction (SN), le mécanisme que nous proposons reste une alternative nouvelle et cohérente avec l'expérimentation.

Les structures ont été identifiées par les méthodes spectroscopiques usuelles (RMN  $^1H$ ,  $^{13}C$  et IR). Le Tableau.I.16. rassemble quelques propriétés physicochimiques des composés (**9b**, **2b**, **5b**, **5c** et **7a**).

**Tableau.I.16.**Caractrisation des quelques propriétés physicochimiques des dérivés (**9b**, **2b**, **5b**, **5c** et **7a**)

Composés	F° C	$[\alpha]_D^{20^\circ C}$ *	IR ( $\nu\text{ cm}^{-1}$ )			ESI-MS
<b>9b</b>	92-94	-23.8 (c = 1.07, $CHCl_3$ )	(Ar <sub>monsb</sub> ) 700 (C=C <sub>Ar</sub> )	(C-S) 745 -	(C=C <sub>Ar</sub> ) 1625 -	[M + Na] <sup>+</sup> <b>708.455</b>
<b>2b</b>	211-213	-----	1667	-	-	[M + Na] <sup>+</sup> <b>460.1584</b>
<b>5b</b>	287-288	+ 60.9 (c = 0.6, $CHCl_3$ )	-	-	(C=C <sub>Ally</sub> ) 1673	[M + Na] <sup>+</sup> <b>452. 5235</b>
<b>5c</b>	144-147	+ 25.9 (c = 2.14, $CHCl_3$ )	-	(C- S) 732	-	[M + H] <sup>+</sup> <b>433,3559</b>
<b>7a</b>	205-207	- 60 (c = 0.5, 1:1 $CHCl_3$ :MeOH)	-	(C- S) 725	-	[M - Na] <sup>+</sup> <b>500,1334</b>

\*Pouvoir Rotatoire

En spectroscopie infrarouge, l'introduction des groupements thiophénol dans le composé (**9a**) et éthanethiol dans les composés (**5a** et **7**) est confirmée par l'apparition de la bande d'absorption

(C=C<sub>Ar</sub> du composé **9b**) et un léger effet sur les fréquences d'absorption de vibration de liaison (C-S) dans les trois dérivés (**9b**, **5c** et **7a**), tandis que les nombres d'ondes des autres groupements sont décalés. L'introduction des groupements alcool benzylique et alcool allylique dans les composés (**2** et **5a**) respectivement est confirmée par l'apparition de la bande d'absorption (C=C<sub>Ar</sub> du composé **2b** et C=C<sub>Ally</sub> du composé **5b**).

En RMN <sup>1</sup>H la réaction de substitution des thiols et les alcools fortement déblindés est mise en évidence par la disparition du signal CH<sub>3</sub> des composés de départ et l'apparition de nouveau singulet attribué aux protons des cycles aromatiques (**9b** et **2b**), le proton allylique (**5b**) et les protons éthylique (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>) (**5c** et **7a**). Les autres signaux restent relativement semblables à ceux des produits de départ. Le **Tableau.I.17.** ci-dessous, récapitule tous les signaux caractéristiques attendus et les déplacements chimiques en RMN <sup>1</sup>H.

**Tableau.I.17. Signaux caractéristiques attendus et déplacements chimiques des dérivés carbamates (**9b**, **2b**, **5b**, **5c** et **7a**) en RMN <sup>1</sup>H**

Composés	$\delta$ (ppm)	Signaux et nombres de protons	Correspond	(J en Hz)
<b>9b</b>	5.26	<i>d</i> (1H)	$\beta$ CH-1	9.8
	7.26-7.40	<i>m</i> (5H)	SPh-H	-
	7.27-7.46	<i>m</i> (5H)	Ar-H	-
<b>2b</b>	5.89	<i>d</i> (1H)	$\beta$ CH-1	8.5
	4.71	<i>d</i> (2H)	CH <sub>2</sub> -Ph	11.9
	5.14	<i>dq</i> (1H)	CH=CH <sub>2</sub> *	-
	5.80	<i>d</i> (1H)	$\beta$ CH-1	7.2
<b>5b</b>	4.30	ABq(1Ha)	CH <sub>a</sub> H <sub>b</sub> CH=Ally	-
	4.03	ABq(1Hb)	CH <sub>a</sub> H <sub>b</sub> CH=Ally	-
	4.90	<i>d</i> (1H)	$\beta$ CH-1	8.6
<b>5c</b>	2.85	<i>m</i> (2H)	SCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-
	1.24	<i>t</i> (3H)	SCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	7.4
<b>7a</b>	2.70	<i>m</i> (2H)	SCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-
	1.24	<i>t</i> (3H)	SCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-
	5.20	<i>d</i> (1H)	$\beta$ CH-1	8.6

\**cis* H *trans*Ally (mélange)

D'après le **Tableau.I.17.** nous avons observé que le proton CH-1 de l'anomère  $\beta$ , caractérisé par une forte constante de couplage dans tous les composés, a un déplacement chimique vers les champs faibles.

Le RMN <sup>13</sup>C est en accord avec la structure proposée pour tous les dérivés (**9b**, **2b**, **5b**, **5c** et **7a**). Le déplacement chimique du carbone anomérique C-1 qui caractérise la position anomère  $\beta$  des

dérivés (9b, 2b, 5b, 5c et 7a) est (93.9, 96.7, 97.3, 99.1 et 98.9 ppm) respectivement. La spectroscopie de masse à ionisation par électro-spray (ESI-MS) a donné des pics moléculaires (*pic de base 100%*) qui coïncident avec les structures développées proposées.

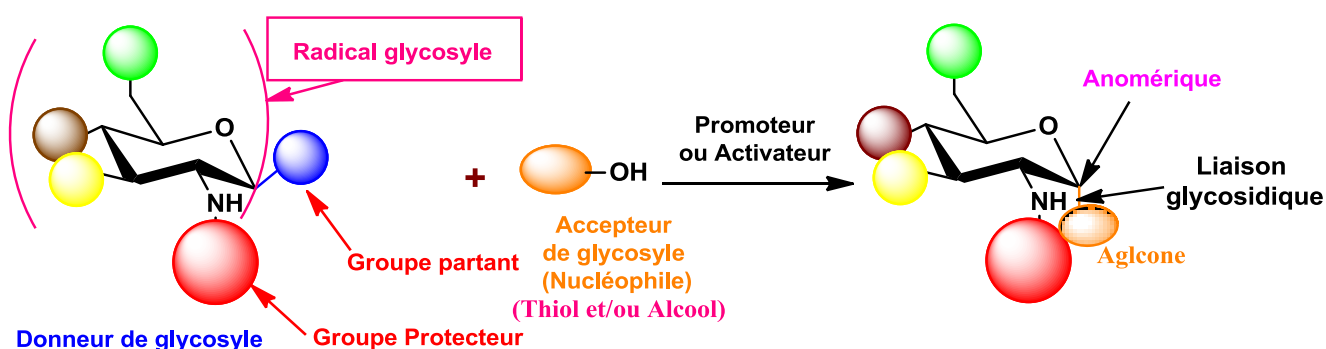
#### I.4.1.Conclusion

La réaction de substitution nucléophile (SN) sur la position anomérique fait intervenir dans la synthèse glycosylation des sucres un groupement accepteur et/ou donneur de glycosyle. Pour ce faire, nous avons adopté le même protocole réactionnel, mais avec modification de voie de synthèse. La réaction de substitution nucléophile directe avec le donneur tel que (thiol et/ou alcool) sur les dérivés carbamates (9a, 2, 5a et 7) en présence de **1éq. BF<sub>3</sub>-Et<sub>2</sub>O**, **2éq et DMAP** conduit aux composés (9b, 2b, 5b, 5c et 7a) avec une bonne sélectivité (**100% pur**) et un rendement varie entre **70-92%**.

En conclut que la réaction de substitution nucléophile sur la position anomérique (en **C-1**) du *D*-glucosamine modifiée présente une nouvelle voie d'accès aux dérivés (9b, 2b, 5b, 5c et 7a) dans des conditions douces. En effet nous n'avons pas trouvé des études sur ces dérivés dans la littérature.

#### I.5. Déprotection de la position anomérique C-1 par la bromation et le suivie par l'hydrolyse

La régénération du groupement hydroxyle du carbone anomérique, s'effectue par la déprotection et le suivie par la substitution nucléophile des groupements alcools et/ou thiols. Le principe général de la déprotection de la position anomérique **C-1** est résumé en deux étapes: Le donneur comporte un substituant électronégatif en position anomérique qui est généralement transformé en bon groupe partant par l'action d'un promoteur; Le donneur ainsi activé est ensuite attaqué par l'accepteur (un thiol et/ou un alcool) pour former le produit désiré (**Figure.I.5**).



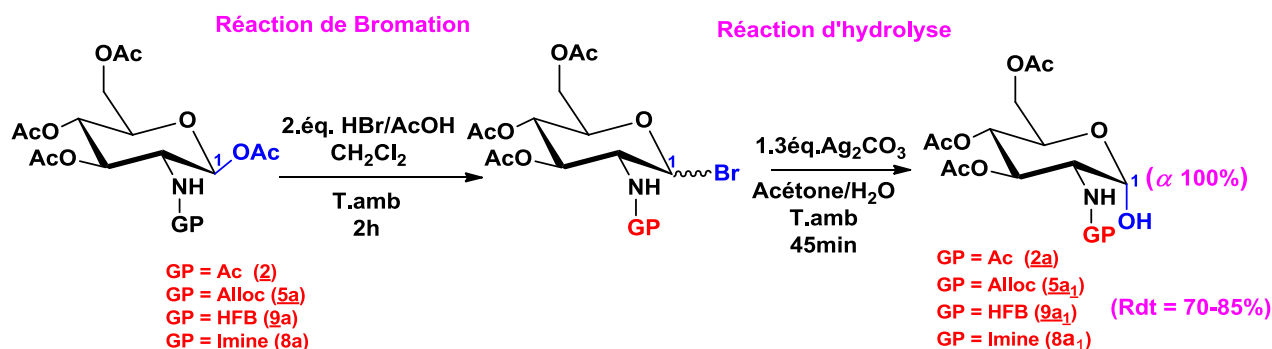
**Figure.I.5. Réaction générale de déprotection de la position anomérique C-1 du *D*-glucosamine**

Plusieurs réactions sont connues pour la régénération de la fonction hydroxyle du carbone anomérique lors de l'utilisation du groupement protecteur acétate (*groupement partant*). La déprotection de la position anomérique peut se faire entre autres grâce aux acides de Lewis. Par contre, ceux-ci ne permettent pas de déprotéger sélectivement la position C-1, mais s'attaquent à celle-ci en

premier avant les autres. L'obtention du produit voulu est possible uniquement avec des rendements moyens<sup>17,18</sup>.

Une autre approche de déprotection sélective de la position C-1 consiste à introduire un brome en position C-1, ensuite, à hydrolyser le dérivé bromé avec le carbonate d'argent afin de régénérer l'alcool, cette approche permet d'obtenir des rendements élevés. Même si de nombreuses méthodes existent pour la déprotection et l'hydrolyse de la position anomérique C-1, le problème du carbone anomérique persiste toujours. De plus, elles ne sont pas généralisables à une grande variété des composés à déprotéger et à hydrolyser en position anomérique C-1<sup>19,20</sup>. Cette déprotection peut être effectuée de façon sélective puisque le groupement hydroxyle du carbone anomérique est dans un environnement chimique différent des autres groupements hydroxyles de la D-glucosamine.

À partir des différentes méthodes de synthèse publiées, nous avons utilisé un outil de synthèse déjà développé dans notre laboratoire, la déprotection est suivie par l'hydrolyse de la position anomérique C-1 par **HBr/AcOH** et **Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** dans le dichlorométhane anhydre à basse température. La réaction est effectuée en prenant les précautions nécessaires afin d'obtenir un milieu réactionnel anhydre. Les étapes de synthèse pour l'obtention des dérivés (**2a**, **5a<sub>1</sub>**, **9a<sub>1</sub>** et **8a<sub>1</sub>**) à base de D-glucosamine sont représentées sur le **Schéma.I.12**.



**Schéma.I.12.** Déprotection de la position anomérique par la bromation suivie de l'hydrolyse des dérivés (**2**, **5a**, **9a** et **8a**) à base de D-glucosamine

Le but de cette étape est la libération de la fonction alcool du carbone anomérique pour l'utiliser dans la synthèse des dérivés bicycliques phosphoré chiraux. Les résultats sont présentés dans le **Tableau. I.18**.

<sup>17</sup>. T-W Greene, P-G. Wuts. Protective Groups in Organic Synthesis. John Wiley & Sons. New York. 3<sup>th</sup> ed, 1999, 494 – 653.

<sup>18</sup>. A. Nudelman, J. Herzig, E-H Gottlieb. Carbohydr. Res. 1987, 162(1), 145 – 152.

<sup>19</sup>. S. Deng, B. Yu, J. Xie, Y. Hui. J. Org. Chem. 1999, 64(19), 7265 – 7266.

<sup>20</sup>. J-L. Vasse, S. Goumain, V. Levacher, G. Dupas, G. Queguiner, J. Bourguignon, Tetrahedron Lett. 2001, 42, 1871 – 1873.



Tableau .I.18. Conditions réactionnelles optimisées pour la réaction de déprotection, suivie par hydrolyse sur la position anomérique (en C-1)

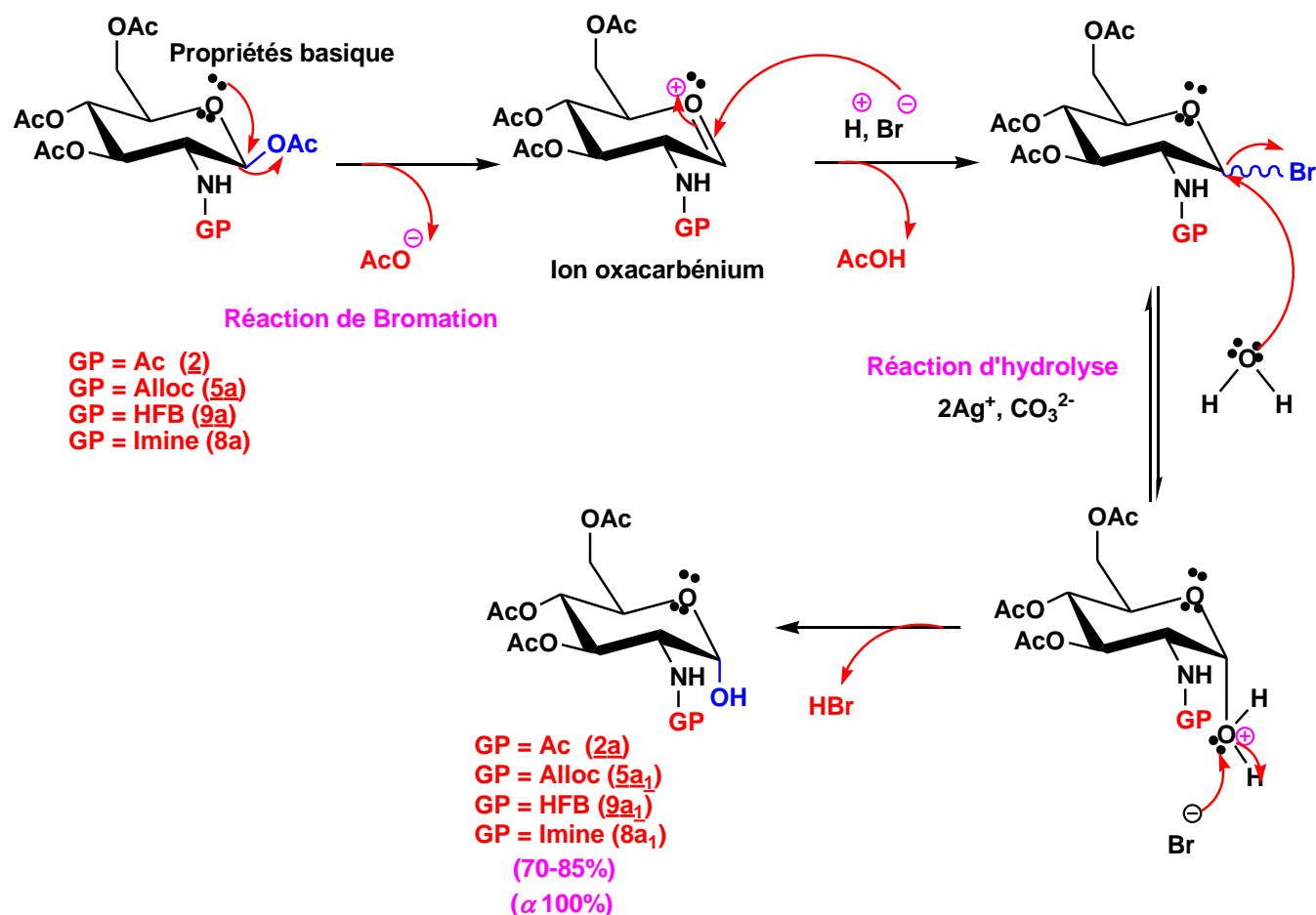
Composés	Conditions	Temps	R <sub>f</sub> <sup>*</sup>	F °C	$[\alpha]_D^{20}$	Rdt (%)
<b>2a</b>	1) 2.éq. <b>HBr/AcO</b> <b>H 33%</b>	1) Déprotection	0.30 <sup>a</sup>	245-246	+ 55 ° (c =1.00, CHCl <sub>3</sub> )	<b>73</b>
<b>5a<sub>1</sub></b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> T.amb	2h	0.42 <sup>a</sup>	109-110	+ 25.9° (c =2.14, CHCl <sub>3</sub> )	<b>85</b>
<b>9a<sub>1</sub></b>	2) 1.3éq. <b>Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b> Acétone/H <sub>2</sub> O	2) Hydrolyse 45min	0.23 <sup>a</sup>	178-180	+ 96° (c =1, CH <sub>3</sub> OH)	<b>77</b>
<b>8a<sub>1</sub></b>	T.amb		0.30 <sup>b</sup>	125-128	-----	<b>50</b>

\* éluant <sup>a</sup> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH : 9/1) ; <sup>b</sup> (EP/AcOEt : 8/2)

D'après les ces résultats, la réaction de bromation suivie par l'hydrolyse permet l'obtention des bons rendements (**85%**, **77%** et **73%**) pour les dérivés (**5a<sub>1</sub>**, **9a<sub>1</sub>** et **2a**) respectivement et **50%** pour le composé (**8a<sub>1</sub>**), ce résultat peut être due à l'équilibre tautomérisation **imine** ↔ **cycle (oxazolidine)** (voir le Schéma.I.14. Chapitre.I.), nous pouvons conclure que ce protocole est adapté pour tous les dérivés utilisés dans cette manipulation. Étant donné que cette méthode permet la déprotection sélective de la position **C-1**. L'utilisation du **HBr/AcOH 33%** lors de la première réaction requiert de travailler dans un milieu réactionnel anhydre.

La réaction de bromation est sélective à la position **C-1**, elle consiste à introduire un brome en position **1** par l'acide bromhydrique dans l'acide acétique, et ensuite, à hydrolyser le dérivé brome avec **1.3éq. Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** afin de régénérer l'alcool. De plus, les manipulations sont courtes puisque deux réactions successives, (la bromation et l'hydrolyse), sont nécessaires, c'est celle qui permet d'obtenir le meilleur rendement ainsi que la meilleure sélectivité à la position anomérique ( $\alpha$  **100%**).

Le mécanisme de la réaction se décompose en deux étapes: La première étape est une déprotection (*réaction de bromation*) du groupement acétate et l'introduction du brome en position **C-1** par réaction de substitution nucléophile (S<sub>N</sub>2) pour former l'ion oxacarbénium instable (intermédiaire). La deuxième étape est l'activation par un brome qui permet de rendre le carbone anomérique plus électrophile afin d'hydrolyser cet intermédiaire par **H<sub>2</sub>O/Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** pour former des produits désirés avec une meilleure sélectivité du carbone anomérique ( $\alpha$  **100%**) et avec de bons rendements autour de **50-85%**. La Schéma.I.13. présente le mécanisme proposé à la synthèse des dérivés (**2a**, **5a<sub>1</sub>**, **9a<sub>1</sub>** et **8a<sub>1</sub>**)

Schéma.I.13. Mécanisme réactionnel proposé pour la synthèse des dérivés (**2a**, **5a<sub>1</sub>**, **9a<sub>1</sub>** et **8a<sub>1</sub>**)

D'après le schéma ci-dessus, un mécanisme de type  $\text{S}_{\text{N}}2$  impliquant par conséquent une inversion de configuration est généralement observé, pour tous les dérivés, l'attaque d'une molécule d'eau au côté opposé du brome en position *cis* du carbone **C-1**.

La caractérisation et l'étude en spectroscopie de **RMN** ont été effectuées dans le  $\text{CDCl}_3$  et le MeOD pour (**2a**, **5a<sub>1</sub>**, **8a<sub>1</sub>**) et pour (**9a<sub>1</sub>**) respectivement. La formation de ces dérivés est affirmée par l'apparition d'un seul signal caractéristique du proton porté par l'oxygène en position anomérique C-1 sur les spectres de RMN  $^1\text{H}$ ,

**Tableau. I.19.** ci-dessous récapitule tous les signaux caractéristiques (**OH-1** et  $\alpha\text{CH-1}$ ) attendus et les déplacements chimiques en RMN  $^1\text{H}$ .

Tableau.I.19. Signaux caractéristiques et déplacements chimiques des dérivés (2a, 5a<sub>1</sub>, 9a<sub>1</sub> et 8a<sub>1</sub>) en RMN  $^1\text{H}$ 

Composés	$\delta$ (ppm)	Signaux et nombres de protons	Correspond	(J en Hz)
<u>2a</u>	4.02	<i>s</i> (1H)	OH-1	-
	6.15	<i>d</i> (1H)	$\alpha\text{CH-1}$	3.90
<u>5a<sub>1</sub></u>	5.37	<i>s</i> (1H)	OH-1	-
	6.70	<i>d</i> (1H)	$\alpha\text{CH-1}$	3.96
<u>9a<sub>1</sub></u>	4.27	<i>s</i> (1H)	OH-1	-
	5.55	<i>d</i> (1H)	$\alpha\text{CH-1}$	4.01
<u>8a<sub>1</sub></u>	3.71	<i>s</i> (1H)	OH-1	-
	6.00	<i>d</i> (1H)	$\alpha\text{C-1}$	3.70

En RMN  $^{13}\text{C}$ , le déplacement chimique du signal caractéristique du  $\alpha\text{C-1}$  des dérivés (2a, 5a<sub>1</sub>, 9a<sub>1</sub> et 8a<sub>1</sub>) vers des valeurs déblindées est observé, le signal du carbone anomérique **C-1** apparaît distinct dans tous les composés, ce qui confirme la configuration  $\alpha$ , donc une inversion de configuration laisse croire à un mécanisme de type  $\text{S}_{\text{N}}2$ .

Le **Tableau.I.20.** récapitule tous les signaux caractéristiques ( $\alpha\text{C-1}$ ) attendus et les déplacements chimiques en RMN  $^{13}\text{C}$ .

Tableau.I.20. Signaux caractéristiques et déplacements chimiques des dérivées (2a, 5a<sub>1</sub>, 9a<sub>1</sub> et 8a<sub>1</sub>) en RMN  $^{13}\text{C}$ 

Composés	$\delta$ (ppm)	Correspond	Hybridation du carbone
<u>2a</u>	90.70	C-1	$\text{sp}^3$
<u>5a<sub>1</sub></u>	92.88	C-1	$\text{sp}^3$
<u>9a<sub>1</sub></u>	94.61	C-1	$\text{sp}^3$
<u>8a<sub>1</sub></u>	96.20	C-1	$\text{sp}^3$

D'après les résultats du **Tableau.I.19.** et celles du **Tableau. I.20,** la configuration du carbone anomérique **C-1** est  $\alpha$ . Cela implique que, le groupement hydroxyle de l'anomère  $\alpha$  est en position *axiale* (**Figure.I.6**).

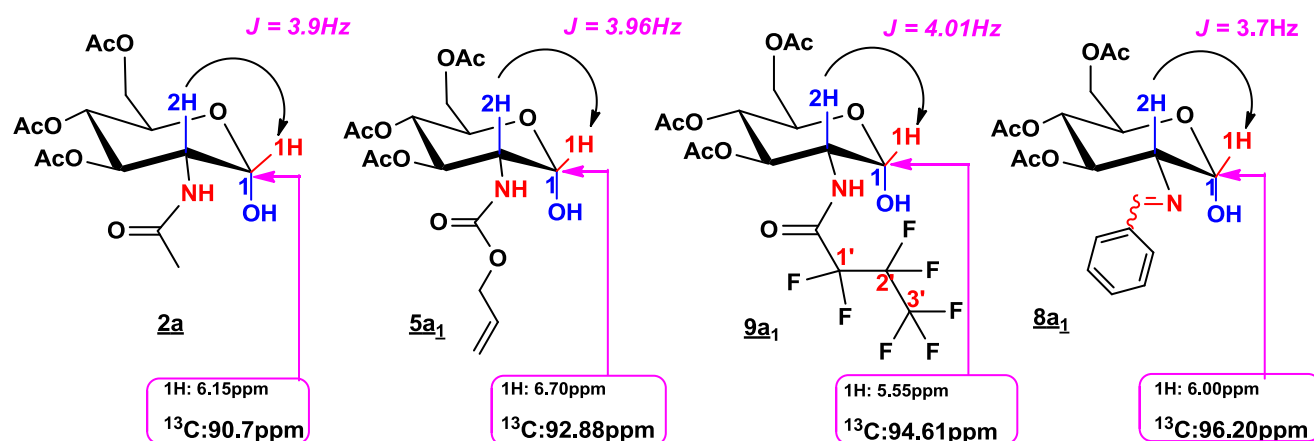


Figure.I.6. Comparaison des déplacements chimiques du carbone anomérique C-1 des composés (2a, 5a<sub>1</sub>, 9a<sub>1</sub> et 8a<sub>1</sub>) en RMN ( $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ )

En **IR**, l'apparition d'une bande large caractéristique du groupement hydroxyle vers **1260-1350  $\text{cm}^{-1}$**  pour tous les dérivés obtenus, qui confirme la réaction d'hydrolyse sur le carbone anomérique des dérivés examinés

### I.5. 1.Conclusion

La synthèse des composés (2a, 5a<sub>1</sub>, 9a<sub>1</sub> et 8a<sub>1</sub>) a ainsi été réalisée à partir de la déprotection sélective qui consiste à introduire un brome en position **C-1**, ensuite à hydrolyser le dérivé bromé par une réaction de substitution **S<sub>N</sub>2** en présence du carbonate d'argent, afin de régénérer l'alcool. Pour la suite des travaux, les quatre produits alcools formés seront utilisés dans l'élaboration de nouveaux bicycliques phosphorés chiraux. Cette stratégie, qui consiste à la libération de fonction hydroxyle du carbone anomérique, elle a pour but de préparer toute une série de bicyclique phosphorylés chiraux, avec une grande variété structurale, pour permettre par la suite de réaliser une étude structure-activité complète de ces composés.

*L'objectif était donc de trouver une voie de synthèse des dérivés bicycliques phosphorés chiraux à base de la D-glucosamine modifiée.*

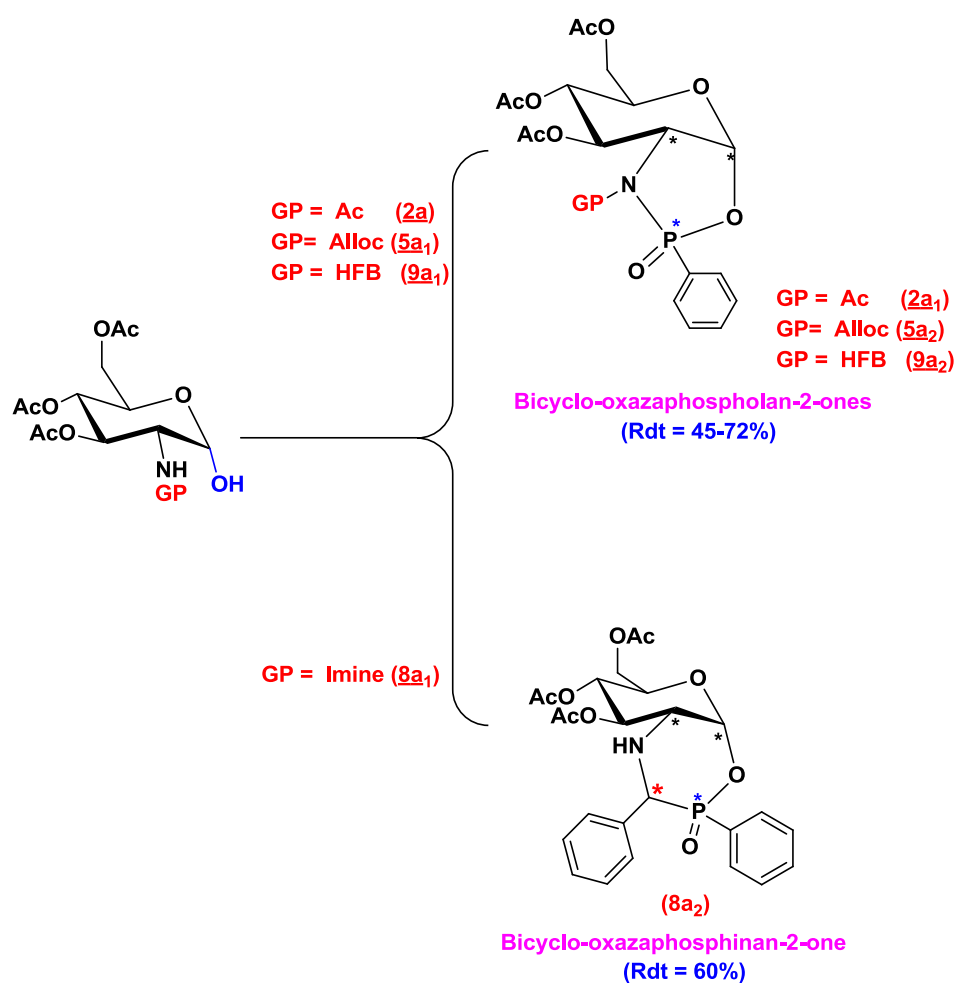
### I.6. Synthèse des dérivés bicycliques phosphorylés chiraux à base des dérivés de la D-glucosamine

Depuis quelques années, notre laboratoire développe la synthèse d'hétérocycles du type oxazaphospholidinone *P*-chirogénique partant d'un amino-alcool chiraux, il a mis au point une méthode de synthèse de bicycliques phosphorylés chiraux. Dans notre cas, nous nous sommes

intéressés plus particulièrement à la synthèse d'hétérocycles phosphorylés à base de *D*-glucosamine modifiée sous forme carbamate (**2a**, **5a<sub>1</sub>**, **9a<sub>1</sub>**) et sous forme imine (**8a<sub>1</sub>**).

Ces deux formes conduisent à la synthèse des deux catégories des bicycliques phosphorylés. La première catégorie (bicyclo-oxazaphospholidinones) est obtenu dans le cas de l'utilisation des dérivés (**2a**, **5a<sub>1</sub>**, et **9a<sub>1</sub>**), alors que la deuxième catégorie (*qui est bicyclo-oxazaphosphinane*), est abouti par l'utilisation du dérivé imine (**8a<sub>1</sub>**).

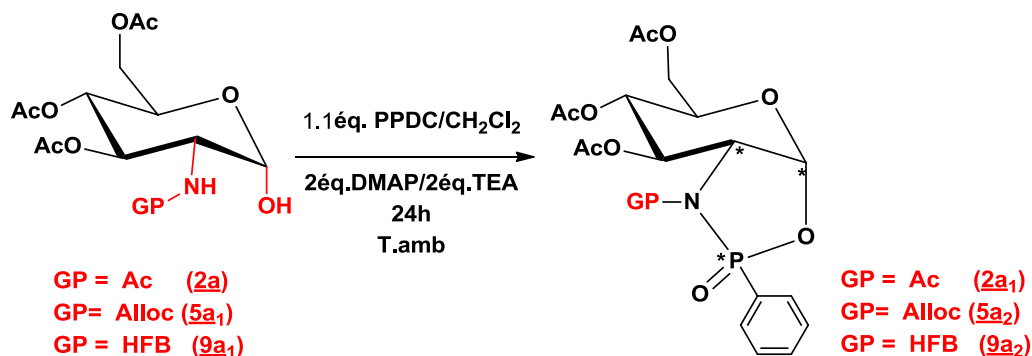
Le choix des groupements (Ac, Alloc, HFB et imine) est motivé de la compatibilité des fonctions avec les conditions réactionnelles. Afin de réaliser la synthèse des composés bicycliques phosphorylés chiraux de la *D*-glucosamine modifiée, nous avons employé les conditions de la condensation de **Wang** et l'étude d'addition de **DMAP** de **Ferry** pour l'obtention des bicycliques phosphorylés avec de bons rendements, après plusieurs essais, nous avons obtenu le bicyclo-oxazaphospholan-2-ones (**2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>**, et **9a<sub>2</sub>**) et bicyclo-oxazaphosphinan-2-one (**8a<sub>2</sub>**), selon le **Schéma.I.14**. réactionnel illustré ci-dessous:



**Schéma.I.14.** Synthèse des dérivés bicyclique phosphorylés chiraux à base de la *D*-glucosamine modifiée

## I.6.1. Synthèse des dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones chiraux

Les bicyclo-oxazaphospholan-2-ones chiraux sont synthétisés par l'utilisation des dérivés alcools (**2a**, **5a<sub>1</sub>**, et **9a<sub>1</sub>**) en présence de **PPDC** et **DMAP** comme catalyseur, le **TEA** comme base et à température ambiante (**Schéma.I.15**). Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau I.21**.



**Schéma.I.15.** Synthèse des dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones (**2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>** et **9a<sub>2</sub>**) à base de la *D*-glucosamine modifiée

**Tableau .I.21.** Conditions réactionnelles optimisées pour la réaction de synthèse des dérivés (**2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>** et **9a<sub>2</sub>**) bicyclo-oxazaphospholan-2-ones chiraux

Composés	Conditions	Temps	R <sub>f</sub> <sup>*</sup>	F°C	Rdt (%)
<b>2a<sub>1</sub></b>	1.1 éq. PPDC/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	10 à 24h	0.66 <sup>a</sup>	278-279	45
<b>5a<sub>2</sub></b>	2 éq. TEA		0.56 <sup>a</sup>	123-125	<b>60</b>
<b>9a<sub>2</sub></b>	2 éq. DMAP		0.62 <sup>a</sup>	162-164	<b>72</b>
	T. amb				

\* Éluant <sup>a</sup> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ AcOEt : 8/2)

Sur une durée de réaction volontairement prolongée (**24 heures**), les résultats montrent que les conditions optimales pour la synthèse des dérivés (**2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>** et **9a<sub>2</sub>**), impliquent un milieu très basique (2 éq. DMAP et 2 éq. TEA), un solvant apolaire (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) et une température ambiante.

Les résultats sont rassemblés dans le **Tableau.I.21**. Les dérivés (**5a<sub>2</sub>** et **9a<sub>2</sub>**) sont synthétisés avec de bon rendements contrairement au dérivé (**2a<sub>1</sub>**) qui a donné un mauvais rendement, ce résultat peut sans doute être attribué à la présence d'un groupement acétate qui joue le rôle d'un attracteur d'électrons et qui rend l'azote pauvre en électrons. Nous pouvons conclure que l'effet du groupement est lié à l'atome d'azote qui influe sur le rendement de la réaction de synthèse des bicyclo-oxazaphospholan-2-ones chiraux.

*Les résultats semblent indiquer que plus l'azote est riche en électrons (groupement donneur), plus les rendements sont élevés.*

Comme les conditions choisies lors la synthèse des dérivés (**2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>** et **9a<sub>2</sub>**) bicyclo-oxazaphospholan-2-ones chiraux ont permis l'obtention de bons résultats, il est par conséquent très difficile d'optimiser les conditions réactionnelles. Il est toute fois possible d'étudier l'influence de la quantité de DMAP sur le rendement de la réaction, ce que nous avons fait (voir le tableau ci-dessous).

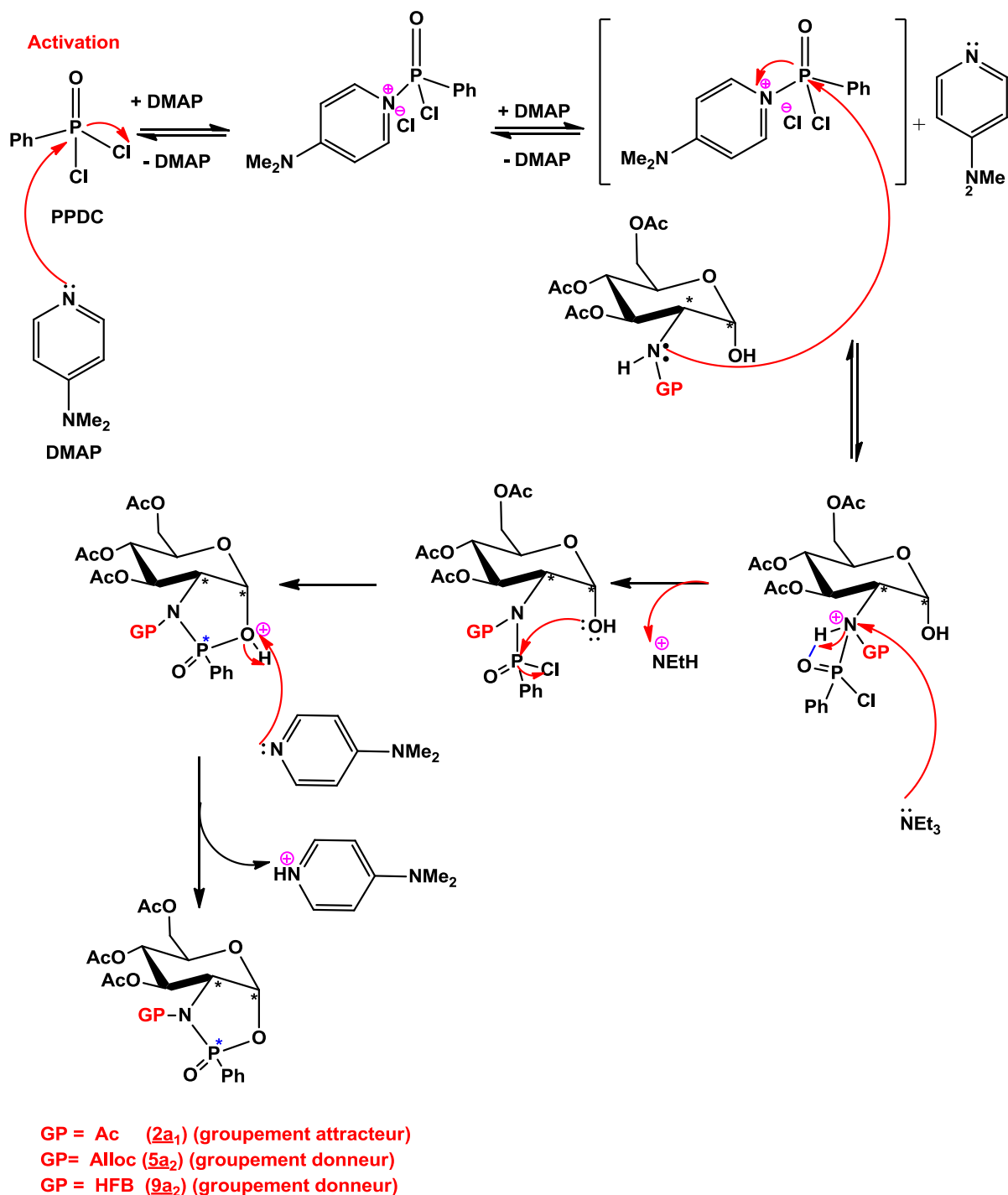
**Tableau.I.22. Effet de la quantité de DMAP sur le rendement de la réaction**

Entrée	DMAP (Masse en mol (%))	Temps de réaction	Rdt (%)		
			<b>2a<sub>1</sub></b>	<b>5a<sub>2</sub></b>	<b>9a<sub>2</sub></b>
<b>1</b>	0	24h	-	-	-
<b>2</b>	1	10h	5	10	10
<b>3</b>	5	5h	25	40	25
<b>4</b>	10	1h	45	60	53
<b>5</b>	15	<b>30min</b>	50	<b>75</b>	<b>90</b>
<b>6</b>	20	<b>30min</b>	<b>60</b>	50	<b>85</b>
<b>7</b>	25	30min	55	45	60

D'après ces résultats, nous avons pu confirmer que l'utilisation de 15 mol% de DMAP permet d'améliorer le rendement du dérivé (**9a<sub>2</sub>**) (90%) et réduire le temps (30min) (**Entrée 5**) et pour le dérivé (**5a<sub>2</sub>**) une amélioration de rendement (**75%**) pendant 30min a été observé pour (**15mol%** de DMAP), par contre, pour le dérivé (**2a<sub>1</sub>**), le rendement est augmenté jusqu'à **60%** pendant 30min, pour 20 mol% de DMAP (**Entrée 6**). Ces résultats ont été conformes à celle obtenus par **Wang** qui a étudié l'effet de la quantité de la DMAP sur le rendement de la réaction.

La synthèse des bicyclo-1,3,2-oxazaphospholidin-2-ones à base de la *D*-glucosamine comprend deux étapes : La condensation du groupement amine sur le site actif de dichlorophénylphosphine, en présence de **DMAP**, permet de former un intermédiaire, suivie par une cyclisation intramoléculaire pour conduire aux produits désirés avec une excellente sélectivité.

Le mécanisme réactionnel proposé pour la synthèse des bicyclo-oxazaphospholan-2-ones est présenté sur le **Schéma.I.16** ci-dessous :



**Schéma.I.16. Mécanisme réactionnel proposé pour la synthèse des dérivés bicyclo-1,3,2-oxazaphospholidin-2-ones à base de la D-glucosamine**

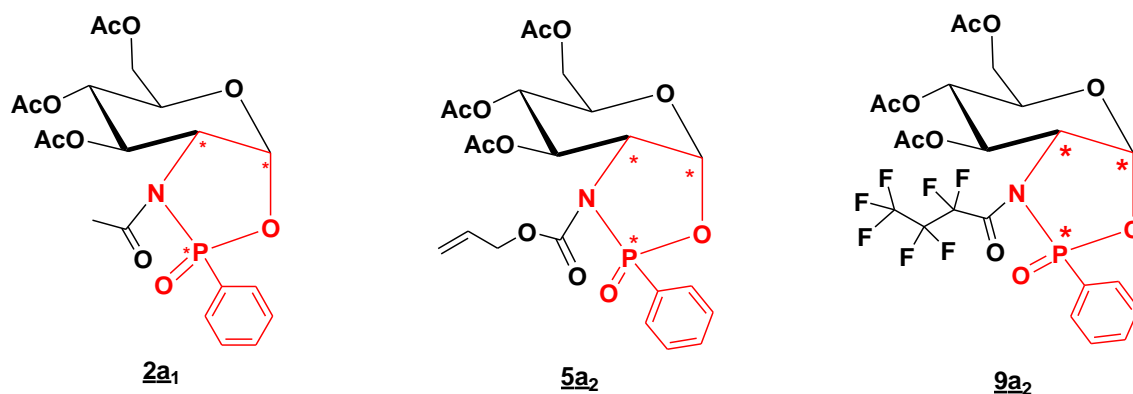
Le mécanisme réactionnel qui est décrit dans le **Schéma.I.16** montre deux étapes successives: Tout d'abord, la DMAP et le PPDC réagissent dans une réaction de pré-équilibre pour former une paire d'ions de la phosphine et de l'ion phosphin-pyridinium. La fonction la plus réactive est l'amine protégée par des groupements donneurs (Alloc et HFB) et du groupement attracteur acétate, l'amine secondaire



réagit sur le site actif de l'ion phosphin-pyridinium dans les deux cas avec le départ d'ion chlorure. Le chlorhydrate d'ammonium formé est neutralisé par le TEA, ensuite la cyclisation intramoléculaire se fait par l'attaque nucléophile du groupement hydroxyle libre de la position anomérique (**OH-1**) sur le phosphore avec le départ du second chlore. Le bicyclic aux d'oxazaphospholidin-2-ones (**2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>** et **9a<sub>2</sub>**) se forme ainsi. L'ion oxonium formé est immédiatement neutralisé par un deuxième équivalent de DMAP pour former les ions du pyridinium.

**Remarque:** La DMAP à une efficacité catalytique et une corrélation avec la stabilité des intermédiaires formés, elle agit comme un catalyseur nucléophile et joue un rôle très important sur la sélectivité des réactions chimiques.

Tous les dérivés des bicyclo-oxazaphospholan-2-ones (**2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>** et **9a<sub>2</sub>**) dans cette réaction sont regroupés dans la **Figure.I.7**.



**Figure.I.7. Structures des bicyclo-oxazaphospholan-2-ones synthétisés**

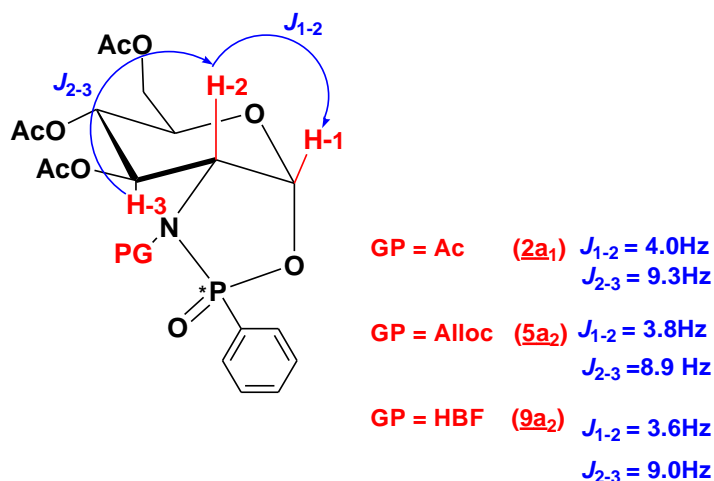
Les dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones synthétisés ont été caractérisés par résonance magnétique nucléaire RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ ) et l'étude en solution été effectuée dans le  $\text{CDCl}_3$  et le  $\text{MeOD-}d^4$  selon la solubilité des produits (**2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>**) et (**9a<sub>2</sub>**) respectivement.

La formation de ces dérivés est affirmée par l'apparition d'un seul signal caractéristique des 5 protons portés par le cycle aromatique et la disparition du signal qui caractérise le proton porté par l'azote sur les spectres de RMN  $^1\text{H}$ . Le **Tableau. I.23**. ci-dessous récapitule les résultats en RMN, (cycle aromatique, **H-1** et **H-2** du bicyclic).

Tableau.I.23. Signaux caractéristiques et déplacements chimiques des dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones chiraux en RMN  $^1\text{H}$ 

Composés	$\delta$ (ppm)	Signaux et nombres de protons	Correspond	(J en Hz)
<u>2a<sub>1</sub></u>	7.44-7.76	m(5H)	ArH	-
	5.90	d(1H)	CH-1	4.0
	4.73	m(1H)	CH-2	9.3
<u>5a<sub>2</sub></u>	7.33-7.36	m(5H)	ArH	-
	5.95	d(1H)	CH-1	3.8
	4.96	m(1H)	H-2	8.9
<u>9a<sub>2</sub></u>	7.0-7.30	m(5H)	ArH	-
	5.89	d(1H)	CH-1	3.6
	4.88	m(1H)	CH-2	9.0

Nous nous sommes donc basés sur les constantes de couplage  $J_{1-2}$ ,  $J_{2-3}$  présentées dans le **Tableau. I.23.** pour déterminer la formation de bicyclic (**H-1** et **H-2**) (**Figure.I.8**).

Figure.I.8. Constante de couplage  $J_{1-2}$ ,  $J_{2-3}$ , avec les déplacements chimiques des dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones (2a<sub>1</sub>, 5a<sub>2</sub> et 9a<sub>2</sub>)

En RMN  $^{13}\text{C}$ , les structures sont confirmées par la présence des pics caractéristiques des cycles aromatiques, l'analyse montre aussi que le déplacement chimique du **C-1** et **C-2** est situé dans les champ forts.

En RMN  $^{31}\text{P}$ , les dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones (2a<sub>1</sub>, 5a<sub>2</sub> et 9a<sub>2</sub>) sont caractérisés par l'apparition d'un pic correspond au groupement phosphonate. Le **Tableau. I.24.** ci-dessous récapitule tous les signaux caractéristiques (cycle aromatique, **C-1** et **C-2** du bicyclic et le groupement phosphonate) attendus et les déplacements chimiques en RMN  $^{13}\text{C}$  et  $^{31}\text{P}$

Tableau.I.24. Signaux caractéristiques et déplacements chimiques des dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones chiraux en RMN  $^{13}\text{C}$  et  $^{31}\text{P}$ 

Composés	RMN $^{13}\text{C}$		RMN $^{31}\text{P}$	
	$\delta$ (ppm)	Correspond	$\delta$ (ppm)	Correspond
<b>2a<sub>1</sub></b>	111.8	(C-1)	35.26	P
	43.1	(C-2)		
	133.5-136.9	(6xC <sub>arom</sub> , Ar)		
<b>5a<sub>2</sub></b>	90.96	(C-1)	36.01	P
	53.48	(C-2)		
	127.5-138.0	(6xC <sub>arom</sub> , Ar)		
<b>9a<sub>2</sub></b>	100.9	(C-1)	40.0	P
	43.20	(C-2)		
	123.5-139.0	(6xC <sub>arom</sub> , Ar)		

En **IR**, les structures sont confirmées par une bande vers 1173-1275  $\text{cm}^{-1}$  qui correspond au groupement ( $\text{N-P=O}_{\text{Phosphonamide}}$ ) et la disparition de la bande d'absorption qui caractérise **NH**.

En **SM**, un pic de base à 100% correspond à l'ion  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  montre bien la présence des dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones.

#### I.6.1.1.Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons développé une stratégie, qui nous a permis d'accéder à une de nouvelles séries de composés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones (**P<sup>V</sup>**) chiraux à cinq chaînons protégés au niveau d'atome d'azote par différents groupements protecteurs donneurs. Le groupement allylméthyle (Alloc), l'heptafluorobutyle et le groupement attracteur l'acétate, les trois dérivés sont décrits pour la première fois. Ces dérivés sont préparés par une réaction de condensation, suivie par une cyclisation intramoléculaire sous un organocatalyseur, l'utilisation de **15** à **20%** molaire de **DMAP** a amélioré les rendements dans les deux cas (*donneur et attracteur*). La présence d'organocatalyseur est pour but de favoriser la formation d'une phosphonate chiral avec une excellente diastéréosélectivité.

Enfin le but de cette stratégie est le développement du mode d'accès aux bicyclo-oxazaphosphorine-2-ones, qui peut être avoir une grande importance dans le domaine de recherche de composés hétérocycliques phosphorés.

I.6.2. Synthèse de bicyclo-oxazaphosphinan-2-one (**8a<sub>2</sub>**) chiral

Dans le but de préparer une nouvelle série de bicyclo-oxazaphosphinan-2-one dans les meilleures conditions, nous avons utilisé le même protocole décrit par **Dimukhametov**, nous avons commencé par la préparation d'un intermédiaire potentiellement réactif en faisant réagir le composé (**8a<sub>1</sub>**) avec le dichlorophénylphosphine en présence de la **DMAP** pour catalyser la réaction. L'intermédiaire (**8a<sub>1</sub>**) obtenu subi une cyclisation intramoléculaire du type **Pudovik** à température ambiante en présence de **H<sub>2</sub>O** pour former le bicyclo-oxazaphosphinan-2-one (**8a<sub>2</sub>**) chiral attendu (**Schéma.I.17**), cette stratégie représente l'étape clé de la synthèse.

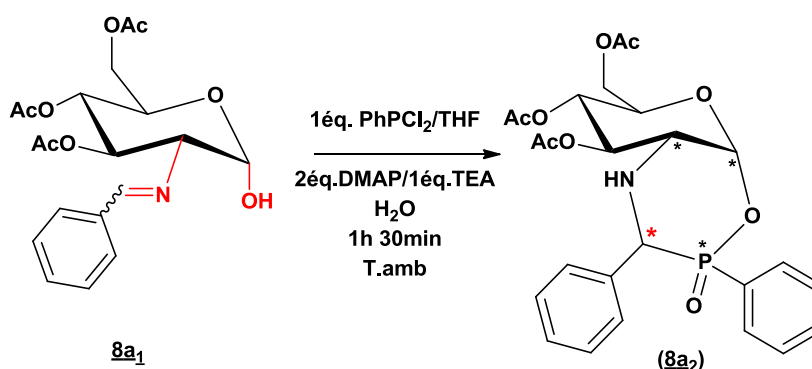


Schéma.I.17. Synthèse de bicyclo-oxazaphosphinan-2-one chiral (**8a<sub>2</sub>**) à base de la *D*- glucosamine modifiée

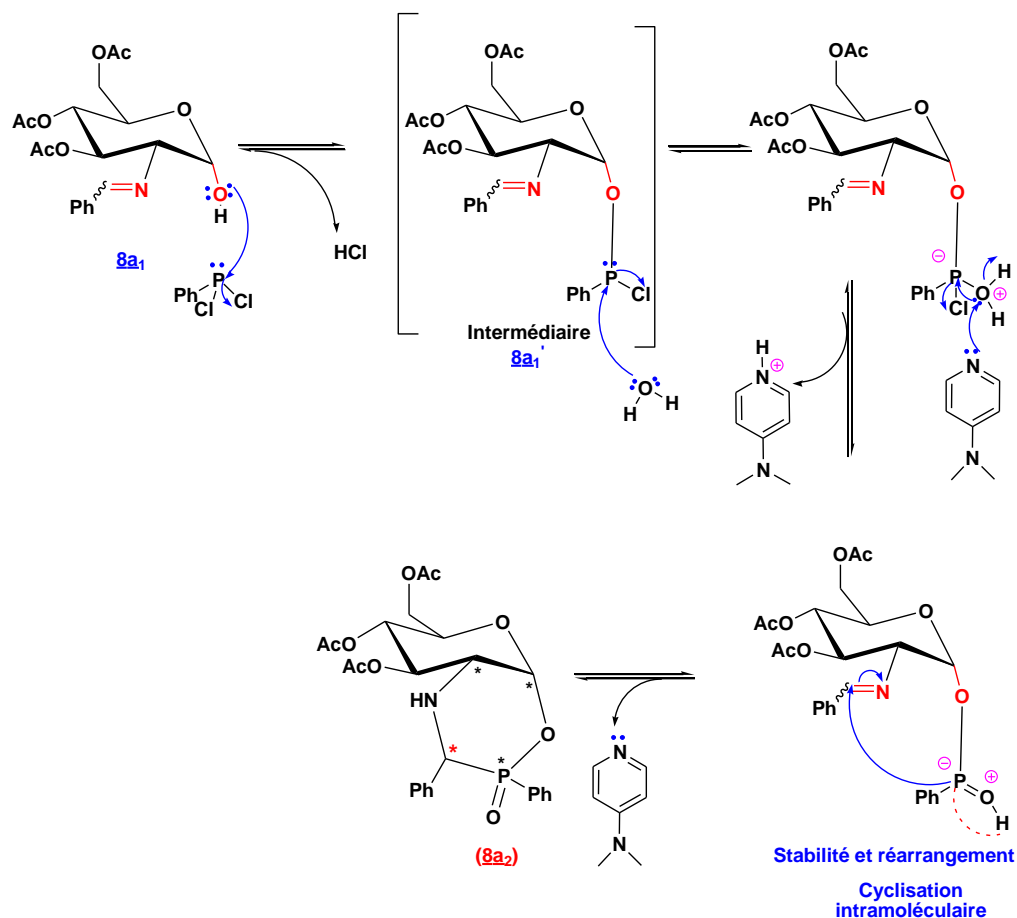
Tableau .I.25. Conditions réactionnelles optimisées pour la réaction de synthèse de bicyclo-oxazaphosphinan-2-one chiral (**8a<sub>2</sub>**)

Composé	Conditions	Temps	R <sub>f</sub> <sup>*</sup>	F <sup>°</sup> C	Rdt (%)
<b>8a<sub>2</sub></b>	1. 1 éq. PhPCl <sub>2</sub> /THF 1 éq. TEA 2 éq. DMAP T. amb	30min	0.5	216-218	60
	2. H <sub>2</sub> O	1h			

\*Eluant (toluène /hexane : 2/1)

La synthèse de 1,4,2-oxazaphosphacycle à base de la *D*-glucosamine se fait selon la réaction de **Dimukhametov** modifiée, les résultats obtenus sont résumés dans le **Tableau I.25**. D'après les conditions de réaction utilisées, nous avons obtenu un bon rendement. Le mécanisme réactionnel proposé pour la réaction de condensation suivie d'une cyclisation intramoléculaire s'effectue en deux étapes successives. Tout d'abord, la phosphorylation d'imine-alcool (**8a<sub>1</sub>**) par PhPCl<sub>2</sub> qui conduit à la formation d'un intermédiaire (**8a<sub>1</sub>**'), ce dernier est traité avec la DMAP pour but de stabiliser les

intermédiaires formés et ensuite, il subit une cyclisation intramoléculaire pour donner le cycle à 6 chaînons correspondants (**Schéma.I.18.**).

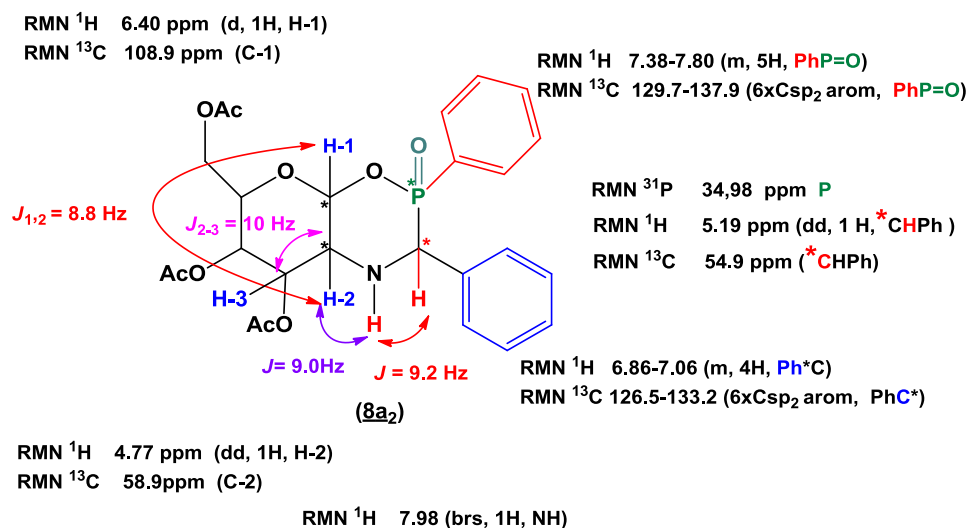


**Schéma.I.18.** Mécanisme proposé pour la synthèse de bicyclo-oxazaphosphinan-2-one chiral (**8a<sub>2</sub>**)

La caractérisation du bicyclo-oxazaphosphinan-2-one chiral (**8a<sub>2</sub>**) a été réalisée par spectroscopie de RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C et <sup>31</sup>P dans le DMSO-*d*<sup>6</sup>, IR (KBr) et par la spectrométrie de masse. En RMN <sup>1</sup>H, le bicyclo-oxazaphosphinan-2-one est identifié par l'apparition d'un multiplet dans la zone 6.86-7.06 ppm et 7.38-7.80 ppm qui caractérise les 10 protons aromatiques du respectivement et un singulet qui correspond au proton du (NH) vers 7.98 ppm. Le proton du carbone asymétrique (Ph-<sup>\*</sup>CHN) résonne vers 5.19 ppm sous forme d'un doublet de doublet, aussi, deux autres signaux confirment la structure bicyclique, sous forme d'un doublet vers 6.40 ppm et un doublet vers 4.77 ppm attribués aux protons portés par le cycle pyranose (**H-1** et **H-2**) respectivement.

En RMN <sup>13</sup>C, La structure est confirmée par l'apparition d'un pic vers 54.8 ppm qui correspond au carbone asymétrique (<sup>\*</sup>CPh), l'analyse montre aussi l'existence d'un nouveau signal dans l'intervalle 129.7-137.9 ppm correspond aux carbones du cycle aromatique du phosphore (PhP=O), la présence des pics caractéristiques des cycles aromatiques dans l'intervalle 126.5-133.2 ppm confirme aussi les structures des produits attendus.

En RMN  $^{31}\text{P}$ , nous observons un seul singulet à 34,98 ppm. La **Figure.I.9.** rassemble les constantes de couplages des nouveaux signaux avec les déplacements chimiques.



**Figure.I.9.** Constantes de couplages  $J_{1-2}$ ,  $J_{2-3}$ ,  $J_{^*\text{CH-NH}}$  et  $J_{\text{NH-H-2}}$  avec les déplacements chimiques du bicyclo-oxazaphosphinan-2-one chiral (**8a<sub>2</sub>**)

En **IR**, la structure est confirmée par les bandes d'absorption suivantes : une bande vers 3299  $\text{cm}^{-1}$  correspond au groupement **NH**, et une autre bande vers 1225  $\text{cm}^{-1}$  dédiée au groupement **P=O** du phosphonate. La caractérisation par spectrométrie de masse (**MS**,  $m/z$  ( $I_{\text{rel}}$  (%)) du composé (**8a<sub>2</sub>**) confirme la présence de l'ion moléculaire (pic de base) 517 (100.0%) [**M**] $^{+*}$ .

**Remarque :** Plusieurs problèmes qui provoquent la réaction de synthèse du composé (**8a<sub>2</sub>**), sont due à l'équilibre tautomérie du produit de départ (**8a<sub>1</sub>**) instable qui rend la phosphorylation très difficile à effectuer, en plus, l'hydrolyse par l'eau pour conduire au phosphonate est très difficile, pour cela nous avons utilisé la DMAP comme organo-catalyseur pour éviter tous ces problèmes.

### I.6.2.1.Conclusion

Nous avons synthétisé le bicyclo-oxazaphosphinan-2-one à 6 chaînons (**8a<sub>2</sub>**), qui est décrit pour la première fois. La synthèse de ce dérivé a été menée par la réaction de **Dimukhametov** modifiée, en utilisant la réaction de la phosphorylation d'imine-alcool (**8a<sub>1</sub>**), ensuite la cyclisation intramoléculaire pour conduire au bicyclo-oxazaphosphinan-2-one chiral en présence de DMAP (organo-catalyseur) avec un bon rendement **60%**

La synthèse de cette nouvelle structure chirale '*phosphino-aminosucré*' a servi à une étude relation structure-activité.



# *Chapitre. II*

---

## *Optimisation théorique & Formation des complexes d'inclusion*

---



## II. 1.Introduction

Dans le cadre de la recherche des molécules bioactives, les propriétés relatives à l'Absorption, la Distribution, le Métabolisme et l'Élimination (**ADME**) sont cruciales pour le succès des phases cliniques lors de la conception de nouvelles substances bioactives. Durant ce processus, la chémoinformatique est régulièrement utilisée afin de prédire le profil (ADME) des molécules bioactives et d'améliorer leurs propriétés biologiques et/ou thérapeutiques. Ces modèles de prédiction, sont basés sur la quantification des relations structure-activité (**QSAR**).

Les dérivés synthétisés d'issus de la *D*-glucosamine sont une source importante de découverte de nouvelles entités chimiques, ils peuvent être de bons candidats-médicaments. Les travaux de recherche réalisés lors de cette thèse touchent à des méthodes d'optimisation des structures de dix-huit dérivés dont le but est de comprendre les relations structure-activité, et d'obtenir de meilleures activités biologiques. Nous pouvons utiliser les méthodes d'optimisation multiparamétriques (MPO) pour prédire le meilleur équilibre des propriétés, parmi ces méthodes, nous appliquons des règles de base. Les plus couramment utilisées sont les règles de **Lipinski** (*Règle de 5*)<sup>1,2</sup>, Veber<sup>3</sup>, Oprea<sup>4</sup>, Walters<sup>5</sup>, Rhiston<sup>6</sup> ou la règle de toxicité de Pfizer<sup>7</sup> pour identifier les produits synthétisés.

*« Le but de cette optimisation théorique est de trouver des substances organiques candidates-médicaments »*

## II.2. Représentation des Calculs « drug-like » sur la base de Lipinski

Les règles de **Lipinski**<sup>8</sup> de chaque médicament éventuel doit se conformer à plusieurs critères de base, tels que son faible coût de production, être soluble, être stable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques. Le médicament apparaît comme un paradigme prometteur pour coder l'équilibre entre les propriétés moléculaires d'un composé qui influence sa pharmacodynamie et sa pharmacocinétique et optimise finalement leur (**ADME**) dans le corps humain comme un médicament.

<sup>1</sup>. C-A. Lipinski, F. Lombardo, B-W.Domini, P-J. Feeney. *Adv. rug eliv. Rev.* **1997**, 23, 3 – 25.

<sup>2</sup>. C-A. Lipinski, *J. Pharmacol Toxicol Methods.* **2000**, 44(1), 235 – 249.

<sup>3</sup>. D-F. Veber, S-R. Johnson, H-Y. Cheng, B-R. Smith, K-W. Ward, K-D. Kopple. *J. Med. Chem.* **2002**, 45(12), 2615 – 2623.

<sup>4</sup>. T-I. Oprea. *J Comput Aided Mol Des.* **2000**, 14(3), 251 – 264.

<sup>5</sup>. W-P. Walters. M-A. Murcko. *Adv Drug Deliv Rev.* **2002**, 54, 255 – 271.

<sup>6</sup>. G.M. Rishton. *Drug Discov Today.* **2003**, 8, 86 – 96.

<sup>7</sup>. J-D. Hughes, J. Blagg, D-A. Price. *Bioorg Med Chem Lett.* **2008**, 18(17), 4872 – 4875.

<sup>8</sup>. C-A. Lipinski, F. Lombardo, B. Dominy, P. Feeney, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, 46(1-3), 3 – 26.

Les conditions empiriques pour satisfaire la règle de **Lipinski** et pour manifester une bonne biodisponibilité orale impliquent un équilibre entre la solubilité aqueuse d'un composé et sa capacité à diffuser passivement à travers les différentes barrières biologiques<sup>9</sup>. Ainsi, en **1997**, Lipinski et coll<sup>4</sup> ont proposé ce qu'on appelle couramment la règle de **Lipinski** ou la « règle de cinq » permettant d'estimer la biodisponibilité d'un composé par voie orale à partir de sa structure 2D.

Cette règle est la plus utilisée pour l'identification des composés « **drug-like** ». Selon cette règle un composé possède toutes les chances d'être absorbé par voie orale, s'il respecte au moins trois des cinq critères représentés dans le **Tableau.II.1.** la règle de **Lipinski** est la plus utilisée pour l'identification des composés (**drug-Like**)<sup>10,11</sup>.

**Tableau.II.1. Valeurs seuils des différentes propriétés physico-chimiques définissant la règle de Lipinski<sup>1,4</sup>**

	Propriétés physico-chimiques	Règle de Lipinski
<b>Les cinq règles</b>	Poids moléculaire (PM) en Daltons (g/mol)	$\leq 500$
	Lipophile (LogP)	$0 < \text{Log P} < 3$
	Nombre de donneurs de liaisons hydrogène ( <i>DLH</i> )	$\leq 5$
	Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène ( <i>ALH</i> )	$\leq 10$
	Le nombre de liaisons flexibles	$\leq 15$

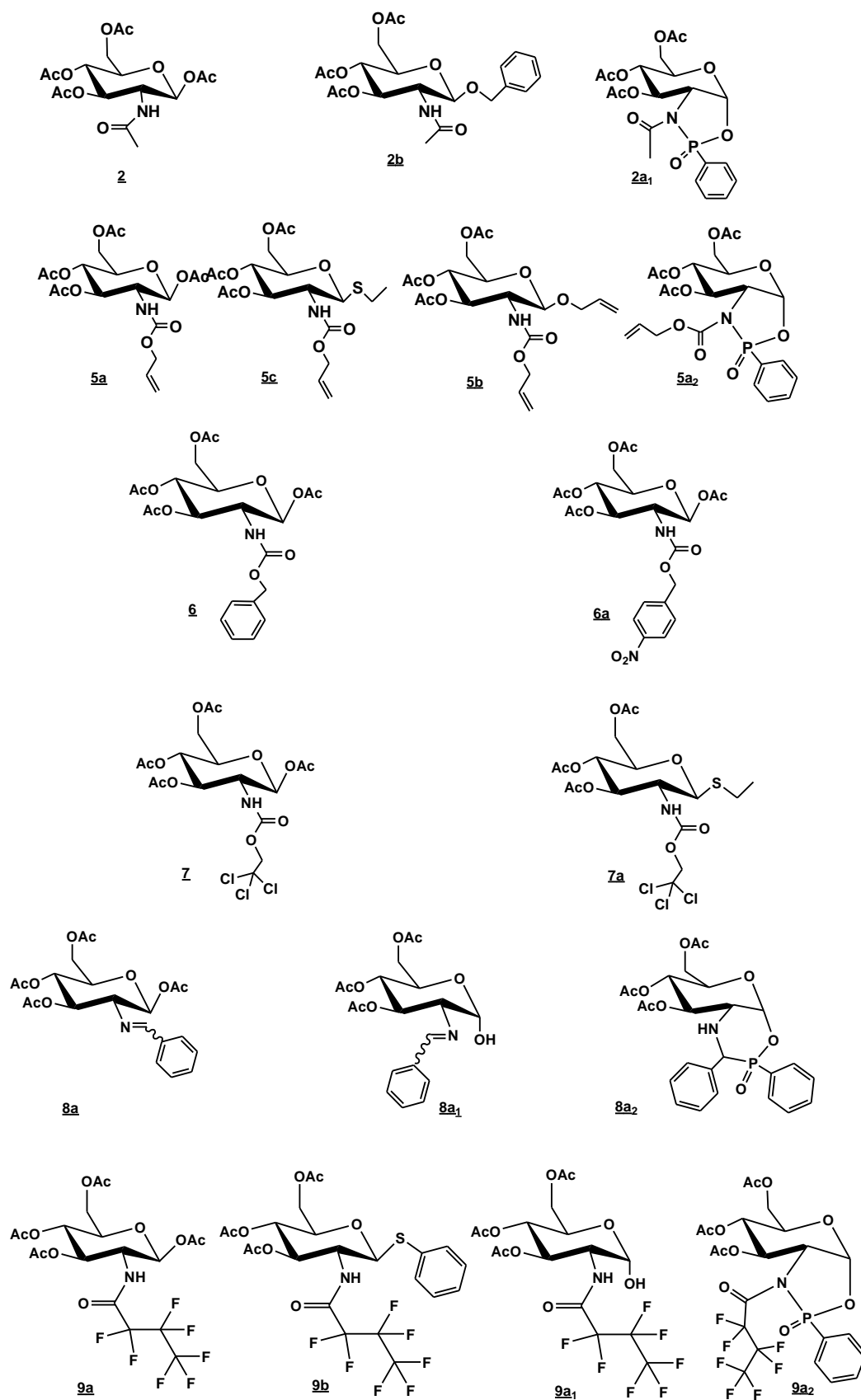
### II.2.1.Évaluation des profils des médicaments pour les dix-huit dérivés de la $\beta$ -D-glucosamine

Les dix-huit dérivés choisis pour évaluer les profils du médicament sont regroupés dans la **Figure. II.1.**

<sup>9</sup>. P.Ertl, B. Rohde, P.Selzer. *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 3714 – 3717.

<sup>10</sup>. G. Vistoli, A. Pedretti, B. Testa. *Drug Discov. Today.* **2008**, 13, 285 – 294.

<sup>11</sup>. L.Di, E-H.Kerns, *Curr Opin Chem Biol* **2003**, 7, 402- 408.

Figure. II.1. Structures des dix-huit dérivés de la  $\beta$ -D-glucosamine testés

Les propriétés ADME ont été calculées à l'aide d'un serveur en ligne tels que Molinspiration (*Molinspiration property engine v2018.10*), ce serveur est généralement utilisé pour calculer les différentes propriétés de chaque substance. Les propriétés physico-chimiques des **dix-huit** dérivés à base de  $\beta$ -D-glucosamine se trouvent dans le **Tableau. II.2.** ci-dessous.

**Tableau. II.2.**Prédiction de la règle de Lipinski des propriétés physico-chimiques pour les dix-huit dérivés à base de la  $\beta$ -D-glucosamine

N°	Dérivés	Propriétés physico-chimiques							
		M (g/mol) <sup>a</sup>	TPSA <sup>b</sup>	N Accp L-H <sup>c</sup>	N Donn L-H <sup>d</sup>	(LogP) <sup>e</sup>	Violations <sup>f</sup>	Liens rotatifs <sup>g</sup>	V M <sup>h</sup>
<u>1</u>	<u>2</u>	389.36	143.55	11	1	0.48	1	10	337.78
<u>2</u>	<u>2b</u>	437.44	126.48	10	1	3.02	0	11	390.45
<u>3</u>	<u>5a</u>	431.39	152.79	12	1	2.67	1	13	374.74
<u>4</u>	<u>5b</u>	429.42	135.72	11	1	3.23	1	14	383.73
<u>5</u>	<u>5c</u>	433.48	126.48	10	1	3.50	0	13	381.70
<u>6</u>	<u>6</u>	465.45	144.79	12	1	3.40	2	12	395.13
<u>7</u>	<u>7</u>	506.72	143.55	12	1	3.36	2	12	404.12
<u>8</u>	<u>7a</u>	524.80	126.48	10	1	4.71	1	13	411.08
<u>9</u>	<u>8a</u>	435.43	126.82	10	0	1.83	0	11	384.50
<u>10</u>	<u>9a</u>	527.34	134.32	10	1	1.17	1	12	396.27
<u>11</u>	<u>9b</u>	607.50	117.25	9	1	3.73	1	14	467.06
<u>12</u>	<u>6a</u>	526.45	189.38	15	1	3.36	2	14	441.75
<u>13</u>	<u>9a<sub>1</sub></u>	501.30	137.47	10	1	0.98	1	11	368.74
<u>14</u>	<u>8a<sub>1</sub></u>	393.39	120.74	9	0	1.13	0	9	347.99
<u>15</u>	<u>2a<sub>1</sub></u>	469.38	134.76	11	0	0.56	1	8	391.53
<u>16</u>	<u>5a<sub>2</sub></u>	511.42	144.00	12	0	1.92	2	11	428.49
<u>17</u>	<u>9a<sub>2</sub></u>	623.37	134.76	11	0	2.72	2	11	459.00
<u>18</u>	<u>8a<sub>2</sub></u>	517.47	126.48	10	1	2.55	1	9	443.84

Masse moléculaire<sup>a</sup>; Surface Polaire<sup>b</sup>; Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène

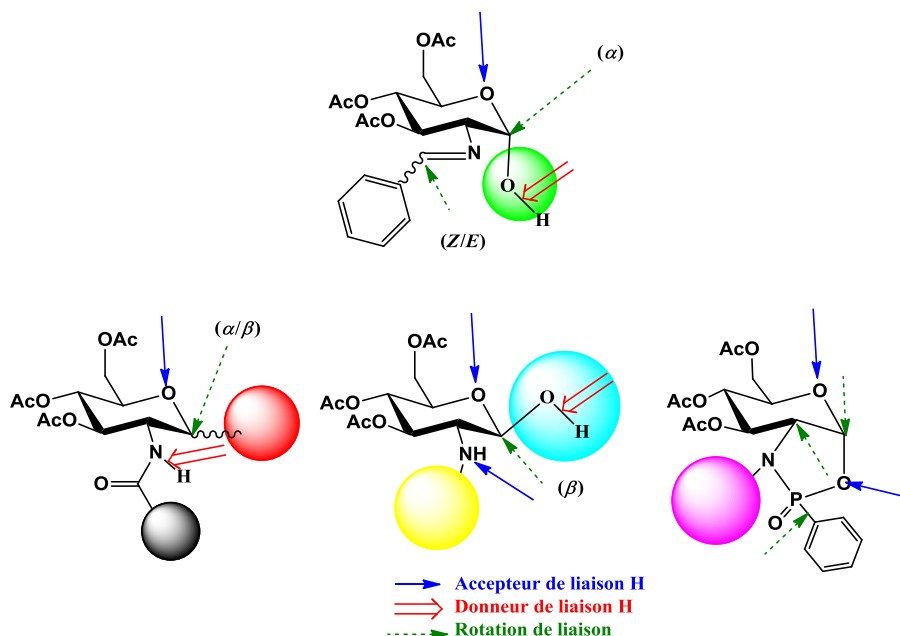
<sup>c</sup>; Nombre de donneur de liaisons hydrogène<sup>d</sup>; Lipophilie calculée (Kow)<sup>e</sup>; Nombre de violations<sup>f</sup>; Nombre des liaisons rotatives<sup>g</sup>; volume moléculaire<sup>h</sup>.

### II. 2.1.1. Interprétation des résultats

Nous avons utilisé les règles de Lipinski pour identifier les **dix-huit** dérivés qui posent des problèmes d'absorption et de perméabilité, si ces dérivés ne valident pas au moins deux de ses règles. A travers le **Tableau. II.2**, nous remarquons que les six dérivés (2, 5a, 6, 7, 6a et 5a<sub>2</sub>) ont une faible biodisponibilité orale car ils ont un  $TPSA \geq 140 \text{ \AA}^2$  (absorbées passivement). Comme les douze composés (2b, 5b, 5c, 7a, 8a, 9a, 9b, 9a<sub>1</sub>, 8a<sub>1</sub>, 2a<sub>1</sub>, 9a<sub>2</sub> et 8a<sub>2</sub>) ont une valeur de  $TPSA$  égale à (126.48, 135.72, 126.48, 126.48, 126.82, 134.32, 117.25, 137.47, 120.74, 134.76, 134.76 et 126.48) respectivement, ils devraient en principe montrer une bonne absorption orale.

La Règle de **Veber**<sup>3</sup> stipule qu'une bonne biodisponibilité<sup>12</sup> est favorisée lorsque la  $\text{TPSA} \leq 140 \text{ \AA}^2$  (mesure de polarité absolue)<sup>13</sup>. Il est clair que les dérivés (**2**, **5a**, **6**, **7**, **6a** et **5a<sub>2</sub>**) sont en accord avec la règle de **Veber**.

Nous remarquons aussi que les valeurs du nombre de liaisons rotatives des dérivés (**2**, **2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **6**, **7a**, **8a**, **9a**, **9b**, **6a**, **9a<sub>1</sub>** et **9a<sub>2</sub>**) est supérieure à 10 (de **10 jusqu'à 14**), ce qui indique que la flexibilité moléculaire par incorporation (RBF) peut être favorable à des effets thérapeutiques ou biologiques, par contre aux dérivés (**8a<sub>1</sub>**, **8a<sub>2</sub>** et **2a<sub>1</sub>**), le nombre de liaisons rotatives est faible, donc il n'y a pas d'effets. Nous pouvons, également, voir dans le **Tableau. II.2.** que les seize dérivés (**2**, **2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **6**, **7**, **7a**, **8a**, **9a**, **6a**, **9a<sub>1</sub>**, **2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>**, **9a<sub>2</sub>** et **8a<sub>2</sub>**) ont le nombre d'accepteurs d'hydrogène supérieure ou égale à 10, par contre pour les deux dérivés (**9b** et **8a<sub>1</sub>**) est inférieure à 10, et le nombre de donneurs d'hydrogène est égale 1 dans tous les dérivés, sauf les cinq dérivés (**8a<sub>1</sub>**, **8a<sub>2</sub>**, **2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>** et **9a<sub>2</sub>**). Le poids moléculaire des neuf dérivés (**2**, **2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **6**, **8a**, **8a<sub>1</sub>** et **2a<sub>1</sub>**) est (389.36, 437.44, 431.39, 429.42, 433.48, 465.45, 435.43, 393.39, 469.38) (g/mol) respectivement; une valeur inférieure à 500 g/mol, signifie que les molécules traversent facilement les membranes cellulaires<sup>9</sup>, mais les autres dérivés (**7**, **7a**, **9a**, **9b**, **6a**, **9a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>**, **9a<sub>2</sub>** et **8a<sub>2</sub>**) ont une valeur supérieure à 500g/mol, ce que signifie que les molécules ne traversent pas directement la membrane, elles doivent utiliser des physiologies cellulaires<sup>14</sup> (**Figure. II.2**).



**Figure.II.2.** Règles de Lipinski appliquées aux quelques modèles

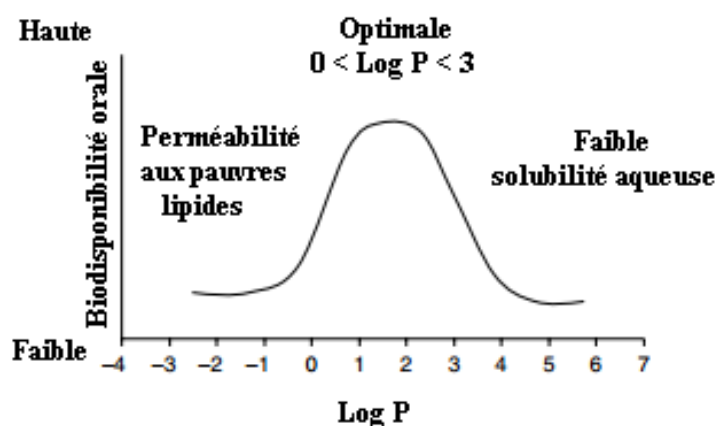
<sup>12</sup>. D-E. Clark, S-D Pickett. *Drug Discov. Today*. **2000**, 5, 49 – 58.

<sup>13</sup>. L. Rath, S-K. Kashaw, A. Dixit, G. Pandey, A-K. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12(1), 63 – 69.

<sup>14</sup>. C. Hansch, A. Leo, S-B. Mekapati, A. Kurup. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12(12), 3391 – 3400.

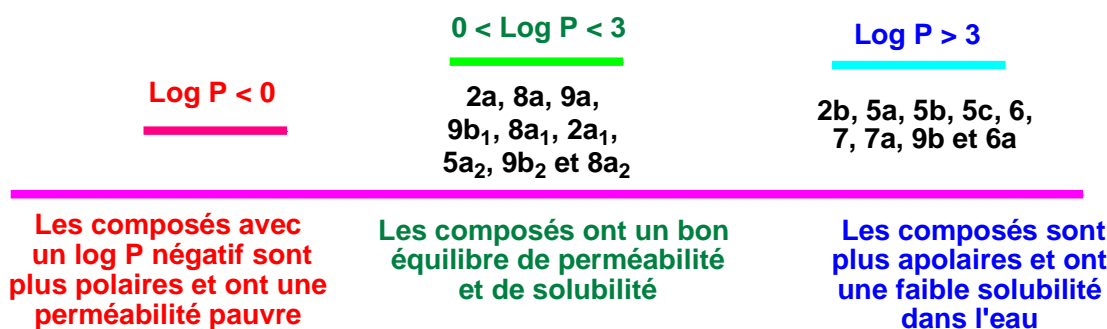
La lipophilie a été corrélée à divers modèles de propriétés de médicaments affectant **ADME/toxicité**. Ils incluent la perméabilité, l'absorption, la distribution, la liaison aux protéines plasmatiques, métabolisme, élimination et toxicité. **F.Lombardo** et *coll*<sup>15</sup> ont corrélé le volume de distribution pharmacocinétique ( $V_d$ ) à la lipophilicité. Le guide général pour une absorption gastro-intestinale optimale après une administration orale, admet que le Log P doit être modéré (**entre 0 et 3**), comme suggéré dans la **Figure.II.3**.

Exprimé à travers la valeur de leur coefficient de partage octanol/eau (**K<sub>ow</sub>**), la méthode de prédiction du log P développée par molinspiration, basée sur les contributions du groupe fonctionnel des composés<sup>16</sup>.



**Figure. II.3. Variation de la biodisponibilité en fonction de Log P de différents médicaments<sup>16</sup>**

D'après le **Tableau. II.2**, nous avons obtenu des valeurs positives de **log P** pour les dix-huit dérivés testés, mais elles diffèrent d'un dérivé à un autre, les résultats sont présentés dans la **Figure. II.4**. ci-dessous.



**Figure. II.4. Variation de la biodisponibilité en fonction de Log P de différents dérivés testés**

<sup>15</sup> . F. Lombardo, R-S. Obach, M-Y Shalaeva, F. Gao. *J. Med. Chem.* **2002**, 45(13), 2867 – 2876.

<sup>16</sup> . D. Adams, K. Flora, B. Goldspiel, J. Wilson, S. Arbuck, R. Finley. *J. Natl. Cancer Inst.* **1993**, 15, 141 – 147.

L'utilisation potentielle de ces dérivés (**2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **6**, **7**, **7a**, **9b** et **6a**) dans le domaine médical est limitée du fait de leurs faibles solubilités dans l'eau et leurs moindres polarités (hydrophobe), car le caractère lipophile de ces neuf dérivés, exprimé à travers les valeurs de leurs coefficients de partage octanol/eau ( $K_{ow}$ ), est relativement important. Les dérivés (**2a**, **8a**, **9a**, **9a<sub>1</sub>**, **8a<sub>1</sub>**, **2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>**, **9a<sub>2</sub>** et **8a<sub>2</sub>**) ont une très forte solubilité dans l'eau (hydrophile) et une bonne perméabilité selon la **Figure. II.4**.

En ce qui concerne le nombre de violation, nous remarquons que les dérivés (**2b**, **5c**, **8a** et **8a<sub>1</sub>**) ont une violation nulle (**Tableau. II.2**). Ce qui suggère que ces dérivés théoriquement n'auraient pas de problèmes avec la biodisponibilité orale, par contre les dérivés (**2**, **5a**, **5b**, **6**, **7**, **7a**, **9a**, **9b**, **6a**, **9a<sub>1</sub>**, **2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>**, **9a<sub>2</sub>** et **8a<sub>2</sub>**) ont une violation différente de zéro, ce qui suggère que ces dérivés ont une faible biodisponibilité par voie orale.

Enfin, les résultats ont montré que la plupart de dérivés à base de  $\beta$ -D-glucosamine cible obéissent à ces règles, ce qui suggère que les dix-huit dérivés synthétisés peuvent être des molécules candidates possibles mais les dérivés (**2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **6**, **7**, **7a**, **9b** et **6a**) ont une faible biodisponibilité, c'est pour cela nous avons proposé une stratégie d'encapsulation de ces dérivés insolubles, afin d'améliorer leurs solubilités et par conséquent leurs biodisponibilités.

### II.3. Prédiction de la bioactivité des dix-huit dérivés (*Scores de drug likeness et de bioactivité*)

Par ailleurs, les taux de succès de cette approche globale sont plus faibles que prévus, surtout pour les cibles non traditionnelles<sup>17</sup>. Une alternative de plus en plus acceptée consiste à concevoir des chimiothèques focalisées<sup>18,19</sup>. Une chimiothèque focalisée est une collection de molécules chimiques dédiées à une cible ou un ensemble de cibles (*généralement protéiques*) appartenant au même espace chimique ou biologique<sup>20,21</sup>. Historiquement, des chimiothèques focalisées ont été conçues pour cibler les grandes classes de cibles thérapeutiques, telles que les récepteurs couplés aux protéines G, les kinases, les récepteurs nucléaires, ou encore les protéases. Le **Tableau. II.3** indique les valeurs prédites de certains paramètres pour les dix-huit dérivés.

<sup>17</sup>. S. Gupta. *J.Curr Glaucoma. Pract.* **2012**, 6(2), 75 – 78.

<sup>18</sup>. D-W. Sheppard, M-J. Lipkin, C-J. Harris. *Curr Pharm Des.* **2013**, 19, 1 – 9.

<sup>19</sup>. M-J. Lipkin, A-P. Stevens, D-J. Livingstone, C-J. Harris. *Comb Chem High Throughput Screen.* **2008**, 11, 482 – 493.

<sup>20</sup>. I. Krimm. *Med Sci (Paris)*. **2015**, 31(2), 197 – 202.

<sup>21</sup>. Y-S. Wong. *Med Sci (Paris)*. **2015**, 31(1), 93 – 97.

Tableau. II.3. Prédiction de la bioactivité pour les dix-huit dérivés à base de la  $\beta$ -D-glucosamine à l'aide de molinspiration

N°	(Composés) Dix-huit dérivés	Prédiction de la bioactivité (Scores de la druglikeness et de la bioactivité)						Note
		Ligand GPCR	Modulateur de canal ionique	Inhibiteur de kinase	Ligand du récepteur nucléaire	Inhibiteur de protéase	Inhibiteur d'enzyme	
1	<u>2</u>	-0.25	-0.30	-0.50	-0.20	0.07	0.07	-
2	<u>2b</u>	-0.09	-0.21	-0.38	-0.17	0.22	0.20	++
3	<u>5a</u>	-0.16	-0.16	-0.49	-0.10	0.23	0.21	++
4	<u>5b</u>	-0.01	-0.07	-0.34	-0.07	0.35	0.28	-
5	<u>5c</u>	-0.15	-0.26	-0.67	-0.24	0.09	0.17	-
6	<u>6</u>	-0.05	-0.03	-0.38	-0.04	0.29	0.19	++
7	<u>7</u>	-0.20	-0.35	-0.57	-0.32	-0.06	-0.12	-
8	<u>7a</u>	-0.15	-0.50	-0.69	-0.49	-0.12	-0.06	-
9	<u>8a</u>	-0.34	-0.26	-0.47	-0.30	-0.12	0.07	-
10	<u>9a</u>	-0.20	-0.28	-0.56	-0.10	0.20	0.04	-
11	<u>9b</u>	-0.12	-0.58	-0.56	-0.26	0.18	0.08	-
12	<u>6a</u>	-0.12	-0.17	-0.41	-0.14	0.22	0.17	+
13	<u>9a<sub>1</sub></u>	-0.09	-0.25	-0.48	-0.08	0.32	0.21	-
14	<u>8a<sub>1</sub></u>	-0.28	-0.18	-0.41	-0.27	-0.09	0.16	++
15	<u>2a<sub>1</sub></u>	-0.09	0.16	-0.19	-0.08	0.47	0.31	++
16	<u>5a<sub>2</sub></u>	-0.11	0.19	-0.23	0.00	0.29	0.48	++
17	<u>9a<sub>2</sub></u>	-0.10	-0.21	-0.37	-0.12	0.46	0.15	+
18	<u>8a<sub>2</sub></u>	-0.23	-0.21	-0.27	-0.17	0.19	0.16	-

Des scores bioactifs positifs ont été obtenus pour neuf dérivés à base de *D*-glucosamine (2b, 5a, 6, 6a, 9a<sub>1</sub>, 8a<sub>1</sub>, 2a<sub>1</sub>, 5a<sub>2</sub> et 9a<sub>2</sub>) indiquant la présence des groupements pharmacophores échafaudages tels que les substitutions au niveau de l'amine (carbamates et/ou imine), la substitution à la position anomérique et/ou hétérocycle phosphorylé de type (1,3,2-oxazaphospholidin-2-one) (**Figure.II.5**).



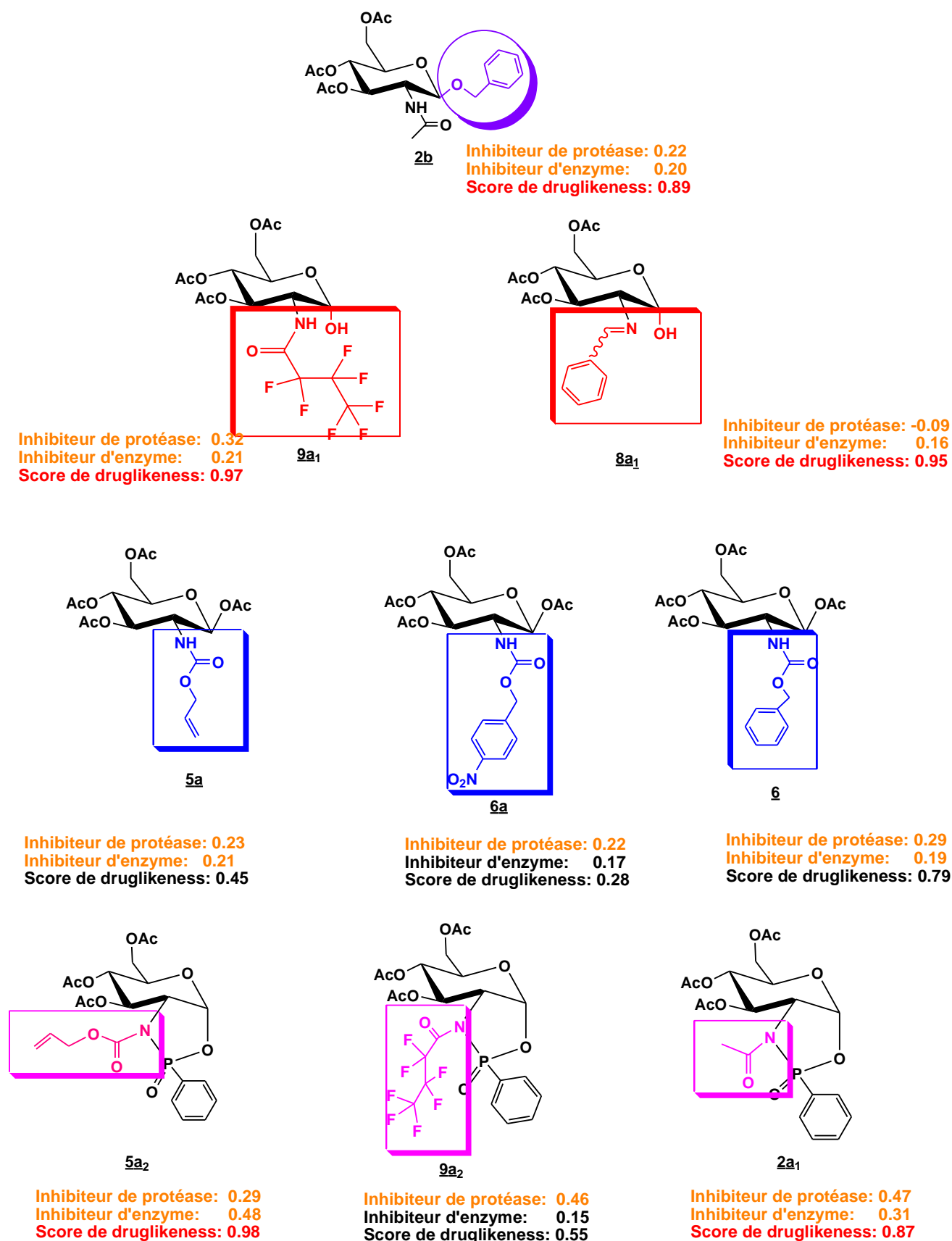


Figure. II.5. Structures des dérivés qui ont montré des scores positifs en tant qu'inhibiteur de protéase et inhibiteur d'enzyme

Neuf dérivés (**2b**, **5a**, **6**, **6a**, **9a<sub>1</sub>**, **8a<sub>1</sub>**, **2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>** et **9a<sub>2</sub>**) avec des substituants donneurs et /attracteurs d'électrons ont montré des scores positifs en tant qu'inhibiteur de protéase et inhibiteur d'enzyme. Ces dérivés ont présenté des scores de ressemblance médicamenteux positifs, c'est une bonne indication du fait qu'ils sont des composés actifs.

Les dérivés (**2b**, **5a**, **8a<sub>1</sub>** et **5a<sub>2</sub>**) parmi les neuf dérivés sont révélés puissants avec une bonne drug-likeness avec des scores plus proches de 1 (voir le tableau ci-dessous).

**Tableau. II.4. Prédiction du score Drug-likeness des neuf dérivés à l'aide de Molsoft**

Nº	Dérivés	Score de druglikeness
1	<b>2b</b>	0.89
2	<b>5a</b>	0.45
3	<b>6</b>	0.79
4	<b>6a</b>	0.28
5	<b>9a<sub>1</sub></b>	0.97
6	<b>8a<sub>1</sub></b>	0.95
7	<b>2a<sub>1</sub></b>	0.48
8	<b>5a<sub>2</sub></b>	0.98
9	<b>9a<sub>2</sub></b>	0.55

### II.3.1. Conclusion

La recherche de nouveaux composés potentiellement bioactifs orientés vers de nouvelles cibles est devenue inévitable. L'évaluation de propriétés moléculaires telles que la biodisponibilité par l'application de la règle de Lipinski nous permettra de nous renseigner sur les propriétés pharmacocinétiques (ADME) des composés proposés. Les bons scores de druglikeness et de bioactivité indiquent le potentiel probable de ces composés en tant que futurs médicaments. La présence des échafaudages pharmacophoriques a influencé les bons scores bioactifs. Les composés (**2b**, **5a**, **8a<sub>1</sub>** et **5a<sub>2</sub>**) avec des substituants donneurs d'électrons ont montré des scores positifs en tant qu'inhibiteur de protéase et inhibiteur d'enzyme.

D'après les résultats obtenus par l'optimisation théorique des différents dérivés testés par la règle de **Lipinski**, les neuf dérivés (**2b**, **5a**, **6**, **6a**, **9a<sub>1</sub>**, **8a<sub>1</sub>**, **2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>** et **9a<sub>2</sub>**) sont très actives mais insolubles en milieu aqueux, ce qui rends leurs utilisations limitées, pour cette raison, nous avons pensé à former un complexe d'inclusion 1/1 entre ces produits et la  $\beta$ -cyclodextrine. Pour pallier ce problème, différents travaux<sup>22</sup> ont démontré que l'utilisation des CDs pouvait fortement améliorer la solubilité des molécules hydrophobes, car ces dernières sont des oligosaccharides cycliques qui

<sup>22</sup>. S. Zidane, A. Maiza, H. Bouleghlem, B. Fenet, Y. Chevalier. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2019**, 93(3-4), 253 – 264.

possèdent au sein de leur structure une cavité hydrophobe. Celle-ci permet de former des complexes d'inclusion avec un grand nombre de molécules dont les propriétés physicochimiques sont alors modifiées : solubilité dans l'eau, réactivité chimique, stabilité,...etc<sup>23</sup>.

En effet, l'encapsulation par la  $\beta$ -CD des composants qui nous avons déjà synthétisé et testé par la règle de **Lipinski** peut aboutir à une augmentation considérable de leurs solubilités, tout en conservant ou en améliorant leurs activités biologiques et leurs réactivités chimiques<sup>24</sup>.

## II. 4. Formation des complexes d'inclusion et étude de la solubilité des dérivés insolubles

À partir des résultats obtenus par le test des règles de **Lipinski**; les dérivés (**2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **7**, **6**, **7a**, **9b** et **6a**) (voir Figure. II.3) ne sont pas solubles dans les milieux aqueux, donc leur biodisponibilité est faible. La solution à ce genre de problèmes réside dans l'utilisation de nouvelles technologies qui permettent d'obtenir de nouvelles formes et aspects, il s'agit de préparer des complexes d'inclusion. C'est dans cette optique que nous nous sommes proposé dans le cadre de ce travail d'étudier l'inclusion des neuf dérivés synthétisés (**2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **7**, **6**, **7a**, **9b** et **6a**).

Les complexes d'inclusion ( **$\beta$ -CD : Dérivés**) ont été également préparés à l'état solide par trois procédés (lyophilisation, ultrasons et irradiation via micro-onde). L'efficacité d'encapsulation a finalement été évaluée. Les complexes ont été caractérisés par UV-Visible, IR et RMN <sup>1</sup>H.

### II.4.1.Détermination de l'efficacité d'encapsulation EE%

La quantité d'invité encapsulée a été quantifiée par UV-Visible après une étape d'extraction par l'éthanol. 10 mg de complexe solide a été dissout dans 10 mL d'éthanol. Un aliquote de chaque solution est quantifié par spectroscopie UV-Visible. Les longueurs d'onde d'absorption maximales des invités étudiés sont 275, 281, 255, 260, 288, 285, 280 et 283 nm pour (**2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **7**, **6**, **7a**, **9b** et **6a**) respectivement.

L'EE% est calculé selon l'équation suivante:

$$EE\% = \frac{Ds_{exp} (mg)}{Ds_{théo} (mg)} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

Avec

Ds<sub>exp</sub>: la quantité du dérivé dosé expérimentalement

Ds<sub>théo</sub>: la quantité théorique du dérivé (ajoutée dans le milieu réactionnel durant la préparation des complexes d'inclusion). La quantité de l'invité encapsulé dans la cavité de  $\beta$ -CD à l'état solide a été

<sup>23</sup> T-G. Hlado, K. Lange. *Acta Pol. Pharm.* **2012**, 69(4), 591 – 595.

<sup>24</sup> I. Asela, M. Noyong, U. Simon, J-A. Lagos, J-C. Salinas, D-V.Velásquez, M. Kogan, N. Yutronic, R. Sierpe. *Plos One*. **2017**, 12(10), 1 – 18

déterminée par spectroscopie UV-Visible. Les résultats (**Tableau. II.5**) sont exprimés en termes d'efficacité d'encapsulation (EE%) et calculés selon l'équation (1).

**Tableau. II.5. Efficacité d'Encapsulation (EE%)**

Complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivés) 1/1									
Dérivés (Ds)	<u>2b</u>	<u>5a</u>	<u>5b</u>	<u>5c</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>7a</u>	<u>9b</u>	<u>6a</u>
Masse expérimentale (mg)	6.27	6.64	7.84	7.07	10.50	9.70	8.12	8.55	12.75
Masse théorique (mg)	9.50	9.22	15.55	19.85	16.87	20.42	10.41	9.14	17.90
EE%	66.00	72.01	50.41	35.61	62.24	47.50	78.00	93.54	71.22

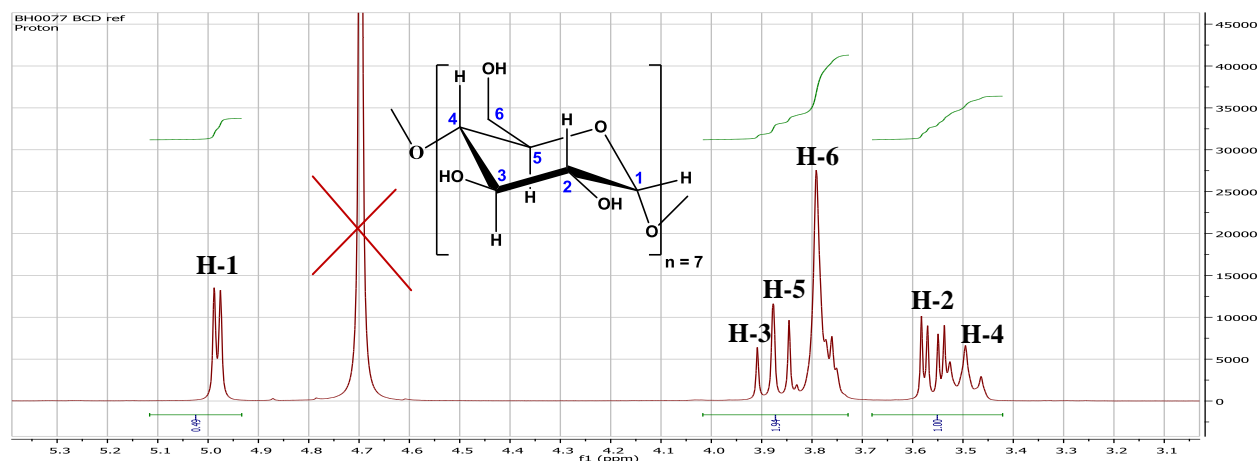
Les efficacités d'encapsulation varient entre **35** et **93** %. Les EE% les plus élevées sont obtenues avec les dérivés (**9b**, **7a**, **5a** et **6a**), les valeurs d'EE% sont plus faibles pour les dérivés (**5c**, **7**, **5b**, **6** et **2b**). Cela pourrait être dû au fait que le **9b**, le **7a**, le **5a** et le **6a** possèdent une solubilité intrinsèque plus importante que le **5c**, le **7**, le **5b**, le **6** et le **2b**.

La solubilité aqueuse de ces composés a été déterminée dans l'eau par l'étude de phase de solubilité (*résultats présentés pour le dérivé 9b*). Cela prouve que la nature de l'invité a un effet prédominant sur son encapsulation et sa solubilisation par la  $\beta$ -CD. Avant de présenter le complexe à base du dérivé (**9b**), nous avons étudié la structure de la  $\beta$ -CD et le dérivé (**9b**) libre par RMN du proton pour déterminer la position des protons de chaque produit avant la complexation.

## II.4.2. Étude structurale de $\beta$ -CD native et du dérivé (**9b**)

### II.4.2.1. Étude structurale de $\beta$ -CD native

Le premier pas dans l'étude structurale de la  $\beta$ -CD par RMN est d'enregistrer un spectre proton, l'attribution des différents types de protons est présentée sur la **Figure. II.6**.



**Figure. II.6. Spectre RMN  $^1\text{H}$  de la  $\beta$ -CD dans  $\text{D}_2\text{O}$  (10mM) à 300 MHz à 25°C**

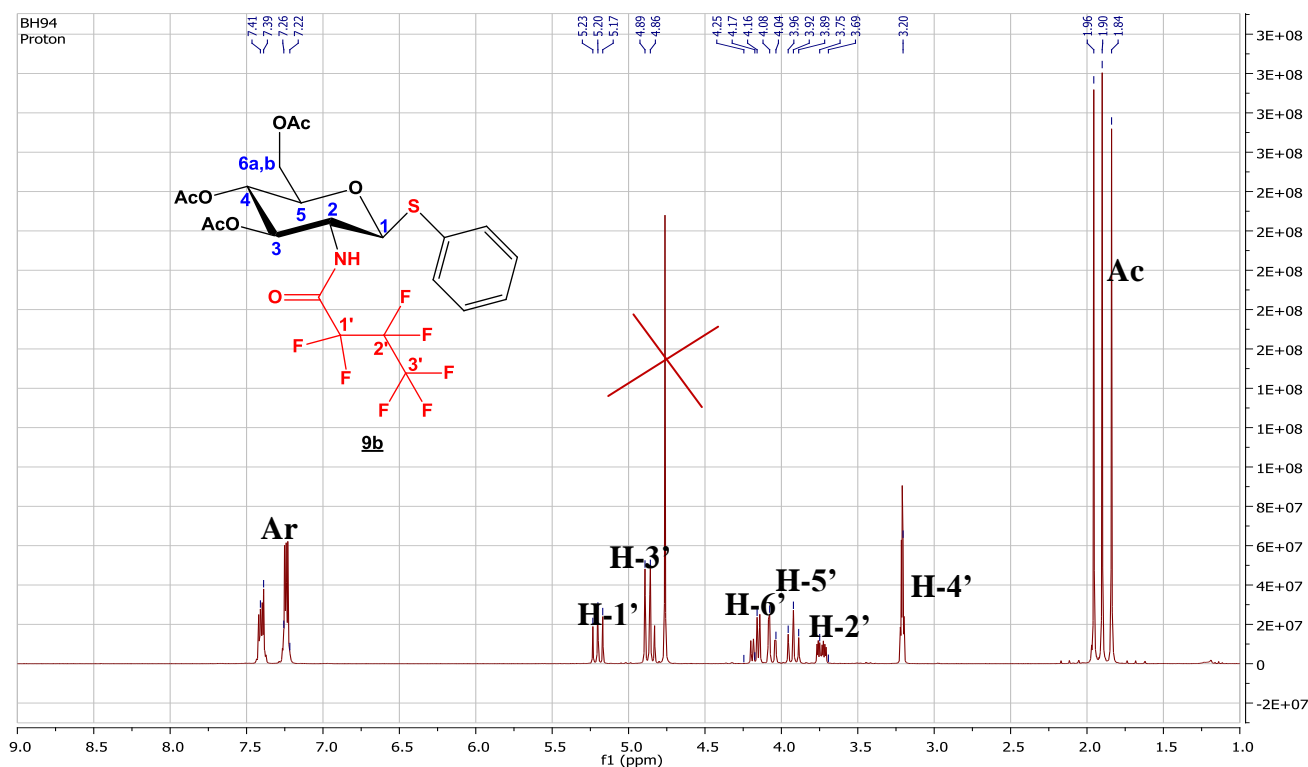
D'après le spectre RMN  $^1\text{H}$ , on peut attribuer les protons anomériques H-1 qui sont les plus déblindés. Avant toute modification chimique, il est important de connaître les caractéristiques RMN des CDs natives. Dans le cas de CDs natives, les spectres RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$  sont relativement simple en raison de la symétrie  $C_n$  des CDs. Tout se passe comme si il y'a une seule unité glucopyranose. L'attribution des protons et des carbones de la  $\beta$ -CD est présentée dans le **tableau.II.6**.

**Tableau.II.6. Attribution des protons en RMN  $^1\text{H}$  et des carbones en RMN  $^{13}\text{C}$  de la  $\beta$ -CD dans  $\text{D}_2\text{O}$**

$^1\text{H}$	$\delta(\text{ppm})$	$J$ (Hz)	$^{13}\text{C}$	$\delta(\text{ppm})$
H-1	4,98	$J_{1,2} = 3,5$	C-1	101,8
H-2	3,55	$J_{2,1} = 3,5$ ; $J_{2,3} = 9,4$	C-2	72,0
H-3	3,91	$J_{3,2} = 9,4$ ; $J_{3,4} = 9,4$	C-3	73,0
H-4	3,50	$J_{4,3} = 9,4$	C-4	81,1
H-5	3,85	/	C-5	71,7
H-6a,b	3,79	/	C-6	60,2

#### II.4.2.2. Etude structurale de 3,4,6-tri-*O*-acétyl-1-phénylthio-2-(heptafluorobutanamido)- $\beta$ -D-glucosamine (**9b**)

L'attribution des protons du dérivé (**9b**) est présentée sur le spectre RMN  $^1\text{H}$  ci-dessous (**Figure . II.7**).



**Figure. II.7. Spectre RMN  $^1\text{H}$  du dérivé (**9b**) dans  $\text{D}_2\text{O}/\text{MeOD}$  (v/v) (10mM) à 300 MHz à 25°C**

### II.4.3. Préparation du complexe d'inclusion formé entre la $\beta$ -CD et le dérivé (**9b**) avec le rapport molaire 1/1

Pour la préparation du complexe d'inclusion entre la  $\beta$ -CD et le dérivé (**9b**) (invité), nous avons décrit la complexation par trois méthodes différentes (Schéma. II.1).

- ✚ Formation du complexe d'inclusion par lyophilisation;
- ✚ Formation du complexe d'inclusion par irradiation aux microondes;
- ✚ Formation du complexe d'inclusion par les ultrasons.

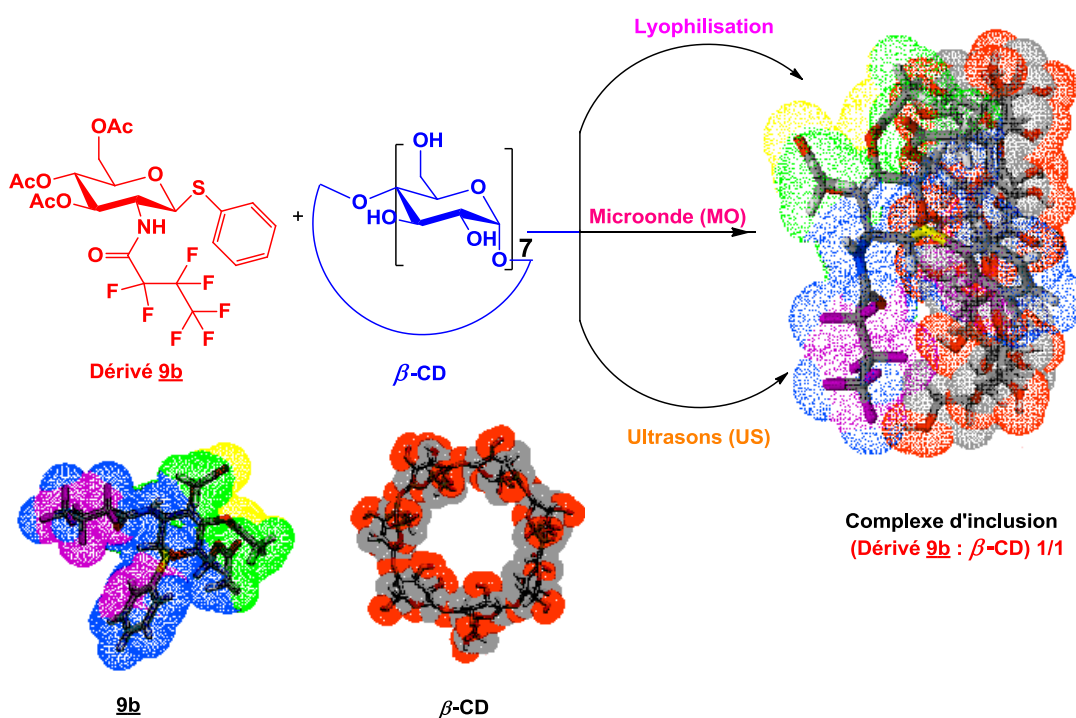


Schéma. II.1. Structure 3D du complexe d'inclusion 1/1 entre la  $\beta$ -CD et le dérivé (**9b**) généré par molinspiration Galaxy 3D Generator v2018.01

Afin de bien comparer entre les trois méthodes de préparation du complexe d'inclusion  $\beta$ -CD: dérivé (**9b**), nous avons rassemblé tous les résultats obtenus dans le **tableau. II.7**.

Tableau. II.7. Comparaison entre les trois méthodes de formation du complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé **9b**) 1/1

Méthode de formation des complexes d'inclusion	Temps	Quantité du solvant utilisé	Rdt (%)
Lyophilisation	24h	20mL H <sub>2</sub> O	95
Microonde	15-20min	10 mL (EtOH/ H <sub>2</sub> O 9 :1)	90
Ultrasons	20-25min	10 mL (EtOH/ H <sub>2</sub> O 9 :1)	90

La comparaison entre ces méthodes montre un rendement très élevé pour la méthode de lyophilisation, mais avec un temps lent, par contre, pour l'activation via les microondes et les ultrasons, le temps de complexation est généralement très court, ce qui permet d'atteindre rapidement la température nécessaire pour la formation du complexe d'inclusion tout en gardant une bonne uniformité des propriétés du complexe avec un très bon rendement (90%) et avec une grande pureté.

#### II.4.4. Caractérisation du complexe d'inclusion formé entre la $\beta$ -CD et le dérivé (9b) avec le rapport molaire 1/1

##### II.4.4.1. Caractérisation du complexe d'inclusion formé par RMN $^1\text{H}$

Les échantillons ont été préparés par un simple mélange de solutions aqueuses du dérivé (9b) et de  $\beta$ -CD; ils ont été utilisés pour les expériences de RMN après équilibrage pendant une nuit. L'étude de l'inclusion de  $\beta$ -CD repose sur l'idée suivante: si la molécule invitée pénètre dans la cavité de la  $\beta$ -CD, les atomes d'hydrogène situés à l'intérieur de la cavité (H-3 et H-5) seront considérablement perturbés, alors que les atomes d'hydrogène situés à la surface externe (H-1, H-2, H-4 et H-6a, H-6b) restent inchangés ou subissent un décalage marginal.

Les Tableaux. II.8 et II.9 montrent les déplacements chimiques ( $\delta$  et  $\Delta\delta$ ) pour les protons de la  $\beta$ -CD libre et dans le complexe et pour le dérivé (9b) libre et dans le complexe respectivement.

**Tableau. II.8. Déplacements chimiques des protons de la  $\beta$ -CD libre et dans le complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé 9b) 1/1**

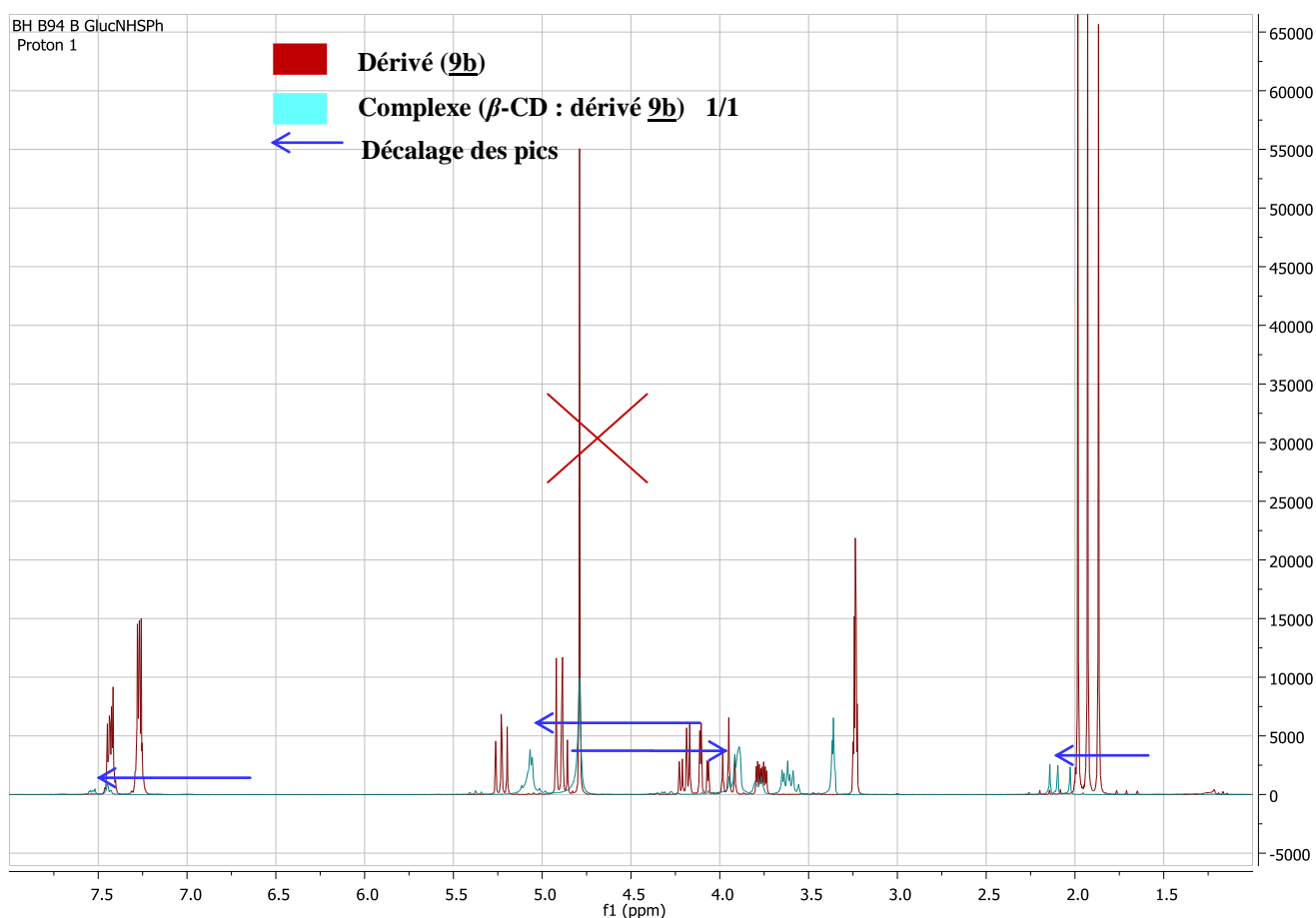
$\beta$ -CD protons	Complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé 9b) 1/1		
	$\delta_{\text{(libre)}}$ ppm	$\delta_{\text{(complexe)}}$ ppm	$\Delta\delta^*$
H-1	4,980	4.975	-0.005
H-2	3,550	3.356	-0.194
H-3	3,910	4.060	+0.150
H-4	3,500	3.000	-0.500
H-5	3,850	3.958	+0.108
H-6a et H-6b	3,790	3.485	-0.305

$$*\Delta\delta = \delta (\text{complexe}) - \delta (\text{libre})$$

**Tableau. II. 9. Déplacements chimiques des protons du dérivé (9b) libre et dans le complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD: dérivé 9b) 1/1**

Complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD: dérivé <u>9b</u> ) 1/1			
<u>9b</u> protons	$\delta$ (libre) ppm	$\delta$ (complexe) ppm	$\Delta\delta^*$
H-1'	5.280	5.100	-0.180
H-2'	3.550	3.226	-0.324
H-3'	4.980	4.150	-0.830
H-4'	3.014	3.400	+0.386
H-5'	4.850	3.992	-0.858
H-6a' et H-6b'	4.100	3.880	-0.220
Ar	7.250	7.550	+0.300
Ac	1.950	2.100	+0.150

$$*\Delta\delta = \delta (\text{complexe}) - \delta (\text{libre})$$



**Figure. II.8. Spectre RMN  $^1\text{H}$  de comparaison entre le complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé 9b) 1/1 et le dérivé (9b) dans  $\text{D}_2\text{O}/\text{MeOD}$  (v/v) (10mM), 300 MHz à  $25^\circ\text{C}$**

Comme il ressort des Tableaux . II.8 et II.9, pour le complexe binaire 1/1, les valeurs de  $\delta$  (ppm) pour **H-3** et **H-5** ont été modifiées, ce qui suggère la complexation du dérivé (9b) avec  $\beta$ -CD .



Les déplacements chimiques induits par la complexation des protons **H-3** et **H-5** de la  $\beta$ -CD sont ceux attendus du fait de l'interaction avec les protons des autres dérivés orientés vers la cavité de la  $\beta$ -CD.

Un décalage plus important des protons **H-3** et **H-5** est considéré comme une forte indication de la formation d'un complexe d'inclusion<sup>25,26</sup>. Pour bien déterminer ce décalage aux niveaux des protons **H-3** et **H-5**, nous avons étudié le décalage de ces deux protons dans les complexes d'inclusion où les dérivés (**2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **7**, **6**, **7a** et/ou **6a**) sont utilisés comme invités (voir le Tableau ci-dessous).

**Tableau. II.10. Décalage des protons H-3 et H-5 dans les complexes d'inclusion à base de la  $\beta$ -CD**

	Dérivés	M (g/mol)	Solvant	( $\Delta\delta$ ) de <b>H-3</b>	( $\Delta\delta$ ) de <b>H-5</b>	Complexe
<b>2b</b>	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>10</sub>	389.13	CDCl <sub>3</sub>	-0.150	-0.258	Oui
<b>5a</b>	C <sub>18</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>11</sub>	431.14	D <sub>2</sub> O/ CD <sub>3</sub> OD- <i>d</i> <sup>4</sup>	0.000	0.000	Non
<b>5b</b>	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> F <sub>7</sub> NO <sub>8</sub> S	593.10	CD <sub>3</sub> OD- <i>d</i> <sup>4</sup>	+0.443	-0.318	Oui
<b>5c</b>	C <sub>18</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>9</sub> S	433.14	CD <sub>3</sub> OD- <i>d</i> <sup>4</sup>	-0.431	-0.702	Oui
<b>7</b>	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>11</sub>	521.45	CDCl <sub>3</sub>	-0.325	+0.445	Oui
<b>6</b>	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>11</sub>	481.16	CDCl <sub>3</sub>	-0.220	-0.179	Oui
<b>7a</b>	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>11</sub>	508,68	CD <sub>3</sub> OD- <i>d</i> <sup>4</sup>	-0.393	+0.137	Oui
<b>6a</b>	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>13</sub>	526.15	CDCl <sub>3</sub>	-0.175	+0.005	Oui

( $\Delta\delta$ ): Changements ; \* $\Delta\delta = \delta$  (complexe) -  $\delta$  (libre)

D'après le Tableau ci-dessus, on observe un décalage au niveau des protons **H-3** et **H-5** pour les sept dérivés (**2b**, **5b**, **5c**, **7**, **6**, **7a**, et **6a**) ce qui explique la formation du complexe d'inclusion avec la  $\beta$ -CD, par contre pour le dérivé (**5a**) on n'observe pas un décalage au niveau de ces deux protons, ça peut être due à la non formation du complexe d'inclusion.

D'après les résultats de certains complexes en RMN du <sup>1</sup>H, le décalage du proton **H-3** est faible par rapport au décalage du proton **H-5** au vue de sa situation dans la partie étroite de la cavité.

#### II.4.4.2. Caractérisation du complexe d'inclusion formé par RMN du fluor (RMN <sup>19</sup>F)

La RMN du <sup>19</sup>F a été réalisée pour suivre les déplacements chimiques des groupes CF<sub>2</sub> et CF<sub>3</sub> dans le dérivé **9b** et pour les comparer au complexe ( $\beta$ -CD : dérivé **9b**) 1 /1. La résonance caractéristique des groupes (3'CF<sub>3</sub>, 2'CF<sub>2</sub> et le CF<sub>2</sub> par RMN <sup>19</sup>F) est située dans la gamme de -80 à -120 ppm. Les résultats obtenus sont résumés dans la Figure. II.9 et le Tableau. II.11, le calcul de  $\Delta\delta$  montre que les déplacements chimiques des groupes CF<sub>2</sub> et CF<sub>3</sub> en ajoutant du  $\beta$ -CD, où il est noté qu'après l'inclusion des groupes fluorés du dérivé (**9b**), les pics deviennent moins décalés. Ces résultats prouvent la formation du complexe d'inclusion entre la  $\beta$ -CD et le dérivé (**9b**).

<sup>25</sup>. D.-J. Wood, F.-E. Hruska, W. Saenger. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99(6), 1735 – 1740.

<sup>26</sup>. D. Salvatierra, C. Jaime, A. Virgili, F.-S. Ferrando. *J. Org. Chem.* **1996**, 61(26), 9578 – 9581.

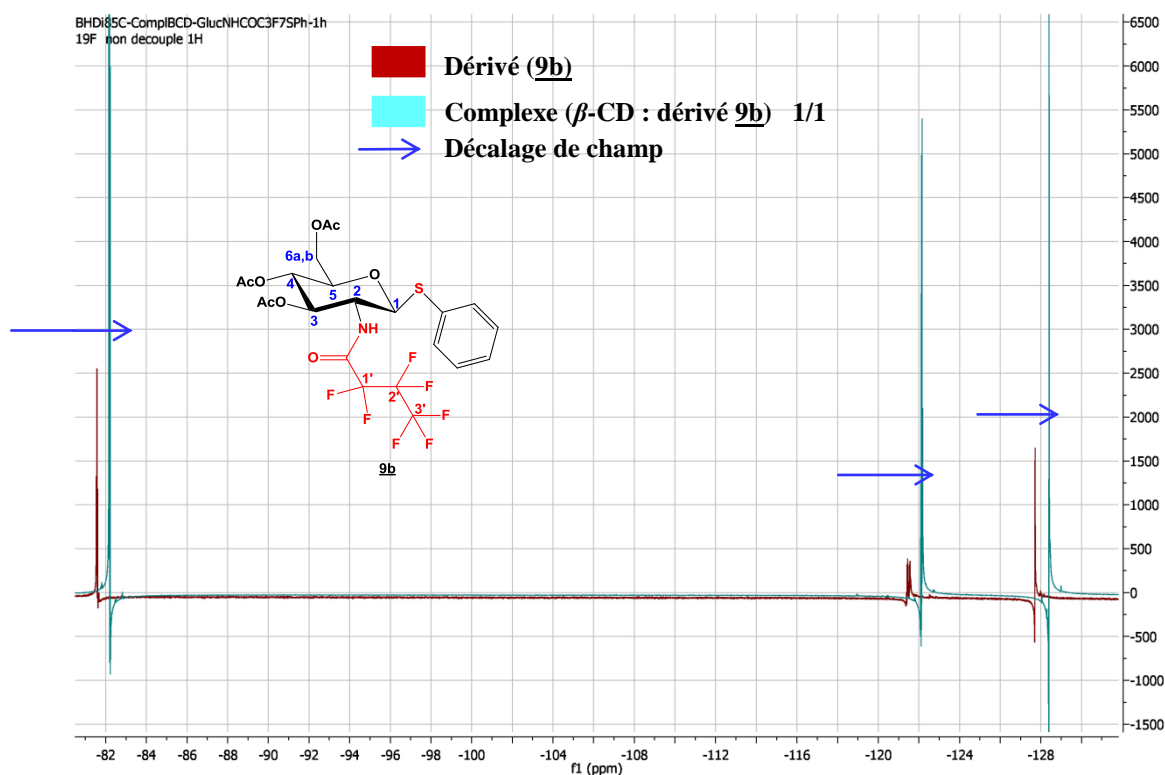


Figure. II.9. Spectre RMN  $^{19}\text{F}$  de comparaison entre le complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé 9b) 1/1 et le dérivé (9b) dans  $\text{D}_2\text{O}/\text{MeOD}$  (v/v) (10mM), 300 MHz à 25°C

Tableau. II.11. Déplacements chimiques du RMN  $^{19}\text{F}$  du dérivé 9b libre et dans le complexe

Complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : <u>9b</u> ) 1/1			
Dérivé <u>9b</u>	$\delta$ (libre) ppm	$\delta$ (complexe) ppm	$\Delta\delta^*$
1'CF <sub>2</sub>	-121.1	-121.6	-0.50
2'CF <sub>2</sub>	-127.2	-127.8	-0.60
3'CF <sub>3</sub>	-80.7	-82.1	-1.40

$$*\Delta\delta = \delta (\text{complexe}) - \delta (\text{libre})$$

#### II.4.4.3. Caractérisation du complexe d'inclusion formé par infrarouge (IR)

La Figure. II.10 représente les spectres infrarouges de  $\beta$ -CD libre, le dérivé (9b) et le complexe ( $\beta$ -CD : dérivé 9b) 1/1

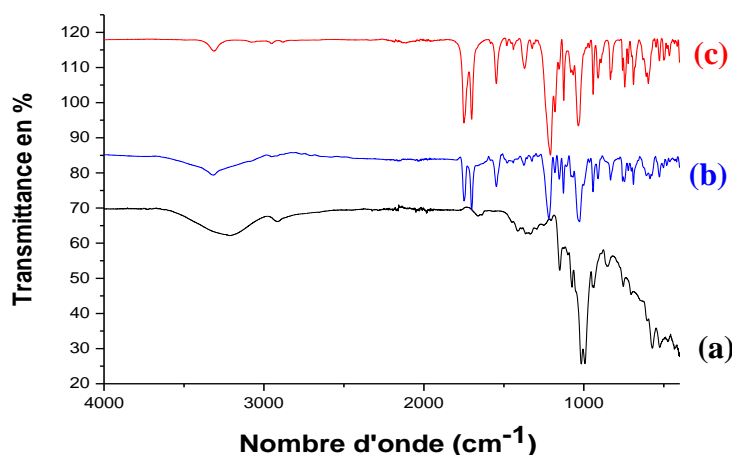


Figure. II.10. Spectres infrarouges dans la gamme de 0 à 4000  $\text{cm}^{-1}$  de (a)  $\beta$ -CD; (b) complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé 9b) et (c) dérivé (9b)

Nous pouvons voir une différence apparente entre les spectres du dérivé (9b),  $\beta$ -CD et leurs complexes d'inclusion. Le spectre (IR) de la  $\beta$ -CD libre montre une bande large à  $3394\text{cm}^{-1}$ , qui est attribuée à la vibration  $\nu\text{OH}$ , après la complexation cette bande est déplacée à  $3400\text{ cm}^{-1}$  avec une diminution de son intensité. Dans le spectre de la  $\beta$ -CD libre la fréquence de vibration d'élongation de ( $\text{CH}_2$ ) est  $2924\text{ cm}^{-1}$ , alors que dans le complexe elle est déplacée à  $2321\text{ cm}^{-1}$  en plus l'intensité du signal a augmenté (Tableau. II.12). D'autre part les bandes de vibration de valence du groupe ( $\text{NH}$ ) apparaissent à  $3279$  et à  $3244\text{cm}^{-1}$  pour le dérivé (9b) libre, mais après la complexation on peut noter la disparition de cette bande, démontrant que ( $\text{NH}$ ) est impliqué dans le processus d'interaction, et on a observé aussi des vibrations enregistrées à  $690-740\text{ cm}^{-1}$ , à  $1000-1400\text{ cm}^{-1}$ , à  $1400-1600\text{ cm}^{-1}$  et à  $690-710\text{ cm}^{-1}$  pour les groupes  $\nu\text{C-S}$ , vibration des groupes  $\nu\text{C-F}$ , étirement vibrationnel de  $\nu\text{C}=\text{C}_{\text{Aromatique}}$  et  $\nu\text{Ar}_{\text{monosubstitué}}$  respectivement (Tableau. II.13.)

Tableau. II.12. Comparaison entre l'intensité des groupes principaux de  $\beta$ -CD libre et complexé

Groupes fonctionnels	Nombre d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ )		Changements $\Delta \nu^*$
	$\beta$ -CD Libre	Complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé <u>9b</u> ) 1/1	
$\nu\text{OH}$ (symétrique et antisymétrique)	3394	3400	+6
$\nu\text{CH}_2$	2924	2321	-603
$\nu\text{C-C}$	1157	1160	+3
$\nu\text{O-H}$ (Vibration de flexion)	1031	1030	-1

\* $\Delta \nu = \nu_{\text{(complexé)}} - \nu_{\text{(libre)}}$

Tableau. II.13. Comparaison entre l'intensité des principaux groupes du dérivé (**9b**) libre et complexé

Groupes fonctionnels	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )		Changements $\Delta\nu^*$
	Dérivé ( <b>9b</b> ) libre	Complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé <b>9b</b> ) (1/1)	
$\nu$ N-H	3279	-----	3279
$\nu$ C-S	691	690	-1
$\nu$ C-F	1120	1110	-10
$\nu$ Ar monosubstitué)	699	700	-1
$\nu$ C=C <sub>(Aromatique)</sub>	1490	1492	+2

$$*\Delta\nu = \nu_{(\text{complexé})} - \nu_{(\text{libre})}$$

Le **Tableau. II.12** et le **Tableau. II.13**, présente le nombre d'onde et les modifications des groupes fonctionnels de  $\beta$ -CD et du dérivé (**9b**) libres et dans le complexe d'inclusion et montrent aussi les augmentations et les diminutions d'intensité. D'après les résultats présentés dans les deux **Tableaux**, on peut dire que l'incrément est dû à l'insertion de la partie anneau ( $C=C_{\text{Aromatique}}$ ) et de la chaîne de la partie ( $C_3F_7$ ) dans la cavité riche en électrons de  $\beta$ -CD, et par conséquent la densité du nuage d'électrons augmentera, ce qui entraînera une augmentation du nombre d'ondes  $\Delta\nu > 0$ . La diminution du nombre d'onde  $\Delta\nu < 0$  entre le complexe d'inclusion et sa molécule constitutive est due aux modifications du microenvironnement (microphénomène) qui entraînent la formation de liaisons hydrogène et la présence de forces de *Van Der Waals* lors de leurs interactions pour former le complexe d'inclusion. On peut conclure que l'intensité et la forme de bandes ont nettement changé dans le cas du complexe d'inclusion par rapport au dérivé (**9b**) et au  $\beta$ -CD libres, indiquant la formation d'un complexe d'inclusion.

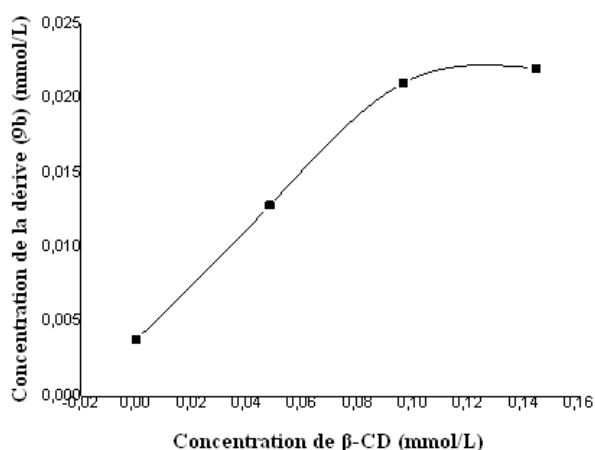
#### II.4.5. Etude de la solubilité par l'UV visible

Les études de la phase de solubilité du dérivé (**9b**) en présence de  $\beta$ -CD ont été réalisées selon la méthode décrite par **Higuchi** et **Connors**<sup>27</sup>. La quantité en excès du dérivé (**9b**) (30 mg, 4,8145 mmol/L) a été ajoutée à 20 mL de la solution aqueuse (méthanol/eau) (2/8) contenant diverses concentrations en  $\mu$ M (0, 15, 30 et 45) de  $\beta$ -CD dans une série de fioles coniques, les mélanges ont été agités à 25°C pendant 24h au moyen d'un agitateur à ballon rotatif. Après équilibrage, les solutions ont été filtrées immédiatement en utilisant un filtre à disque en Nylon de 0,45  $\mu$ m (*Millex-HV*, *Millipore*). Les échantillons filtrés ont été convenablement dilués.

Les spectres d'absorption ont été utilisés pour étudier la solubilité du dérivé (**9b**) en présence de différentes concentrations de  $\beta$ -CD, nous avons observé que la solubilité du dérivé (**9b**) augmente d'un

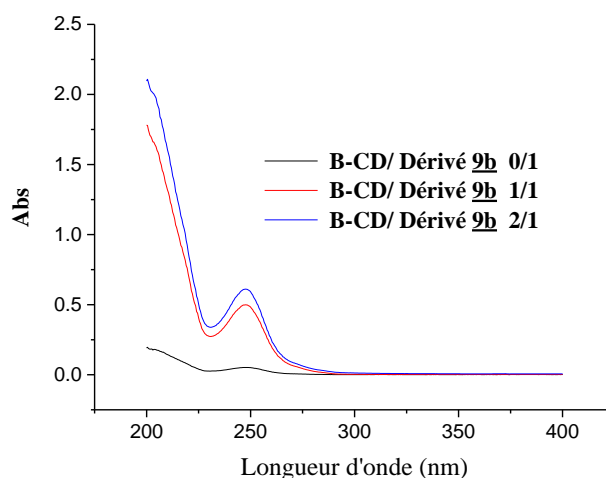
<sup>27</sup>. T. Higuchi, K-A. Connors. Phase-Solubility Techniques. In: C-N. Reilly (Ed). *Adv. Anal. Chem. Instrum.* Wiley-Interscience. New York, **1965**, 4, 117 – 212.

facteur de six lorsque la concentration en  $\beta$ -CD augmente de 0,10 mmol/L, comme le montre la **Figure II.11**. La courbe de solubilité est de **type A<sub>N</sub>** pour la  $\beta$ -CD. Ces résultats indiquent que la solubilisation du dérivé (**9b**) est proportionnellement moins efficace à une concentration plus élevée; ceux-ci indiquent que le complexe hydrosoluble se forme avec des solubilités supérieures à celles du substrat non complexé.



**Figure. II.11.**Diagramme de phase de solubilité du dérivé (**9b**) en présence de différentes concentrations de  $\beta$ -CD à 25°C

D'autre part, les spectres d'absorption du dérivé (**9b**) en présence de différentes concentrations de  $\beta$ -CD, ont été pris en compte, il a été enregistré que la  $\beta$ -CD n'avait pratiquement aucune absorption sur la longueur d'onde **200-400 nm**; par conséquent le complexe d'inclusion avait une intensité accrue à tous les points de la longueur d'onde du fait de l'augmentation de la concentration en  $\beta$ -CD, ce qui peut être dû au phénomène d'inclusion entre  $\beta$ -CD et le dérivé (**9b**) (**Figure. II.12**)



**Figure .II.12.** Absorbance du dérivé (**9b**) en présence de différentes concentrations de  $\beta$ -CD à 25°C

#### II.4.7. Conclusion

Un nouveau complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé **9b**) 1/1 a été formé avec succès par trois méthodes différentes (Lyophilisation, Microonde et Ultrasons) et caractérisé par (IR, RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{19}\text{F}$  et UV-Visible). La possibilité de former un complexe d'inclusion entre la  $\beta$ -CD et le dérivé (**9b**) et /ou les autres dérivés, dans le but d'augmenter leur solubilité dans un système aqueux (hydrosolubilité).

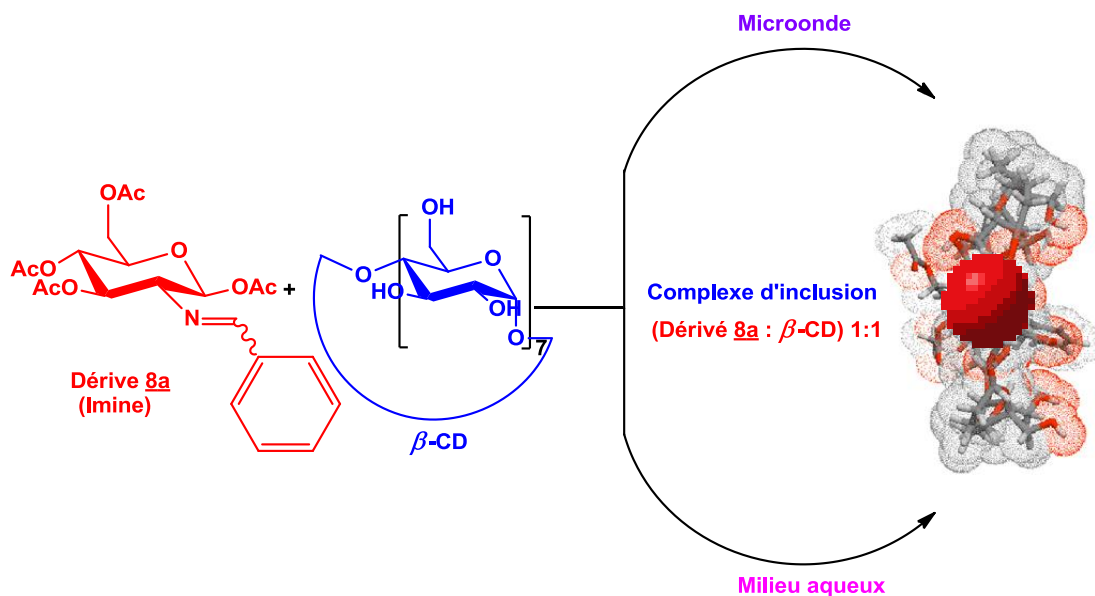
Tout d'abord, les efficacités d'encapsulation ont été déterminées pour les neuf dérivés, elles varient de **35 à 93.54%**. Les EE% les plus élevées sont obtenues avec le **9b**, le **7a**, le **5a** et le **6a**. Ils ont montré que la nature de l'invité joue un rôle prédominant sur son encapsulation et sa solubilisation. L'exemple d'étude était le dérivé (**9b**), ce composé original constitue un bon point de départ pour des applications potentielles comme agent thérapeutique. L'analyse RMN $^{19}\text{F}$  a clairement indiqué la formation d'un complexe; La RMN  $^1\text{H}$  a également donné une bonne indication de la formation du complexe en raison du décalage de champ et du changement d'intensité du pic observé pour le complexe. L'étude IR confirme la formation du composé d'inclusion par la disparition des bandes et l'apparition de nouvelles bandes qui caractérisent le complexe d'inclusion.

Nous avons finalisé nos travaux par une étude de la phase de solubilité du dérivé (**9b**) dans une solution aqueuse de  $\beta$ -CD à différentes concentrations. À partir de la courbe de solubilité, il a été déduit que la concentration de  $\beta$ -CD augmentait la solubilité du dérivé (**9b**), la courbe de solubilité indiquant le type  $A_N$  pour la  $\beta$ -CD.

Après l'étude du pouvoir complexant de  $\beta$ -CD sur le dérivé (**9b**) (composé organofluoré), nous avons repris un travail similaire sur l'imine (**8a**). Pour des raisons de prédiction de la bioactivité, de la très forte solubilité dans l'eau et de la bonne perméabilité (d'après l'optimisation par ADME). Mais dans la réalité les imines sont principalement des molécules biologiquement actives (**Chapitre. I**), instable dans les milieux aqueux et leurs solubilité est limitée, elles sont aussi très sensibles à la lumière et à la chaleur (la lumière catalyse l'isomérisation des doubles liaisons). Le dérivé (**8a**) est très sensible au milieu basique et acide (effet du pH) ce qui provoque sa protonation. C'est pour cette raison, que nous avons utilisé la complexation.

## II.5. Formation du complexe d'inclusion et étude de la stabilité de l'imine (**8a**)

La préparation du complexe d'inclusion peut se faire en phase solide (activation via microondes) ou en phase liquide (milieu tamponné) (**Schéma. II.2**).



**Schéma. II.2.** Structure 3D du complexe d'inclusion 1:1 entre  $\beta$ -CD et le dérivé (**8a**) généré par molinspiration Galaxy 3D Generator v2018.01<sup>28</sup>

### II.5.1. Formation du complexe en phase solide par irradiation via micro-onde

La formation du complexe d'inclusion de type 1/1 dans l'état solide par irradiation via micro-onde suit le protocole présenté dans le **chapitre IV**. Les résultats sont résumés ci-dessous

**Tableau. II.14.** Présentation des résultats obtenus par irradiation via micro-onde du complexe ( $\beta$ -CD : dérivé **8a**) 1/1

Formule chimique:	M (g/mol)	R <sub>f</sub> *	F°C	EE%	Rdt%
C <sub>63</sub> H <sub>95</sub> NO <sub>44</sub>	1569.52	0.79	197-200	85	95

\* Éluant : (CH<sub>3</sub>Cl/ HCl : 99/1)

#### II.5.1.a. Evaluation du point de fusion

Les résultats de comparaison entre la  $\beta$ -CD libre, l'imine libre et le complexe d'inclusion sont présentés dans le **Tableau** ci-dessous.

<sup>28</sup>. H. Bouleghlem, N-E. Aouf, S. Zidane, H. Cherifi. *Indian J. Heterocycl. Chem.* **2020**, 30(2), 171 – 179.

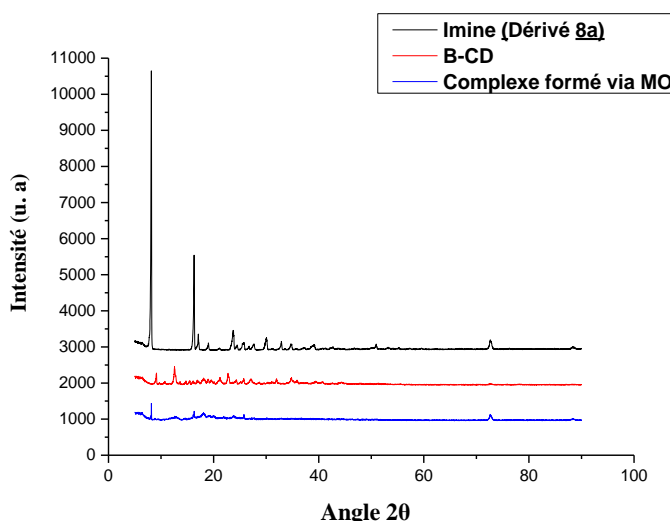
**Tableau. II.15. Comparaison entre les points de fusion de l'imine libre, de la  $\beta$ -CD libre, et du complexe d'inclusion.**

	$\beta$ -CD libre	Imine libre	complexe d'inclusion
F (°C)	280	131	197

On comparant les valeurs du point de fusion de  $\beta$ -CD libre et de l'imine libre avec le complexe d'inclusion, on constate qu'elles sont totalement différentes, ce qui suppose que l'inclusion a eu lieu.

### II.5.1.b. Analyse du complexe d'inclusion formé par DRX

D'après les études de la diffraction des rayons X, on conclut que la cristallinité et l'amorphicité sont des facteurs importants qui doivent être liés aux solubilités des composés<sup>29</sup>. Cependant, ils sont utiles pour surveiller le changement de la cristallinité des composés lors de l'interaction hôte-invité<sup>27</sup>. La **figure. II.13.** montre des diffractogrammes des rayons X de l'imine, de la  $\beta$ -CD et du complexe formé.



**Figure. II.13. Diffractogramme DRX de l'imine (dérivé 8a), de la  $\beta$ -CD et du complexe formé via MO**

Le diffractogramme DRX de l'imine présente deux pics intenses à 8° et 18° et le spectre de  $\beta$ -CD présente des pics moyens fins, mais l'imine en présence de  $\beta$ -CD ne représente pas des pics, donc la  $\beta$ -CD a modifié les propriétés cristallographiques de l'imine et on peut attribuer ce changement à la formation du complexe d'inclusion, ce résultat est en accord avec ceux de la littérature<sup>30,31</sup>.

<sup>29</sup>. X. Zang, D.Wu, J. Lai, Y. Lu, Z.Yin, W.Wu *J. Pharm. Sci.*, **2009**, 98(2), 665 – 675.

<sup>30</sup>. S. Puvaneswary, M. Sharifah, A. Yatimah. *Int. J. Mol. Sci.*, **2010**, 11(10), 3675 – 3685.

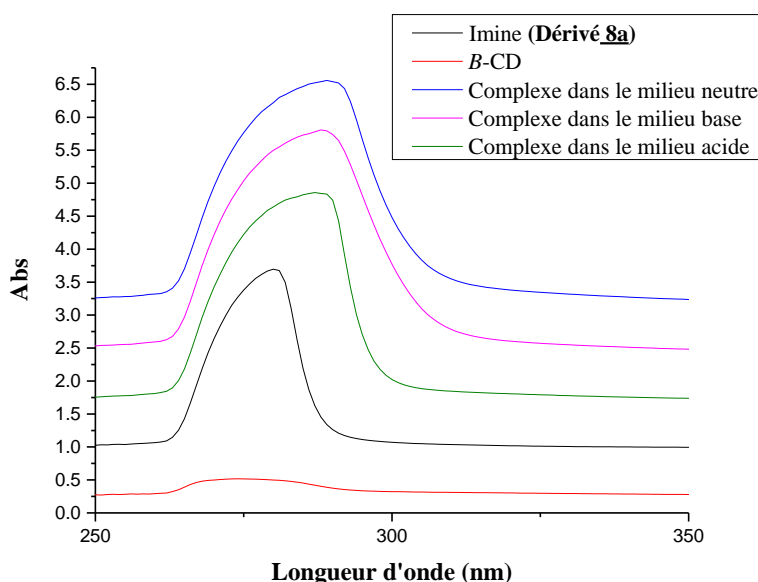
<sup>31</sup>. Y.Gao, X. Zhao, B.Dong, L. Zheng, N. Li, S. Zhang. *J. Phys. Chem. B.* **2006**, 110(17), 8576 – 8581.



### II.5.2. Formation du complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé **8a**) 1/1 à l'état liquide

Cette étude a pour but de mise en évidence la formation du complexe entre l'imine et la  $\beta$ -CD de manière indirecte, et de déterminer l'effet de cette dernière sur la stabilité du complexe dans différents milieux tamponnés, afin de confirmer et envisager le milieu de la complexation.

La concentration des solutions de la  $\beta$ -CD et de l'imine sont de l'ordre  $10^{-3}$  M dans les trois solutions tampons : le milieu acide (protoné) (pH = 4), le milieu neutre (pH = 6.9) et le milieu basique (pH = 8.5). Après la préparation des solutions, le tout est mis sous agitation pendant 24 heures à température ambiante (25°C) pour accélérer la formation du complexe d'inclusion. La complexation en différents milieux a été suivie par spectroscopie UV-Visible à 25°C, les résultats obtenus sont mentionnés dans la **Figure.II.14**.



**Figure. II.14. Spectre d'absorption UV-Visible de comparaison entre l'imine, la  $\beta$ -CD et le complexe d'inclusion 1/1 formé dans les différents pH**

D'après le spectre, on peut remarquer que l'addition de la  $\beta$ -CD à la solution de l'imine dans différents pH produit une augmentation de l'absorbance et un déplacement des maximums d'absorptions de façon significative, donc on peut attribuer ça à l'effet de la  $\beta$ -CD sur la stabilité de l'imine par la formation d'un complexe où la  $\beta$ -CD a inhibé l'hydrolyse de la double liaison (C=N). La liaison azométhine est facilement hydrolysable en milieu aqueux, de nombreuses recherches ont été consacrées à l'étude de la décomposition des imines par l'addition d'une molécule d'eau sur la double

liaison carbone-azote (C=N)<sup>32,33</sup> à cause de son rôle effectif dans certaines réactions biologiques<sup>34</sup>, mais jusqu'à présent, l'effet de la complexation par les CDs. n'a pas de rapport sur l'inhibition de l'hydrolyse. Les différentes valeurs des longueurs d'ondes et d'absorbances obtenues du spectre de la  $\beta$ -CD, de l'imine et des complexes dans les différents pH, sont regroupées dans le **Tableau. II.16.** suivant:

**Tableau. II.16. Comparaison entre l'imine, la  $\beta$ -CD et le complexe d'inclusion ( $\beta$ -CD : dérivé **8a**) 1/1 formé dans les différents pH**

	$\lambda$ (nm)	Abs	Coefficient d'extinction molaire $\epsilon$ (L.mol <sup>-1</sup> . cm <sup>-1</sup> ) x10 <sup>3</sup>
Dérivé ( <b>8a</b> ) libre à pH = 6.9	280	2.71	2.71
Complexe à pH = 4.0	287	3.21	3.21
Complexe à pH = 6.9	289	3.42	3.42
Complexe à pH = 8.5	288	3.37	3.37
$\beta$ -CD libre	274	0.28	2.80

D'après le **Tableau.II.16**, le complexe d'inclusion en milieu neutre possède la plus grande absorbance par rapport aux autres complexes formés dans les deux autres milieux, on peut conclure que le milieu neutre est très favorisé pour la complexation. Cette étude a montré que la présence de  $\beta$ -CD quel que soit le milieu utilisé a protégé l'imine contre la protonation et la décomposition.

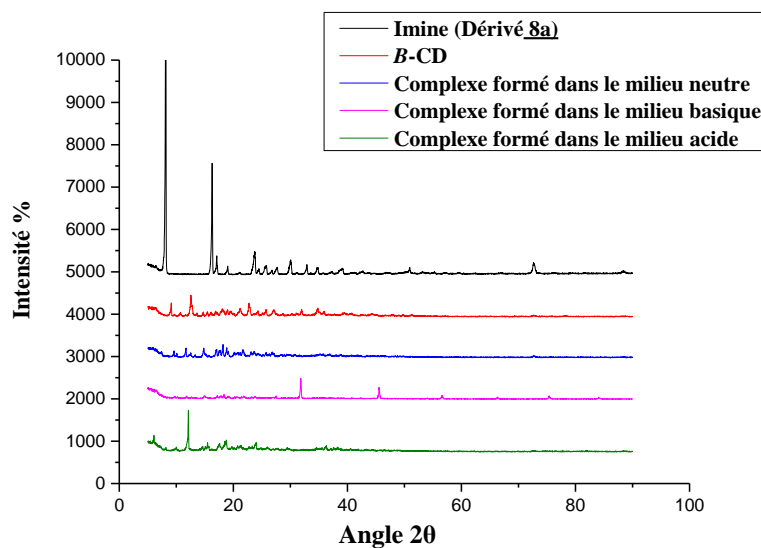
#### II.5.2.1. Analyse du complexe formé dans les différents pH par DRX

À la suite de ces résultats, nous avons étudié l'influence de la  $\beta$ -CD sur le dérivé (**8a**) par DRX dans les différents milieux. Les diagrammes de diffraction des RX de  $\beta$ -CD, du dérivé (**8a**) et des complexes d'inclusion obtenus sont montrés dans la **Figure. II.15.**

<sup>32</sup>. C-A.Bontrager, T-J.Geibel, G-A. Lengyel. *J. Vis. Exp.*, **2017**, 122, 1 – 5.

<sup>33</sup>. A-A. Bey, H-F. Loukil, G. Gosselin, A. Mathieu, A. Mesli, *J. Heterocycl. Chem.* **1982**, 19(3), 617 – 624.

<sup>34</sup>. A. Geronikaki. *Farmacia*. **1990**, 3, 17 – 21.



**Figure. II.15. Diffractogramme DRX du dérivé (8a),  $\beta$ -CD et complexes à différents pH**

Les résultats des analyses obtenues par les DRX montrent un profil amorphe pour le dérivé (8a) en présence de la  $\beta$ -CD dans le milieu neutre, un profil semi cristallin pour les complexes aux milieux basique et acide et un profil semi cristallin pour la  $\beta$ -CD, contrairement au dérivé (8a) qui présente un profil cristallin avec deux pics intense à  $8^\circ$  et  $18^\circ$ . Nous pouvons attribuer ce changement à la présence de la  $\beta$ -CD qui a modifié les propriétés cristallographiques d'imine dans les trois milieux mais d'une façon très remarquable dans le milieu neutre. Nous pouvons conclure que la stabilité du dérivé (8a) dans ce milieu peut inhiber l'hydrolyse de la double liaison ( $C=N$ ) et nous pouvons attribuer ça à la complexation favorisée dans le milieu neutre, ce qui confirme les résultats obtenus par l'UV Visible.

### II.5.3. Etude de la phase de solubilité du dérivé (8a) en présence de la $\beta$ -CD dans le milieu neutre

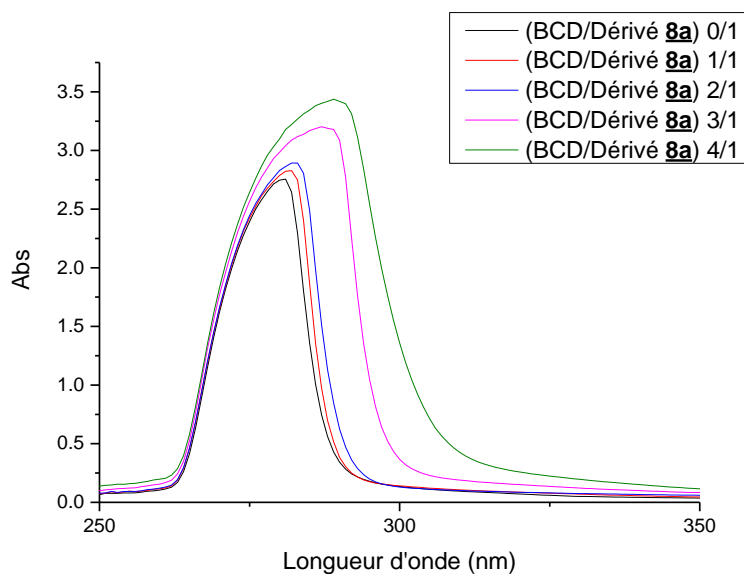
Les études de la phase de la solubilité ont été effectuées selon la méthode décrite par **Higuchi** et **Connors**<sup>27</sup>. Les diagrammes ou les isothermes de solubilité sont réalisés en mesurant la concentration maximale que le composé peut atteindre dans une solution aqueuse de  $\beta$ -CD. La molécule invitée est placée en excès dans des solutions de concentrations croissantes de CD, à une température donnée<sup>33</sup>. Pour ce faire nous avons dissous une quantité d'imine dans des flacons fermés, contenant une solution aqueuse tamponnée de  $\beta$ -CD (milieu neutre), afin d'obtenir les solutions ( $\beta$ -CD : dérivé 8a) à différents rapports molaires **1/0, 1/1, 1/2, 1/3 et 1/4**. Les mélanges ont été bien agités pendant 48 heures à température ambiante, jusqu'à l'équilibrage des solutions. Après la filtration des échantillons

sur un filtre de 0,45  $\mu\text{m}$ , nous avons préparé des solutions diluées, afin de les analyser par le spectrophotomètre UV-Vis.

Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau. II.17**, ils donnent ( $\lambda_{\text{max}}$ ), l'absorbance et la concentration du dérivé (**8a**) solubilisé en présence de  $\beta$ -CD. La **Figure. II.16**. montre la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde dans une solution aqueuse de  $\beta$ -CD à différentes concentrations.

**Tableau. II.17. Concentration du dérivé (**8a**) solubilisé en présence de  $\beta$ -CD**

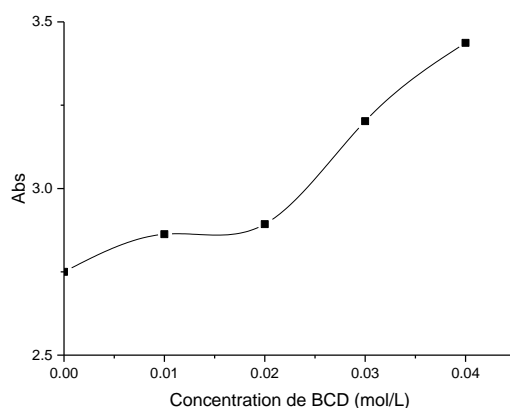
( $\beta$ -CD : dérivé <b>8a</b> )	[Complexe] (mol/L)	Abs	$\lambda_{\text{max}}$	[Dérivé ( <b>8a</b> ) <sub>solubilisé</sub> ] (mol/L) $\times 10^{-3}$
<b>1 : 0</b>	(0.01/0.00)	2.750	280	1.014
<b>1 : 1</b>	(0.01/0.01)	2.863	281	1.056
<b>1 : 2</b>	(0.01/0.02)	2.893	283	1.067
<b>1 : 3</b>	(0.01/0.03)	3.202	287	1.181
<b>1 : 4</b>	(0.01/0.04)	3.437	289	1.268



**Figure. II.16. Spectre UV du dérivé (**8a**) dans une solution aqueuse de  $\beta$ -CD à différentes concentration**

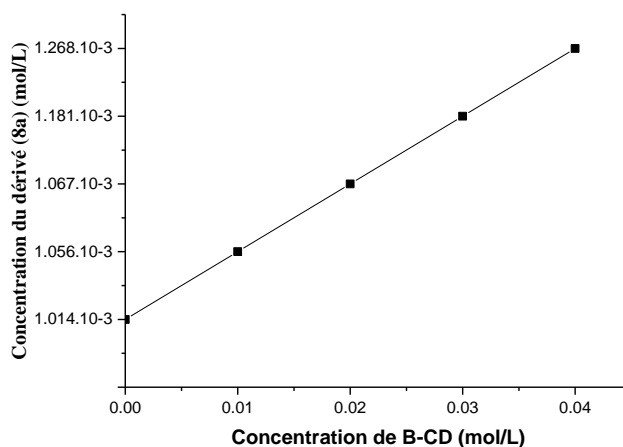
L'évolution de l'absorbance en fonction de la concentration de  $\beta$ -CD, à pH= 6.9 est représentée sur la **Figure. II.17.**, pour des mélanges aqueux ayant une concentration constante d'imine, nous observons que l'intensité de la bande située à 280 nm dépend de la concentration de  $\beta$ -CD. Ce comportement révèle que la formation du complexe ( $\beta$ -CD : dérivé **8a**) a bien eu lieu, vu que la concentration du dérivé (**8a**) est maintenue constante et que la  $\beta$ -CD n'absorbe pas dans ce domaine

spectral. Ces observations permettent également de déduire que l'intensité spectrale reflète indirectement la proportion du dérivé (**8a**) qui est concerné par l'inclusion. Pour vérifier la variation de l'absorbance, nous avons tracé cette dernière en fonction de la concentration de  $\beta$ -CD.



**Figure. II. 17. Spectre d'Absorbance en fonction de la concentration de  $\beta$ -CD**

Nous remarquons une augmentation de l'absorbance en fonction de l'augmentation de la concentration de la  $\beta$ -CD (**Figure. II. 17**). On se basant sur ces résultats, nous avons tracé la courbe de solubilité du dérivé (**8a**) en fonction de la concentration de  $\beta$ -CD (**Figure.II.18**).



**Figure. II.18. Courbe de la phase de solubilité du dérivé (**8a**) dans une solution aqueuse de  $\beta$ -CD à température ambiante (25°C)**

Les diagrammes de solubilité du dérivé (**8a**) avec la  $\beta$ -CD dans le milieu neutre est une droite ne passant pas par l'origine, cela indique que la concentration en dérivé (**8a**) augmente

proportionnellement avec la croissance de la concentration en  $\beta$ -CD. Selon **Higuchi Connors**<sup>27</sup>, il s'agit d'une isotherme de type  $A_L$ <sup>35,36</sup>, car la solubilité du dérivé (**8a**) augmente de façon linéaire en fonction de la concentration en  $\beta$ -CD. Ce profil est attribué à la formation du complexe de type 1/1. À partir du diagramme de phase de solubilité du dérivé (**8a**) dans une solution aqueuse de  $\beta$ -CD à 25°C (**Figure. II.18**), nous avons calculé la constante de stabilité  $K_{1/1}$ , en utilisant l'équation suivante<sup>37,38</sup>:

$$K_S = \frac{\text{Slope}}{S_0(1 - \text{Slope})} \quad \text{Avec pente : de la partie linéaire de la courbe (pente} = 5.8338 \cdot 10^{-3} \text{) ;}$$

$S_0$  : la solubilité intrinsèque du dérivé (**8a**) à base de  $\beta$ -D-glucosamine est de (0.01mmol/L) à 25°C.

La constante de stabilité ( $K_{1/1}$ ) pour le complexe ( $\beta$ -CD : Dérivé **8a**) à température ambiante, à une stœchiométrie 1/1, calculée à partir de la courbe de solubilité est  $583.38 \text{ M}^{-1}$ , ce qui indique la formation du complexe stable, puisque  $K_{1/1}$  dans la gamme de  $200\text{--}5000 \text{ M}^{-1}$  indique une bonne capacité de complexation<sup>39, 40</sup>. Cela suggère aussi qu'il y'a une augmentation dans le profil de dissolution qui serait certainement augmenter la stabilité du dérivé (**8a**).

Par ailleurs, dans l'étude thermodynamique du processus d'inclusion, la valeur d'énergie libre de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ) est une mesure globale des forces motrices pour le processus d'inclusion, et peut inclure des contributions des interactions de *Van der Waals*, des interactions électrostatiques, et des liaisons hydrogène entre l'hôte et l'invité, aussi bien que d'autres facteurs y compris le dégagement des molécules de solvant de la cavité, le dégagement des contraintes conformationnelles et de l'effet hydrophobe.

Notre travail est s'orienté vers l'étude de variation de l'enthalpie libre du dérivé (**8a**) dans des solutions aqueuses de  $\beta$ -CD à 25°C (milieu neutre). L'énergie libre du dérivé (**8a**) dans l'eau pure à différentes concentration de  $\beta$ -CD a été calculée en utilisant les valeurs de la courbe de solubilité (**Figure.II.18**) et l'application de l'équation (3)<sup>41</sup>, les valeurs obtenues de  $\Delta G^\circ$  sont présentés dans le **Tableau.II.18**.

$$\Delta G^\circ = -2.303RT \log \left( \frac{S_s}{S_0} \right)^{41} \dots\dots\dots (3)$$

<sup>35</sup>. H. Miyazawa, H. Ueda, T. Nagase, T. Endo, S. Kobayashi, T. Nagai. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **1995**, 3, 153 – 162.

<sup>36</sup>. K-P. Chowdhery, S-S. Vijaya. *Indian. J. Pharm. Sci.* **2006**, 68(7), 631 – 634.

<sup>37</sup>. M-E. Brewster, T. Loftsson. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2007**, 59, 651 – 652.

<sup>38</sup>. G-S. Tirucherai, A-K. Mitra. *AAPS PharmSciTech.* **2003**, 45, 1 – 12.

<sup>39</sup>. T. Kimura, M. Fujisawa, Y. Nakano, T. Kamiyama, T. Otsu, M. Maeda, S.Takagi. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2007**, 90, 581 – 585.

<sup>40</sup>. A. Douhal. *Elsevier: Amsterdam, The Netherlands.* **2006**, 1, 29 – 84.

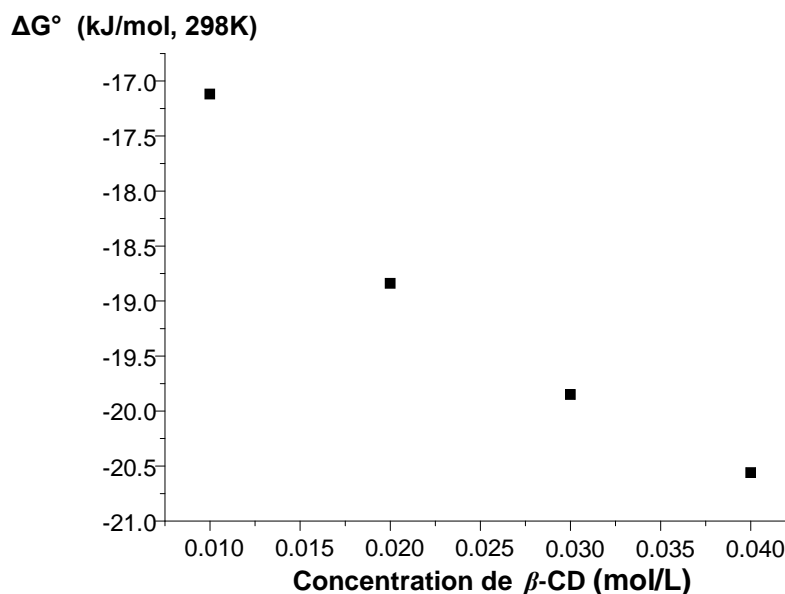
<sup>41</sup>. H-P.Hopkins, C-J. Alexander. *J. Solut. Chem.* **1976**, 5, 249 – 255.

Où,  $\left(\frac{S_s}{S_0}\right)$  : le rapport de solubilité molaire du dérivé (**8a**) dans une solution aqueuse de  $\beta$ -CD à celle de l'eau pure

**Tableau.II.18. Énergie libre ( $\Delta G^\circ$ ) pour le processus de solubilisation d'imine dans une solution aqueuse de  $\beta$ -CD à 298K**

Concentration de $\beta$ -CD (mol/L)	$\Delta G^\circ$ (kJ/mol, 298K)
0.01	-17.12
0.02	-18.84
0.03	-19.85
0.04	-20.56

D'après les résultats mentionnés dans le **tableau.II.18**, nous avons constaté que les réactions de complexation du dérivé (**8a**) avec la  $\beta$ -CD sont exothermiques parce que l'énergie libre est négatives ( $\Delta G^\circ < 0$ ) ; ces variations négatives de l'énergie libre suggèrent que le procédé d'inclusion est enthalpiquement favorables, qui est attribué à de plus fortes interactions de *Vander Waals* entre le dérivé (**8a**) et la  $\beta$ -CD et une plus profonde pénétration de la molécule invitée<sup>42</sup> dans la cavité hydrophobique. La **Figure. II.19**. Représente l'évolution de l'énergie libre  $\Delta G^\circ$  à 298K du processus de solubilisation du dérivé (**8a**) en fonction de la concentration de la  $\beta$ -CD en milieu neutre.



**Figure.II.19. Evolution de l'énergie libre ( $\Delta G^\circ$ ) du processus de solubilisation du dérivé (**8a**) en fonction de la concentration de la  $\beta$ -CD en milieu neutre à 298K**

<sup>42</sup>. J. Zeng, Y. Ren, C. Zhou, S. Yu, C.W. Hua. *Carbohydr. Polym.* **2011**, 83(3), 1101 – 1105.

D'après, l'évolution de l'énergie libre du processus de solubilisation du dérivé (**8a**) en fonction de la concentration de la  $\beta$ -CD en milieu neutre, on remarque que  $\Delta G^\circ$  diminue fortement lorsque la concentration de la  $\beta$ -CD augmente, cette considérable diminution de  $\Delta G^\circ$  en présence de  $\beta$ -CD peut être interprétée par l'encapsulation du dérivé (**8a**) accompagnée par la formation d'un réseau de liaisons hydrogène intramoléculaires entre les groupes hydroxyles de la  $\beta$ -CD et les quatre groupes acétyle (OAc) du dérivé (**8a**). Les variations d'enthalpie libre sont semblables aux données expérimentales<sup>43</sup>, ce qui suggère la nature spontanée de la solubilisation du dérivé (**8a**).

#### II.5.4.Conclusion

Un nouveau complexe d'inclusion 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2- déoxy-2- [benzylidène (amino)] -  $\beta$ -*D*-glucosamine (**8a**) avec la  $\beta$ -CD en quantité équimolaire 1/1 par irradiation à travers micro-ondes a été préparé avec succès et caractérisé par DRX et point de fusion. La spectroscopie UV-Vis du dérivé (**8a**) en présence de  $\beta$ -CD en milieu neutre a montré un effet bathochrome et hyperchromique; ce changement peut être attribuée à la présence de  $\beta$ -CD et à la nature du milieu complexant qui favorise le milieu neutre. Le rapport molaire proposé 1/1 à pH 6,9 a été confirmé par le diagramme de solubilité  $A_L$  avec une constante de stabilité apparente de  $583,38 \text{ M}^{-1}$ ; cette valeur confirme la formation d'un complexe très stable. On peut conclure que l'inclusion du dérivé (**8a**) dans le milieu neutre apparaît comme une formulation prometteuse pour le dérivé (**8a**) et ouvre plusieurs questions, que nous poursuivrons dans nos développements futurs pour trouver les bonnes réponses.

<sup>43</sup>. J.Şahin, N. Özdemir. *J. Anal. Pharm. Res.* **2018**, 7(4), 422 – 428.



# *Chapitre. III*

---

## *Effets de l'encapsulation sur les caractéristiques biologiques des dérivés à base de la D-glucosamine*

---

Dans ce chapitre, on s'est orienté vers l'évaluation des différentes activités biologiques des quelques dérivés libres ainsi que de leurs complexes d'inclusion.

### III.1. Introduction

D'après l'optimisation théorique de dix-huit dérivés testés par la règle de Lipinski (ADME), nous avons choisis les dérivés (**6a**, **7a** et **9b**) parmi les neuf dérivés (**2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **7**, **6**, **7a**, **9b** et **6a**) qui ne sont pas soluble dans l'eau, et nous avons choisis le dérivé (**8a**) qui est instable dans le milieu aqueux. L'encapsulation moléculaire avec la  $\beta$ -CD avec un rapport molaire 1/1, pourrait répondre à un objectif fondamental de l'amélioration de l'efficacité biologique et/ou thérapeutique des dérivés choisis. Les effets bénéfiques des CDs sur l'activité biologique de l'invité sont rapportés, par exemple, par **C-B. Boutelliez** et coll<sup>1</sup> qui ont montré l'amélioration de l'amoxicilline (**AMOX**) pour la capacité de traverser les membranes cellulaires. De même **S-A.Kustrin** et coll<sup>2</sup> permet d'améliorer la stabilité de l'oméprazole (un inhibiteur de la pompe à proton) en pH acide, et récemment **F.Maestrelli**<sup>3</sup>, qui a montré l'amélioration de la biodisponibilité orale de l'Hydrochlorothiazide (HCT).

Dans la suite de notre travail, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité biologique (antibactérienne et antioxydante) des dérivés et leurs complexes d'inclusion.

### III. 2. Activité Biologique

Le développement des nouvelles méthodologies de synthèse des substances structuro-fonctionnelles, et la recherche de nouvelles molécules bioactives possédant une activité thérapeutique potentielle constituent une préoccupation majeure et permanente pour de nombreux chercheurs. L'évaluation de l'activité biologique des nouvelles molécules synthétiques est largement étudiée et précisément dans le domaine thérapeutique, parmi les activités les plus étudiées, nous citons: l'activité antibactérienne, antioxydante, antivirale, antimitotique, anticancéreuse, analgésique, anti-inflammatoire ...etc. ces différentes activités biologiques restent des tests fiables et utilisables dans tous les laboratoires de recherche depuis longtemps et jusqu' à nos jours. Le **Schéma.III.1** ci-dessous résume la méthodologie suivie dans notre étude biologique, les méthodes et les techniques utilisées et les paramètres qui ont été recherchés.

<sup>1</sup>. C-B. Boutelliez, S. Fontanay, C.Finance, F. Kedzierewicz. *AAPS Pharm.Sci.Tech.* **2010**, 11(2), 574 – 581.

<sup>2</sup>. S-A. Kustrin, D.Williams, N. Ibrahim, B-D. *Curr. Drug Discov. Technol.* **2007**, 4(3), 192 – 197.

<sup>3</sup>. F. Maestrelli , M.Cirri, F-G. Villén, A-B. Sánchez, C-V. Iborra, P. Mura. *Pharmaceutics*, **2020**, 12, 104 – 200.

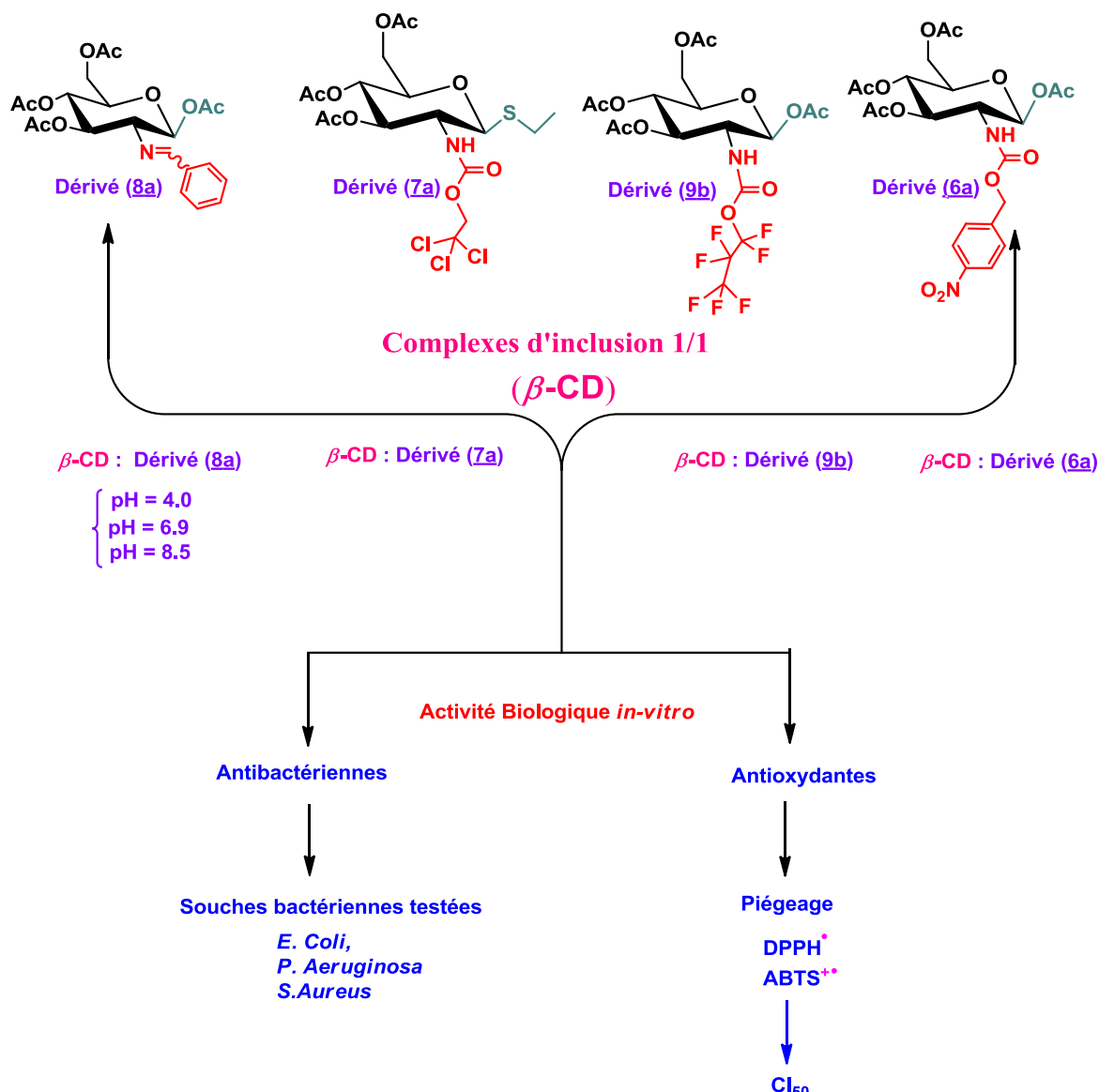


Schéma. III.1. Méthodologie suivie pour la détermination des activités biologiques des dérivés et de leurs complexes d'inclusion

### III.2.1. Tests d'activité antibactérienne in-vitro

L'activité antibactérienne du dérivé (8a) libre et en présence de β-CD à différents pH a été déterminée vis à vis trois souches bactériennes, une souche à Gram positif (*S. Aureus* ATCC 25923) et deux souches à Gram négatif (*E. Coli* ATCC25924 et *P. Aeruginosa* ATCC27853).

Différentes techniques sont utilisées pour étudier cet effet. La méthode de diffusion sur disque dont le principe est basé sur la diffusion des substances testées du disque vers le milieu de culture solide et la méthode de la microdilution en milieu liquide, elle consiste à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes.

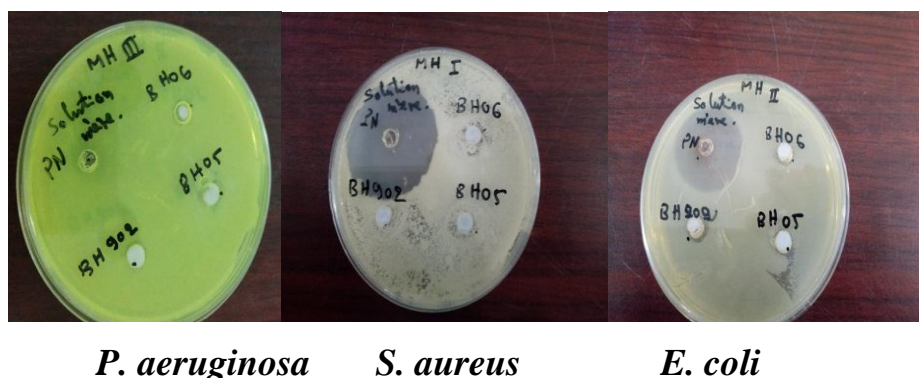
**III.2.1.1 Méthodologie utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne**

Selon la souche microbienne, les composés testés et l'application choisie, le milieu de culture peuvent être mis en œuvre. Les différents protocoles sont classés selon le milieu dans lequel se fait la diffusion des composés choisis. Les deux méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne sont indirectement liées entre eux. Les techniques d'études *in vitro* que nous avons utilisées pour la détermination du pouvoir antibactérien du dérivé (**8a**) libre et en complexe d'inclusion à différents pH, la préparation des suspensions de micro-organismes, ensemencement, ainsi que les protocoles utilisés dans la méthode de diffusion en disque et microdilution en milieu liquide sont décrite dans le **Chapitre.IV**. La méthodologie adoptée pour cette étude repose sur :

- L'identification et la vérification de la pureté des souches testées.
- L'étude de la sensibilité des bactéries (*E. Coli*, *S. Aureus* et *P. Aeruginosa*) vis-à-vis le dérivé libre (**8a**) et en complexe à différents pH.

**III.2.1.2.Résultats et discussion**

D'après les résultats de l'étude (*in-vitro*) obtenus, pratiquement aucune zone d'inhibition de la souche *Pseudomonas aeruginosa* ( $G^+$ ) a été observée pour le dérivé (**8a**) et ses complexes à différents pH; par conséquent, on conclut une absence de l'activité antibactérienne pour la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. De l'autre part, le complexe d'inclusion à **pH = 6,9** a présenté une zone d'inhibition variable (**22–29 mm**), pour la souche *Staphylococcus aureus* ( $G^+$ ) et la souche *Escherichia coli* ( $G^-$ ) indiquant une activité antibactérienne relativement forte. (**Figure.III.1**).



**Figure. III.1.** Effet du complexe d'inclusion (complexe à pH = 4.0), (Dérivé (**8a**) libre), (complexe à pH = 8,5) et (complexe à pH = 6,9) sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*

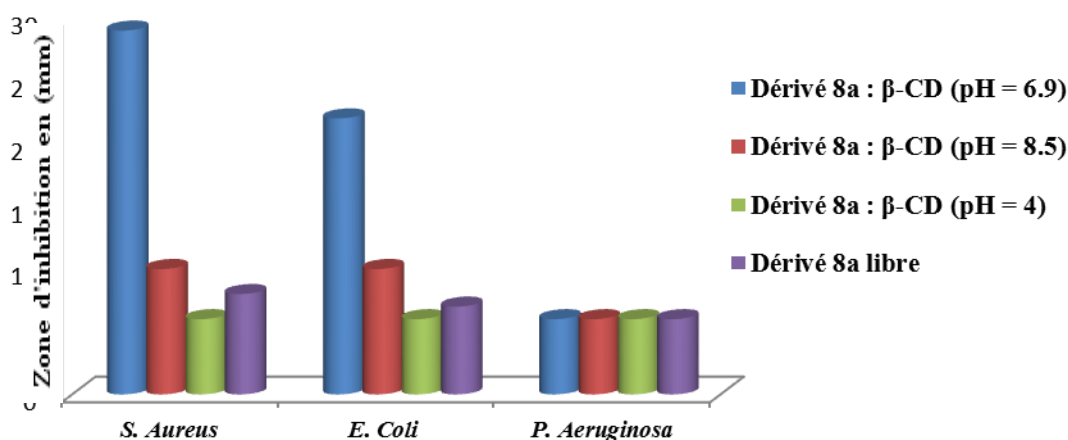
D'après la comparaison du diamètre des zones inhibitrices d'*E.coli* et *S. aureus*, nous constatons que le diamètre de la zone de l'inhibition de *S. aureus* est supérieur à celle d'*E. coli*, donc

la souche de *S. aureus* est plus sensible que *E. coli* au complexe d'inclusion à pH = 6,9. Les résultats obtenus de cette étude sont résumés dans le **Tableau.III.1**.

**Tableau.III.1. Tests de l'activité antibactérienne (200 $\mu$ mol/L dans H<sub>2</sub>O) du dérivé (8a) libre et ses complexes d'inclusion à différents pH**

Composés testés	Diamètres des zones d'inhibitions (mm) <sup>a</sup>		
	Bactérie à Gram <sup>+</sup>	Bactéries à Gram <sup>-</sup>	
	<i>S.Aureus</i>	<i>E. Coli</i>	<i>P. Aeruginosa</i>
$\beta$ -CD : Dérivé (8a) (pH=6.9)	29	22	6
$\beta$ -CD : Dérivé (8a) (pH=8.5)	10	10	6
$\beta$ -CD : Dérivé (8a) (pH=4)	6	6	6
Dérivé (8a) libre	8	7	6

<sup>a</sup>Disques de papier filtre de 6 mm de diamètre [zone d'inhibition (mm) par la méthode de diffusion sur disque]: < 10: activité faible; > 10: modérée; 16>: importantes.



**Figure. III.2. Histogramme des diamètres d'inhibition du dérivé (8a) libre et ses complexes d'inclusion 1/1 à différents pH**

Nous concluons que le diamètre des halos varie en fonction de l'effet du  $\beta$ -CD sur le dérivé (8a), sur la nature du milieu et sur les souches testées. La deuxième méthode avait donné le même résultat. Un résultat très important, concernant l'activité antibactérienne du dérivé (8a) libre et ses complexes d'inclusion 1/1 à différents pH, a montré que la présence de  $\beta$ -CD inhibait la protonation de la fonction imine (HC=N) en milieu aqueux; donc on peut dire que la  $\beta$ -CD a amélioré l'activité antibactérienne du dérivé (8a) dans le milieu aqueux et en particulier dans le milieu neutre (pH = 6,9).

Dans le but de confirmer l'effet de la complexation, nous avons également testé les dérivés (**9b**, **7a** et **6a**) qui ne sont pas soluble dans l'eau et leurs complexes d'inclusion 1/1 contre les mêmes souches déjà testés auparavant. Ces dérivés contiennent des groupements fonctionnels différents que de dérivé (**8a**) (imine) (voir le **Schema. III.1.**).

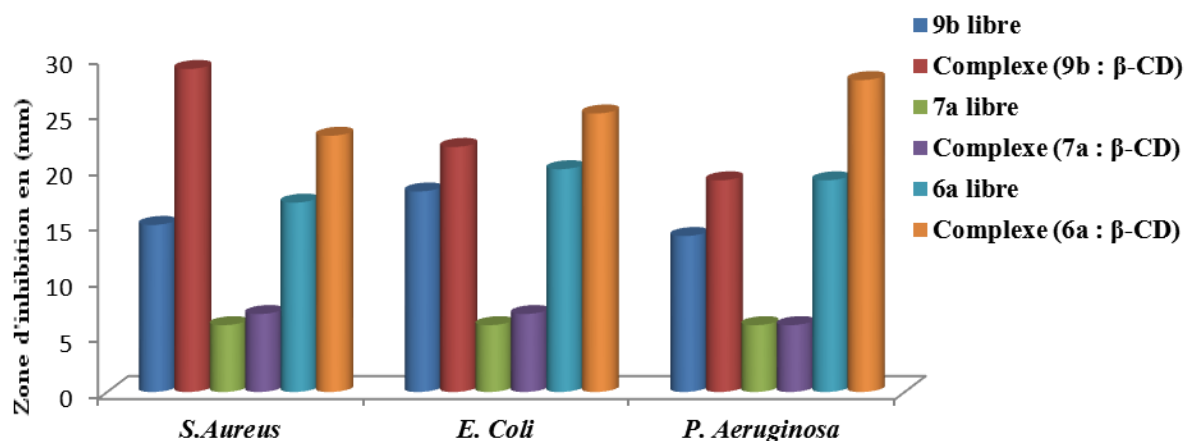
Les résultats des essais des tests biologiques présentés dans le **Tableau.III.2** montrent que les composés (**9b** et **6a**) et leurs complexes 1/1 d'inclusion ont une activité modérée contre toutes les souches bactériennes Gram positif et Gram négatif. Le complexe à base du dérivé (**7a**) n'a montré aucune sensibilité vis-à-vis les souches bactériennes testés, cela est peut être due au faite que la diffusion dans la gélose est nettement lente, ou à la résistance de ces souches bactériennes.

**Tableau. III.2. Tests biologiques de l'activité Antibactérienne (200 $\mu$ mol/L dans H<sub>2</sub>O) de (**9b**, **7a** et **6a**) et leurs complexes d'inclusion 1/1**

Composés testés	Diamètres des zones d'inhibitions (mm) <sup>a</sup>		
	Bactérie à Gram <sup>+</sup>	Bactéries à Gram <sup>-</sup>	
	<i>S.Aureus</i>	<i>E. Coli</i>	<i>P. Aeruginosa</i>
Dérive ( <b>9b</b> ) libre	15	18	14
$\beta$ -CD : Dérive ( <b>9b</b> )	29	22	19
Dérive ( <b>7a</b> ) libre	6	6	6
$\beta$ -CD : Dérive ( <b>7a</b> )	7	7	6
Dérive ( <b>6a</b> ) libre	17	20	19
$\beta$ -CD : Dérive ( <b>6a</b> )	23	25	28

<sup>a</sup>Disques de papier filtre de 6 mm de diamètre [zone d'inhibition (mm) par la méthode de diffusion sur disque]: < 10: activité faible; > 10: modérée; 16>: importantes.

La comparaison des résultats d'inhibition des dérivés (**9b**, **7a** et **6a**) et leurs complexes d'inclusion 1/1 est présenté sur la **Figure.III.3.**



**Figure. III.3. Histogramme des diamètres d'inhibition des dérivés (9b, 7a et 6a) et leurs complexes d'inclusion 1/1**

L'analyse de ces données montre que les dérivés (6a et 9b) et leurs complexes d'inclusion sont révélés les plus actifs contre les trois souches (G+ et G-). Ces résultats montrent que la formation du complexe d'inclusion présente l'avantage d'améliorer l'activité antibactérienne des composés proposés.

### III.2.1.3. Conclusion

L'évaluation de l'activité antibactérienne des composés et leurs complexes d'inclusion vis à vis les trois souches bactériennes révèle que la bactérie *S. Aureus* est la bactérie la plus sensible parmi toutes les souches bactériennes testées pour le dérivé (8a), par contre dans la deuxième série (9b, 7a et 6a) c'est la bactérie *P. Aeruginosa* qui est la plus sensible. Le dérivé (8a) en présence de  $\beta$ -CD à pH = 6.9 a montré donc la meilleure activité par rapport aux autres complexes avec un diamètre d'inhibition de 29 mm vis à vis *S. aureus*. Pour la deuxième série le complexe d'inclusion du dérivé (6a) a montré une meilleure activité par rapport aux autres composés avec un diamètre d'inhibition de 28 mm vis à vis *P. Aeruginosa*. Le dérivé (9b) et son complexe d'inclusion ont montré un effet d'inhibition vis à vis les bactéries à Gram positif et négatif et en dernier lieu le dérivé (7a) et son complexe d'inclusion qui n'ont aucun effet antimicrobien.

En conséquent, les complexes d'inclusion montrent une activité antibactérienne plus importante que celle obtenue avec les dérivés libres correspondants. La présence de la  $\beta$ -CD a amélioré donc l'activité antibactérienne des dérivés, mais les complexes à partir du dérivé (8a) à pH = 6.9, du dérivé 9b et du dérivé (6a) ont montré une activité différentes pour chaque souches, cette différence est peut être due à la structure différente de ces dérivés, ce sont des résultats préliminaires pour la relation structure-activité.

### III.2.2. Activité antioxydante *in-vitro*

Tout le monde a entendu parler des antioxydants et de leurs cibles préférés. Ce sont eux qui sont à l'origine des maladies chroniques, telles que le cancer<sup>4</sup>, parkinson<sup>5</sup>, alzheimer<sup>6</sup>...etc. Il existe de nombreuses méthodes et/ou tests qui diffèrent sur le plan de leurs principes d'analyse et les conditions expérimentales. Les antioxydants ont des contributions différentes au potentiel antioxydant total. Pour cette raison l'utilisation de plusieurs tests antioxydants complémentaires est utile afin d'évaluer le potentiel antioxydant de ces composés.

Le piégeage du radical neutre DPPH<sup>•</sup> (Schéma.III.2) et du radical cationique ABTS<sup>++</sup> (Schéma.III.3), ces deux tests ont été choisis parmi les tests les plus cités dans la littérature. Ils sont classés selon le mécanisme par lequel l'agent antioxydant peut réduire et désactiver le radical libre: transfert d'électron (SET) ou transfert d'atome d'hydrogène (HAT).

Dans notre travail, nous avons évalué, *in vitro*, l'activité antioxydante des dérivés et leurs complexes d'inclusion par la mesure de la capacité de piégeage des radicaux libres DPPH<sup>•</sup> et ABTS<sup>++</sup>.

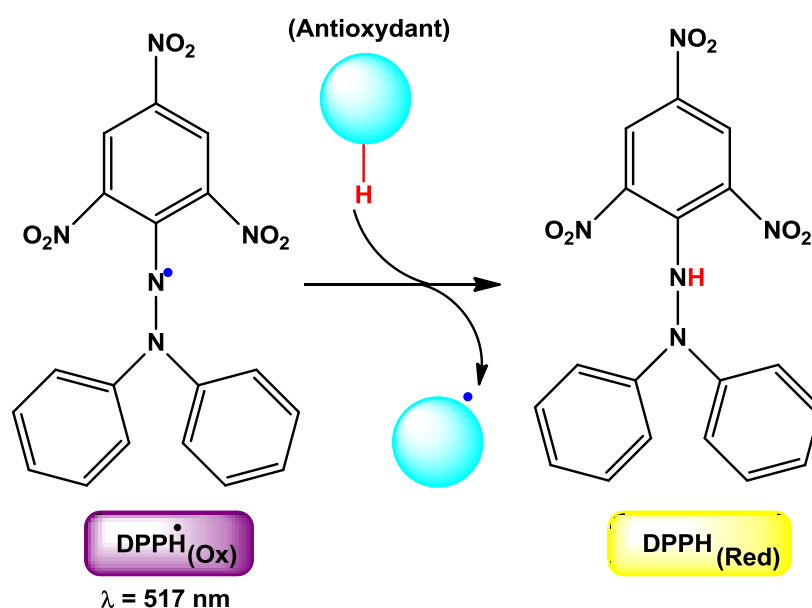


Schéma.III.2. Réaction de piégeage du DPPH<sup>•</sup> par un antioxydant donneur de H<sup>•</sup><sup>7</sup>

*(L'évaluation de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette du DPPH<sup>•</sup> par spectrophotométrie UV-Visible)*

<sup>4</sup>. G. Bjelakovic, D. Nikolova, R-G. Simonetti, C. Gluud. *The Lancet*. **2004**, 364(9441), 1219 – 1228.

<sup>5</sup>. C-J. Foy, A-P. Passmore, M-D. Vahidassr, I-S. Young, J-T. Lawson. *QJM-INT. J. MED.* **1999**, 92(1), 39 – 45.

<sup>6</sup>. Z. Chen, C. Zhong. *Neurosci Bull.* **2014**, 30(2), 271 – 281.

<sup>7</sup>. L-I.Mensor, F-S. Menezes, G.Leitaog, A-S.Reis, T. Dos-Santos, C-S. Coube, S-G.Leittao. *Phytother.Res.* **2001**,15, 127 – 130.



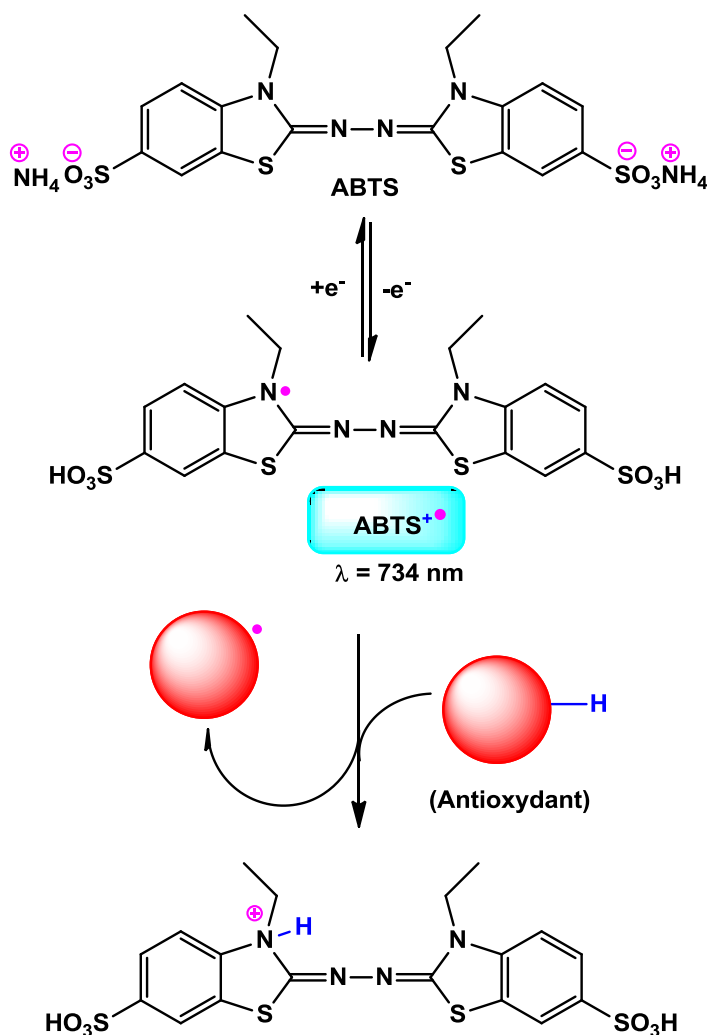


Schéma.III.3. Formation et piégeage du radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  par un antioxydant donneur de  $\text{H}^{\bullet}$ <sup>8</sup>

Le principe de ces méthodes est la réduction du radical libre ( $\text{DPPH}^{\bullet}$  et/ou  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ) par un antioxydant, cette réaction entre le radical libre et l'antioxydant est suivie par spectrophotométrie UV-visible.

### III.2.2.1. Test avec le radical $\text{DPPH}^{\bullet}$

La capacité du dérivé (**8a**) libre et en complexe à différents pH (6.9, 8.5 et 4.0) à piéger le radical libre  $\text{DPPH}^{\bullet}$  a été évaluée en calculant les valeurs de  $\text{CI}_{50}$ . Le **Tableau.III.3** résume les résultats obtenus de l'évaluation de l'activité antioxydante par le test  $\text{DPPH}^{\bullet}$ .

<sup>8</sup>. R.Christopher, S-S. Nyandoro, M.Chacha, C-B. De-Koning. *Nat. Prod. Res.* **2014**, 28(6), 351 – 358.

**Tableau. III.3. Valeurs de  $CI_{50}$  du dérivé (8a) libre et en complexe à différents pH (6.9, 8.5 et 4.0) pour le piégeage du radical DPPH<sup>•</sup>**

Échantillons testés	$CI_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Dérivé (8a) libre	5.45
$\beta$ -CD : Dérivé (8a) (pH=8.5)	10.45
$\beta$ -CD : Dérivé (8a) (pH=4.0)	25.15
$\beta$ -CD : Dérivé (8a) (pH=6.9)	1.93

*Les résultats sont exprimés par la moyenne de deux mesures.*

D'après ce **Tableau** ci-dessus nous pouvons classer la capacité des échantillons testés pour piéger le radical DPPH<sup>•</sup> par ordre décroissant suivant : complexe à pH = 6.9 > Dérivé (8a) libre > complexe à pH = 8.5 > complexe à pH = 4.0. Le complexe d'inclusion à pH neutre, présente la meilleure activité antioxydante par rapport au dérivé (8a) libre et aux autres complexes. L'effet antioxydant du dérivé (8a) libre et ses complexes résulte d'une structure de donneurs de H<sup>•</sup> et semble être lié à la nature du milieu de complexation et à la présence de la  $\beta$ -CD. La capacité antioxydante du dérivé (8a) et ses complexes à différents pH (6.9, 8.5 et 4.0) a été déterminée à partir de  $CI_{50}$ .

*(Plus la valeur de  $CI_{50}$  est petite, plus l'activité antioxydante d'une substance est grande<sup>9</sup>).*

Les valeurs des  $CI_{50}$  trouvées pour le dérivé (8a) et ses complexes sont représentées dans le **Tableau.III.3**. Nous pouvons remarquer que la complexation par  $\beta$ -CD n'entraîne pas une modification considérable des valeurs de  $CI_{50}$  du complexe à pH = 6.9, alors qu'une diminution de la valeur  $CI_{50}$  provoque l'augmentation de l'activité antioxydante du dérivé (8a) complexé par  $\beta$ -CD à pH neutre est observée par comparaison avec le dérivé (8a) libre. Par conséquent, les résultats montrent que la présence de la  $\beta$ -CD, les groupements actifs de dérivé (8a) restent intacts et capables de réagir avec le DPPH<sup>•</sup> à condition que le milieu soit neutre. Toute augmentation observée dans l'activité antioxydante est due probablement aux liaisons hydrogènes intermoléculaires entre le dérivé (8a) et les hydroxyles de  $\beta$ -CD. La  $\beta$ -CD présente alors l'avantage de conserver et d'améliorer l'activité antioxydante du dérivé 8a encapsulé, mais dans le milieu neutre.

#### III.2.2.2. Test avec le radical ABTS<sup>•+</sup>

Les résultats des tests d'inhibition de l'absorbance du radical ABTS<sup>•+</sup>, pour le dérivé (8a) libre et en complexe à différents pH (6.9, 8.5 et 4.0) sont présentés dans le **Tableau.III.4**.

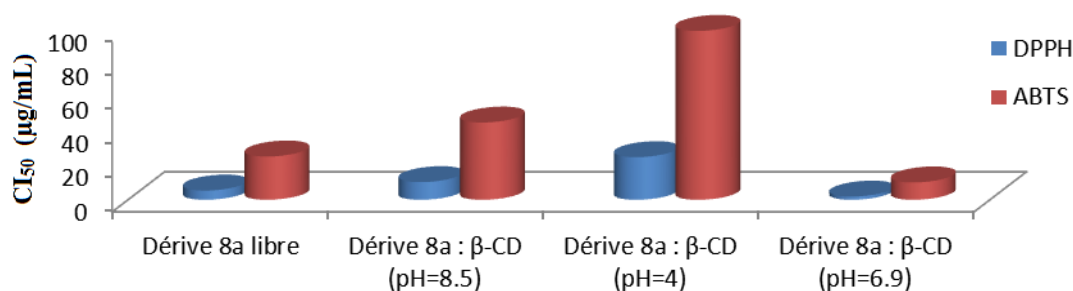
<sup>9</sup>. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon. Antioxidants in Food : Practical Applications. Cambridge Woodhead publishing limited. Cambridge-England. 2001, 72(5), 145 – 171.

**Tableau.III.4.Valeurs de  $CI_{50}$  du dérivé 8a libre et en complexe à différents pH (6.9, 8.5 et 4.0) pour le piégeage du radical  $ABTS^{+•}$**

Echantillons testés	$CI_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Dérivé ( <u>8a</u> ) libre	25.52
$\beta$ -CD : Dérivé ( <u>8a</u> ) (pH=8.5)	45.58
$\beta$ -CD : Dérivé ( <u>8a</u> ) (pH=4.0)	99.59
$\beta$ -CD : Dérivé ( <u>8a</u> ) (pH=6.9)	<b>10.23</b>

*Les résultats sont exprimés par la moyenne de deux mesures.*

D'après la comparaison entre les deux tests, on observe que les valeurs  $CI_{50}$  du test avec le radical  $ABTS^{+•}$  sont plus supérieures que dans le test avec le radical  $DPPH^•$  dans tous les échantillons testés. Ces valeurs de  $CI_{50}$  indiquent que le radical  $ABTS^{+•}$  est moins efficace (**Figure.III.4**).



**Figure.III.4. Histogramme de la capacité antioxydante déterminée par les deux tests de dérivé 8a libre et en complexe à différents pH (6.9, 8.5 et 4.0)**

D'après la comparaison entre les deux tests, on remarque que le complexe d'inclusion à pH neutre reste l'antioxydant le plus efficace avec un  $CI_{50}$  de **1.93  $\mu\text{g/mL}$**  (DPPH) et **10.23  $\mu\text{g/mL}$**  (ABTS) par rapport au dérivé (8a) libre et les complexes à pH = 8.5 et pH = 4. En effet, le dérivé (8a) en présence de la  $\beta$ -CD à pH neutre possède le meilleur pouvoir piégeur vis-à-vis les radicaux libres ( $DPPH^•$  et  $ABTS^{+•}$ ).

Donc on peut conclure que l'activité antioxydante du dérivé (8a) en présence de la  $\beta$ -CD à pH = 6.9 a permis d'augmenter l'inhibition de l'absorbance des radicaux libres, dans ce cas, nous pouvons dire que la complexation a favorisé l'activité antioxydante du dérivé (8a) mais dans le milieu neutre. Cette meilleure activité antioxydante peut être expliquée par la présence d'un proton  $HC=N$  qui peut facilement libérer pour réduire les radicaux libres.

L'activité antioxydante du dérivé (8a) et ses complexes d'inclusion à différents pH a été évaluée par deux méthodes (le test du radical  $DPPH^•$  et du radical  $ABTS^{+•}$ ), bien que les deux tests sont considérés comme une méthode simple, rapide et facile à mettre en œuvre.

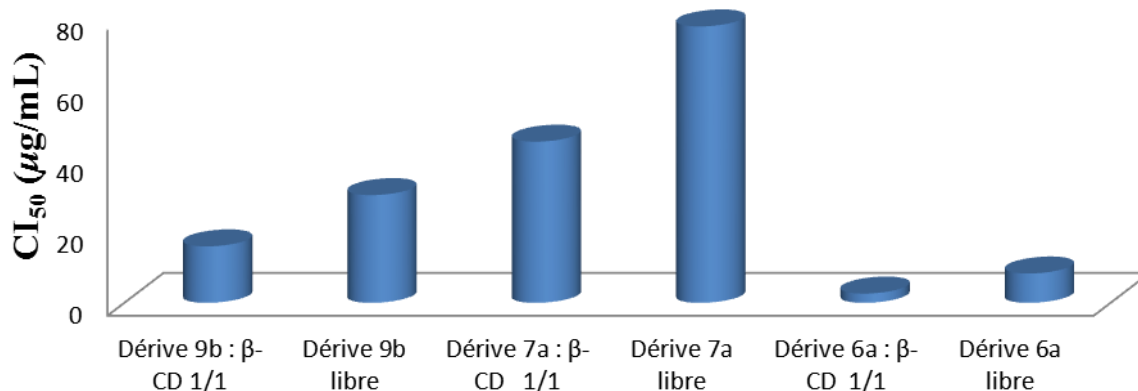
Le complexe d'inclusion à pH = 6.9 a montré une activité antioxydante importante par rapport au dérivé (**8a**) libre et aux autres complexes.

Dans la suite de notre travail, nous avons évalué l'effet de l'encapsulation des dérivés (**9b**, **7a** et **6a**) par la  $\beta$ -CD sur le pouvoir de piégeage du DPPH<sup>•</sup> pour but de confirmer les résultats trouvés dans le cas du dérivé (**8a**) et ses complexes à différents pH. L'activité antioxydante des dérivés et leurs complexes exprimés en CI<sub>50</sub> sont rassemblés dans le **Tableau.III.6** et la **Figure. III.5**.

**Tableau. III.5. Valeurs de CI<sub>50</sub> des dérivés (**9b**, **7a** et **6a**) libre et leurs complexes pour le piégeage du radical DPPH<sup>•</sup>**

Echantillons testés	CI <sub>50</sub> (μg/mL)
$\beta$ -CD : Dérivé ( <b>9b</b> ) 1/1	15.84
Dérivé ( <b>9b</b> ) libre	30.23
$\beta$ -CD : Dérivé ( <b>7a</b> ) 1/1	45.23
Dérivé ( <b>7a</b> ) libre	77.56
$\beta$ -CD : Dérivé ( <b>6a</b> ) 1/1	<b>04.60</b>
Dérivé ( <b>6a</b> ) libre	08.23

*Les résultats sont exprimés par la moyenne de deux mesures.*



**Figure. III.5. Histogramme de la capacité antioxydante déterminée par le test DPPH<sup>•</sup> des dérivés (**9b**, **7a** et **6a**) libre et leurs complexes**

D'après le **Tableau. III.5** et la **Figure. III.5**, nous pouvons remarquer que la complexation par la  $\beta$ -CD entraîne une modification considérable des valeurs de CI<sub>50</sub> de tous les dérivés, donc l'ajout de la  $\beta$ -CD provoque l'augmentation de l'activité antioxydante. La différence dans les résultats de ces trois dérivés est due peut-être à la diminution de l'acidité du proton porté par l'atome d'azote (N-H) qui libèrera difficilement son proton pour réduire le DPPH<sup>•</sup>.

Par conséquent, les résultats trouvés montrent que lors des interactions des dérivés avec la  $\beta$ -CD, les groupements fonctionnel actifs de ces dérivés restent intacts et capables de réagir avec le DPPH $^{\bullet}$ . Toute amélioration observée dans l'activité antioxydante est due probablement aux liaisons hydrogènes intermoléculaires entre les dérivés et les hydroxyles de la  $\beta$ -CD et/ou l'augmentation du l'acidité du proton (N-H). Donc, on conclut que la  $\beta$ -CD présente alors l'avantage de conserver et d'améliorer l'activité antioxydante des dérivés encapsulés. Des résultats similaires sont observés dans la littérature<sup>10,11</sup>.

L'étude de l'activité antioxydante des dérivés (**9b**, **7a** et **6a**) libres et leurs complexes d'inclusion et l'étude de l'activité du dérivé (**8a**) et ses complexes à différents pH (6.9, 8.5 et 4.0) selon les méthodes de piégeage du radical libre, a montré que les dérivés (**9b** et **7a**) et leurs complexes d'inclusion possèdent une activité antioxydante modérée par rapport au dérivé (**6a**). D'après ces résultats on conclut que le complexe d'inclusion du dérivé (**8a**) à pH =6.9 reste l'antioxydant le plus efficace avec un CI<sub>50</sub> de **1.93  $\mu$ g/mL**.

### III.2.2.3. Conclusion

Les études réalisées dans ce chapitre ont permis d'évaluer *in vitro* la capacité des dérivés et leurs complexes d'inclusion à piéger les radicaux libres et inhiber la croissance de certaines espèces bactériennes. Les résultats ont montré que les complexes des dérivés (**8a**, **9b**, et **6a**) exercent un effet antioxydant en neutralisant les radicaux libres ainsi qu'un effet inhibiteur de la croissance et de la germination microbienne.

L'encapsulation par la  $\beta$ -CD a présenté l'avantage de conserver les activités antioxydantes et antimicrobiennes des dérivés qui semblent être principalement influencées par leurs structures et leurs caractères hydrophobes. Ces résultats peuvent fournir des informations expliquant l'efficacité et la faisabilité d'utiliser les dérivés ainsi que leurs complexes d'inclusion avec la  $\beta$ -CD dans les formulations pharmaceutiques, thérapeutiques ou alimentaires pour limiter leurs altérations par l'oxydation et inhiber la croissance des bactéries.

---

<sup>10</sup>. C-L. Abellan, M-T.M . Ros, M-P. Zafrilla, J-A. Gabaldon, E. N.Delicado. *Food Chem. Toxicol.* **2011**, 49(6), 1255 – 1260.

<sup>11</sup>. M. Zhao, H. Wang, B. Yang, H. Tao. *Food Chem.* **2010**, 120(4), 1138 – 1142.

# *Chapitre. IV*

---

## *Procédures et Caractérisation des Molécules Synthétisées*

---

## IV.1.Méthodes de caractérisation

### Généralités

#### Chromatographies

L'avancement des réactions est suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaque de gel de silice (*Merk 60 F<sub>254</sub>*) en utilisant des systèmes d'éluant appropriés. Toutes les substances sont faiblement colorées, les taches peuvent être invisibles sur la plaque. La révélation est effectuée par irradiation sous lumière UV ( $\lambda = 254$  nm) et par trempage dans des révélateurs spécifiques, un mélange acide ( $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$  : 10/45/45) pour les composés protégés ou une solution oxydante de molybdate (préparée à partir de 25 g de molybdate d'ammonium et de 10 g de sulfate (<sup>IV</sup>) cérique  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  dissout dans 900 mL d'eau et 100 mL d'acide sulfurique concentré), puis par chauffage à 300°C : soit par le réactif bleu de molybdène pour la détection des produits contenant du phosphore.

Les séparations par chromatographie rapide sont réalisées sous pression d'air comprimé sur colonne de gel de silice (*Silice-P Flash Silica Gel, Silicycle*) avec l'éluant indiqué. Les solvants employés pour la chromatographie sont de qualité ACS et n'ont pas été distillés avant leurs utilisations. Les solvants sont évaporés sous pression réduite.

#### Spectrométrie

##### Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>31</sup>P et <sup>19</sup>F ont été enregistrés sur des spectromètres Bruker Advance 100, 200, 300 et 400 MHz. Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en parties par million (ppm), par rapport au tétraméthylsilane (TMS). Les abréviations utilisées signifient respectivement : *s* : singulet; *d* : doublet; *dd*: doublet de doublet; *ddd*: doublet de doublet de doublet; *t* :triplet; *q*: quadruplet; *m*: multiplet ; Un pic large est indiqué par le sigle « *br* » (broad) ; ABq: AB<sub>quatuors</sub>: Cela donnera H<sub>a</sub> et aussi H<sub>b</sub> bien que  $J_{\text{Ha-Hb}}$ .

**Description des spectres:** RMN <sup>1</sup>H (Fréquence en MHz, solvant, déplacement chimique  $\delta$  en ppm): (multiplicité; constante de couplage *J* en Hz; attribution).

RMN <sup>13</sup>C (Fréquence en MHz, solvant, déplacement chimique  $\delta$  en ppm (*attribution*)) :

- ☀ CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: 7,24 ppm pour la RMN <sup>1</sup>H ; 77,23 ppm pour la RMN <sup>13</sup>C ;
- ☀ CDCl<sub>3</sub>: 7,28 ppm pour la RMN <sup>1</sup>H ; 80,00 ppm pour la RMN <sup>13</sup>C ;
- ☀ MeOD-*d*<sup>4</sup> : 3,31 ppm pour la RMN <sup>1</sup>H ; 49,15 ppm pour la RMN <sup>13</sup>C ;
- ☀ D<sub>2</sub>O : 4,78 ppm pour la RMN <sup>1</sup>H ;
- ☀ DMSO-*d*<sup>6</sup> (Diméthylformamide-*d*<sup>6</sup>) : 8,03 ppm pour la RMN <sup>1</sup>H ; 163,15 ppm pour la RMN <sup>13</sup>C.

### Spectrométrie de masse (SM)

Les produits à analyser par l'électrospray (ou ion-spray) d'ionisation sont dissous (0,01 mg.mL<sup>-1</sup>) dans un mélange méthanol/eau 50/50 (v/v) ou acétonitrile/eau 50/50 (v/v). Les solutions sont directement introduites (5µL.mn<sup>-1</sup>) dans la source électrospray (ESI) par l'intermédiaire d'une pompe à seringue.

#### Appareillage

Les spectres de masse ont été réalisés sur différents appareils :

- ⊕ FAB: spectromètre JMS-700 ;
- ⊕ SM-HR ESI: Masse haute résolution : MAT Spectromètre de masse électromagnétique 95XL (ThermoFinnigan).

### Spectrométrie infrarouge

Les spectres infrarouge ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer 1710 à transformée de Fourier. Les solides et les liquides sont analysés entre deux fenêtres de fluorure de calcium. Les fréquences de vibration ( $\nu$ ) sont exprimées en cm<sup>-1</sup>. Le domaine étudié est la région de vibration s'étendant de 4000 à 400 cm<sup>-1</sup>.

### UV-Visible

Les spectres UV (200-400 nm) ont été enregistrés sur un appareil SHIMADZU série UV-1800. Les échantillons à analyser ont été solubilisés dans l'éthanol absolu ou dans l'eau distillée.

**Description des spectres:** UV (solvant) :  $\lambda_{\max}$  en nm et  $\epsilon$  en L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>.

*Calcul des  $\epsilon$  :*

D'après la Loi de Beer Lambert : **Abs =  $\epsilon \cdot l \cdot C$**

**$\epsilon$  :** Coefficient d'absorption spécifique

**$l$  :** Trajet optique = 1 cm

**C :** Concentration de la solution mesurée : mol.L<sup>-1</sup>.

**Note :** les absorptions (Abs ou A) sont supérieures à un, due à la haute concentration des composés utilisés.

### Diffraction des rayons X (DRX)

Les mesures des intensités diffractées ont été enregistrées sur un diffractomètre APEX II équipé d'un détecteur bidimensionnel Kappa CCD et la longueur d'onde utilisée est celle du molybdène ( $\lambda_{K\alpha} = 0.71073 \text{ \AA}$ ).



**Analyses élémentaires**

Les analyses élémentaires (AE) sont réalisées par le Laboratoire Central d'Analyses du CNRS (Vernaison- Lyon 1- France). Les valeurs calculées et mesurées sont données en pourcentage massique.

**Pouvoir rotatoire**

Les pouvoirs rotatoires  $[\alpha]_D^{20}$  ont été mesurés à 20°C par rapport à la raie D du sodium (589 nm) sur un polarimètre Perkin Elmer 341 LC. Les concentrations c, entre parenthèses, sont données en g de composé à analyser/mL de solvant.

**Point de fusion**

Le point de fusion est mesuré en utilisant un banc de Köfler de type WME. La détermination du point de fusion d'un composé permet d'assurer sa pureté.

**Appareil micro-ondes**

La réaction d'acétylation totale du composé (**1**), la déprotection régiosélective des deux composés (**2** et **3**) et la formation du complexe d'inclusion est soumise aux irradiations au four à microondes domestique de type LG-MH6565CPS de puissance de 200 à 1000 W.

**Réacteur des ultrasons**

Un bain à ultrasons (1000 W, modèle BT90H) de la compagnie Power Corporation ultrasons de Freeport en Illinois (USA) en combiné avec un générateur d'ultrasons de 170 kHz (Power Corporation Ultrasons) a été utilisé dans la réaction d'acétylation totale du composé (**1**), déprotection régiosélective des deux composés (**2** et **3**) et la formation du complexe d'inclusion.

Généralement le réacteur des ultrasons est notée par US ou représentée schématiquement par quatre parenthèses « )))) ».

**Lyophilisation**

Les lyophilisations sont effectuées sur un appareil Freeze Mobile 24 (Virtis). (Laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés (LAGEP) l'Université Lyon 1- France).

**pH-mètre**

Le pH a été mesuré par le pH-ORP Hanna HI-2211. Des rotations spécifiques ont été mesurées à l'aide d'un polarimètre Bellingham Stanley (BS-AD410).

Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre numérique (BECKMAN), calibré à 25°C avec des solutions

tampons à pH 4,62 (Acétate) et pH 9,00 (Borax) avec une précision de 0,01 unité de pH.

## Divers

### Programme ChemDraw Ultra

Les structures chimiques ont été dessinées par le programme *ChemDraw Prime 19.0*, *ChemDraw Professional* *ChemOffice Professional 2D, 3D. Modélisation et analyse moléculaires* CambridgeSoft Corporation, MA, USA-2018.

### Calculs computationnels des propriétés moléculaires des produits synthétisés

La règle des cinq de Lipinski a été utilisée pour évaluer la drogue-ressemblance et calculer les propriétés moléculaires qui sont des facteurs essentiels pour un médicament pharmacocinétique, y compris l'ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion), ont été déterminées à l'aide de la méthode développée par Molinspiration (*Calculation of Molecular Properties and Bioactivity Score*) *Molinspiration property engine v2018.10*.

### Purification des solvants et réactifs

Les réactions délicates ont été réalisées dans des solvants et réactifs fraîchement distillés, ils ont été purifiés selon les procédures habituelles<sup>1,2</sup>. L'éther diéthylique, le toluène et le THF secs distillés sur sodium en présence de benzophénone, l'acétonitrile sur  $\text{KMnO}_4$  et l'éther de pétrole utilisé est la fraction collectée entre 35 et 70°C. Le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et le  $\text{CHCl}_3$  utilisés sont distillés de façon continue pendant au moins une heure en présence d'hydruure de calcium ( $\text{CaH}_2$ ) et de tamis moléculaires de 4Å. Le *t*-BuLi est en solution dans le pentane (Aldrich) et (HBr/HOAc 33%) Bromure d'hydrogène pur en solution de 33 % en poids dans l'acide acétique glacial (ACROS).

Les autres solvants sont commerciaux (DMF, DMSO, méthanol absolu, éthanol 99.8%, l'acétone, Toluène 99% (Acros) et l'acétate d'éthyle 99%), les solvants et les réactifs des réactions sont de qualités (Fluka, Aldrich ou Biochem), et les réactifs minéraux:  $\text{CH}_3\text{COONa}$  99%,  $\text{NaOH}$  98%,  $\text{HCl}$  37% ( $\text{Boc}_2\text{O}$ , ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), ( $\text{MgSO}_4$ ), ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), Dioxane 99.78%,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , *P*-Dichlorophenylphosphine 97% (Sigma-Aldrich), l'eau bidistillée, Hexane, Acide citrique, Pyridine, Triéthylamine 99% (Acros), Dichlorure phénylphosphonique 97 % (PPDC) (Acros), Anhydride heptafluorobutyrique (HFBA), 98+ % (Acros), Allylméthylcarbonate 98% (Sigma-Aldrich), l'éthérate de trifluorure de bore ( $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ ) (Sigma-Aldrich), Thiophenol  $\geq 99\%$  (Sigma-Aldrich), chlorure de zinc ( $\text{ZnCl}_2$ , 98.5%) (Acros), chlorure de nickel (II) anhydre ( $\text{NiCl}_2$ , 99%) (Sigma-Aldrich) et chlorure de cobalt anhydre ( $\text{CoCl}_2$ , 98%) (Acros).

<sup>1</sup>. W-L.F. Armarego, C. Chai. Purification of Laboratory Chemicals. *Butterworth-Heinemann Elsevier*. 5<sup>th</sup> Ed, 2009.

<sup>2</sup>. D-D.Perrin, W-L. F. Armarego, D-R. Perrin. Purification of Laboratory Chemicals. *Pergamon Press Pub*, 1997.

Nous avons utilisé le  $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate (**1**) (Fluka) comme Substrat de départ dans toutes nos synthèses. La  $\beta$ -cyclodextrine est un produit Wacker Chimie S.A. (Lyon- France), elle est séchée sous pression réduite à 80°C pendant 12h.

### **Conditions de réactions**

Les réactions sensibles à l'humidité sont conduites sous des conditions anhydres. Elles sont déroulées sous atmosphère inerte. Afin d'éviter la présence de toute trace d'eau, le séchage préalable de la verrerie s'est fait soit à l'étuve à une température de 120°C pendant un minimum de 6 heures, ou bien en l'exposant, sous vide, à une flamme.

Toutes les manipulations sont faites en évitant le contact avec l'air ambiant. Les réactifs sont préalablement séchés dans un ballon sec soit en leurs ajoutants quelques millilitres de toluène fraîchement distillé puis en évaporant le solvant sous pression réduite, à trois reprises ou bien, en les laissant sous vide à l'aide d'une pompe à vide pendant plusieurs heures. Tous les récipients secs (ballon, seringues,... etc.) sont purgés à l'azote avant leurs utilisations.

Tous les dérivés synthétisés ont été préparés dans le Laboratoire de Chimie Organique Appliquée (LCOA) à L'Université Badji Mokhtar, Annaba-Algérie et le Laboratoire de Chimie Organique 2-Glycochimie (CO2-GLCO) à l'Université Claude Bernard, Lyon 1-France.

### **Précautions pour la manipulation**

Le  $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate (**1**), la  $\beta$ -CD et les dérivés (**4**, **8a**, **2a**, **5a<sub>1</sub>**, **9a<sub>1</sub>** et **8a<sub>1</sub>**) ...etc. possèdent une certaine sensibilité aux conditions acides ainsi qu'à la chaleur. Sous ces conditions, afin d'éviter cette dégradation, la plupart des réactions sont effectuées à moins de 80°C sauf si la méthode suivie indique une température plus élevée. De plus, les milieux acides sont neutralisés par des lavages avant l'évaporation des solvants.

### **Activités biologiques**

#### **Activités antibactériennes des composés libres et les liés (complexes d'inclusion)**

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des dérivés à base de  $\beta$ -D-glucosamine synthétisés et de leurs complexes d'inclusion, nous avons utilisé trois bactéries (une à Gram positif et deux à Gram négatif). Ces souches ont été fournies par le Laboratoire de Microbiologie Appliquée (L.M.A) de l'Université de Ferhat Abbas Sétif-1, Algérie et ont été transférées dans 3 mL d'un milieu nutritif dans un tube à essais de 22 mL, puis une suspension dans de l'eau physiologique a été préparée.

La culture obtenue a été diluée afin de donner une concentration approximative de  $10^6$  à  $10^8$  UFC / mL (0,5 Mc Farland standard) en conformité avec les recommandations par CLSI (2020)<sup>3</sup>.

Les souches de références *S. aureus* ATCC 25923 (Gram positive), *E. coli* ATCC25924 et *P. aeruginosa* ATCC27853 (Gram négative).

L'activité antibactérienne des molécules synthétisées libre et/ou liés au  $\beta$ -CD est évaluée par deux méthodes de référence:

- ✳ **La méthode de diffusion de disque ;**
- ✳ **La méthode de microdilution en milieu liquide.**

### Méthode de diffusion sur disque

L'obtention de l'inoculum final s'effectue de la manière suivante : Chaque culture bactérienne est ensemencée en stries sur une gélose nutritive pour obtenir des colonies bien isolées. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, quelques colonies sont transférées à l'aide d'une anse de platine dans un tube à essai contenant de l'eau physiologique. Les densités optiques sont ajustées à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm. La densité optique doit être comprise entre 0,08 et 0,1 l'équivalent de  $10^8$  UFC/mL. L'inoculum ainsi préparé est dilué au 1/100<sup>ème</sup> dans de l'eau physiologique. La densité optique finale obtenue de l'inoculum doit être équivalente à  $10^6$  UFC/mL. Les boîtes de pétri contenant le milieu Muller Hinton gélosé sont ensemencées par inondation<sup>4</sup>.

Des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre préparés en extemporané sont stérilisés par autoclavage, puis imprégnés les molécules et les complexes à tester dissous dans l'eau distillée (15µL pour chaque disque) car un problème de solubilité des dérivés libres a eu lieu. Les disques sont placés aseptiquement sur la gélose préalablement inoculée. Les boîtes sont laissées 1 heure à température ambiante puis retournées et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, le diamètre d'inhibition a été mesuré en millimètres disque (inclus).

L'activité antibactérienne est déterminée par mesure du diamètre des zones d'inhibition autour des disques. L'absence de croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque, dont le diamètre est mesuré et exprimé en millimètre<sup>5</sup>. Tous les tests ont été répétés trois fois pour minimiser l'erreur.

<sup>3</sup>. P-A. Wayne. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: *Nineteenth Informational Supplement*. Wayne Pennsylvania, USA. 30<sup>th</sup> ed. 2020.

<sup>4</sup>. F. Drobniewski, S-R. Gerdes S. Hoffner. Clin Microbiol Infect. 2007, 13(12), 1144 – 1156.

<sup>5</sup>. J-N. Joffin, G. Leyral. Microbiologie Technique. Dictionnaire des techniques. A.S.M Washington. Tome I. 4<sup>th</sup> Ed, 2006, 967 – 971.

### Méthode de la microdilution en milieu liquide

La microplaque à 96 puits (Greiner, VWR) permet de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des molécules et des complexes. Dans les puits des colonnes 1 à 12, nous avons introduit 100µL de bouillon Muller Hinton, puis nous avons ajouté 100µL les molécules et les complexes dans le 2<sup>ème</sup> puits (*qui servira de témoin négatif*) et 100µL dans le 3<sup>ème</sup> puits, ensuite, nous avons procédé des dilutions de 100µL de puits à puits à partir du 3<sup>ème</sup> puits, à l'aide d'une micropipette. Le facteur de ½ est pris en considération dans le calcul des concentrations des produits à tester. Ensuite, nous avons additionné 100µL de l'inoculum ( $10^6$ UFC/mL) dans les 96 puits sauf ceux de la colonne 2 (témoin négatif), le puits 1 servira de témoin positif (100µL du bouillon et 100µL de l'inoculum). La microplaque est couverte et incubée à 37°C de 18 à 20 heures. La lecture est effectuée à l'œil nu sachant que la CMI est la plus faible concentration de la substance testée, pour laquelle aucun trouble visuel n'est observé<sup>4</sup>. Chaque test est réalisé trois fois au cours de trois expériences successives.

### Activités antioxydante des composés libres et liés

#### Evaluation de l'activité du dérivé (**8a**) et ses complexes d'inclusion à différents pH

Deux méthodes ont été choisies pour leurs facilités de mise en œuvre et leurs fiabilités pour l'évaluation de l'activité antioxydante du dérivé (**8a**) et ses complexes d'inclusion à différents pH. Il s'agit du test au 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH<sup>•</sup>) et celui de l'acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS<sup>+</sup>).

#### Préparation de la solution de DPPH

La méthode utilisée a été décrite par Molyneux<sup>6</sup>. Une quantité de 4mg de poudre de DPPH<sup>•</sup> a été dissoute dans 100 mL d'éthanol et la solution obtenue a été conservée à l'abri de la lumière pendant 12 h. Chaque tube à essai contient 0,8mL d'une solution éthanolique des substances testés à différentes concentrations (2.5, 10, 100, 200 et 1000 µg/mL), la solution de DPPH<sup>•</sup> (3,2mL) a été rajoutée. La lecture de l'absorbance a été faite au bout de 30 minutes au spectrophotomètre à 517 nm en utilisant l'éthanol comme blanc. Trois mesures de l'absorbance ont été effectuées pour chaque concentration testée.

<sup>6</sup>. P.Molyneux. *J. Sci. Techno.* **2003**, 26(2), 211 – 219.

### Mesure de l'activité antioxydante par le test ABTS

Cette méthode introduite par **Miller et Rice-Evans**<sup>7</sup> est basée sur la capacité des composés à piéger le radical-cation ABTS<sup>•+</sup>. Lors de la mise en œuvre de ce test, l'ABTS incolore est préalablement oxydé avec du persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) pour former le radical cationique ABTS<sup>•+</sup> de coloration bleu-vert. L'addition d'un composé antioxydant engendre la réduction du radical ABTS<sup>•+</sup> en ABTS. L'activité antioxydante est déterminée par la décoloration de la solution et s'exprime par le pourcentage d'inhibition (I%) de l'absorbance à 734 nm, longueur d'onde à laquelle le radical ABTS<sup>•+</sup> présente une bande d'absorption caractéristique. Chaque test est réalisé trois fois au cours de trois expériences successives.

### Mesure de l'activité antioxydante par le test DPPH

Le test DPPH repose sur la théorie qu'un donneur d'hydrogène est un antioxydant. Le radical DPPH<sup>•</sup> (*free radical*), de coloration violette et qui présente une bande d'absorption caractéristique à 517 nm, accepte l'hydrogène qui est cédé par l'antioxydant pour former le DPPH (*reduced form*). L'effet de l'antioxydant est proportionnel à la disparition du radical DPPH<sup>•</sup> et à la décoloration de la solution du violet au jaune. Le pourcentage d'inhibition (I%) ou bien (l'activité antioxydante) du radical libre DPPH<sup>•</sup> et ou d'ABTS<sup>•+</sup> est calculé selon la formule suivante.

$$I\% = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

Avec :

I % : Le pourcentage d'inhibition ;

A<sub>0</sub> : Absorbance du radical (DPPH<sup>•</sup> et/ou ABTS<sup>•+</sup>) (t = 0 min) ;

A : Absorbance de l'échantillon contenant une dose du dérivé testé (t = 30 min);

La concentration des échantillons synthétisés provoquant 50% d'inhibition (CI<sub>50</sub>) du radical (DPPH<sup>•</sup> et/ou ABTS<sup>•+</sup>) , est déterminée graphiquement par la régression linéaire à partir du graphe des pourcentages d'inhibition (I %) en fonction de concentrations (C) des échantillons.

### Analyse statistique

Les données expérimentales obtenues du dosage et de l'évaluation des activités biologiques ont été exprimées par une moyenne et plus ou moins l'écart type. Le coefficient de corrélation des différentes propriétés a été déterminé en utilisant les programmes Origine 9 et l'Excel 2010 (*Histogramme*).

<sup>7</sup>. N-J. Miller, C-A. R. Evans. *Redox Report*. **1999**, 2, 161 – 171.

## Organisation de la partie expérimentale

Les molécules sont classées par ordre numérique croissant, correspondant à leurs apparitions dans le manuscrit. Les différents composés sont dénommés selon la nomenclature de l'IUPAC.

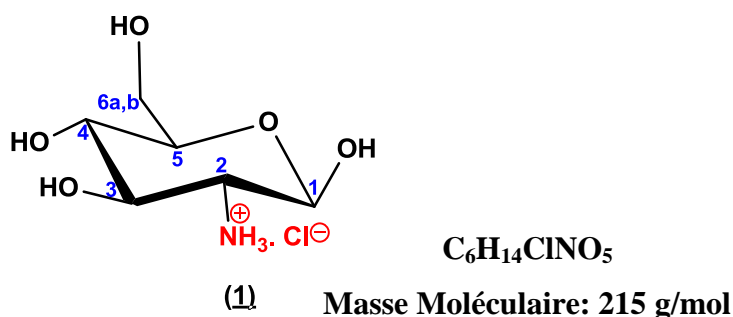
## Nomenclature et numérotation des molécules

La nomenclature utilisée a été adaptée à celle publiée en anglais<sup>8</sup>.

## Procédures et Caractérisation des Molécules Synthétisées

### IV.2. Modes opératoires et caractérisation

L'identification du produit de départ ( $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate) avant l'utilisation :



### 2-Amino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrates (1)

$R_f = 0,1$  (AcOEt/MeOH : 9/1) ; Aspect: cristaux blancs ;  $F = 149-150^\circ\text{C}$  (Le produit brut a été recristallisé dans l'éther/Hexane/ $\text{H}_2\text{O}$  : 7/2/1);  $[\alpha]_D^{20} = +0.5^\circ$  ( $c = 1$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ) ; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$  et  $\delta\text{ppm}$ ) : 8.55 (brs, 2H,  $J = 8.7$  Hz,  $\text{NH}_3^+$ ), 3.73 (dd, 1H, H-2), 3.99 (m, 1H, H-3), 3.44 (m, 1H, H-4), 3.78 (m, 1H, H-5), 3.61 (dd, 1H,  $J_{5-6} = 6$ ,  $J_{6a} = 12.5$ , H-6<sub>a</sub>), 3.88 (dd, 1H,  $J_{5-6} = 2$  Hz,  $J_{6b} = 12$  Hz, H-6<sub>b</sub>), 4.46 (d, 1H,  $J_{1-2} = 8.5$ ,  $\beta\text{H-1}$ ) ; RMN  $^{13}\text{C}$  (200 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$  et  $\delta\text{ppm}$ ) : 96.6 (C-1), 75.98 (C-5), 75.58 (C-3), 69.6 (C-4), 60.73 (C-6), 57.32 (C-2) ; FTIR ( $\nu\text{ cm}^{-1}$ ) : 3000-2800 ( $\text{NH}_3^+$  sel d'amine), 1229 (C-C(O)-C), 1085-1050 ( $\text{OH}_{\text{primaire}}$  H-6), 1124-1087 ( $\text{OH}_{\text{secondaire}}$  H-1, H-3 et H-4) ; SM-HR (ESI)<sup>+</sup> calculée pour  $[\text{C}_6\text{H}_{14}\text{NO}_5 - \text{Cl}]^+$  : 180,09, trouvée: 180,21 ; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour  $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{ClNO}_5$  : C (33.42), H (6.54), Cl (16.44), N (6.50), Masse trouvée: C (33.42), H (6.54), Cl (16.44), N (6.50).

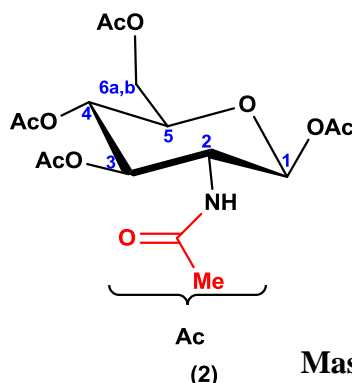
#### IV.2.1. Synthèse de 1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-acétamido- $\beta$ -D-glucosamine (2)

La réaction d'acétylation totale a été effectuée selon trois modes d'activation:

<sup>8</sup>. A. D. McNaught. International Union of Pure and Applied Chemistry & International Union of Biochemistry and Molecular Biology. Nomenclature of carbohydrates. *Carbohydr Res* **1997**. 297(1), 1 – 92.



- ✚ Acétylation par la technique classique ;
- ✚ Acétylation par l'irradiation aux microondes;
- ✚ Acétylation par l'activation par les ultrasons.



**1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-acétamido- $\beta$ -*D*-glucosamine (2)**

#### Voie A: Acétylation par la technique classique

Une masse de 1000mg de 2-Amino-2-déoxy- $\beta$ -*D*-glucosamine chlorhydrate (**1**) ( $M = 215$  g/mol,  $n = 4,65$  mmol) est dissoute dans 4,7 mL d'anhydride acétique ( $M = 102,09$  g/mol,  $m = 2500$  mg,  $n = 21.50$  mmol, 5éq.) puis une quantité d'acétate de sodium anhydre ( $M = 102,09$  g/mol,  $m = 2500$  mg,  $n = 21.50$  mmol, 2éq.) est ajoutée à la solution dans un ballon, muni d'un condensateur, est placé dans un bain d'eau bouillante et est agité jusqu'à l'obtention d'une solution limpide. La réaction est chauffée pendant 2 heures supplémentaires. D'abord, la réaction est versée très lentement dans un bêcher contenant un mélange de 250 mL d'eau de glace concassée en agitant vigoureusement. Cette solution est laissée au repos pendant une heure et agitée à l'occasion afin d'éviter que les cristaux s'agglomèrent. Ensuite, la solution hétérogène est filtrée sous vide et le produit est lavé à l'eau froide. Le produit est dissous dans l'AcOEt et neutralisé par addition d' HCl 10% puis à l'eau saturée en NaCl. Les phases aqueuses sont réextraites avec du AcOEt (2x100 mL). Les phases organiques réunies sont séchées avec du  $\text{MgSO}_4$  anhydre, filtrées, puis le solvant est évaporé sous pression réduite, et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (1:7, 1:5, 1:3 et 1:1 AcOEt/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) pour donner ( $m = 1356$  mg) de composé (**2**).

#### Voie B : Acétylation par l'irradiation via microondes

Un mélange de 2-Amino-2-déoxy- $\beta$ -*D*-glucosamine chlorhydrates (**1**) ( $M = 215$  g/mol,  $m = 1000$ mg,  $n = 4,65$  mmol) et d'anhydride acétique ( $M = 102,09$  g/mol,  $m = 2500$ mg,  $V = 2.31$  mL,  $n = 21.50$  mmol, 5éq.), est absorbé sur 5000mg du gel de silice puis irradié au four domestique pendant 10 min à une puissance de 350 W dans un tube en téflon d'un volume de 100mL. Le produit obtenu est



solubilisé dans 50mL de l'AcOEt. Filtré, puis le solvant est évaporé sous pression réduite, pour donner (m = 1620 mg) du composé (**2**).

**Note :** Cette voie repose sur l'association de l'irradiation via micro-ondes avec les supports<sup>9,10</sup>.

#### Voie C: Acétylation par l'activation par les ultrasons (Nouvelle méthode)

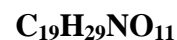
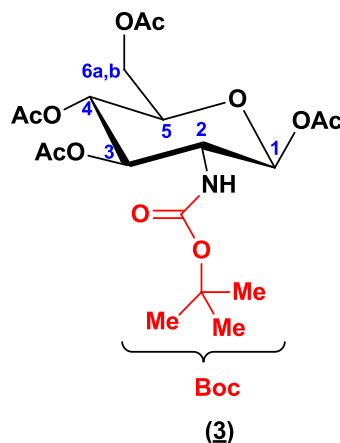
Dans un tube hermétiquement fermé, 2-Amino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrates (**1**) (M = 215 g/mol, m = 1000mg, n = 4,65 mmol) est solubilisé dans l'anhydride acétique (M = 102,09 g/mol, m = 2500mg, V = 2.31mL, n = 21.50 mmol, 5 $\times$ ), on a rajouté quelques gouttes de MeOH/H<sub>2</sub>O : 1/1 (2mL) et ensuite le mélange est traité aux ultrasons pendant 20 min à température 60 à 80°C. Le produit obtenu est solubilisé dans 50mL de l'AcOEt. Le solvant est évaporé sous pression réduite, pour donner (m = 1447.44mg) du composé (**2**). Rdt = 75% (*technique classique*) ; Rdt = 90% (*Irradiation microondes*) ; Rdt = 80% (*Activation par les ultrasons*) ; Aspect: cristaux blancs ; R<sub>f</sub> = 0,5 (v/v AcOEt/Hexane : 1/1) ; F = 133-136°C (Le produit brut a été recristallisé dans l'éther/méthanol : 9/1) ;  $[\alpha]_D^{20} = + 7.2^\circ$  (c = 1, CHCl<sub>3</sub>) ; RMN <sup>1</sup>H (300MHz, CDCl<sub>3</sub> et  $\delta$ ppm) : 7.99 (brs, 1H, J = 8.3 Hz, NH), 6.15 (d, J<sub>1-2</sub> = 3.7 Hz, 1H, H-1), 5.20 (m, 1H, H-3), 4.34 (m, 1H, H-4), 4.80 (m, 1H, H-2), 4.23 (dd, J<sub>6a,b</sub> = 12.5 Hz, J<sub>6a,5</sub> = 3.9 Hz, 1H, H-6a), 4.04 (dd, J<sub>6b-a</sub> = 12.5 Hz, J<sub>6b-5</sub> = 2.5 Hz, 1H, H-6b), 3.92-4.01(m, 1H, H-5), 2.02, 2.03, 2.07, 2.17 (4s, 12H, 4xCOCH<sub>3</sub>), 1.92 (s, 3H, HNCOCH<sub>3</sub>) ; RMN <sup>13</sup>C (200 MHz, CDCl<sub>3</sub> et  $\delta$ ppm) : 169.1, 170.0, 170.7, 171.8 (4xC=O), 168.7 (NHC=O<sub>amide</sub>), 90.7 (C-1), 70.7 (C-5), 69.8 (C-3), 67.6 (C-4), 61.6 (C-6), 51.1 (C-2), 20.6, 20.7, 23.1, 21.0 (4xCH<sub>3</sub>C=O), 23.66 (NHCH<sub>3</sub>C=O) ; IR cm<sup>-1</sup> (KBr, v cm<sup>-1</sup>) : 3257 (N-H), 1666 (NHC=O<sub>amide</sub>), 1750-1735 (O-C=O<sub>éthanoate</sub>), 1371-1229 (C-C(O)-C) ; MS *m/z* (*Intensité Relative*) 413 (13%), 412 (100%, [M + Na]<sup>+</sup>), 353 (5%), 352 (40%), 330 (3%) ; SM-HR: (ESI)<sup>+</sup>: calculée pour C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>NNaO<sub>10</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: 412.1174, Masse trouvée: 412.1193. Analyses élémentaires (AE): Calculée pour C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>10</sub>: C (49.36), H (5.95), N (3.60), Masse trouvée: C (48.98), H (5.79), N(2.99).

#### IV.2.2. Synthèse de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-N-tertiobutyloxycarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine (**3**)

La synthèse du dérivé (**3**) comprend deux étapes :

<sup>9</sup> K.Bougrin, A.Loupy, M.Soufiaoui. Microwave-assisted solvent-free heterocyclic synthesis. *J. Photochem. Photobiol. C: Photochemistry Reviews*. **2005**, 6(2-3),139 – 167.

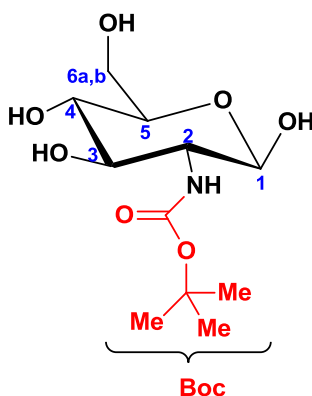
<sup>10</sup> M.Rodriquez · M. Taddei. Synthesis of Heterocycles via Microwave-Assisted Cycloadditions and Cyclocondensations. *Top Heterocycl Chem*.**2006**. 1, 213 – 266.



Masse Moléculaire: 447 g/mol

**1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-*N*-tériobutyloxycarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -*D*-glucosamine (3)**

**Etape 1 :** Le composé (1) ( $M = 215 \text{ g/mol}$ ,  $m = 10000\text{mg}$ ,  $n = 49,70 \text{ mmol}$ , 1éq.) est solubilisé dans 150 mL d'un mélange de (dioxane/KOH) 1N (1/1). À la solution est ajouté de  $(\text{Boc})_2\text{O}$  ( $M = 218,25 \text{ g/mol}$ ,  $m = 15200\text{mg}$ ,  $n = 99,5\text{mmol}$ , 2éq), la solution est laissée sous agitation magnétique à température ambiante. Au bout de 3 heures d'agitation, un précipité s'est formé celui-ci est filtré puis lavé avec un mélange ( $\text{H}_2\text{O}$ /Dioxane: 1/1), l'intermédiaire obtenu sous forme d'une poudre blanche.



(Intermédiaire)

Masse Moléculaire: 279 g/mol

**1,3,4,6-tétra-hydroxy-2-*N*-tériobutyloxycarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -*D*-glucosamine (1')**

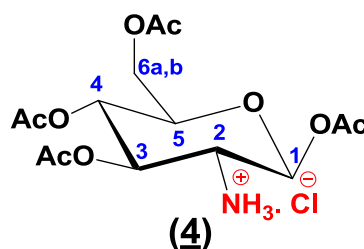
**Etape 2 :** L'intermédiaire formé ( $M = 297\text{g/mol}$ ,  $m = 2500\text{mg}$ ,  $n = 9,43\text{mmol}$ , 1éq.) est solubilisé dans 10mL de pyridine, une quantité catalytique de DMAP est ajouté à la solution, celle-ci est refroidie à  $0^\circ\text{C}$ . Ensuite l'anhydride acétique ( $M = 102,09 \text{ g/mol}$ ,  $V = 3,56\text{mL}$ ,  $m = 3850,83\text{mg}$ ,  $n = 73,72\text{mmol}$ , 4éq.) dilué dans 5mL de pyridine est alors additionné, gouttes à goutte, le mélange réactionnel est laissée sous agitation à température ambiante pendant 4 heures, le mélange réactionnel est dilué dans 200mL d'une solution aqueuse glacée de  $\text{NaHCO}_3$  à 3% ; puis la phase aqueuse est extraite trois fois avec 100mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , la phase organique est rassemblée et lavée avec une solution d'acide citrique à

5%, puis à l'eau, la phase organique est ensuite séchée par le Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre et le solvant est évaporé sous vide. Le résidu est recristallisé dans le mélange éther/éthanol : 1/1 pour fournir le composé (**3**) m = 3011.0mg). Rdt = 80%; Aspect: Cristaux blancs ; R<sub>f</sub> = 0,5 (v/v AcOEt / Hexane :1/1); F = 67-70°C C;  $[\alpha]_D^{20} = +67^\circ$  (c = 0,15, CHCl<sub>3</sub>) ; RMN <sup>1</sup>H (300MHz, CDCl<sub>3</sub> et δ ppm) ; 8.1 (brs, 1H, J = 8.5 Hz , NH), 6.12 (d, 1H, J<sub>1-2</sub> = 3.48Hz, H-1) ; 4.95 (m, 1H, H-4), 5.17 (m, 1H, H-3) ; 4.20-4.70 (dd, 1H, J<sub>6a-b</sub> = 4Hz, J<sub>6-5</sub> = 12,42Hz, H-6) ; 4.88 (m, 1H, H-2), 4.65 (m, 1H, H-5), 2.02, 2.05, 2.09, 2.20 (4s, 12H, 4x COCH<sub>3</sub>Ac), 1.40 (3s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Boc) ; RMN <sup>13</sup>C (300MHz, CDCl<sub>3</sub> et δ ppm); 91.10 (C-1), 71.05 (C-5), 69.72 (C-3), 67.82 (C-4), 61.67 (C-6), 52.26 (C-2), 28.21(C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Boc), 20.70, 21.00, 21.58, 21.90 (4x C=OCH<sub>3</sub>Ac), 88.5 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Boc), 154.90 (NHC=O), 168.70, 170.25, 171.0 , 171.13 (4x COCH<sub>3</sub>Ac) ; IR (ν, cm<sup>-1</sup>) :3332 (N-H), 1110 (C-C(O)-C), 1662 (NHCO<sub>amide</sub>), 1818 (O-C=O<sub>Boc</sub>), 1750-1735 (O-C=O<sub>Ac</sub>); Masse (Matrice : NBA ; FAB<sup>+</sup>) : 348 (M + H)<sup>+</sup>, 370 (M + Na)<sup>+</sup>, 289 (M- AC-O-H)<sup>+</sup>; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour C<sub>11</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>7</sub>: C (51.00), H (6.53), N (3.13), Masse trouvée: C (51.84), H (6.14), N(4.00).

#### IV.2.3. Synthèse de 1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-amino-β-D-glucosamine chlorhydrate (**4**)

La déprotection régiosélective du groupement Ac et Boc pour le composé (**2** et **3**) successivement, a été réalisé par trois voies :

- ✚ Déprotection par ZnBr<sub>2</sub>;
- ✚ Déprotection par l'irradiation aux microondes;
- ✚ Déprotection par l'activation par les ultrasons.



Masse moléculaire : 383g/mol

#### 1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-amino-β-D-glucosamine chlorhydrate (**4**)

##### Voie A : Déprotection du groupement Ac /Boc par ZnBr<sub>2</sub>

La déprotection des composés (**2** et **3**) a été préparé par la méthode de **Peter G. M. Wuts** Dans un ballon de 250 mL, 500mg du composé (**2**) (M = 389 g/mol, n= 1.28mmol 1<sup>ère</sup> réaction) est dissoute dans un volume de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> distillé (5mL). Parallèlement, un large excès de ZnBr<sub>2</sub> propre est dissous (87 mg, 2,2 mmol, 3éq.) dans le même volume de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> distillé (5mL), puis la solution de ZnBr<sub>2</sub> est transférée dans le mélange réactionnel à l'aide d'une ampoule à brome. Le tout est fait sous

une atmosphère inerte d'azote et agiter à température ambiante. La réaction est ensuite suivie par CCM (AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 8/2) jusqu'à disparition complète du produit de départ (24h). À ce temps, 40 mL d'eau étaient ajouté et le mélange a été agité pendant 30 min. Les phases ont été séparées et la phase aqueuse a été extraite avec de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×40 mL) est ensuite séchée par le MgSO<sub>4</sub> anhydre et le solvant est évaporé sous vide. Le produit brut résultant a été purifié sur colonne de silice (AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 8/2) pour donner le composé (**4**) déprotégé (m = 49mg, Rdt = 10%).

*Pour le composé (**3**), nous avons utilisé la même procédure (déprotection) que celle du composé **2**. La réaction de déprotection du groupement Boc (M = 447 g/mol, m= 500mg, n = 1.118mmol 2<sup>ème</sup> réaction) est terminée après 5 heures. La purification est effectuée par chromatographie sur gel de silice (AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 8/2), pour donner le composé (**4**) (m = 408mg, Rdt = 60%).*

#### **Voie B : Déprotection par l'irradiation aux microondes**

Dans une micro-onde domestique, on a mis dans un tube en téflon d'un volume de 100mL, le composé (**2**) (M = 389 g/mol, m =500mg, n= 1.28mmol 1<sup>ère</sup> réaction), on a ajouté du gel de silice, on a rajouté un volume du toluène (2 mL), le mélange réactionnel est laissé pendant 5min avec 300W. La réaction est suivie par CCM (AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 8/2) jusqu'à disparition complète du produit de départ (5 min).

***Note :** On a utilisé le même protocole expérimental pour le composé (**3**) (M = 447 g/mol, m= 500mg, n = 1.118mmol 2<sup>ème</sup> réaction), mais le traitement est différent.*

Le traitement pour les deux réactions est différent, la première réaction consiste à précipiter et filtrer puis laver plusieurs fois à l'éther, pour l'obtention d'une poudre blanche (m = 245mg) avec un rendement de 50% et la deuxième réaction a été réalisée par recristallisation chaud/froid est faite dans le mélange éthanol/eau : 1/1, pour l'obtention d'une poudre blanche (m = 612mg) avec un rendement de 90%.

#### **Voie C : Déprotection par l'activation par les ultrasons**

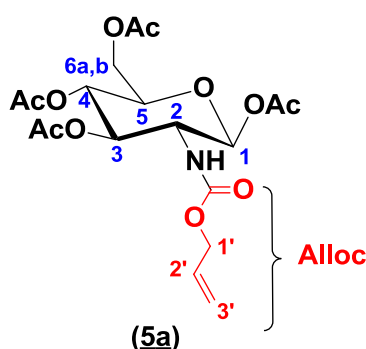
Dans un tube hermétiquement fermé, on a mis (M = 389 g/mol, m =500 mg, n= 1.28 mmol 1<sup>ère</sup> réaction) du composé (**2**), on a rajouté quelques gouttes de toluène (2 mL) et ensuite on a traité aux ultrasons pendant 3h à la température 80°C. Le produit obtenu est solubilisé dans 50 mL de l'AcOEt.

le solvant est évaporé sous pression réduite, pour donner le composé (**4**) déprotégé ( $m = 295.3\text{mg}$ , Rdt = 60%).

*Note : On a utilisé le même protocole expérimental pour le composé (**3**) ( $M = 447\text{ g/mol}$ ,  $m = 500\text{mg}$ ,  $n = 1.118\text{mmol}$  2<sup>ème</sup> réaction), pour donner le composé (**4**) déprotégé ( $m = 476\text{mg}$ , Rdt = 70%).*

Aspect : Poudre blanche (sel chlorhydrate);  $R_f = 0,4$  (AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 8/2);  $[\alpha]_D^{20} = +43$  ( $c = 0.50$ , MeOH) ; F = 199-230°C (décomposition) ; ; RMN <sup>1</sup>H (300MHz, D<sub>2</sub>O et  $\delta$  ppm) : 7.1 (brs, 1H,  $J = 7.9\text{ Hz}$ , NH), 6.69 (d, 1H,  $J_{1-2} = 3,62\text{Hz}$ , H-1), 5.25(dd, 1H,  $J_{2-3} = 9.89\text{Hz}$ ,  $J_{3-4} = 9.73\text{Hz}$ , H-3), 4.92 (dd, 1H,  $J_{4-5} = 9.38\text{Hz}$ , H-4), 4.12 (m, 1H, H-6a), 4.20 (m, 1H, H-6b), 4.85 (m, 1H, H-2), 4.78 (m, 1H, H-5), 2.00, 2.01, 2.01, 2.90 (4s, 12H, 4x COCH<sub>3</sub>Ac) ; RMN <sup>13</sup>C (300MHz, D<sub>2</sub>O et  $\delta$  ppm): 89,01 (C-1), 71,02 (C-5), 70,59 (C-3), 69,72 (C-4), 61,87 (C-6), 51,01 (C-2), 169,53, 170.25, 170.76, 170,84 (4x COCH<sub>3</sub>Ac), 20.70, 21,01, 21,16, 21.94 (4x C=OCH<sub>3</sub>Ac); IR ( $\nu$ , cm<sup>-1</sup>) : 3500-3200 (NH<sub>2</sub>amine primaire), 1000-1238 (C-C(O)-C), 1740 (O-C=O<sub>Ac</sub>) ; Masse (Matrix : NBA ; FAB<sup>+</sup>) : 383 (pic de base 100%) 382 (M - H)<sup>-</sup> ; 406 (M + Na)<sup>+</sup> ; 342 (M - Ac + H)<sup>-</sup> ; 299 (M - 2Ac + 2H)<sup>-</sup> ; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>9</sub> : C (43.81), H (5.78), Cl (9.24), N (3.65), Masse trouvée: C (44.50), H (5.65), Cl(10.00), N(3.75).

#### IV.2.4. Synthèse de 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-*N*-allyloxycarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine (**5a**)



Masse moléculaire: 431g/mol

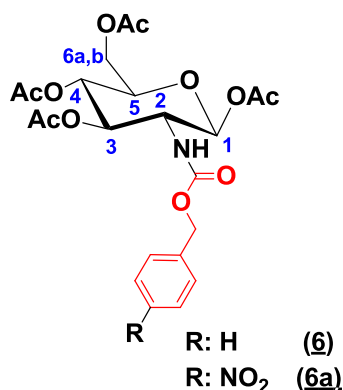
#### 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-*N*-allyloxycarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine (**5a**)

Dans un Bicol de 250mL, on a introduit ( $M = 383\text{g/mol}$ ,  $m = 1000\text{mg}$ ,  $n = 2.6056\text{mmol}$ ) du composé **4** dissoute dans 15mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> à 0°C, aux quels sont additionnés ( $M = 101,19\text{ g/mol}$ ,  $n = 2.60\text{mmol}$ ,  $V = 0.363\text{ mL}$ ) de la triéthylamine goutte à goutte, ensuite on a ajouté ( $M = 116.11\text{ g/mol}$ ,  $n = 2.6056\text{mmol}$ ,  $V = 0.363\text{mL}$ , 1éq) de allylméthylcarbonate dilués dans 5mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Le mélange est laissé pendant 5 heures sous atmosphère d'argon à température ambiante. Le solvant est évaporé

sous pression réduite jusqu'à élimination totale du HCl. Le résidu est alors filtré par flache colonne chromatographique éluant AcOEt/EP : 8/2) et ensuite cristallisé dans le mélange MeOH/EP : 1/1 pour donner le dérivé (**5a**) (m = 248 mg).

Rdt = 75%; Aspect: cristaux blancs;  $R_f$  = 0.53 (AcOEt/EP : 8/2); F = 119-121°C;  $[\alpha]_D^{20} = +58.9$  ( $c = 0.6$ , CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H (300MHz, D<sub>2</sub>O/ CD<sub>3</sub>OD-*d*<sup>4</sup> et  $\delta$  ppm) : 6.20 (d, 1H,  $J = 3.6$  Hz, H-1), 4.50-4.60 (m, 1H, O-CH<sub>2</sub>CH=, H-1'), 5.87( dd,  $J = 6.30$  Hz,  $J = 16.01$  Hz (*trans*), 1H, CH<sub>2</sub>CH=proton vinylique, H-2'), 5.03-5.23 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub> proton vinylique, H-3'), 5.11 (m, 1H,  $J_{4-5} = 9.55$ Hz, H-4), 7.88 (d, 1H,  $J = 9.40$  Hz, NH), 4.09 (m, 1H, H-5), 5.28 (dd, 1H,  $J_{2-3} = 10.01$ Hz,  $J_{3-4} = 9.96$ Hz, H-3), 2.04, 2.09, 2.12, 2.19 (4s, 12H, 4x C=OCH<sub>3</sub>Ac), 4.58 (m, 1H, H-6a), 4.12 (m, 1H, H-6b), 4.89 (m, 1H, H-2); RMN <sup>13</sup>C: (300MHz, CDCl<sub>3</sub> et  $\delta$  ppm): 156.37 (C=O<sub>Ally</sub>), 133.87 (CH=CH<sub>2</sub>), 117.1 1 (CH=CH<sub>2</sub>), 90.96 (C-1), 71.33 (C-5), 70.25 (C-3), 68.90 (C-4), 62.24 (C-6), 53.48 (C-2), 65.73 (CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>), 170.0, 170.30, 171.0, 171.84 (4x COCH<sub>3</sub>Ac), 20.90, 21.00, 21.00, 21.15 (4x C=OCH<sub>3</sub>Ac). 155.70 (NHC=O); IR cm<sup>-1</sup> (KBr, v cm<sup>-1</sup>) : 3266 (NH), 1770-1780 (C=O<sub>viny</sub>), 1750-1735 (O-C=O<sub>Ac</sub>), 1529 (C=C), 1662 (NHCO<sub>amide</sub>), 1371-1229 (C-C(O)-C); SM-HR : (ESI)<sup>+</sup> pour C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>11</sub>Na, Masse trouvée 454.1319.

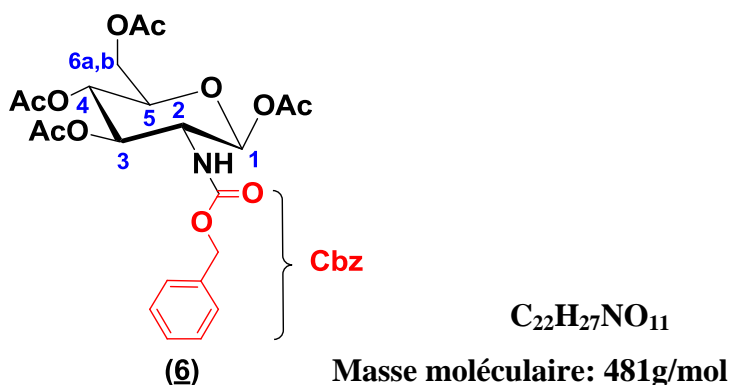
#### IV.2.5. Synthèse de 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-*N*-benzylcarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine (**6**) et 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-*p*-nitrobenzyloxycarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -D-glucosamine (**6a**)



Dans un Bicol de 250mL, on a introduit (M = 383g/mol, 1000mg, 2.6056mmol) de substrat (**4**) dissoute dans 15mL de THF et 15mL de NaOH (2N), on a ajouté goutte à goutte (M = 170,593 g/mol, n = 2.6056mmol, V = 0.372mL, 1éq) de chloroformate de benzyle. Le mélange est agité sous atmosphère d'argon à température ambiante. Au bout de 5 heures d'agitation, on a récupéré la phase huileuse et la solubilisé dans l'Et<sub>2</sub>O, ensuite l'évaporé sous pression réduite et remettre le produit dans l'AcOEt 50mL, lavé avec une solution de HCl (2N) (3x20mL), puis avec solution saturée de NaCl (3x20mL), le produit est ensuite lavé avec l'eau (3x40mL). Nous avons récupéré la phase organique,

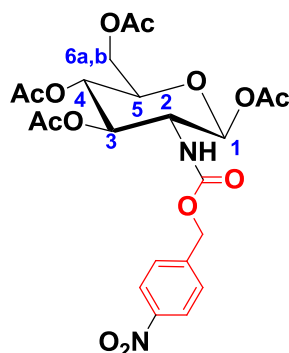
la séchée sur  $\text{MgSO}_4$ , la filtrée puis l'évaporée sous pression réduite, et purifié par chromatographie sur gel de silice (Eluant :  $\text{AcOEt}$ / hexane: 8/2) pour donner ( $m = 156\text{mg}$ ) le composé **(6)**.

**Note :** On a utilisé le même protocole expérimental pour le *p*-nitrobenzyloxycarbonyle ( $M = 383\text{g/mol}$ ,  $n = 1.0443\text{mmol}$ ,  $m = 400\text{mg}$ , 1éq.) pour donner ( $m = 47.723\text{mg}$ ) le composé **(6a)**, pendant 2 heures.



**1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-*N*-benzylcarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -*D*-glucosamine (**6**)**

Rdt = 80%; Aspect: cristaux blancs ;  $R_f = 0.48$  ( $\text{AcOEt}$  / Hexane: 8 /2);  $F = 54.0\text{-}55.5^\circ\text{C}$  (Le produit brut a été recristallisé dans l'éther/EP : 1/1) ; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm) : 7.33-7.35 (ddd, 5H, Ar), 6.68 (d,  $J = 9.0$  Hz, 0.2 H, H-1), 5.34 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ar}$ ), 5.24 (t,  $J = 9.6$  Hz, 1H, H-3 ), 4.93 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H, H-6), 5.15 (t,  $J = 4.2$  Hz, 1H, H-2), 4.65 (m,  $J = 9.3$  Hz, 1H, H-5), 5.18 (t,  $J = 2.7$  Hz, 1H, H-4), 7.96 (brs, 1H,  $J = 8.88$  Hz, NH), 1.93, 2.03, 2.08, 2.16 (4s, 12H, 4x  $\text{C}=\text{OCH}_3\text{Ac}$ ); RMN  $^{13}\text{C}$ : (200MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm): 155.70 ( $\text{NHC}=\text{O}_{\text{amide}}$ ), 129.0-127.0 (Ar), 65.90 ( $\text{CH}_2\text{-Ph}$ ), 95.30 (C-1), 76.55 (C-5), 74.39 (C-3), 71.56 (C-4), 65.55 (C-6), 56.78 (C-2), 196.92, 170.05, 170.9, 171.15 (4x  $\text{COCH}_3\text{Ac}$ ), 20.89, 20.96, 21.00, 21.35 (4x  $\text{C}=\text{OCH}_3\text{Ac}$ ) ; IR ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3368 (NH), 1371-1229 (C-C(O)-C), 1650-1753 (Ar), 1750-1735 ( $\text{O}-\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$ ), 1662 ( $\text{NHCO}_{\text{amide}}$ ), 1775 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{benzyle}}$ ); ESI-MS  $m/z$  ( $M + H$ ) $^+ = 482.1662$ , calculée 482.1644;  $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_{11}$  (481.1584) Calculé pour C (54.88), H (5.65), N (2.91), Masse trouvée : C (54.88), H (5.65), N (2.91).

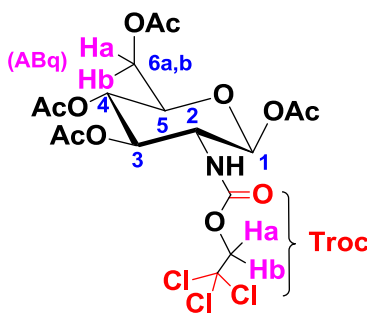


(6a)

Masse moléculaire: 526 g/mol

**1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-*p*-nitrobenzyloxycarbonylamino-2-déoxy- $\beta$ -*D*-glucosamine (6a)**

Rdt = 95% ; Aspect: poudre blanche;  $R_f$  = 0.32 (AcOEt/ Hexane: 8/2);  $F$  = 69-70°C (Le produit brut a été recristallisé dans l'éther/EP : 1/1); RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm): 1.97, 2.01, 2.16, 2.17 (4xs, 12H,  $\text{C}=\text{OCH}_3$ ), 4.10 (d, 2H, H-6), 4.25 (t, 1 H,  $J$ =3.6Hz, H-4), 4.46 (m, 1H, H-5), 6.99 (d, 1H,  $J$  = 7.2Hz, H-2), 5.72 (d, 1 H,  $J$  = 8.4Hz, H-3), 5.39 (d, 1H, H-1), 7.90 (brs, 1H,  $J$ = 8.51 Hz, NH), 7.45-8.0 (dd, 4H, Ar), 5.40 (s, 2H, Ar- $\text{CH}_2$ ); RMN  $^{13}\text{C}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm) : 20.6, 20.8, 21.1, 21.0 (4x  $\text{C}=\text{OCH}_3$ ), 68.20 ( $-\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 91.7 (C-1), 77.2 (C-5), 66.7 (C-3), 70.8 (C-4), 65.7 (C-6), 59.6 (C-2), 155.4 (NHC=O), 169.5, 170.1, 170.4, 170.8 (4x  $\text{COCH}_3$ ); IR ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3336 (NH), 1099-1249 (C-C(O)-C), 1652-1752 (Ar), 1525 ( $\text{NO}_{\text{asymétrique}}$ ), 1662 ( $\text{NHCO}_{\text{amide}}$ ), 1750-1735 ( $\text{O}-\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$ ); ESI-MS  $m/z$  ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$  = 549.5623, calculée 549.1005 ;  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_{13}$  (526.1400) Calculé pour C (50.19), H (4.98), N (5.32), Masse trouvée : C (49.92), H (5.12), N (5.25).

**IV.2.6.Synthèses du 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-(trichloroéthoxycarbonyl)-amino-2-déoxy- $\beta$ -*D*-glucosamine (7)**

(7)

Masse moléculaire: 521 g/mol

**1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-(trichloroéthoxycarbonyl)-amino-2-déoxy- $\beta$ -*D*-glucosamine (7)**

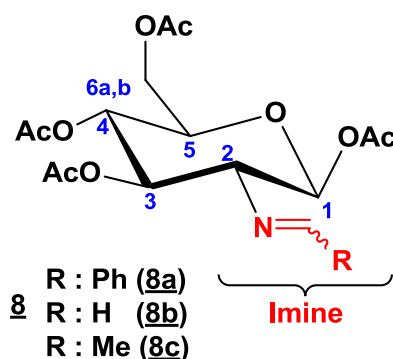
Dans un ballon de 100mL, on a introduit ( $M$  = 383g/mol,  $m$  =2500mg,  $n$  = 6.5274mmol) du composé **4** dissout dans 6mL d'eau distillée et de  $\text{NaHCO}_3$  ( $M$  = 84,007 g/mol,  $m$  = 1096.69mg, 2éq.)



dans de l'eau (100mL), on a ajouté goutte à goutte ( $M = 211.85 \text{ g/mol}$ ,  $m = 1382.832\text{mg}$ ,  $V = 0.898\text{mL}$ ,  $n = 6.5274\text{mmol}$ ), de chlorure de 2,2,2-trichloroéthoxycarbonyl, la solution est refroidi à  $0^\circ\text{C}$ . Après 2 heures d'agitation à température ambiante. La solution a été diluée dans 200mL d'une solution aqueuse glacée de  $\text{NaHCO}_3$  à 3%. La phase aqueuse a été extraite trois fois avec 100mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , et la phase organique a été lavée avec une solution d'acide citrique à 5%, puis à l'eau, et séchée par  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Le solvant a été évaporé sous vide, ensuite le produit obtenu est recristallisé dans (EtOAc/heptane : 2/1) pour donner des bons cristaux.

Rdt= 68%;  $F = 125\text{-}126^\circ\text{C}$ ;  $R_f = 0,4$  (AcOEt / heptane : 8/2);  $[\alpha]_D^{20} = +14.0$  ( $c = 0.9$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); RMN  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm): 8.19 (brs, 1H,  $J = 8.80 \text{ Hz}$ , NH), 6.70 (d, 1H,  $J = 3,80\text{Hz}$ , H-1), 5.22 (t, 1H,  $J = 9.2\text{Hz}$ , H-3), 5.11 (t, 1H,  $J = 9.3 \text{ Hz}$ , H-4), 4.72 (s, 2 H,  $\text{Cl}_3\text{CCH}_2\text{Troc}$ ), 4.29-4.10 ( $\text{AB}_q$ , 1 H,  $J = 12.7, 4.6, 2.2 \text{ Hz}$ , H- 6), 4.93 (dd, 1 H,  $J = 9.5\text{Hz}$ , H-2), 3.81 (ddd, 1 H,  $J = 9.5, 4.7, 2.4 \text{ Hz}$ , H-5), 2.10, 2.08, 2.03 (4xs, 12 H,  $4 \times \text{COCH}_3$ ); RMN  $^{13}\text{C}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm) : 20.9, 20.7, 21.1, 21.15 ( $4 \times \text{C}=\text{OCH}_3\text{Ac}$ ), 75.90 ( $\text{Cl}_3\text{CCH}_2\text{Troc}$ ), 95.92 ( $\text{Cl}_3\text{CCH}_2\text{Troc}$ ), 96.5 (C-1), 78.0 (C-5), 73.9 (C-3), 70.3 (C-4), 67.8 (C-6), 58.7 (C-2), 156.0 (NHC=O), 170.0, 170.9, 171.8, 171.9 ( $4 \times \text{COCH}_3\text{Ac}$ ); IR ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 3332 (NH), 1000-1200 (C-C(O)-C), 600-750 (C-Cl), 1662 ( $\text{NHCO}_{\text{amide}}$ ), 1736( $\text{C}=\text{O}_{\text{Troc}}$ ), 1750-1735 ( $\text{O}-\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$ ) ; ESI-MS  $m/z$  ( $M + \text{Na}$ ) $^+ = 521.5253$ , calculée 544.997 ; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour  $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{Cl}_3\text{NO}_{11}$  : C (39.06), H (4.24), Cl (20.35), N (2.68), Masse trouvée: C (40.01), H (4.20) , Cl(20.85), N(2.55).

#### IV.2.7. Synthèse d'azométhin-1,3,4,6-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucosamine (**8**)



Dans un ballon de 100 mL surmonté d'un réfrigérant contenant ( $M = 383\text{g/mol}$ ,  $m = 1000\text{mg}$ ,  $n = 2.610 \text{ mmole}$ ) du composé (**4**) et 20% de NaOH dissoutes dans 15 mL de THF en présence de tamis moléculaire  $4 \text{ \AA}$  (autocatalyseur). Le mélange, sous agitation, est porté au reflux ( $60\text{-}80^\circ\text{C}$ ) sous atmosphère d'azote pendant 15min jusqu'à la solubilité totale du NaOH. Ensuite, nous avons ajouté ( $M = 106,1219 \text{ g/mol}$ ,  $m = 2700\text{mg}$ ,  $V = 0.266\text{mL}$ ,  $n = 2.610 \text{ mmole}$ ) de benzaldéhyde et nous avons agité le mélange réactionnel est chauffé à reflux à  $60^\circ\text{C}$  pendant 2 heures puis refroidi à  $20^\circ\text{C}$ . Le

solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie éclair (flash) sur gel de silice, élué initialement avec de l'hexane puis on a augmenté graduellement la polarité par l'ajout de l'EtOAc jusqu'à l'obtention d'un mélange (hexane/EtOAc : 8/2). Le produit obtenu est sous forme d'un liquide très visqueux. Un volume de 1 mL de THF est ajouté pour dissoudre le résidu, suivi de 25 mL d'hexane afin de faire précipiter le composé (**8a**). La solution est refroidie à  $-40^{\circ}\text{C}$ , un précipité est observé à la fin du traitement puis filtré sous vide. Le produit (**8a**) est obtenu sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 95% ( $m = 1078.98 \text{ mg}$ ).

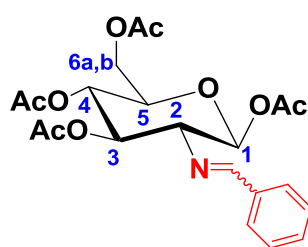
✱ Tamis moléculaire joue un rôle comme agent adsorbant des molécules d'eau de la réaction, on dit c'est un autocatalyseur.

✱ Le complexe NaOH/THF joue le rôle d'un catalyseur pour l'activation des sites actifs.

**Note :** On a utilisé le même protocole expérimental pour les deux dérivés d'aldéhyde : l'acétaldéhyde et le formaldéhyde.

✚ Pour le dérivé acétaldéhyde ( $M = 44,05 \text{ g/mol}$ ,  $m = 115.013 \text{ mg}$ ,  $V = 0.147 \text{ mL}$ ,  $n = 2.610 \text{ mmole}$ ), le résidu est cristallisé dans un mélange acétone/MeOH : 2/1) pour donner le composé (**8b**) ( $583.82 \text{ mg}$ , 60%) sous la forme de cristaux blancs.

✚ Pour le dérivé formaldéhyde ( $M = 30,031 \text{ g/mol}$ ,  $m = 78.409 \text{ mg}$ ,  $V = 0.0719 \text{ mL}$ ,  $n = 2.610 \text{ mmole}$ ), le résidu est purifié par chromatographie sur gel d'alumine (1:2, 1:1, 3:1, 5:1 puis 1:0 AcOEt/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) pour donner le composé (**8c**) ( $234.25 \text{ mg}$ , 25%) sous forme d'un film blanchâtre.

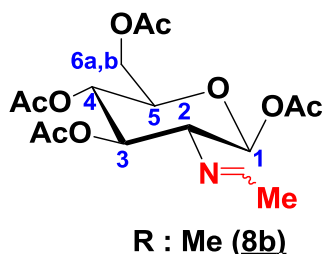


R : Ph (**8a**) Masse moléculaire: 435g/mol

((Z/E)-1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-[benzyliden(amino-2-déoxy)]-β-D-glucosamine (**8a**))

Aspect: cristaux blancs ;  $R_f = 0,6$  (EP/AcOEt: 8/2);  $[\alpha]_D^{20} = +85.6$  ( $c = 2.3$ , CHCl<sub>3</sub>);  $F = 131-133^{\circ}\text{C}$  (Le produit brut a été recristallisé dans de l'éther); RMN <sup>1</sup>H (300MHz, CDCl<sub>3</sub> et  $\delta$  ppm): 1.98, 2.02, 2.05, 2.0 (4xs, 12 H, 4× COCH<sub>3</sub>), 4.37 (ABq, 1H,  $J=5.3 \text{ Hz}$ , 2H,  $J=13.3 \text{ Hz}$ , H-6<sub>a-b</sub>), 4.20 (m, 1H,  $J=2.7 \text{ Hz}$ ,  $J_{5-6}=5.3 \text{ Hz}$ ,  $J_{5-4}=9.9 \text{ Hz}$ , H-5), 4.60 (dd, 1H,  $J_{4-3}=9.7 \text{ Hz}$ ,  $J_{5-4}=9.9 \text{ Hz}$ , H-4), 5.0 (dd, 1H,

$J=9.7\text{Hz}$ , H-3), 6.02 (d, 1H,  $J=8.4\text{Hz}$ , H-1), 7.30 -7.45 (dd, 5H,  $J=8.7\text{Hz}$ , Ar-H), 4.0 (dd, 1 H,  $J=9.9\text{Hz}$ , H-2), 8.52-8.75 (s, 1H, N=CH); RM N  $^{13}\text{C}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm): 20.8, 20.6, 21.0, 21.9 (4x  $\text{C}=\text{OCH}_3\text{Ac}$ ), 97.5 (C-1), 73.6 (C-5), 73.06 (C-3), 69.1 (C-4), 70.7 (C-6), 50.6 (C-2), 113.9 (2x  $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 128.2 (2x  $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 131.1 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 139.9( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 164.2 (C=N), 168.6, 169.4, 169.7, 170.0 (4x  $\text{COCH}_3\text{Ac}$ ); IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1675 (C=N<sub>imin</sub>), 1475-1620 (C=C<sub>Arom</sub>), 2831- 3056 (Ar); 1229 (C-C(O)-C), 1249 (C-N), 1750-1735 (O-C=O<sub>Ac</sub>); UV/vis (EtOH,  $\lambda_{\text{max}}\text{nm}$ , Abs et  $\epsilon \text{ mol}^{-1}.\text{L}.\text{cm}^{-1}$ ) à  $\text{C} = 10^{-4}\text{M}$ , pH= 6.9 et  $\text{T} = 25^\circ\text{C}$ : 285.00, 1,75 et 17500 (transition électronique de type  $n \rightarrow \pi^*$  de C=N); SM SM-HR : (ESI)<sup>+</sup> calculée pour  $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_9$  [ $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_9 + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>: 458.1056, Masse trouvée: 458.1045; Analyses élémentaires (AE) : Calculée pour  $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_9$  : C (57.93), H (5.79), N(3.22), Masse trouvée: C (58.24), H (5.60), N(3.47).

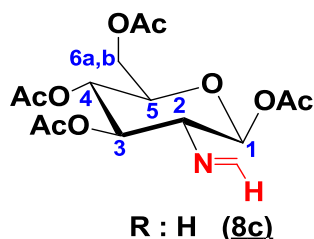


Masse moléculaire: 373g/mol

R : Me (**8b**)

**((Z/E)-1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-[méthy(amino-2-déoxy)]-β-D-glucosamine (**8b**))**

Aspect: poudre blanche ;  $R_f = 0,3$  (EP/AcOEt : 8/2);  $[\alpha]_D^{20} = + 35,7$  ( $c = 1.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $\text{F} = 128-130^\circ\text{C}$  (Le produit brut a été recristallisé dans de l'éther); RMN  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm): 0.89 (d, 3H,  $\text{C}=\text{CHCH}_3$ ), 2.00, 2.02, 2.04, 2.19 (4xs, 12 H, 4x  $\text{COCH}_3$ ), 6.5 (d, 1H,  $J = 3,62\text{Hz}$ , H-1), 5.25(dd, 1H,  $J = 9.89\text{Hz}$ ,  $J = 9.73\text{Hz}$ , H-3), 4.92 (dd, 1H,  $J = 9,38\text{Hz}$ , H-4), 4,12-4,20 (ABq, 2H, H-6<sub>a</sub>, H-6<sub>b</sub>), 3.97 (m, 1H,  $J=2.7\text{Hz}$ ,  $J_{5-6}=5.3\text{Hz}$ ,  $J_{5-4}=9.9\text{Hz}$ , H-5), 4.20 (dd, 1 H,  $J= 9.3\text{Hz}$ , H-2), 8,40 (m, 1H,  $\text{HC}=\text{N}$ ); RM N  $^{13}\text{C}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm): 20.1, 20.7, 21.0, 21.5 (4x  $\text{C}=\text{OCH}_3\text{Ac}$ ), 22.4 ( $\text{CH}_3$ ), 97.9 (C-1), 74.9 (C-5), 73.06 (C-3), 69.1 (C-4), 62.4 (C-6), 59.7 (C-2), 164.2 (C=N), 168.6, 170.0, 170.4, 171.5 (4x  $\text{COCH}_3\text{Ac}$ ); IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1634 (C=N<sub>imin</sub>), 1229 (C-C(O)-C), 1241 (C-N), 1750-1735 (O-C=O<sub>Ac</sub>); UV/vis (EtOH,  $\lambda_{\text{max}}\text{nm}$ , Abs et  $\epsilon \text{ mol}^{-1}.\text{L}.\text{cm}^{-1}$ ) à  $\text{C} = 10^{-4}\text{M}$ , pH= 6.9 et  $\text{T} = 25^\circ\text{C}$ : 280.00, 2.52, et 25200 (transition électronique de type  $n \rightarrow \pi^*$  de C=N); SM SM-HR : (ESI)<sup>+</sup> calculée pour  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_9$  [ $\text{M} + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>: 396.1741, Masse trouvée: 396.1743 ; Analyses élémentaires (AE) : Calculée pour  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_9$  : C (51.47), H (6.21), N(3.75), Masse trouvée: C (51.33), H (6.07), N(3.69).

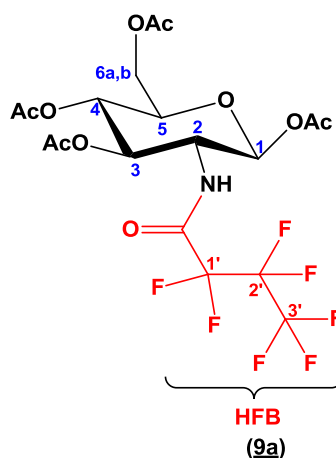


Masse moléculaire: 359g/mol

((Z/E)-1,3,4,6-Tétra-O-acétyl-2-[formyl(amino-2-déoxy)]-β-D-glucosamine (**8c**))

Aspect: cristaux blancs;  $R_f = 0.2$  (EP /AcOEt: 8/2); F = 120-122°C (Le film blanchâtre brut a été recristallisé a chaud/ froid dans l' EP/AcOEt: 9/1); RMN  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm): 2.0, 2.02, 2.04, 2.19 (4xs, 12H, 4 $\times$ COCH $_3$ ), 5.4 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H, H-1), 4.91 (dd, 1H,  $J_{2-3} = 9.89\text{Hz}$ ,  $J_{3-4} = 9.73\text{Hz}$ , H-3), 4.78 (dd, 1H,  $J = 9.38\text{Hz}$ , H-4), 4.07 - 4.30 (ABq, 2H, H-6 $_a$ , H-6 $_b$ ), 2.99 (m, 1H,  $J = 2.3\text{Hz}$ ,  $J_{5-6} = 5.8\text{Hz}$ ,  $J_{5-4} = 9.8\text{Hz}$ , H-5), 4.70 (dd, 1 H,  $J = 9.4$  Hz, H-2), 8.0 (s, 2H, H $_2$ C=N); RMN  $^{13}\text{C}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm): 20.7, 20.9, 21.0, 21.8 (4x C=OCH $_3$ Ac), 96.9 (C-1), 73.6 (C-5), 73.06 (C-3), 72.7 (C-4), 69.1 (C-6), 62.4 (C-2), 162.8 (C=N), 168.7, 170.2, 170.3, 171.0 (4xCOCH $_3$ Ac); IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1630 (C=N $_{\text{imin}}$ ), 1229 (C-C(O)-C), 1228 (C-N), 1750-1735 (O-C=O $_{\text{Ac}}$ ); UV/vis (EtOH,  $\lambda_{\text{max}}$ nm, Abs et  $\epsilon$  mol $^{-1}$ .L.cm $^{-1}$ ) à C = 10 $^{-4}$ M, pH= 6.9 et T = 25°C: 282.00, 2.00 et 20000 (transition électronique de type  $n \rightarrow \pi^*$  de C=N); SM SM-HR : (ESI) $^+$  calculée pour C $_{15}$ H $_{21}$ NO $_9$  [M +Na] $^+$ : 382.1025 , Masse trouvée: 382.1115; Analyses élémentaires (AE) : Calculée pour C $_{15}$ H $_{21}$ NO $_9$  : C (50.14), H (5.89), N(3.90), Masse trouvée: C (50.20), H (5.89) , N(3.47).

#### IV.2.8.Synthèse de 1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-(heptafluorobutylamino-2-déoxy)-β-D-glucosamine (**9a**)



Masse moléculaire: 543g/mol

1,3,4,6-tétra-O-acétyl-2-(heptafluorobutylamino-2-déoxy)-β-D-glucosamine (**9a**)

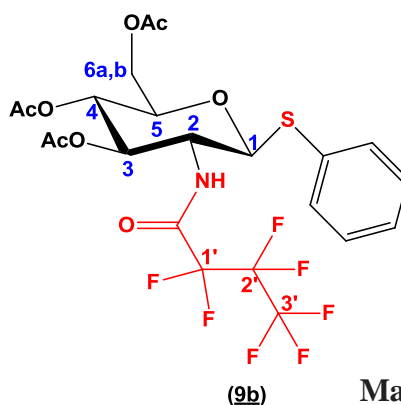
Dans un Bicol de 50mL, on a introduit ( $M = 383\text{g/mol}$ ,  $1000\text{mg}$ ,  $2.610\text{mmol}$ .) du composé (**4**) dissout dans 6mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , on a ajouté goutte à goutte ( $M = 410.06\text{g/mol}$ ,  $n = 2.610\text{mmol}$ ,  $V = 0.837\text{mL}$ , 1éq.) de l'anhydride heptafluorobutyrique (HFBA) et on a ajouté ensuite la DMAP ( $M = 122.17\text{g/mol}$ ,  $7.95\text{mmol}$ ,  $956.945\text{mg}$ , 3éq.). Le mélange est agité sous atmosphère d'argon à température ambiante pendant 24h. La réaction est suivie par CCM (AcOEt/EP : 2/8). La révélation par un mélange de (EtOAc / $\text{H}_2\text{SO}_4$  / $\text{H}_2\text{O}$  : 7/1/2). Au bout de 24 heures d'agitation à température ambiante. Le mélange réactionnel est dilué dans 40 mL d'acétate d'éthyle et ensuite, on a ajouté 30mL de l'eau pour faire l'extraction, mais il ya eu une formation d'une émulsion (pour éviter l'émulsion on a ajouté les solutions saturées) on a utilisé 30 mL de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  à 3% et en plus on a ajouté 30mL de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  et 30 mL de  $\text{NaCl}$ ; ensuite on a fait l'extraction par l'AcOEt (3x40mL), puis la phase organique est lavée avec une solution saturée trois fois par l'eau distillée (3x100mL), est ensuite séchée par le  $\text{MgSO}_4$  et la solution est évaporée sous vide. Le produit obtenu sous forme d'huile jaune est purifié sur colonne de gel de silice avec éluant de (AcOEt /EP : 2/8). On a obtenu alors 980mg d'une huile incolore de (**9a**). Cette huile peut être cristallisée dans un mélange AcOEt / hexane 8/2 pour donner des cristaux blancs de (**9a**).

Rdt =70%;  $R_f$ : 0.50 (EtOAc/PE :2/8) ;  $F = 282-283^\circ\text{C}$  ;  $[\alpha]_D^{20} = -30.8$  ( $c = 0.22$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) ; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}-d^4$ ,  $\delta$  ppm): 8.02 (brs, 1H,  $J = 9.00\text{Hz}$ , NH), 6.69, (d, 1H, H-1), 4.88 (m, 1H, H-2), 5.28 (m, 1H, H-3), 4.78 (m, 1H, H-4), 4.15 (m, 1H, H-5), 4.65 (ABq,  $J_{6a-6b}=15.08\text{Hz}$ , H-6<sub>a-b</sub>), 2.00, 2.01, 2.05, 2.17 (4s, 12H, 4x  $\text{COCH}_3$ ) ; RMN  $^{13}\text{C}$  (200 MHz,  $\text{MeOD}-d^4$  et  $\delta$  ppm): 170.0, 170.9, 171.5, 172.0 (4xCsp<sup>2</sup>,  $\text{CH}_3\text{-C=O}$ ), 20.7, 20.9, 21.0, 21.5 (4xCsp<sup>3</sup>,  $\text{CH}_3\text{-C=O}$ ), 94 (C-1), 74.7 (C-5), 72.2 (C-3), 62.4 (C-6), 59.20 (C-2), 159.5 (NH-C=Osp<sup>2</sup>), 114.2 (-O-CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub>), 109.0 (-O-CF<sub>2</sub>-CF<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub>), 116.7 (-O-CF<sub>2</sub>-CF<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub>), 21.5 (C-CH<sub>3</sub>Ac sp<sup>3</sup>); RMN  $^{19}\text{F}$  (300 MHz,  $\text{MeOD}-d^4$  et  $\delta$  ppm): -80.766 (3F, 3'CF<sub>3</sub>) -121.259 (2F, -1'CF<sub>2</sub>-CF<sub>2</sub>-) -127.300 (2F, -2'CF<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub>); IR ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3500 (NH), 1655 (NHC=O<sub>amide</sub>), 1120 (C-O-C), 1110 (N-C), 1100-1400 (C-F), 1350(CF<sub>3</sub>), 1120(CF<sub>2</sub>), 1780-1740(C=O<sub>Ac</sub>), 1712,7 ( $\text{CH}_3\text{C=O}_{Ac}$ ); SM-HR (ESI)<sup>+</sup>: 557,3445 - 558,3440: ( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{F}_7\text{NO}_{10} + \text{Na}$ )<sup>+</sup>, 544.0924: ( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{F}_7\text{NO}_{10} + \text{H}$ )<sup>+</sup>; Analyses élémentaires (AE) : Calculée pour  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_9$  : C (39.79), H (3.71), F(24.48), N(2.58), Masse trouvée: C (39.59), H (3.70), F(24.90) N(2.45).

#### IV.2.9. Synthèse de 3,4,6-tri-O-acétyl-1- phénylthio-2-(heptafluorobutylamino-2-déoxy)- $\beta$ -D-glucosamine (**9b**)

Dans un Bicol de 50mL, on a introduit ( $M = 543\text{g/mol}$ ,  $1000\text{mg}$ ,  $1.8416\text{mmol}$ ) de substrat (**9a**) dissout dans 4mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , on a ajouté goutte à goutte de  $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$  ( $M = 141.93\text{g/mol}$ ,  $n = 1.8416\text{mmol}$ ,  $m = 261.38\text{mg}$ ,  $V = 0.227\text{mL}$ , 1éq.) et on a ajouté ensuite le thiophénol (PhSH) ( $M =$

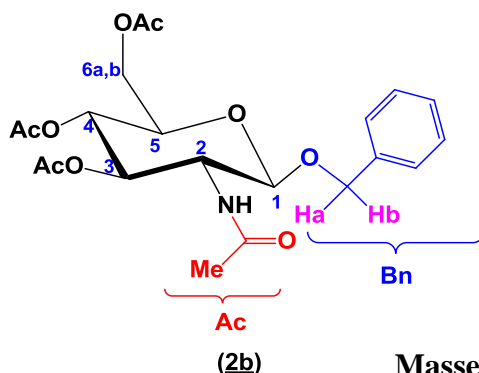
110,177 g/mol,  $n = 3.6832\text{mmol}$ ,  $m = 405.80\text{g/mol}$ ,  $V = 0.375\text{mL}$ , 2éq.) et 450mg de DMAP ( $M = 122.17\text{g/mol}$ ,  $n = 3.6832\text{mmol}$ , 2éq.) dissous dans 10 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Le mélange est agité sous atmosphère d'argon. Au bout de 5 heures d'agitation à température ambiante, le mélange est extrait par l'acétate d'éthyle (20 mL, 3 fois). Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec de l'eau (125 mL), puis avec une solution aqueuse saturée de NaCl (125 mL) et  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1M, 40mL). La phase organique est alors séchée sur  $\text{MgSO}_4$ , filtrée et concentrée sous pression réduite, et purifiée par chromatographie sur gel de silice (Eluant : AcOEt /EP: 2/8). On a obtenu alors une huile incolore qui cristallise dans un mélange de l'AcOEt/hexane: 1/1 pour donner 1055.24mg de cristaux blancs de **(9b)**.



Masse moléculaire: 623g/mol

**3,4,6-tri-O-acétyl-1- phénylthio-2-(heptafluorobutylamino-2-déoxy)- $\beta$ -D-glucosamine (**9b**)**

Rdt = 92%;  $R_f = 0.25$  (PE/AcOEt: 2/8);  $F = 92-94\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $[\alpha]_D^{20} = -23.8$  ( $c = 1.07$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{MeOD-d}^4$ ,  $\delta$  ppm): 2.17, 2.17, 2.21 (3s, 9H, 3xCOCH<sub>3</sub>), 5.26 (d, 1H,  $J = 9.8\text{MHz}$ ,  $\beta$  H-1), 7.26-7.40 (m, 5H, Ar), 7.99 (brs, 1H,  $J = 8.46\text{ Hz}$ , NH), 4.88 (dd, 1H, H-2), 5.20 (dd, 1H, H-3), 4.92 (dd, 1H, H-4), 4.10 (q, 1H, H-5), 4.34 (ABq,  $J_{6a-6b} = 15, 20\text{ Hz}$ , H-6a-b méthylène); RMN  $^{13}\text{C}$  (300 MHz,  $\text{MeOD-d}^4$  et  $\delta$  ppm): 20.9, 21.0, 21.3 (3xCsp<sup>3</sup>, CH<sub>3</sub>-C=O), 170.7, 170.9, 171.0 (3xCsp<sup>2</sup>, CH<sub>3</sub>-C=O), 126.8-136.4 (5xCsp<sup>2</sup>, Ar), 93.9 (C-1), 79.9 (C-5), 69.5 (C-3), 68.4 (C-4), 65.60 (C-6), 50.9 (C-2), 158.5 (NH-C=O), 116.7 (O-CF<sub>2</sub>-CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>), 109.5 (CF<sub>2</sub>-CF<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub>), 117.5 (CF<sub>3</sub>, CF<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub>), 127.6 - 138.8 (6xCsp<sup>2</sup>, Ar); RMN  $^{19}\text{F}$  (300MHz,  $\text{MeOD-d}^4$  et  $\delta$  ppm): -80.687 (3xF, 3'CF<sub>3</sub>) - 121.102 (2xF, 1'CF<sub>2</sub>-CF<sub>2</sub>), -127.246 (2xF, 2'CF<sub>2</sub>-CF<sub>3</sub>); IR ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3303 (NH), 1684 (NHC=O<sub>amide</sub>), 1150-1110 (C-O-C), 1175 (N-C), 1372 (C-F), 1740-1780 (C=O<sub>Ac</sub> Carbamate), 1450-1650 (C=C<sub>Aromatique</sub>), 690-740 (C-S), 700-750 et 690-710 (Ar monosubstitué); SM-HR : (ESI)<sup>+</sup>: calculée pour  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{F}_7\text{NO}_9\text{S}$  708.455 ( $M + \text{Na}$ )<sup>+</sup>, trouvée: 702. 2523, 625.0233 ( $M+2$ )<sup>+</sup>; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{F}_7\text{NO}_9\text{S}$ : C (44.31), H (3.88), F(21.33), N(2.25), Masse trouvée: C (44.50), H (3.20), F (21.13), N(2.15).

IV.2.10.Synthèse de 3,4,6-tri-*O*-acétyl-1-benzyl-2-acétamido- $\beta$ -D-glucosamine (**2b**)3,4,6-tri-*O*-acétyl-1-benzyl-2-acétamido- $\beta$ -D-glucosamine (**2b**)

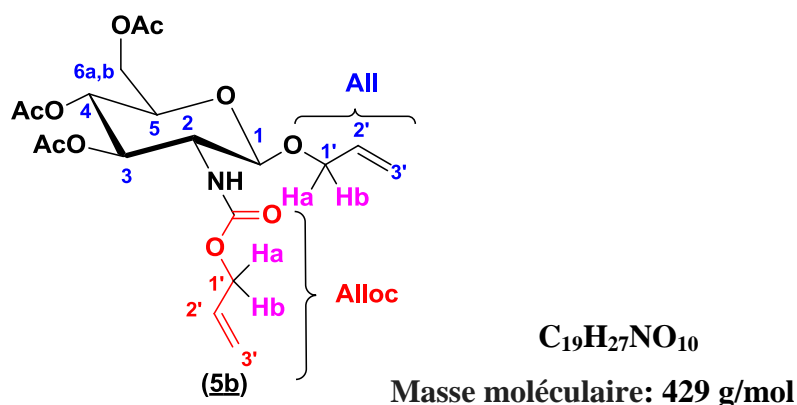
À une solution de composé (**2**) ( $M = 389 \text{ g/mol}$ ,  $m = 1000 \text{ mg}$ ,  $n = 2.57069 \text{ mmol}$ ) dans du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) est ajouté de phénylméthanol ( $M = 108,1378 \text{ g/mol}$ ,  $m = 0.2779 \text{ mg}$ ,  $V = 0.2672 \text{ mL}$ ,  $n = 2.57069 \text{ mmol}$ , 1 éq.), ensuite on a ajouté goutte à goutte de  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  ( $M = 141.93 \text{ g/mol}$ ,  $n = 2.5706 \text{ mmol}$ ,  $m = 364.858 \text{ mg}$ ,  $V = 0.317 \text{ mL}$ , 1 éq.), la réaction est sous atmosphère inerte et à température ambiante, et on a ajouté lentement une suspension de  $628.123 \text{ mg}$  ( $M = 122.17 \text{ g/mol}$ ,  $n = 5.14138$ , 2 éq.) de DMAP dissous dans 10 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (qui joue le rôle du catalyseur nucléophile) au mélange réactionnel. La solution est agitée 2h à température ambiante. Le mélange est alors dilué avec du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (150 mL) et lavé successivement avec une solution saturée froide de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  et une solution saturée de NaCl. Les phases aqueuses sont réextraites avec du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4 x 50 mL). Les phases organiques sont combinées, séchées sur  $\text{MgSO}_4$  et concentrées. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (1 : 1, puis 3 : 2 et 7 : 3 Toluène/acétone: 7/3, puis gradient d'élution) pour donner ( $m = 842.25 \text{ mg}$ ) du composé (**2b**).

Rdt = 75%; Aspect: cristaux blancs;  $R_f = 0.5$  (Toluène/acétone : 7/3);  $F = 211-213^\circ \text{C}$  (Le produit brut a été recristallisé dans l'éther/hexane v/v); RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta \text{ ppm}$ ) : 8.2 (brs, 1H,  $J = 8.35 \text{ Hz}$ , NH), 7.27-7.46 (m, 5H, Ar-H), 5.23 (dd,  $J_{3-2} = 10.2 \text{ Hz}$ ,  $J_{3-4} = 9.6 \text{ Hz}$ , 1H, H-3), 5.13 (t,  $J_{4-3} = J_{4-5} = 9.6 \text{ Hz}$ , 1H, H-4), 5.89 (d,  $J = 7.2 \text{ Hz}$ , 1H,  $\beta\text{H-1}$ ), 4.71 (d,  $J = 11.9 \text{ Hz}$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{-Ph}$ ), 4.52 (ABq,  $J = 11.9 \text{ Hz}$ , 1H,  $\text{CH}_{a-b}\text{-Ph}$ ), 4.35 (ddd,  $J_{2-3} = 10.2 \text{ Hz}$ ,  $J_{2-1} = 3.7 \text{ Hz}$ , 1H, H-2), 4.23 (dd,  $J_{6a,b} = 12.2 \text{ Hz}$ ,  $J_{6a-5} = 4.5 \text{ Hz}$ , 1H, H-6a), 4.03 (dd,  $J_{6b,a} = 12.2 \text{ Hz}$ ,  $J_{6a-5} = 2.7 \text{ Hz}$ , 1H, H-6b), 3.97 (ddd,  $J_{5-4} = 9.6 \text{ Hz}$ ,  $J_{5-6a} = 4.5 \text{ Hz}$ ,  $J_{5-6b} = 2.7 \text{ Hz}$ , 1H, H-5), 2.10, 2.02, 2.00 (3s, 9H, 3x  $\text{COCH}_3$ ), 1.89 (s, 3H,  $\text{OCOCH}_3$ ); RMN  $^{13}\text{C}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta \text{ ppm}$ ) : 169.3, 169.9, 170.7 (3x  $\text{Csp}^2$ ,  $\text{CH}_3\text{-C=O}$ ), 171.3 (NHC=O), 127.5-137.8 (6xC, Ar), 96.7 (C-1), 71.3 (C-5), 70.0 (C-3), 68.1 (C-4), 61.9 (C-6), 52.0 (C-2), 70.2 ( $\text{CH}_2\text{-Ph}$ ), 20.6, 20.7, 23.1 (3x  $\text{Csp}^3$ ,  $\text{CH}_3\text{-C=O}$ ); IR  $\text{cm}^{-1}$  (KBr, v  $\text{cm}^{-1}$ ): 3333 (NH), 1675 (NHC=O<sub>amide</sub>), 1750-1735 (O-C=O<sub>éthanoate</sub>), 1371-1229 (C-C(O)-C), 1650-1750 (C=C<sub>Ar</sub>);



SM SM-HR : (ESI)<sup>+</sup> calculée pour C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>9</sub> [C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>9</sub> + Na]<sup>+</sup>: 460.1584, Masse trouvée: 460.1587; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>9</sub>: C(57.66), H(6.22), N(3.20), Masse trouvée: C(57.70), H(6.21), N(3.54).

#### IV.2.11. Synthèse de 3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-*N*-allyloxycarbonyl-2-amino-2-déoxy-β-*D*-glucosamine (**5b**)



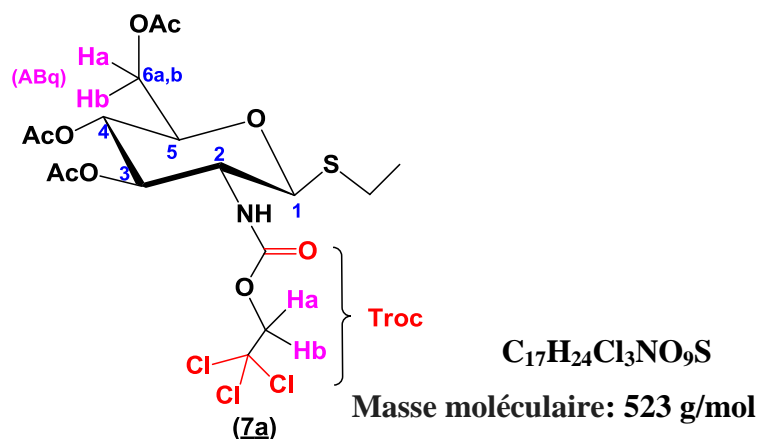
#### 3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-*N*-allyloxycarbonyl-2-amino-2-déoxy-β-*D*-glucosamine (**5b**)

Le composé (**5a**) ( $M = 431 \text{ g/mol}$ ,  $m = 500 \text{ mg}$ ,  $n = 1.160 \text{ mmol}$ ) a été dissous dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) anhydre, on a ajouté goutte à goutte le BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub> ( $M = 141.93 \text{ g/mol}$ ,  $n = 1.1600 \text{ mmol}$ ,  $m = 164.651 \text{ mg}$ ,  $V = 0.143 \text{ mL}$ , 1 éq.) et l'alcool allylique ( $M = 58.0791 \text{ g/mol}$ ,  $m = 202.131 \text{ mg}$ ,  $V = 0.23 \text{ mL}$ ,  $n = 3.48 \text{ mmol}$ , 3 éq.) sous agitation dans un bain de glace. 2 éq. de DMAP ( $M = 122.17 \text{ g/mol}$ ,  $m = 283.45 \text{ mg}$ ,  $n = 2.3200 \text{ mmol}$ ) dissous dans 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a été ajouté et la solution a été laissée sous agitation à température ambiante. Après 5 heures d'agitation, le mélange réactionnel a été solubilisé dans 20 mL d'eau distillée glacé, ensuite, on a ajouté K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.5M, 20 mL) et on a fait l'extraction, la phase organique séchée sur sulfate de magnésium, et filtrée puis évaporée sous pression réduite, puis purifiée par flash chromatographie sur gel de silice (Eluant : Ether de pétrole/Acétate d'éthyle: 7/3, puis gradient d'élution), pour donner le composé (**5b**) ( $m = 348.37 \text{ mg}$ ,  $\text{Rdt} = 70\%$ ). Aspect: cristaux blancs vitreux;  $R_f = 0.72$  (v/v AcOEt/hexane : 1/1);  $F = 287\text{-}288^\circ \text{C}$  (Le produit brut a été recristallisé dans l' Et<sub>2</sub>O);  $[\alpha]_D^{20} = +60.9$  ( $c = 0.6$ , CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub> et  $\delta$  ppm): 7.97 (brs, 1H,  $J = 8.8 \text{ Hz}$ , NH), 5.53 (dddd, 2H, CH=CH<sub>2</sub> All), 5.57 (dddd, 2H, CH=CH<sub>2</sub> Alloc), 5.80 (dd, 1H, H-3), 5.75 (dq, 1H, CH=CH<sub>2</sub> *cis* H<sub>trans</sub> Alloc), 5.14 (dq, 1H CH=CH<sub>2</sub> *cis* H<sub>trans</sub> All), 5.06 (t, 1H, H-4), 5.99 (d,  $J = 8.6 \text{ Hz}$ , 1H, βH-1), 4.30 (ABq, 1H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub> Alloc), 3.93 - 4.08 (dd, 1H, H-6a-6b), 4.03 (ABq, 1H CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub> All), 4.22 (td, 1H, H-2), 3.67 (ddd, 1H, H-5), 1.97, 1.97, 2.04 (3s, 9H, 3xCOCH<sub>3</sub>); RMN <sup>13</sup>C (100.6 MHz, CDCl<sub>3</sub> et  $\delta$  ppm):  $\delta = 169.3$ , 170.7, 170.9 (3xCsp<sup>2</sup>, CH<sub>3</sub>-C=O), 156.9 (NHC=O), 133.6 (-CH=CH<sub>2</sub>Alloc), 131.7(-CH=CH<sub>2</sub>All), 118.2(-



CH=CH<sub>2</sub>Alloc), 116.8 (-CH=CH<sub>2</sub>All), 97.3 (C-1), 76.4 (C-5), 75.3 (C-3), 71.5(C-4), 66.3(C-6), 55.0 (C-2), 68.4 (-CH<sub>2</sub>CH=All), 62.0 (-CH<sub>2</sub>CH=Alloc), 20.8, 20.6, 20.6 (3xCsp<sup>3</sup>, CH<sub>3</sub>-C=O) ; IR cm<sup>-1</sup> (KBr,v cm<sup>-1</sup>) ; 3266 (NH), 1770-1780 (C=O<sub>alloc</sub>), 1750-1735 (O-C=O<sub>Ac</sub>), 1654-1673 (C=c<sub>Ally</sub>), 1662 (NHCO<sub>amide</sub>), 1371-1229 (C-C(O)-C) ; SM-HR : (ESI)<sup>+</sup> : calculée pour C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>10</sub> (M + Na)<sup>+</sup> et (M + 2H)<sup>+</sup>, Masse trouvée: 452. 5235 et 431.0094; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>10</sub>: C(53.14), H(6.34), N(3.26), Masse trouvée: C(53.21), H(6.34), N(3.20).

#### IV.2.12. Synthèse de 1-éthyl-3,4,6- tri-*O*-acétyl-2-(trichloroéthoxycarbonylamino-2-déoxy -1-thio-β-*D*-glucosamine (**7a**))



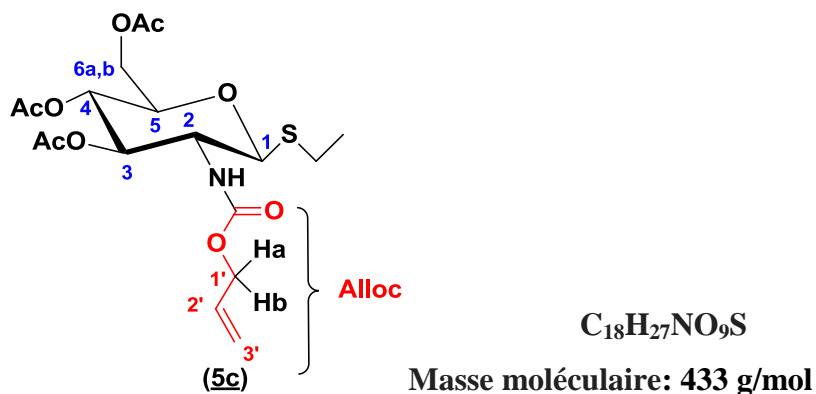
#### 1-Ethyl-3,4,6- tri-*O*-acétyl-2-(trichloroéthoxycarbonylamino-2-déoxy-1-thio-β-*D*-glucosamine (**7a**))

On a dissout 500mg (M = 521g/mol, n = 0.95969mmol) du composé (**7**) dans 2mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, on a ajouté goutte à goutte de BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub> (M = 141.93g/mol, n = 0.95969mmol, m = 136.209mg, V = 0.1184mL, 1éq.) et on a ajouté ensuite le mercaptan éthylique (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>SH) (M = 62,1340g/mol, n = 1.9193 mmol, m = 119.251mg, V = 0.1383mL, 2éq.) ; 2éq. de DMAP (M = 122.17 g/mol, m = 234.44mg, n = 1.9193 mmol) dissous dans 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a été ajouté à la solution. Le mélange est agité sous atmosphère d'argon pendant 3 heures à température ambiante. La réaction est suivie par CCM (AcOEt / heptane : 2/1). Le mélange est extrait par l'acétate d'éthyle (20 mL, 3 fois). Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec de l'eau (125 mL), puis avec une solution aqueuse saturée de NaCl (125 mL) et K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1M, 40mL). La phase organique est alors séchée sur MgSO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée sous pression réduite, et purifiée par chromatographie sur gel de silice (Eluant : AcOEt / EP : 2/8). On a obtenu une huile incolore qui cristallise dans un mélange de l'AcOEt/hexane : 1/1 pour donner 361.38 mg de cristaux blancs de (**7a**).

Rdt = 72%; F = 205-207°C; R<sub>f</sub> = 0,35 (AcOEt / heptane: 2/1); [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = - 60 (c = 0.5, 1:1 CHCl<sub>3</sub>:MeOH); RMN <sup>1</sup>H (300MHz, CDCl<sub>3</sub> et δ ppm): 7.49 (brs, 1H, J= 8.1 Hz , NH), 4.65 (t, 1 H, J=

9.8Hz, H-3), 4.52 (t, 1 H,  $J = 9.0$  Hz, H-4), 4.89 (s, 2 H,  $\text{Cl}_3\text{CCH}_{a-b} \text{Troc}$ ), 4.90 (d, 1H,  $J = 8.6$  Hz,  $\beta\text{H}$ -1), 4.10, 4.35 ( $\text{AB}_q$ , 1 H,  $J_{6a-b} = 12.7\text{Hz}$ ,  $J_{5-6a} = 4.6$ ,  $J_{5-6b} = 2.2$  Hz, H-6), 4.40 (dd, 1 H,  $J = 9.5\text{Hz}$ , H-2), 3.81 (ddd, 1 H,  $J_{5-4} = 9.8\text{Hz}$ ,  $J_{5-6a} = 4.7\text{Hz}$ ,  $J_{5-6b} = 2.5\text{Hz}$ , H-5), 2.10, 2.08, 2.03 (3 s, 9H,  $3 \times \text{COCH}_3$ ), 2.62-2.85 (m, 2H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.24 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ); RMN  $^{13}\text{C}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm): 154.24 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{amide}}$ ), 170.03, 170.5, 171.0 ( $3 \times \text{Csp}^2$ ,  $\text{CH}_3-\text{C}=\text{O}$ ), 96.7( $\text{CCl}_3$ ), 99.1 (C-1), 76.90 (C-5), 73.23 (C-3), 70.69 (C-4), 61.00(C-6), 57.76 (C-2), 73.69( $\text{CH}_2\text{Troc}$ ), 24.50( $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 14.90 ( $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 20.70-21.8 ( $3 \times \text{CH}_3\text{Ac}$ ); IR ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3301 (N-H), 2850-2951 (C-H), 1705 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{Troc}}$ ), 1745 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$ ), 1545 (C-N), 1220-1260 (C-C(O)-C), 850-550 (C-Cl), 1675 ( $\text{NHCO}_{\text{amide}}$ ), 725 (C-S); HRMS :  $m/z$  : calculée pour  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{Cl}_3\text{NO}_9\text{S}$   $[\text{M}-\text{Na}]^-$  : 500,1334; trouvée : 500,1339 ; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour  $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{Cl}_3\text{NO}_9\text{S}$ : C (38.91), H (4.61), Cl (20.27), N(2.67), Masse trouvée: C (39.01), H (4.55) , Cl (21.00), N(2.15).

#### IV.2.13. Synthèse de 1-Ethyl-3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-*N*-allyloxycarbonyl-2-amino-2-déoxy-1-thio- $\beta$ -*D*-glucosamine (**5c**)



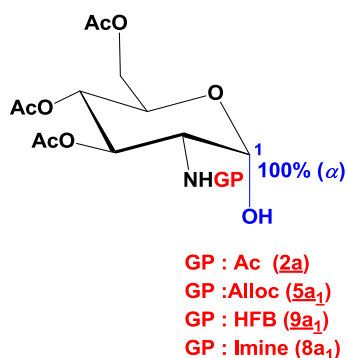
#### 1-Ethyl-3,4,6-tri-*O*-acétyl-2-*N*-allyloxycarbonyl-2-amino-2-déoxy-1-thio- $\beta$ -*D*-glucosamine (**5c**)

On a effectué la réaction dans les mêmes conditions que celle de la préparation du composé (**7a**), mais le traitement de la réaction est différent. On a dissout 1000mg ( $M = 431\text{g/mol}$ ,  $n = 2.320\text{mmol}$ ) du composé (**5a**) dans 2mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , on a ajouté goutte à goutte de  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  ( $M = 141.93\text{g/mol}$ ,  $n = 2.320\text{mmol}$ ,  $m = 329.3039\text{mg}$ ,  $V = 0.2893\text{mL}$ , 1éq.) et on a ajouté ensuite le mercaptan éthylique ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{SH}$ ) ( $M=62,1340\text{g/mol}$ ,  $n = 4.6403\text{mmol}$ ,  $m = 288.3248\text{mg}$ ,  $V = 0.3321\text{mL}$ , 2éq.). Le mélange est agité trois heures sous atmosphère d'argon à température ambiante. La réaction est suivie par CCM ( $\text{AcOEt}/\text{EP}$  : 8/2). 5 mL de méthanol sont ajoutés et la réaction est laissée agiter pendant 40 min sous argon. Des lavages à l'eau, avec une solution saturée de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  ou  $\text{NaHCO}_3$  et à l'eau une nouvelle fois sont effectués. La phase organique est séchée sur  $\text{MgSO}_4$ , filtrée et évaporée puis coévaporée au toluène. Le résidu obtenu est purifié sur colonne chromatographique (éluant  $\text{AcOEt}/\text{EP}$  : 8/2) et le

produit **5c** est obtenu sous forme d'une mousse blanchâtre qui cristallise dans un mélange de l'AcOEt/hexane : 1/1 pour donner 853.944mg de poudre blanche de composé (**5c**) .

Rdt = 85% ;  $R_f$  = 0.62 (AcOEt/EP : 8/2); F = 144- 147°C;  $[\alpha]_D^{20} = +25.9$  ( $c = 2.14$ ,  $\text{CHCl}_3$ ); RMN  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm) : 5.89 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$  proton de viny), 4.90 (t, 1 H,  $J = 9.5$  Hz, H-4), 7.95 (brs, 1H,  $J = 8.7$  Hz, NH), 2.09, 2.08, 2.05 (3s, 9H, 3x  $\text{COCH}_3$ ), 5.23-5.24 (dd, 2H,  $=\text{CH}_{2\text{ally}}$ ), 4.80 (ABq, 2 H,  $\text{OCH}_2(\text{Ha,Hb})\text{CH}=\text{ally}$ ), 4.22, 4.40 (ABq, 2H,  $J_{6a-b} = 12.3\text{Hz}$ ,  $J_{5,6a} = 4.7$  Hz,  $J_{5,6b} = 2.4$  Hz, H-6a, H-6b), 4.35 (m, 1H, H-5), 4.75 (m, 1H, H-2), 2.70 (m, 2H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.24 (t, 3H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_3$ ), 5.20 (d, 1H,  $J = 3.6$  Hz, H-1), 5.00 (m, 1H, H-3) ; RMN  $^{13}\text{C}$ : (200MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm) : 156.37 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{Troc}}$ ), 133.87 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 117.11 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 98.9 (C-1), 79.25 (C-5), 77.33 (C-3), 69.90 (C-4), 65.60 (C-6), 49.90 (C-2), 64.90 ( $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 24.35 ( $\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 15.10 ( $\text{S}-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ) , 170.0, 170.6, 171 (3x  $\text{Csp}^2$ ,  $\text{CH}_3-\text{C}=\text{O}$ ), 20.9, 21.0, 21.5 (3x  $\text{CH}_3\text{Ac}$ ); IR  $\text{cm}^{-1}$  (KBr,  $\nu \text{ cm}^{-1}$ ) : 3266 (NH), 1770-1780 ( $-\text{O}-\text{C}=\text{O}_{\text{viny}}$ ), 1750-1735 ( $-\text{O}-\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$ ), 1529 ( $\text{C}=\text{C}$ ), 1662 ( $\text{NHCO}_{\text{amide}}$ ), 1371-1229 ( $\text{C}-\text{C}(\text{O})-\text{C}$ ), 732 ( $\text{C}-\text{S}$ ) ; ESI-MS  $m/z$ : calculée pour  $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_9\text{S}$   $[\text{M} + \text{H}]^+$  : 433,3559 ; trouvée : 433,3550 ; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour  $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_9\text{S}$ : C (49.87), H (6.28), N(3.23), Masse trouvée: C (49.95), H (6.17) , N(3.55).

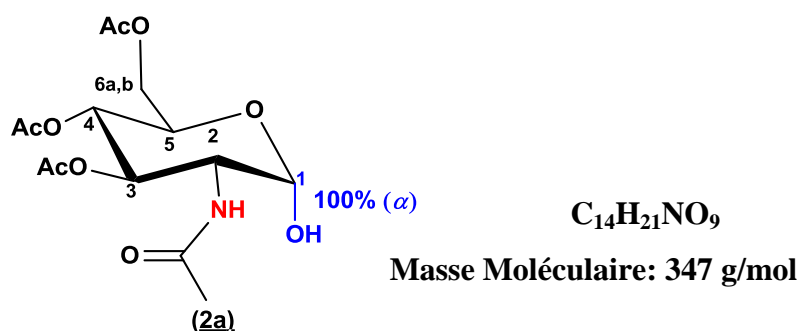
#### IV.2.14. Déprotection de la position anomérique C-1 par la bromation et le suivie par l'hydrolyse des composés (**2a**, **5a<sub>1</sub>**, **8a<sub>1</sub>** et **9a<sub>1</sub>**)



La réaction est effectuée en prenant les précautions nécessaires afin d'obtenir un milieu réactionnel anhydre. Un volume de 2,75 mL de HBr/AcOH 33% ( $M = 140.96\text{g/mol}$ ,  $m = 1472.16\text{mg}$ ,  $n = 10.4438\text{mmol}$ , 2 éq.) est ajouté à une solution de composé (**2**) ( $M = 389\text{g/mol}$ ,  $m = 2000\text{mg}$ ,  $n = 5.141\text{mmol}$ ) solubilisé dans 15 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhydre. Après 2 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est lavé deux fois avec une solution aqueuse saturée de  $\text{NaHCO}_3$  puis avec une solution aqueuse saturée en  $\text{NaCl}$ . La phase organique est séchée avec du  $\text{MgSO}_4$ , filtrée, puis le solvant est évaporé sous pression réduite. Ensuite, le résidu est soumis à une hydrolyse selon les conditions suivantes : Le résidu est dissous dans 25 mL d'acétone et 1 mL d'eau. Une quantité

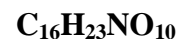
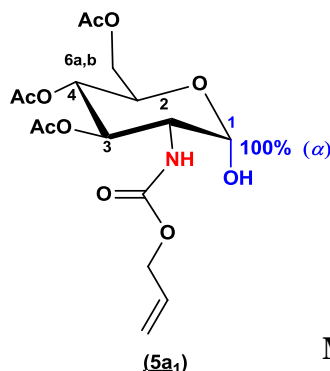
d'Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (M = 275,7453g/mol, m = 2000 mg, n = 21.7592 mmol, 1.3éq.) est ajoutée au milieu réactionnel par petites portions. Après 45 minutes de réaction, la suspension est filtrée sur 2 cm de célite. Le filtrat est concentré sous pression réduite. Le produit est purifié par flash chromatographie sur gel de silice (Eluant : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 9/1), pour donner le composé (**2a**) à 100% d'anomère  $\alpha$ .

**Note :** On a utilisé le même protocole expérimental pour les trois composés : (**5a**) (M = 431g/mol, m = 2000mg, n = 4.6400 mmol), (**9a**) (M = 546g/mol, m = 2000mg, n = 3.6630mmol), (**8a**) (M = 435g/mol, m = 2000 g/mol, 4.5977mmol) et même résultats pour les trois composés ( **5a<sub>1</sub>**, **9a<sub>1</sub>**, et **8a<sub>1</sub>**). Les meilleurs rendements obtenus sont de 80% pour le composé (**5a<sub>1</sub>**) et 67% pour le composé (**2a**), 45% pour le composé (**9a<sub>1</sub>**) et 30% pour le composé (**8a<sub>1</sub>**) (le rendement est plus bas à cause de la double liaison de l'imine).



### 1-Hydroxy-3,4,6-tri-O-acétyl-2-acétamido- $\alpha$ -D-glucosamine (**2a**)

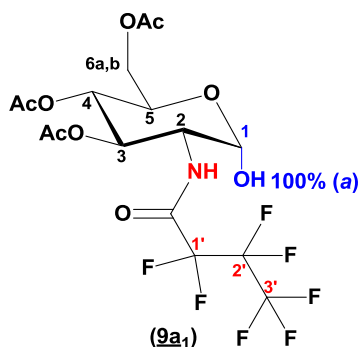
Rdt = 67 %, Aspect: cristaux blancs; R<sub>f</sub> = 0.30 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 9/1) ; F = 245-246 °C (Le produit brut a été recristallisé dans l'éther/méthanol);  $[\alpha]_D^{20}$ : + 0.5 (c = 1, CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H (300MHz, CDCl<sub>3</sub> et  $\delta$ ppm) : 8.04 (brs, 1H, J = 8.8 Hz, NH), 6.00 (d, 1H, J<sub>1-2</sub> = 3.7Hz,  $\alpha$ H-1), 5.28, (m, 2H, H-3), 4.90 (m, 2H, H-4), 4.78 (m, 1H, H-2), 4.23 (dd, J<sub>6a,b</sub> = 12.5 Hz, J<sub>6a,5</sub> = 3.9 Hz, 1H, H-6a), 4.40 (dd, J<sub>6b-a</sub> = 12.5 Hz, J<sub>6b-5</sub> = 2.5 Hz, 1H, H-6b), 4.37 (m, 1H, H-5), 2.00, 2.03, 2.17 (3s, 9H, 3x COCH<sub>3</sub>), 3.71 (s, 1H, OH-1), 1.92 (s, 3H, NCOCH<sub>3</sub>) ; RMN <sup>13</sup>C (200 MHz, CDCl<sub>3</sub> et  $\delta$ ppm): 169.9, 170.0, 170.7 (3xCsp<sup>2</sup>, CH<sub>3</sub>-C=O, 171.15 (C=O<sub>Ac</sub>), 90.7 ( $\alpha$ C-1), 70.7 (C-5), 69.8 (C-3), 67.6 (C-4), 61.6 (C-6), 51.1 (C-2), 20.7, 21.0, 21.2 (3xCH<sub>3</sub>Ac), 23.6 (NCOCH<sub>3</sub>) ; IR cm<sup>-1</sup> (KBr, v cm<sup>-1</sup>) : 1260 - 1350 cm<sup>-1</sup> (liaison O-H alcool secondaire), 3266 (NHC=O<sub>amide</sub>), 1754 (C=O<sub>Ac</sub>), 1229-1371 (C-C(O)-C); SM-HR : (ESI)<sup>+</sup> : calculée pour C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>9</sub>: 347[M + Na]<sup>+</sup> : 370.1732, Masse trouvée: 370.1745; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>9</sub>: C (48.41), H (6.09), N(4.03), Masse trouvée: C (49.01), H (6.08), N(4.10).



Masse moléculaire: 389 g/mol

**1-Hydroxy-3,4,6-tri-O-acétyl-2-N-allyloxycarbonyl-2-amino-2-déoxy- $\alpha$ -D-glucosamine (5a<sub>1</sub>)**

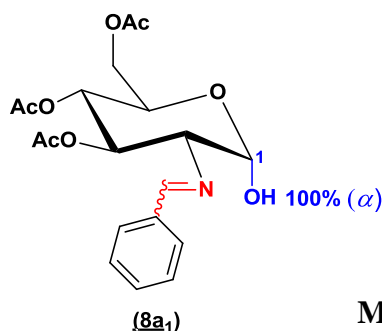
Rdt = 80% ; Aspect: cristaux blancs ;  $R_f$  = 0.42 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ : 9/1); F= 109 -110°C (Le produit brut a été recristallisé dans l'éther/méthanol) ;  $[\alpha]_D^{20}$  : +25.9 ( $c$  = 2.14,  $\text{CHCl}_3$ ) ; RMN  $^1\text{H}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm) : 5.87-5.76 (m, 1H,  $\text{HC}=\text{CH}_2$ ), 4.75-4.80 (d, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{}$ ), 5.22-5.24 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.56-5.0 (m, 1H, H-4), 8.01 (brs, 1H,  $J$ = 8.9 Hz, NH), 4.58-3.81 (m, 1H, H-6), 2.09, 2.08, 2.05 (3s, 9H,  $3\times\text{COCH}_3$ ), 6.15 (d, 1H,  $J_{1-2}$  = 3.9Hz,  $\alpha\text{H}$ -1), 4.37-3.58 (m, 1H, H-5), 5.25-5.30(dd, 1H, H-3), 4.78-4.89 (m, 1H, H-2), 4.02 (s, 1H, OH-1); RMN  $^{13}\text{C}$ : (200MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm) : 156.21( $\text{C}=\text{O}_{\text{Ally}}$ ), 133.99 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 116.83 ( $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 92.88 ( $\alpha\text{C}$ -1), 73.13(C-5), 72.98 (C-3), 69.08 (C-4), 62.37 (C-6), 55.50 (C-2), 64.90 ( $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 170.0, 170.30, 171.0 ( $3\times\text{COCH}_3\text{Ac}$ ), 20.90, 21.00, 21.00 ( $3\times\text{C}=\text{OCH}_3\text{Ac}$ ). 157.20 ( $\text{NHC}=\text{O}$ ); IR  $\text{cm}^{-1}$  (KBr,v  $\text{cm}^{-1}$ ) ; 1260 - 1350  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{OH}_{\text{alcool secondaire}}$ ), 3266 ( $\text{NHC}=\text{O}_{\text{amide}}$ ), 1754 ( $\text{C}=\text{O}_{\text{Ac}}$ ), 1529 ( $\text{C}=\text{C}$ ), 1299 ( $\text{C}-\text{C}(\text{O})-\text{C}$ ) ; MS (CI + ve)  $m/z$  389 à trouver 389 ( $\text{M} + \text{Na}$ )<sup>+</sup> a besoin 412 ; SM-HR : (ESI)<sup>+</sup> pour  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_{10}$  a besoin 389.1320 à trouver 389.1319 ; SM-HR : (ESI)<sup>+</sup>: calculée pour  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_{10}$ : 389 [ $\text{M} + \text{Na}$ ]<sup>+</sup> : 412.1325, Masse trouvée: 412.1375 ; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_{10}$ : C (49.36), H (5.95), N(4.03), Masse trouvée: C (49.42), H (5.94) , N(4.72).



Masse moléculaire: 501 g/mol

**1-Hydroxy-3,4,6-tri-O-acétyl-2-N-heptafluorobutylamino- $\alpha$ -D-glucosamine (9a<sub>1</sub>)**

Rdt = 77%; Aspect: cristaux blancs,  $R_f = 0.23$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ : 9/1);  $F = 178-180^\circ\text{C}$  (Le produit brut a été recristallisé dans l'éther/méthanol);  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+96^\circ$  ( $c = 1$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ); RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{MeOD-d}^4$ ,  $\delta$  ppm): 8.15 (brs, 1H,  $J = 8.14$  Hz, NH), 6.70 (d, 1H,  $J_{1-2} = 3.96$  Hz,  $\alpha\text{H-1}$ ), 4.45 (m, 1H, H-2), 5.53 (m, 1H, H-3), 4.90 (m, 1H, H-4), 4.32 (m, 1H, H-5), 4.45 - 4.09 (Abq,  $J_{6a-b} = 15$  Hz, H-6<sub>a-b</sub>), 2.00, 2.03, 2.06 (3s, 9H, 3x  $\text{COCH}_3$ ), 5.37 (s, 1H, OH-1); RMN  $^{13}\text{C}$  (200 MHz,  $\text{MeOD-d}^4$  et  $\delta$  ppm): 170.9, 171.6, 173.2 (3x  $\text{Csp}^2$ ,  $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$ ), 20.8, 20.9, 21.2 (3x  $\text{Csp}^3$ ,  $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$ ), 94.61 ( $\alpha\text{C-1}$ ), 75.80 (C-5), 73.50 (C-3), 72.75 (C-4), 62.90 (C-6), 59.54 (C-2), 156.20 (NH-C=O), 111.25 ( $\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$ ), 135.12 ( $\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$ ), 115.40 ( $\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$ ), 21.0 ( $\text{CH}_3\text{sp}^3\text{C}=\text{O}$ ); RMN  $^{19}\text{F}$  (300 MHz,  $\text{MeOD-d}^4$  RMN et  $\delta$  ppm): -81.814 (3F, 3'  $\text{CF}_3$ ), -122.300 (2F, 1'  $\text{CF}_2\text{CF}_2$ ), -127.900 (2F, 2'  $\text{CF}_2\text{CF}_3$ ); IR ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1260 - 1350  $\text{cm}^{-1}$  (OH alcool secondaire); 1569 (N-H), 1680 - 1630 (C=O amide), 1150-1110 (C-O-C), 1220-1020 (N-C), 1400-1100 (C-F), 1350 ( $\text{CF}_3$ ), 1120 ( $\text{CF}_2$ ), 1780-1740 (C=O Carbamate); SM-HR: (ESI) $^+$ : 524,6960 - 523,6440: ( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{F}_7\text{NO}_{10} + \text{Na}$ ) $^+$ , 502.0924-501.9991: ( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{F}_7\text{NO}_{10} + \text{H}$ ) $^+$ ; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{F}_7\text{NO}_{10}$ : C(38.33), H(3.62), F(26.53), N(2.79), Masse trouvée: C (38.40), H (3.66), F (26.44), N(2.82).



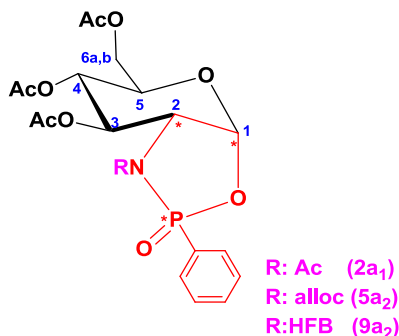
Masse moléculaire: 409g/mol

**(Z/E)-1-Hydroxy-3,4,6-tri-O-acétyl-2-[benzyliden(amino-2-déoxy)]-α-D-glucosamine (8a<sub>1</sub>)**

Rdt= 60% ; Aspect: cristaux blancs ;  $R_f = 0,3$  (EP/AcOEt : 8/2) ;  $F = 125-128^\circ\text{C}$  (Le produit brut a été recristallisé dans de l'EP/hexane : 8/2) ; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm) = 8.18 (s, 1H, N=CH), 7.29 - 7.70 (d, 5H, Ar-H), 5.55 (d, 1H,  $J_{1-2} = 4.01$  Hz,  $\alpha\text{H-1}$ ), 5.25 (t, 1H, H-3), 5.15 (t, 1H, H-4), 3.98 (ddd, 1H, H-5), 3.95 (dd, 1H, H-6<sub>b</sub>), 4.40 (dd, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.44 (m, 1H, H-2), 1.90, 2.00, 2.01 (3s, 9H, 3x  $\text{COCH}_3$ ), 4.27 (s, 1H, OH-1); RMN  $^{13}\text{C}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm): 169.0, 170.1, 170.9 (3x  $\text{Csp}^2$ ,  $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$ ), 20.8, 20.9, 21.2 (3x  $\text{Csp}^3$ ,  $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$ ), 163.9 (N=CH $_{\text{sp}^2}$ ), 128.9-140.2 (6x  $\text{Csp}^2_{\text{arom}}$ , Ar); 96.2 ( $\alpha\text{C-1}$ ), 73.4 (C-5), 73.1 (C-3), 70.9 (C-4), 68.2 (C-6), 55.6 (C-2), 20.7, 20.8, 21.0 (3x  $\text{Csp}^3$ ,  $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$ ); IR (KBr),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1350  $\text{cm}^{-1}$  (O-H alcool secondaire), 1050-1160 (C-OH) 1630-1675 (C=N $_{\text{imin}}$ ), 1550 (C=C $_{\text{Arom}}$ ), 2831- 3056 (C-H $_{\text{Arom}}$ ); 1229 (C-C(O)-C), 1735 (O-C=O); MS (CI + ve)  $m/z$  409 ( $\text{M} + 1^+$ , 100%); SM-HR (CI + ve) Calculée pour  $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_8$  ( $\text{MH}^+$ ) 409.2488. Masse

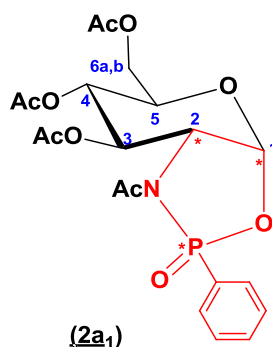
trouvée: 409.2478 ; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour  $C_{20}H_{27}NO_8$ : C(58.01), H(5.89), N(3.56), Masse trouvée: C (57.96), H (5.89), N(3.47).

#### IV.2.15. Synthèse d'oxazaphospholidin-2-one (2a<sub>1</sub>, 5a<sub>2</sub> et 9a<sub>2</sub>)



Dans un ballon tricol de 250 mL muni d'une entrée d'azote, d'un thermomètre, et d'une ampoule à brome, on a introduit goutte à goutte le composé (2a) ( $M = 347\text{g/mol}$ ,  $m = 1000\text{mg}$ ,  $n = 2.8818\text{mmol}$ ) dissout dans 20 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhydre et d'une solution de triéthylamine ( $M = 101.19\text{ g/mol}$ ,  $m = 583.22\text{mg}$ ,  $V = 0.80\text{ mL}$ ,  $n = 5.7636\text{mmol}$ , 2éq.) dissoute dans 40 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La réaction est menée à la température de 10 à 15°C pendant 5 minutes, ensuite on a ajouté goutte à goutte le dichlorophényle phosphonate (PPDC) ( $M = 194.98\text{g/mol}$ ,  $m = 618.092\text{mg}$ ,  $n = 3.16998\text{mmol}$ ,  $V = 0.449\text{mL}$ , 1.1éq.) dans 5 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Après 30min d'agitation, on a ajouté ensuite de DMAP ( $M = 122.17\text{ g/mol}$ ,  $5.7636\text{mmol}$ ,  $m = 704.14\text{mg}$ , 2éq.). Le milieu réactionnel est laissé pendant 24 heures à température ambiante, puis lavé avec (3x100mL) l'eau, (2x50mL) HCl (3M) et (2x50mL) NaOH (3M) est ajoutée jusqu'à un pH de 6,9. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée sous vide, le produit brut est purifié sur colonne de gel de silice (Eluant : ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$  : 2/8) puis recristallisé dans le mélange éther/hexane: 7 /3.

**Note :** La synthèse s'est déroulée sous atmosphère d'azote et sans trace d'eau. Le matériel utilisé a été préalablement mis à sécher à l'étuve.



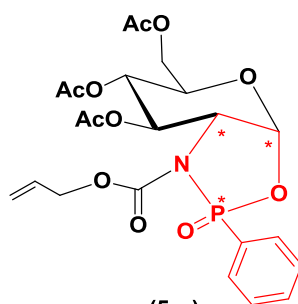
Masse moléculaire: 469g/mol

3,4,5-Tri-acétyl-2-phényl-6-( acétateméthyl)-hexahydro-pyrano[3,2-d]-1,3,2-oxazaphospholidin-2-one (2a<sub>1</sub>)



**Note :** On a utilisé le même protocole expérimental pour les deux autres composés : (**5a<sub>1</sub>**) ( $M = 431\text{g/mol}$ ,  $m = 2000\text{mg}$ ,  $n = 4.6400\text{ mmol}$ ), (**9a<sub>1</sub>**) ( $M = 431\text{g/mol}$ ,  $m = 2000\text{mg}$ ,  $n = 4.6400\text{ mmol}$ ).

Rdt : 45%; Aspect : cristaux blancs ;  $R_f = 0.66$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ : 8/2);  $F = 278\text{-}279^\circ\text{C}$ ; RMN  $^1\text{H}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm) : 5.15 (m, 2H, H-4), 5.28 (m, 2H, H-3), 4.23 (dd,  $J_{6a,b} = 12.5\text{ Hz}$ ,  $J_{6a,5} = 3.9\text{ Hz}$ , 1H, H-6a), 4.04 (dd,  $J_{6b-a} = 12.5\text{ Hz}$ ,  $J_{6b-5} = 2.5\text{ Hz}$ , 1H, H-6b), 4.15 (m, 1H, H-5), 5.90 (d, 1H,  $J_{1-2} = 4.0\text{Hz}$ , H-1), 4.37 (m, 1H,  $J_{1-2} = 4.0\text{Hz}$ ,  $J_{2-3} = 9.3\text{Hz}$ , H-2), 2.03, 2.02, 2.02 (3s, 9H, 3x  $\text{COCH}_3$ ), 1.92 (s, 3H,  $\text{NCOCH}_3$ ), 7.44-7.76 (m, 5H, ArH); RMN  $^{13}\text{C}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  ppm) : 169.1, 170.0, 170.7 (3x  $\text{Csp}^2$ ,  $\text{CH}_3\text{C=O}$ ), 172.0 ( $\text{NC=O}$ ), 133.5-136.9 (6x  $\text{Csp}^2_{\text{arom}}$ , Ar), 111.8 (C-1), 72.7 (C-5), 71.9 (C-3), 69.9 (C-4), 65.6 (C-6), 43.1 (C-2), 23.1 ( $\text{CH}_3\text{C=O}$ ), 20.6, 20.7, 21.0 (3x  $\text{Csp}^3$ ,  $\text{CH}_3\text{C=O}$ ); RMN  $^{31}\text{P}$  (121 MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm) : 35.26 ; IR (v,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 2958 (C-H) ; 1755 (C=O) ; 1752 (Ar); 1366 (C-N) ; 1173 (P=O) ; 1049 (P-O) ; 1200-1275 (N-P=O<sub>Phosphonamide</sub>) ; SM-HR : (ESI)<sup>+</sup>: calculée pour  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{NO}_{10}\text{P}$ : 469,456 [ $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{NO}_{10}\text{P} + \text{Na}$ ]<sup>+</sup> : 592.1025, Masse trouvée : 593.1055; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{NO}_{10}\text{P}$ : C(51.18), H(5.15), N(2.98), P(6.60), Masse trouvée: C (51.20), H (5.15), N(3.01), P(6.76).



$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{NO}_{11}\text{P}$

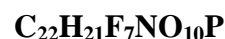
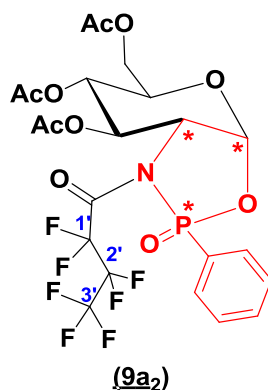
Masse moléculaire: 511g/mol

**3-N-Allyloxycarbonyl-3-amino-3-déoxy-4,5-diacétyl-2-phenyl-6-(acétateméthyl)-hexahydro-pyrano[3,2-d]-1,3,2-oxazaphospholidin-2-one (**5a<sub>1</sub>**)**

Rdt = 60%; Aspect : cristaux blancs ;  $R_f = 0.56$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$ : 8/2);  $F = 123\text{-}125^\circ\text{C}$  (Le produit brut a été recristallisé dans l'éther/hexane: 7/3);  $[\alpha]_D^{20} = + 58.9$  ( $c = 0.6$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) ; RMN  $^1\text{H}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm) : 5.95 (d, 1H,  $J_{1-2} = 3.8\text{Hz}$ , H-1), 4.76 (m, 1H,  $J_{1-2} = 3.8\text{Hz}$ ,  $J_{2-3} = 8.9\text{ Hz}$  H-2), 4.9-5.30 (d, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH=}$ ), 5.28, 5.33 (m, 1H, H-3), 4.96 (m, 1H, H-4), 4.88 (m, 1H, H-5), 3.99 - 4.58 (m, 1H, H-6), 2.09, 2.12, 2.19 (3s, 9H, 3x  $\text{COCH}_3$ ), 5.76 - 5.87 (m, 1H,  $\text{OCH}_2\text{CH=CH}_2$ ), 5.12-5.25 (d, 1H,  $\text{CH=CH}_2$ ), 7.33-7.36 (m, 5H, ArH); RMN  $^{13}\text{C}$ : (200MHz,  $\text{CDCl}_3$  et  $\delta$  ppm): 156.37 (C=O<sub>alloc</sub>), 133.87 ( $\text{OCH}_2\text{CH=CH}_2$ ), 117.11 ( $\text{OCH}_2\text{CH=CH}_2$ ), 90.96 (C-1), 71.33 (C-5), 70.25 (C-3), 62.24 (C-6), 53.48 (C-2), 68.90 (C-4), 65.73 ( $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ), 168.9, 170.0, 170.2 (3x  $\text{Csp}^2$ ,  $\text{CH}_3\text{C=O}$ ),



127.5-138.0 (6xCsp<sup>2</sup><sub>arom</sub>, Ar), 20.1, 20.1, 21.0 (3xCsp<sup>3</sup>, CH<sub>3</sub>C=O) ; RMN <sup>31</sup>P (121 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm) : 36.01 ; IR cm<sup>-1</sup> (KBr, ν cm<sup>-1</sup>) ; 1754 (O-C=O), 1529 (C=C<sub>Ally</sub>), 1371-1229 (C-C(O)-C), 1450-1680 (C=C<sub>Ar</sub>) ; 1366 (C-N) ; 1173 (P=O) ; 1049 (P-O) ; 1200-1275 (N-P=O<sub>Phosphonamide</sub>) ; SM-HR : (ESI)<sup>+</sup> : calculée pour C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>11</sub>P : 511 [M+Na]<sup>+</sup> : 534.1125, Masse trouvée: 534.1155; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>11</sub>P: C(51.67), H(5.12), N(2.74), P(6.06), Masse trouvée: C (51.82), H (5.10), N(2.35), P(6.00).



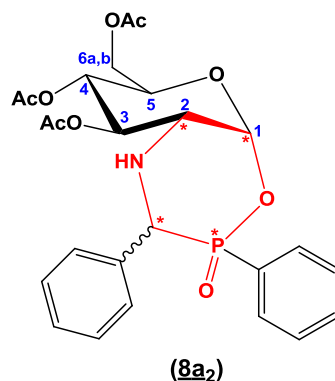
Masse moléculaire: 623g/mol

**3-*N*-Heptafluorobutylamino-4,5-diacétyl-2-phenyl -6-(acétateméthyl)-hexahydro-pyrano[3,2-*d*]-1,3,2-oxazaphospholidin-2-one (9a<sub>2</sub>)**

Rdt = 72% ; Aspect : Aiguilles incolore; R<sub>f</sub> : 0.62 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: AcOEt8: 2); Aspect : Crystal (aiguilles incolore) ; F = 162 - 164°C (Le produit brut a été recristallisé dans l'éther/hexane: 7/3) ; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, MeOD-*d*<sup>4</sup> et δ ppm): 5.89 (d, 1H, *J* = 3.6Hz, H-1), 4.88 (m, 1H, *J* = 3.6Hz, *J*<sub>2-3</sub> = 9.0Hz, H-2), 5.0-5.28 (m, 1H, H-3), 5.0- 4.95 (m, 1H, H-4), 4.10 - 4.44 (m, 1H, H-5), 4.78-5.2 (Abq, 2H, , *J*<sub>6a-6b</sub>=15Hz, H-6<sub>a-b</sub>), 7.0-7.30 (m, 5H, ArH), 2.01, 2.02, 2.05 (3s, 9H, 3xCOCH<sub>3</sub>) ; RMN <sup>13</sup>C (200 MHz, MeOD-*d*<sup>4</sup>, δ ppm): 170.2 - 171.90 (3xC sp<sup>2</sup>, (CH<sub>3</sub>C=O), 20.1, 20.3 - 21.0 (3Csp<sup>3</sup>, CH<sub>3</sub>C=O), 100.9 (C-1), 73.30 (C-5), 72.96 (C-3), 70.90 (C-4), 65.50 (C-6), 43.20 (C-2), 174.00 (NC=Osp<sup>2</sup>), 115.80 (OCF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>), 109.00, (OCF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>), 117.50 (OCF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>), 169.9, 170.0, 170.9 (C=O sp<sup>2</sup>, 3xAc), 123.5-139.0 (6xCsp<sup>2</sup><sub>arom</sub>, Ar); RMN <sup>19</sup>F (300MHz, MeOD-*d*<sup>4</sup>et δ ppm): -82.988 (3F, 3'CF<sub>3</sub>), -124.602 (2F, 1'CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>), -126.530 (2F, 2'CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>); RMN <sup>31</sup>P (121 MHz, CDCl<sub>3</sub> et δ ppm) : 40.0 ; IR (ν, cm<sup>-1</sup>): 3310 (N-H), 1748 (C=O<sub>Ac</sub>), 1729 (C=O<sub>HFB</sub>), 1554 (C-N), 1150-1110 (C-O-C), 1400-1100 (C-F), 1200-1275 (N-P=O<sub>Phosphonamide</sub>); SM-HR : (ESI)<sup>+</sup> : 5253.8950-526.990: (C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>F<sub>7</sub>NO<sub>10</sub>P + 2H)<sup>+</sup>, 546.9124 -546.5824: (C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>F<sub>7</sub>NO<sub>10</sub>P + Na)<sup>+</sup>. Calculée pour C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>F<sub>7</sub>NO<sub>10</sub>P: C(42.39), H(3.40), F(21.33), N(2.25), P(4.97), Masse trouvée: C (42.44), H (3.40), F(21.46), N(2.75), P(5.00).

IV.2.16. Synthèse d'oxazaphosphinane (**8a<sub>2</sub>**)

Une réaction de condensation par dichlorophénylphosphine, suivie par cyclisation intramoléculaire de (**8a<sub>1</sub>**) pour former le dérivé bicycliques 1,4,2-oxazaphosphinane (**8a<sub>2</sub>**)



Masse moléculaire: 517g/mol

**4,5-Diacétyl-2,3-diphenyl -7-(acétateméthyl)- octahydropyrano[3,2-*e*]-1,4,2-oxazaphosphinine**  
**(8a<sub>2</sub>)**

À une solution du composé (**8a<sub>1</sub>**) (M= 409g/mol, m=1500mg, n= 3,66mmol, 1éq.)) et triéthylamine (M = 101,19 g/mol, m = 370mg, V =0.50 mL, n = 3,66mmol, 1éq.) dans le THF anhydre (15 mL), est ajouté du dichlorophénylphosphine (M = 178,98g/mol, m = 656.405mg, V = 0.497mL, n = 3.6674 mmol, 1éq.) (M = 194,98g/mol, m = 650mg, V = 0.472mL, n = 3.66 mmol, 1éq.) dissoute dans THF anhydre (20 mL) goutte à goutte. Le mélange réactionnel est agité sous atmosphère d'azote pendant 30 minutes à 0°C, et on a ajouté ensuite la DMAP (M = 122.17 g/mol, 7.3349mmol, m = 448.056mg, 2éq.) dissoute dans THF anhydre (30 mL). Après 30min d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel a été agité encore 1 h et traité avec de l'eau (2mL). La réaction est ensuite suivie par CCM (toluène/hexane : 2/1) jusqu'à disparition complète du produit de départ. Après 16 h, un précipité formé est filtré et lavé au THF (3 mL) et le filtrat est concentré sous vide, le résidu huileux jaune pâle obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant toluène/hexane : 2/1, puis toluène), suivie d'une recristallisation dans un mélange Et<sub>2</sub>O/ EP: 1/1 pour donner le composé **8a<sub>2</sub>** pur sous la forme de cristaux blancs avec un rendement de 60% (m = 1137.65mg) ; Aspect : cristaux blancs ; R<sub>f</sub> = 0,5 (toluène /hexane: 2/1); F = 216–218 °C ; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup> et δ ppm): 5.19 (dd, 1 H, J<sub>H-2</sub>, \*C<sub>H</sub>Ph = 9.2 Hz, \*C<sub>H</sub>Ph), 6.40 (d, 1 H, J<sub>1,2</sub> = 3.6 Hz, H-1), 7.98 (brs, 1H, J = 9.0Hz, NH), 4.77(dd, 1 H, J<sub>1,2</sub> = 8.8 Hz, J<sub>2-3</sub> = 10 Hz, H-2), 5.68 (dd, 1 H, J<sub>2-3</sub> = 10 Hz, J<sub>3-4</sub> = 9.2 Hz, H-3), 5.23 (dd, 1 H, J<sub>3-4</sub> = 9.2 Hz, J<sub>4,5</sub> = 10 Hz, H-4), 4.25 (dd, 1 H, J<sub>5-6</sub> = 4.8 Hz, H-6), 3.86 (m, 1H, J<sub>5-6a</sub> = 4.4Hz, J<sub>5-6b</sub> = 2.4 Hz, H-5), 1.99, 2.02, 2.21 (3s, 9H, 3xCOCH<sub>3</sub>), 6.86-7.06 (m, 4H, ArH\*<sub>C</sub>), 7.38-7.80 (m, 5H, ArH<sub>P=O</sub>); RM N <sup>13</sup>C (200 MHz, DMSO-*d*<sup>6</sup> et δ ppm) : 108.9 (C-1), 72.00 (C-5), 71.8 (C-3), 69.35 (C-4), 63.35 (C-6), 58.9 (C-2), 126.5-133.2 (6xCsp<sup>2</sup><sub>arom</sub>,

Ar<sub>C</sub>\*), 129.7-137.9 (6xCsp<sup>2</sup><sub>arom</sub>, Ar<sub>P=O</sub>), 170.2, 170.9, 171.0 (C=Osp<sup>2</sup>, 3xAc), 54.9 (\*CHPh), 20.9, 21.5 - 21.9 (3Csp<sup>3</sup>, CH<sub>3</sub>C=O); RMN <sup>31</sup>P (121 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ ppm): 34,98; IR cm<sup>-1</sup> (KBr, ν cm<sup>-1</sup>): 3299 (NH), 1352 (C-N), 1225 (P=O), 1300-1240 (C-C(O)-C), 1650-1777 (Ar); 1356 (C-N); 1198-1221 (P=O); 1166-937 (P-O-C); MS, *m/z* (*I*<sub>rel</sub> (%): 517 (100.0%) [M]<sup>+</sup>, 393 [M - P(O)C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>, 427[C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH]<sup>+</sup>; Analyses élémentaires (AE): Calculée pour C<sub>25</sub>H<sub>28</sub>NO<sub>9</sub>P: C (58.03), H (5.45), N(2.71), P (5.99), Masse trouvée: C (59.00), H (5.20), N(3.01), P(5.95).

#### IV. 3. Formation des complexes d'inclusion et étude de la solubilité des séries de β-D-glucosamine modifiée

La préparation du complexe d'inclusion entre la β-CD et les dérivés de la β-D-glucosamine modifiée (invité) avec le coefficient stœchiométrie (1/1), a été réalisée par trois méthodes. Formation du complexe d'inclusion par lyophilisation, à une solution aqueuse de β-CD (M = 1135 g/mol, m = 520mg, n = 0.45mmol) (15μM), une quantité d'invité correspondant à un rapport molaire (1/1) est ajoutée. Les mélanges sont agités à 150 rpm à 25 °C pendant 24 h puis filtrés sur une membrane de cellulose. Les filtrats sont congelés puis lyophilisés à -85 °C à 0 Pa à l'aide d'un lyophilisateur. Formation du complexe d'inclusion par l'irradiation via micro-onde et l'activation par les ultrasons. Une quantité de mélange éthanol/ eau (9/1) est ajoutée à une quantité de β-CD (M = 1135 g/mol, m = 520mg, n = 0.45mmol) (15μM) et une quantité d'invité correspondant à un rapport molaire (1/1), le produit brut est purifié par cristallisation dans le mélange 1/1 de AcOEt : Ether de pétrole, le mélange est laissé à l'air libre, jusqu'à l'apparition d'un précipité, ce dernier est filtré, puis séché sous vide, le produit est récupéré sous forme d'une poudre blanche.

#### Mélange Physique

Un mélange physique entre les dérivés et la β-CD est préparé simplement par trituration mécanique<sup>11</sup>.

Les mélanges physiques sont préparés on mélangeant simplement la β-CD (M = 1135 g/mol, m = 520mg, n = 0.45mmol) (15μM) et l'invité à l'aide d'une spatule au même rapport molaire.

<sup>11</sup> . P-S. Mohanachandran, P-G. Sindhumol, T-S. Kiran. *An Overview, Int. J. Comp. Pharm.* **2010**, 4 (11), 1 – 10.

---

*Conclusion Générale*  
*&*  
*Perspectives*

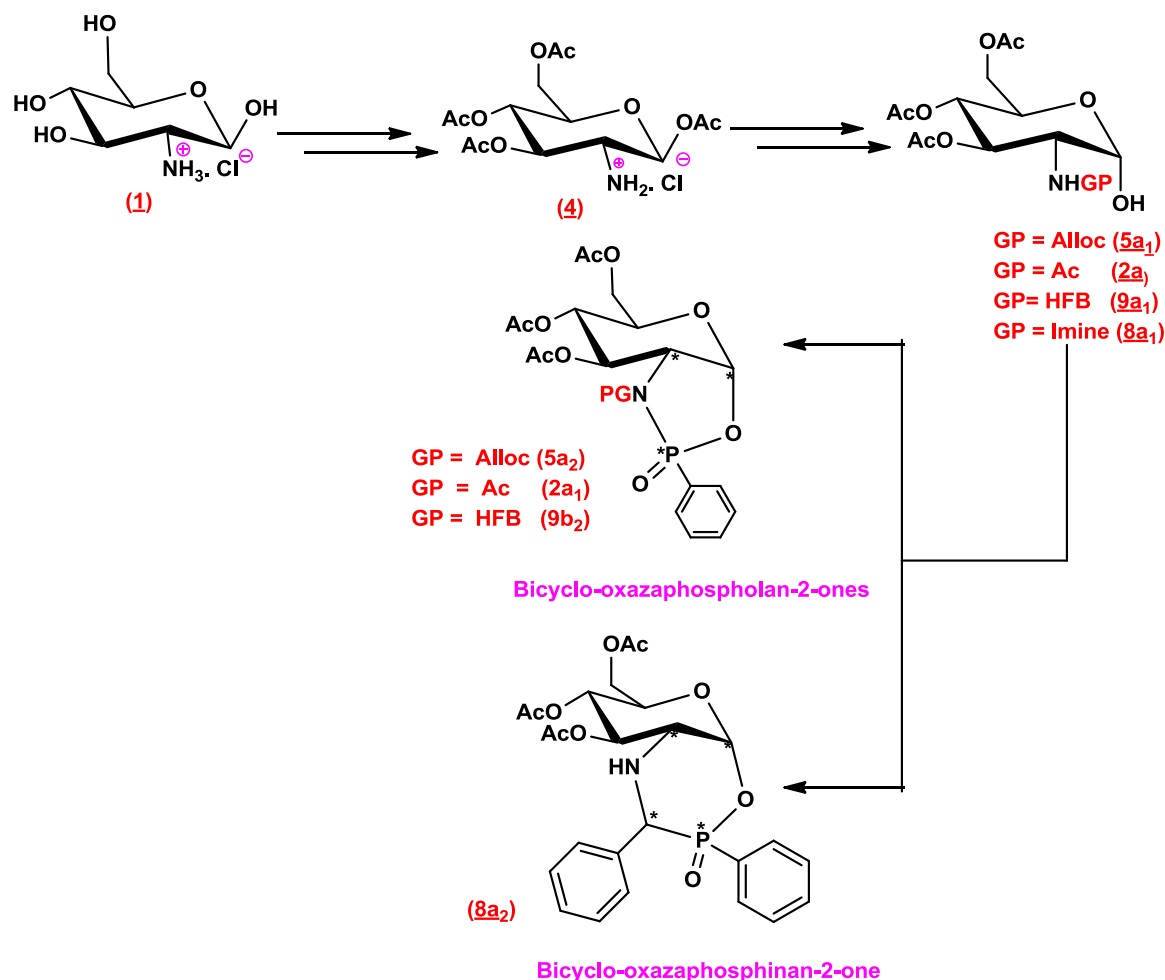
---

Le travail présenté dans cette thèse a pour objectif la synthèse de nouveaux hétérocycles phosphorylés à cinq et six chaînons à partir de  $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrates. L'insertion du motif phosphoryle permet l'accès aux hétérocycles phosphorylés qui peuvent présenter des propriétés biologiques, chimiques et pharmaceutiques intéressantes. La réactivité des hétérocycles phosphorylés apparaît dans leurs différentes utilisations et leurs réactivités pour essayer de mettre en évidence une relation structure-activité. Il paraît évident que la présence du motif phosphonate dans différentes molécules génèrent des activités biologiques diverses et très intéressantes. Afin d'atteindre cet objectif, nous sommes passés par plusieurs étapes.

Dans un premier temps, nous avons donc mis au point une déprotection régiosélective efficace du 1,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-2-amino- $\beta$ -D-glucosamine chlorhydrate (**4**) sous trois modes d'activations (ZnBr<sub>2</sub>, Microondes et Ultrasons). Le but de cette déprotection est de remplacer les groupements Ac et Boc par un autre groupement protecteur tel que (Alloc, Cbz, PNz, Troc et HFB) et l'étude de leurs réactivités, et c'est le but de la deuxième étape.

Nous sommes intéressés aussi à la formation des carbamates afin d'étudier la réactivité de la fonction amine primaire, des meilleurs rendements ont été obtenus dans toutes les réactions élaborés. Par conséquent, il est important d'un point de vue stratégique de ne pas négliger les effets électroniques dans l'optique d'activer les réactions de carbamation. Les conditions réactionnelles favorisent les formations des dérivés carbamates qui sont sensibles à la chaleur (décomposition), aux milieux acides (protonation) et/ou milieux réactionnels aqueux (hydrolyse), dans ce cas nous avons utilisé le milieu basique à température ambiante et les conditions réactionnelles anhydre. Ensuite nous avons passé à l'étude de la réactivité de la fonction amine, nous nous sommes intéressés à la synthèse et à l'optimisation des conditions opératoires des dérivés d'azométhin- $\beta$ -D-glucosamines, cela se fait par la condensation d'un aldéhyde choisis en présence de 20 % de NaOH (catalyseur) dans le THF comme solvant et en présence d'un tamis moléculaire. Dans cette stratégie, nous avons également cherché un moyen pour synthétiser et pour améliorer les conditions opératoires pour avoir accès aux azométhines à base de *D*-glucosamine avec des excellents rendements. En parallèle, nous avons étudié la réaction de substitution nucléophile (S<sub>N</sub>2) sur la position anomérique du *D*-glucosamine modifiée, par l'application d'une nouvelle voie dans des conditions douces, cette nouvelle méthodologie a donné les dérivés (**9b**, **2b**, **5b**, **5c** et **7a**) avec de bons rendements et une excellente sélectivité. En effet, ces dérivés ne sont pas mentionnés dans la littérature. D'après cette dernière stratégie, nous avons développé un mode d'accès aux bicyclo-oxazaphospholidin-2-ones (**2a<sub>1</sub>**, **5a<sub>2</sub>** et **9a<sub>2</sub>**) et au bicyclo-oxazaphosphinan-2-one chiral (**8a<sub>2</sub>**) à base de *D*-glucosamine modifiée, qui peut être avoir une grande importance dans les domaines de recherches scientifiques, ce qui permis également d'élargir la famille

de phosphino aminosucre, pour l'étude de la relation structure-activité, ces quatre dérivés sont décrits pour la première fois (*Schéma*).



**Schéma. Synthèse des dérivés bicyclo-oxazaphospholan-2-ones et bicyclo-oxazaphosphinan-2-one à base de la β-D-glucosamine modifiée**

Dans un deuxième temps, la recherche de nouveaux agents bioactifs orientés vers de nouvelles cibles est devenue un inévitable. Évaluation incluant les propriétés moléculaires telles que la biodisponibilité. L'application de la règle de Lipinski nous permettra de nous renseigner sur les propriétés pharmacocinétiques : Absorption, Distribution, Métabolisation et Elimination des composés proposés. De bons scores de druglikeness et de bioactivité indiquaient en outre le potentiel probable de ces composés en tant que futurs médicaments. La présence des deux échafaudages pharmacophoriques, substitutions aux niveau de l'amine (carbamates et/ou imine) et/ou la substitution sur la position anomérique et/ou hétérocycle phosphoryle de type (1,3,2-oxazaphospholidin-2-one à base de D-glucosamine), a influencé les bons scores bioactifs. Les composés (**2b**, **5a**, **8a<sub>1</sub>** et **5a<sub>2</sub>**) avec des substituants donateurs d'électrons ont montré des scores positifs en tant qu'inhibiteur de protéase et inhibiteur d'enzyme. Les résultats montrent que ces dérivés proposés se présentent comme des

inhibiteurs puissants de l'enzyme protéolytique. En conclut que la règle de Lipinski ouvre aux scientifiques une nouvelle voie permettant d'explorer les relations structure-fonction des substances avant le test.

Dans un troisième temps, nous avons testé l'activité biologique de dérivés proposés (**2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **7**, **6**, **7a**, **9b**, **6a** et **8a**), il sera idéal d'étudier leurs solubilités/stabilités et tester leurs activités biologiques *in vitro*, en vue de valider les résultats théoriques. Les travaux réalisés dans cette étape ont apporté des résultats encourageants sur l'intérêt de  $\beta$ -CD dans les formulations médicamenteuses des dérivés proposés. Le choix de ces dérivés (**2b**, **5a**, **5b**, **5c**, **7**, **6**, **7a**, **9b**, **6a** et **8a**) a été guidé par leur homologie structurale. Dans cette étape nous avons distingué deux phases, premièrement la phase de caractérisation physico-chimique des complexes d'inclusion, nous a montré que la  $\beta$ -CD est capable d'encapsuler les dix dérivés étudiés en solution et à l'état solide. Pour chaque complexe d'inclusion, les paramètres suivants ont été déterminés : constante de stabilité, la phase de solubilité et l'efficacité d'encapsulation (EE%), spectre IR, RMN  $^1\text{H}$  et  $^{19}\text{F}$  et UV-visible. Ces études ont permis d'établir l'existence de complexes d'inclusion stables de stoechiométrie 1/1. Cela prouve que l'inclusion en  $\beta$ -CD dans le milieu neutre apparaît comme une formulation prometteuse pour les molécules instables et ouvre nombreuses questions, lesquelles nous allons continuer nos recherches pour trouver les bonnes réponses et dans un autre côté, nous formerons le complexe d'inclusion par d'autres agents complexants pour étudier l'effet de la complexation sur ces dérivés.

Dans la deuxième phase de cette étude, nous avons évalué, *in vitro*, l'influence de l'encapsulation par la  $\beta$ -CD sur les activités antioxydantes, et antibactériennes des dérivés. Les résultats ont montré que la  $\beta$ -CD conserve ou même améliore les propriétés étudiées des dérivés proposés.

Dans l'ensemble, les résultats de l'étude approfondissent et renforcent nos connaissances sur les systèmes d'encapsulation moléculaires utilisant la  $\beta$ -CD en contribuant à élargir l'utilisation de dérivés proposés et leurs complexes d'inclusion dans des formulations pharmaceutiques pour limiter leurs altérations par l'oxydation et inhiber la croissance des bactériens.

À la lumière des résultats obtenus durant notre étude, la possibilité de la présence d'autres activités biologiques et/ou thérapeutiques pour les autres dérivés et leurs complexes d'inclusion, peut être étudiée dans éventuelles recherches.

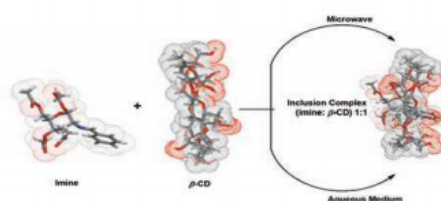
## Preparation, Characterization, and Biological Study of a New Inclusion Complex of 1,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-2-deoxy-2-[benzyliden(amino)]- $\beta$ -*D*-glucosamine and $\beta$ -Cyclodextrin

H. Bouleghlem<sup>1\*</sup>, N. E. Aouf<sup>1</sup>, S. Zidane<sup>1</sup>, H. Cherifi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Organic Chemistry Laboratory Applied, Group of Chemistry Bioorganic, Faculty of Science, Department of Chemistry, Badji Mokhtar University, Annaba, 23000, Algeria

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science, Mohamed Boudiaf University, M'sila, 28000, Algeria

**ABSTRACT** In this study, an inclusion complex based on  $\beta$ -Cyclodextrin (CD) and 1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-2-deoxy-2-[benzyliden(amino)]- $\beta$ -*D*-glucosamine (imine) were prepared in order to modify imine's solubility and improved its stability. The inclusion complex was obtained by equimolar quantity 1:1 under microwave irradiation and characterized by X-ray diffraction and melting point. The effect of pH on the formation of the inclusion complex in aqueous medium buffered at 25°C was examined. Spectrophotometric measurements were carried out to visualize the interaction between imine and  $\beta$ -CD in the complex in the liquid state. The results obtained showed that the complexation was favored in a neutral medium (pH = 6.9). The stoichiometric ratio 1:1 of the complex was confirmed by the  $A_L$  solubility diagram according to the Higuchi and Connors method, and the stability constant is  $K_s = 583.38 \text{ M}^{-1}$  at 25°C, which proves a good capacity of complexation in the neutral medium. The biological activity of free imine and complex was examined against different pH.



**KEYWORDS** Azomethine-*O*-acetyl- $\beta$ -*D*-glucosamine,  $\beta$ -Cyclodextrin, Biological activity, Inclusion complex, Solubility, Stability.



**Résumé :** Ce projet de thèse s'articule autour de plusieurs axes dans le domaine de la synthèse des nouveaux composés bioactives, dans un premier temps, nous avons étudié la réaction de déprotection régiosélective pour l'obtention du dérivé (4) qui est utilisé comme précurseur pour la synthèse de composés potentiellement actifs (carbamates et/ou imines), nous avons ensuite étudié la réactivité du carbone anomérique C-1 de ces derniers par la déprotection sélective et ensuite par l'hydrolyse pour régénérer l'alcool à la position  $\alpha$ . Dans la dernière étape, nous avons employé les conditions de la condensation de Wang et l'étude d'addition de DMAP de Ferry pour l'obtention des bicyclique phosphorylés avec une excellente diastéréosélectivité. Les rendements sont bons dans la plupart des cas. Tous les composés synthétisés ont été identifiés par les méthodes spectroscopiques usuelles (RMN, IR, SM et UV- Visible), et pour certains d'entre eux des analyses complémentaires ont été effectuées (analyses élémentaires).

En revanche et d'après l'évaluation de la règle de Lipinski qui nous renseigne de manière positive sur les propriétés pharmacocinétiques (ADME) et bioactives, nous avons étudié la solubilité des dérivés (2b, 5a, 5b, 5c, 7, 6, 7a, 9b et 6a) et la stabilité du dérivé (8a) dans les milieux aqueux à différents pH (4.0, 6.9 et 8.5) par la formation d'un complexe d'inclusion à base de la  $\beta$ -CD ( $\beta$ -CD: dérivés) avec un rapport molaire 1/1. Les résultats montrent que la  $\beta$ -CD est capable d'encapsuler les dérivés étudiés, augmenter leurs solubilités et améliorer leurs stabilités. L'étude de l'activité biologique suggère que les complexes d'inclusion formés peuvent être considérés comme outils prometteurs pour l'optimisation des formulations pharmaceutiques car l'encapsulation a conservé les propriétés antibactériennes et antioxydantes des dérivés.

**Mots clés:** Activité biologique, Bioactive, Carbone anomérique,  $\beta$ -CD, Complexes d'inclusion, D-glucosamine, Déprotection, diastéréosélectivité, Hétérocycles phosphorylés, Règle de Lipinski, Substitution nucléophile.

**Abstract:** This thesis project revolves around several axes in the field of the synthesis of the new original bioactive compounds. Firstly, we studied the regioselective deprotection reaction to obtain derivative (4) which is used as a precursor for the synthesis of potentially active compounds (carbamates and / or imines), we then studied the reactivity of the anomeric carbon C-1 of the latter by selective deprotection and then by hydrolysis to regenerate the alcohol at the  $\alpha$  position. In the last step, we used Wang's condensation conditions and Ferry's DMAP addition study to obtain the phosphorylated bicyclics with excellent diastereoselectivity. Yields are good in most cases. All the compounds synthesized were identified by the usual spectroscopic methods (NMR, IR, MS and UV-Visible), and for some of them additional analyzes were carried out (elemental analysis).

On the other hand and after evaluating Lipinski's rule which gives us positive information on the pharmacokinetic (ADME) and bioactive properties, we studied the solubility of the derivatives (2b, 5a, 5b, 5c, 7, 6, 7a, 9b and 6a) and the stability of the derivative (8a) in aqueous media at different pH (4.0, 6.9 and 8.5) by the formation of an inclusion complex based on  $\beta$ -CD ( $\beta$ -CD : derivatives) with a molar ratio 1/1. The results show that  $\beta$ -CD is able to encapsulate the studied derivatives, increase their solubility's and improve their stabilities. The study of the biological activity suggests that the inclusion complexes formed can be considered as promising tools for the optimization of pharmaceutical formulations because the encapsulation has retained the antibacterial and antioxidant properties of the derivatives.

**Keywords:** Anomeric carbon, Biological activity, Bioactives, Bioavailability,  $\beta$ -CD, Inclusion complexes, D-glucosamine, Deprotection, Diastereoselectivity, Phosphoryl heterocycles Lipinski's rule, Nucleophilic substitution.

**ملخص:** مشروع الأطروحة يدور حول عدة محاور في مجال تطور صناعة مركبات جديدة انطلاقاً من د-الجلوكوزامين ذو فعالية بيولوجية ودوائية. أولاً ، درسنا تفاعل نزع الحماية الانتقائية للحصول على المشتق (4) الذي يستخدم كمركب طليعي لتكوين المركبات النشطة و الفعالة (الكربامات و/أو الإيمينات) ، قمنا بعد ذلك بدراسة تفاعلية الكربون الأنوميري C-1 لهذه المركبات الأخيرة عن طريق نزع الحماية الانتقائية والتتبع بالتحليل المائي للحصول على الرابطة الكحولية في الموضع  $\alpha$ . في الخطوة الأخيرة ، استخدمنا طريقة تكثيف وانغ ودراسة إضافة (DMAP) بطريقة فيري للحصول على الحلقات الثنائية الفسفورية ذات الانتقائية الانبساطية الممتازة. لقد حصلنا على مردود جيد في معظم الحالات. تم معاينة جميع المركبات المحضرة بالطرق الطيفية المعتادة (الرنين المغناطيسي النووي والأشعة تحت الحمراء ومطيافية الكتلة والأشعة فوق البنفسجية المرئية) ، وفي بعض الحالات تم إجراء تحليلات إضافية مثل (التحليل العنصري).

من ناحية أخرى ، ووفقاً لتقييم قاعدة ليبينسكي التي تعطينا معلومات إيجابية عن الحركية الدوائية (التحرر، الامتصاص، التوزيع، الاستقلاب، الإفراز) (ADME) والخصائص النشطة بيولوجياً ، درسنا قابلية ذوبان المشتقات (2b, 5a, 5b, 5c, 7, 6, 7a و 9b و 6a) واستقرارية المشتق (8a) في وسط مائي عند درجة حموضة مختلفة (4.0 ، 6.9 و 8.5) عن طريق تحضير معقد تضمين يعتمد على  $\beta$ -دكستريز حلقي ( $\beta$ -CD/المشتقات) بمولارية 1/1. أظهرت النتائج أن  $\beta$ -دكستريز حلقي قادر على تضمين المشتقات المدروسة وزيادة قابليتها للذوبان وتحسين ثباتها. وتشير دراسة النشاط البيولوجي إلى أن معقدات التضمين المتكونة يمكن اعتبارها تقنية ناجحة لتحسين المستحضرات الصيدلانية لأن التغليف قد احتفظ بالخصائص المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة للمشتقات.

**الكلمات المفتاحية:** الكربون الأنوميري، النشاط البيولوجي، النشاط الحيوي، التوافر الحيوي،  $\beta$ -دكستريز حلقي، معقد التضمين، د-الجلوكوزامين، نزع الحماية، الانتقائية الانبساطية، الفوسفوريل الحلقي، قاعدة ليبينسكي، استبدال نوكلئوفيلي