جامعة سيدي محمد بن عبد الله بفاس
UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDALLAH DE FES
كلية العلوم ظهر المهراز فاس
FACULTE DES SCIENCES DHAR EL MEHRAZ FES

N° d'Ordre : **11 /2020**

Formation Doctorale : Molécules Bioactives, Santé et Biotechnologie (MBSB)

Discipline : Chimie

Spécialité : Chimie Organique

Laboratoire : Laboratoire de Chimie Organique (LCO)

THESE DE DOCTORAT

Présentée par

KARAI Oumaima

Nouveaux composés dérivés d'α,α-diamino-diesters carboxyliques hétérocycliques et non hétérocycliques : synthèse, caractérisation, études structurales et évaluation des activités antibactérienne et antioxydante

Soutenue le14/02/2020 devant le jury composé de :

Pr. Mustapha IJJAALI	***Faculté des Sciences et Techniques, Fès***	***Président***
Pr. Mostafa El GHOUL	***Faculté des Sciences, Rabat***	***Rapporteur***
Pr. Farhate GUENOUN	***Faculté des Sciences, Meknès***	***Rapporteur***
Pr. Mohammed LACHKAR	***Faculté des Sciences Dhar El Marhaz, Fès***	***Rapporteur***
Pr. Mohamed EL YAZIDI	***Faculté des Sciences Dhar El Marhaz, Fès***	***Examinateur***
Pr. Abdelilah EL HALLAOUI	***Faculté des Sciences Dhar El Marhaz, Fès***	**Membre invité**
Dr. Mohammed BOUKSAIM	***Institut National de la recherche Agronomique, Rabat***	**Membre invité**
Pr. Anouar ALAMI	***Faculté des Sciences Dhar El Marhaz***	**Directeur de thèse**
Pr. Hassane FARAJ	***Faculté des Sciences Dhar El Marhaz***	**Co-Directeur de thèse**

Année universitaire 2019-2020

DÉDICACES

Je dédie ce travail

A mes parents si chers et précieux

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point vous remercier comme il se doit. Votre affection me couvre, votre bienveillance me guide et votre présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A ma chère sœur et mes chers frères et leurs petites familles,

Source de joie et de bonheur.

A mes chers professeurs En termes de ma profonde gratitude et de respect que je porte pour vous.

A tous mes amis, tout particulièrement Maha chère amie et sœur avant d'être cousine.

A tous ceux qui me sont chers au monde.

A vous cher lecteur.

REMERCIEMENTS

L'aboutissement de ces six ans de thèse et l'achèvement de ce travail personnel marque enfin l'occasion de remercier comme il se doit les personnes qui m'ont permis d'atteindre mon objectif et de leur exprimer mes profonds remerciements.

J'exprime ma profonde gratitude et reconnaissance à mes Directeurs de thèse, le professeur **ALAMI Anouar** et le professeur **FARAJ Hassane**, pour m'avoir intégré au sein de leurs équipes, de m'avoir guidée et soutenue tout au long de mon parcours, d'avoir assuré la responsabilité et la disponibilité à la réalisation de ce travail dans des conditions favorables. J'ai pu ainsi acquérir une certaine rigueur et une démarche scientifique qui garderont votre empreinte. Merci pour tout ce que vous m'avez apporté comme connaissances enrichissantes et conseils avisés pendant ces six ans sans lesquels ce projet n'aurait pu être mené à bien, veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon profond respect.
Un grand merci au Professeur AOUINE Younas pour sa participation et sa profonde implication dans ce travail.

Je remercie vivement Monsieur le professeur **EL HALLAOUI Abdelilah** pour sa gentillesse, sa bonne humeur indéfectible et pour les conseils louables et inlassables qu'il a bien voulu me consentir durant les années de ma formation. Ses conseils scientifiques et son savoir-faire m'ont beaucoup aidé à la réalisation de ce travail.

Je suis également redevable aux membres de jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait par leur acceptation d'examiner le contenu de ce manuscrit et de l'enrichir par leurs remarques pertinentes et constructives :

Monsieur **IJJAALI Mustapha** Doyen de la Faculté des Sciences et techniques de Fès, a accepté de me faire l'honneur de présider le jury de ma thèse, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Monsieur le professeur **El GHOUL Mostafa** professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, a accepté d'être rapporteur de ma thèse je le remercie vivement pour son sacrifice malgré ses diverses préoccupations.

Monsieur le professeur **GUENOUN Farhate** professeur à la Faculté des Sciences de Meknès, est vivement remercié pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'être rapporteur de ma thèse.

Monsieur le professeur **LACHKAR Mohammed** professeur à la Faculté des Sciences de Fès, s'est manifesté favorablement pour évaluer mon travail de thèse en tant que rapporteur, je lui exprime mes sincères remerciements.

Monsieur le professeur **EL YAZIDI Mohamed** professeur à la Faculté des Sciences de Fès, a accepté de siéger au jury de ma thèse en tant qu'examinateur, je lui adresse mes sincères remerciements.

Mes profonds remerciements à Monsieur **MOHAMMED BOUKSAIM** et Monsieur **Mohammed Rachid Kabbour**, responsables de l'unité de biotechnologie alimentaire à l'institut national de recherche agronomique (INRA), pour m'avoir accordé l'accès au laboratoire où j'ai pu réaliser l'activité antimicrobienne et l'activité antioxydante. Merci pour votre disponibilité, votre caractère collaboratif, à l'intérêt que vous avez porté à mes travaux et d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Que les membres de l'Unité d'Appui Technique à la Recherche Scientifique (**UATRS**) du Centre National de la Recherche Scientifique et Techniques (**CNRST**) trouvent ici l'expression de mes sincères remerciements.

Mes sincères remerciements vont également à tous les membres de la Plateforme Technologique de la Cité d'innovation (**C.I**) de l'USMBA et en particulier à Monsieur le professeur **Mohamed AKHAZZANE** pour la réalisation de toutes les analyses effectuées dans ce travail.

La recherche étant avant tout un travail d'équipe et d'une longue haleine, je tiens à remercier tous mes collègues chercheurs du laboratoire et mes amis(e) qui ont su m'apporter de l'aide, du soutien et de la bonne humeur chaque fois que le besoin se faisait sentir et je cite particulièrement : Halima ERRAHMOUNI, Asmae MAHFOUD, Mohammed BAKHOUCH, Sara HAJIB, Mohammed CHALKHA, Khadim DIOUKHANE, Serigne Abou Khadir FALL, Bouchra ES-SOUNNI , Salaheddine BOUKHSSAS, AOUINE Younas, Maha EL-HAMDANI, Hafsaa RACHID, Lamiae ZAARI, Jihane ZIRRARI, Zineb MAJBAR, Kenza AMMOR, Fatima RABOULI.Merci mes amis pour l'ambiance très agréable au labo, aussi pour votre support et vos encouragements.

Je ne peux passer sous silence le soutien perpétuel et constant de ma famille, Mes parents, ainsi que mes sœurs Nadia et Maha, et mes frères Hicham, Nabil et Amine. Qu'ils trouvent à travers ce travail l'expression de ma profonde reconnaissance et ma gratitude éternelle pour l'amour qu'ils m'ont témoigné et pour la confiance qu'ils m'ont accordé durant toutes ces longues années d'études. J'espère en avoir été digne, mille fois Merci.

RÉSUMÉ

Le travail décrit dans ce manuscrit s'insère dans le cadre des travaux réalisés au sein du Laboratoire de Chimie Organique concernant la synthèse et la caractérisation structurale, la réactivité et les études des propriétés physico-chimiques et biologiques de nouveaux systèmes hétérocycliques dérivés de la glycine.

À partir du modèle structural de l'α-azidoglycinate de méthyle, nous avons conçu et réalisé la synthèse de nouveaux systèmes hétérocycliques à visée thérapeutique. Nous nous sommes basés sur la réaction de N-alkylation du 2-azido-2-benzamidoacétate de méthyle avec une série d'aminoesters carboxyliques en utilisant différentes bases. Nous avons caractérisé les structures des molécules préparées par les techniques spectroscopiques (RMN-^{1}H et RMN-^{13}C, MS-ESI). Quant-aux déterminations structurales, elles ont été effectuées par diffraction des rayons X sur des monocristaux.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des composés synthétisés vis-à-vis d'une série de souches bactériennes à Gram positif et négatif, a montré des activités intéressantes. La souche *Escherichia coli* (Gram négatif), a exhibé une forte résistance pour le composé ***2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxo-1-phényléthyl)amino)acétate diméthyle*** avec le plus grand diamètre d'inhibition (ZI 10mm), et la plus petite CMI (1,25 mg / ml).

L'effet antioxydant des mêmes composés synthétisés, est testé in vitro en utilisant les tests du pouvoir du piégeage du radical (DPPH), et du Pouvoir réducteur (FRAP). Les résultats montrent que les différents extraits testés possèdent un pouvoir antioxydant important en comparaison avec le témoin positif considéré, plus particulièrement pour le composé ***2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxo-1-phényléthyl)amino)acétate deméthyle),*** qui a présenté un pouvoir antiradicalaire et un pouvoir réducteur très fort.

Les résultats ainsi obtenus confirment la richesse exceptionnelle de la chimie des aminoacides carboxyliques, utilisés comme précurseurs de synthèse de divers systèmes hétérocycliques, susceptibles de présenter des propriétés biologiques intéressantes.

Mots clés : aminoacides, hétérocycles, N-alkylation, azidoglycinate, diffraction des rayons X, activité antibactérienne, activité anioxydante

ABSTRACT

The work described in this manuscript is part of the work carried out within the Laboratory of Organic Chemistry concerning the synthesis and structural characterization, reactivity and studies of the physico-chemical and biological properties of new heterocyclic systems derived from glycine.

Based on the structural model of α-azidoglycinate methyl, we designed and synthesized new heterocyclic systems for therapeutic purposes, based on the reactions of N-alkylation of methyl 2-azido-2-benzamidoacetate with a series of carboxylic amino esters using different bases. We were also able to characterize the structures of the molecules prepared by spectroscopic methods (NMR-^{1}H and NMR-^{13}C, MS-ESI), structural determinations were performed by X-ray single crystal diffraction.

The evaluation of the antibacterial activity of the synthesized compounds against a series of Gram-positive and negative bacterial strains showed interesting activities, the E. coli strain (Gram-negative) exhibited high resistance for the compound ***Methyl 2-benzamido-2-((2-methoxy-2-oxo-1-phenylethyl)amino)acetate*** including the largest inhibition diameter (ZI 10mm), and the smallest CMI (1.25 mg /ml).

The antioxidant effect of the same synthesized compounds is tested in vitro using the radical trapping power (DPPH) and reducing power (FRAP) tests. The results show that the different extracts tested have a high antioxidant power compared to the positive control considered, particularly the ***Methyl 2-benzamido-2-((2-methoxy-2-oxo-1-phenylethyl)amino)acetate*** compound which had an anti-free radical and a very strong reducing power.

The results thus obtained confirm the exceptional richness of the chemistry of aminoacids carboxylic used as precursors for the synthesis of various heterocyclic systems, which may have interesting biological properties.

Key words: amino acids, heterocycles, N-alkylation, azidoglycinate, X-ray diffraction, antibacterial activity, antioxidant activity.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

Publications

1. **Oumaima Karai**, Maha El Hamdani, Younas Aouine, Hassane Faraj, Anouar Alami, Mohammed Rachid Kabbour, Abdelilah El Hallaoui, Mohammed Bouksaim, Methyl N-[1-(Benzoylamino)-2-methoxy-2-oxoethyl]-tryptophanate, Molbank, **2017**, M958; doi:10.3390/M958.
2. **Oumaima Karai**, Younas Aouine, Hassane Faraj, Anouar Alami, Mohammed Rachid Kabbour, Abdelilah El Hallaoui, Mohammed Bouksaim, Synthesis, characterization and antibacterial activity of Methyl (*2R*)-2-benzamido-2-{[(*1R*)-2-methoxy-2-oxo- 1-phenylethyl]amino}acetate, *Mediterranean Journal of Chemistry* **2018**, 7(4), 267-271.
3. **Oumaima Karai**, Younas Aouine, Hassane Faraj, Anouar Alami, Abdelilah El Hallaoui, Hafid Zouihri, Methyl (1-benzamido-2-methoxy-2-oxoethyl)-Tryptophanate, IUCrData **2017**, 2, x171547.
4. **Oumaima Karai**, Younas Aouine, Hassane Faraj, Anouar Alami, Abdelilah El Hallaoui Hafid Zouihri, Methyl (2R)-2-benzamido-2-{[(1R)-2-methoxy-2-oxo-1-phenylethyl]amino}acetate, IUCrData **2017**, 2, x171155.

Communications orales

1. **O. karai**, H.Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, B. Labriti, S. El-hajji, Y. Aouine, "synthesis and characterization of new heterocyclic carboxylic α,α – diaminoesters "5thSpanish-moroccan symposium on organic chemistry (**Smsoc5**) , **10 au 12 Mars 2016** en collaboration entre la faculté des Sciences et Techniques Mohammedia et l'Université Hassan II Casablanca.
2. **O. karai**, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, B. Labriti, S. El-hajji, Y. Aouine, "New approach to synthesis of novel heterocyclic models and non-heterocyclic via Nucleophilic substitution of the α-azido methyl glycinate derivatives by various α-

amino esters", 5ème Journée Nationale de la Chimie Verte », Facultés des Sciences de Tétouan le **4 et 5 Novembre 2016**.

3. **O. karai**, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, B. Labriti, S. El-hajji "Nouvelle approche de synthèse de nouveaux modèles hétérocycliques et non hétérocycliques via la substitution Nucléophile de l'α-azidoglycinate de méthyle par différents dérivés α-aminoesters", Journées Scientifiques, Outils D'innovation Pour La Valorisation Des Systèmes Hétérocycliques Et Des Plantes médicinales et Aromatiques (***JS-OIVSHPMA-2015***), Faculté Des Sciences Dhar El Mahraz-Fès, Maroc, **5-6 Juin 2015**.

Communications affichées

1. **O. Karai**, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, B. Labriti " design, synthesis and biological screening of new heterocyclic carboxylic α,α-diaminoesters", colloque international **VAHVISTUS-BIO,** Faculté des Sciences Dhar El Mahraz-Fès, **le *15-16 Avril, 2019.***
2. K. Dioukhane, A. Alami, L. Gaye, H. Faraj, A. El. Hallaoui, I. LABRITI, **O. KARAI**, S. BOUKHSSAS, S. HAJIB, Y. AOUINE "Novel amino acid models derived from 1,5-benzodiazepine: Synthesis of 4-methyl-1,3-dihydro-2H-1,5-benzozepin-2-one ", Trans Mediterranean Colloquium on Heterocyclic Chemistry (***TRAMECH IX***), Fès, Maroc, **22-25 Novembre 2017**.
3. **O. Karai**, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, B. Labriti "synthesis and antibacterial activity of 2-benzamido-2-((2-methoxy-2- oxoethyl)amino)acetate ", Trans Mediterranean Colloquium on Heterocyclic Chemistry (***TRAMECH IX***), Fès, Maroc, **22-25 Novembre 2017**.
4. **O. Karai**, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, B. Labriti "synthesis and antibacterial activity of methyl 1-(1-benzamido-2- methoxy-2-oxoethyl)pyrrolidine-2-carboxylate ", Trans Mediterranean Colloquium on Heterocyclic Chemistry (***TRAMECH IX***), Fès, Maroc, **22-25 Novembre 2017**.
5. **O. Karai**, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, B. Labriti "synthesis and *in vitro* antioxidant activity of some new heterocyclic carboxylic α, α-diaminoesters ", Trans Mediterranean Colloquium on Heterocyclic Chemistry (***TRAMECH IX***), Fès, Maroc, **22-25 Novembre 2017**.

6. **O. Karai**, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, B. Labriti "synthesis, characterization and antimicrobial activity of new heterocyclic carboxylic α, α – diaminoesters ", Trans Mediterranean Colloquium on Heterocyclic Chemistry (***TRAMECH IX***), Fès, Maroc, **22-25 Novembre 2017**.
7. **O. Karai**, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, B. Labriti "synthesis, characterization and antibacterial activities of some new compounds derived from *N*-alkylation of protected azido glycine ", Trans Mediterranean Colloquium on Heterocyclic Chemistry (***TRAMECH IX***), Fès, Maroc, **22-25 Novembre 2017**.
8. **O. Karai**, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, B. Labriti " synthesis of new racemic α, α-diaminocarboxylic ester dérivatives", **Molécules Bioactives et Matériaux Organiques,** Facultés des Sciences et Techniques de Fès le **27 Mars 2017.**
9. **O. Karai**, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, B. Labriti " synthèse et caractérisation de nouveaux α, α-diamino esters carboxylic biologiquement actifs "2ème forum du Pôle de Biotéchnologie, Faculté Des Sciences Dhar El Mahraz-Fès, Maroc, **le 20 décembre 2016**.
10. **O. Karai**, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, B. Labriti " synthesis, characterization and antimicrobial activity of new heterocyclic carboxylic α, α - diaminoesters ", 3ème forum du Pôle de Biotéchnologie, Faculté Des Sciences Dhar El Mahraz-Fès, Maroc, **le 26 décembre 2016**.
11. **O. Karai**, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, B. Labriti "Synthèse et caractérisation des nouveaux composés α,α –diaminoesters carboxyliques"1er forum du Pôle de Biotéchnologie, Faculté Des Sciences Dhar El Mahraz-Fès, Maroc, **le 13novembre 2015**.
12. 1er prix du meilleur poster, le congrés intérnationale « Trans Mediterranean Colloquium on Heterocyclic Chemistry (***TRAMECH IX***), Fès, Maroc, **22-25 Novembre 2017 ».**

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET DES SYMBOLES

Abréviations

Ar :	Aromatique	**MeOH :**	Méthanol
AcOEt :	Acétate d'éthyle	**m :**	Multiplet
AAR :	Activité anti-radicalaire.	**Me :**	Méthyle
BTBA :	Bromure de tétrabutylammonium	**min :**	Minutes
cat :	catalyseur	**ml :**	Millilitre
Cq :	Carbone quaternaire	**mmol :**	Millimole
CMI :	Concentration minimale inhibitrice	**MS :**	Spectrométrie de masse
$CDCl_3$:	Chloroforme deutérié	**MW :**	Micro-onde (Microwave)
CCM :	Chromatographie sur couche mince	**NBS :**	N-bromosuccinimide
		·OH :	radical hydroxyle
COSY :	Correlated spectroscopy	**ORTEP:**	Oak ridge thermal ellipsoid plot program
DMSO :	Diméthylsulfoxide	**Pdts :**	Produits
DPPH :	2, 2- diphenyl-1-picrylhydrazyl.	**Pf :**	Point de fusion
d :	Doublet	**Ph :**	Phényle
dd :	Doublet dedoublé	**pH :**	Potentiel en hydrogène
DEPT :		**ppm :**	Partie par million

	Distortionless Enhanced Polarization Transfer		
DRX :	Diffraction des rayons X	**q :**	Quadruplet
DMF :	Diméthylformamide	**Rf**	Rapport frontal
DIEA :	*N*,*N*-Diisopropyléthylamine	**Rdt :**	Rendement
Et :	Ethyle	**RMN**	Résonance magnétique nucléaire
ESI :	Électrospray ionization	**RX :**	Rayons X
E.coli :	Eschérichia coli	**ROO$^{\bullet}$:**	radical peroxyde
ERO :	espèces réactives de l'oxygène	**ROOH:**	peroxydes organiques
FRAP :	Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (*Ferric reducing/antioxidant power*)	**s :**	Singulet
g :	Gramme	**t :**	Triplet
Gly :	Glycine	**t.a :**	Température ambiante
h :	Heure	**Trp :**	Tryptophane
HSQC:	Heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy	**TEA :**	Triethylamine
DIPEA :	Diisopropyléthylamine	**UV :**	Ultraviolet
IR :	Infrarouge	**d :**	Doublet
M :	Masse molaire	**t :**	Triplet
s :	Singulet	**q :**	Quadruplet

dd :	Doublet dédoublé	**ma :**	Massif
s.e :	Signal élargi	**DIAD :**	Diisopropyl azodicarboxylate
CPME :	Méthoxycyclopentane	**TMSCN :**	Triméthylsilyl cyanide
PMB :	Paraméthoxybenzyle	**KHMDS :**	Hexaméthyldisilazide de potassium
PMP :	p-Méthoxyphényle	**NaHMDS :**	Hexaméthyldisilazoture de sodium
SmI_2 :	L'iodure de samarium (II)	**$Pd_2(dba)_3$:**	Tris(dibenzylideneacetone)dipalladium
SCN :	Thiocyanate	**$Cu(acac)_2$:**	Acétylacétonate de cuivre (II)
HMPA :	Hexaméthylphosphoramide	**LDA :**	Diisopropylamidure de lithium

$Ni(COD)_2$: Bis(1,5-cyclooctadiene)nickel

Symboles

Δ :	Reflux ou chauffage	**δ :**	Déplacement chimique
***J* :**	Constante de couplage en Hz	**Y :**	Fréquence de vibration
Hz :	Hertz	**$\upsilon_{dé}$:**	Fréquence de déformation
MHz	Mégahertz	**°C :**	Degré Celsius
% :	Pourcentage	**λ :**	Longueur d'onde
$[\alpha]_D$:	Rotation optique		

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Spectre RMN ^{1}H du composé 2a 67
Figure 2 : Spectre RMN ^{13}C du composé 2a 68
Figure 3:Spectre RMN 1H du produit 2b..... 70
Figure 4 : Spectre RMN ^{13}C du produit 2b 71
Figure 5: Spectre hétéronucléaire 2D^{1}H-^{13}C du composé 2b..... 71
Figure 6: Spectre de masse du composé 2b..... 72
Figure 7 :*Vue ORTEP du composé 2b*..... 73
Figure 8:Empilement de la structure du composé 2b. 74
Figure 9 : Spectre RMN ^{1}H du produit 2c..... 81
Figure 10 : Spectre RMN ^{13}Cdu composé 2c 82
Figure 11 : Spectre homonucléaire ^{1}H-^{1}H 2D du composé 2c 83
Figure 12 : Spectre hétéronucléaire 2D^{1}H-^{13}C du composé 2c 84
Figure 13 : Spectre de masse du produit 2c 85
Figure 14 : Vue ORTEP du composé 2c 86
Figure 15 : Vue partielle de l'assemblage des molécules dans la maille selon l'axe b 87
Figure 16 : Spectre RMN ^{1}H du composé 2d..... 95
Figure 17 : Spectre RMN ^{13}C du composé2d..... 96
Figure 18 : Spectre de masse du composé 2d..... 96
Figure 19 : Spectre RMN ^{1}H du composé 2e 98
Figure 20 : Spectre RMN ^{13}C du composé 2e 99
Figure 21 : Illustration de la méthode de diffusion sur boîte Pétri 120
Figure 22 : Méthode de dilution dans un milieu liquide..... 120
Figure 23 : Antibiogramme 121
Figure 24 : Structure du chloramphénicol 123
Figure 25 : Résultats de l'activité antibactérienne des substances synthétiques sur Bacillus subtilis. 125
Figure 26 : Résultats de l'activité antibactérienne des substances synthétiques sur Pseudomonas aeruginosa 125
Figure 27 :Résultats de l'activité antibactérienne des substances synthétiques sur E. Coli 125
Figure 28 : Résultats de l'activité antibactérienne des substances synthétiques sursalmonelle entérique 126
Figure 29 : Résultats de l'activité antibactérienne des produits synthétiques sur Staphylococcus aureus 126
Figure 30 : Les processus de formation des ERO [21]..... 135
Figure 31 : Principaux composés possédant des propriétés 137
Figure 32 : Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques [33]. 138
Figure 33 : Réduction du DPPH par l'acide ascorbique (INRA Rabat) 143
Figure 34 : Réduction du Fer ferrique en Fer ferreux..... 144
Figure 35 : Activité antioxydante de l'extrait 2a comparée à celle de l'acide ascorbique..... 146
Figure 36 :Activité antioxydante de l'extrait 2b comparée à celle de l'acide ascorbique..... 146
Figure 37 : Activité antioxydante de l'extrait 2c comparée à celle de l'acide ascorbique..... 147
Figure 38 : Activité antioxydante de l'extrait 2d comparée à celle de l'acide ascorbique..... 147
Figure 39 : Activité antioxydante de l'extrait 2e comparée à celle de l'acide ascorbique..... 147
Figure 40 : Pouvoir réducteur des extraits de synthèse comparé à celui de l'acide ascorbique. 148

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Données spectrales de RMN ^{1}H (300.13 MHz) et ^{13}C (75.47 MHz) pour le produit 2b dans $CDCl_3$, y compris les résultats obtenus par corrélation 2D hétéronucléaire (J en Hz et δH en ppm) et (δC en ppm). 72
Tableau 2 :Données cristallographiques du composé $C_{19}H_{20}N_2O_5$..... 74
Tableau 3 : Paramètres de positions atomiques et coefficients isotropiquesU_{iso}*/$U_{éq}$ ($Å^2$) de $C_{19}H_{20}N_2O_5$ 75
Tableau 4 : Paramètres de déplacement atomiques (U11, U22, U33, U12, U13, U23) (Å2)..... 76
Tableau 5 : Paramètres géométriques (Å, °) de $C_{19}H_{20}N_2O_5$ 77
Tableau 6 : Géométrie de la liaison hydrogène (Å, º) 79
Tableau 7 : Données spectrales de RMN ^{1}H (300.13 MHz) et ^{13}C (75.47 MHz) pour le produit 2c en DMSO, y compris les résultats obtenus par corrélation 2D hétéronucléaire ethomonucléaire (J en Hz et δH en ppm) et (δC en ppm). 84
Tableau 8 : Données cristallographiques du composé $C_{22}H_{23}N_3O_2$..... 87
Tableau 9 : Paramètres de positions atomiques et coefficients isotropiquesU_{iso}*/$U_{éq}$ ($Å^2$) de $C_{22}H_{23}N_3O_5$ 88
Tableau 10 : Paramètres de déplacement atomiques (U11, U22, U33, U12, U13, U23) (Å2)..... 89
Tableau 11 : Paramètres géométriques (Å, °) de $C_{20}H_{23}N_3O_5$ 90
Tableau 12 : Géométrie de la liaison hydrogène (Å, º) 93
Tableau 13 : Molécules sélectionnées pour l'évaluation antimicrobienne. 122
Tableau 14 : CMI (mg/ mL) des produits de synthèse vis-à-vis des bactéries à Gram négatif 127
Tableau 15 : CMI (µg/ mL) des produits de synthèse vis-à-vis des bactéries à Gram positif. 127
Tableau 16 : Valeurs des IC_{50}des extraits bruts et témoin déterminées par le test du DPPH. 145
Tableau 17 : Valeurs des IC_{50} (mg/ml) des extraits bruts et témoin déterminées. 149

TABLE DES MATIÈRES

Dédicaces i
Remerciements ii
Résumé v
Abstract vi
Production scientifique vii
Liste des abréviations et des symboles x
Liste des figures xiii
Liste des tableaux xiv
Table des matières xv
Introduction générale 1
Références bibliographiques 5

Chapitre I: Rappel bibliographique : aminoacides carboxyliques Et leurs dérivés α,α-diaminoesters et α,α-diamino-diesters

I. Rappel bibliographique sur les α-aminoacides carboxyliques 9
II. Rappel bibliographique sur les dérivés diamino-esters carboxyliques 29
III. Rappel bibliographique sur les dérivés diamino-diesters carboxyliques 33
Références bibliographiques 38

Chapitre 2: Synthèse de nouveaux α,α- diamino-diesters carboxyliques, via la réaction de N-alkylation

Partie I: Rappel bibliographique sur la réaction de N-alkylation

I. Méthodes de N-alkylation des amines acycliques et cycliques 43
I.1. N-alkylation des amines acycliques 43
I.2. N-alkylation des amines cycliques 46
II. Méthodes de N-alkylation des hétérocycles 49
II.1. N-alkylation du triazole et du tétrazole 49
II.2. N-alkylation de l'indole et du carbazole 52
II.3. N-alkylation de l'imidazole, du benzimidazole, et du pyrazole 54
II.4. N-alkylation des azides carboxyliques 56
II.5. N-alkylation des azides phosphoniques 59

Partie II: Intérêt et accès synthétique de nouveaux α-α-diamino-diesters carboxyliques par réaction de N-alkylation

I. Synthèse de 2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)acétate de méthyle 2a 63
I.1. Synthèse du 2-azido-2-benzamidoacétate de méthyle1 63
I.1.1. Synthèse de l'ester méthylique de la glycine sous forme hydrochloré 64

I.1.2. Synthèse de l'ester méthylique de la glycine N-protégé 64
I.1.3. Action du N-bromosuccinimidesur l'ester méthylique de la glycine 65
I.1.4. Préparation du composé 1 65
I.2. Réaction de substitution 65
II. Synthèse du 2-benzamido-2-{[-2-méthoxy-2-oxo-1 phényléthyl] amino} acétate de méthyle 2b 68
II.1. Synthèse de l'ester méthylique de la phénylglycine sous forme hydrochloré 68
II.2. Réaction de substitution 69
II.3 Etude de la structure de -2-benzamido-2-{[-2-méthoxy-2-oxo-1 phényléthyl] amino} acétate de méthyle 2b: 73
III.Synthèse 2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)-3-(1H-indol-2-yl)propanoate de méthyle 2c 80
III.1. Synthèse de l'ester méthylique du tryptophane sous forme hydrochloré c 80
III.2. Réaction de substitution 80
III.3. Etude de la structure du 2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)- amino)-3-(1H-indol-2-yl)propanoate de méthyle 2c 85
IV.Synthèse du 2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)-3-phényl- propanoate de méthyle 2d 93
IV.1. Synthèse de l'ester méthylique de la phénylalanine sous forme hydrochloré d 93
IV.2. Réaction de substitution 93
V. Synthèse du 1-(1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)pyrrolidine-2-carbo- xylate de méthyl 2e 97
V.1.Synthèse de l'ester méthylique de la proline sous forme de chlorhydrate e 97
V.2.Réaction de substitution 97

Partie expérimentale

I. Synthèse de a, b, c, d et e 102
II. Synthèse de b' : Protection par le chlorure de benzoyle (Bz-Cl) 103
III. Synthèse de c' : Bromation par le NBS 104
IV. Synthèse de 1 : préparation du dipôle azide 105
V. Synthèse de 2a,2b, 2c, 2d et 2e: Réaction de substitution 105
Références bibliographiques 110

CHAPITRE 3: Evaluation de l'activité antibactérinne des dérives α,α-diaminoesters carboxyliques

Introduction 115
I. Les antibiotiques 116
I.1. Paramètres d'activité d'un antibiotique 117
I.2. Mode d'action d'un antibiotique 118

I.3. L'évaluation de la sensibilité / résistance des bactéries aux différents antibiotiques 119
I.4. Méthodes d'étude in vitro 119
II. Etude du pouvoir antibactérien 121
II.1. Produits testés 121
II.2. Bactéries utilisées 122
II.3. Culture bactérienne 123
III. Réalisation des tests : résultats et discussion 123
III.1. Méthode de diffusion sur disque 123
III.2. Méthode de microtitration sur microplaques 123
III.3. Discussion des résultats 124
Références bibliographiques 129
CHAPITRE 4: Evaluation du pouvoir réducteur des dérives α,α-diaminoesters carboxyliques et de leur effet antiradicalaire
Introduction 133
I. Radicaux libres 134
I.1. Définition des radicaux libres 134
I.2. Formation des ERO 134
I.3. Origine des radicaux libres 135
I.4. Stress oxydatif 136
I.5. Conséquences du stress oxydatif 136
II. Les antioxydants 137
II.1. Définition des antioxydants 137
II.2. Types d'antioxydants 137
III. Les sources d'antioxydants 138
III.1. Les antioxydants synthétiques 138
III.2. Les antioxydants naturels 139
III.2.1. La vitamine C 139
III.2.2. La vitamine E 139
III.2.3. Les caroténoïdes 139
IV. Composés phénoliques 140
IV.1. Définition des composés phénoliques 140
IV.2. Flavonoïdes 141
V. Matériels et méthodes 142
V.1. Pouvoir antioxydant 142

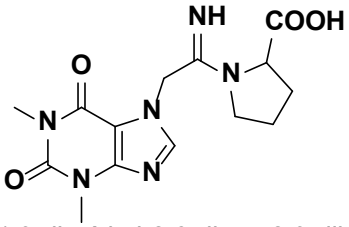
V.1.1. Préparation des extraits 142
V.1.2. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH• 142
V.1.3. Pouvoir réducteur (FRAP) 143
VI. Résultats et discussion 144
VI.1. Activité antioxydante 144
VI.2. Piégeage du radical libre DPPH 144
VI.3. Pouvoir réducteur (FRAP) 148
Références bibliographiques 150
Conclusion générale 156
ANNEXE 159

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les hétérocycles constituent la famille de composés organiques la plus vaste et la plus diversifiée. Le caractère remarquable de ces composés est fixé généralement dans les composés cycliques saturés, partiellement saturés ou aromatiques qui sont tous réunis par la même structure ainsi que des groupements fonctionnels liés aux hétéroatomes. Ces modèles cycliques existent dans la plupart des produits naturels les plus divers (animaux ou végétaux) ainsi que dans de nombreuses molécules biologiquement actives [1-9].

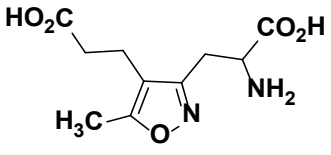
Les aminoacides hétérocycliques jouent un rôle prédominant dans la synthèse des peptides et des protéines [10-13], et jusqu'à présent, ils suscitent l'intérêt des chercheurs, qui étudient leur rapport structure-activité permettant ainsi une meilleure approche pour la compréhension de leurs mécanismes d'action.

La synthèse de nouveaux aminoacides carboxyliques et leurs esters sont devenus un intérêt majeur pour les équipes de recherche dans le monde, du fait de leur large spectre d'activités [14-21]. Leurs applications se font dans divers domaines : enzymologie [22-25] (développement de nouvelles liaisons d'ADN, recherche des structures et des fonctions des enzymes) ; médecine et pharmacologie [26-30] (neuro-excitateurs, fongicides, antibiotiques et récemment des antitumoraux à faible toxicité) ; industrie [31] (cosmétiques, détergents, additifs alimentaires,) et en synthèse asymétrique [32-34] (auxiliaire chiraux).



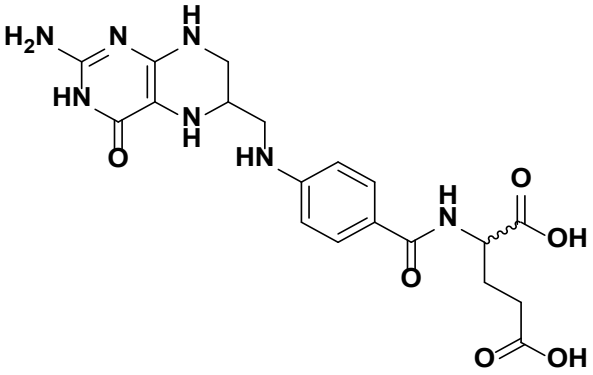
acide1-(2-(1,3-diméthyl-2,6-dioxo-2,3-dihydro-1*H*-purin-7(6*H*)-yl)-1-iminoéthyl)pyrrolidine-2-carboxylique

antituberculeux



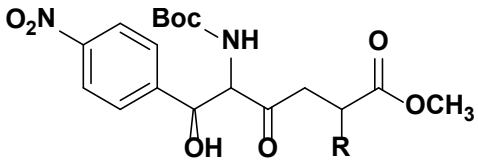
acide 2-amino-3-(4-(2-carboxyéthyl)-5-méthylisoxazol-3-yl) propanoique

neuroxcitateur



acide 2-(4-(((2-amino-4-oxo-3,4,5,6,7,8-hexahydropteridin-6-yl)méthyl)amino)benzamido)pentanedioique

antibiotique



anticancéreux

Compte tenu de la richesse de la chimie hétérocyclique, et la diversité d'applications qu'elle possède, nous nous sommes intéressés dans le présent travail à préparer de nouveaux α,α-diamino-diesters polyfonctionnels dérivés de la glycine, en faisant appel à des réactions d'alkylation. Les composés synthétisés ont été soumis à un screening biologique ainsi qu'aux tests de l'activité antioxydante.

L'étude bibliographique et les résultats de notre propore travail de recherche sont ainsi décrits dans quatre chapitres :

- ✓ Le chapitre I présentera l'état des travaux antérieurs sur les différentes méthodes permettant l'accès aux différents types d'α-aminoacides et aminoesters carboxyliques hétérocycliques et non hétérocycliques. Les travaux décrits dans la littérature concernant la synthèse d'α,α-diaminoesters carboxyliques, et d'α,α-diamino-diesters carboxyliques, seront également présentés dans ce chapitre.
- ✓ Le chapitre II sera divisé en deux parties. Nous réserverons la première partie pour un rappel bibliographique sur la réaction de N-alkylation des hétérocycles et des amines, illustré par des exemples de synthèse adoptant plusieurs stratégies de synthèse. Quant à la deuxième partie, elle sera consacrée à la synthèse d'une nouvelle série d'α,α-diamino-diesters carboxyliques dérivés de la glycine, via la réaction de substitution nucléophile

d'α-azido glycinate de méthyle par une série d'aminoesters hétérocycliques et non hétérocycliques.

- ✓ Le chapitre II sera consacré à la présentation des résultats des tests de l'activité antibactérienne, réalisés sur les différents composés synthétisés contre une série de souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif.
- ✓ Le dernier chapitre de ce mémoire sera réservé aux résultats des tests du pouvoir réducteur des produits synthétisés et de leur effet antiradicalaire, après avoir présenté un bref aperçu bibliographique sur les radicaux libres et les différents types d'antioxydants existant dans la nature.

Une conclusion générale récapitulera les différents résultats obtenus et les perspectives de ce travail de recherche.

Références bibliographiques

[1] V. Dhanapal, J. Ramalingam, A. N. Raman, *J. Heterocyclic Chem*., **2017**, 54(2), 1619-1624.

[2] H. M. Faidallah, S. A. F. Rostom, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, **2017**, 350(5), e1700025.

[3] A. Ansari, A. Ali, M. Asif, Shamsuzzaman, *New J. Chem*., **2017**, 41, 16-41.

[4] N. S. Rao, A. B. Shaik, S. R. Routhu, S. M. Ali Hussaini, S. Sunkari, A. V. S. Rao, A. M. Reddy, A. Alarifi, A. Kamal, *ChemistrySelect.*, **2017**, 2, 2989-2996.

[5] R. Sadashiva, D. Naral, J. Kudva, S. M. Kumar, B. K, M. Shafeeulla R, M. Kumsi, *J. Mol. Struct.*, **2017**, 1145, 18

[6] B. Lin, W. H. Zhang, D. D. Wang, Y. Gong, Q. D. Wei, X. L. Liu, T. T. Feng, Y. Zhou, W. C. Yuan, *Tetrahedron.*, **2017**, 73, 5176

[7] B. Madhavilatha, N. Fatima, G. Sabitha, B. V. Subba Reddy, J. S. Yadav, D. Bhattacharjee, N. Jain, *Med. Chem. Res*., **2017**, 26(8), 1753-1763.

[8] S. Byrappa, M. H. Raj, T. Kungyal, N. U. Kudva N, B. P. Salimath, K. M. Lokanatha Rai, *Eur. J. Med. Chem*., **2017**, 126, 218-224.

[9] I. Zghab, B. Trimeche, M. Ben Mansour, M. Hassine, D. Touboul, H. Ben Jannet, *Arabian J. Chem*., **2017**, 10, S2651-S2658.

[10] M. Chen, P. Heimer, D. Imhof,*Amino Acids.*,**2015**, 47,7:1283-99.

[11] A. Sadiq and N.t Sewald**,** *Amino Acids.*, **2013**, 252813, 8 pages.

[12] S. Kotha, V. R. Shah, S. Halder, R. Vinodkumar, and K. Lahiri,*Amino Acids.*, **2007**, 32: 387–394.

[13] Sh. Mallakpour, F. Mirkarimi, *Amino Acids.,***2010**,39:1255–1263.

[14] L. Mrkus, J. Batinić,N. Bjeliš, A. Jakas, *Amino Acids.*,**2018**, 51,2, 319-329.

[15] E. Naydenova, K. Troev, M. Topashka-Ancheva, G. Hagele, I. Ivanov, and A. Kril, *Amino Acids.*, **2007**, 33: 695–702.

[16] M. Rosa Cristina, Ferreira, M. Maria Manuela, R. Susana, P. G, Costa, *Amino AcidsNew J. Chem.*,**2018,**42, 3483-3492.

[17] H. Golshadi Ghalehshahi, S. Balalaie, A. Aliahmadi, R. Moghimi,*Amino Acids.,***2018**50, 1461-1470.

[18] S. Kotha, V. R. Shah, S. Halder, R. Vinodkumar, and K. Lahiri *Amino Acids.,***2007,**32: 387–394

[19] V. Magafa, L. Borovic kova, J. Slaninova, P. Cordopatis,*Amino Acids.,***2010**38:1549–1559.

[20] N. Giovanni, R. Roberta, I. Valentina, R. Rosanna, P. Hayarpi, Simonyan, C. Vicidomini, *Amino Acids.,***2016**40,11, 9007-9011.

[21] B. Wang, Z. W. Miao, J. Wang, R. Y. Chen2, X. D. Zhang,*Amino Acids.*, **2008,**35: 463–468.

[22] M. J. Mikolajczyk*, Organomet. Chem*.,**2005**, *690*, 2488-2496.

[23] F. Meyer, A. Laaziri, A. M. Papini, J. Uziel, S. Juge, *Tetrahedron.,***2004**, *60*, 3593-3597.

[24] R.S Rodrigues, J.F. da Silva, J. Boldrini-França, F.P.P. Fonseca, A.R. Otaviano, F. Henrique-Silva, A.J. Magro, A.S.K Braz, J.I. dos Santos, M.I. Homsi-Brandeburgo, Fontes,*Biochimie.,***2009**, 91, 4, 490-501.

[25] Samel, M, Tõnismägi, K, Rönnholm, G, Vija, H, Siigur, J, Kalkkinen, N, Siigur. *Comp. Biochem. Physiol*.,**2008**, *B 149*, 572-580.

[26] S. De Lombaert, L. Blanchard, T. Tan, Y. Sakane, C. Berry, and R. D. Ghai, *Bioorg.Med. Chem. Lett*., **1995, 5,** 145.

[27] L.C.Chou, L.J.Huang, J.S.Yang, F.Y.Lee, C.M.Teng, S.C. Kuo, *Bioorg. Med. Chem*.,**2007**, 132, 15, 1732-1740. PMID: 17189698.

[28] J.Li, Y.F.Zhao, X.L. Zhao, X.Y. Yuan, P. Gong, *Molecules.,***2006**, 11, 574-582. PMID: 17971729.

[39] A.A.Elhenawy, *Int. J. of Bioorg. Chem*.,**2017**, 2, 36-50.

[30] R.Z. Yan, X.Y.Liu, W.F.Xu, C.Pannecouque, M.Witvrouw, E. De Clercq, *Arch. Pharm. Res*. **2006**, 29, 957-962.

[31] Manjari, S. Pandey, A. Chakrabarti, L. K. Pandey, S.K. Bhattacharya, *Stressand Health.,***2002,** 18, 133.

[32] P. Amabili, A. Amici, A. Civitavecchia, B. Maggiore, M. Orena , S. Rinaldi, A. Tolomelli, *Amino Acids.*, **2015**,48,2:461-78.

[33] P.J.Reider, R.S.Eichen Conn, P. Davis, V.J.Grenda, A.J.Zambito, *J.* Grabowski, *Org. Chem*. **1987**, *52*, 3326-3334.

[34] P.Saravanan, E.J.Corey, *J. Org. Chem.,***2003**, *68*,2760-2764.

Chapitre I

RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE : AMINOACIDES CARBOXYLIQUES ET LEURS DÉRIVÉS α,α-DIAMINOESTERS ET α,α-DIAMINO-DIESTERS

I. Rappel bibliographique sur les α-aminoacides carboxyliques

Depuis plus de deux siècles, la chimie organique ne cesse d'évoluer. Elle continue à susciter un énorme intérêt scientifique et à engendrer de nombreux impératifs économiques. De ce fait, les α-aminoacides hétérocycliques intéressent les chercheurs et les industriels vu leurs large spectre d'action. La progression des recherches dans ce domaine a connu un grand essor et les études chimiques et biologiques de ces substances ont permis une meilleure approche de la relation entre la structure et l'activité biologique.

Dans ce chapitre, nous présentons une multitude de méthodes permettant l'accès à différents types d'α-aminoacides hétérocycliques et non hétérocycliques, en incluant les travaux de la littérature sur les α,α-diaminoesters et les α,α-diamino-diesters carboxyliques. La synthèse d'α,α-diamino-diesters carboxyliques reste très limitée au niveau de la bibliographie, c'est ce qui justifie notre motivation d'orienter nos travaux vers cet axe de recherche.

Parmi les premiers travaux réalisés dans ce domaine, nous citons ceux décrits par Steglich et al. [1], qui ont synthétisé des α-aminoacides pyrazoliques. La méthode est basée sur la bromation en α de l'ester éthylique de la glycine, puis déshydrobromation pour obtenir l'imine, sur laquelle est ajoutée de l'acétylacétone en milieu basique suivie de l'hydrolyse. L'action des dérivés de l'hydrazine sur l'intermédiaire acétylé conduit à la formation de nouveaux aminoesters N-protégés avec d'excellents rendements (Schéma 1).

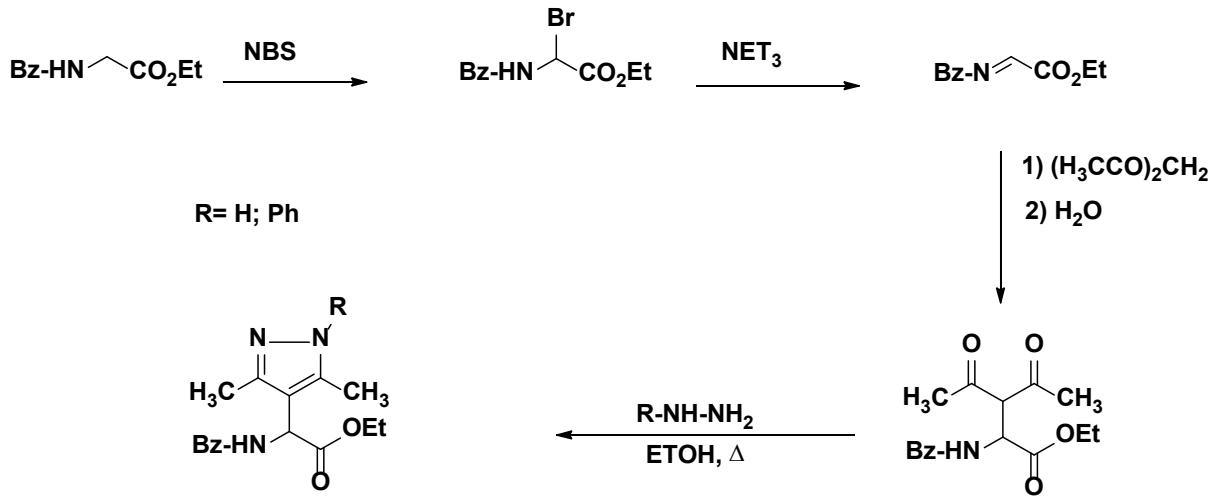


Schéma 1

Hirth et al. [2] ont rapporté une méthode de synthèse des dérivés de l'histidine. Il s'agit de l'ester méthylique de la N-tertiobutyloxycarbonyl-2-diazo-L-histidine. Le schéma ci-dessous illustre les étapes de cette synthèse.

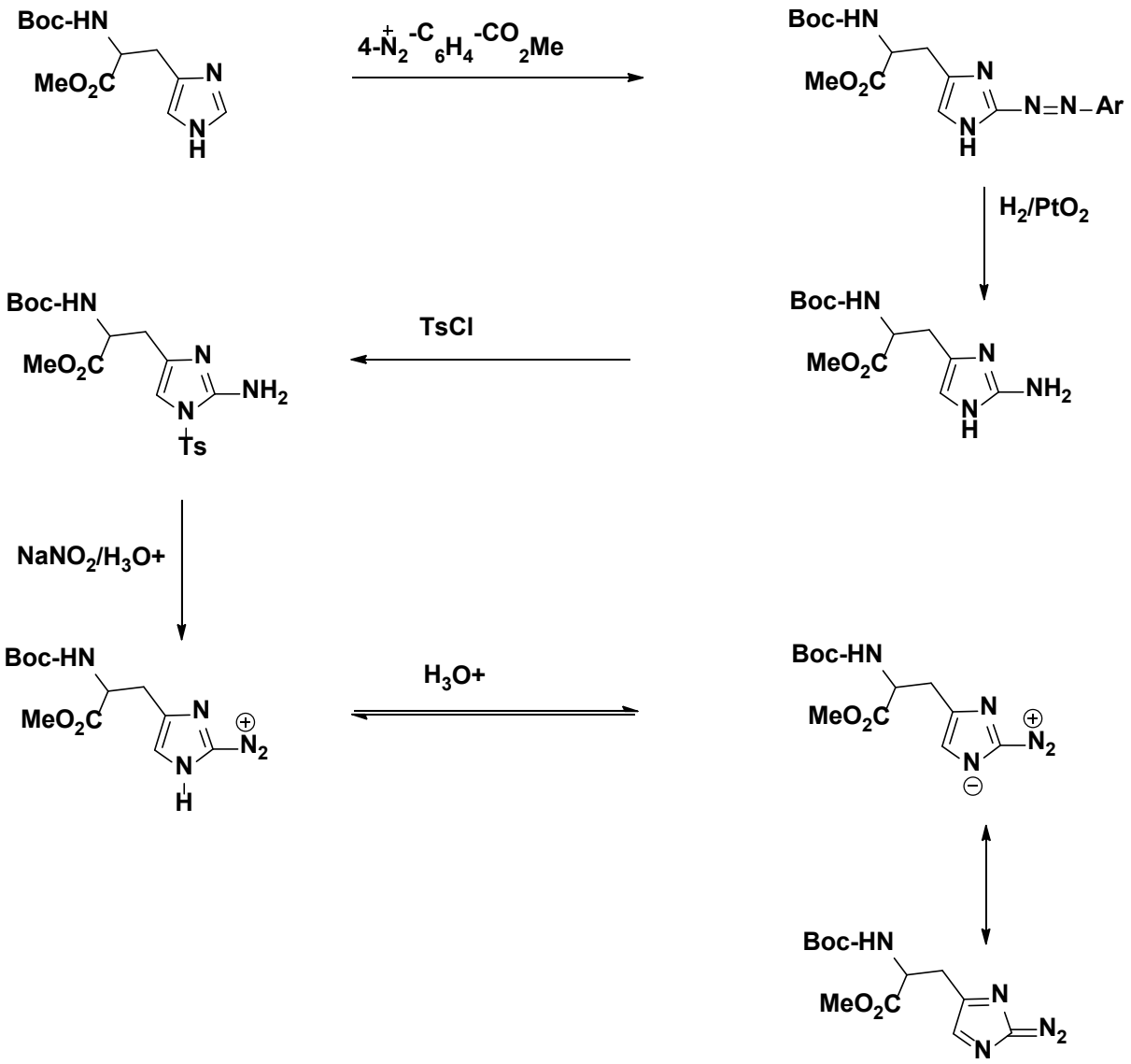
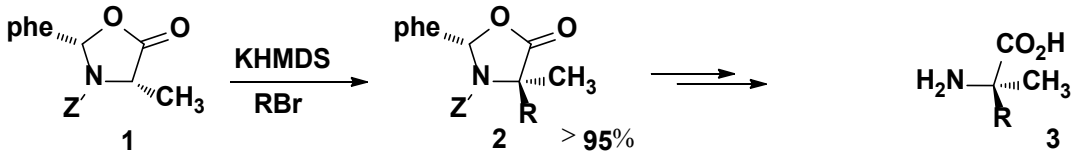


Schéma 2

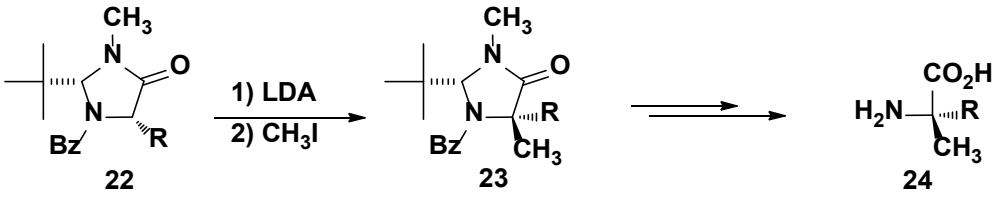
En 2001, l'équipe de recherche de Kapadia [3] s'est intéressée à une méthodologie basée sur les oxazolidinones comme précurseurs dans la synthèse stéréosélective de nouveaux α-aminoacides. L'alkylation de la cis-oxazolidinone **1** se fait du côté opposé du cycle phényle [4,5] en utilisant le Hexaméthyldisilasane de potassium (KHMDS) comme base pour obtenir le composé **2** avec un bon rendement dont l'hydrolyse donne l'acide aminé correspondant **3**.



R = 4-BrC$_6$H$_4$CH$_2$, 3-IC$_6$H$_4$CH$_2$, trans-CH$_3$O$_2$CHC=CH ent-1

Schéma 3

Cet aminoacide a été également synthétisé par Mzengeza et son équipe de recherche [6] en utilisant les énolates de lithium dérivés d'imidazolidinones comme intermédiaires extrêmement utiles dans la synthèse des α-alkyls α-aminoacides. De ce fait, les cis-imidazolidinones **22** ont été transformés en anhydride d'acide α-méthyl aminoacides correspondantssous l'action de diisopropylamidure de lithium (LDA) comme base et l'hydrolyse subséquente dans les conditions appropriées a conduit à l'acide aminé énantiomériquement pur.



R = Bn, N-Boc-3-indolylméthyle

Schéma 4

Une stratégie similaire a été rapportée par le groupe de Pajouhesh [7] pour la synthèse de l'isomère (2S,3S,4S) de la 2-méthyl-2-(carboxycyclopropyl) glycine **5**. Cette méthode est basée sur l'alkylation de l'oxazolidinone **1** par le 3-bromopropénoate de méthyle (E), ce qui conduit à l'adduit insaturé **2** (Schéma5) avec une stéréosélectivité totale. Ce dernier subit une cyclopropanation pour conduire au seul isomère **3**. Leur hydrolyse suivie d'une déprotection conduit à l'acide aminé **5** énantiopure.

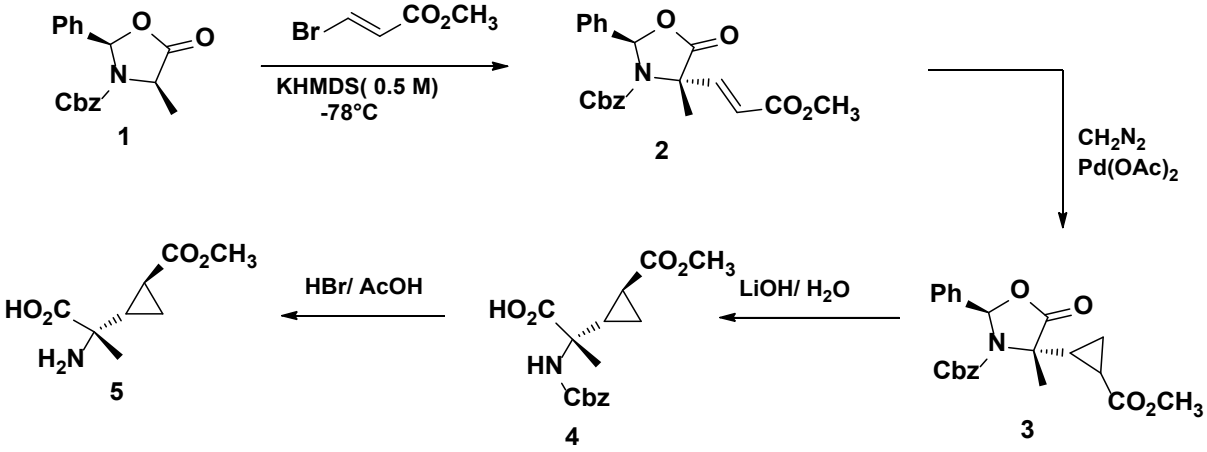


Schéma 5

L'équipe de Alezra [8] a réussi à synthétiser des acides α-méthyl-β-hydroxy par aldolisation hautement diastéréo- et énantiosélective. L'aldolisation de ces composés avec les aldéhydes aromatiques montrent une bonne réactivité et conduit aux acides aminés correspondants avec

un excellent excès énantiomérique (allant jusqu'à 99% après recristallisation). Cependant les aldéhydes aliphatiques ne montrent aucune réactivité.

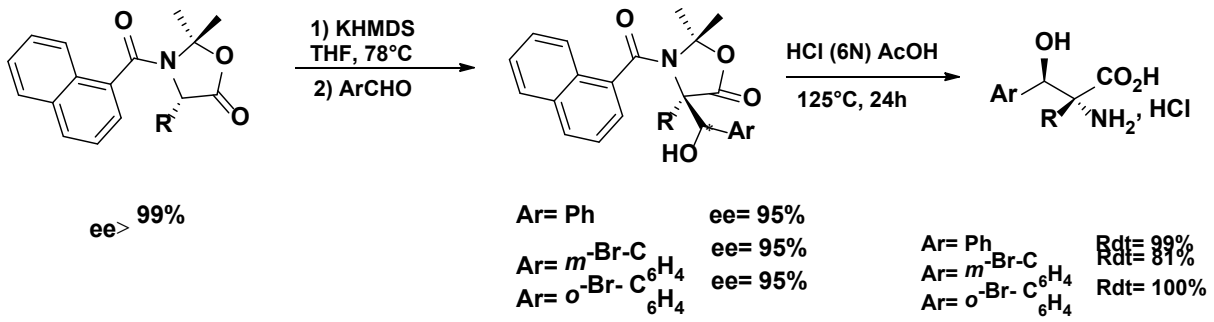


Schéma 6

L'équipe de recherche de Jorgensen [9] a développé la synthèse d'aminoacides fonctionnnels par 2 voies organocatalytiques énantiosélectives distinctes à partir d'azlactone **A**. La première voie de synthèse est basée sur l'addition-1,4 à des énals catalysée par le prolinol O-silylé **B** pour aboutir aux aldéhydes **C** avec d'excellentes énantiosélectivités. Ces derniers fournissent après oléfination et hydrolyse acide les aminoacides tels que **D** (Schéma 7). La deuxième voie est basée sur l'addition-1,4 à des nitrooléfines catalysée par le composé **E** pour conduire à la nitroalkyl azlactone **F** avec une excellente diastéréosélectivité. L'hydrolyse acide de ce dernier permet d'accéder rapidement à l'aminoacide **G**.

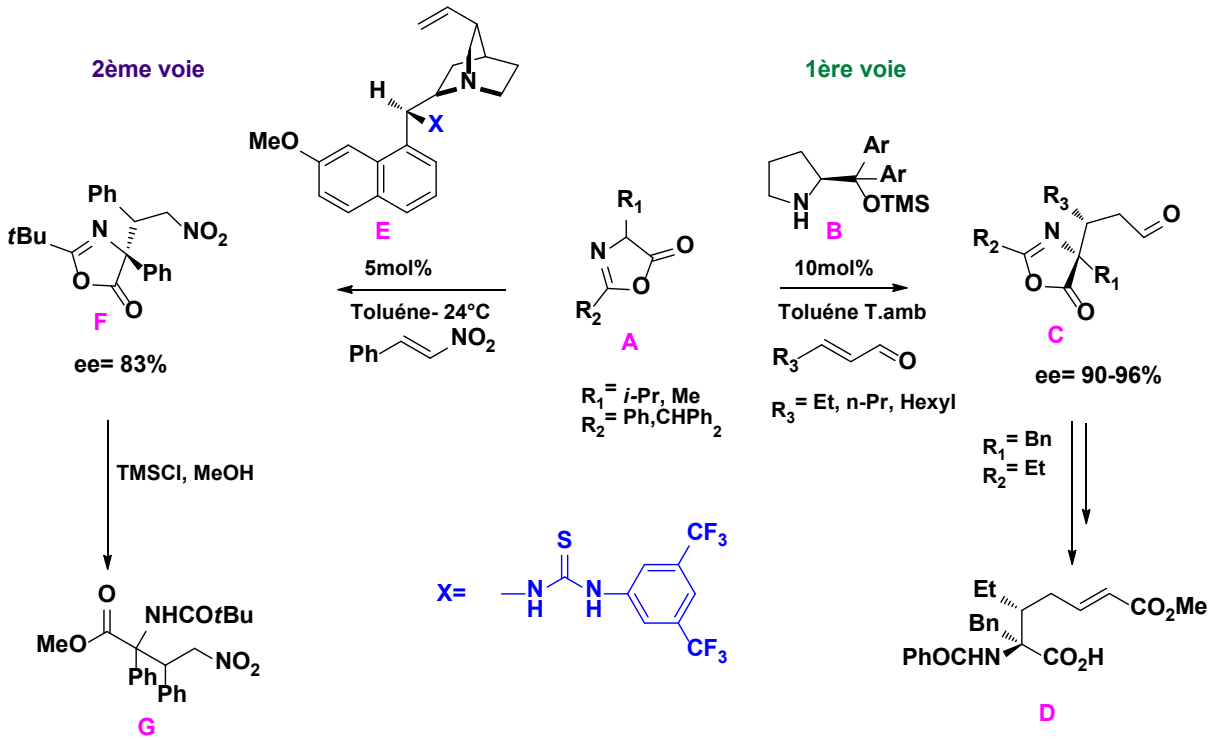


Schéma 7

Ikeda et al.[10] ont montré que l'alkylation pallado-catalysée de N-diphénylméthylène alaninates de méthyle ou d'éthyle **1** avec le (R)-2-acétoxy-4-phényl-but-3-ène en utilisant le Tris (dibenzylidèneacetone) dipalladium [$Pd_2(dba)_3$] et le Hexaméthyldisilazoture de sodium (NaHMDS), ce qui conduit à l'aminoacide **2** avec une haute régio-et diastéréosélectivité. Ce dernier peut être transformé après plusieurs étapes en acide (2S,3S)-3-méthyl aspartique **3** via une coupure oxydante de l'insaturation.

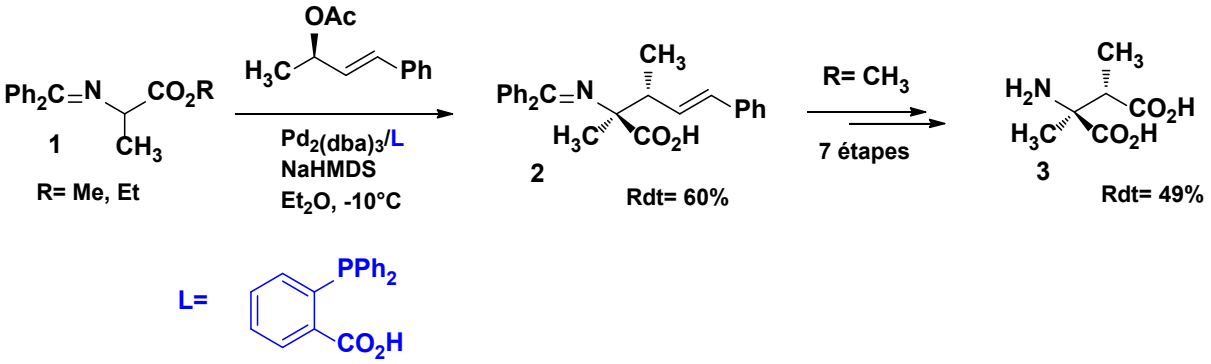


Schéma 8

L'équipe de Kozlowski [11] a décrit récemment la synthèse asymétrique d'aminoacides α -allyl- α-aryl par la réaction tandem N-alkylation/-allylation. L'addition de Grignard sur l'α-aminoester **a** génère un énolate qui peut être transformé en dérivé d'acide aminé α-allylé α-arylé **b** après une allylation catalysée par le palladium. La cyclisation de ce dernier par la réaction de métathèse croisée en présence du catalyseur ruthénié **c** fournit un homologue de proline **d** avec un excellent rendement.

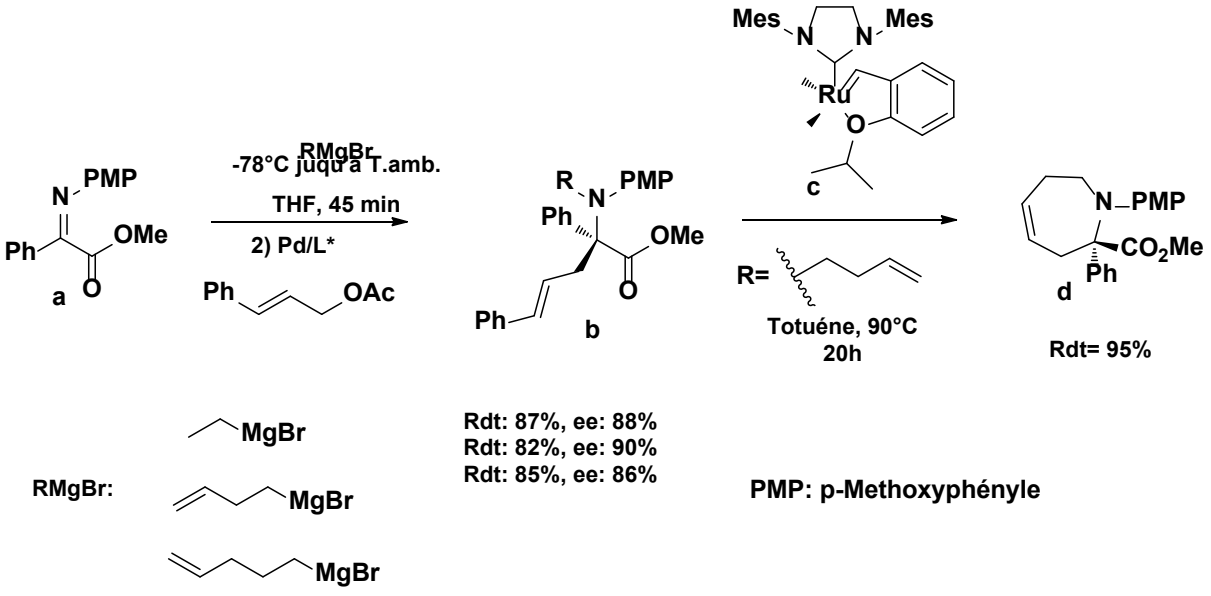


Schéma 9

Brigaud et al. [12] ont décrit la réaction de Strecker appliquée à l'imine issue du (R) phénylglycinol et du trifluorocétoacétate d'éthyle en présence de cyanure de triméthylsilyle (TMSCN), conduisant à l'aminonitrile **A** (mélange de diastéréoisomères inséparable) avec une faible diastéréosélectivité. Leur transformation en morpholinone **B** permet la séparation des diastéréoisoméres pour conduire après hydrolyse acide aux acides (R) et (S)-α- trifluorométhyl aspartiques **C** sous forme de chlorhydrate énantiomériquement pur.

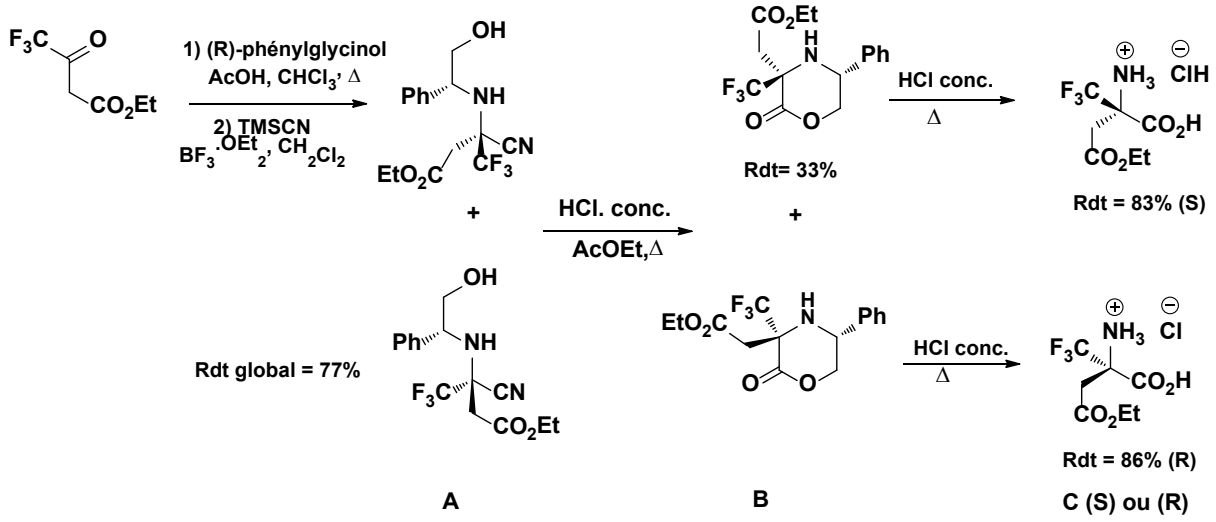


Schéma 10

Récemment, Chida et al. [13] ont décrit la synthèse d'aminoacide énantiopur **2** comportant 2 chaînes fonctionnelles, par réarrangement d'Overman stéréospécifique de trichloroacémidates allyliques **1**.

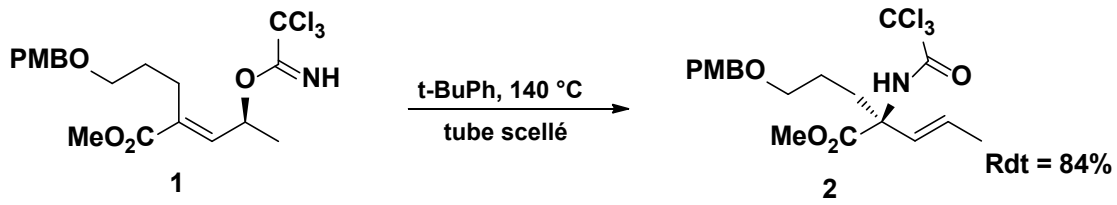


Schéma 11

L'équipe de Wang [14] a rapporté une synthèse énantiosélective des dérivés d'α-aminoacides **A3** et **A4** par désymétrisation biocatalytique mettant en jeu l'enzyme Rhodococcus AJ270. L'amidase de α-malonamide **A1** (dérivé de l'α-aminomalonate diéthyle et de bromure allylique) conduit rapidement et avec une haute énantiosélectivté au monoacide **A2**. La déprotection de **A2** par le diazométhane conduit à l'(-)-α -allyle sérine **A3** après réduction sélective puis hydrolyse. Cependant la déprotection de l'amine par le bromure de benzyle conduit aux analogues amides de sérine **A4** après une réduction sélective.

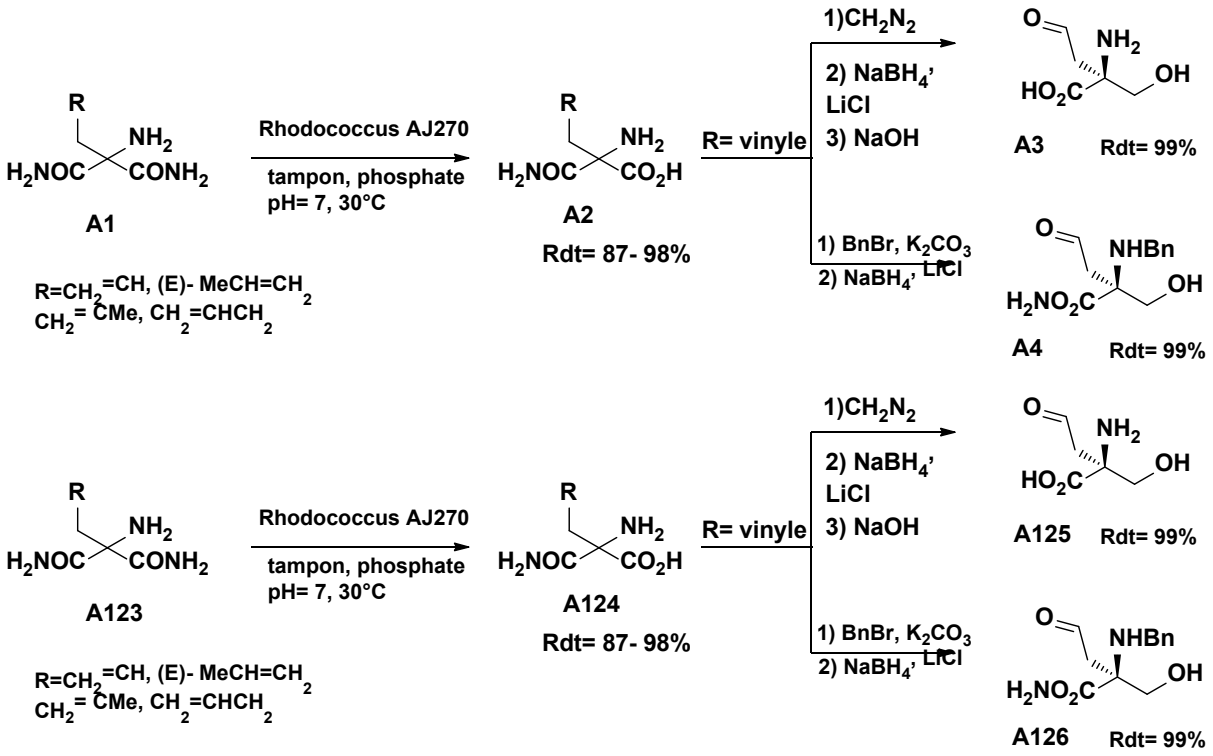


Schéma 12

Nguyen et al. [15] ont exploré à une nouvelle voie de synthèse de nouveaux aminoesters à partir des isoxazolidines **a**, obtenue via la cycloaddition dipolaire-1,3 diastéréosélective entre une cétonitrone de l'acide aspartique et un éther vinylique. L'ouverture directe de la liaison N-O de cet adduit par les méthodes de la littérature n'a donné aucun résultat. En revanche, il a été montré la possibilité de réaliser la débenzylation de la position azotée sans ouverture du cycle.

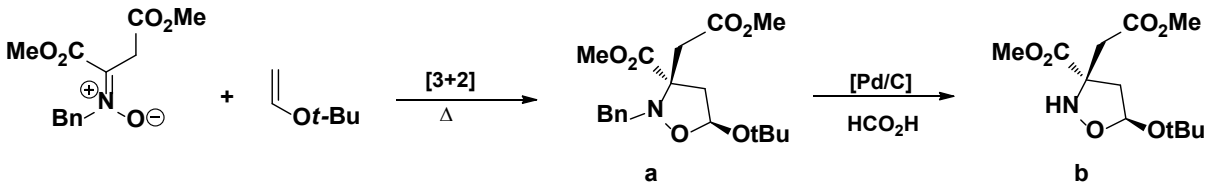


Schéma 13

Le dérivé d'isoxazolidine **b** décrit précédemment par l'équipe de Nguyen et al [15] a subi une *N*-acylation par l'anhydride acétique ou trifluoroacétique, et le traitement de ces isoxazolidines N-acylées par des réducteurs, a conduit aux différents dérivés d'amino-diesters par deux chaînes aspartiques différenciées. Ainsi, l'isoxazolidine **c** N-acétylée a été convertie en amido-aldéhyde **d** après traitement par un excès de l'iodure de samarium SmI_2. De façon inattendue, un traitement similaire par SmI_2 de l'isoxazolidine **e** N-trifluoroacétylée a conduit non pas à l'aldéhyde, mais à l'ester correspondant **f.**

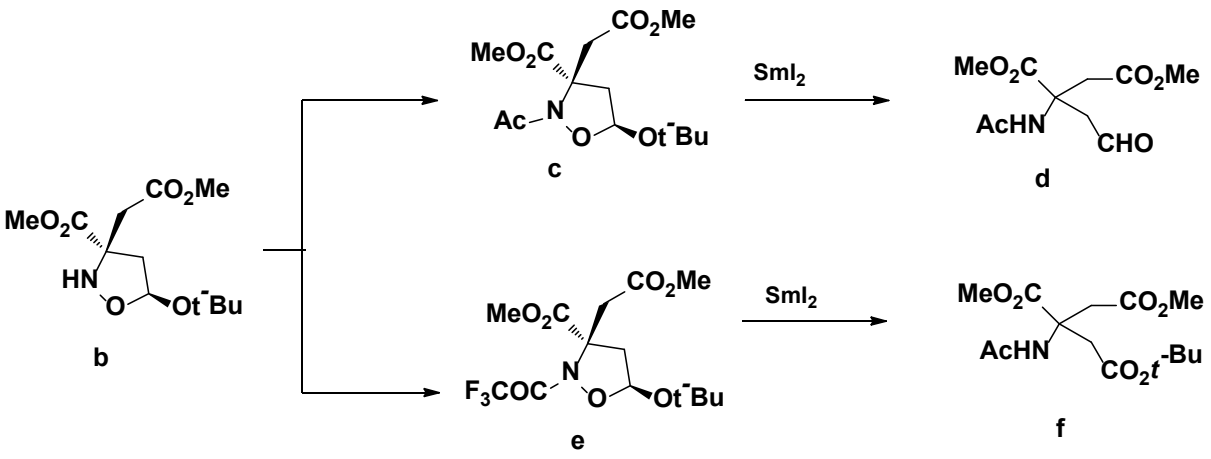


Schéma 14

La synthèse d'α-aminoesters α-quaternaires cycliques (6-9) a été rapportée par Motei et al. [16] à partir d'oxydes d'arylnitrile ou d'oxyde de pyridylnitrile, générés in situ à partir d'aryloximes (2-4) ou de pyridyloximes (5) et de l'ester méthylique de N-Boc déhydroalanine **1** via la réaction de 1,3-cycloaddition dipolaire. Ces α-aminoesters isoxazoliniques (6-9) sont obtenus avec d'excellents rendements.

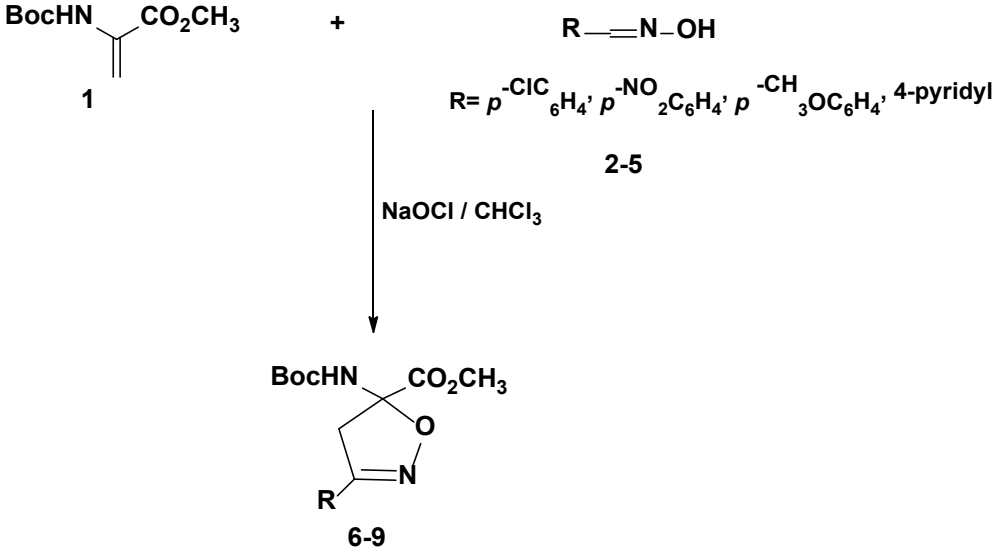


Schéma 15

De nouveaux composés dérivés de 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl-carbamate ont été préparés par Naffa et al. [17]. L'analyse de dix-neuf aminoacides trouvés dans le collagène a été optimisée en utilisant le 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl-carbamate comme réactif de dérivatisation, les résultats ont montré qu'ils ont des applications intéressantes contre le VIH-1 et le VIH-2 dans des cellules MT-4 avec un index thérapeutique (IS) trés élevé.

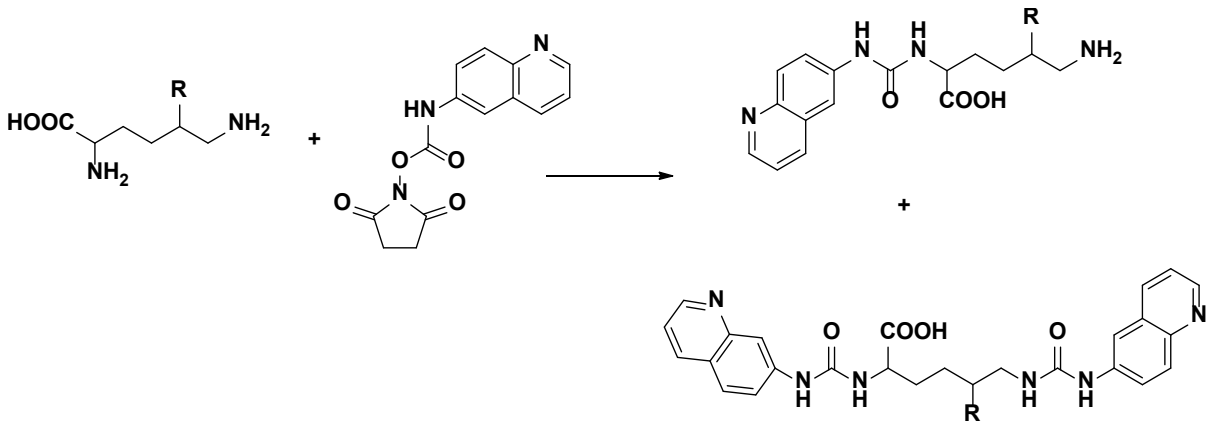


Schéma 16

Ashwood et al. [18] ont rapporté à leur tour une autre stratégie de synthèse d'un acide aminé *N*- benzyloxycarbonyle α,α-dialkyle. La méthode est basée sur l'alkylation diastéréosélective, en utilisant un tétrahydropyrroloindole en tant qu'intermédiaire et l'hexaméthyldisilazane de lithium (LIHMDS) comme base et dans le *N,N'*-Diméthylpropylèneurea (DMPU). Les tétrahydropyrroloindoles alkylés ont été facilement convertis en acides aminés correspondants par traitement avec l'acide trifluoroacétique ou sulfurique pour récupérer le noyau indole puis avec tétrakis (triphénylphosphine) palladium pour éliminer le groupe protecteur allyle de la partie acide carboxylique.

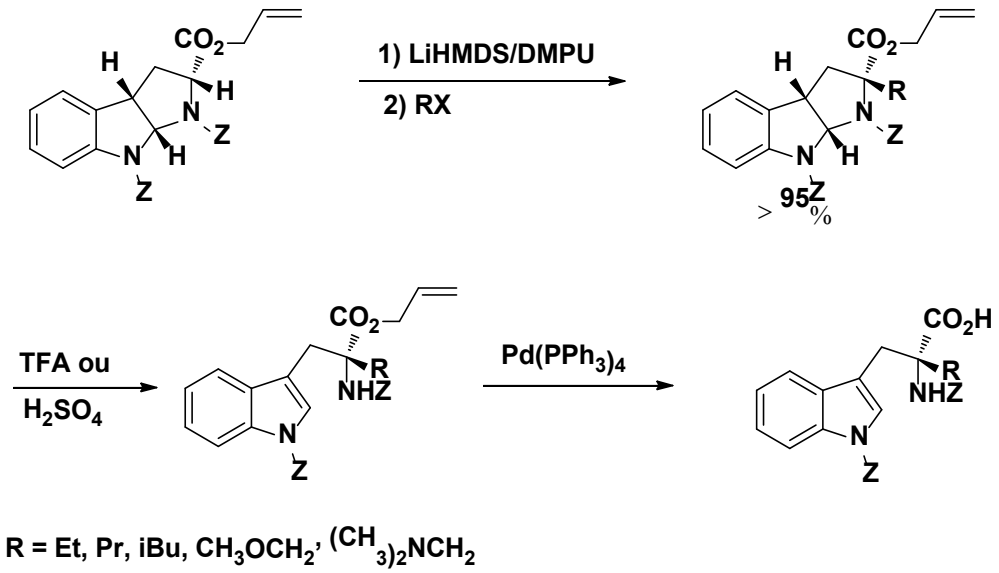


Schéma 17

Olma et al. [19] ont présenté une étude, qui a pour but de synthétiser différents dérivés de *N*-Boc-α-alkyl-β-(amino)alanines par une cyclisation des N-Boc-α-alkylsérines en β-lactones correspondantes dans les conditions de réaction de Mitsunobu. L'ouverture du cycle s'effectue

en introduisant différentes amines hétérocycliques (pyrrolidine, pipéridine, morpholine et thiomorpholine).

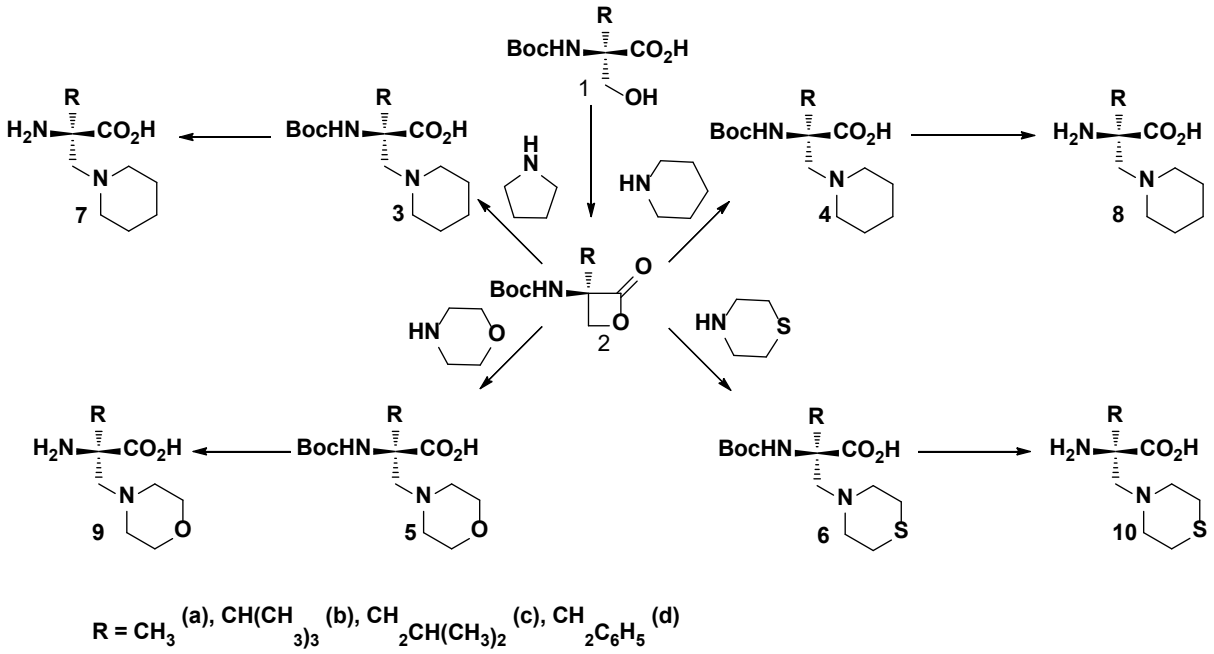


Schéma 18

En 2016, Roviello et al. [20] ont préparé la triazolyl-thione L-alanine substitué par le fructosylthiophényle (dénommé Fru-l-TTA). Ce nouveau dérivé de fructosyle a été obtenu en utilisant la réaction d'Amadori (schéma 19) par analogie avec d'autres fructosylaminoacides naturels.

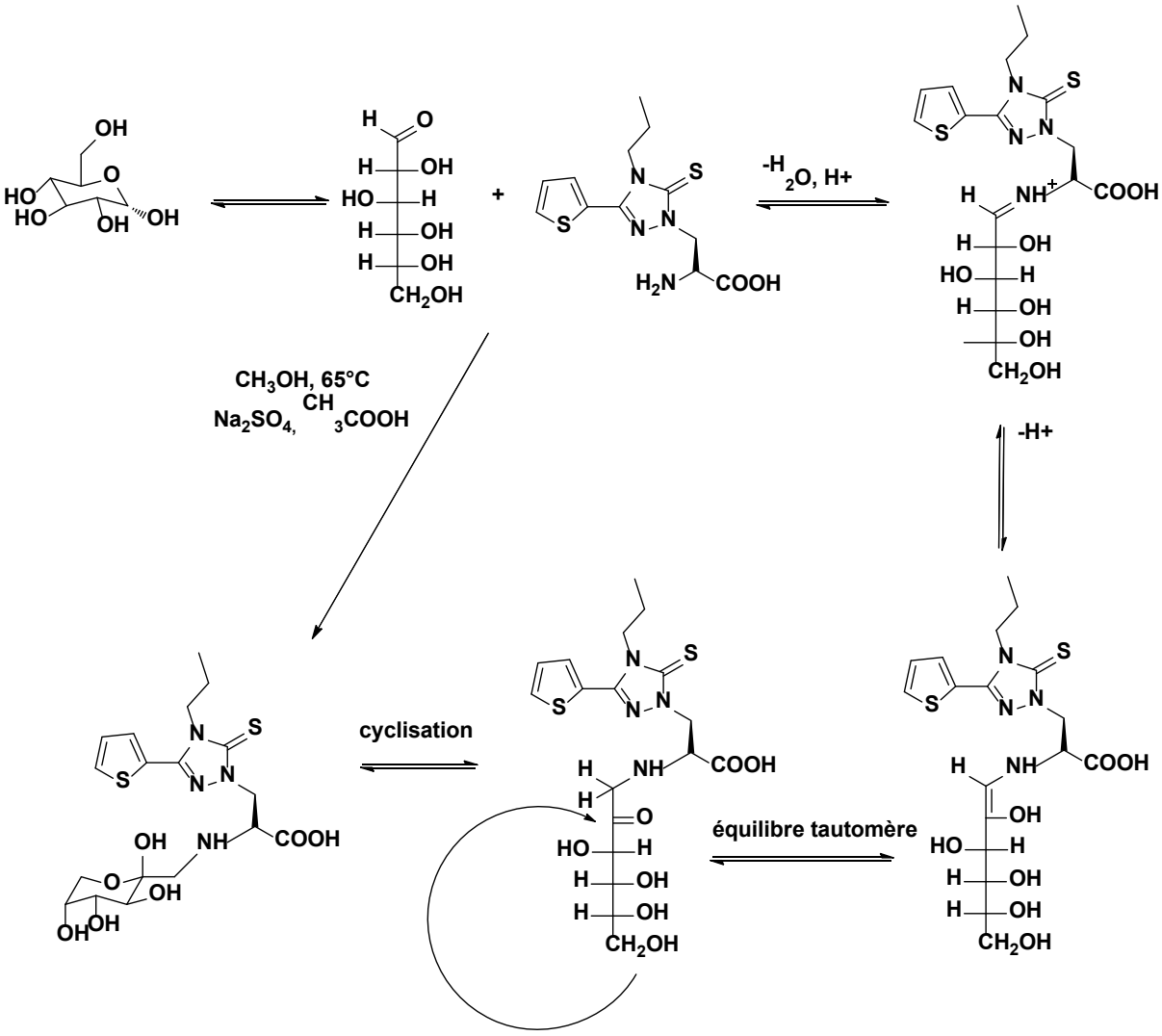


Schéma 19

D'autres fructosylaminoacides naturels ont été synthétisés par la même stratégie dans l'objectif d'effectuer une étude comparative de leurs propriétés biologiques avec celle de leurs homologues naturels [20] (schéma 20).

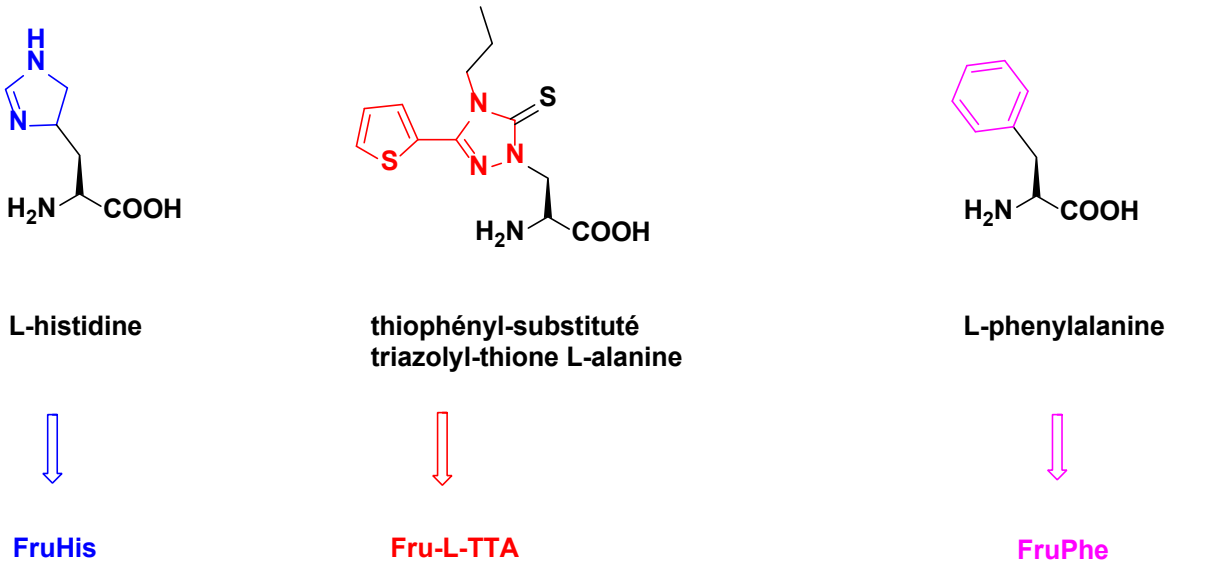


Schéma 20

Ghalehshahi et al. [21] ont présenté aussi une approche très efficace pour la synthèse des acides aminés N-coumaryliques. La stratégie adoptée se base sur l'addition nucléophile d'esters méthyliques d'acides aminés à la 4-tosylcoumarine afin d'aboutir à une série de 4-*N*-α-coumaryl aminoacides avec de bons rendements (schéma 21).

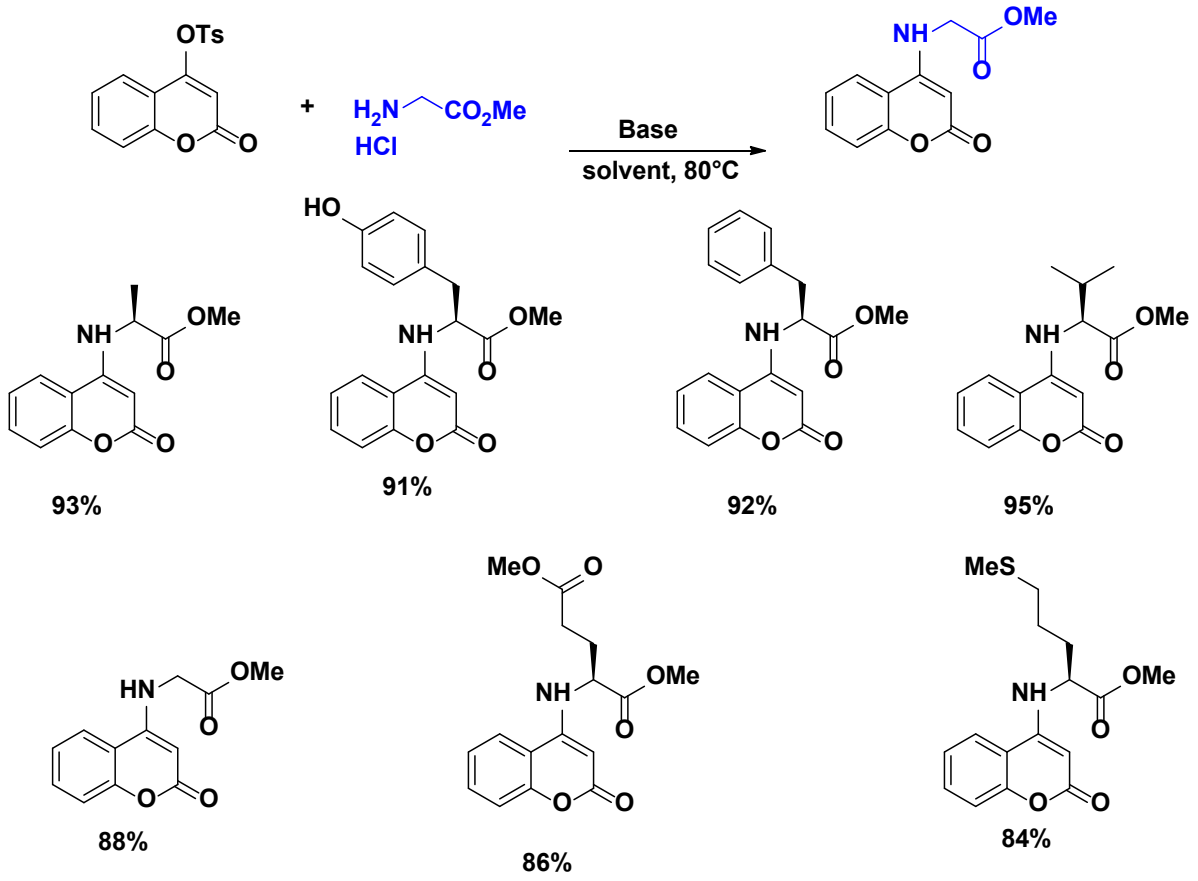


Schéma 21

De même, en 2018, M. Ferreira et al. [22] ont mis au point une méthode de synthèse d'une nouvelle famille de thinylbenzoxazol-5-yl-L-alanines. Ces dérivés d'alanines hétérocycliques **3a-f**, ont été évalués pour leurs propriétés environnementales et analytiques (schéma 22).

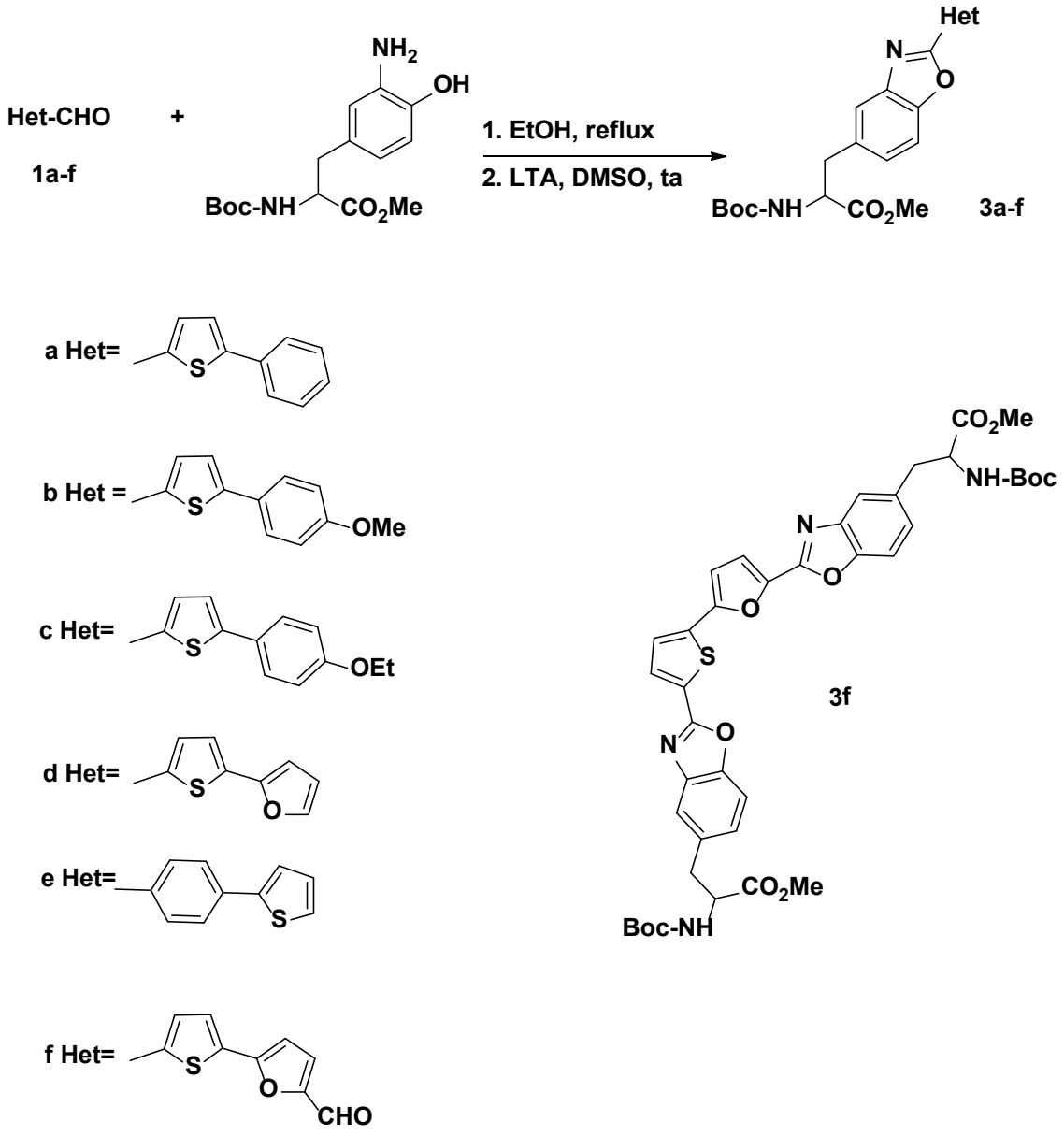


Schéma 22

Lamaty et ses collègues [23] ont également rapporté une synthèse asymétrique d'un dérivé d'aminoester avec un rendement de 96% et une énantioséléctivité de 51%. La réaction d'alkylation s'est déroulée dans des conditions basiques en présence d'un catalyseur.

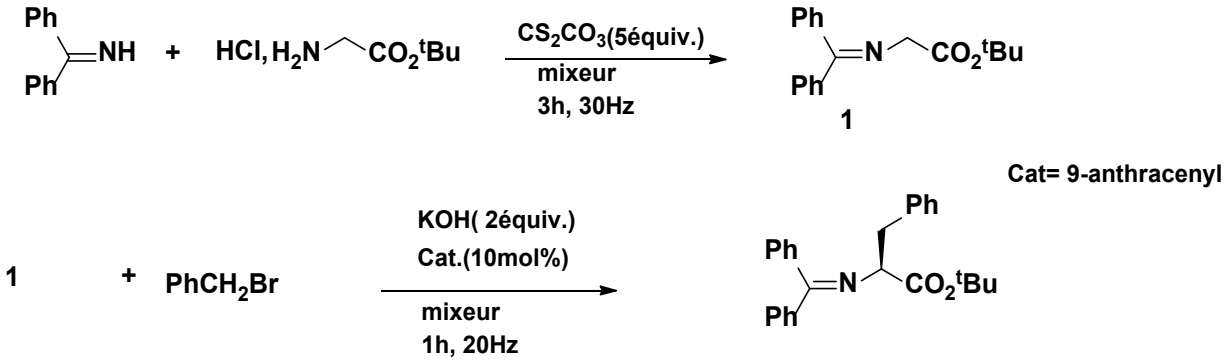


Schéma 23

L'équipe de Sansano [24] a utilisé la pyrazinone dérivée de l'alanine pour la synthèse asymétrique d'α-aminoacides disubstitués par addition de Michael sur différents acrylates d'alkyle. La réaction se déroule en présence du 1,8-diazabicyclo [5.4.0] undéc-7-ène (DBU) comme base ou en présence d'un catalyseur de transfert de phase comme le TBAB à température ambiante pour conduire après hydrolyse acide à l'acide α-méthyl glutamique A10 avec une excellente énantiosélectivité.

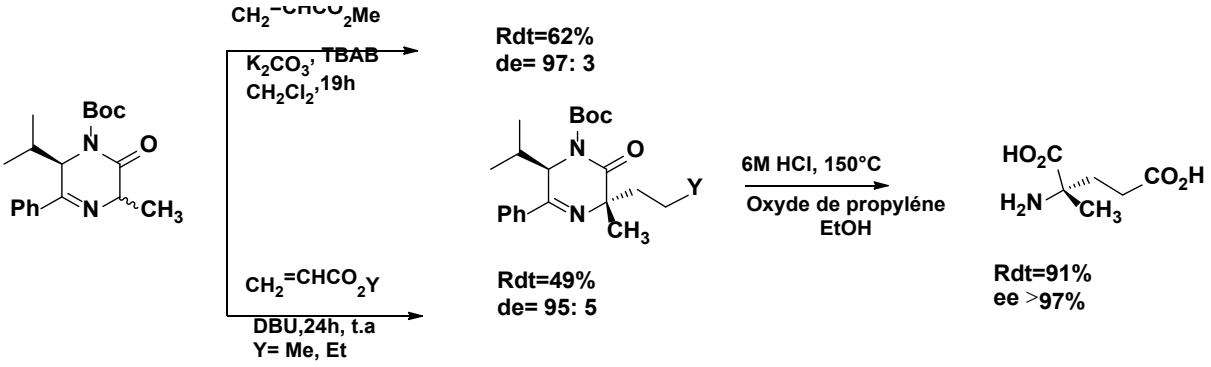


Schéma 24

Singh et al. [25] ont décrit la synthèse asymétrique de la (R)-N-Fmoc-S-Trityl-méthyl cystéine A17 avec une haute énantiosélectivité (>95%). Cette synthèse est basée sur une alkylation diastéréocontrôlée de la thioxazoline A14. Le traitement par le n-butyllithium dans l'hexaméthylphosphoramide (HMPA) conduit à la formation d'énolate chélaté.

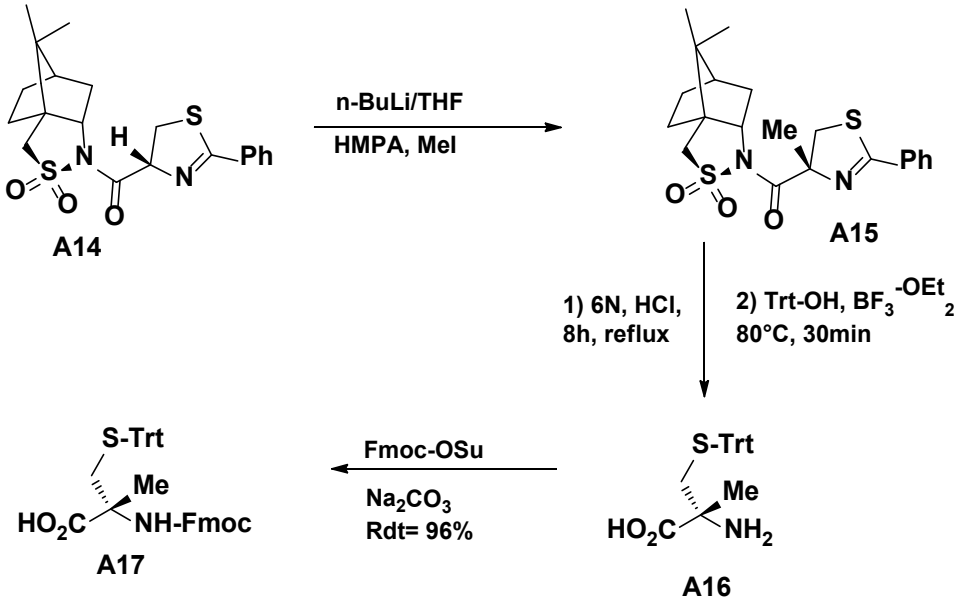


Schéma 25

Fang et al. [26] ont décrit une méthode de synthèse d'α-aminoesters en présence catalytique de sels de nickel^{II} et de picolinaldéhyde. Cette méthode a l'avantage de pouvoir s'appliquer à de nombreux aminoacides naturels sous une forme libre ou protégée. L'utilisation de ligands diphosphines chiraux permet de réaliser l'allylation pour accéder à l'aminoester **2** avec une énantiosélectivité dépassant 90%.

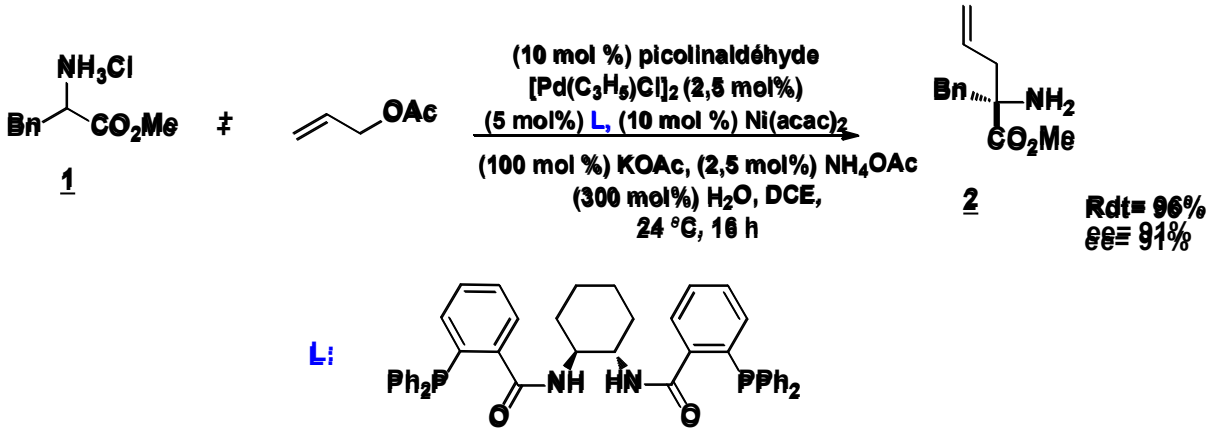


Schéma 26

Ma et Ding [27] ont démontré que l'oxazinone **1**(dérivée de produits de la réaction de Strecker du phénylglycinol avec un aldéhyde en présence de cyanure de triméthylsilyle) peut être utilisée comme substrat pour l'aldolisation diastéréosélective (rapport diastéréoisomérique compris entre 8:1 et 10:1) afin d'accéder à l'aminoacide disubstitués **3** avec un bon rendement global.

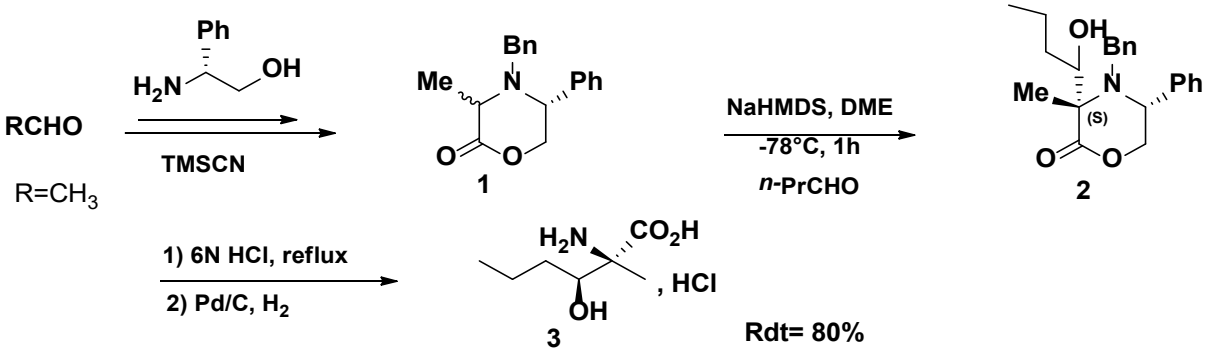


Schéma 27

Vu l'intérêt que portent les aminoacides triazoliques, plusieurs structures de recherche à l'échelle internationale ont essayé différentes approches de synthèse. Nous rapportons ici celles se basant sur la condensation des1,2,4-triazolessur les aminoacides en vue de synthétiser des composés ayant des applications dans le domaine biologique.

La β-(1,2,4-triazol-1-yl)-L-alanine est connue comme métabolite important du fongicide myclobutanil [28-30] et la β-(3-amino-1,2,4-triazol-1-yl)-L-alanine est un métabolite de l'herbicide 3-amino-1,2,4-triazole [31].

Hawkins et al. [32] ont préparé par voie enzymatique la synthèse deβ-(1,2,4-triazol-1-yl)alanine à partir de la O-acétyl-L-sérine et le 1,2,4-triazole (schéma 28).

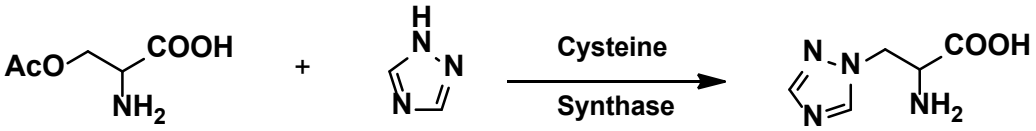


Schéma 28

De même, Esikov et al.[33] ont synthétisé des dérivés d'acides aminés tétrazoliques, par action de l'azoture de tétrachlorosilane sur des esters méthyliques de la N-acétyl-phénylalanine **Ia** et de la N-acétyl-leucine **Ib**. Les produits **IIa**, **IIb** sont obtenues avec de bons rendements.

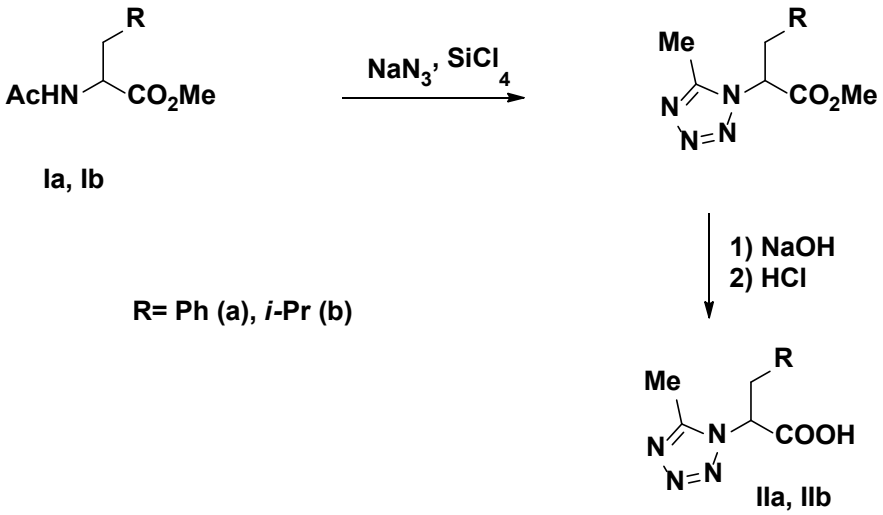


Schéma 29

Au sein de notre laboratoire de chimie organique, Elhajji [34,35] s'est basé sur la réaction de cycloaddition dipolaire-1,3, qui constitue l'étape clé de la synthèse d'aminoacides triazoliques. L'utilisation de l'oxazoline comme produit de départ permet la synthèse d'aminoalcools, qui par simple oxydation conduit aux aminoaldéhydes et aux aminoacides correspondants avec d'excellents rendements (schéma 30).

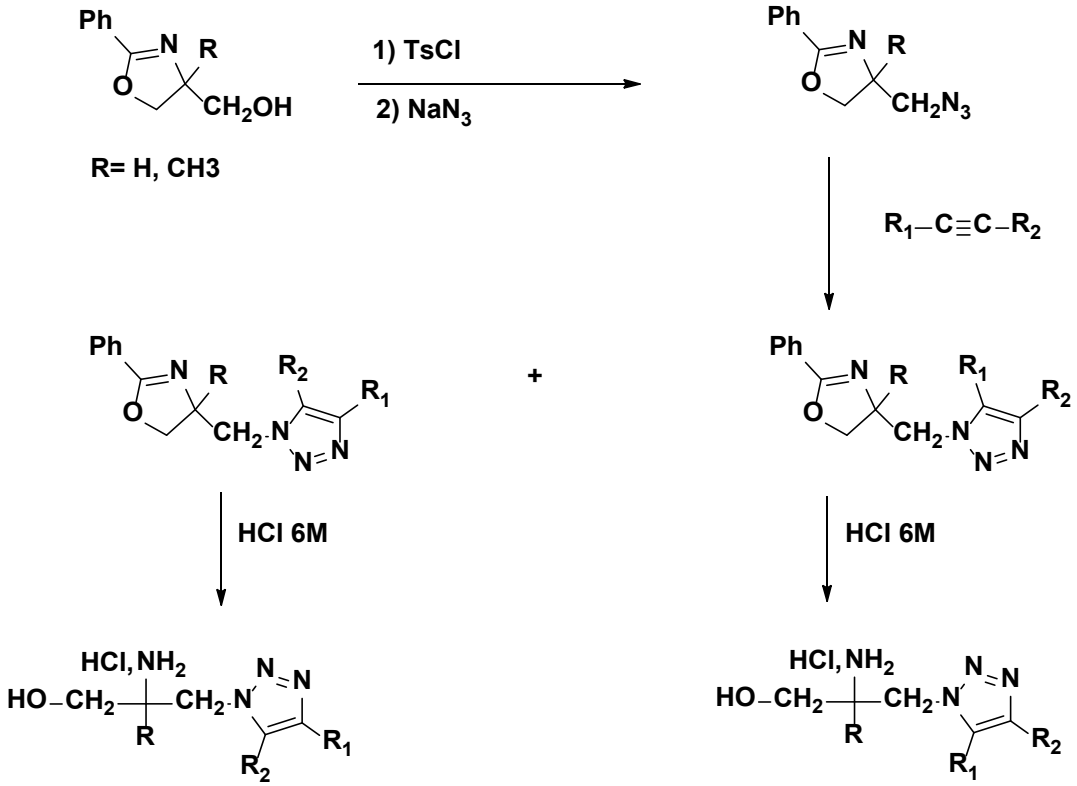


Schéma 30

La même stratégie de synthèse a été approuvé récemment par Boukhssas [36] pour synthétiser le 1-((4-méthyl-2-phényl-4,5-dihydrooxasol-4-yl)méthyl)-1H-1,2,3-triazole-4,5-dicarboxylate de diéthyle. La réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire du 4-(azidométhyl)-4-méthyl-2-phényl-4,5-dihydrooxazole avec le but-2-ynedioate de diéthyle en absence du solvant permet d'aboutir au drivé triazolique avec un bon rendement.

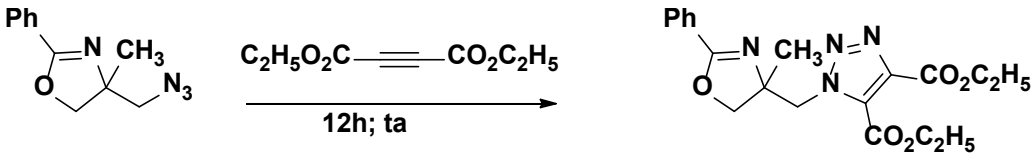


Schéma 31

Une voie similaire a été mise au point par Boukallaba [37] à partir de l'analogue phosphonique de la glycine dont l'étape clé est la substitution nucléophile du groupement azide par le 1,2,4-triazole, pour conduire à l'α-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-α-aminométhyl- phosphonate de diéthyle avec un bon rendement.

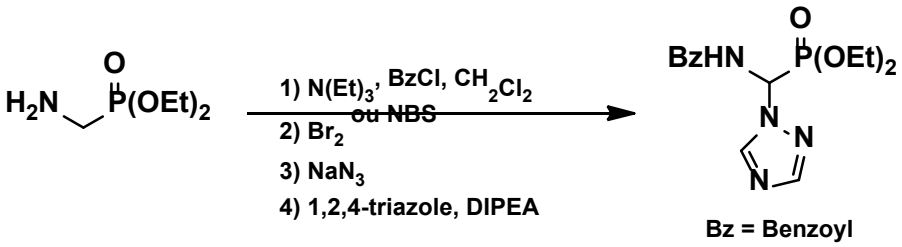


Schéma 32

En 2011, Aouine [38] a proposé une approche simple de synthèse de la N-tert-butyloxycarbonyle-2-méthyl-3-(1H-1,2,4-triazole-1-yl) alanine (schéma 33) en quatre étapes avec un rendement global de 68%. Cette synthèse a pour étape clé la substitution du groupe O-tosyle de l'oxazoline par le 1H-1,2,4-triazole.

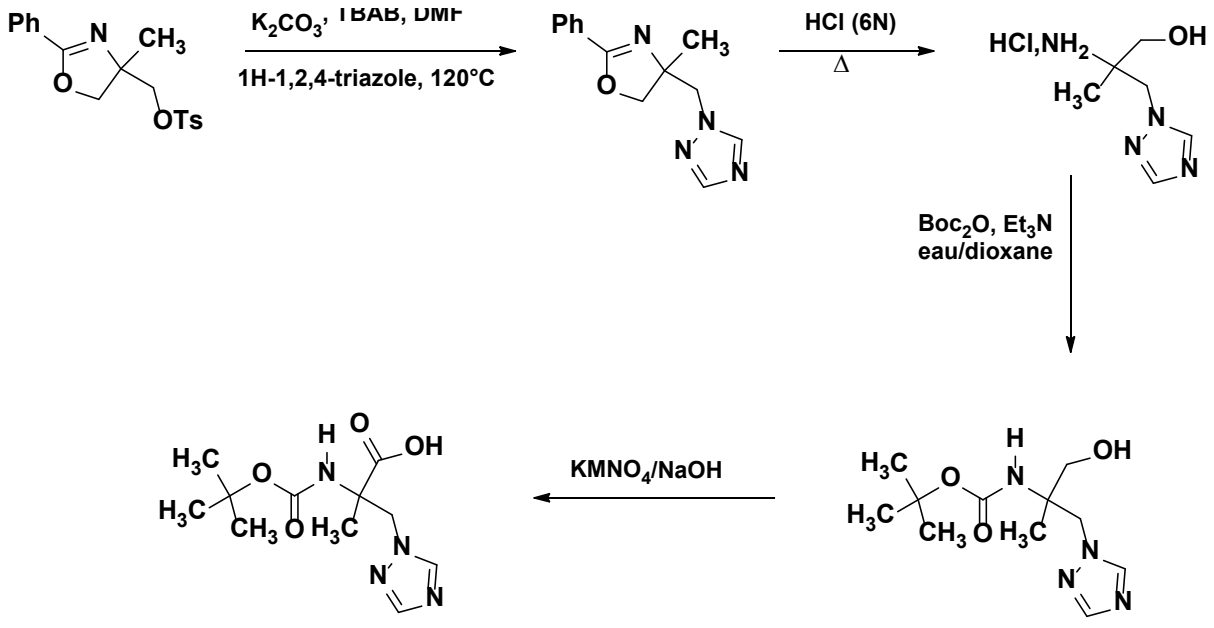
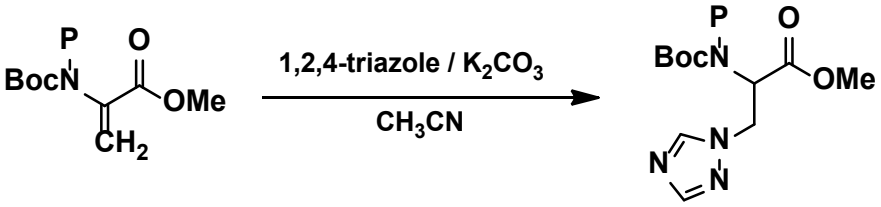


Schéma 33

La condensation du 1,2,4-triazole sur des esters de la déhydroalanine a permis à Ferreira et al. [39-41] de préparer des α, β-diaminoesters du type 2-amino-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-propanoate de méthyle *N,N*-protégés, dérivés de la β-(l,2,4-triazol-l-yl)-alanine (schéma 34).



P = Boc ; Ts

Schéma 34

Les mêmes auteurs ont également décrit la synthèse du 2-(*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)benzamido) -3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl) butanoate de méthyle par la réaction d'addition de Michael du 1,2,4-triazole sur le (E)-2-(*N*-(tert-butoxycarbonyl)benzamido)but-2-énoate de méthyle [40] (schéma 35).

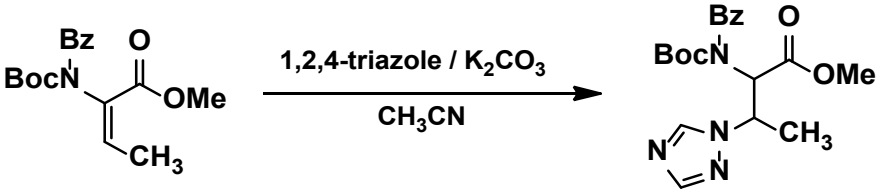


Schéma 35

Bentama et al. [42], ont réalisé une réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire entre le galactosyl-α-azidoglycinate de méthyle, et différents alcynes pour conduire à un mélange d'aminoesters triazoliques 1,4 et 1,5-disubstitué.

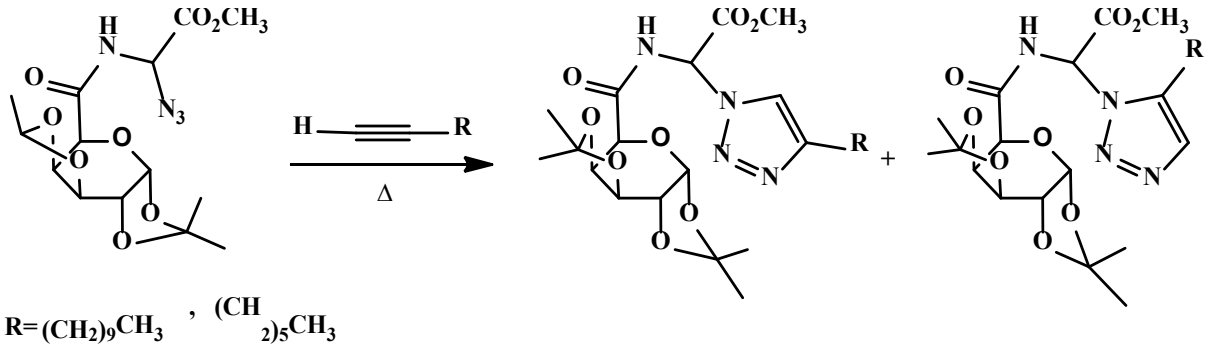


Schéma 36

Une nouvelle série d'aminoesters triazoliques contenant le cycle 1,4-benzothiazin-3-one a été synthétisée par Ellouz et al., en 2018[43], à partir des réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire d'azide α-D-galactopyranoside **A**, et α-azidoglycinate de méthyle-N-benzoylé **B** avec les composés 1–3.

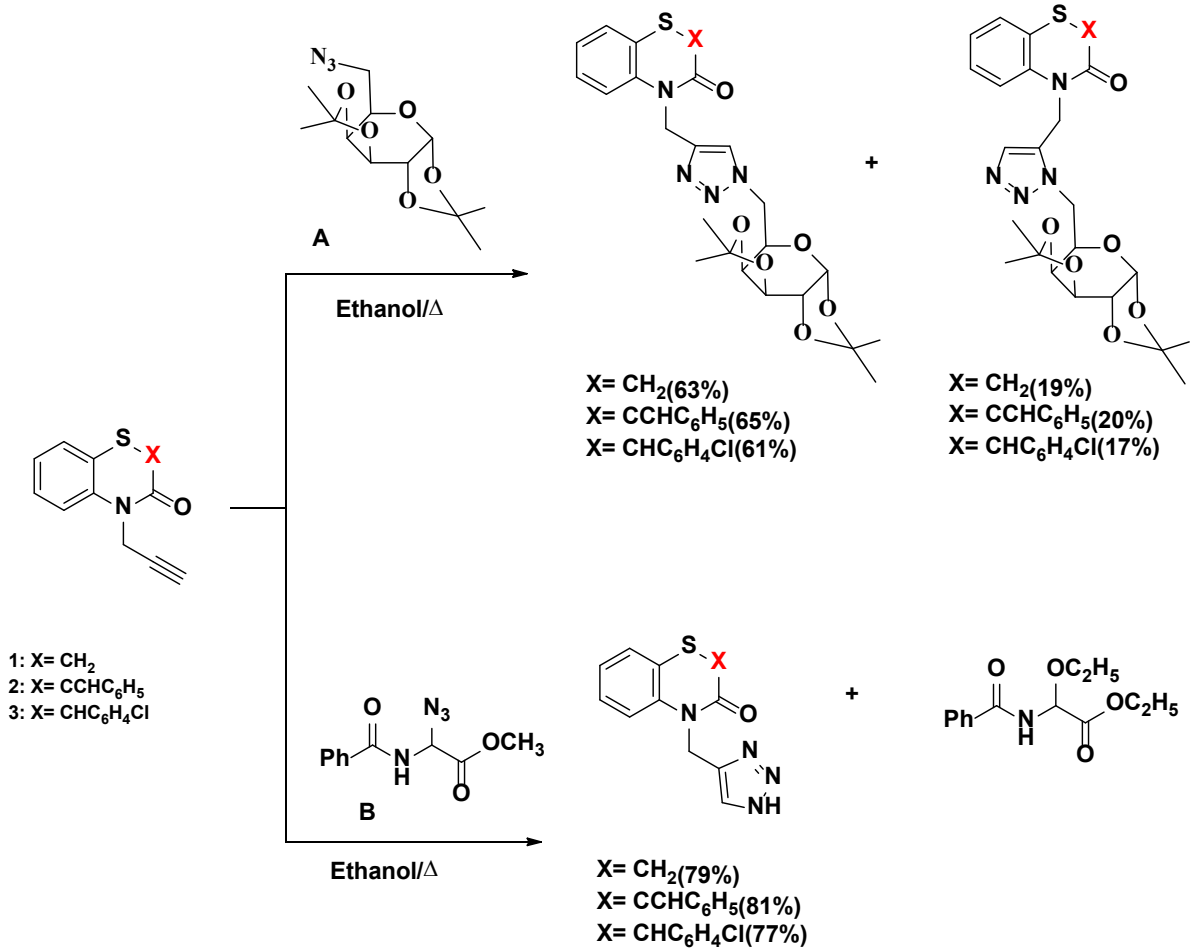
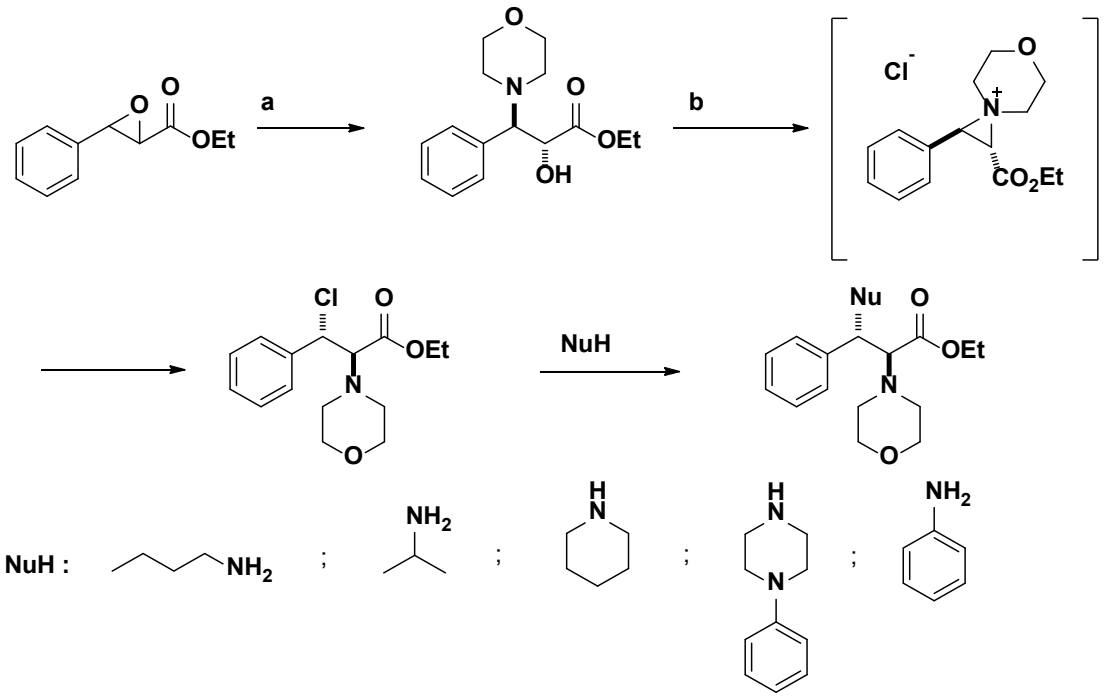


Schéma 37

II. Rappel bibliographique sur les dérivés diamino-esters carboxyliques

La synthèse de dérivés diaminoesters carboxyiques a suscité également l'intérêt des chercheurs. Nous rapportons dans cette section quelques travaux de recherches correspondants.

Chuang et al. [44], ont préparé de nouveaux dérivés d'α,β-diaminoester à partir d'un ion aziridinium. La stratégie utilisée est basée sur la substitution nucléophile de l'ion aziridinium par différentes amines. Le schéma ci-après résume les différentes étapes de cette synthèse.



a. morpholine, EtOH,reflux,12h; **b**.MsCl, Et_3N, CH_2Cl_2, 0°C,3h; **c**. NuH(1,2équi), K_2CO_3, CH_3CN,60°C,12h

Schéma 38

Une réaction catalytique et énantiosélective des bases de Schiff glycinate avec des aryl imines conduisant à des α, β-diaminoesters protégés, a été réalisée par Hernandez-Toribio et al. [45]. Le succès de cette réaction réside dans l'utilisation de(R)-2-(tert-Butylthio)-1-(diphénylphosphino)ferrocene,(R)-FeSulPhos en tant que catalyseur.

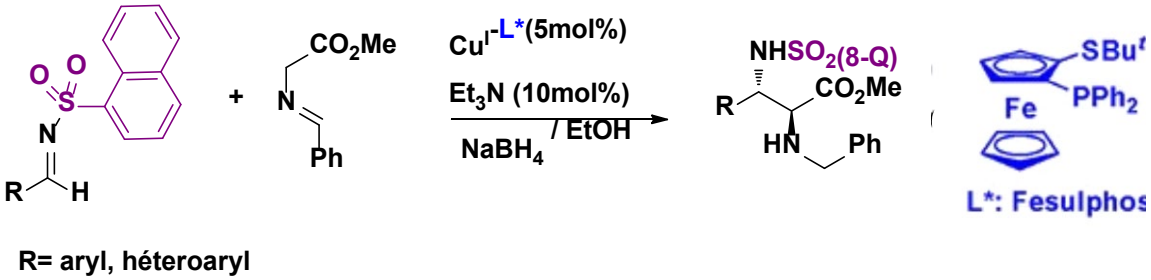
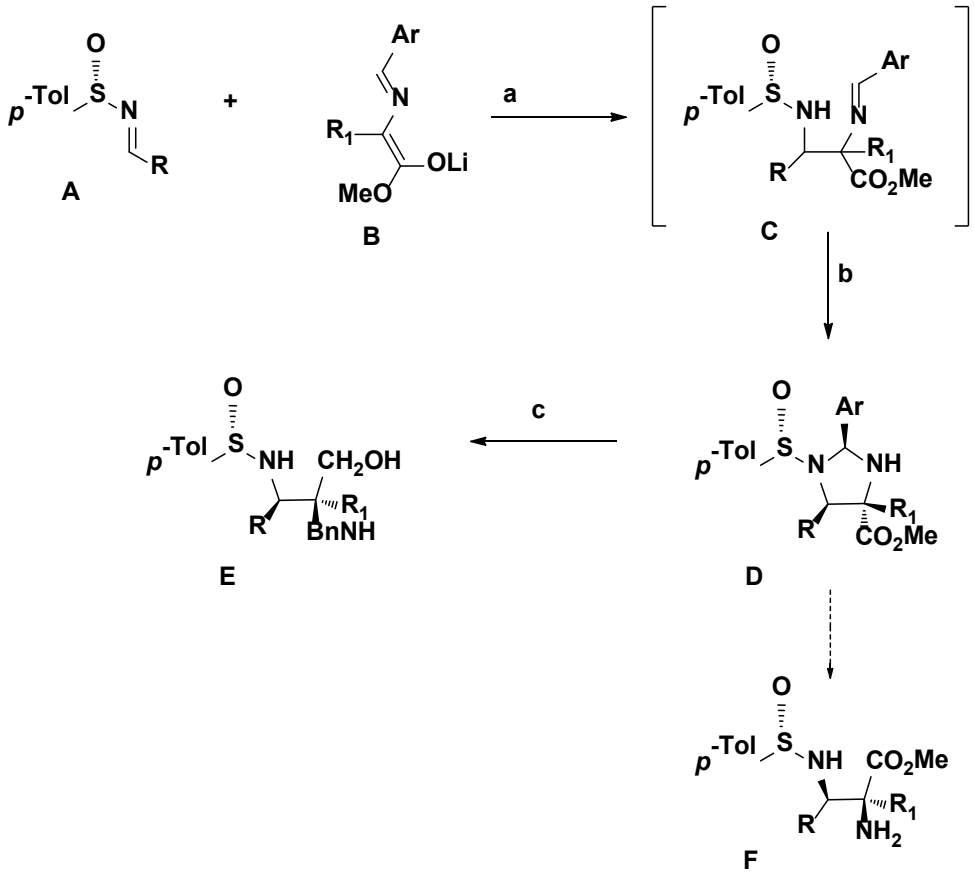


Schéma 39

Une nouvelle voie de synthèse a été développée par Viso et al. [46] qui consiste à préparer des N-sulfinyldiamino esters énantiomériquement purs à partir de différents précurseurs tels que les sulfinimines et les iminoesters lithiés comme schématisé ci-après (schéma 40). Le problème de cette synthèse est que le produit désiré **F** ne peut pas être obtenu en raison du clivage de la molécule **D** au cours de l'hydrolyse, ce qui donne le diamino-alcool **E** au lieu du diamino-ester.



(a) BF_3 Et2O, -78 °C, THF. (b) $CHCl_3$, 2-4 jours, t.a (60-93%).(c) $LiAlH_4$, Et_2O, 0 °C à t.a, 2-7 h (65-85%).

Schéma 40

Pour éviter la fragmentation indésirable trouvée auparavant, Viso et al. [46] ont traité l'imidazolidineavec du H_3PO_4 aqueux (0,5 M) dans du THF, pour obtenir le N-sulfinyldiaminoester avec un bon rendement.

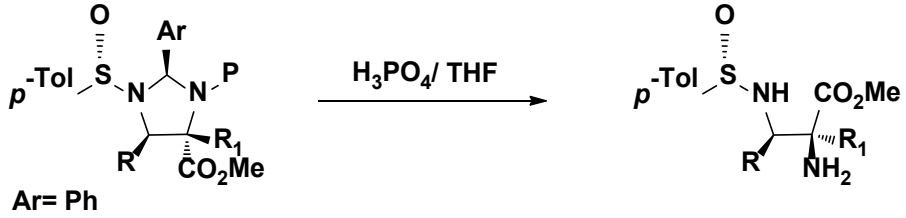


Schéma 41

La même équipe de recherche [46] a synthétisé le 2-piperidinyl glycinate de méthyle à partir de la N-benzyloxycarbonyl-N-sulfinyldiamino ester. La méthode approuvée ici consiste à enlever le sulfinamide par traitement du composé **1** avec H_3PO_4 aqueux dans le méthanol suivi d'une cyclisation (schéma 42).

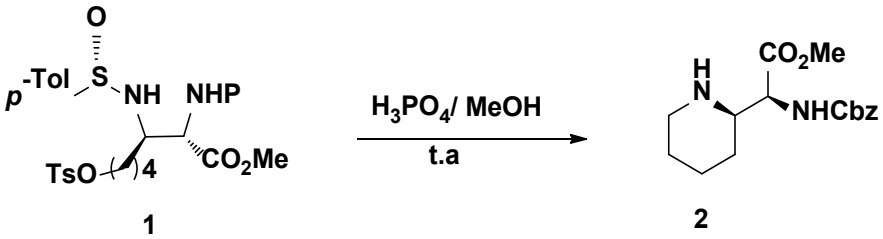


Schéma 42

En 2014, Xie et al. [47] ont rapporté une méthode pratique et simple pour la synthèse de dérivés d'α,β-diaminoesters β-trifluorométhyle avec d'excellents rendements et une diastériosélectivité totale (> 99%).

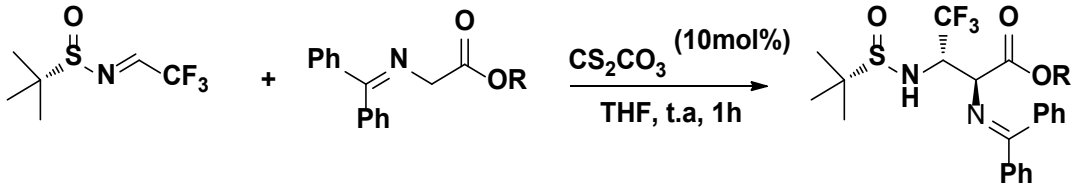


Schéma 43

Parmi les travaux réalisés dans notre équipe de recherche. On cite ici les travaux suivants :

Bentama et al. [48] ont préparé l'α-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)glycinate de méthyle *N*-protégé à partir de la glycine comme matière première. La stratégie adoptée est résumée dans le schéma ci-dessous.

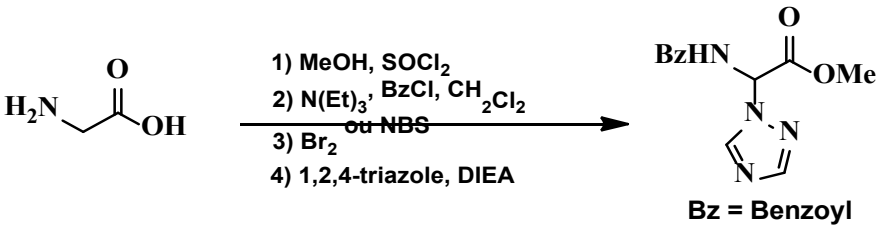


Schéma 44

En se basant sur la même procédure décrite précédemment, Mabrouk et al. [49] ont synthétisé de nouveaux α,α -diaminoesters carboxyliques hétérocycliques. La stratégie est basée sur la N-alkylation du 3-amino-1,2,4-triazole, du 2-tétrahydrofuran-2-ylméthane-amine et du 2-méthyl quinolin-4-amine, avec l'α-azidoglycinate de méthyle N-benzoylé. Le dérivé d'azide a été préparé en utilisant la méthode de Steglich [50] et d'Achamlale [51].

La réaction a été effectuée dans l'acétone anhydre comme solvant à température ambiante pendant 48 h en présence de la diisopropyléthylamine (DIPEA) comme base.

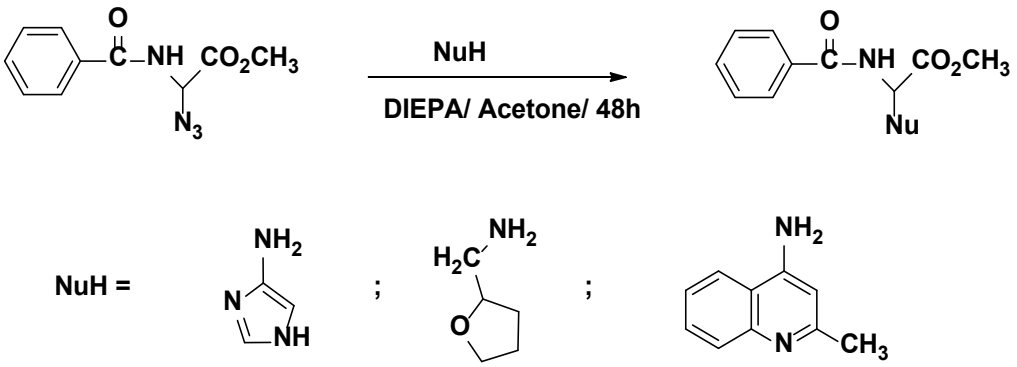


Schéma 45

Mabrouk et al. [52] ont étendu cette réaction de N-alkylation à d'autres types d'amines non hétérocycliques (Schéma 46).

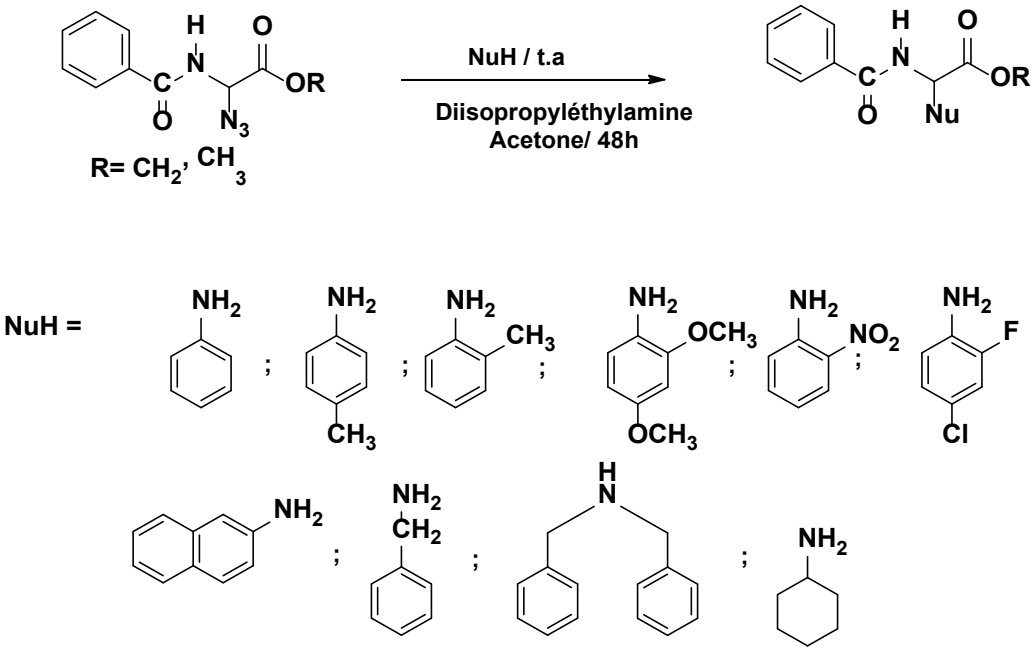


Schéma 46

III. Rappel bibliographique sur les dérivés diamino-diesters carboxyliques

En ce qui concerne la synthèse des dérivés diamino-diesters carboxyliques, la bibliographie rapporte peu de travaux de recherche concernant ce type de composés.

Hieblet al. [53] ont décrit une synthèse énantioselective des prochiraux diaminodiesters. Ces derniers sont préparés à partir de dérivés dialdéhydes et de phosphonoglycines protégées comme il est présenté dans le schéma donné ci-après :

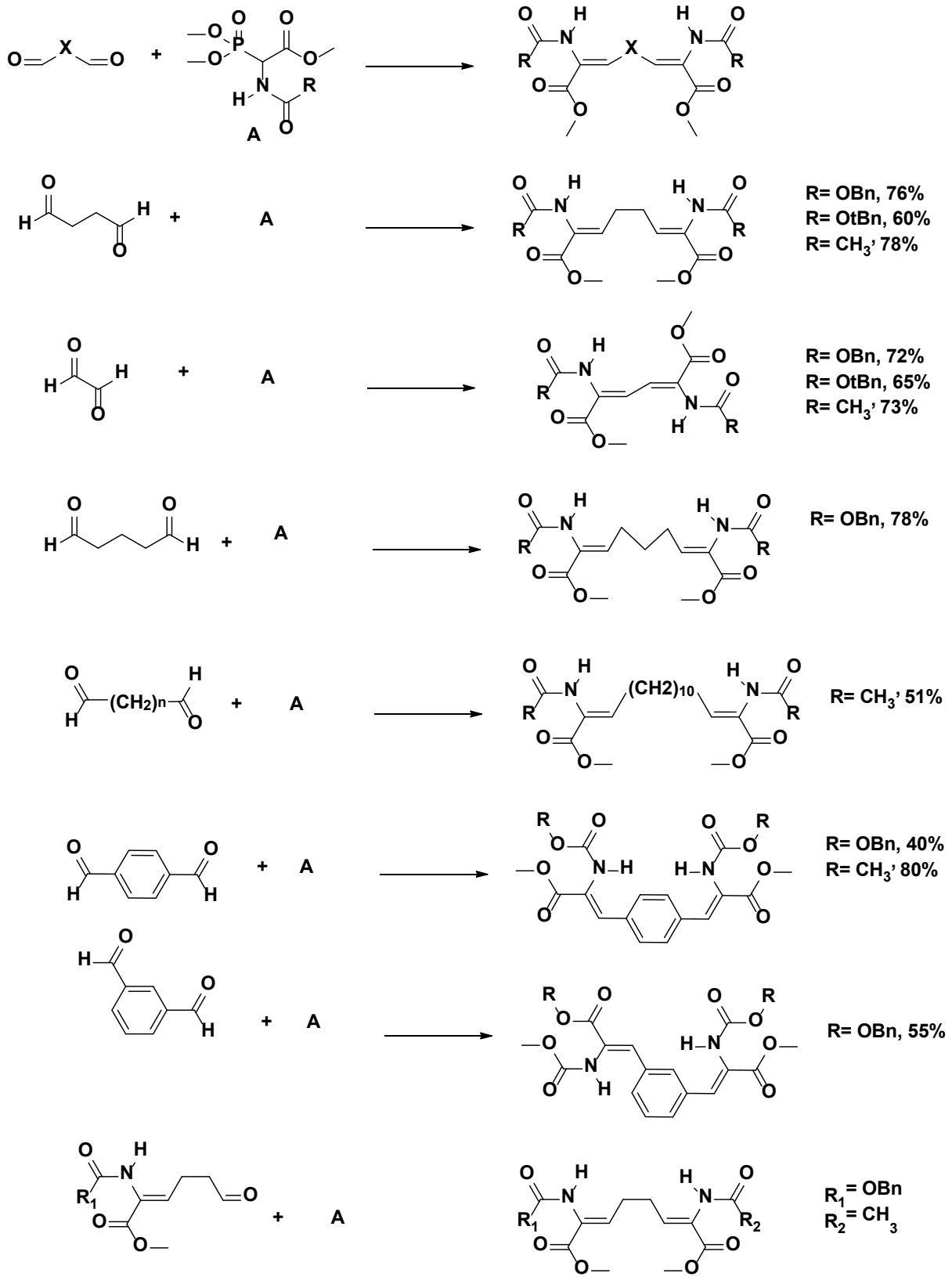


Schéma 47

Les diaminodiesters synthétisés auparavant ont subi une hydrogénation sous l'action d'un catalyseur chiral [53].

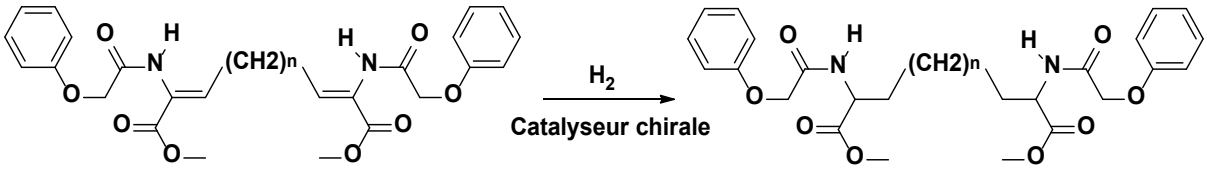
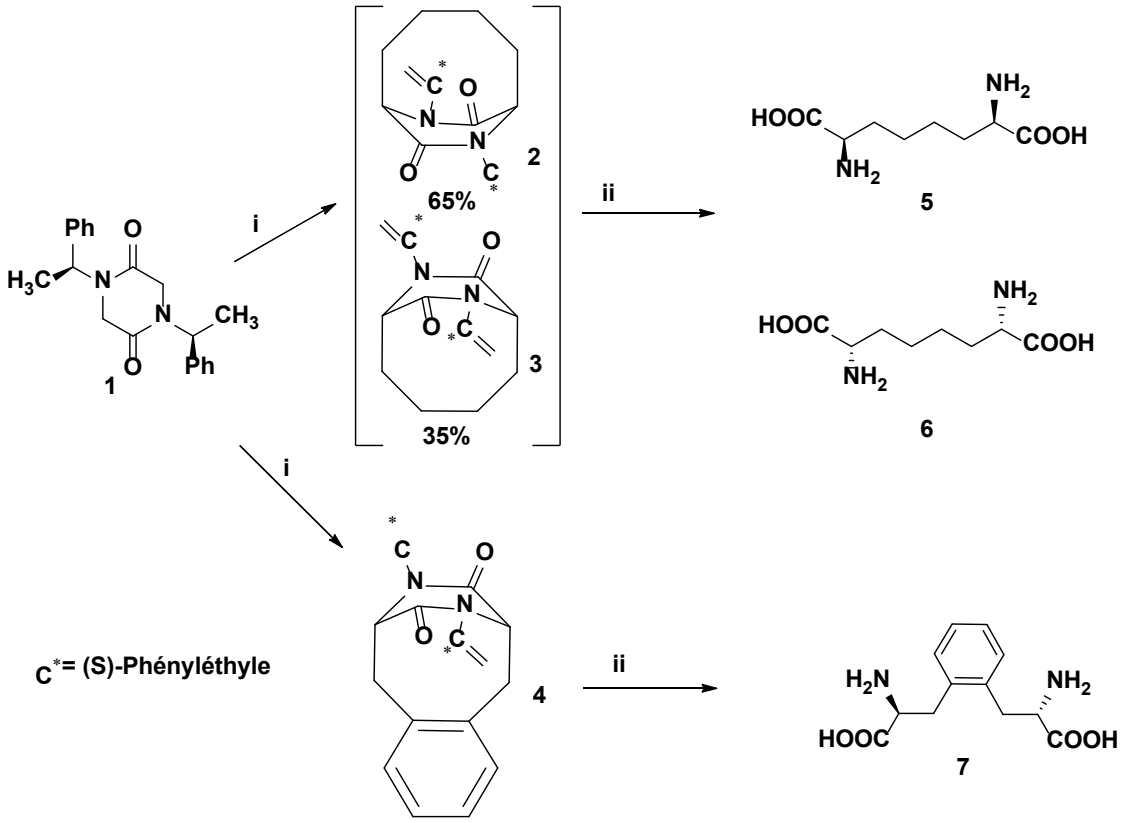


Schéma 48

En 2000, Paradisi et al. [54] ont dirigé leurs travaux vers la synthèse des analogues d'α,α-diamino-diacids carboxyliques énantiomériquement purs. La méthode suivie est basée sur l'alkylation de l'énolate chirale avec le dérivé dihalogéné approprié. L'acide 2,7-diaminosuberique (2*R*,7*R*)-**5** et (2*S*,7*S*)-**6**et (*S*,*S*)-*ortho*-phénylene-bis-alanine **7**a été obtenu avec un bon rendement.

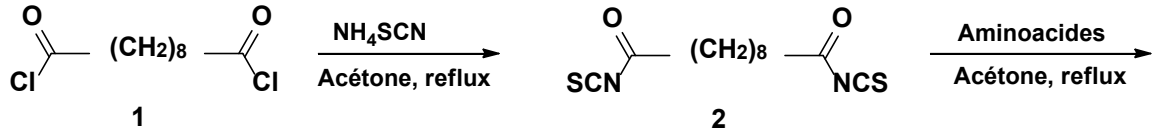


(i) 1.1 equiv. de base à -10°C, puis 1 equiv. du dérivé dihalogene, puis 1.1 equiv.de base à -78°C et séparation par chromatographie ; (ii) reflux 57% HI, puis adsorption sur résine échangeuse d'ions amberlite H-15 et élution avec 5 M NH_4OH_4

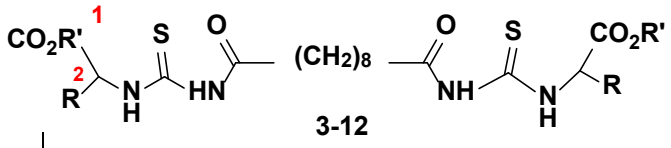
Schéma 49

Une série d'acide ou d'ester de sébacoyle N,N-bis (alkyl-2-thiouréido) carboxylique qui porte des dérivés d'aminoesters ou d'aminoacides, a été préparée par une réaction séquentielle monotope utilisant le thiocyanate d'ammonium selon la stratégie de synthèse établie par Al-Masoudi et al. [55]. Les analogues d'iminothiazole dérivés des aminoesters hétérocycliques

constituent une classe très importante des composés sélectionnés pour leur activité inhibitrice de dépistage contre VIH-1 et VIH-2 dans les cellules MT-4 (Schéma 50-51).



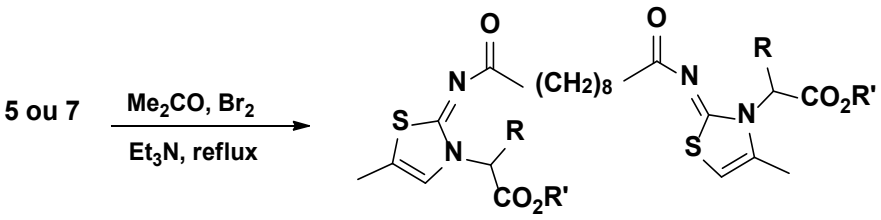
1 2



3-12

	R	R'	Aminoacides
3	$(CH_2CO_2H$	H	L-acide aspartique
4	$(CH_2)_2CO_2H$	H	L-acide glutamique
5	$CH(CH_3)_2$	Me	L-valin-Me-ester
6	$(CH_2)_4NH_2$	Et	L-lysin-Et-ester
7	CH_2SH	H	L-cysteine
8	CH_2-3-indole	H	L-tryprophane
9	CH_2-3-imidazole	H	L-histidine
10	CH_2 -guanidine	H	L-arginine
11	$(CH_2)_3$	H	L-alanine
12	CH_3	H	L-lysin
	$(CH_2)_4NH_2$		

Schéma 50



	R	R'	Aminoacids
13	$(CH(Me)_2$	Me	L-valin-Me-ester
14	CH_2SH	H	L-cysteine

Schéma 51

Au sein de notre laboratoire de chimie organqiue, Mabrouk et al.[56] ont synthétisé l'acide 2-[(1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl) amino] benzoique à partir de la réaction de N-alkylation de l'α-azidoglycinate de méthyle N-benzoylé avec l'acide 2-aminobenzoique. Le dérivé α,α-diamino-dicarboxyliques est obtenu avec un rendement de l'ordre de 72%.

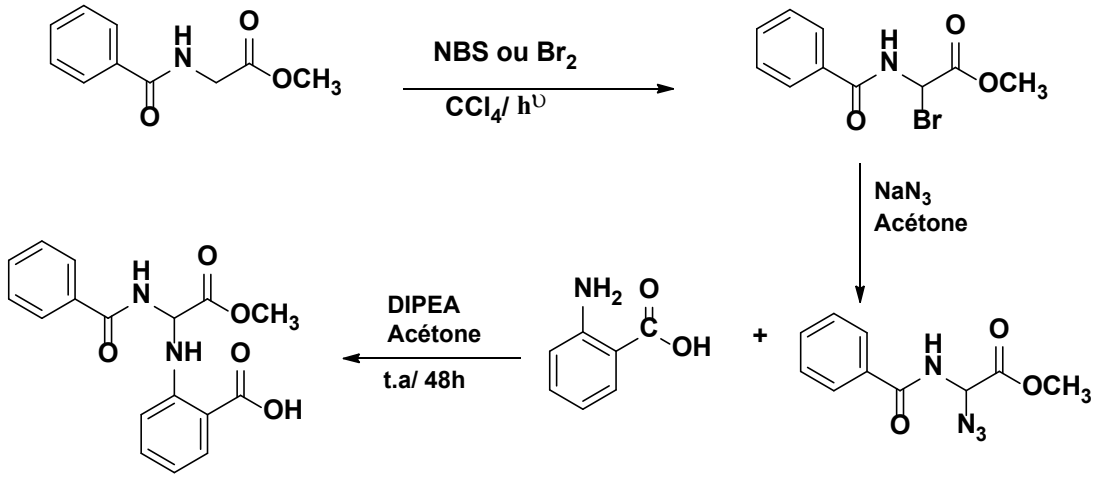


Schéma 52

Ainsi, d'après la recherche bibliographique présentée dans ce chapitre concernant, la synthèse de dérivés d'α,α-diaminoesters et d'α,α-diamino-diesters carboxyliques peu de travaux de la littérature ont été consacrés à ce type de composés, si ce n'est inexistante pour les α,α-diamino-diesters carboxyliques, chose qui nous a motivé à se focaliser de façon particulière sur cette famille de molécules.

Notre sujet de recherche s'intéresse ainsi à la synthèse d'une série d'α,α-diamino-diesters carboxyliques en se basant sur la réaction de N-alkylation de l'α-azidoglycinate de méthyle par des aminoesters carboxyliques hétérocycliques et non hétérocycliques, dans laquelle la réactivité des amines d'aminoacides carboxyliques vis-à-vis de l'α-azidoglycinate de méthyle a été étudiée.

Références bibliographiques

[1] W. Steglich, P. Muster, W. Miltz, T. Bertschneider., *Tetrahedron,* **1988**, *44*, 503.

[2] G. Hirth, M.P. Goeldn, M.J Bouchet, L.E. Sabatier, A. Jaguthen., *Helvetiga Chem.Acta,* **1990**, *73*, 86.

[3] S. R. Kapadia, D. M.Spero, M. Erikson, *J. Org. Chem*., **2001**, 66, 1903–1905.

[4] D. M. Coe, R.Perciaccante, P. A. Procopiou.*Org. Biomol. Chem.***, 2003**, 1, 1106–1111.

[5] E. Napolitano, V. Farina, *Tetrahedron Lett*., **2001**, 42, 3231– 3234.

[6] S. Mzengeza, T. K. Venkatachalam, M. Diksic.*Amino Acids.,***2000**, 18, 81–88.

[7] H. Pajouhesh, K. Curry, H. Pajouhesh, M. H. Merecht, B. Patrick, *Tetrahedron: Asymmetry*.,**2003**, 14, 593.

[8] B. Viswambharan, D. Gori, R. Guillot, C. Kouklovsky, V.Alezra, *Org. Lett*., **2014**, 16, 788.

[9] S. Cabrera, E. Reyes, J. Aleman, A. Milelli, S. Kobbelgaard, K. A. Jorgensen,. *J.Am.Chem*. Soc., **2008**, 130, 12031.

[10] D. Ikeda, M. Kawatsuraa, J. Uenishia, *Tetrahedron Lett*.,**2005**, 46, 6663.

[11] (a) J. M. Curto, M. C. Kozlowski, *J. Org. Chem*. **2014**, 79, 5359; (b) J. M. Curto, J,S. Dickstein, S. Berritt, M. C. Kozlowski, *Org. Lett.***2014**,16, 1948.

[12] J. Simon, T. T. Nguyen, E. Chelain, N. Lensen, J. Pytkowicz, G. Chaume, T. Brigaud *Tetrahedron: Asymmetry*., **2011**, 22, 309.

[13] S. Tsuzaki, S. Usui, H. Oishi, D. Yasushima, T. Fukuyasu, T. Oishi, T. Sato, N., Chida, *Org. Lett*. **2015**, 17, 1704.

[14] L. B. Zhang, D. X. Wang, L. Zhao, M. X. Wang, *J. Org. Chem*.,**2012**, 77, 5584.

[15] T. B. Nguyen, A. Beauseigneur, A. Martel, R. Dhal, M. Laurent, G. Dujardin, *J. Org., Chem*. **2010**, 75, 611.

[16] R. Motei, N. Agouram, E. M. El Hadrami, A. Ben-Tama, S. Chakroune. *J. Mater.., Environ.,***2015**, Sci. 6 (9), 2373-2376.

[17] R. Naffa, G. Holmes, W. Zhang, C. Maidment, I. Shehadi, G.Norris, *Arabian Journal., of Chemistry.,* Available online 22 May **2019**.

[18] V.A. Ashwood, M. J.Field, D. C. Horwell, C. Julien-Larose, R. A. Lewthwaite, S. McCleary, M. C. Pritchard, J. Raphy, L. J. Singh, *Med. Chem*.,**2001**, 44, 2276–2285.

[19] A. Olma, A. Lasota , A. Kudaj . *Amino Acids.,***2012**, .42:2525–2528 .

[20] R .Roviello , N.Giovanni, V.Iannitti, R.Roviello, P. Hayarpi Simonyan, C. Vicidomini. *Amino Acids.,***2017,** 49(2):327-335.

[21] H. Golshadi, Ghalehshahi, S. Balalaie, A. Aliahmadi, R. Moghimi.*Amino Acids.,***2018,** 50, 1461-1470.

[22] R. Cristina, M. Ferreira, M.Maria Manuela, Raposo, P. G.Susana, Costa. *Amino Acids,New J. Chem.***, 2018,** 42**,** 3483-3492.

[23] P. Nun, V. Pérez, M. Calmés, J. Martinez, F. Lamaty, *Chem. Eur. J*. **2012**, 18,3773.

[24] (a) T. Abellán, C. Nájera, J. M. Sansano, *Tetrahedron: Asymmetry.,***1998**, 9, 2211; (b) C*.,* Nájera, T .Abellan, J. M. Sansano Eur. *J. Org. Chem*., **2000**, 2809.

[25] (a) S. Singh, S. J. Rao, M. W. Pennington, *J. Org. Chem*. **2004**, 69, 4551; (b)*.,* T. Ohishi, H. Nanba, M. Sugawara, M. Izumida, T. Honda, K. Mori, S. Yanagisawa, M. Ueda,N. Nagashima, K. Inoue, *Tetrahedron Lett*. **2007**,48, 3437.

[26] P. Fang, M. R. Chaulagain, Z. D. Aron, *Org. Lett.,***2012**, 14, 2130.

[27] (a) D. Ma, K. Ding, *Org. Lett*., **2000**, 2, 2515 (b) D. Ma, K. Ding, *Tetrahedron.,***2001**, 57, 6361.

[28] Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, A. Elachqar, A. Kerbal, *Molecules,* **2011**, *16*, 3380.

[29] M. Arnold, D. Evrard, J. Leander, D. Lodge, D. Schoep, *Bioorg. Med. Chem. Lett*., **1993**, *3*, 43.

[30] B. Ebert, S. Lenz, L. Brehem, P. Bregnedal, J. Hansen, K. Frederiksen, K. Bogeso, P. K. Larsen, *J. Med. Chem*., **1994**, *37*, 878.

[31] F. Ikegami, I. Murakoshi, *Phytochemistry,* **1994**, *35*, 1089.

[32] F. Ikegami, Y. Komada, M. Kobori, D. R. Hawkins, I. Murakoshi, *Phytochemistry*, **1990**, *29*, 2507.

[33] K.A. Esikov, S.E. Morozova, A.A. Malin, V.A. Ostrovskii, *Russian Journal of Organic Chemistry.,***2002***,38*, *9, 137031373.*

[34] S. Elhajji, A. El Hallaoui, A. Atmani, M. L. Roumestant, Ph. Viallefont, *Synthetic comm*, **1991**, *21*, 2383.

[35] F. Zaid, S. Elhajji, A. El Hallaoui, A. Elachqar, A. Kerbal,M. L. Roumestant,Ph.Viallefont, *Prep. Biochem. and Biotechnol*, **1998**, *28,2*,137.

[36] A. Boukhssas, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, H. Bekkari, Hindawi *Journal Of Chemistry.,* **2017**, vol. 2017, Article ID 4238360, 6 pages.

[37] K. Boukallaba, A. Elachqar, A. El Hallaoui, A. Alami, S. El Hajji, B. Labriti, J. Martinez, V. Rolland, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon*, **2006**, *181*, 819.

[38] Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El-Hellaoui, A. Elachqar, A. Kerbal, *Melecules.,***2011,**16, 3380-3390.*Melecules.,***2011,**16, 3380-3390.

[39] P. M. T. Ferreria, H. L. S. Maia, L. S. Monterio, *Tetrahedron Lett.,***1999**, *40*, 4099.

[40] P. M. T. Ferreria, H. L. S. Maia, L. S. Monterio, J. Sacramento, J. Sebastiao*J. ChemSoc., Perkin Trans.,* **2001**, *1*, 3317.

[41] P. M. T. Ferreria, H. L. S. Maia, L. S. Monterio, J. Sacramento, *J. Chem. Soc., Perkin. Trans.,* **2001**, *1*, 3167.

[42] A. Bentama, A. Hamdach, E.M.El Hadrami, *J. Maroc. Chim. Hétérocyclique*. 1 (2002) 48–54.

[43] M. Ellouz, N. Kh. Sebbar, I. Fichtali, Y. Ouzidan, Z. Mennane, R. Charof, J. T. Mague M. Urrutigoïty, El M. Essassi,*Chemistry Central Journal*., **2018**, 12:123.

[44] T. H. Chang, K. B. Maia, L. S. Sharpless, *American Chemical Society.,***1999**, *1*,9,1435-1437.

[45] J. H. Toribio, R. G. Arrayas, J.C Carretero, *J. AM. CHEM. SOC.,***2008**, *130*, 16150–16151.

[46] A. Viso, R. F. Pradilla, M.L Lopez-Rodriguez, A. Garcia, A. Flores, M. Alonso,*J. Org. Chem.,***2004**, *69*, 1542-1547 .

[47] C. Xie, H. Mei, L. Wu, V.A. Soloshonok, J. Han, Y. Pan, *European Journal of Organic Chemistry* 2014*.,* 2014, *7*.

[48] A. Bentama, E. M. El Hadrami, A. El Hallaoui, A. Elachqar, J. P. Lavergne, M. L. Roumestant, Ph. Viallefont, *Amino acids*, **2003**,*24*,423.

[49] a) H. Mabrouk, A. Elachqar, A. El Hallaoui A.Alami.*Molbank.,***2013,** 1422-8599; b)H. Mabrouk , A. Elachqar, A. El Hallaoui, A. Alami, S. El Hajji , J. Martinez, V. Rolland.*Arabian Journal of Chemistry.,***2013**,6, 93–96; c) H. Mabrouk, A. Elachqar, A. El Hallaoui, A.Alami.*Molecules.*,**2010***,13*, 9354-9363.

[50] R.Kober, W.Steglich, *Liebigs Ann. Chem*.,**1983**, *1983*, 599–609;

[51] S.Achamlale, A.Elachqar, A.El Hallaoui, S.;El Hajji, M.L.Roumestant, P.H. Viallefont, *Amino Acids.,***1997**, *12*, 257–263.

[52] E. H. Mabrouk, A. Elachqar, A. Alami, A. El Hallaoui, *Molecules* **2010**, *13*, 9354-9363.

[53] J. Hiebl, H. Kollmann, F. Rovenszky, K. Winkler., *J. Org. Chem.* **1999,** *64,* 1947-1952.

[54] J F. Paradisi, G. Porzi, S. Rinaldi, S. Sandri., *Tetrahedron: Asymmetry*,**2000,** 11,4617–4622.

[55] N. A. Al-Masoudi, N. Al-Haidery, N. T. Failia, C. Pannecouque, *ARKIVOC.,* **2010**, (ix) 185-195.

[56] E. H. Mabrouk, A. Elachqar, A. El Hallaoui, A. Alami, *Molbank* **2013**, *2013*(1), M792.

Chapitre 2

SYNTHÈSE DE NOUVEAUX α,α- DIAMINO-DIESTERS CARBOXYLIQUES, VIA LA RÉACTION DE N-ALKYLATION

Partie I

Rappel bibliographique sur la réaction de N-alkylation

L'étape principale de notre stratégie de synthèse en vue de préparer des α,α-diamino-diesters carboxyliques hétérocycliques et non hétérocycliques est la réaction de N-alkylation de différents aminoesters hétérocycliques ou non hétérocycliques par l'α-azido glycinate de méthyle N-protégé.

A cet égard, nous avons jugé utile de décrire quelques travaux de la littérature concernant ce type de réaction avant de présenter nos propres travaux concernant la synthèse d'α,α-diamino-diesters carboxyliques N-protégés dérivés de la glycine.

I. Méthodes de N-alkylation des amines acycliques et cycliques

Dans la littérature, une multitude de méthodes utilisant la N-alkylation ont été rapportés, nous en décrivons ici quelques-unes.

I.1. N-alkylation des amines acycliques

En 2018, Afanasenko et al. [1] ont présenté une méthode sélective de N-alkylation des amines par différents alcools aromatiques et aliphatiques. Cette réaction est générée in situ à partir d'un catalyseur hautement actif à base de Ni et dans le méthoxycyclopentane comme solvant en présence de L'hydroxyde de potassium (KOH) comme base.

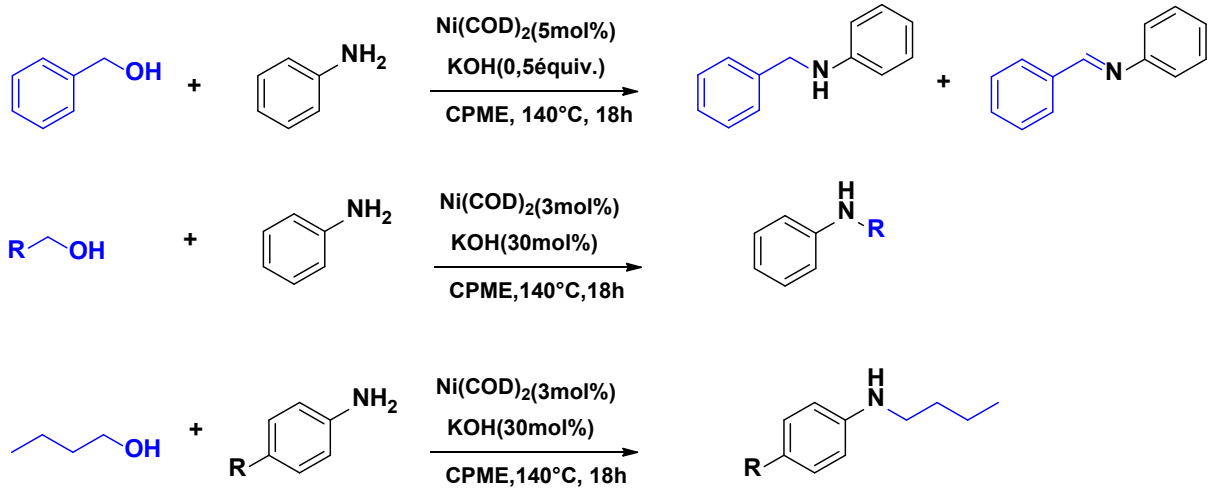


Schéma 1

Un nouveau système catalytique pour la N-alkylation d'ammoniaque en solution aqueuse avec divers alcools, a été développé par Fujita et al. En 2018 [2], pour conduire à des amines sans générer de sous-produits nocifs ou inutiles.

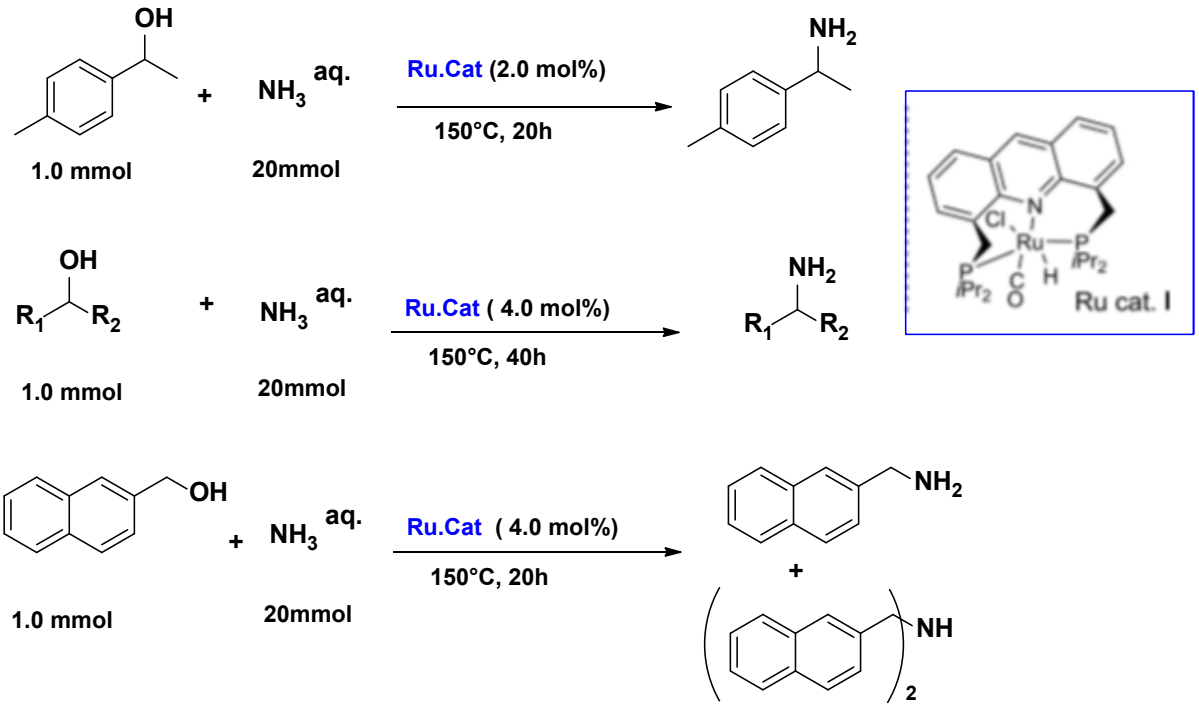


Schéma 2

En 2019, Hoshimoto et al. [3] ont décrit une nouvelle méthode de la N-alkylation réductive d'amines avec des carbonyles en présence d'hydrosilanes ou de l'hydrogène H_2. Cette réaction a été catalysée par le triarylborane (BAr_3) comme il est présenté dans le schéma 3.

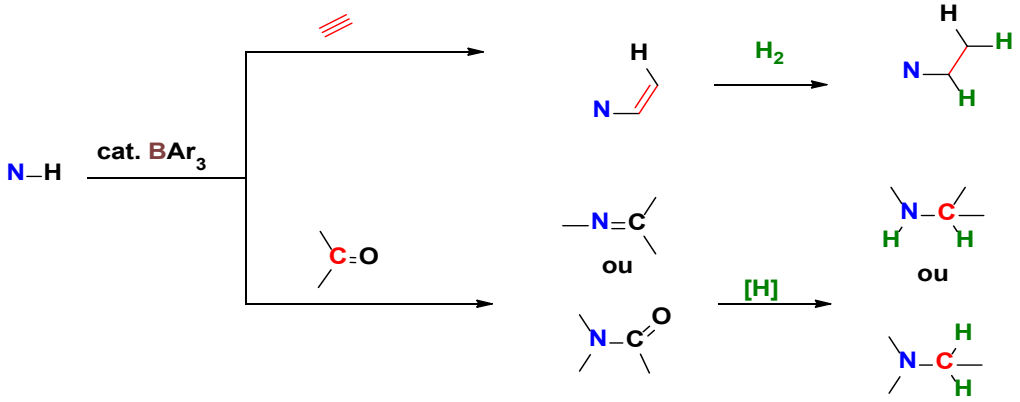


Schéma 3

Bayardon et al. [4] ont présenté une méthode de N-alkylation de la cyclohexylamine et du (1R,2R)-diaminocyclohexane par l'iodure de perfluoroalkyle dans l'acétonitrile en présence du carbonate de potassium (K_2CO_3) comme base. Les dérivés du *N,N*-dibenzyl fluorés du

(1R,2R)-diaminocyclohexane synthétisés à travers des précurseurs correspondants sont des ligands de certains complexes souvent utilisés comme catalyseurs chiraux dans la synthèse asymétrique (schéma 4).

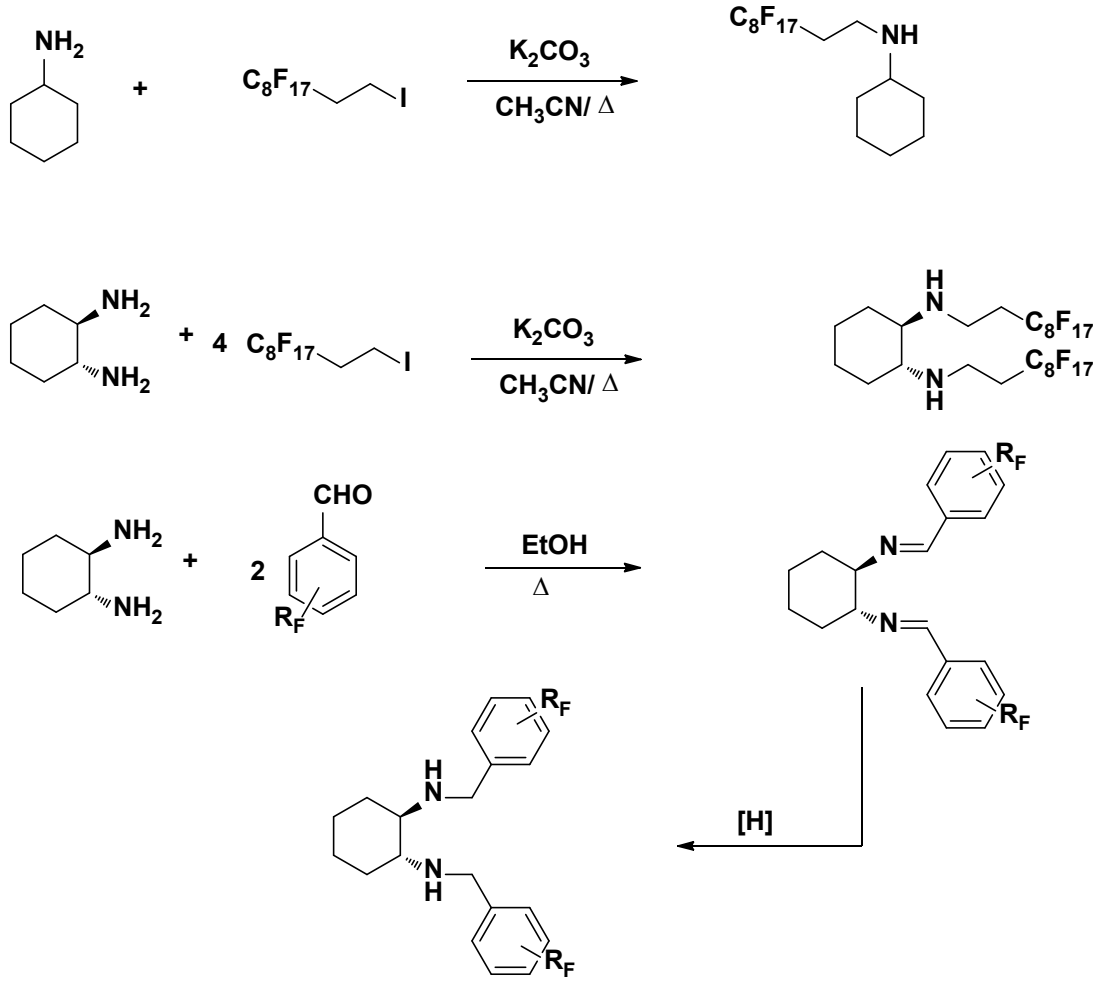


Schéma 4

Brondani et al. [5] décrivent une synthèse régiosélective de N-alkyl hydrazones (ou hydrazides) dans un milieu aprotique avec un contrôle cinétique. Cette stratégie produit facilement des amines mono ou dialkylés désirées avec d'excellents rendements (schéma 5).

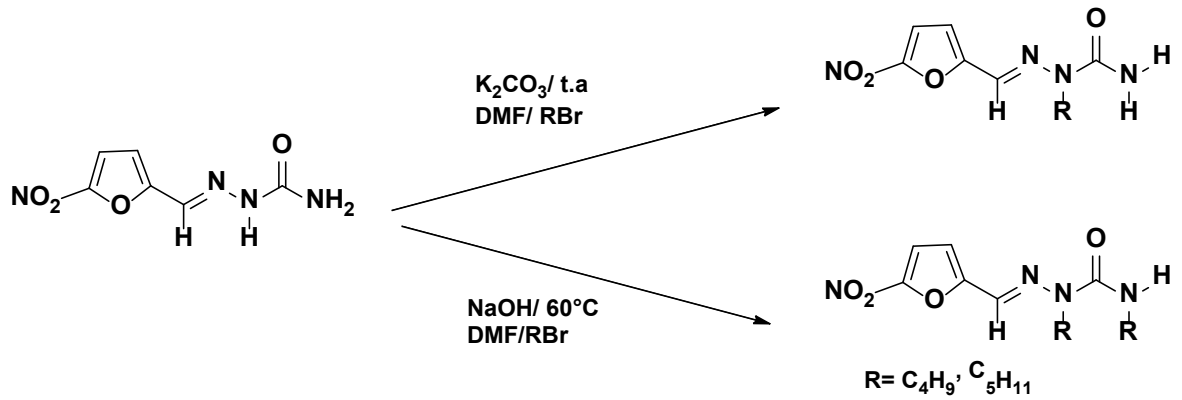


Schéma 5

En 2019, Trillo et al. [6] ont décrit une méthode de N-alkylation directe d'amines secondaires avec des acides carboxyliques en utilisant du molybdène hexacarbonyle (5% en moles) comme catalyseur, ce qui génère des énamines de manière simple avec des rendements élevés. Les énamines formées réagissent avec du cyanure de triméthylsilyle pour donner des α-amino nitriles avec de bons rendements.

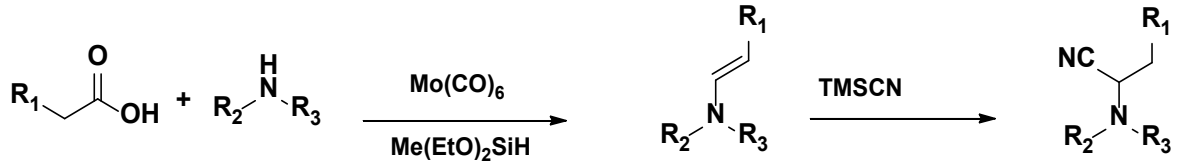


Schéma 6

I.2. N-alkylation des amines cycliques

Suite aux travaux effectués sur la synthèse de nouveaux aminoesters phosphoniques par N-alkylation des hétérocycles aromatiques, Boukallaba et al. [7] ont étendu cette méthode aux amines primaires et secondaires cycliques ou acycliques, aromatiques et non aromatiques (schéma 7). Les α-α-diaminophosphonates de diéthyle sont obtenus avec d'excellents rendements à partir de l'α-azido-α-(benzoylamino)- méthylphosphonate de diéthyle ou de l'α-bromo-α-(benzoylamino)méthylphosphonate de diéthyle par réaction de N-alkylation.

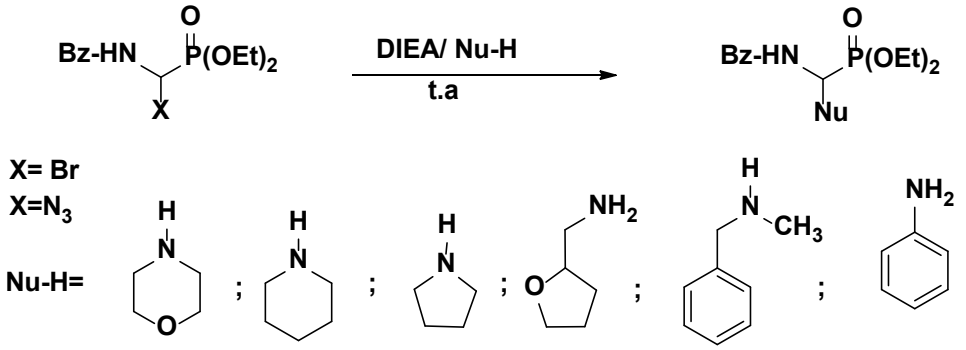


Schéma 7

L'intérêt de Jiang et son équipe de recherche [8] était de synthétiser des dérivés chiraux de (S)-prolinol. Lors de la réaction de (S)-prolinol avec le 1-bromo-2-iodobenzene catalysé par CuI, il s'est avéré qu'une *N,O*-arylation intramoléculaire inattendue a été observée en plus de la N-arylation normale (schéma 8).

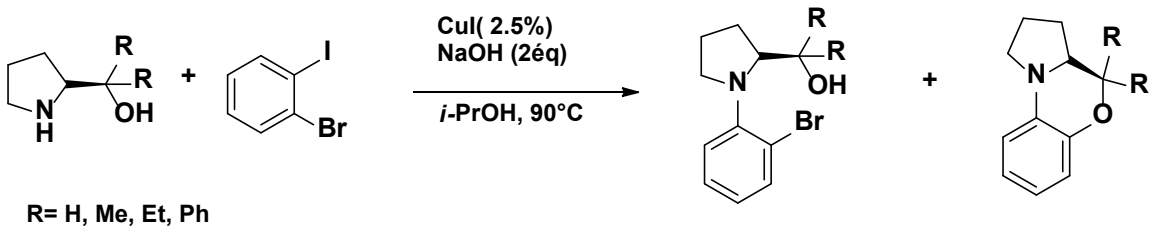


Schéma 8

Murty et al.[9] ont présenté une méthode simple et efficace pour la N-alkylation des amines secondaires cycliques avec du1-bromo-3-chloropropane (1), Le bromure d'allyle (2) et le bromure de p-méthoxybenzyle (3). Les produits sont ainsi obtenus avec de bons rendements.

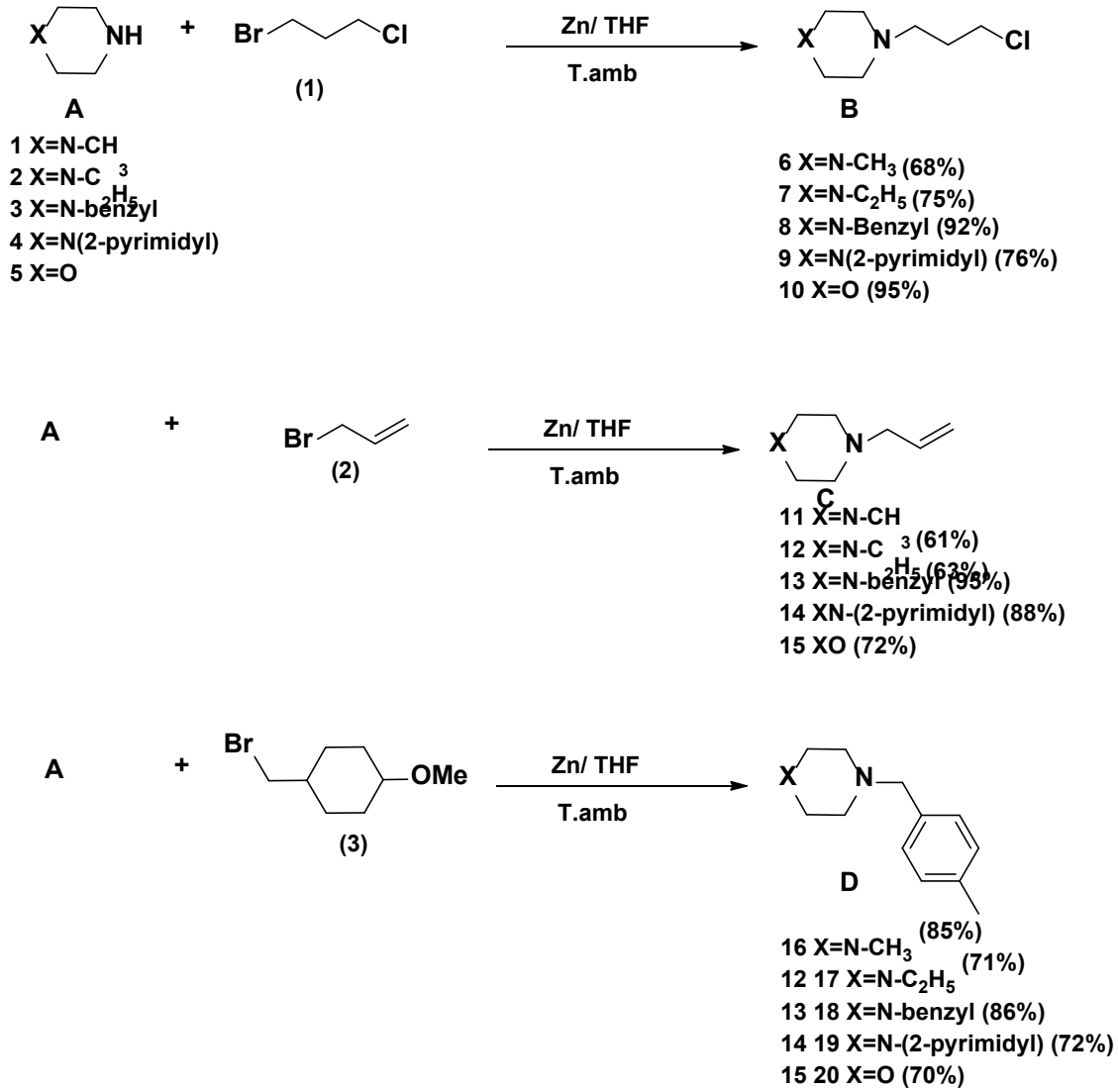


Schéma 9

Sundararaju et al.[10] ont décrit une méthode de N-alkylation d'amines cycliques avec des alcools mettant en jeu des processus de l'emprunt d'hydrogène, en utilisant de nouveaux complexes (arène) ruthénium (II) comportant des ligands phosphinosulfonates **A** et **B**. Cette réaction est hautement régiosélective et produit de l'eau comme seul produit secondaire.

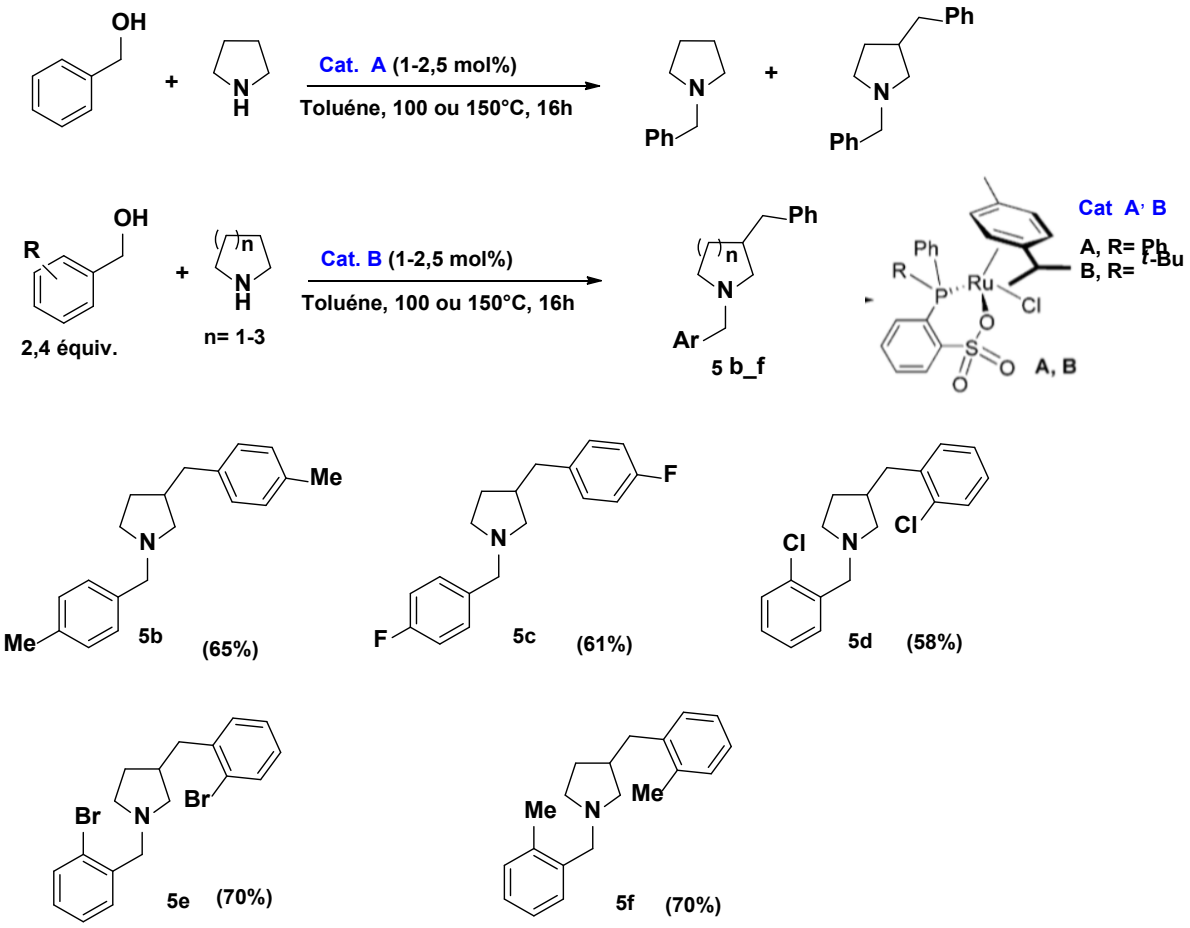


Schéma 10

II. Méthodes de N-alkylation des hétérocycles

Plusieurs méthodes de N-alkylation des hétérocycles ont été décrites dans la littérature, nous rapportons quelques exemples classés selon la nature de l'hétérocycle.

II.1. N-alkylation du triazole et du tétrazole

La chimiothérapie et la chimioprophylaxie de la grippe comptent parmi les principales orientations des activités de protection de la santé. Les dérivés du tétrazole possèdent une plus grande activité d'inhibition de ce virus. Récemment une série de 2-(1-adamantyl)-tétrazoles, 1-(1-adamantyl)-1,2,4-triazole et 1-(1-adamantyl)-pyrazole a été préparé par Zarubaev et al.[11]. Ces auteurs ont démontré que ces adamantylazoles ont le pouvoir d'inhiber le virus de la grippe (schéma 11).

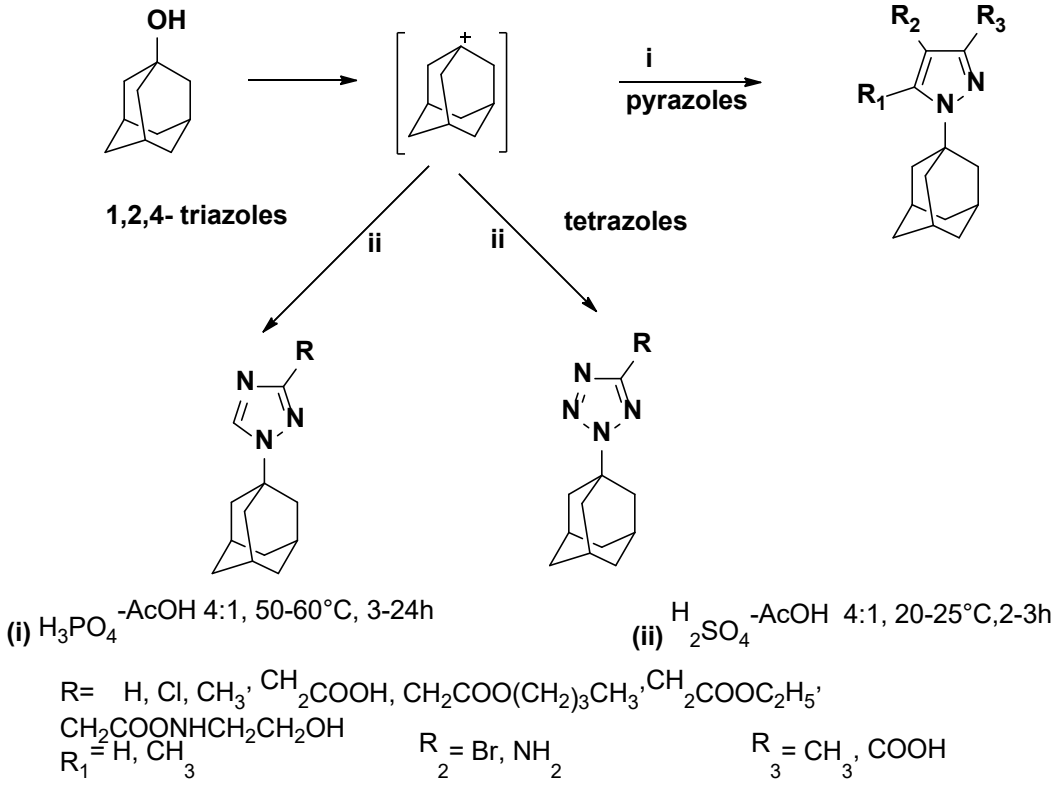


Schéma 11

Une méthode simple et efficace a été décrite par Khalafi-Nezhad et al.[12] qui s'intéresse à la N-alkylation régiosélective de benzotriazole, en présence du dioxyde de silicium (SiO_2), K_2CO_3 et de bromure de tétrabutylammonium (BTBA) sous conditions thermiques et micro-ondes. Les N-alkyl-1-benzotriazoles ont été obtenus avec des rendements satisfaisants. Ces auteurs ont signalé la présence des traces du produit N-alkylé en position 2 (schéma 12).

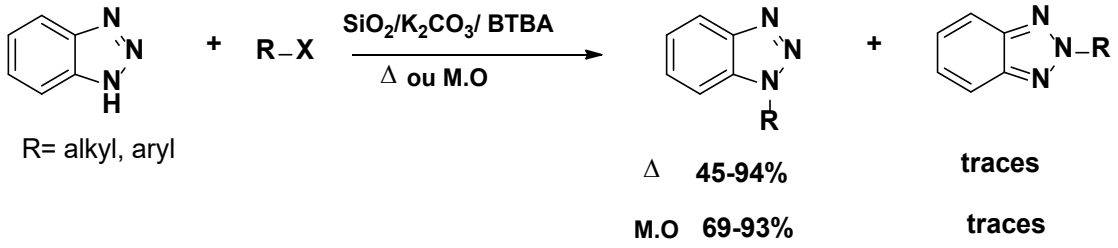


Schéma 12

Récemment, Dale et son équipe [13] ont rapporté une méthode directe et régioselective pour la N-alkylation des triazoles non substitués. L'alkylation du 1,2,4-triazole s'est déroulé en présence de NaOH comme base. Le produit N-1 est majoritaire par rapport à l'isomère N-4 dans un rapport d'environ (9:1).

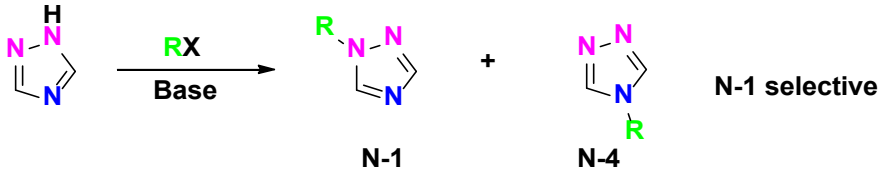


Schéma 13

Dans le même travail et contrairement au 1,2,4-triazole, la N-alkylation du 1,2,3-triazole permet d'obtenir les deux régioisomères, avec une sélectivité faible ou nulle [13].

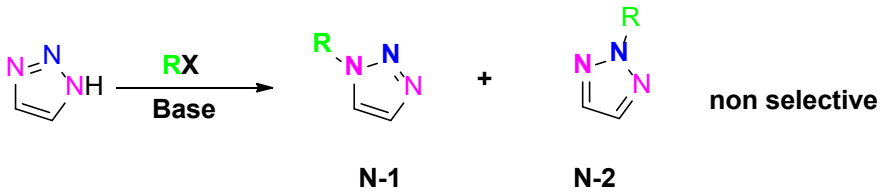


Schéma 14

Au sein de notre équipe de recherche, Alami et al. [14] ont étendu une stratégie de synthèse à la préparation des dérivés β-tétrazolylalanines racémiques par addition-1,4 de tétrazoles 5-substitués sur la β-déhydroalanine, obtenue à partir de la β-tosylsérine (schéma 15).

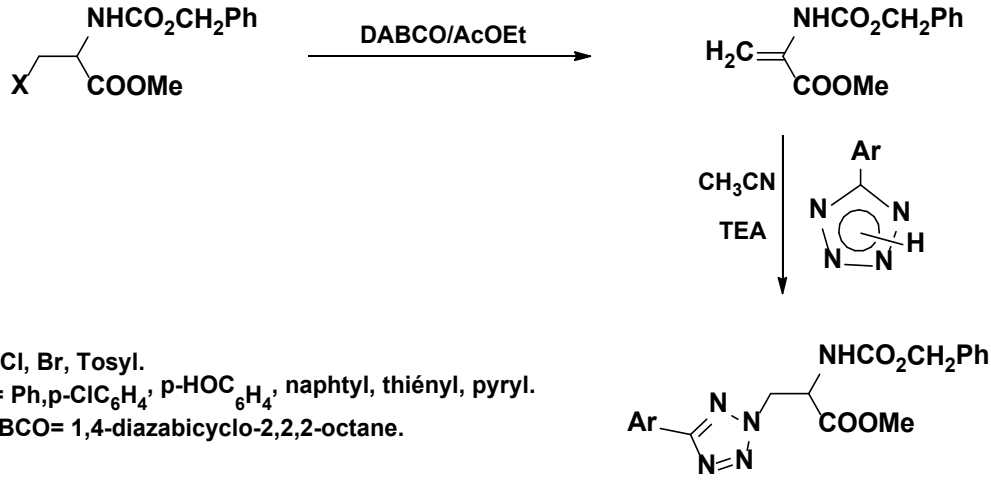


Schéma 15

Achamlale et al. [15] ont réalisé la N-alkylation des tétrazole 5-substitués par le bromure de propargyle dans l'acétone en présence de la triéthylamine comme base à température ambiante (schéma 16). Les rendements après 4 heures de réaction sont de l'ordre de 80%. Deux régioisomères (1,5) et (2,5) sont obtenus dans un rapport 20/80.

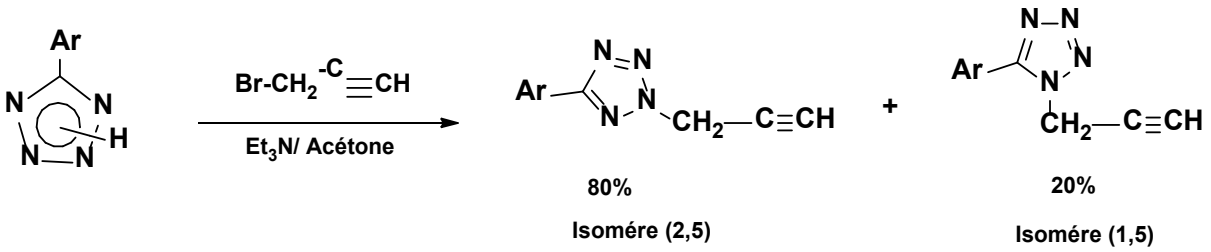


Schéma 16

II.2. N-alkylation de l'indole et du carbazole

La réaction de N-alkylation de dérivés du 1H-indole et du 9H-carbazole par des alcools a été réalisée par Bombrun et Casi [16]. L'utilisation des conditions classiques de réaction de Mitsunobu a prouvé notamment que le phosphorane de cyanométhylènetriméthyle ($Me_3P=CH(CN)$ est le réactif le plus adéquat pour la N-alkylation de ces hétérocycles (schéma 17).

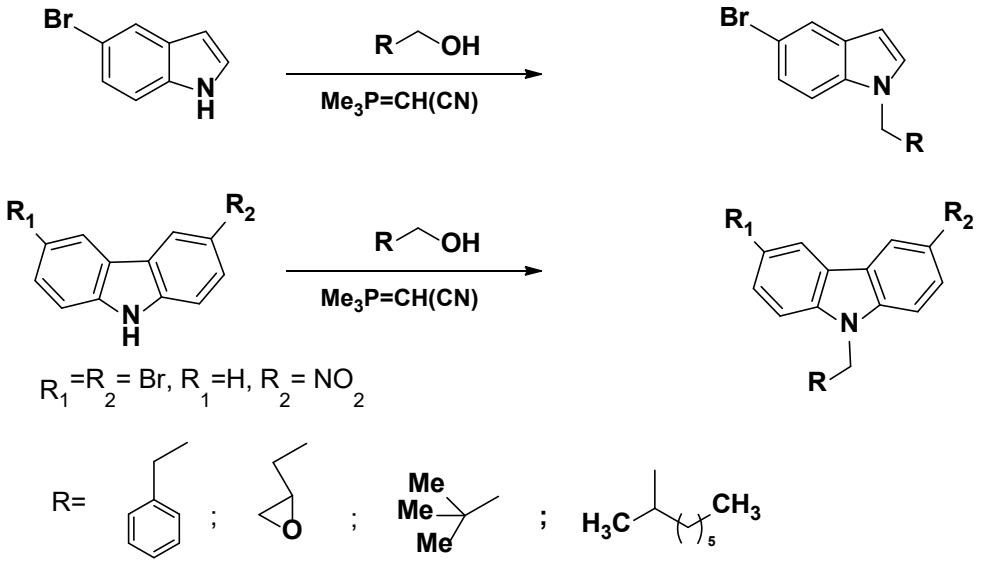


Schéma 17

Jorapur et al. [17] ont décrit une méthode de N-alkylation de l'indole utilisant le carbonate de potassium et le 1-n-butyl-3-méthylimidazolium tétrafluoroborate [bmim] [BF_4] dans l'acétonitrile. Cette stratégie a donné de meilleurs rendements aussi bien avec des halogénures d'alkyle qu'avec des sulfonates. Cette technique est également applicable à la N-alkylation du pyrrole (schéma 18).

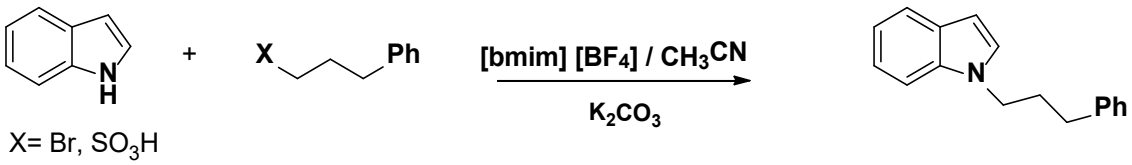


Schéma 18

En 2018, Zhang et al. [18] ont présenté une réaction de N-alkylation asymétrique catalysée des dérivés d'indoles avec des N-acylimines substituées. Le produit **3a** a été obtenu avec un excellent rendement de l'ordre de 94%.

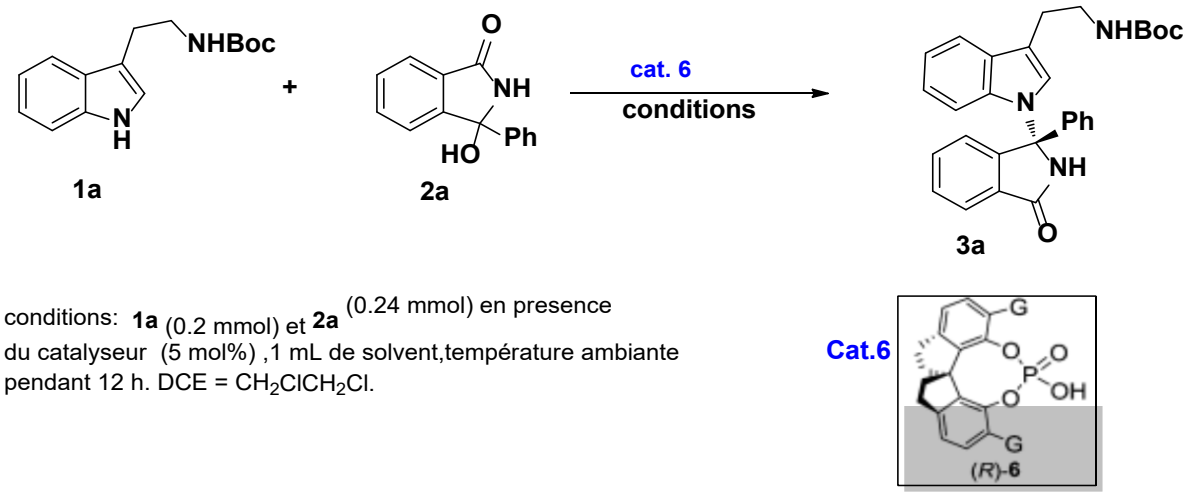


Schéma 19

Une année après, Allen et al. [19] ont présenté une méthode énantiosélective pour la N-alkylation des indoles sous l'action du catalyseur palladium.

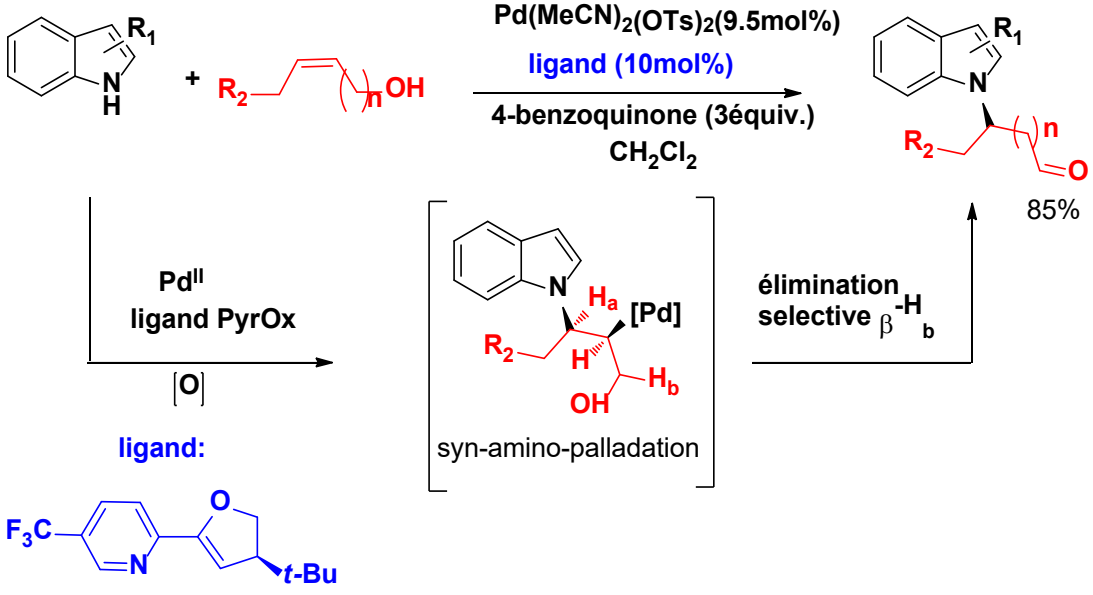


Schéma 20

II.3. N-alkylation de l'imidazole, du benzimidazole, et du pyrazole

L'équipe de Bookser [20] a présenté une N-alkylation de la 4-méthoxy-1H-pyrazolo [3,4-d] -pyrimidine (**1b**) avec de l'iodométhane dans du THF en utilisant NaHMDS comme base, pour conduire sélectivement au produit N2-méthyle, 4-méthoxy-2-méthyl-2H-pyrazolo [3,4. -d] pyrimidine (**3b**), dans un rapport de 8/1 par rapport au produit N1-méthyle (**2b**).

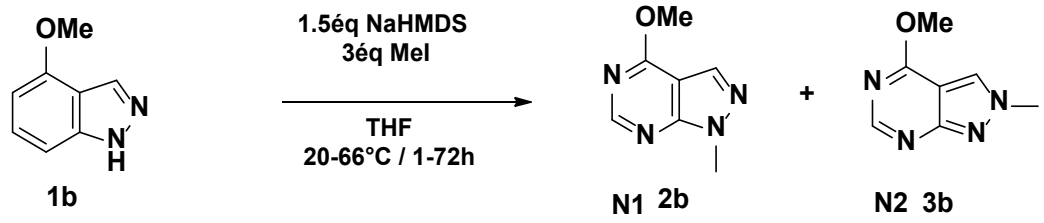


Schéma 21

Chen et al. [21] ont rapporté une méthode d'alkylation régiosélective de divers 1,3-azoles. Ils ont découvert que les réactifs organomagnésiens sont des bases les plus adéquats pour ce type d'alkylation.

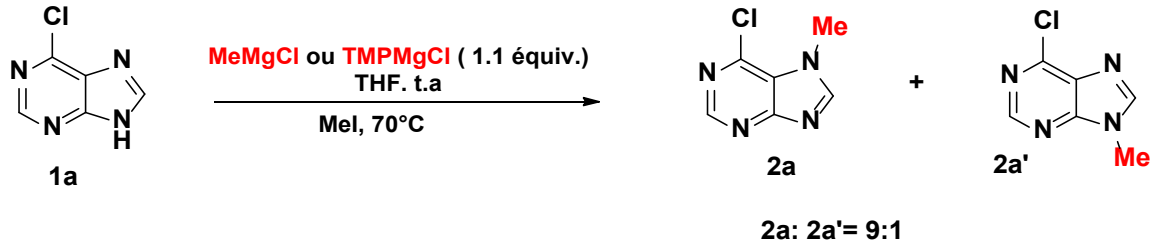


Schéma 22

Brændvang et al. [22] ont présenté une méthode efficace et sélective pour la N-alkylation du 4-chloropyrazolo [3,4-d] pyrimidine avec des alcools en présence du triphénylphosphine et de ladiisopropyl azodicarboxylate (DIAD).

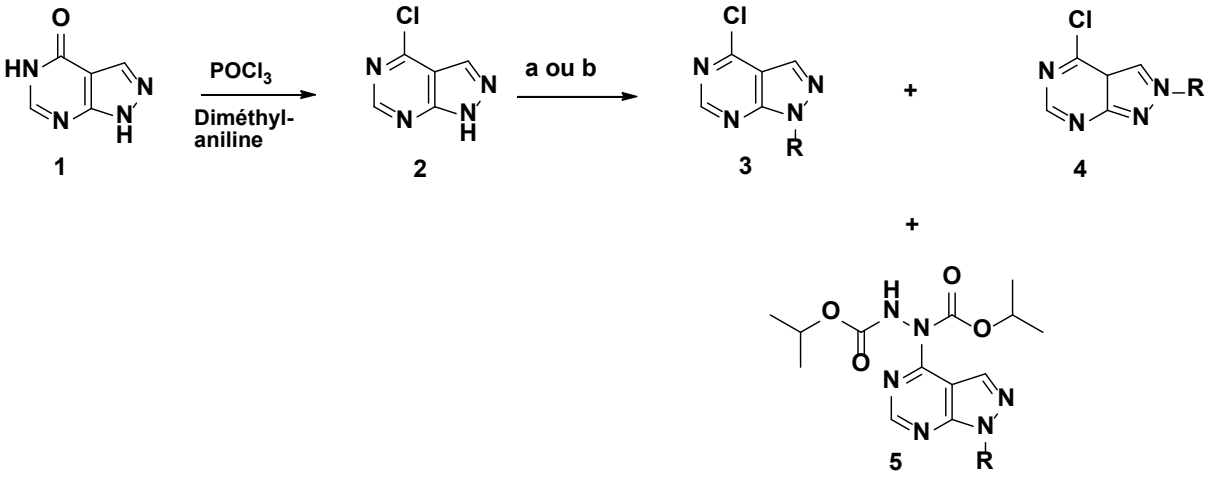


Schéma 23

La préparation des sels bi-thiazolium et bi-benzimidazolium par réaction de N-alkylation dans l'acétonitrile à 60°C a été réalisée par Orlandi et al. [23]. Ces nouveaux hétérocycles chiraux ont été utilisés comme catalyseurs dans la dimérisation asymétrique de l'aldéhyde benzoïque pour donner la benzoïne avec une énantiosélectivité moyenne (schéma 24).

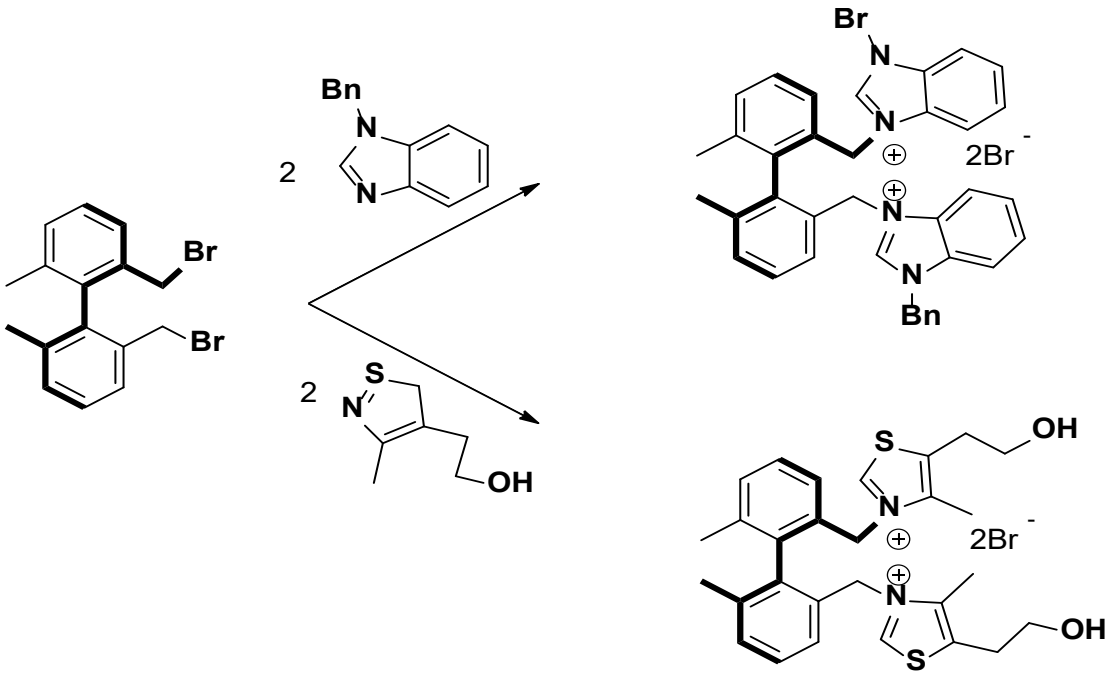


Schéma 24

Le 1H-imidazole substitué ou non est facilement N-alkylé selon deux méthodes décrites par Cuevas-yanez et al. [24] Cette méthode de N-alkylation catalysée par l'acétylacétonate de cuivre (II)Cu(acac)$_2$, s'effectue soit par des dérivés α-diazocarbonyle, soit par des diazoalcanes préparés in situ à partir d'hydrazones p-toluènsulfonyle correspondantes. Le bifonazole (1-

[[1,1'-biphényl]-4-yl(phényl) méthyl]-1H-imidazole) est un exemple d'agent antifongique préparé par cette méthode (schéma 25).

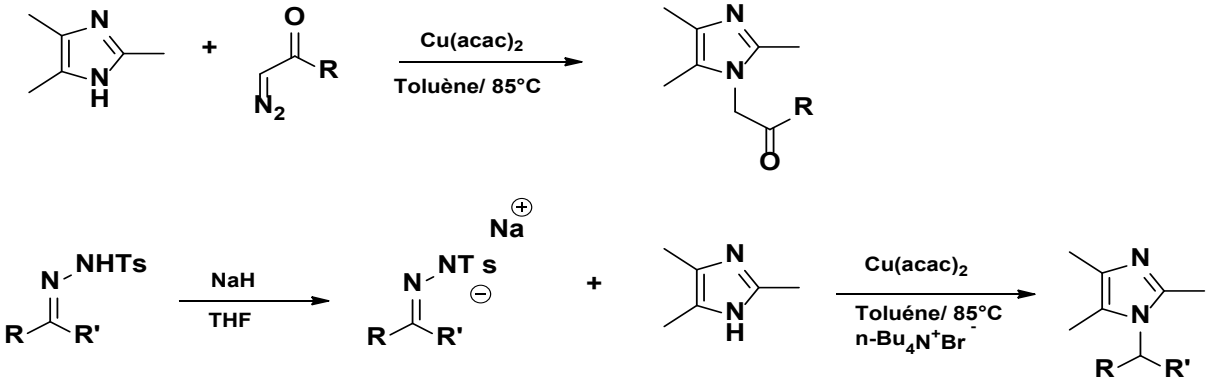


Schéma 25

II.4. N-alkylation des azides carboxyliques

Hamasharif et al. [25] ont décrit une méthode de N-alkylation du 2-azidobenzamide avec du 5-bromopent-1-ène, conduisant à un mélange séparable (1:1) d'une benzotriazinone et d'une quinazolinone avec un rendement combiné de 72%.

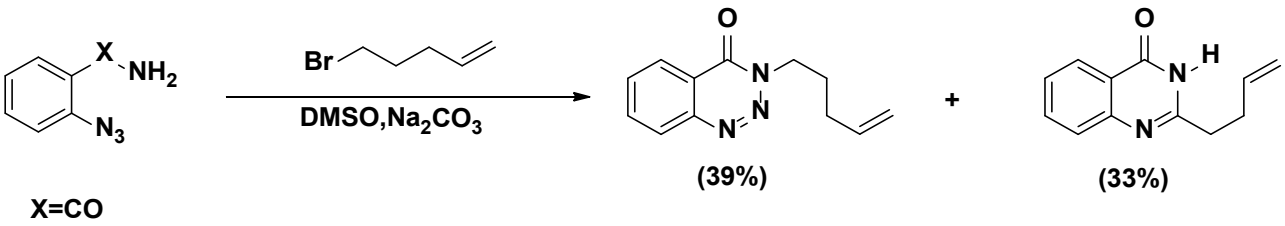


Schéma 26

Lenda et al. [26] ont présenté la réaction de N-alkylation des tétrazoles 5-substitués par le diméthyldibromoester (schéma 27). La réaction a été réalisée en présence de 1.5 équivalents de la triéthylamine dans l'acétone, ce qui conduit principalement à un aminoacide tétrazolique monosubstitué.

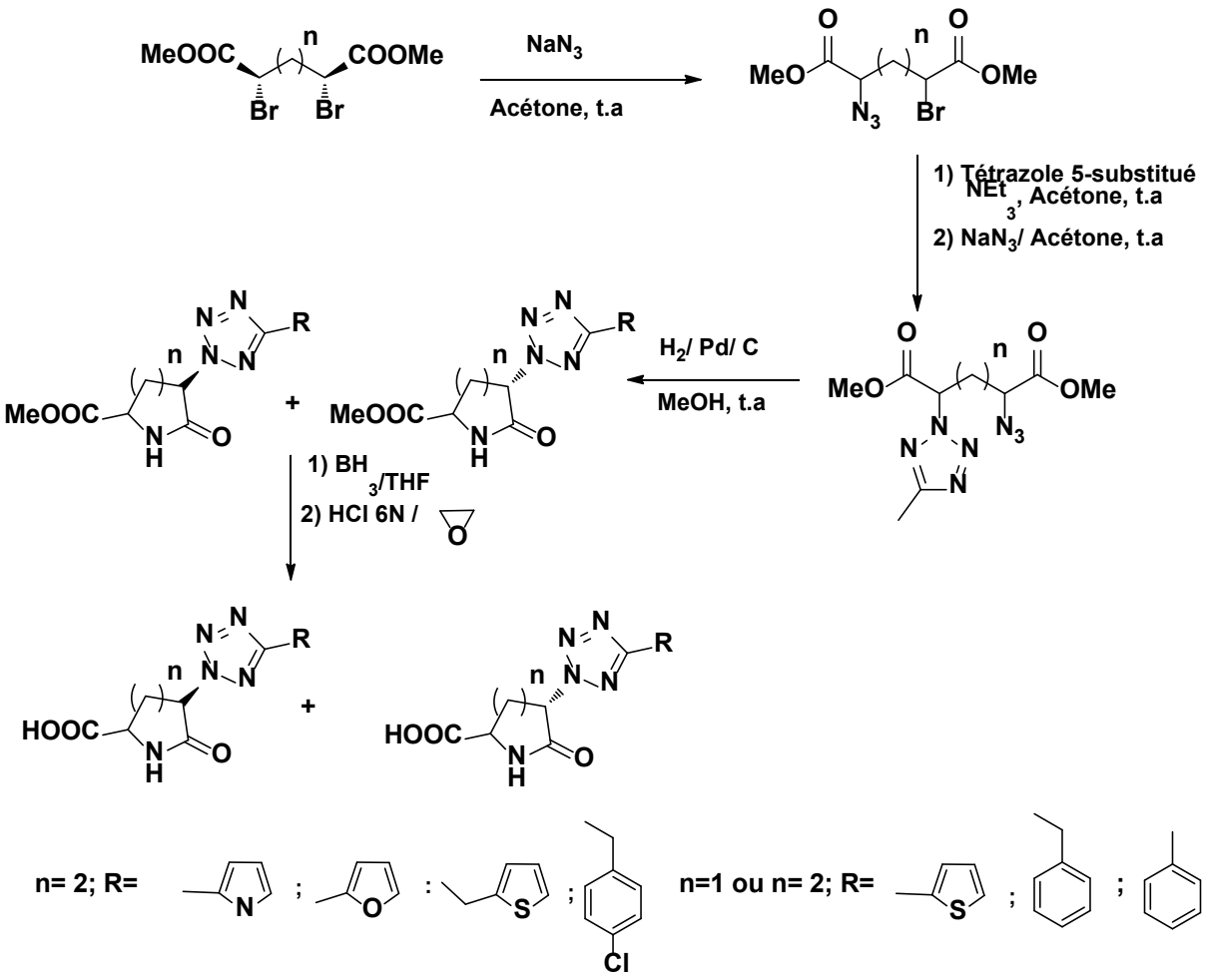
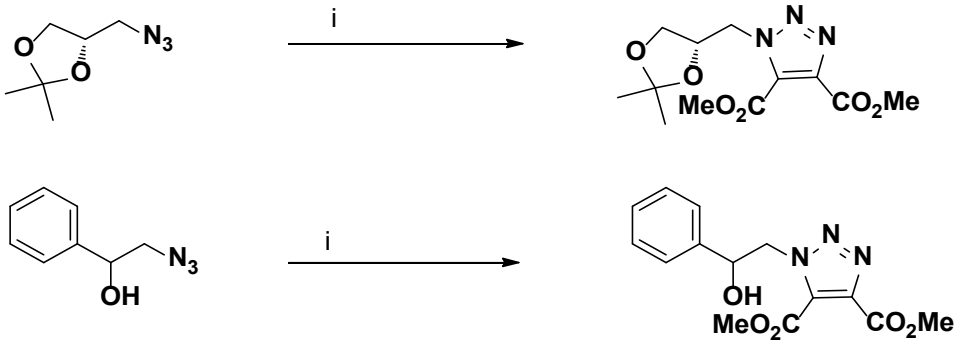


Schéma 27

Pour leur part, Kumar et al. [27] ont préparé une nouvelle classe de composé 1,2,3-triazolo-δ-lactames/lactones hybrides par condensation de divers azides organiques chiraux sur l'acétylène dicarboxylate de méthyle, suivie d'une cyclisation intramoléculaire (schéma 28).



(i): l'acétylène dicarboxylate de méthyle (1.1 équiv), H_2O, 70°C

Schéma 28

Au sein de notre laboratoire de chimie organique, Mabrouk et al. [28] ont préparé une série d'α,α-diaminoestres carboxyliques dérivés de la glycine avec des rendements très satisfaisants (62-92%) par réaction de N-alkylation de d'amines non hétérocycliques avec l'α-azidoglycinate de méthyle ou d'éthyle N-protégés. La réaction est effectuée dans l'acétone à température ambiante en présence de la diisopropyléthylamine (DIEA) comme base (schéma 29).

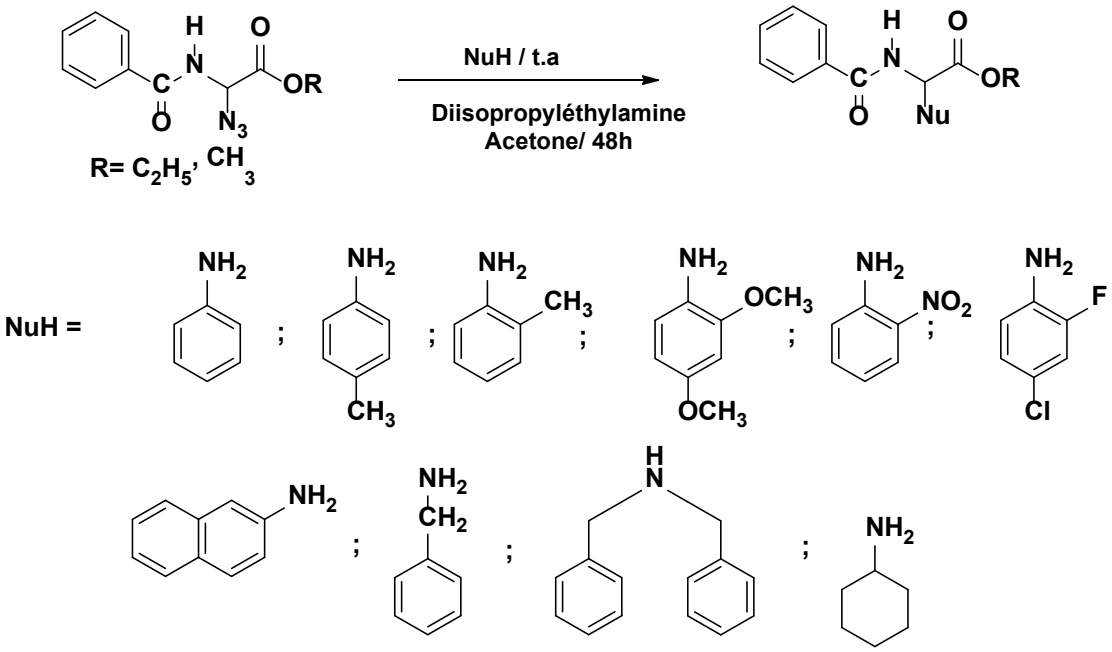


Schéma 29

Utilisant cette fois-ci une amine hétérocyclique, Mabrouk [29] synthétise la 2-(3-amino-1,2,4-triazol-1-yl) glycinate de méthyle N-benzoylé en vue d'une éventuelle application dans le domaine agrochimique et pharmacologique. Ainsi la substitution de l'azide par 3-amino-1,2,4-triazole, conduit après 48 heures, à l'aminoester hétérocyclique avec un rendement de 77.5% (schéma 30).

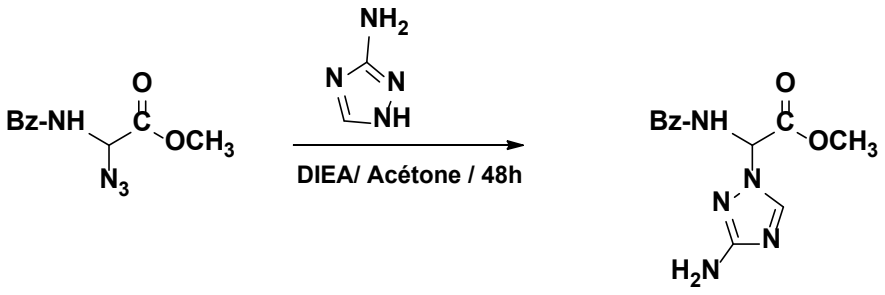


Schéma 30

Cette réaction a été étendue à la synthèse de nouveaux α, α-diaminoesters carboxyliques hétérocycliques [29] par N-alkylation de la tétrahydrofurylméthylamine et de la 4-amino-

quinaldine (schéma 31) par l'α-azidoglycinate de méthyle N-benzoylé. Les dérivés d'α,α-diaminoesters carboxyliques hétérocycliques sont obtenus avec des rendements faibles, respectivement de 30 et de 25 %.

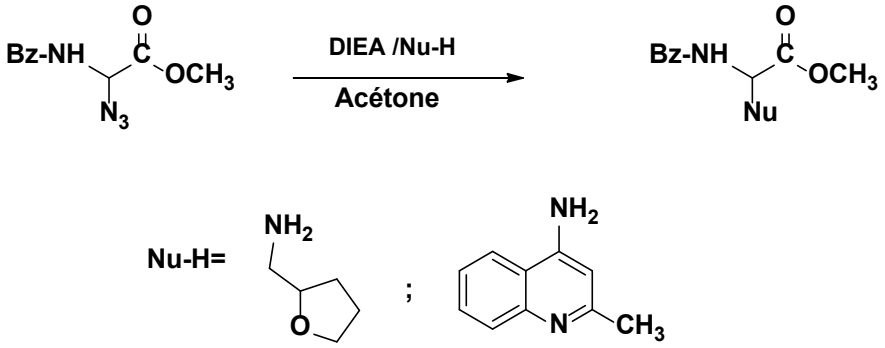


Schéma 31

II.5. N-alkylation des azides phosphoniques

La stratégie de synthèse d'aminoacides carboxyliques hétérocycliques suivie par Boukalaba et al.[30] est basée sur la réaction d'un équivalent cationique de l'analogue phosphonique de la glycine N-protégée avec différents hétérocycles. La réaction est effectuée dans l'acétone à température ambiante en présence de la diisopropyléthylamine (DIEA) comme base pour conduire aux produits désirés avec des rendements allant de 70 à 94%. Le schéma ci-dessous explicite le parcours réactionnel poursuivi pour aboutir aux aminoesters phosphoniques hétérocycliques.

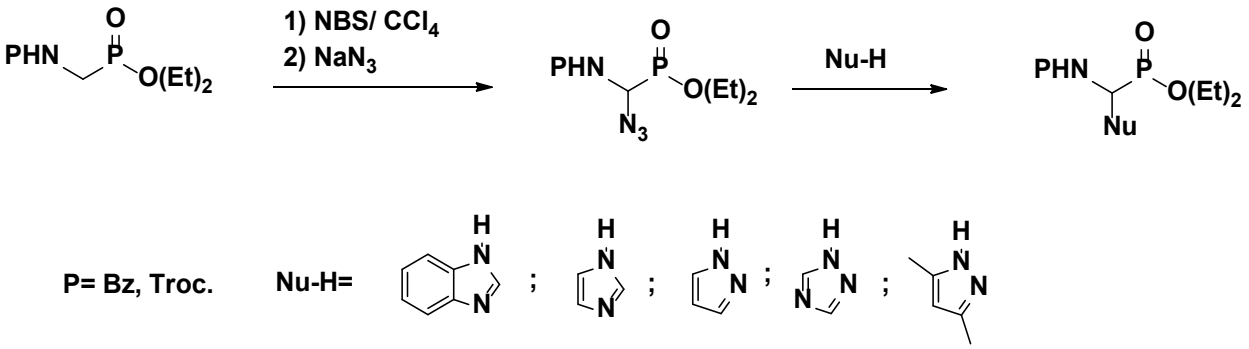


Schéma 32

Boukalaba [30] a étendu cette méthode aux amines primaires et secondaires cycliques ou acycliques, aromatiques ou non aromatiques (schéma 33). Les α,α-diaminophosphonates de diéthyle sont obtenus avec d'excellents rendements à partir de l'α-azido-α-(benzoylamino)-méthylphosphonate de diéthyle par réaction de N-alkylation.

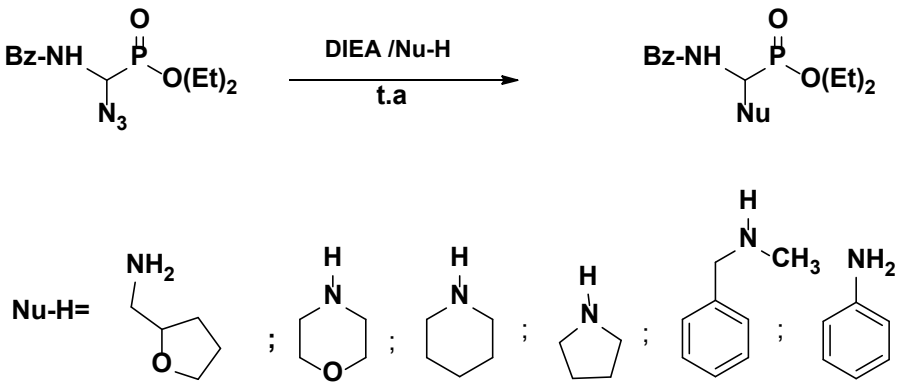

Bz-NH
O
P
O(Et)2
N3
DIEA /Nu-H
t.a
Bz-NH
O
P
O(Et)2
Nu
Nu-H=
NH2
O
H
N
O
H
N
H
N
H
N
CH3
NH2

Schéma 33

Partie II

Intérêt et accès synthétique de nouveaux α-α-diamino-diesters carboxyliques par réaction de N-alkylation

Avant de se pencher sur la partie synthèse, nous rappelons d'abord l'utilité des différents acides aminés utilisés dans ce travail de recherche.

Les chaînes peptidiques sont constituées par des acides aminés liés entre eux par des liaisons amides pour former les protéines. Les acides aminés impliqués sont des acides aminés indiquant que la fonction amine et la fonction carboxylique sont toutes deux directement voisines du carbone porteur de la chaîne latérale. Ils se distinguent par leur chaîne latérale, R, qui peut être un simple atome d'hydrogène (c'est le cas de la glycine), ou bien plus complexe. Leur structure générale est schématisée ci-dessous (Schéma 34).

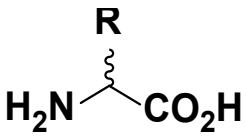


Schéma 34

Ces acides aminés jouent un rôle capital dans la conception de la vie. Dans la nature, il existe un certain nombre très élevé d'acides aminés, cependant vingt d'entre eux sont des acides aminés protéinogéniques impliqués dans la construction des peptides et des protéines naturelles comme les tissus vivants (peau, cheveux, muscles…). Tandis que les acides aminés non protéinogéniques sont des substrats qui peuvent être utilisés dans diverses applications à savoir la synthèse organique, le domaine pharmaceutique [31]. Il est à noter qu'ils sont connus également pour leur forte résistance à la dégradation chimique et enzymatique [32].

Nous citons dans ce qui suit, les acides aminés utilisés dans nos travaux de recherche ainsi que leurs biens faits pour la santé humaine.

- La glycine est un acide aminé non essentiel. Cet acide aminé contribue à de nombreux rôles métaboliques. La glycine a une fonction de neurotransmetteur et agit comme inhibiteur au niveau de la moelle épinière. Elle joue un rôle dans le métabolisme de la créatine, et participe donc à la récupération musculaire. Elle peut agir aussi positivement sur les enzymes anti-oxydantes afin de participer au ralentissement du vieillissement

cellulaire. Finalement elle intervient au niveau cérébral où elle agit comme un neuromédiateur apaisant et favorisant le sommeil [33,34].

- ❖ Le tryptophane est un acide aminé essentiel pour l'organisme, il est également un constituant des protéines. Il est l'un des précurseurs de la sérotonine et permet de ce fait de favoriser un bon sommeil et de lutter contre les troubles dépressifs. Le tryptophane se trouve majoritairement dans les produits d'origine végétale car les animaux ne peuvent le synthétiser [35].
- ❖ La phénylglycine est un acide aminé non protéinogène liée à l'alanine, elle est considérée comme l'un des précurseurs jouant un rôle de modulateur de la transmission synaptique [36].
- ❖ La phénylalanine est un acide aminé essentiel à l'organisme, cela signifie donc que l'organisme ne peut pas la synthétiser et qu'il est important de l'apporter par l'alimentation. À noter que la phénylalanine est l'un des précurseurs de la dopamine, de l'adrénaline et de la noradrénaline. Sans oublier qu'elle participe aussi au fonctionnement de la glande thyroïde qui régule elle-même les processus de la douleur, de l'humeur et de l'appétit [37].
- ❖ La proline est un acide aminé non essentiel qui entre dans la composition des protéines. Même si l'organisme sait synthétiser la proline, il est important d'en apporter suffisamment via l'alimentation car elle entre dans le métabolisme du collagène essentiel pour l'intégrité des articulations, tissus et tendons. En cas de blessure, une quantité de proline suffisante dans l'organisme va aider à une bonne cicatrisation [38].

Les chaînes polypeptidiques constituées d'acides aminés présents dans des structures linéaires, hautement flexibles, peuvent adopter en solution différentes conformations. Parmi ces conformations, un nombre limité est responsable de leur activité biologique. Il est dès lors intéressant de rendre ces structures plus rigides pour certaines applications. L'une des solutions envisagées est l'incorporation dans leur structure d'un acide aminé α,α-disubstitué répondant à la formule générale suivante (Schéma 35).

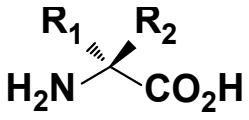


Schéma 35

En outre, les dipeptides naturels constitués par des acides aminés substitués jouent des rôles importants dans les processus biologiques, ils sont régulateurs (comme l'insuline, hormone du

pancréas pour régler le taux de sucre dans le sang), participent également aux mécanismes de défenses immunologiques (anticorps) et dans la transmission de l'information génétique.

De nombreuses méthodes de synthèse peptidiques ont été développées jusqu'à présent. Il est hors de propos de citer toutes ces méthodes. Pour notre part, nous nous sommes intéressés dans notre propre travail de recherche à la réaction de « couplage » de deux aminoesters via la réaction de la N-alkyation de l'α-azido glycinate de méthyle. L'utilisation d'une série d'aminoesters nous a permis de préparer de nouveaux α,α-diamino-diesters carboxyliques N-protégés.

Notre stratégie de synthèse est basée ainsi sur la réaction de substitution nulcléophile de l'azide par différents dérivés d'aminoesters hétérocycliques et non hétérocycliques. Le schéma général donné ci-après, explicite les étapes suivies lors de nos travaux :

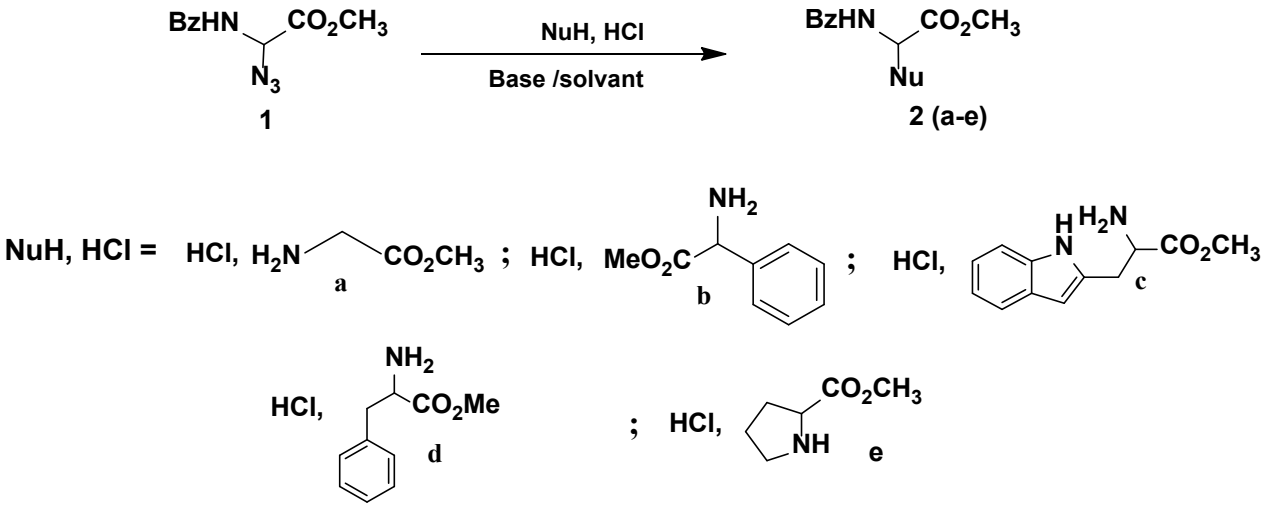


Schéma 36

I. Synthèse de2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)acétate de méthyle 2a

Pour la synthèse de l'ester **2a**, nous avons adopté la méthode préconisée par Mabrouk et al. [39]. Cette méthode consiste à la substitution nucléophile du groupement azide de l'α-azidoglycinate de méthyle N-protégé par l'ester méthylique de la glycine.

I.1. Synthèse du 2-azido-2-benzamidoacétate de méthyle1

La synthèse du 2-azido-2-benzamidoacétate de méthyle a été réalisée par la méthode décrite par Steglich [40] et celle décrite par Achamlal [41]. Le schéma ci-dessous rassemble les différentes étapes permettant la préparation du composé **1**.

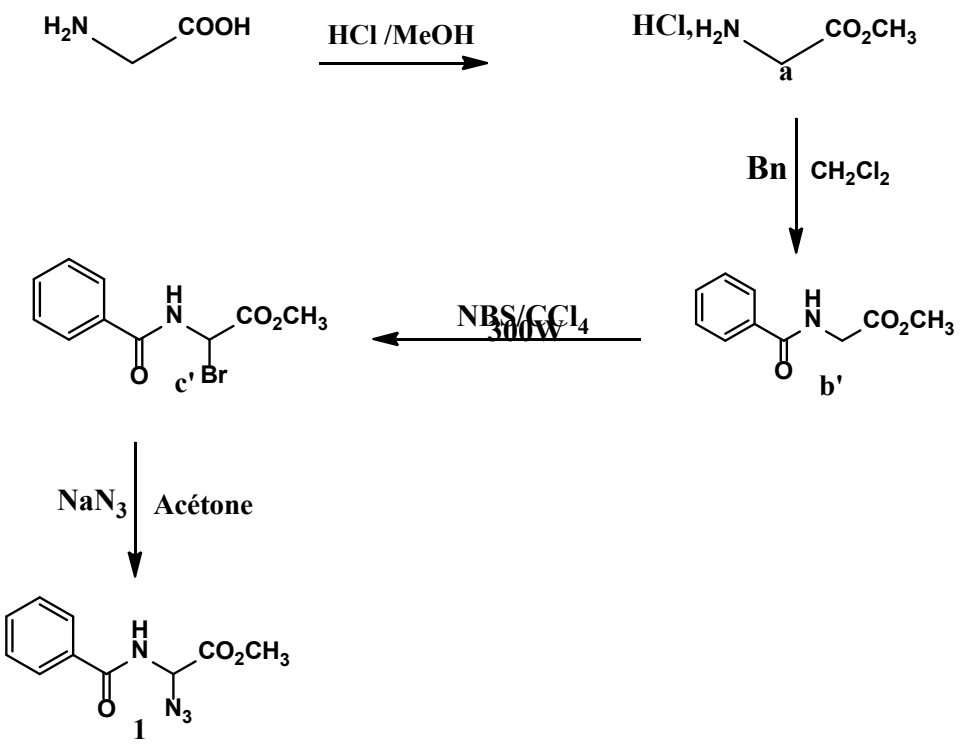


Schéma 37

I.1.1. Synthèse de l'ester méthylique de la glycine sous forme hydrochloré

L'estérification de la L-glycine par barbotage de l'acide chlorhydrique gazeux dans le méthanol anhydre [42], fournit l'ester méthylique **a** avec un rendement de l'ordre de 92% (schéma 38).

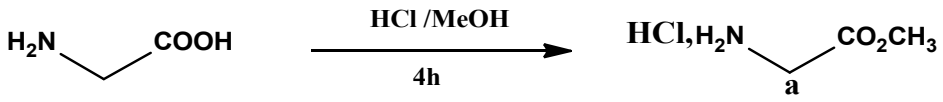


Schéma 38

I.1.2. Synthèse de l'ester méthylique de la glycine N-protégé

Le groupement benzoyle a été utilisé pour la protection de la fonction amine du produit **a**.

L'hydrochloré de l'ester méthylique **a** traité par 2 équivalents de triéthylamine et 1 équivalent de chlorure de benzoyle dans le dichlorométhane [43], conduit à l'aminoester N-benzoylé **b'** (schéma 39). L'aminoester N-protégé **b'** a été obtenu avec un rendement de l'ordre de 80% après recristallisation dans un mélange hexane /éther (5 :5).

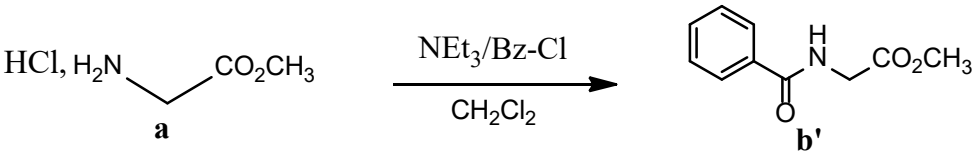


Schéma 39

I.1.3. Action du N-bromosuccinimide sur l'ester méthylique de la glycine

L'aminoester N-protégé **b'** est converti en dérivé bromé **c**'par action du N-bromosuccinimide (NBS) dans le tétrachlorure de carbone. Le mélange réactionnel a été irradié par une lampe de 300 W (schéma 40) [44].

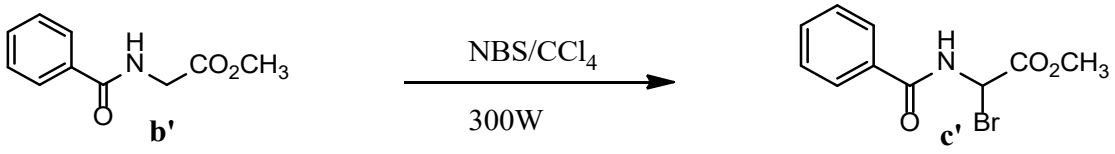


Schéma 40

I.1.4. Préparation du composé 1

La substitution du brome par le groupement azoture, a été effectuée par action de l'azoture de sodium dans l'acétone à température ambiante pendant 4 à 16 heures. La purification du brut réactionnel par chromatographie sur colonne de gel de silice permet l'obtention du produit **1**avec un bon rendement de l'ordre de 92% dans un mélange (hexane /éther) (8 :2) (schéma 41) [42].

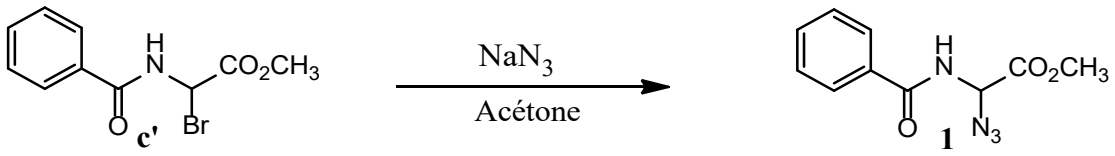


Schéma 41

I.2. Réaction de substitution

Comme nous l'avons déjà signalé [39], l'étape clé de la synthèse du 2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)acétate de méthyle **2a**, est la substitution du composé **1** par l'ester méthylique de la L-glycine **a** selon la stratégie décrite dans le schéma suivant :

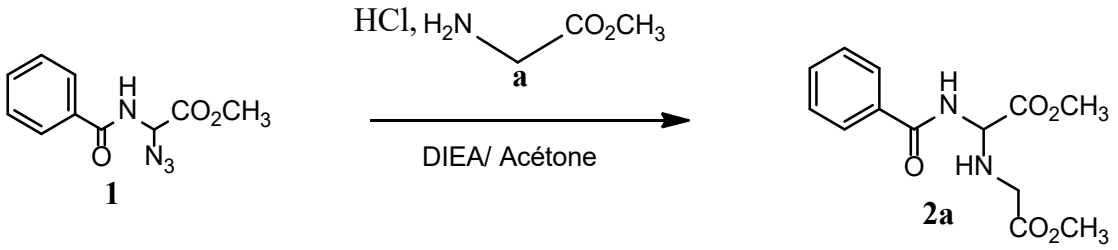


Schéma42

La réaction de N-alkylation de l'α-azidoglycinate de méthyl N-protégé **1** par l'ester méthylique de la glycine **a** a été suivie par CCM le long de la durée réactionnelle. Ce qui nous a révélé la consommation partielle des réactifs et la formation d'un nouveau produit. Le produit souhaité **2a** est obtenu avec un bon rendement de l'ordre de 80% après une recristallisation dans un mélange hexane / éther (5 :5).

Le spectre RMN ^{1}H du produit **2a**, enregistré dans le $CDCl_3$ (Figure1), présente entre autres, les signaux caractéristiques suivants :

-Un signal singulet à 3,2ppm attribué au proton du groupement NH de la glycine.

-Un signal singulet à 3,3ppm attribué aux deux protons méthyléniques ($C\underline{H_2}$-CO_2CH_3).

-Deux signaux singlets à 3,5 ppm et 3,7ppm relatifs aux protons méthyliques des deux groupements esters.

-Un signal (multiplicité) à 3,6ppm attribué à un proton du CH(N-C<u>H</u>-N).

-Un doublet centré à 5,4ppm attribué au proton du groupement NH (N<u>H</u>-COPh).

-Un multiplet entre 7.2 et 7.8 ppm correspondant aux 5 protons aromatiques.

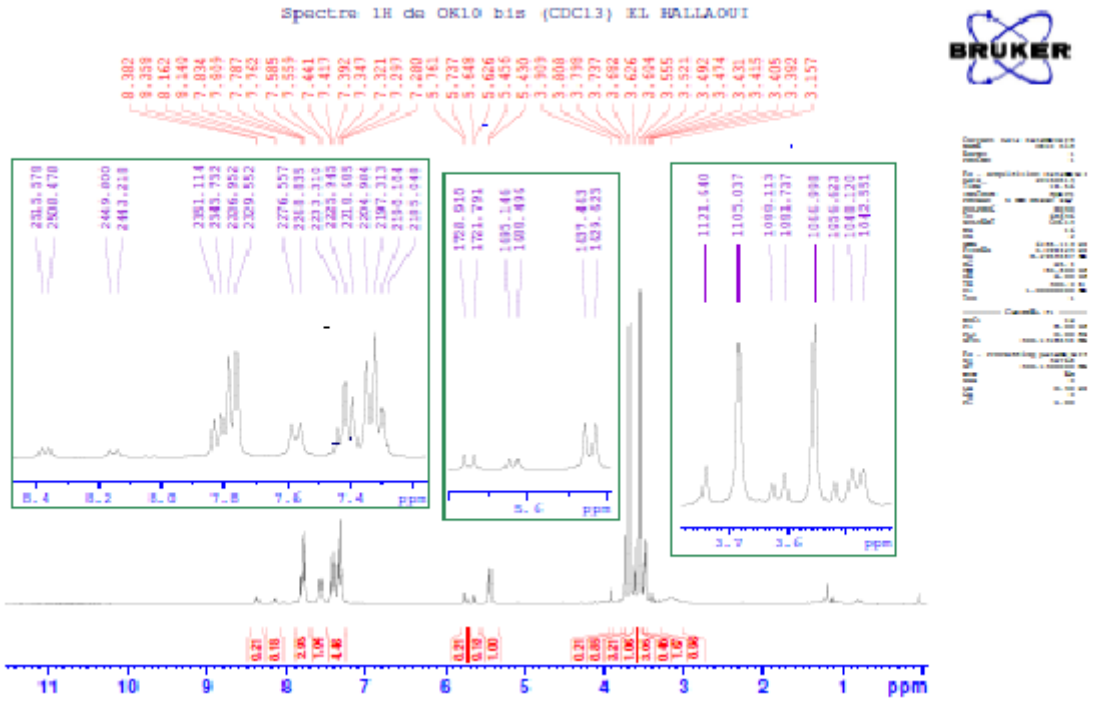


Figure 1: **Spectre RMN ^{1}H du composé 2a**

Le spectre RMN ^{13}C du produit **2a**, enregistré dans $CDCl_3$ présente en particulier les signaux caractéristiques suivants :

- Un signal à 46.85 ppm attribué au carbone méthylénique (-$\underline{C}H_2$-$COCH_3$).

- Deux signaux à50.56ppm et 51,76 ppm attribués aux deux carbones méthyliques des deux groupements esters.

-Un signal à 64.81 ppm attribué au carbone $\underline{C}H$ (N-$\underline{C}$H-N).

- Les trois carbones cétoniques résonnent à 167.49 ppm, 170.22 ppm et 172.79 ppm.

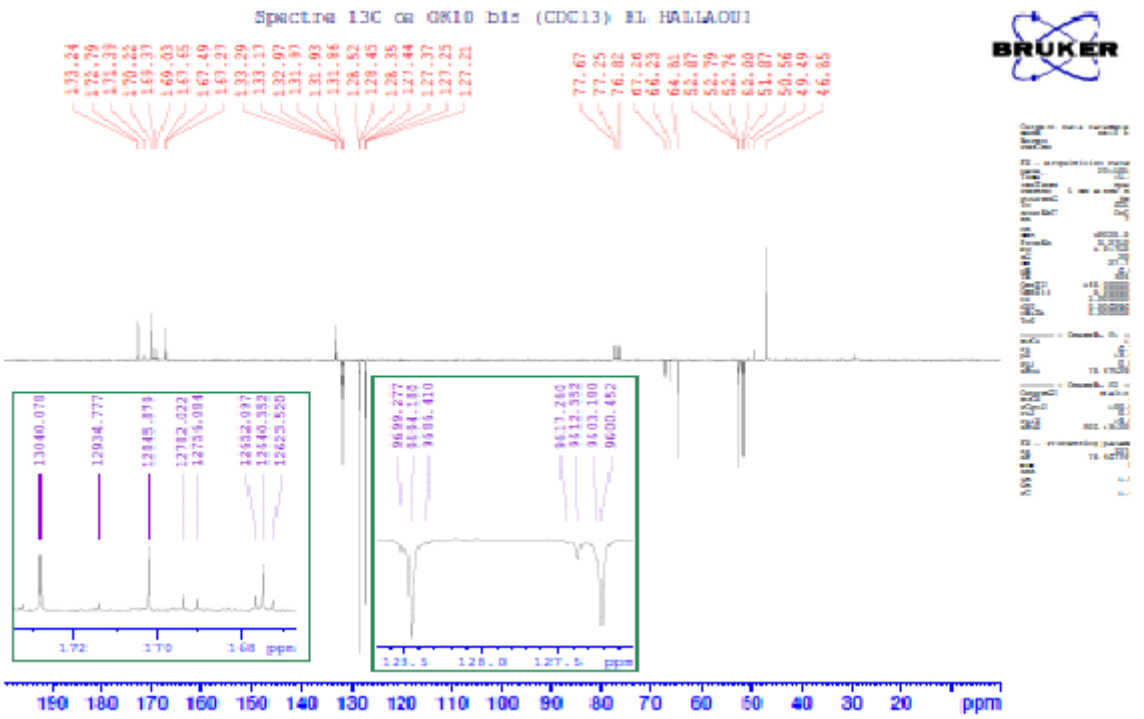


Figure 2 : **Spectre RMN ^{13}C du composé 2a**

II. Synthèse du 2-benzamido-2-{[-2-méthoxy-2-oxo-1 phényléthyl] amino} acétate de méthyle **2b**

II.1. Synthèse de l'ester méthylique de la phénylglycine sous forme hydrochloré

La L-phénylglycine a subi une réaction d'estérification en passant un courant d'HCl gazeux dans le méthanol anhydre. Le produit **b** est obtenu sous forme hydrochloré pur avec un rendement de 92% (schéma 43).

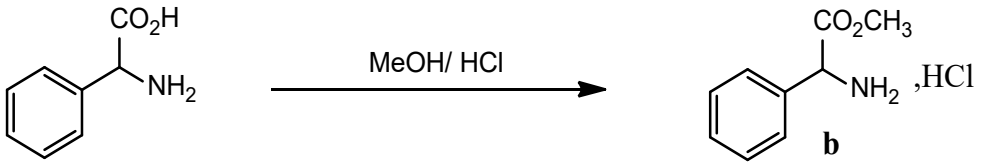


Schéma 43

La structure du composé a été établie sur la base des données spectrales RMN (^1H et ^{13}C) dans D_2O. Le spectre RMN ^1H du produit **b** présente les signaux caractéristiques suivants :

-Un signal singulet à 3,7ppm relatif aux protons du groupement ester.

-Un signal singulet à 5,19 ppm correspondant au proton du –CH-Ph.

- Les protons aromatiques résonnent entre 7,35ppm et 7,45ppm.

II.2. Réaction de substitution

La réaction de N-alkylation de l'ester méthylique de la phénylglycine **b** par l'α- azidoglycinate de méthyl N-protégé **1** a été suivie par CCM le long de la durée réactionnelle, ce qui nous a révélé la consommation partielle des réactifs et la formation d'un nouveau produit. Le produit souhaité **2b** est obtenu avec un rendement de l'ordre de 86% après recristallisation dans l'éther pur [45].

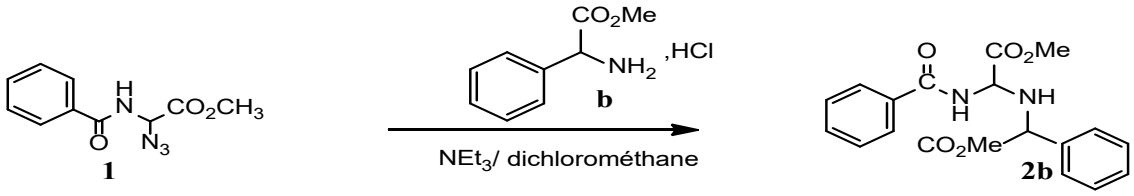


Schéma 44

Le spectre RMN ^{1}H du composé **2b** (figure 3) enregistré dans $CDCl_3$, présente en particulier les signaux caractéristiques suivants :

-Un signal large à 2,7ppm attribué au proton -NH de la phénylglycine.

-Deux singulets à 3,5ppm et 3,8ppm relatifs aux protons des deux méthyles du groupe méthoxy.

-Un signal à 4,65ppm attribuable au proton du CH-Ph.

-Un signal à 5,53ppm attribuable au proton N-CH-N.

-Un doublet centré à 6,90ppm attribuable au proton -NH-CO-Ph avec une constante de couplage de *J*= 8.4 Hz.

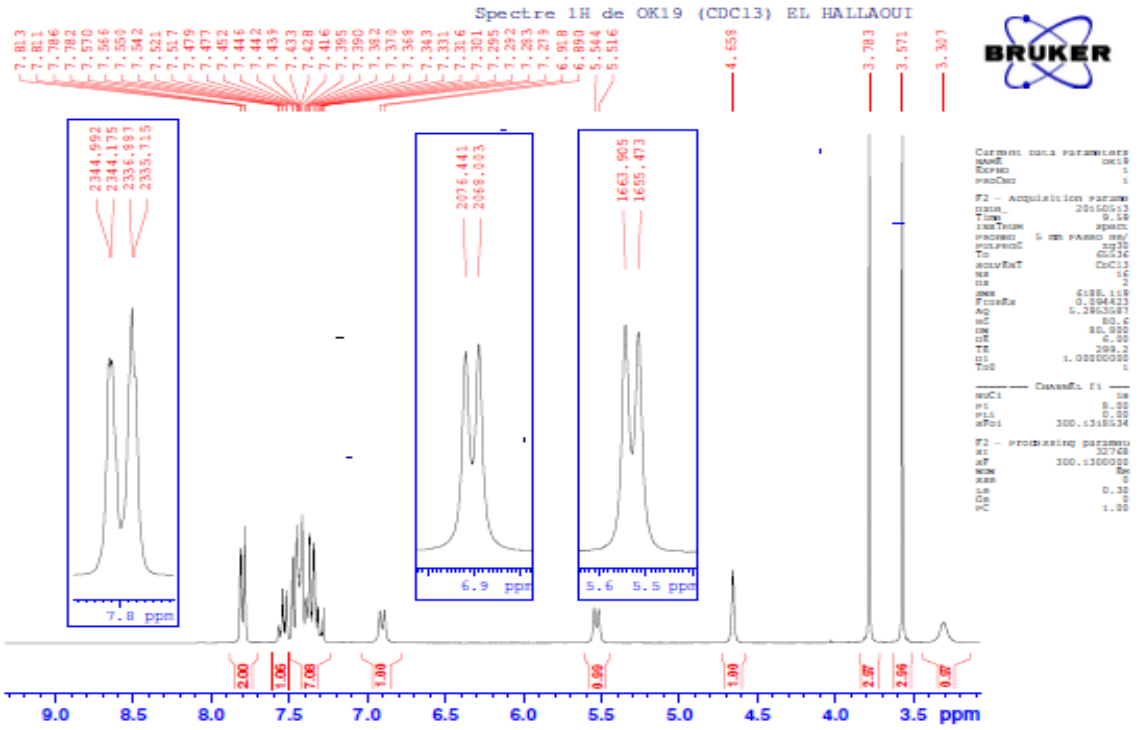


***Figure 3*:Spectre RMN 1H du produit 2b**

Le spectre RMN ^{13}C du produit **2b**, enregistré dans $CDCl_3$, présente entre autres, les signaux suivants :

- Deux signaux à 52,4 ppm et 52,8 ppm attribuables aux deux carbones méthyliques des groupements esters ($-CO_2CH_3$).
- Un signal à 61,9 ppm attribuable au carbone CH-Ph.
- Un signal à 63,6 ppm attribuable au carbone N-CH-N.
- Deux signaux à 127,1 ppm et 137,4ppm attribuables aux carbones aromatiques.
- Trois signaux à 167,1 ppm et 170,1 ppm et 173,6ppm correspondants aux trois carbones cétoniques (C=O).

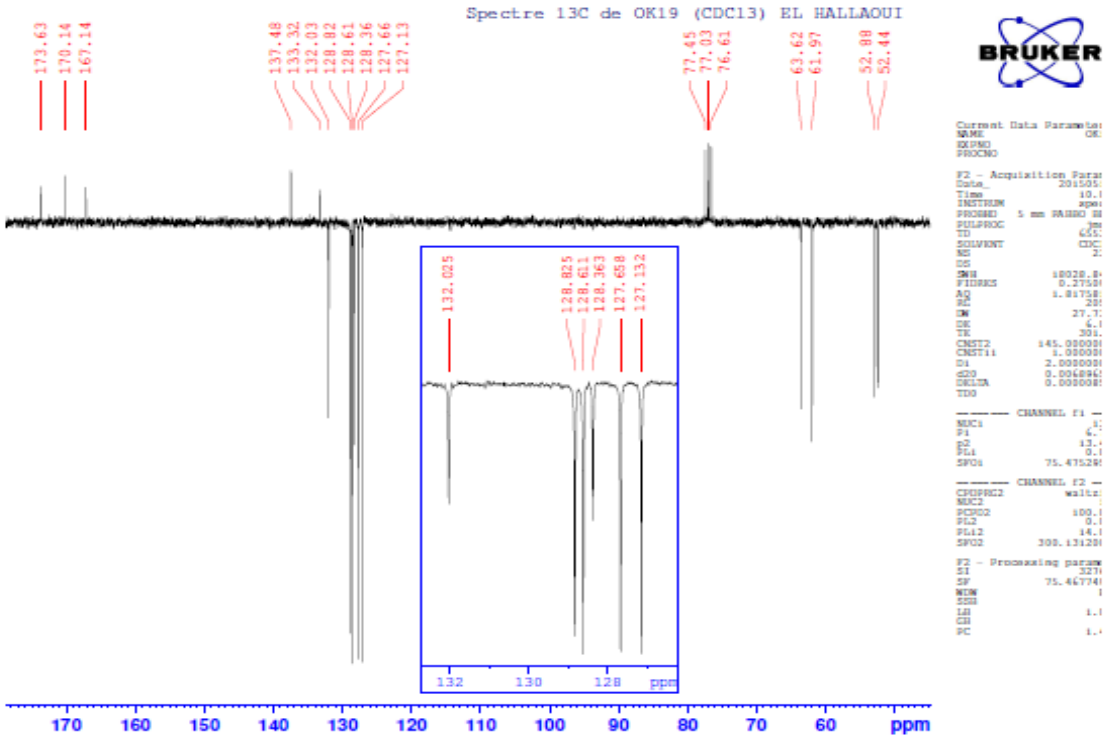


Figure 4 **: Spectre RMN ^{13}C du produit 2b**

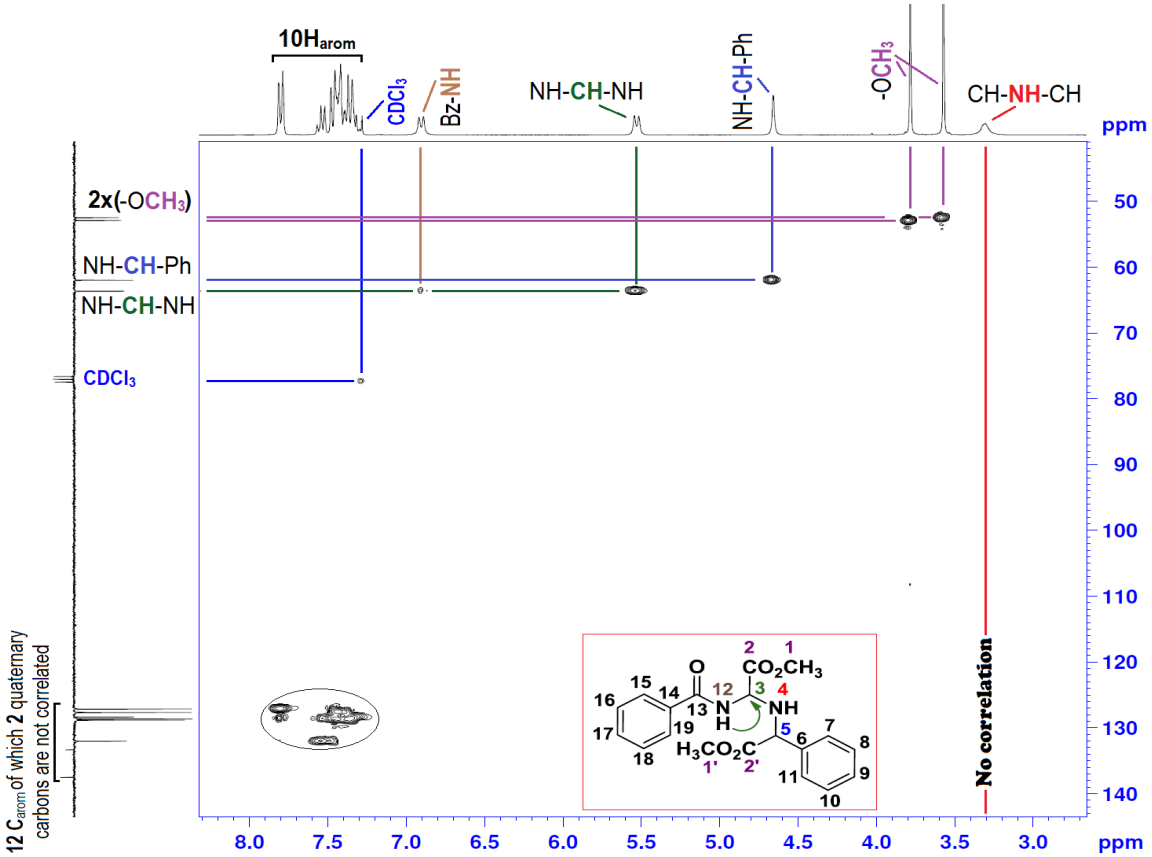


Figure 5**: Spectre hétéronucléaire 2D ^{1}H-^{13}C du composé 2b**

Tableau 1 : **Données spectrales de RMN ^{1}H (300.13 MHz) et ^{13}C (75.47 MHz) pour le produit 2b dans $CDCl_3$, y compris les résultats obtenus par corrélation 2D hétéronucléaire (*J* en Hz et δH en ppm) et (δC en ppm).**

Position	δ_H	δ_C	Correlation C-H
1	3,51 (s)	52,44	C^1 - $3H^1$
2	-	167,14	-
1'	3.78 (s)	52,88	$C^{1'}$ - $3H^{1'}$
2'	-	173,63	-
3	5,52 (d, *J* = 8,4 Hz)	63,62	C^3 - $1H^3$ et C^3 - $1H^{12}$
4	3,3 (e)	-	-
5	4,65 (s)	61,67	C^5 - $1H^5$
12	6,75 (d, *J* = 8,4 Hz)	-	-
13	-	170,14	-
6 – 11et **14 – 19**	7,28 – 7,82 (m)	127,13 – 137,48	$10C_{arom}$ - $10H_{arom}$

Le spectre de masse en mode **MS-ESI** du composé **2b**, présente un pic moléculaire **m/z=356,59** correspondant à l'ion moléculaire $[M]^+$(figure 6).

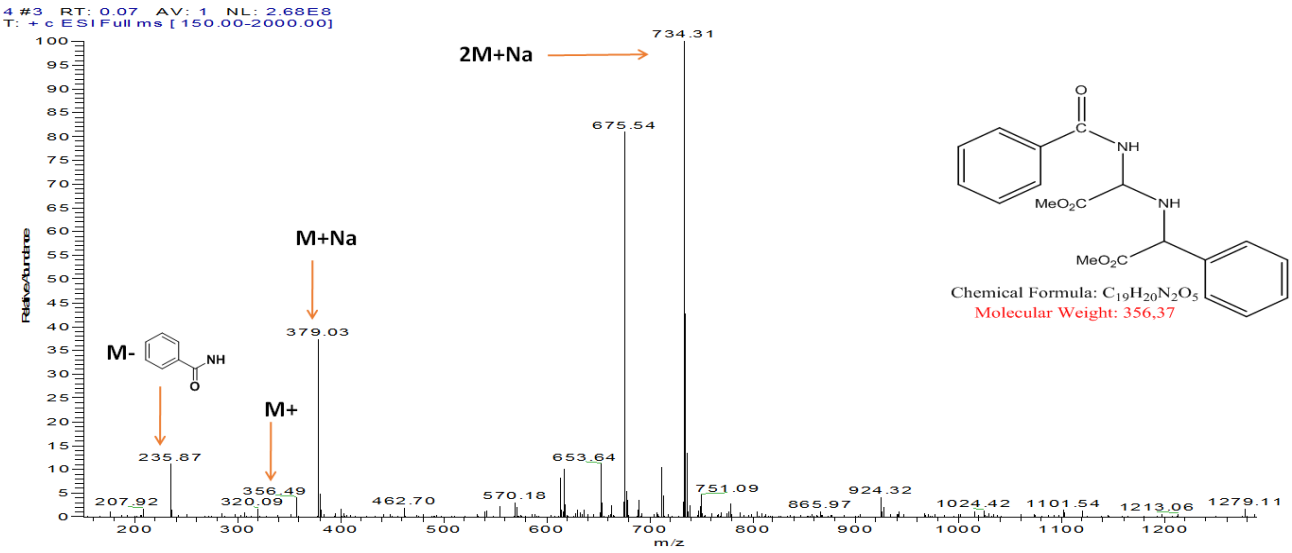


Figure 6: **Spectre de masse du composé 2b**

La structure proposée pour l'acétate du 2-benzamido-2-{[-2-méthoxy-2-oxo-1 phényléthyl] amino} acétate de méthyle a été établie sur la base des données spectroscopiques RMN. La structure a été confirmée par diffraction des rayons-X.

II.3Etude de la structure de -2-benzamido-2-{[-2-méthoxy-2-oxo-1 phényléthyl] amino} acétate de méthyle 2b:

La résolution structurale du-2-benzamido-2-{[-2-méthoxy-2-oxo-1 phényléthyl] amino}acétate de méthyle **2b** montre que la conformation de la molécule est tordue et également influencée par la présence d'une liaison hydrogène N-H···O intramoléculaire. Les deux cycles phényles forment avec les deux groupements carboxylate de méthyle des angles dièdres de l'ordre 58,85 (8) ° et 88,30 (8) °. [46].

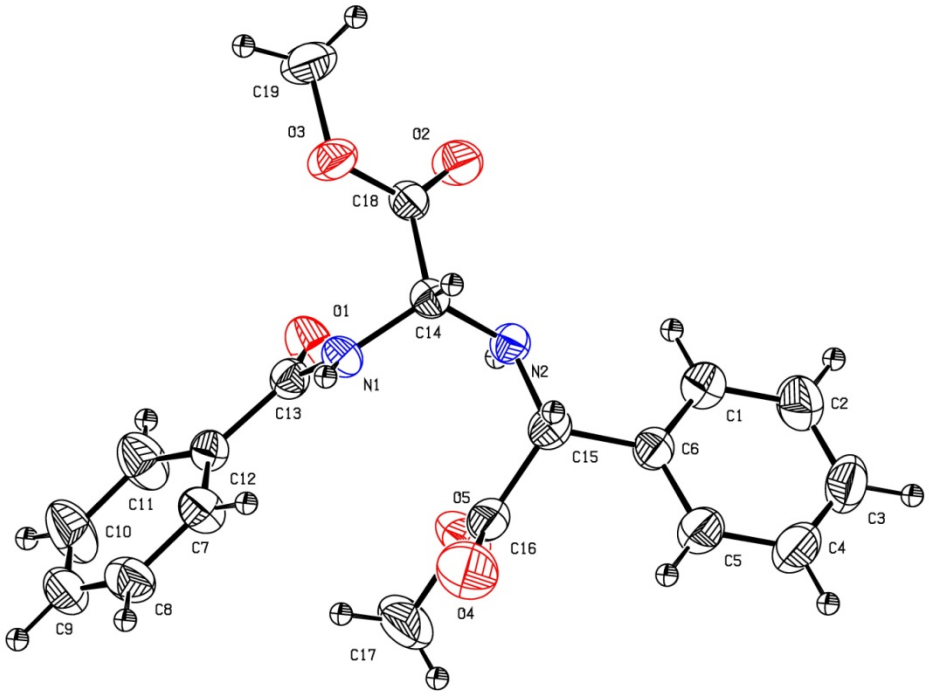


Figure 7 : ***Vue ORTEP du composé 2b***

Le composé (2R)-2-benzamido-2-{[(1R)-2-méthoxy-2-oxo-1 phényléthyl] amino}acétate de méthyle **2b** de formule brute $C_{19}H_{20}N_2O_5$ cristallise dans le système Orthorhombique, avec le groupe d'espace $P2_12_12_1$[46].

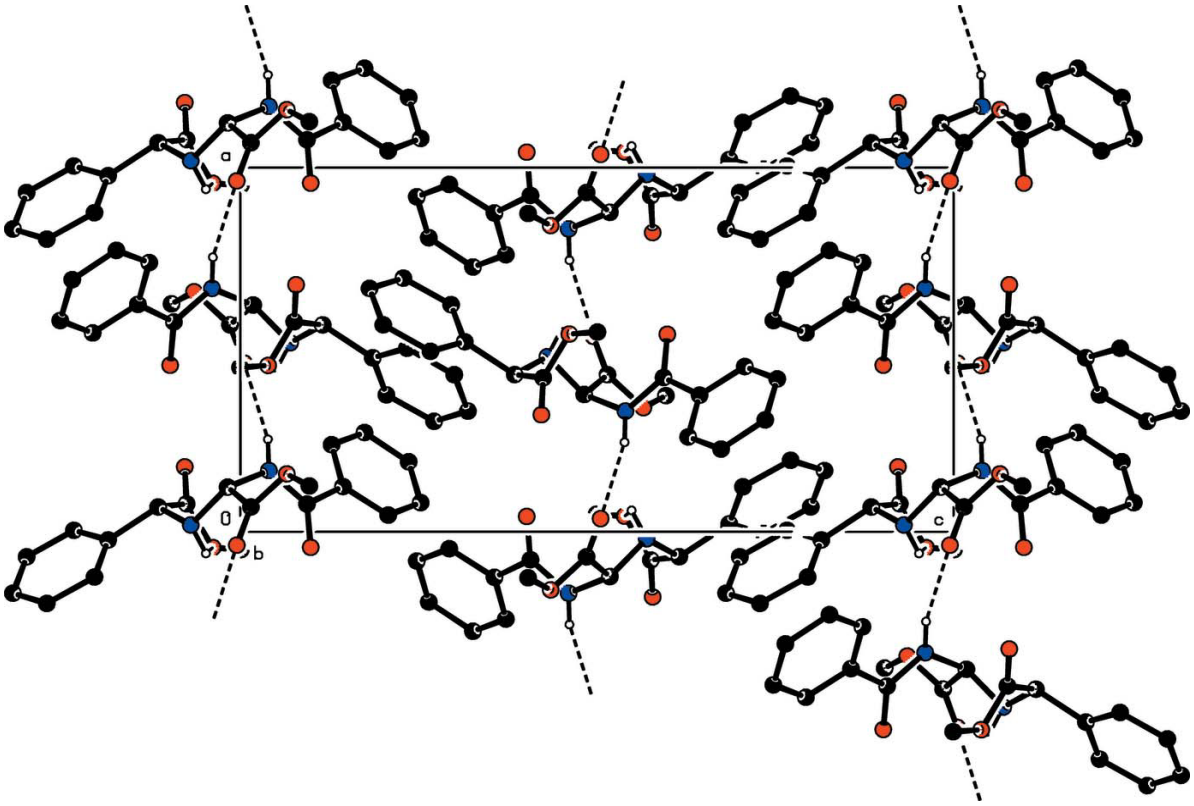


Figure 8: **Empilement de la structure du composé 2b.**

Le tableau 2 récapitule les données cristallographiques, les conditions de la collecte et les résultats de l'affinement, les autres paramètres seront présentés dans les tableaux 3, 4 et 5, le tableau 6 regroupe les données géométriques de la structure du composé.

Tableau 2 **: Données cristallographiques du composé $C_{19}H_{20}N_2O_5$.**

Formule moléculaire	$C_{19}H_{20}N_2O_5$
Masse moléculaire	*356,37*
Température	*173K*
Longueur d'onde (Mo, k_α)	*0,71073 Å*
Système cristalline	*Orthorhombique, $P2_12_12_1$*
Paramètres de la maille	a = 9,3432(6) Å b = 10,4314(8) Å c = 18,0901(14) Å
Volume	1763,1(2) $Å_3$
Z	4
Densité calculée	1,343 Mg m^{-3}

F(000)	752
Coefficient d'absorption	0,10 mm-1
Thêta	1,6 à 25,2°
Indices limites	$-11 \leq h \leq 7$; $-12 \leq k \leq 12$; $-22 \leq l \leq 22$
Nombre de reflections avec I>2σ(I)	3246
Rint	0,029
wR(F2)	0,056

Tableau 3 : **Paramètres de positions atomiques et coefficients isotropiques U_{iso}*/$U_{éq}$ (Å^2) de $C_{19}H_{20}N_2O_5$**

Atomes	*x*	*y*	*z*	*Uiso*/Uéq*
C14	0,12279 (14)	0,23661 (11)	0,98202 (7)	0,0305 (3)
H14	0,2102	0,2580	0,9526	0,037*
N1	0,16831 (11)	0,14782 (10)	1,03988 (6)	0,0315 (2)
O3	0,15911 (11)	0,40644 (9)	1,06499 (6)	0,0464 (3)
O1	−0,04242 (10)	0,16104 (10	1,09856 (6)	0,0456 (3)
O2	−0,03638 (11)	0,41900 (9)	0,99493 (6)	0,0475 (3)
C15	0,06822 (15)	0,08188 (12)	0,88463 (7)	0,0359 (3)
H15	0,1676	0,1036	0,8684	0,043*
N2	0,01902 (12)	0,18778 (10)	0,93039 (6)	0,0321 (2)
C12	0,12463 (14)	0,00585 (12)	1,14380 (7)	0,0330 (3)
C18	0,06847 (13)	0,36261 (11)	1,01468 (7)	0,0323 (3)
C13	0,07640 (13)	0,11150 (12)	1,09329 (7)	0,0322 (3)
C1	−0,12382 (16)	0,15859 (14)	0,79537 (8)	0,0452 (3)
H1	−0,1444	0,2276	0,8279	0,054*
C6	−0,02209 (14)	0,06888 (13)	0,81452 (7)	0,0353 (3)
C9	0,19247 (18)	−0,19864 (15)	1,23588 (9)	0,0493 (4)
H9	0,2146	−0,2693	1,2669	0,059*
O5	−0,04305 (14)	−0,07267 (10)	0,96120 (7)	0,0620 (3)
C8	0,27280 (17)	−0,17514 (15)	1,17398 (9)	0,0479(4)
H8	0,3519	−0,2288	1,1627	0,057*
C19	0,1260 (2)	0,53040 (15)	1,09662 (10)	0,0572 (4)

H19A	0,1460	0,5977	1,0602	0,086*
H19B	0,1851	0,5443	1,1407	0,086*
H19C	0,0246	0,5332	1,1104	0,086*
C7	0,23931 (16)	−0,07355 (13)	1,12783 (8)	0,0423 (3)
H7	0,2954	−0,0582	1,0849	0,051*
C4	−0,0684 (2)	−0,04241(16)	0,70022 (9)	0,0571 (4)
H4	−0,0492	−0,1120	0,6678	0,069*
C5	0,00429(18)	−0,03273 (15)	0,76647(8)	0,0474 (4)
H5	0,0730	−0,0960	0,7794	0,057*
C11	0,04614 (19)	−0,01734 (17)	1,20718 (9)	0,0560 (4)
C16	0,07709 (18)	−0,04722 (14)	0,92455 (8)	0,0471 (4)
O4	0,17846(16)	−0,11697(13)	0,92196 (8)	0,0816 (4)
C3	−0,1684(2)	0,04823 (18)	0,68102 (9)	0,0619 (5)

Tableau 4 : **Paramètres de déplacement atomiques (U11, U22, U33, U12, U13, U23) (Å2)**

Atomes	***U11***	***U22***	***U33***	***U12***	***U13***	***U23***
C14	0,0284(6)	0,0311(6)	0,0321(6)	−0,0018(5)	−0,0005(5)	0,0026 (5)
N1	0,0270(5)	0,0325 (5)	0,0352 (5)	0,0043 (4)	−0,0002(5)	0,0039 (4)
O3	0,0447(5)	0,0364 (5)	0,0581 (6)	0,0044 (4)	−0,0181 (5)	−0,0123 (5)
O1	0,0363 (5)	0,0549 (6)	0,0454 (5)	0,0140 (5)	0,0072 (4)	0,0097 (5)
O2	0,0412 (6)	0,0406 (5)	0,0607 (6)	0,0089 (4)	−0,0159 (5)	−0,0052 (5)
C15	0,0341 (6)	0,0374 (7)	0,0362 (7)	−0,0007(6)	0,0017 (5)	−0,0037 (5)
N2	0,0307 (5)	0,0324 (5)	0,0332 (5)	−0,0013(4)	−0,0016 (5)	−0,0005 (4)
C12	0,0340 (6)	0,0337 (6)	0,0314 (6)	−0,0010(5)	−0,0040 (5)	0,0003 (5)
C18	0,0311 (6)	0,0305 (6)	0,0351 (6)	−0,0020(5)	−0,0040 (5)	0,0042 (5)
C13	0,0322 (6)	0,0333 (6)	0,0310 (6)	0,0022 (5)	−0,0010 (5)	−0,0018 (5)
C1	0,0494 (8)	0,0441 (8)	0,0421 (7)	−0,0024(7)	−0,0045 (7)	−0,0009 (6)
C6	0,0383 (7)	0,0365 (7)	0,0310 (6)	−0,0076(5)	0,0033 (5)	0,0012 (5)
C9	0,0577 (9)	0,0423 (8)	0,0479 (8)	−0,0024(7)	−0,0112 (7)	0,0134 (7)
O5	0,0676 (8)	0,0449 (6)	0,0736 (8)	−0,0110(6)	−0,0148 (6)	0,0246 (6)
C8	0,0477 (8)	0,0397 (7)	0,0562 (9)	0,0076 (7)	−0,0043 (7)	0,0055 (7)
C19	0,0653(10)	0,0380 (8)	0,0681(10)	0,0046 (7)	−0,0147 (9)	−0,0170 (7)
C7	0,0429 (8)	0,0412 (7)	0,0427 (7)	0,0053 (6)	0,0041 (6)	0,0062 (6)
C4	0,0746(11)	0,0543 (9)	0,0426 (8)	−0,0127(9)	−0,0008 (8)	−0,0113 (7)

C5	0,0570 (9)	0,0446 (8)	0,0407 (8)	−0,0036(7)	0,0012 (7)	−0,0050 (7)
C11	0,0566(10)	0,0626(10)	0,0487 (8)	0,0169 (8)	0,0150 (8)	0,0159 (8)
C16	0,0599 (9)	0,0377 (7)	0,0436 (8)	0,0078 (7)	−0,0176 (7)	−0,0074 (6)
O4	0,0964(10)	0,0652 (8)	0,0831 (9)	0,0450 (8)	−0,0142 (8)	−0,0072 (7)
C10	0,0731(12)	0,0746(12)	0,0494 (9)	0,0129(10)	0,0160 (9)	0,0265 (9)
C3	0,0760(12)	0,0700(11)	0,0397 (8)	-0,0191(10)	−0,0167 (8)	0,0003 (8)
C2	0,0636(10)	0,0595(10)	0,0546(10)	−0,0007(9)	−0,0191 (8)	0,0069 (8)

Tableau 5 : **Paramètres géométriques (Å, °) de $C_{19}H_{20}N_2O_5$**

N1—C13	1,3469 (17)	**C8—H8**	0,9500
N1—H1N	0,855(13)	**C19—H19A**	0,9800
O3—C18	1,3246 (15)	**C19—H19B**	0,9800
O3—C19	1,4474 (17)	**C19—H19C**	0,9800
O1—C13	1,2282(15)	**C7—H7**	0,9500
O2—C18	1,1973 (15)	**C4—C3**	1,374 (3)
C15—N2	1,4549 (16)	**C4—C5**	1,381 (2)
C15—C6	1,5294 (18)	**C4—H4**	0,9500
C15—C16	1,530 (2)	**C5—H5**	0,9500
C15—H15	1,0000	**C11—C10**	1,385 (2)
N2—H2N	0,850 (12)	**C11—H11**	0,9500
C12—C11	1,382 (2)	**C16—O4**	1,1952 (19)
C12—C7	1,3848 (19)	**C3—C2**	1,378 (3)
C12—C13	1,5009 (17)	**C3—H3**	0,9500
C1—C6	1,378 (2)	**C10—H10**	0,9500
C1—C2	1,392 (2)	**C2—H2**	0,9500
C1—H1	0,9500	**C17—H17A**	0,9800
C6—C5	1,393 (2)	**C17—H17B**	0,9800
C9—C8	1,370 (2)	**C17—H17C**	0,9800
C9—C10	1,369 (2)		
N2—C14—N1	115,89 (10)	**C9—C8—H8**	119,8
N2—C14—C18	109,37 (10)	**C7—C8—H8**	119,8
N1—C14—C18	111,41 (10)	**O3—C19—H19A**	109,5
N2—C14—H14	106,5	**O3—C19—H19B**	109,5

N1—C14—H14	106,5	**H19A—C19—H19B**	109,5
C18—C14—H14	106,5	**O3—C19—H19C**	109,5
C13—N1—C14	120,44 (11)	**H19A—C19—H19C**	109,5
C13—N1—H1N	121,3 (10)	**H19B—C19—H19C**	109,5
C14—N1—H1N	118,2 (10)	**C12—C7—C8**	120,44 (14)
C18—O3—C19	116,33 (11)	**C12—C7—H7**	119,8
N2—C15—C6	111,39 (11)	**C8—C7—H7**	119,8
N2—C15—C16	114,64 (11)	**C3—C4—C5**	120,22 (16)
C6—C15—C16	110,07 (11)	**C3—C4—H4**	119,9
N2—C15—H15	106,8	**C5—C4—H4**	119,9
C6—C15—H15	106,8	**C4—C5—C6**	120,67 (15)
C16—C15—H15	106,8	**C4—C5—H5**	119,7
C14—N2—C15	115,15 (10)	**C6—C5—H5**	119,7
C14—N2—H2N	111,8 (9)	**C12—C11—C10**	120,44 (15)
C15—N2—H2N	110,0 (10)	**C12—C11—H11**	119,8
C11—C12—C7	118,61 (13)	**C10—C11—H11**	119,8
C11—C12—C13	118,31 (12)	**O4—C16—O5**	124,52 (15)
C7—C12—C13	122,99 (12)	**O4—C16—C15**	124,07 (16)
O2—C18—O3	123,96 (12)	**O5—C16—C15**	111,41 (12)
O2—C18—C14	125,39 (12)	**C4—C3—C2**	119,61 (15)
O3—C18—C14	110,51 (10)	**C4—C3—H3**	120,2
O1—C13—N1	120,90 (12)	**C2—C3—H3**	120,2
O1—C13—C12	122,21 (12)	**C9—C10—C11**	120,49 (15)
N1—C13—C12	116,86 (11)	**C9—C10—H10**	119,8
C6—C1—C2	120,23 (15)	**C11—C10—H10**	119,8
C6—C1—H1	119,9	**C3—C2—C1**	120,43 (16)
C2—C1—H1	119,9	**C3—C2—H2**	119,8
C1—C6—C5	118,82(13)	**C1—C2—H2**	119,8
C1—C6—C15	121,92 (12)	**O5—C17—H17A**	109,5
C5—C6—C15	119,17 (12)	**O5—C17—H17B**	109,5
C8—C9—C10	119,61 (14)	**H17A—C17—H17B**	109,5
C8—C9—H9	120,2	**O5—C17—H17C**	109,5
C10—C9—H9	120,2	**H17A—C17—H17C**	109,5
C16—O5—C17	116,64 (16)	**H17B—C17—H17C**	109,5

C9—C8—C7	120,38 (15)		
N2—C14—N1—C13	−68,46 (15)	**N2—C15—C6—C5**	−175,99 (12)
C18—C14—N1—C13	57,43 (15)	**C16—C15—C6—C5**	−47,69 (17)
N1—C14—N2—C15	−64,44 (15)	**C10—C9—C8—C7**	−1,2 (2)
C18—C14—N2	168,63 (10)	**C15 C11—C12—C7—C8**	—1,0 (2)
C6—C15—N2—C14	−158,86 (11)	**C13—C12—C7—C8**	−175,46 (13)
C16—C15—N2—C14	75,32 (15)	**C9—C8—C7—C12**	0,3 (2)
C19—O3—C18—O2	−0,1 (2)	**C3—C4—C5—C6**	−0,3 (2)
C19—O3—C18—C14	175,61 (13)	**C1—C6—C5—C4**	1,1 (2)
N2—C14—C18—O2	−7,24 (17)	**C15—C6—C5—C4**	−175,50 (14)
N1—C14—C18—O2	−136,67 (13)	**C7—C12—C11—C10**	−1,4 (2)
N2—C14—C18—O3	177,07 (11)	**C13—C12—C11—C10**	175,25 (16)
N1—C14—C18—O3	47,65(14)	**C17—O5—C16—O4**	0,2 (2)
C14—N1—C13—O1	−6,90 (19)	**C17—O5—C16—C15**	179,10 (13)
C14—N1—C13—C12	171,27 (10)	**N2—C15—C16—O4**	−131,74 (15)
C11—C12—C13—O1	−13,9 (2)	**C6—C15—C16—O4**	101,76 (17)
C7—C12—C13—O1	162,54 (13)	**N2—C15—C16—O5**	49,39 (16)
C11—C12—C13—N1	167,94 (13)	**C6—C15—C16—O5**	−77,11 (14)
C7—C12—C13—N1	−15,60 (19)	**C5—C4—C3—C2**	−0,4 (3)
C2—C1—C6—C5	−1,2 (2)	**C8—C9—C10—C11**	0,8 (3)
C2—C1—C6—C15	175,29 (14)	**C12—C11—C10—C9**	0,5 (3)
N2—C15—C6—C1	7,55 (18)	**C4—C3—C2—C1**	0,3 (3)
C16—C15—C6—C1	135,86 (14)	**C6—C1—C2—C3**	0,5 (2)

Tableau 6 : **Géométrie de la liaison hydrogène (Å, º)**

D*—H · · · *A	***D*—H**	**H · · · *A***	***D* · · · *A***	***D*—H · · · *A***
N1—H1*N* · · · O2^{i}	0,85 (1)	2,09 (1)	2,9147 (15)	162 (1)
N2—H2*N* · · · *Cg*2^{ii}	0,85 (1)	2,52 (1)	2,8334 (15)	103 (1)
C5—H5 · · · *Cg*3	0,95	2,44	2,8000 (18)	102
C20—H20 · · · *Cg*1^{iii}	0,95	2,58	3,4530 (18)	153

Codes de Symétrie : (i) −*x*+1, *y*−1/2, −*z*+1/2; (ii) −*x*+1, *y*+1/2, −*z*+1/2; (iii) *x*+1/2, −*y*−1/2, −*z*.

III. Synthèse 2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)-3-(1H-indol-2-yl)propanoate de méthyle 2c

III.1. Synthèse de l'ester méthylique du tryptophane sous forme hydrochloré c

L'estérification du L-tryptophane est effectuée en passant un courant d'HCl gazeux dans le méthanol anhydre. L'ester méthylique du tryptophane a été obtenu sous forme hydrochloré avec un rendement de l'ordre de 92% (schéma45).

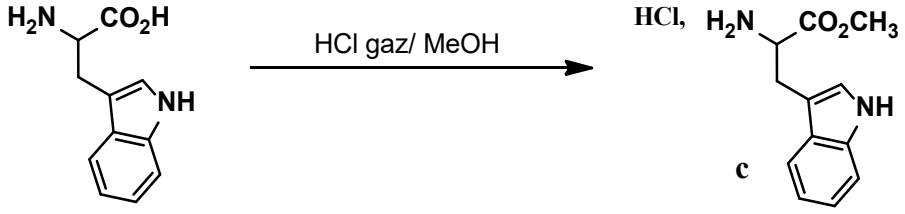


Schéma 45

Le spectre RMN ^{1}H du produit **c** présente les signaux caractéristiques suivants :

-Un signal à 2,9ppm attribuable aux deux protons méthyléniques C$\underline{H}_2$.

-Un signal singulet à 3,5 ppm relatif aux protons méthyliques du groupement carboxylate.

-Un signal à 3,8ppm attribuable au proton C$\underline{H}$ lié à CH_2.

-Un signal singulet à10.8ppm attribuable au proton du groupement NH cyclique.

III.2. Réaction de substitution

Par la même stratégie de synthèse, l'azide **1** a été substitué par le 2-amino-3-(1H-indol-2-yl)propanoate de méthyle **c** selon la procédure décrite dans le schéma suivant :

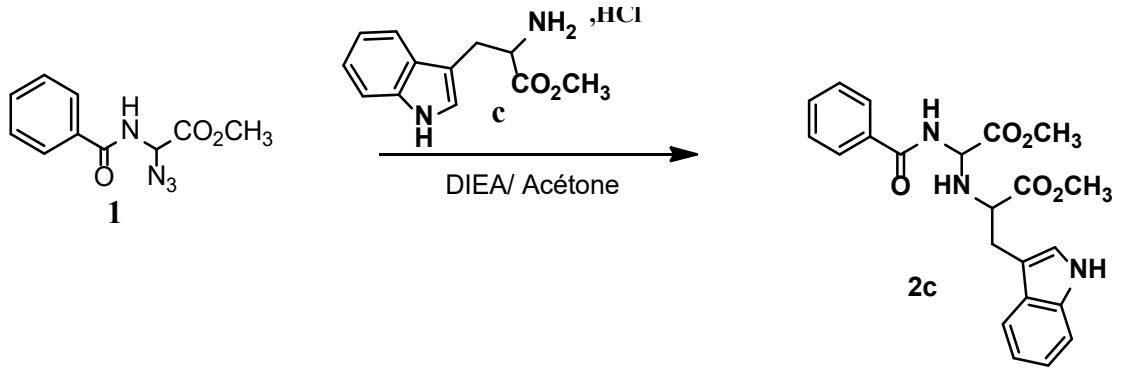


Schéma 46

La réaction de N-alkylation de l'ester méthylique du tryptophane **c** par l'α-azidoglycinate de méthyl N-protégé **1** a été suivie par CCM le long de la durée réactionnelle, ce qui nous a révélé

la consommation partielle au fils du temps des réactifs et la formation d'un nouveau produit. Le produit souhaité **2c** est obtenu avec un rendement de l'ordre de 86% après recristallisation dans l'acétone [47].

Son spectre RMN ^{1}H enregistré dans $CDCl_3$(Figure 9), présente entre autres, les signaux caractéristiques suivants :

-Un signal à 2,9ppm attribué aux deux protons CH_2du tryptophane.

-Un signal à 3ppm attribué au proton du NH du tryptophane acyclique.

-Deux signaux singulets respectivement à 3,3ppm et 3,5ppm relatifs aux protons des deux méthyles du groupe méthoxy.

-Un signal à 3,8ppm attribuable à un proton du CH-CH_2.

-Un signal à 5,2ppm attribuable au proton N-CH-N.

-Un doublet centré à 9ppm attribuable au proton NH-CO-Ph.

-Un singulet à 10.8ppm qui correspond au proton NH du tryptophane cyclique.

-Les protons aromatiques résonnent sous forme de multiplet entre 6,8 ppm et 7,8 ppm.

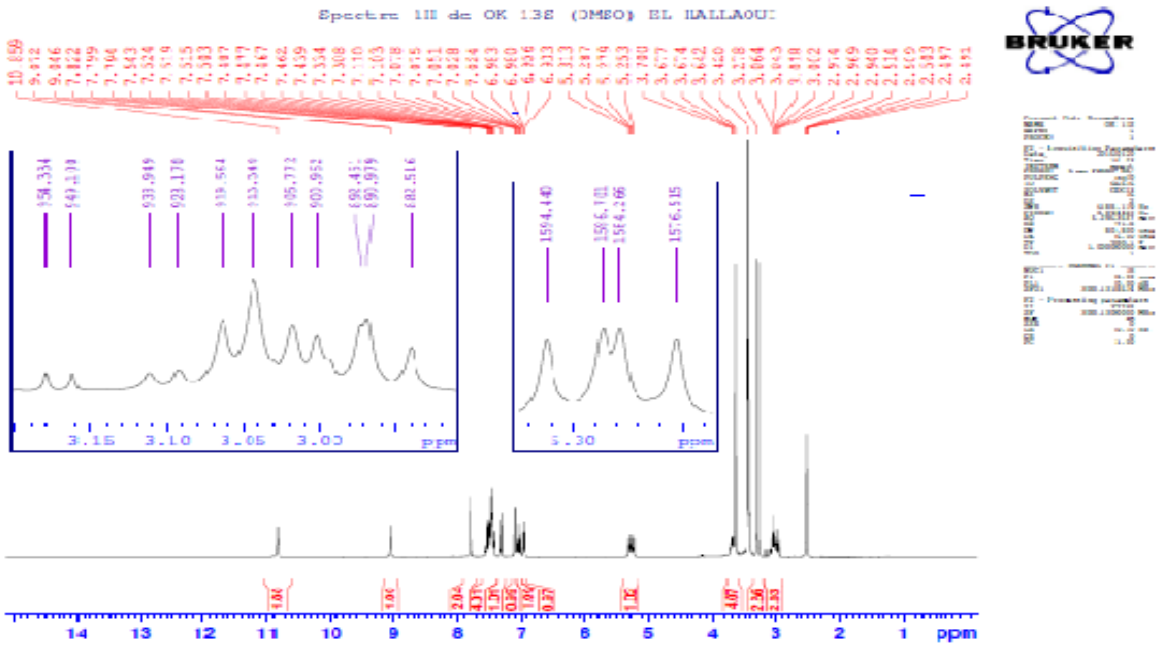


Figure 9 : **Spectre RMN ^{1}H du produit 2c**

Le spectre RMN ^{13}C du produit **2c**, enregistré dans DMSO, présente entre autres, les signaux suivants :

- Un signal à 39.1 ppm attribuable au carbone CH_2 du tryptophane.

- Deux signaux à 51.7 ppm et 52,6 ppm correspondants aux deux carbones méthyliques des deux fonctions esters.

- Un signal à 59.0 ppm qui correspond au carbone C<u>H</u>-CH_2.

-Un signal à 64.1 ppm relatif au carbone N-C<u>H</u>-N.

- Les carbones cétoniques des trois groupements carboxylates (-$\underline{C}O_2CH_3$) résonnent respectivement à 166.5ppm et 170.3 ppm et 174.39ppm.

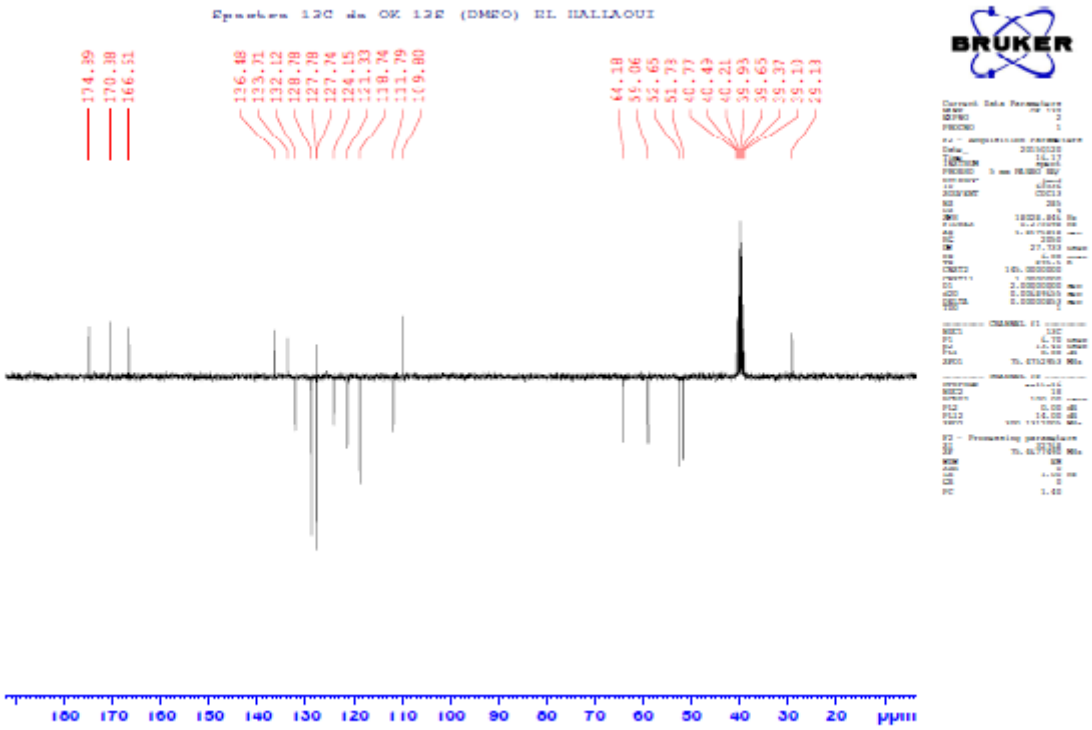


Figure 10 : **Spectre RMN ^{13}Cdu composé 2c**

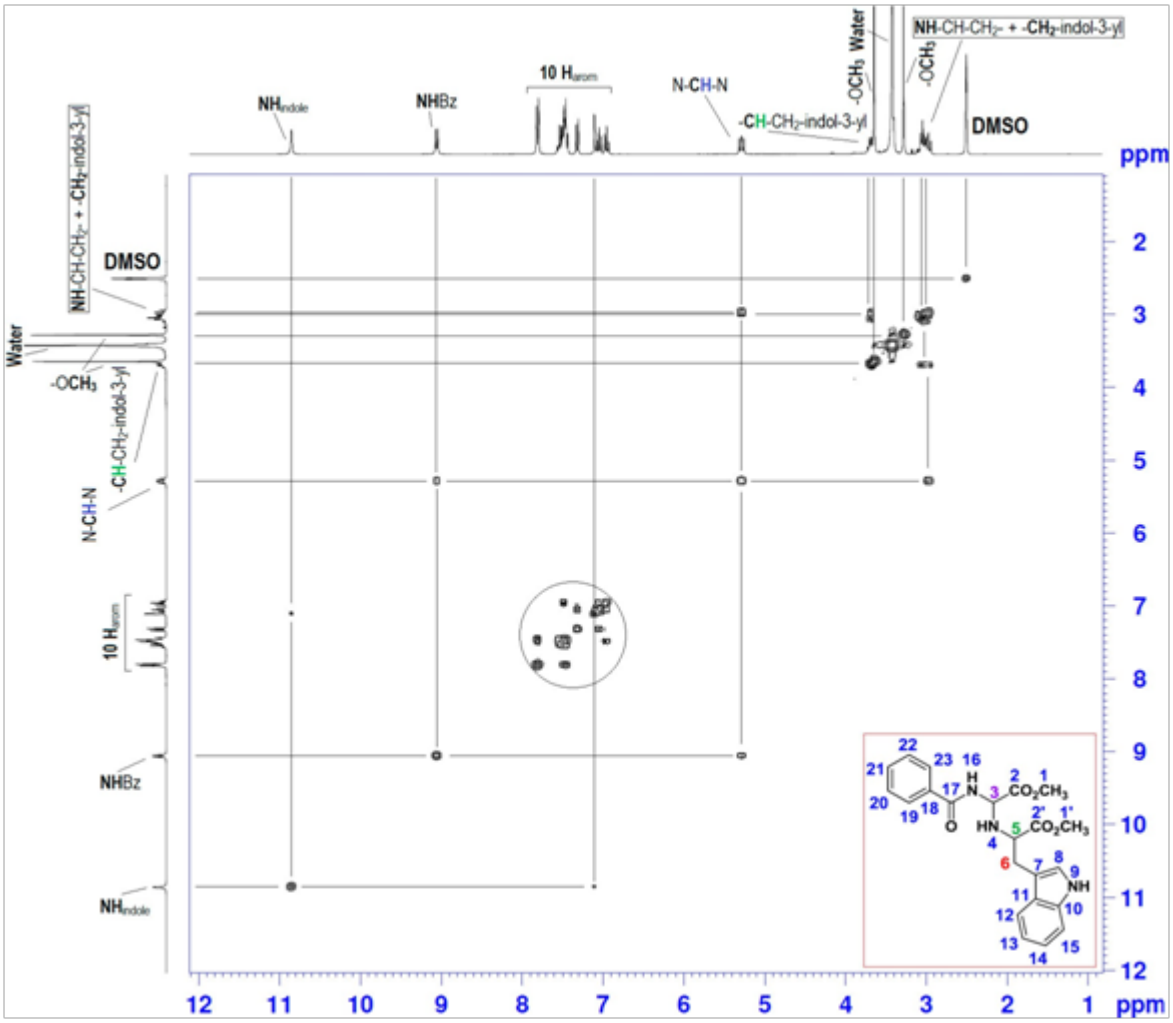


Figure 11 : **Spectre homonucléaire ^{1}H-^{1}H 2D du composé 2c**

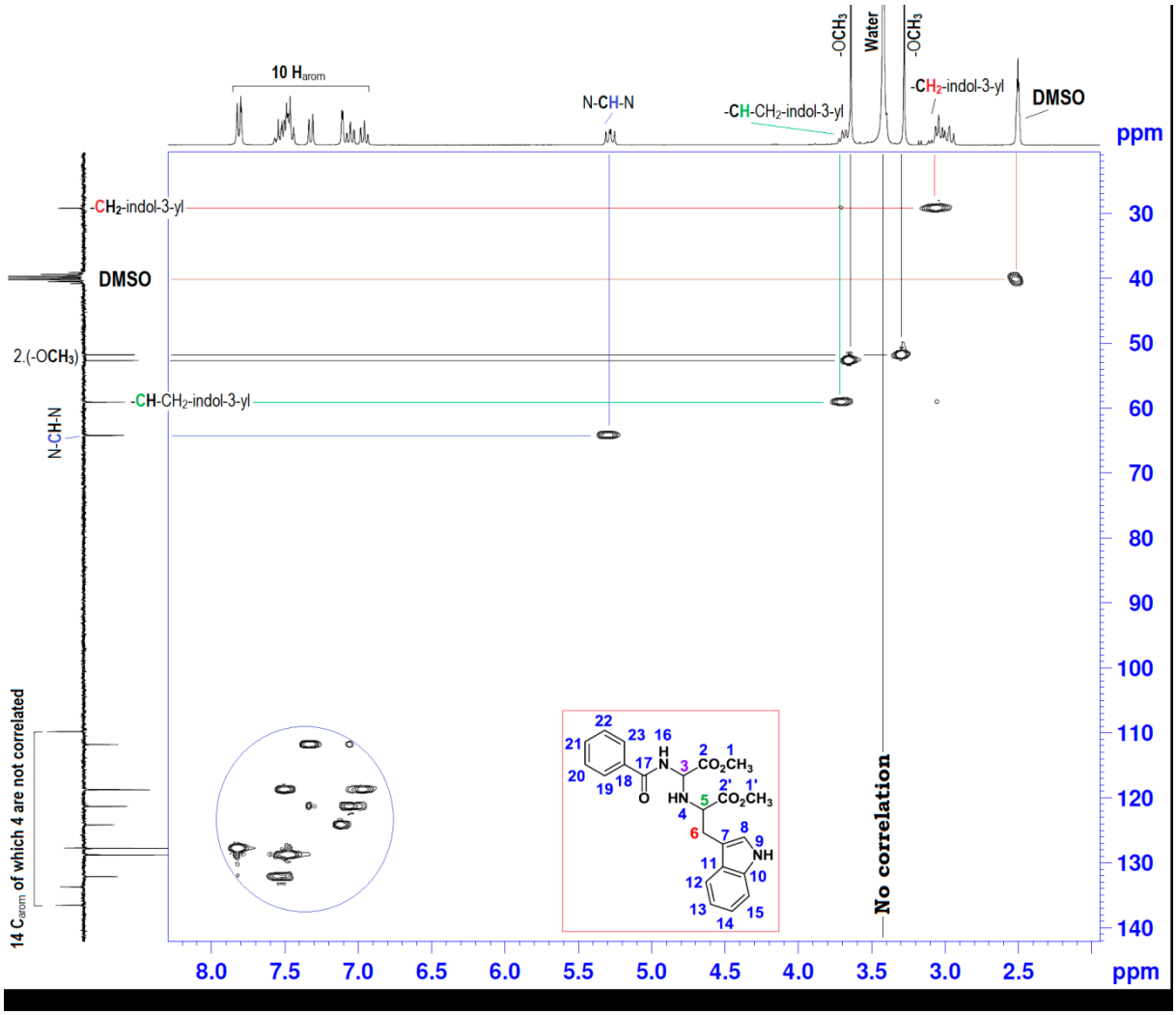


Figure 12 : **Spectre hétéronucléaire 2D ^{1}H-^{13}C du composé 2c**

Tableau 7 : **Données spectrales de RMN ^{1}H (300.13 MHz) et ^{13}C (75.47 MHz) pour le produit 2c en DMSO, y compris les résultats obtenus par corrélation 2D hétéronucléaire et homonucléaire (*J* en Hz et δH en ppm) et (δC en ppm).**

Position	δ_H	δ_C	Corrélation H-H	Corrélation C-H
1	3,28 (s)	51,78	3H1-3H1	C1-3H1
2	-	166,61	-	_
1’	3,64 (s)	52,61	$3H^{1}$’-$3H^{1}$’	C^{1}-$3H^{1}$’
2’	-	174,8	-	-
3	5,25–5,31(dd, *J*1 = 10,17; *J*2 = 7,73)	64,18	$1H^{3}$-$1H^{3}$; $1H^{3}$-$1H^{4}$; $1H^{3}$-$1H^{16}$	C^{3}-$1H^{3}$
4	2,94-3,02		$1H^{4}$-$1H^{4}$; $1H^{4}$-$1H^{3}$; $1H^{4}$-$1H^{5}$	-
5	3,67-3,72(t, *J*=6,90)	59,06	$1H^{5}$-$1H^{5}$; $1H^{5}$-$1H^{4}$; $1H^{5}$-$2H^{6}$	-

6	2,94–3,02 (m)	29,18	$2H^6$-$2H^6$; $2H^6$-$1H^5$	C^6-$2H^6$
9	10,9(S)	-	$1H^9$-$1H^9$; $1H^9$-$1H^8$	-
16	9,1(s)	–	$1H^{16}$-$1H^{16}$; $1H^{16}$-$1H^3$	–
17	-	170,38	-	-
7, 8; 10–15 et 18–23	6,93–7,82 (m)	109,80 – 136,48	10Har-10Har; $1H^8$-$1H^9$	10Car-10Car

Le spectre de masse en mode MS-ESI du composé **2c**, présente un pic moléculaire **m/z = 409,22** correspondant à l'ion moléculaire $[M]^+$

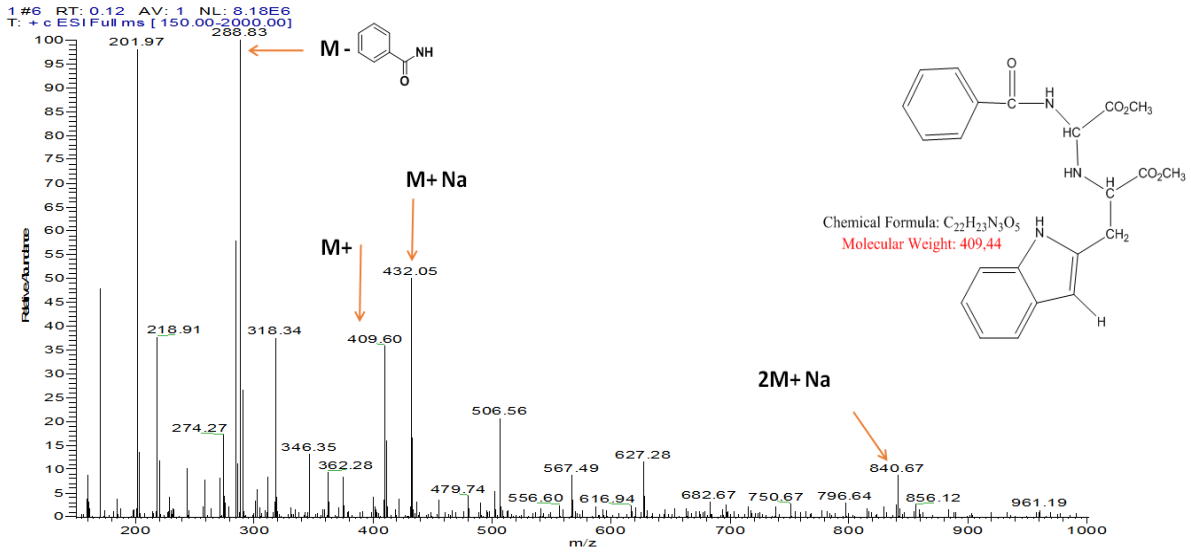


Figure 13 **: Spectre de masse du produit 2c**

Les données spectrales (RMN, MS) sont en parfait accord avec la structure proposée pour le composé **2c**. La structure du composé **2c** a été confirmée davantage par les données de la diffraction des rayons-X.

III.3. Etude de la structure du 2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)-amino)-3-(1H-indol-2-yl)propanoate de méthyle 2c

La résolution structurale de la molécule du composé $C_{22}H_{23}N_3O_2$ est approximativement en forme de U. Cette conformation est influencée par une interaction intramoléculaire C5-H5… Cg3.L'angle dièdre formé entre l'indole et le noyau phényle est de l'ordre de 80.76 (9) °. [48].

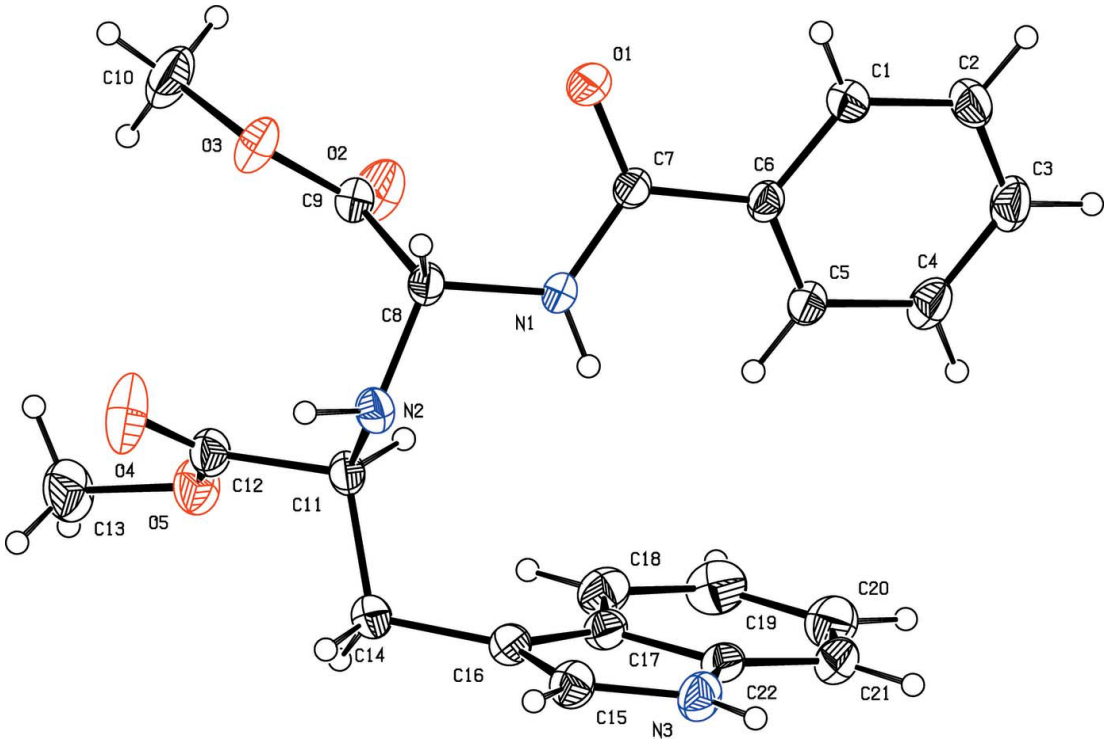


Figure 14 : **Vue ORTEP du composé 2c**

Le 2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)-3-(1H-indol-2-yl)propanoatede méthyle **2c** de formule brute $C_{22}H_{23}N_3O_2$ cristallise dans le système Orthorhombique, de groupe d'espace $P2_12_12_1$[48].

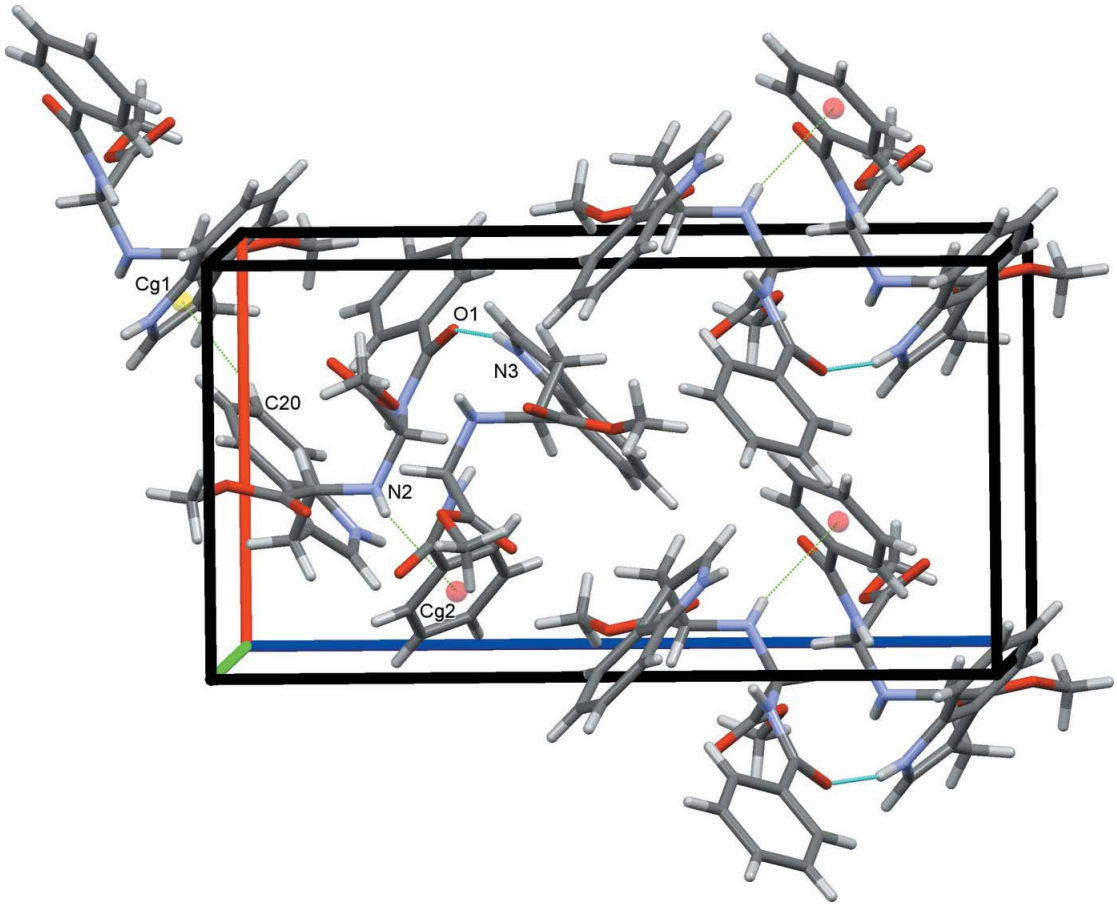


Figure 15 : **Vue partielle de l'assemblage des molécules dans la maille selon l'axe b**

Le tableau 8 récapitule les données cristallographiques, les conditions de la collecte et les résultats de l'affinement, les autres paramètres seront présentés dans les tableaux 9, 10 et 11, le tableau 12 regroupe les résultats de la géométrie de liaison hydrogène (Å, º)

Tableau 8 : **Données cristallographiques du composé $C_{22}H_{23}N_3O_2$.**

Formule moléculaire	*$C_{22}H_{23}N_3O_5$*
Masse moléculaire	*409,43*
Température	*293K*
Longueur d'onde (Mo, k_α)	*0,71073 Å*
Système cristalline	*Orthorhombique, $P212_12_1$*
Paramètres de la maille	a = 9,5716(3) Å b = 11,6875(4) Å c = 18,1827(6) Å
Volume	2034,06(12) $Å^3$
Z	4
Densité calculée	1,337 Mg m^{-3}
F(000)	864
Coefficient d'absorption	0,10 mm^{-1}
Thêta	1,3 à 57°
Indices limites	$-12 \leq h \leq 12$; $-15 \leq k \leq 15$; $-23 \leq l \leq 23$

Nombre de reflections avec I>2σ(I)	4359
R_{int}	0,027
wR(F^2)	0,097

Tableau 9 : **Paramètres de positions atomiques et coefficients isotropiques U_{iso}*/$U_{éq}$ (Å^2) de $C_{22}H_{23}N_3O_5$**

Atomes	*x*	*y*	*z*	*Uiso*/Uéq*
C7	0,71253(18)	0,07261 (14)	0,23815 (10)	0,0313 (3)
C6	0,77399 (19)	−0,04380 (14)	0,22646 (10)	0,0309(3)
C5	0,7366 (2)	−0,11460 (15)	0,16841 (10)	0,0361 (4)
H5	0,6644	−0,0934	0,1370	0,043*
C1	0,8802 (2)	−0,07750 (17)	0,27415 (11)	0,0393 (4)
H1	0,9056	−0,0306	0,3133	0,047*
C4	0,8070 (2)	−0,21720 (17)	0,15728 (13)	0,0464 (5)
H4	0,7830	−0,2640	0,1179	0,056*
C2	0,9483 (2)	−0,18102 (19)	0,26330 (14)	0,0486 (5)
H2	1,0180	−0,2041	0,2957	0,058*
C3	0,9124 (2)	−0,24964 (19)	0,20450 (14)	0,0510 (5)
H3	0,9596	−0,3181	0,1967	0,061*
N1	0,58969 (17)	0,09702 (13)	0,20564 (9)	0,0349 (3)
C8	0,52998 (19)	0,21167 (15)	0,21117 (10)	0,0327 (4)
H8	0,5171	0,2306	0,2632	0,039*
C9	0,6299 (2)	0,29926 (15)	0,17664 (11)	0,0365 (4)
O1	0,77431 (17)	0,14492 (12)	0,27462 (9)	0,0497 (4)
O3	0,61318 (19)	0,40054 (12)	0,20853 (9)	0,0517 (4)
O2	0,70594 (19)	0,28145 (14)	0,12588 (10)	0,0582 (4)
C10	0,6864 (3)	0,4950 (2)	0,17486 (19)	0,0675 (7)
H10A	0,6760	0,5621	0,2049	0,101*
H10B	0,6480	0,5094	0,1270	0,101*
H10C	0,7837	0,4764	0,1704	0,101*
N2	0,39521 (17)	0,21076 (14)	0,17551 (9)	0,0352 (3)
C12	0,3859 (2)	0,33133 (17)	0,06305 (11)	0,0401 (4)
C11	0,3936 (2)	0,21081 (15)	0,09530 (10)	0,0340 (4)
H11	0,4796	0,1744	0,0777	0,041*
C13	0,3913 (3)	0,4341 (2)	−0,04853 (15)	0,0638 (7)

H13A	0,4554	0,4918	−0,0320	0,096*
H13B	0,2972	0,4595	−0,0403	0,096*
H13C	0,4052	0,4205	−0,1001	0,096*
O5	0,41550(19)	0,32938 (14)	−0,00816(9)	0,0514(4)
O4	0,3559 (3)	0,41515 (15)	0,09638 (11)	0,0743
N3	0,2625 (2)	−0,15885 (14)	0,13318 (10)	0,0431 (4)
C17	0,3845 (2)	−0,05961 (16)	0,04926 (10)	0,0370 (4)
C16	0,2847 (2)	0,01589 (16)	0,08328 (11)	0,0379 (4)
C14	0,2676 (2)	0,14084 (17)	0,06700 (12)	0,0413 (4)
H14A	0,1828	0,1686	0,0902	0,050*
H14B	0,2583	0,1516	0,0143	0,050*
C15	0,2145 (2)	−0,04813 (17)	0,13370 (11)	0,0422 (4)
H15	0,1441	−0,0208	0,1642	0,051*
C22	0,3673 (2)	−0,16815 (16)	0,08245 (11)	0,0381 (4)
C18	0,4861 (2)	−0,0466 (2)	−0,00585 (12)	0,0480 (5)
H18	0,4993	0,0237	−0,0288	0,058*
C21	0,4464 (3)	−0,26306 (19)	0,06147 (12)	0,0481 (5)
H21	0,4324	−0,3344	0,0829	0,058*
C19	0,5659 (3)	−0,1399 (2)	−0,02529 (14)	0,0584 (6)
H19	0,6345	−0,1318	−0,0611	0,070*
C20	0,5456 (3)	−0,2470 (2)	0,00800 (14)	0,0564 (6)
H20	0,6007	−0,3085	−0,0065	0,068*
H2N	0,343 (3)	0,2689 (19)	0,1905 (14)	0,047 (7)*
H1N	0,537 (2)	0,0475 (18)	0,1878 (12)	0,036 (6)*
H3N	0,233 (3)	−0,212 (2)	0,1624 (15)	0,070 (9)*

Tableau 10 : **Paramètres de déplacement atomiques (U11, U22, U33, U12, U13, U23) (Å2)**

Atomes	***U11***	***U22***	***U33***	***U12***	***U13***	***U23***
C7	0,0333 (8)	0,0256 (7)	0,0350 (8)	−0,0013(7)	0,0002 (7)	−0,0008 (6)
C6	0,0307 (8)	0,0247 (7)	0,0373 (8)	−0,0019(6)	0,0032 (7)	0,0033 (6)
C5	0,0382 (9)	0,0278 (8)	0,0422(10)	−0,0006(7)	0,0000 (8)	0,0005 (7)
C1	0,0341 (8)	0,0367 (9)	0,0472(10)	−0,0005(8)	−0,0037 (8)	0,0032 (8)
C4	0,0507(11)	0,0310 (9)	0,0574(12)	−0,0001(8)	0,0075 (9)	−0,0088 (8)

C2	0,0337 (9)	0,0427(11)	0,0694(14)	0,0071 (8)	−0,0038 (9)	0,0087 (10)
C3	0,0427(11)	0,0310 (9)	0,0793(15)	0,0081 (8)	0,0102 (10)	−0,0008(10)
N1	0,0366 (8)	0,0219 (6)	0,0463 (8)	0,0003 (6)	−0,0065 (7)	−0,0013 (6)
C8	0,0366 (9)	0,0256 (8)	0,0358 (8)	0,0032 (7)	−0,0010 (7)	0,0002 (7)
C9	0,0394 (9)	0,0290 (8)	0,0411 (9)	0,0009 (7)	−0,0015 (8)	0,0024 (7)
O1	0,0485(8)	0,0338(7)	0,0669(9)	0,0035(6)	−0,0163(7)	−0,0159(7)
O3	0,0640(10)	0,0268 (7)	0,0643 (9)	−0,0053(7)	0,0080 (8)	−0,0036 (6)
O2	0,0665(10)	0,0450 (8)	0,0630 (9)	−0,0052(8)	0,0244 (9)	−0,0024 (7)
C10	0,0796(18)	0,0320(11)	0,0910(19)	−0,0118(11)	0,0063 (16)	0,0059 (12)
N2	0,0335 (7)	0,0330 (7)	0,0391 (8)	0,0057 (6)	0,0023 (6)	0,0022 (6)
C12	0,0409(10)	0,0335 (9)	0,0460(10)	0,0008 (8)	0,0002 (8)	0,0089 (8)
C11	0,0343 (8)	0,0279 (8)	0,0396 (9)	0,0044 (7)	−0,0009 (7)	0,0047(7)
C13	0,0725(16)	0,0576(15)	0,0614(14)	−0,0001(13)	−0,0020(13)	0,0283 (12)
O5	0,0655(10)	0,0446 (8)	0,0442 (8)	0,0014 (7)	−0,0002 (7)	0,0135 (6)
O4	0,121(18)	0,0361 (8)	0,0655(11)	0,0202 (10)	0,0198 (11)	0,0083 (8)
N3	0,0521(10)	0,0345 (8)	0,0429 (9)	−0,0053 (7)	0,0003 (8)	0,0085 (7)
C17	0,0414(10)	0,0336 (9)	0,0360 (9)	−0,0049 (8)	−0,0063 (8)	0,0004 (7)
C16	0,0416(10)	0,0335 (9)	0,0386 (9)	−0,0027 (8)	−0,0074 (8)	0,0023 (7)
C14	0,0405(10)	0,0345 (9)	0,0488(11)	−0,0003 (8)	−0,0099 (9)	0,0080 (8)
C15	0,0457(10)	0,0388 (9)	0,0421(10)	−0,0012 (9)	0,0009 (9)	0,0026 (8)
C22	0,0417(10)	0,0340 (9)	0,0386 (9)	−0,0050 (8)	−0,0091 (8)	−0,0005 (8)
C18	0,0519(12)	0,0469(12)	0,0451(11)	−0,0085(10)	0,0022 (9)	0,0012 (9)
C21	0,0572(12)	0,0339(10)	0,0534 12)	−0,0001 (9)	−0,0111(10)	−0,0056 (9)
C19	0,0559(14)	0,0651(15)	0,0543(13)	−0,0040(12)	0,0085 (11)	−0,0120(11)
C20	0,0565(13)	0,0512(12)	0,0614(13)	0,0065 (11)	−0,0012(11)	−0,0177(11)

Tableau 11 : **Paramètres géométriques (Å, °) de $C_{20}H_{23}N_3O_5$**

C7—O1	1,226 (2)	**C12—O5**	1,326 (3)
C7—N1	1,347 (2)	**C12—C11**	1,528 (2)
C7—C6	1,497 (2)	**C11—C14**	1,546 (3)
C6—C5	1,388 (3)	**C11—H11**	0,980
C6—C1	1,393 (3)	**C13—O5**	1,446 (3)
C5—C4	1,391 (3)	**C13—H13A**	0,9600

C5—H5	0,9300	**C13—H13B**	0,9600
C1—C2	1,388 (3)	**C13—H13C**	0,9600
C1—H1	0,9300	**N3—C22**	1,367 (3)
C4—C3	1,378 (3)	**N3—C15**	1,373 (3)
C4—H4	0,9300	**N3—H3N**	0,87 (2)
C2—C3	1,380 (3)	**C17—C18**	1,405 (3)
C2—H2	0,9300	**C17—C22**	1,414 (3)
C3—H3	0,9300	**C17—C16**	1,440 (3)
N1—C8	1,460 (2)	**C16—C15**	1,361 (3)
N1—H1N	0,831(19)	**C16—C14**	1,499 (3)
C8—N2	1,444 (2)	**C14—H14A**	0,9700
C8—C9	1,535 (3)	**C14—H14B**	0,9700
C8—H8	0,9800	**C15—H15**	0,9300
C9—O2	1,194 (3)	**C22—C21**	1,396 (3)
C9—O3	1,328 (2)	**C18—C19**	1,377 (4)
O3—C10	1,444 (3)	**C18—H18**	0,9300
C10—H10A	0,9600	**C21—C20**	1,372 (4)
C10—H10B	0,9600	**C21—H21**	0,9300
C10—H10C	0,9600	**C19—C20**	1,404 (4)
N2—C11	1,459 (2)	**C19—H19**	0,9300
N2—H2N	0,89 (2)	**C20—H20**	0,9300
C12—O4	1,187 (3)		
O1—C7—N1	120,83 (16)	**N2—C11—C12**	112,63 (16)
O1—C7—C6	120,90 (16)	**N2—C11—C14**	109,92 (16)
N1—C7	118,24 (15)	**C6 C12—C11—C14**	—108,79 (15)
C5—C6—C1	119,54 (17)	**N2—C11—H11**	108,5
C5—C6—C7	123,24 (16)	**C12—C11—H11**	108,5
C1—C6—C7	117,08 (16)	**C14—C11—H11**	108,5
C6—C5—C4	119,97 (18)	**O5—C13—H13A**	109,5
C6—C5—H5	120,0	**O5—C13—H13B**	109,5
C4—C5—H5	120,0	**H13A—C13—H13B**	109,5
C2—C1—C6	120,0 (2)	**O5—C13—H13C**	109,5
C2—C1—H1	120,0	**H13A—C13—H13C**	109,5
C6—C1—H1	120,0	**H13B—C13—H13C**	109,5

C3—C4—C5	120,1 (2)	**C12—O5—C13**	116,56 (19)
C3—C4—H4	119,9	**C22—N3—C15**	108,96 (16)
C5—C4—H4	119,9	**C22—N3—H3N**	127 (2)
C3—C2—C1	120,0 (2)	**C15—N3—H3N**	124 (2)
C3—C2—H2	120,0	**C18—C17—C22**	118,80 (19)
C1—C2—H2	120,0	**C18—C17—C16**	134,39 (19)
C4—C3—C2	120,33(19)	**C22—C17—C16**	106,81 (18)
C4—C3—H3	119,8	**C15—C16—C17**	106,25 (17)
C2—C3—H3	119,8	**C15—C16—C14**	127,9 (2)
C7—N1—C8	120,39 (15)	**C17—C16—C14**	125,78 (19)
C7—N1—H1N	123,4 (16)	**C16—C14—C11**	111,37 (16)
C8—N1—H1N	115,5 (16)	**C16—C14—H14A**	109,4
N2—C8—N1	108,18 (15)	**C11—C14—H14A**	109,4
N2—C8—C9	112,20 (15)	**C16—C14—H14B**	109,4
N1—C8—C9	109,88 (15)	**C11—C14—H14B**	109,4
N2—C8—H8	108,8	**H14A—C14—H14B**	108,0
C9—C8—H8	108,8	**C16—C15—H15**	124,8
O2—C9—O3	124,51 (19)	**N3—C15—H15**	124,8
O2—C9—C8	125,43 (18)	**N3—C22—C21**	130,20 (19)
O3—C9—C8	109,93 (16)	**N3—C22—C17**	107,58 (17)
C9—O3—C10	115,99 (19)	**C21—C22—C17**	122,2 (2)
O3—C10—H10A	109,5	**C19—C18—C17**	118,8 (2)
O3—C10—H10B	109,5	**C19—C18—H18**	120,6
H10A—C10—H10B	109,5	**C17—C18—H18**	120,6
O3—C10—H10C	109,5	**C20—C21—C22**	117,4 (2)
H10A—C10—H10C	109,5	**C20—C21—H21**	121,3
H10B—C10—H10C	109,5	**C22—C21—H21**	121,3
C8—N2—C11	117,27 (15)	**C18—C19—C20**	121,2 (2)
C8—N2—H2N	111,2 (17)	**C18—C19—H19**	119,4
C11—N2—H2N	107,5 (16)	**C20—C19—H19**	119,4
O4—C12—O5	124,37 (19)	**C21—C20—C19**	121,6 (2)
O4—C12—C11	125,23 (19)	**C21—C20—H20**	119,2
O5—C12—C11	110,40 (17)	**C19—C20—H20**	119,2

***Tableau 12 : Géométrie* de la liaison hydrogène (Å, º)**

D*—H · · · *A	***D*—H**	**H · · · *A***	***D* · · · *A***	***D*—H · · · *A***
N3—H3*N* · · · O1^{i}	0,87 (2)	2,03 (2)	2,862 (2)	162 (3)
N2—H2*N* · · · *Cg*2^{ii}	0,89 (2)	2,65 (3)	3,4451 (18)	149 (2)
C5—H5 · · · *Cg*3	0,93	2,83	3,662 (2)	149
C20—H20 · · · *Cg*1^{iii}	0,93	2,83	3,684 (3)	154

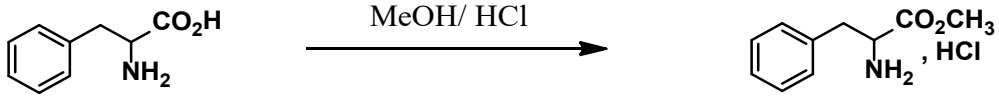
Cg1, Cg2 et Cg3 sont les centroïdes des cycles N3 / C15-C17 / C22, C1-C6 et C17-C22, respectivement.

Codes de Symétrie : (i) −*x*+1, *y*−1/2, −*z*+1/2; (ii) −*x*+1, *y*+1/2, −*z*+1/2; (iii) *x*+1/2, −*y*−1/2, −*z*.

IV. Synthèse du 2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)-3-phényl-propanoate de méthyle 2d

IV.1. Synthèse de l'ester méthylique de la phénylalanine sous forme hydrochloré d

La L-phénylalanine a nécessité une estérification par barbotage de l'acide chlorhydrique gazeux dans le méthanol anhydre [7]. L'ester méthylique de la phénylalanine sous forme hydrochloré a été obtenu avec un rendement de l'ordre de 92% (schéma 47).



d

Schéma 47

L'analyse du spectre RMN ^{1}H du composé montre la présence des signaux caractéristiques suivants :

-Un doublet dédoublé centré à 3ppm intégrant deux protons relatifs aux protons benzylique (Ph–C<u>H</u>$_2$).

-Un singulet à 3,2 ppm relatif aux protons méthylique de la fonction ester (-$CO_2C\underline{H}_3$).

-Un triplet centré à 4,3 ppm correspondant au proton (N–C<u>H</u>-CO_2CH_3).

IV.2. Réaction de substitution

Par la même stratégie de synthèse adoptée par notre laboratoire, l'azide **<u>1</u>** a été substitué par l'ester méthylique de la phénylalanine **<u>d</u>**, comme le montre le schéma suivant :

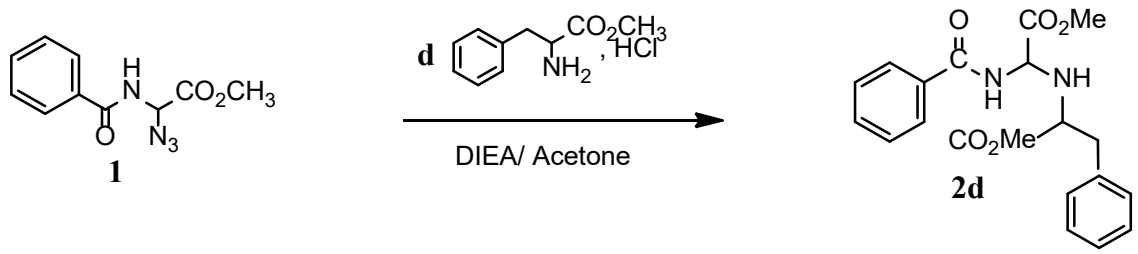


Schéma 48

La réaction de N-alkylation de l'ester méthylique de la phénylalanine **d** par l'α- azidoglycinate de méthyl N-protégé **1** a été suivie par CCM le long de la durée réactionnelle, ce qui nous a révélé la consommation partielle des réactifs et la formation d'un nouveau produit. Le produit souhaité **2d** est obtenu avec un rendement de l'ordre de 70% après recristallisation dans un mélange (hexane / éther) (5 :5).

Son spectre RMN ^{1}H enregistré dans $CDCl_3$ (Figure 16), présente en plus des signaux attribuables aux protons aromatiques les signaux caractéristiques suivants :

-Un signal large à 2,7ppm attribuable au proton de l'amine secondaire de la phénylalanine.

-Un multiplet à 3ppm intégrant 2 protons assigné aux protons benzyliques C$\underline{H}_2$-.

-Deux singulets à 3,5 ppm et 3,8ppm relatifs aux protons méthyliques des deux fonctions esters (-$CO_2C\underline{H}_3$).

-Un signal à 3,9ppm qui correspond au proton -C$\underline{H}$-CH_2-Ph.

-Un signal à 5,5ppm correspondant au proton N-C$\underline{H}$-N.

-Un doublet centré à 6,7 ppm et 6,8ppm relatif au proton -N$\underline{H}$-CO-Ph**.**

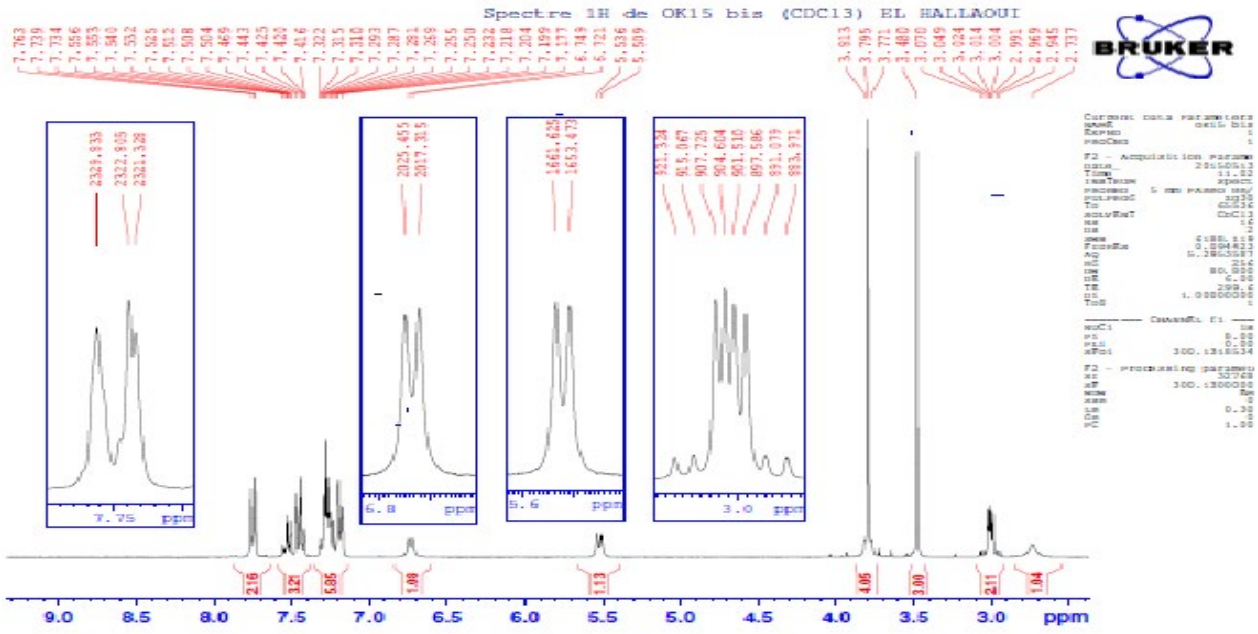


Figure 16 **: Spectre RMN ^{1}H du composé 2d**

Le spectre RMN ^{13}C du produit **2d**, enregistré dans le $CDCl_3$, présente entre autres, les signaux suivants :

- Un signal à 39.7 ppm attribuable au carbone -$\underline{C}H_2$-Ph.
- Deux signaux 51.9 ppm et 52,7 ppm attribuables aux deux carbones méthyliques des deux fonctions ester.
- Un signal à 59.6 ppm attribuable au carbone - $\underline{C}$H-CH_2-Ph.
- Un signal à 64.4 ppm relatif au carbone N-$\underline{C}$H-N.
- Les carbones cétoniques des trois groupements carboxylates (-$\underline{C}O_2CH_3$) résonnent respectivement à 166.8 ppm et 170.0 ppm et 175.5 ppm.

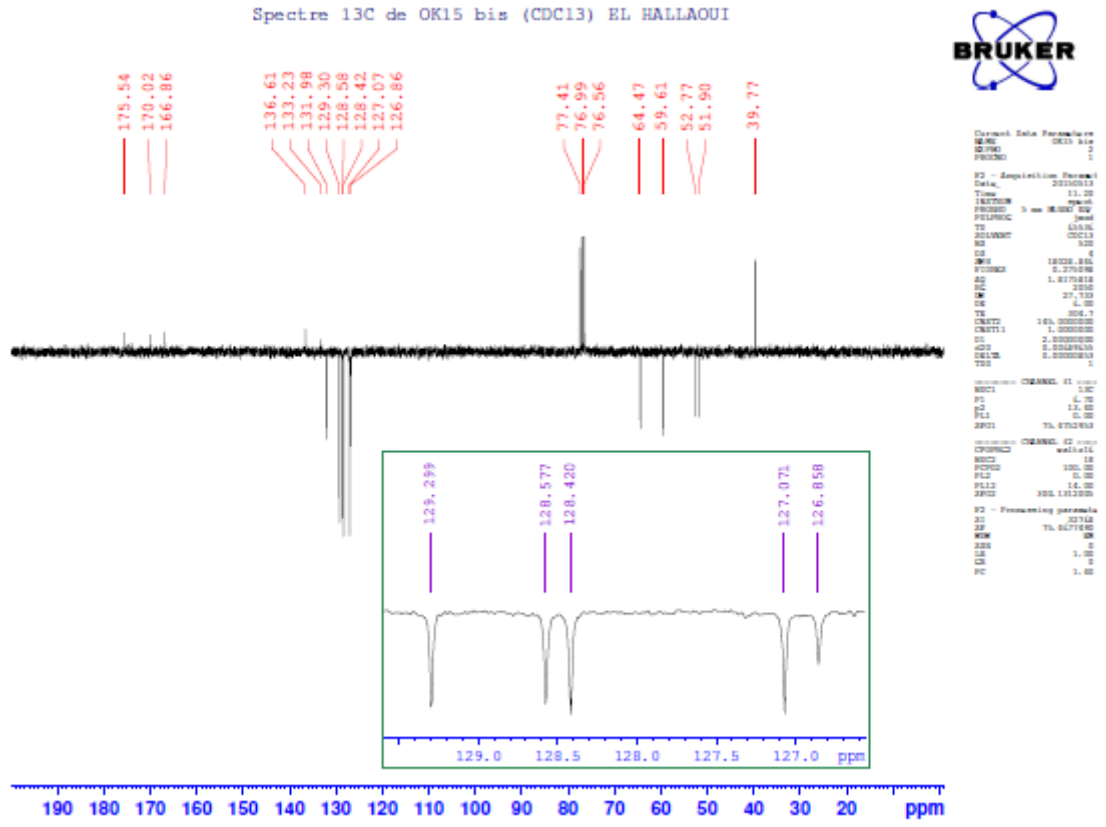


Figure 17 **: Spectre RMN ^{13}C du composé2d**

Le spectre de masse du composé **<u>2d</u>** isolé présente un pic moléculaire à *m/z* = 370.40 (Figure18).

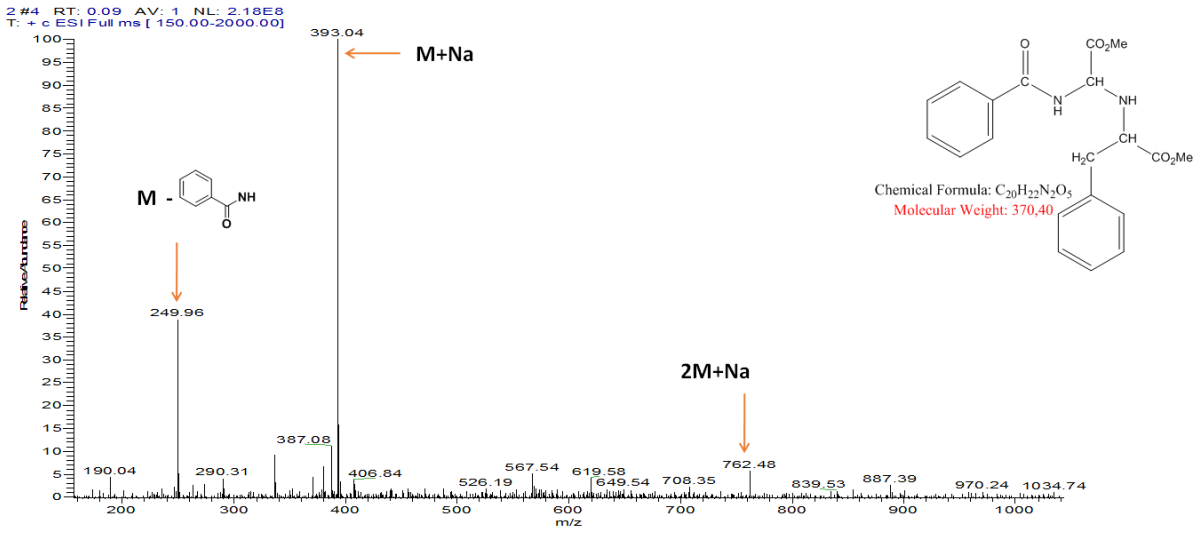


Figure 18 : **Spectre de masse du composé 2d**

Sur la base des données spectroscopiques, nous nous proposons la structure 2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)-3-phénylpropanoate de méthyle pour le composé **<u>2d</u>**.

V. Synthèse du 1-(1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)pyrrolidine-2-carboxylate de méthyl 2e

V.1.Synthèse de l'ester méthylique de la proline sous forme de chlorhydrate e

La protection de la fonction acide de la L-proline est effectuée en faisant un barbotage de HCl gazeux dans le méthanol pur. L'hydrochloré de la proline est obtenu avec un rendement de l'ordre 92%(schéma49).

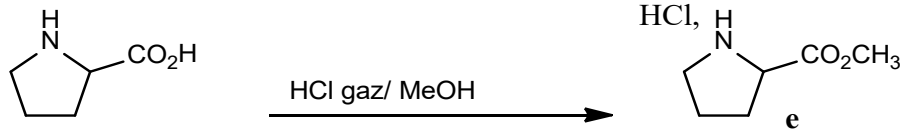


Schéma 49

Sur le spectre RMN ^{1}H du produit **e,** on note en particulier la présence des signaux caractéristiques suivants :

- Un signal à 2,9 ppm correspondant au proton CH-pyrrolidine.

- Les protons méthyléniques du cycle pyrrolidine résonnent respectivement à 3,1 ppm, 3,4 ppm et 3,6 ppm.

- Un singulet à 3,7 ppm relatif aux protons méthyliques de la fonction carboxylate.

V.2.Réaction de substitution

Le composé **1** a été substitué par l'ester méthylique de la proline **e** suivant la réaction de N-alkylation décrite dans le schéma suivant :

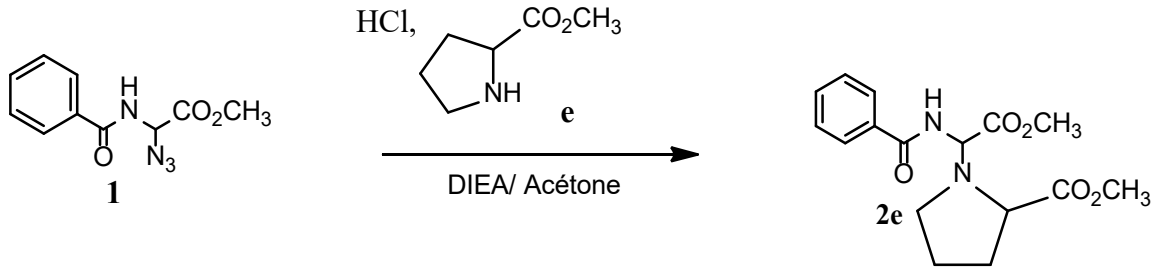


Schéma 50

La réaction de N-alkylation de l'ester méthylique de la proline **e** par l'α- azidoglycinate de méthyl N-protégé **1** a été suivie par CCM le long de la durée réactionnelle, ce qui nous a révélé la consommation partielle des réactifs et la formation d'un nouveau produit. Le produit souhaité **2e** est obtenu avec un rendement de l'ordre de 80% après recristallisation dans l'éther pur.

Le spectre RMN ^{1}H (300 MHz) du produit **2e**, enregistré dans le $CDCl_3$, présente entre autres les signaux caractéristiques suivants :

- Un signal à 2,9 ppm correspondant au proton CH pyrrolidine.

- Les protons méthyléniques du cycle pyrrolidine résonnent respectivement à 3,1ppm, 3,4 ppm et 3,6 ppm.

- Un singulet à 3,7ppm relatif aux protons méthyliques de la fonction carboxylate.

-Deux singulets à 3,5 ppm et 3,8 ppm relatifs aux protons méthyliques des deux fonctions esters ($-CO_2CH_3$).

-Un signal à 4,3ppm relatif au proton du -CH-Glycine.

-Un signal à 5,8ppm correspondant au proton du-NH-Glycine

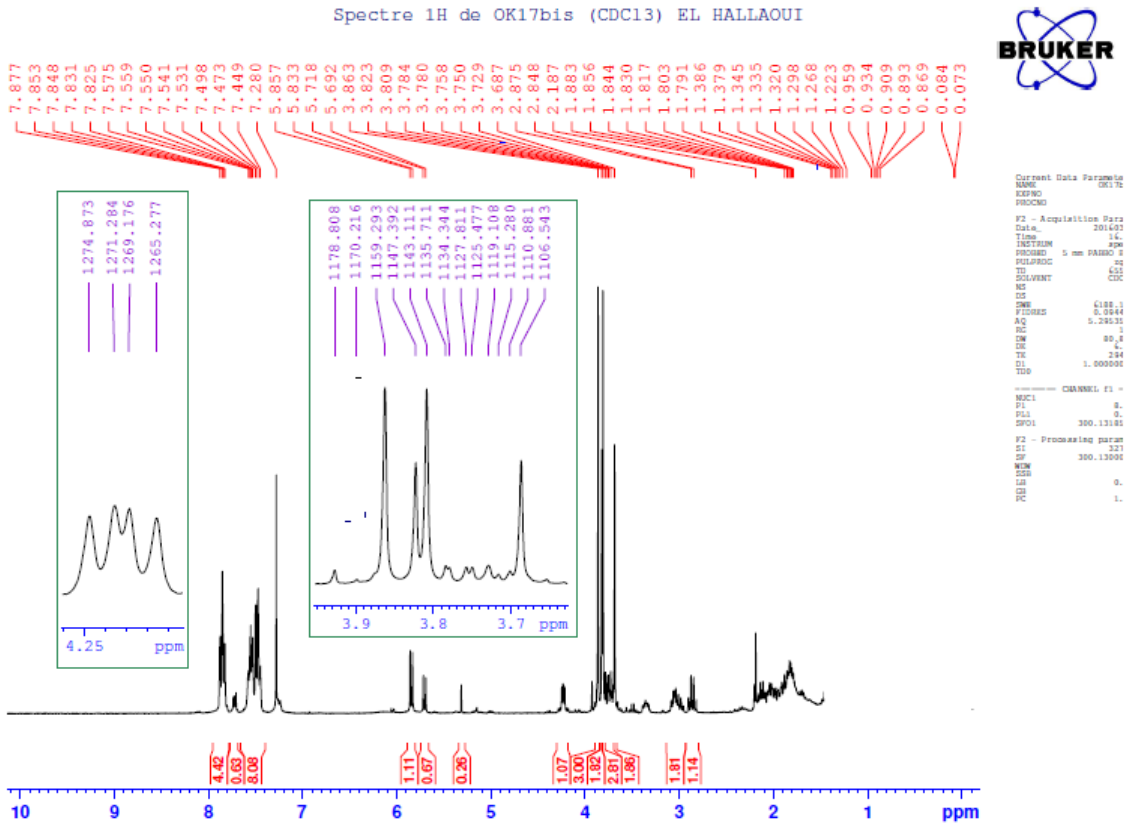


Figure 19 : **Spectre RMN ^{1}H du composé 2e**

Le spectre RMN ^{13}C du produit **2e**, enregistré dans le $CDCl_3$, présente entre autres, les signaux caractéristiques suivants :

- Les trois carbones CH_2-pyrrolidine résonnent respectivement à 23.8ppm, 29.7ppm et 47.4ppm

- Un signal à 61.1ppm attribuable au carbone -CH- pyrrolidine.

- Deux signaux à 51.7ppm et 52,1ppm correspondants aux deux carbones méthyliques des deux fonctions esters.

- Un signal à 85.8ppm relatif au carbone CH-Glycine.

- Les carbones cétoniques des trois groupements carboxylates (-CO_2CH_3) résonnent respectivement à 167.4ppm et 170.2ppm et 172.7ppm.

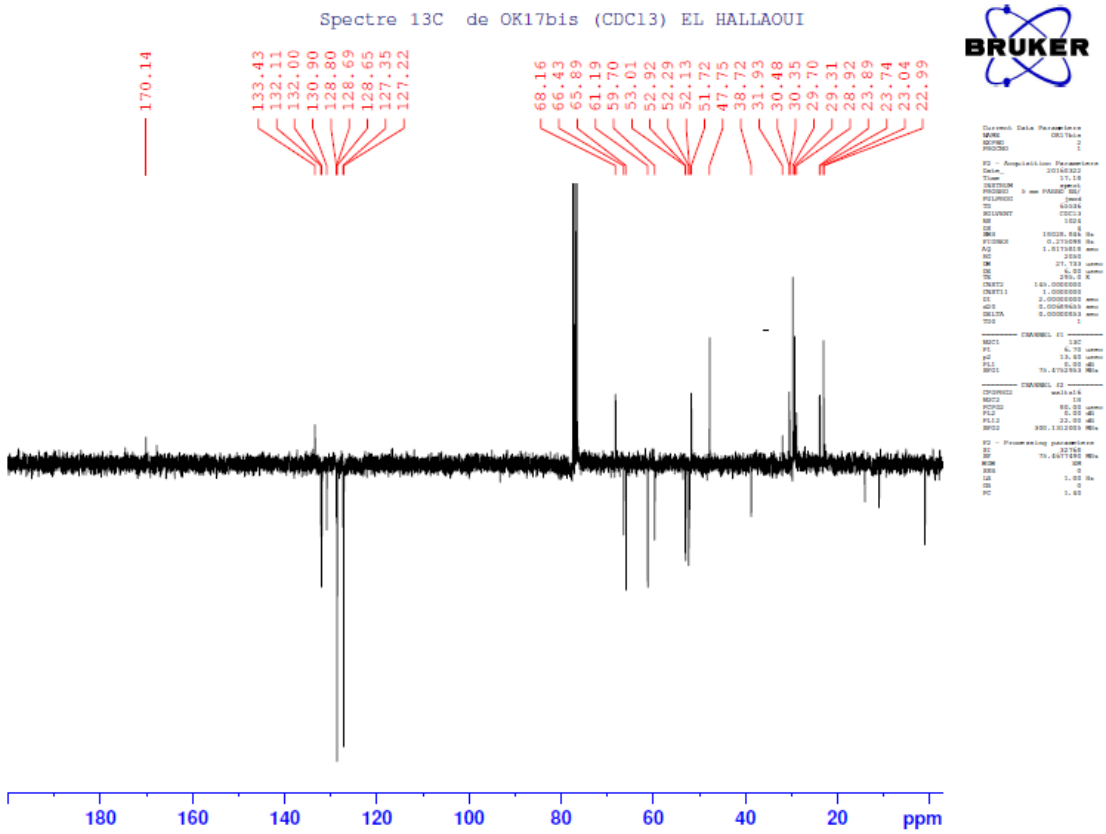


Figure 20 : **Spectre RMN ^{13}C du composé 2e**

Partie expérimentale

Les points de fusion, ont été pris à l'aide du banc koffler et un appareil Buchi en capillaires.

Les spectres RMN du proton et du carbone 13 ont été enregistrés sur un spectromètre BRUKER Avance II (300 MHz) au Centre Universitaire Régional d'Interface, (CURI) de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdallah de Fès. Les déplacements chimiques δ sont donnés en ppm. La multiplicité des signaux observés est indiquée par une lettre minuscule : s, d, t, q, dd, ma, s.e.

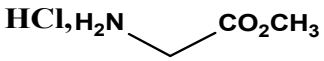
Les analyses élémentaires ont été effectuées par le Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique / Rabat (CNRST).

Les spectres de masse ont été enregistrés à l'aide d'un spectromètre LCQ Advantage, Thermo Electron, mode d'ionisation Electrospray, au Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique / Rabat (CNRST).

La chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée sur des plaques Kieselgel 60 SIL G/UV 254 de Macherey-Nagel. Les plaques ont été révélées sous une lampe de la lumière UV(254 nm ou 365 nm). La séparation des produits par chromatographie sur colonne a été effectuée sur gel de silice Matrex (60 Å, 35-70 μm).
Le tétrachlorure de carbone et le dichlorométhane sont préséchés sur chlorure de calcium, neutralisés par le carbonate de sodium puis distillés sur P_2O_5. Le méthanol et l'éthanol sont distillés sur magnésium, l'éther est distillé sur sodium.

I. Synthèse de a, b, c, d et e

Une solution de 25 mmoles d'acide aminé dans 120 ml de méthanol anhydre est saturée par un courant d'acide chlorhydrique gazeux pendant 2 heures, le solvant est évaporé sous vide, 200 ml de méthanol sont alors ajoutés et la solution est saturée une deuxième fois par un courant d'acide chlorhydrique (2 heures). Le méthanol est évaporé sous vide et le résidu obtenu est précipité par addition d'éther anhydre.



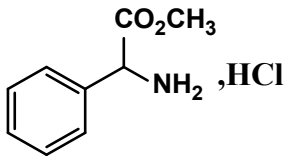
Chlorydrate de 2-aminoacétate de méthyle a

Rdt. : 92 % (solide blanc).

F = 173°C.

Spectre de RMN ^{1}H, δ ppm (DMSO-*d6*) : 3.5 (s, 3H, OC$\underline{H}_3$); 3.3 (s, 2H, NH-C$\underline{H}_2$)

Spectre de RMN ^{13}C, δ ppm (DMSO-*d6*) : 46.85 (1C, $\underline{C}H_2$-C); 51.87 (1C, O$\underline{C}H_3$)



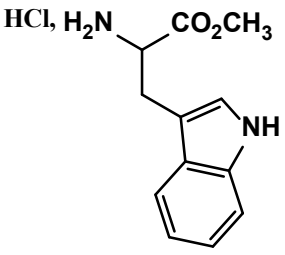
Chlorydrate de 2-amino-2-phénylacétate deméthyle b

Rdt. : 92 % (solide blanc).

F = 190 °C.

Spectre de RMN ^{1}H, δ ppm (DMSO-*d6*): 3.7 (s, 3H, OC$\underline{H}_3$); 5.19 (s, 1H, NH-C$\underline{H}$-Ph); 7.35-7.45 (m, 5H$_{arom}$)

Spectre de RMN ^{13}C, δ ppm (DMSO-*d6*): 52.88 (1C, O$\underline{C}H_3$); 61.97 (1C, -$\underline{C}$H-Ph) 127.13-137.48 (5C, C$_{arom}$); 173.63(1C, $\underline{C}$O)



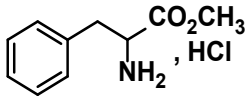
Chlorydrate de 2-amino-3-(1H-indol-3-yl) propanoate de méthyle c

Rdt. : 92 % (solide blanc).

F = 283°C.

Spectre de RMN ^{1}H, δ ppm (DMSO-*d6*): 2.9(d, 2H, CH-C<u>H</u>$_2$-indol-3-yl); 3.5 (s, 3H, OC<u>H</u>$_3$); 3.8 (t, 1H, N-C<u>H</u>-CH$_2$-); 6.8-7.8 (m, 5H$_{arom}$); 10.8 (s, 1H, N<u>H</u>$_{indole}$).

Spectre de RMN ^{13}C, δ ppm (DMSO-*d6*): 29.18 (1C, -<u>C</u>H$_2$-indol-3-yl); 52.65 (1C, O<u>C</u>H$_3$); 59.06 (1C, -<u>C</u>H- CH$_2$-indol-3-yl); 64.18 (1C, N-<u>C</u>H$_2$); 109.80-136.48 (8C, C$_{arom}$); 174.89(1C, <u>C</u>O).



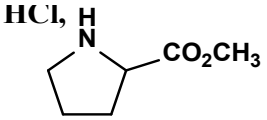
Chlorydrate de 2-amino-3-phénylpropanoate deméthyle <u>d</u>

Rdt. : 92 % (solide blanc).

F = 160 °C.

Spectre de RMN ^{1}H, δ ppm (DMSO-*d6*): 3 (m, 2H, -C<u>H</u>$_2$-Ph); 3.48 (s, 3H, OC<u>H</u>$_3$);3.8 (s, 4H, -C<u>H</u>-CH$_2$-Ph + OC<u>H</u>$_3$)

Spectre de RMN ^{13}C, δ ppm (DMSO-*d6*): 39.77 (1C, -<u>C</u>H$_2$-Ph); 52.77 (1C, O<u>C</u>H$_3$); 59.61 (1C, -<u>C</u>H-CH$_2$-Ph); 64.18 (1C, N-<u>C</u>H$_2$); 126.86-136.61 (5C, C$_{arom}$); 175.54(1C, <u>C</u>O).



Chlorydrate de pyrrolidine-2-carboxylate deméthyle <u>e</u>

Rdt. : 92 % (huile jaunâtre).

F = 70 °C.

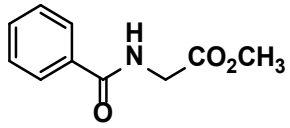
Spectre de RMN ^{1}H, δ ppm (DMSO-*d6*) : 1.26-1.38 (m, 2H, -CH$_2$-C<u>H</u>$_2$-CH-); 1.79-1.88 (m, 2H, -CH$_2$-C<u>H</u>$_2$-CH$_2$-); 2.84-3.05 (m, 2H, NH-C<u>H</u>$_2$-CH$_2$-); 3.80 (s, 3H, OC<u>H</u>$_3$);3.86 (s, 3H, OC<u>H</u>$_3$); 4.21-4.24 (dd, 1H, -CH$_2$-C<u>H</u>-, J_1 = 3.60 Hz, J_2 = 5.85 Hz)

Spectre de RMN ^{13}C, δ ppm (DMSO-*d6*): 23.04 (1C, -CH$_2$-<u>C</u>H$_2$-CH$_2$-); 29.70 (1C, -CH$_2$-<u>C</u>H$_2$-CH-); 52.13 (1C, -<u>C</u>H$_2$-CH$_2$-CH$_2$-); 53.01 (1C, O<u>C</u>H$_3$); 66.43 (1C, -CH$_2$-CH$_2$-<u>C</u>H-); 174.49 (1C, CO)

II. Synthèse de <u>b</u>' : Protection par le chlorure de benzoyle (Bz-Cl)

À 10 mmoles d'ester méthylique de la glycine sous forme de chlorhydrate, on ajoute 200 ml de dichlorométhane anhydre, le mélange est refroidi à 0°C, on ajoute 22 mmoles de triéthylamine,

on laisse sous agitation pendant 15 min puis on ajoute 11mmoles de chlorure de benzoyle. Le mélange est ensuite agité à 0°C, pendant une heure puis 18 heures à température ambiante. Le lavage de la solution obtenue est effectué par l'acide citrique 15%(3× 60 ml), puis avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (Na HCO_3), la phase organique est séchée, concentrée et ensuite le résidu obtenu est recristallisé dans un mélange (hexane / éther : 50/50).



2-benzamidoacétate de méthyle b'

Rdt. : 84 % (solide blanc).

F = 82-84 °C.

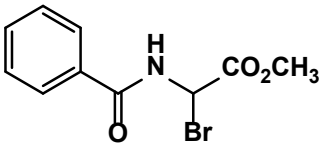
Rf = 0,35 (éther)

Spectre de RMN ^{1}H, δ ppm ($CDCl_3$) : 3,80(3H, s) ; 4,26 (2H, d, *J*=6Hz) ; 7,20-7,40 (1H, s.e) ; 7,43-8,10 (5H, m)

III. Synthèse de c': Bromation par le NBS

Dans un ballon, on met 10 mmoles (2g) d'aminoester N-protégé et 1,2 équivalent de NBS (2,25) et un volume de 30 ml de tétrachlorure de carbone. Le tout est agité magnétiquement sous atmosphère azoté et sous l'irradiation lumineuse (lampe de 300w) durant 3 heures.

L'avancement de la réaction est contrôlé par plaque CCM. Après filtration, le solvant est évaporé à sec sous pression réduite à une température de 40°C. Le N-benzoyle-bromoglycinate de méthyle est obtenu sous forme d'un précipité blanc.



2-benzamido-2-bromoacétate deméthyle c'

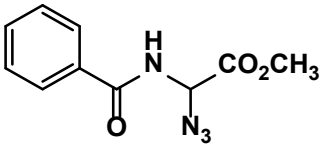
Rdt. : 92 % (solide blanc).

Rf = 0,6 (acétate d'éthyle /hexane : 1/1)

Spectre de RMN ^{1}H, δ ppm ($CDCl_3$) : 3,90 (3H, s) ; 4,80 (2H, s) ; 6,30(1H, d, *J*=11Hz) ; 6,70(1H, d, *J*=11Hz)

IV. Synthèse de 1 : préparation du dipôle azide

20 mmoles du dérivé bromé et 40 mmoles d'azoture de sodium, dans 90 ml d'acétone anhydre, sont agitées pendant une durée allant de 4 à 16 heures à température ambiante, la solution est ensuite filtrée, le solvant évaporé et le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : éther/hexane 20/80).



2-azido-2-benzamidoacétate deméthyle 1

Rdt. : 92 % (solide blanc).

F = 82-84 °C.

Rf = 0,35 (éther).

1H-NMR (DMSO, $^{\delta}$H ppm) : 3.74 (s, 3H, -OC<u>H</u>$_3$) ; 5.82 (d, 1H, N-C<u>H</u>-N$_3$, *J* = 7.80Hz) ; 7.49–7.91 (m, 5H, 5Harom) ; 9.83 (d, 1H, NHBz, *J* = 7.80Hz).

13C-NMR (DMSO, $^{\delta}$C ppm): 53.41 (C, -O<u>C</u>H$_3$); 65.62 (1C, N-<u>C</u>H-N3); 128.03, 129.04, 132.76 et 132.87 (6C, <u>C</u>arom) ; 167.18 et 167.67 (2C, <u>C</u>O).

MS ESI m/z (%) = 235.

V. Synthèse de 2a, 2b, 2c, 2d et 2e: Réaction de substitution

Mode opératoire 1

A une solution de 2,6 mmoles de α-azidoglycinate de méthyle N-protégé et 3,12 mmoles de diisopropyléthylamine (**DIEA**) dans 10 ml d'acétone, on ajoute 2,86 mmoles de nucléophile (**Nu-H**). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante.

Après évaporation sous pression réduite le résidu est repris avec le dichlorométhane puis lavé trois fois par une solution saturée de chlorure d'ammonium puis à l'eau jusqu'à pH neutre.

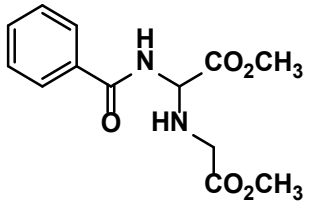
La phase organique est séchée sur sulfate de sodium puis le solvant est éliminé. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice en utilisant le mélange éther/hexane : 1/1 comme éluant.

Mode opératoire 2

A 11mmoles de nucléophile on ajoute 50ml de dichlorométhane anhydre le mélange est refroidi à 0°C, puis on ajoute 22mmoles de triméthylamine, ensuite 10mmoles de α-azidoglycinate de méthyle N-protégé. Le mélange est agité pendant une heure à 0°C puis pendant une nuit à température ambiante. Le lavage de la solution obtenue est effectué par l'acide citrique (15%), puis avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (**$NaHCO_3$**). Le résidu est obtenu pur après recristallisation dans l'éther.

Mode opératoire 3

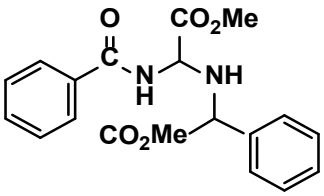
A 10 mmoles de nucléophile (**Nu-H**) dans 30 ml d'acétone, on ajoute 15 mmoles de carbonate de potassium K_2CO_3 par petites portions et une quantité catalytique du bromure de tétra-n-butylammonium (1 mmoles de BTBA) qui est un catalyseur de transfert de phase. Après agitation pendant 15 min, on ajoute l'α-azidoglycinate de méthyle, la réaction est abandonnée une nuit à température ambiante après réduction du solvant le résidu est repris avec l'éther puis lavé à l'eau. La phase organique est séchée puis concentrée et le brut ainsi obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice.



2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)acétate de méthyle <u>2a</u>

Le composé **<u>2a</u>** a été purifié par une simple recristallisation dans un mélange hexane/éther (5 :5)
Rdt. : 80 % (huile coloré).
Rf = 0,62 (hexane/acétone, 1:1)

^{1}H-NMR (CDCl3, δ ppm): 3.15 (e, ^{1}H, N**<u>H</u>**-CH_2-); 3.47-3.62 (dd,2H, NH-C**<u>H_2</u>**-, J_1 = 5.6 Hz,J_2= 6.4 Hz); 3.55 (s, 3H, OC**<u>H_3</u>**); 3.73 (s, 1H, N-C**<u>H</u>**-N); 3.68 (s, 3H, OC**<u>H_3</u>**); 5.44 (d, 1H, N**<u>H</u>**-Bz, *J* = 7.84 Hz); 7.3-7.8 (m, 5Harom).
^{13}C-NMR ($CDCl_3$, δ ppm): 46.85 (1C,**<u>C</u>**H_2-C); 51.87 et 52.74 (2C, O**<u>C</u>**H_3); 64.81 (1C, N-**<u>C</u>**H-N); 127.21- 133.29 (6C, **<u>C</u>**arom); 167.49, 170.22 et 172.79 (3C,**<u>C</u>**O).



2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxo-1-phényléthyl)amino)acétate de méthyle 2b

Le composé **2b** a été purifié par une simple recristalisation dans l'éther pur.

Rdt. : 86% (solide blanc).

Rf = 0,35 (hexane/acétate, 8:2).

F= 126-128°C

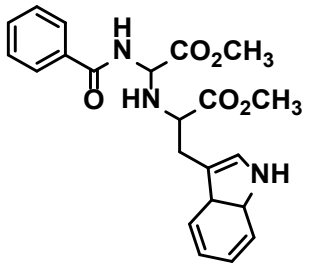
$[\alpha]_D^{20}$ -17.5 (c 1.0, CH_2Cl_2)

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δ ppm): 3.31 (e, 1H, NH-CH-Ph); 3.57 (s, 3H, OCH_3); 3.78 (s, 3H, OCH_3); 4.65 (s, 1H, NH-CH-Ph); 5.51-5.54 (d, 1H, N-CH-N, *J* = 8.43 Hz); 6.89-6.91 (d, 1H, NHBz, *J* = 8.4 Hz); 7.28-7.81 (m, $10H_{arom}$).

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, δ ppm): 52.44 et 52.88 (2C, OCH_3);61.97 (1C, -CH-Ph); 63.62 (1C, N-CH-N); 127.13-137.48 (10C, C_{arom}); 167.14, 170.14 et 173.63(3C, CO).

MS*m/z* (%) = 356,59

Valeur calculée $C_{19}H_{20}N_2O_5$ (%): C, 64.04; H, 5.5.66; N, 7.86; **valeur trouvée** (%): C, 63.84; H, 5.67; N, 7.89.



2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)-3-(1H-indol-2-yl)propanoate de méthyle 2c

Le composé **2c** a été purifié par une simple recristalisation dans l'acétone pur.

Rdt : 86% (solide blanc).

Rf = 0,71(dichloro/acétate, 8:2)

F= 174–176 °C

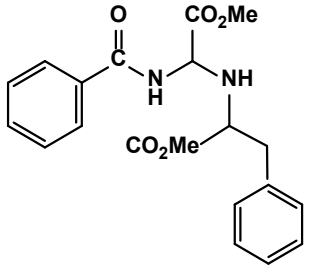
$[\alpha]_D^{20}$ -10(c 1.0, CH_2Cl_2)

1H-NMR (DMSO, $^{\delta}$H ppm): 2.94–3.02 (m, 3H, NH-CH-CH_2- + -CH_2-indol-3-yl); 3.28 (s, 3H, -OCH_3); 3.64 (s, 3H, -OCH_3); 3.67–3.72 (t, 1H, N-CH-CH_2-, J = 6.90 Hz); 5.25–5.31 (dd, 1H,N-CH-N, J_1 = 10.17 Hz et J_2 = 7.73 Hz); 6.93–7.82 (m, 10H, 10Harom); 9.1 (s, 1H, NHBz); 10.9 (s, 1H, NHindole).

13C-NMR (DMSO, $^{\delta}$C ppm): 29.18 (1C, -CH_2-indol-3-yl); 51.78 et 52.65 (2C, -OCH_3); 59.06 (1C, -CH-CH_2-indol-3-yl); 64.18 (1C, N-CH-N); 109.80, 111.79, 118.74, 121.33, 124.15, 127.74, 127.78, 128.78, 132.12, 133.71 et 136.48 (14C, Carom); 166.61, 170.38 et 174.89 (3C, CO).

Valeur calculée $C_{22}H_{23}N_3O_5$ (%):C, 64.54; H, 5.66; N, 10.26; **valeur trouvée** (%): C 64.28, H 5.71, N 10.16.

MS m/z (%) = 409.60.



2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)-3-phénylpropanoate de méthyle 2d

Le composé **2d** a été purifié par une simple recristalisation dans un mélange héxane/éther (5 :5)

Rdt. : 70 % (solide blanc).

Rf = 0,65(hexane/acétate, 1:1)

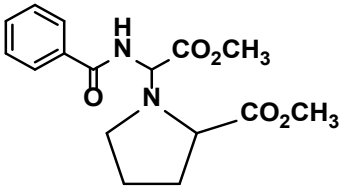
F= 90-92°C

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δ ppm): 2.73 (e, 1H, NH-CH-CH_2-Ph); 2.94-3.07 (m, 2H, -CH_2-Ph);3.48 (s, 3H, OCH_3);3.8 (s, 4H, -CH-CH_2-Ph + OCH_3); 5.51-5.53 (d, 1H, N-CH-N, J = 8.15 Hz); 6.72-6.74 (d, 1H, NHBz, J = 8.14 Hz); 7.17-7.76 (m, 10H, 10H_{arom}).

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, δ ppm): 39.77 (1C, -CH_2-Ph); 51.90 et 52.77 (2C, OCH_3);59.61 (1C, -CH-CH_2-Ph); 64.47 (1C, N-CH-N); 126.86-136.61 (10C, C_{arom}); 166.86, 170.02 et 175.54(3C, CO).

MS*m/z* (%) =**370,15**.

Valeur calculée $C_{20}H_{22}N_2O_5$ (%): C, 64.85; H, 5.99; N, 7.56;**valeur trouvée** (%): C64.82, H 6.02, N 7.58.



1-(1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)pyrrolidine-2-carboxylate de méthyle 2e

Le composé **2e**a été purifié par une simple recristalisation dans l'éther pur.

Rdt. : 75 % (huile colorée).

Rf = 0,69 (hexane/acetone, 3:2)

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, δ ppm): 1.26-1.38 (m, 2H, -CH_2-C$\underline{H_2}$-CH-); 1.79-1.88 (m, 2H, -CH_2-C$\underline{H_2}$-CH_2-); 2.84-3.05 (m, 2H, NH-C$\underline{H_2}$-CH_2-); 3.80 (s, 3H, OC$\underline{H_3}$);3.86 (s, 3H, OC$\underline{H_3}$); 4.21-4.24 (dd, 1H, -CH_2-C$\underline{H}$-, J_1 = 3.60 Hz, J_2 = 5.85 Hz); 5.69-5.71(d, 1H, N-C$\underline{H}$-N, J = 6.0 Hz); 5.84 (d, 1H, N$\underline{H}$-Bz, J = 6.0 Hz); 7.44-7.87 (m, 5Harom).

^{13}C-NMR ($CDCl_3$, δ ppm): 23.04 (1C, -CH_2-$\underline{C}H_2$-CH_2-); 29.70 (1C, -CH_2-$\underline{C}H_2$-CH-); 52.13 (1C, -$\underline{C}H_2$-CH_2-CH_2-); 52.29 et 53.01 (2C, O$\underline{C}H_3$); 66.43 (1C, -CH_2-CH_2-$\underline{C}$H-); 68.16 (1C, N-$\underline{C}$H-N); 127.22-133.23 (6$\underline{C}$, Carom); 168.01, 170.14 et 174.49 (3C, $\underline{C}$O).

Références bibliographiques

[1] A. Afanasenko, S. Elangovan, M. C. A. Stuart, G. Bonura, F. Frusteric, K.Barta, *Catalysis Science & Technology.,***2018,** 8, 5498.

[2] K. Fujita, S. Furukawa, N. Morishima, M. Shimizu, R. Yamaguchi, *Chem.Cat.Chem*., **2018**, 10, 1–6.

[3] Y. Hoshimoto, S. Ogoshi, *ACS Catal.* **2019**, 9, 5439−5444.

[4] J. Bayardon, D. Sinou, O. Holczknecht, L. Mercset G.Pozzi, *Tetrahedron: Asymmetry***2005**, 16,2319-2327.

[5] J. Brondani, D. Rodrigo, M. Moreira, M. Patricia, A. D.Farias, F. Ricardo, S. Souza, F.F. Barbosaet A. Cristina, L. Leite.,*Tetrahedron Letters,* **2007**, 48, 3919–3923.

[6] P. Trillo, H. Adolfsson., *American Chemical Society,***2019**, 9, 7588−7595.

[7] K. Boukallaba, A. Elachqar, A. EL Hallaoui, A. Alami, S. EL Hajji, B. Labriti, M. Lachkar, B. Bali, M. Bolte, J. Martinez, V. Rolland., *Phosphorus, Sulfur and Silicon,* **2007**,182, 1045.

[8] B. Jianget Z.Huang, M. Lachkar, B. Bali, M. Bolte, J. Martinez, V. Rolland., *Phosphorus, Sulfur and Silicon***2007**,48, 1703–1706.

[9] M. S. R. Murty, B. Jyothirmai, Palakodety Radha Krishna, J. S. Yadav, *syntheticcommunications*.,**2003**, 33, 14, pp: 2483–2486.

[10] Basker Sundararaju, Zhou Tang, Mathieu Achard, Gangavaram V. M. Sharma, Loc, Toupet, et Christian Bruneau, *Adv. Synth. Catal*., **2010**, 352, 3141 – 3146.

[11] V. V. Zarubaev, E. L. Golod, P. M. Anfimov, A. A. Shtro, V. V. Saraev, A. S. Gavrilov, A. V. Logvinov, O. I. Kiselev., Bioorganic & Medicinal Chemistry, **2010**,18, 839–848.

[12] A. Khalafi-nezhad, A. Zare, A. Parhami, M.N. Soltanirad et G.R. Nejabat., *J. Iran. Chem.*Soc. **2007**,4, No. 3, 271-278.

[13] J. A. Harvey Dale, R. G. Hodges, G. C. Lloyd-Jones, *J. Am. Chem.Soc.,* **2019**, *1*41, 3, 7181-7193.

[14] A. Alami, A. EL Hallaoui, A. EL Achqar, M. L. Roumestant, PH. Viallefont,*Prep. Biochem. and Biotechnol*. **1998**, 28, 167.

[15] S. Achamlale, A. Elachqar, A. EL Hallaoui, S. EL Hajji, A. Alami, M., L. Roumestant, PH. Viallefont, *Phosphorus Sulfur and Silicon.,***1998**, 140, 103 et, Aminoacids **1999**, 17, 149.

[16] A. Bombrun, G. Casi, *Tetrahedron Lett*. **2006**, 47, 2187.

[17] G. R. Jorapur, J.M. Jeong, D. Y. Chi, *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 2435.

[18] L. Zhang, B. Wu, Z. Chen, J.Hu, X.Zeng, G. Zhong., *Chem. Commun,* **2018**, 54, 9230-9233.

[19] J. R. Allen, A. Bahamonde, Y. Furukawa, M. S. Sigman, *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 8670–8674.

[20] B.C. Bookser, M. I. Weinhouse, A. C. Burns, A.N. Valiere, L. J. Valdez, P. Stanczak, J. Na, A. L. Rheingold, C. E. Moore, B. Dyck, *J. Org. Chem.***2018**, 83, 6334−6353.

[21] S. Chen, R. F. Graceffa, A. A. Boezio, *Org. Lett.,***2016**, 18, 16−19.

[22] M. Brændvang, L.L. Gundersen, *Tetrahedron Lett*.,**2007**, 48, 3057−3059.

[23] S. Orlandi, M. Caporale, M. B. Schudok, R. Annuniaziata, *Tetrahedron Asymm*.,**2003**, 10, 3827.

[24] E. Cuevas-yanez, J. M. Serrano, G. Huerta, J.M. Muchowski, R. Cruz-almanza,*Tetrahedron Asymm*., **2004**, 8, 527.

[25] M. S. Hamasharif, O. E. P. Smith, C. J. Curran, K. Hemming.*ACS Omega*., **2017,**2, 1222−1231.

[26] a) F. Lenda, F. Guenoun, B. Tazi, N. Ben Larbi, H. Allouchi, J. Martinez, F.Lamaty, Euro. *J. Org. Chem*. 2005, 326. b) F.Lenda, F.Guenoun, J. Martinez, F. Lamaty, *Tetrahedron Lett*. **2007**, 48, 805.

[27] I. Kumar, S. Rana, J. W. Cho, C. V. Rode, *Tetrahedron: Asymmetry,* **2010**, *21*, 352.

[28] H. Mabrouk, A. Elachqar, A. Alami, A. El Hallaoui, *Molecules.*, **2010**, 13, 9354-9363.

[29] H. Mabrouk, A. Elachqar, A. Alami, A. El Hallaoui, S. El Hajji, M. Jean, R. Vallery.,*Arabian Journal of Chemistry.,***2013**, 6, 93–96.

[30] K. Boukallaba, A. Elachqar, A. El Hallaoui, A. Alami, S. El Hajji, B. Labriti, J. Martinez, V. Rolland, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon*, **2006**, *181*, 819.

[31] (a) S. J. O'Connor, Z. Liu, *Synlett*.,**2003**, 2135; (b) A. Giannis, T. Kolter Angew. *Chem. Int. Ed. Engl.,***1993**, 32, 1244; (c) M. C. Khosla, K. Stachowiak, R. R. Smeby, F. Piriou, K. Lintner, S. Fermandjian, *Proc. Natl. Acad. Sci*., **1981**, 78, 757.

[32] (a) T. Kan, Y. Kawamoto, T. Asakawa, T. Furuta, T. Fukuyama, *Org. Lett*., **2008**, 10,169; (b) A. Takahashi, H. Naganawa, D. Ikeda, Y. Okami, *Tetrahedron.,* **1991**, 47, 3621.

[33] W. Wang, Z. Wu, Z. Dai, Y.Yang, J. Wang, G. Wu, Aminoacids., 2013, 45, 3, pp: 463–477.

[34] K. Kasai, H.Suzuki, T. Nakamura, *European Journal of Endocrinology.,* **1980**, 93, 3 pp: 283–286.

[35] Léa Zubiria, Le tryptophane : un acide aminé essentie, *passeport santé*.,**2018.**

[36] Bruno Commare, Conception et synthèse de nouveaux agonistes de récepteurs métabotropiques du glutamate. Chimie organique. *Université René Descartes* - Paris V, **2014**.

[37] Léa Zubiria, La phénylalanine: effets, bienfaits et dangers de cet acide aminé essentiel, *passeport santé*.,**2018.**

[38] Léa Zubiria, La proline, un acide aminé non essentiel mais important, *passeport santé*.,**2018.**

[39] M. El Houssine, A. Elachqar, A. El Hallaoui, A. Alami. *Molbank* **2012**, *2012*(3), M777.

[40] R. Kober, W. Steglich, Liebigs .*Ann. Chem*., 1983, 1983, 599–609.

[41] S.Achamlale, A.Elachqar, A.El Hallaoui, S.El Hajji, M.L. Roumestant, P.H. Viallefont, *Amino Acids.,***1997**, *12*, 257–263.

[42] D.Roach, W. Charles gehrice,*journal of chromatography*.,**1969,** 44 ,269-278.

[43] B.Castro, J. Dormoy, G. Evin, C.Selve.*Tetrahedron Lett.,***1975,** 16, 1219– 1222.

[44] R. Kober, W.Steglich, *Ann Chem*., **1983**,599–609

[45] O. Karai, Y.Aouine, H.Faraj, A.Alami, M.RachidKabbour, A. El Hallaoui, M. Bouksaim.*Mediterranean Journal of Chemistry.,***2018**, 7(4), 267-271.

[46] O. Karai, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, H. Zouihri. *IUCrData*.,**2017**,2, x171155.

[47] O. Karai, M. El Hamdani, H. Faraj, A. Alami, M.Kabbour, A. El Hallaoui, M.Bouksaim,Y.Aouine.*Molbank.,***2017**, 7, 4, M958.

[48] O. Karai, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, H. Zouihri. *IUCrData.,***2017**, 2, x171547.

CHAPITRE 3

EVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRINNE DES DÉRIVES α,α-DIAMINOESTERS CARBOXYLIQUES

Dans le but d'évaluer l'effet bactéricide des dérivées d' α,α-diaminodiesters, il a été jugé important, dans un premier temps, d'évaluer leur activité sur les germes responsables de diverses maladies toxi-infectieuses. Mais avant de présenter les résultats de cette étude, nous présentons brièvement un aperçu concernant les bactéries, les antibiotiques, ainsi que les techniques de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques.

Introduction

La bactérie est un micro-organisme ubiquiste, unicellulaire et sans noyau (procaryote) dont le génome est composé d'ADN. Celui-ci est constitué d'un seul chromosome, avec la présence de plasmides (petit morceau d'ADN circulaire) dont la totalité des bactéries forme le règne des eubactéries (*Eubacteria*), qui lui attribue une forme particulière:sphérique, en bâtonnet ou en spirale. Les bactéries sont capables d'adopter les fonctions fondamentales propres au vivant : se multiplier, transmettre l'information génétique, mais aussi extraire la matière et l'énergie de l'environnement. Elles possèdent une certaine autonomie et un métabolisme propre. Chez l'homme, il s'est avéré que l'organisme comportait dix fois plus de cellules bactériennes que de cellules humaines. La plupart d'entre elles sont inoffensives et même bénéfiques pour le corps humain. Il existe cependant des espèces pathogènes à l'origine de nombreuses maladies infectieuses comme la peste, la tuberculose, le choléra, la syphilis, etc. Les plus dangereuses sont celles qui causent des infections respiratoires [1]. Chez l'Homme, les symptômes des infections bactériennes sont similaires à ceux observés lors d'infections virales (éruption cutanée, toux, écoulement nasal, larmoiement, fatigue, nausées, fièvre et douleurs musculaires). Parfois, elles sont mortelles. Toutefois, les infections bactériennes peuvent être traitées avec des antibiotiques [2].

Micro-organismes utilisés

Afin de donner une vision large sur l'étendue du champ d'activité biologique de nos produits, divers micro-organismes ont été sélectionnés dont les souches utilisées sont les suivantes :
Escherichia coli (E. coli) : est une bactérie qui représente la majorité dans le tube digestif que ce soit chez l'homme ou chez les animaux à sang chaud. Généralement, les souches de *E. coli* sont inoffensives, mais certaines ont dévolu des facteurs de virulence qui les rendent **pathogènes**, c'est le cas de *E.coli* entéro-hémorragique (EHEC)**.** Ces micro-organismes engendrent des diarrhées sanglantes ainsi qu'une intoxication alimentaire grave, provoquée par la consommation de produits animaux mal cuits où consommés crus. Fruits et légumes frais, ayant été en contact avec ces souches peuvent également être compromis.

Les *Staphylococcus aureus ATCC 25923*[3] sont des bactéries qui affectent un large éventail de pathologies. Elles sont les premiers responsables d'infections nosocomiales, mais elles peuvent également être infectées en dehors en raison d'une intoxication alimentaire. Cependant, ces bactéries sont souvent présentes dans l'environnement (eaux non-traitées, sols, objets souillés). Les traitements de l'éradication des infections sont difficiles du fait de l'existence de nombreuses souches, qui sont multi-résistantes aux antibiotiques. Les exemples suivants le montrent bien :

- ***Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*** [4,5] est un microorganisme qui provoque des infections aiguës ou chroniques, parfois graves et mortelles, elle est pathogène et fréquemment rencontrée dans les infections nosocomiales. Les formes de pathologie qu'elle engendre sont diverses : infection de l'œil, des plaies ou des brûlures, des urines, des poumons... Le *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie très robuste, naturellement très résistante aux antibiotiques et s'adaptant rapidement aux attaques médicamenteuses.

- ***Salmonelle enterique CIP 8039*** des entérobactéries bacilles à Gram négatifs, mobiles pour la plupart (ciliature péritriche), mais certaines sont statiques, aéro-anaérobies facultatifs, oxydase négative. Ils ont un diamètre de 0,7 à 1,5 µm, pour 2 à 5 µm de longueur avec un flagelle en bâtonnet. Elles provoquent des maladies humaines telles que la fièvre typhoïde et la fièvre paratyphoïde [6].

- ***Bacillus subtilis CIP 5262*** est une bactérie catalase-positive, rencontrée souvent dans le sol, d'une longueur de 2 à 4 µm et d'une largeur de 0,5 à 2 µm. C'est une bactérie aérobie stricte à l'origine d'infections alimentaires, considérée comme un modèle parfait pour l'étude de bactéries pathogènes, qui sont responsables de la maladie du charbon. La bactérie Bacillus *subtilis* est utilisée dans l'industrie agroalimentaire pour la production d'amylase, enzymes destinées à la fabrication de pain. La bactérie entre également dans la composition de produits détergents. Ledit *Bacillus subtilis* peut être utilisé en antibiothérapie dans les pharmacies [7].

I. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont généralement des composés dérivés de substances isolées dans la nature. La pénicilline, a été le premier antibiotique découvert par Sir Alexander Fleming en 1928 d'une manière inattendue lorsqu'il a voulu comprendre pourquoi les bactéries qu'il cultivait dans son

laboratoire étaient mortes. Il réalisa finalement que le Penicillium, une substance naturelle ressemblant à la pénicilline, avait été introduite dans sa boîte de Pétri.

Aujourd'hui, il existe un grand nombre d'antibiotiques dont les modes d'action sont variés. Certains agissent sur la paroi ou la membrane des bactéries provoquant ainsi leur destruction [8]. D'autres vont agir au niveau de la machinerie des bactéries pour bloquer leur développement et leur survie. Enfin, certains antibiotiques agissent directement au niveau de leur ADN pour empêcher leur division et leur prolifération.

L'antibiotique utilisé dans ce screening biologique est le chloramphénicol, qui est un antibiotique bactériostatique de la famille des phénicolés. Cet antibiotique peut être utilisé pour traiter la méningite, la peste, le choléra, la fièvre typhoïde uniquement lorsque les antibiotiques plus sûrs ne peuvent pas être employés. [9]

Le chloramphénicol a été isolé de Streptomyces venezuela en 1947. Cet antibiotique figure sur la liste des médicaments essentiels de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Il agit en se fixant à des ribosomes bactériens pour inhiber la synthèse peptidique [10-11].

I.1. Paramètres d'activité d'un antibiotique

L'analyse de l'activité antibactérienne d'un antibiotique donné conduit à la définition d'un certain nombre de paramètres qualitatifs et quantitatifs.

- Le spectre d'activité qui définit la liste des espèces bactériennes sur lesquelles un antibiotique agit.
- La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) et la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) caractérisent l'effet de l'antibiotique testé sur une souche bactérienne donnée. L'antibiotique est appelé « bactéricide absolu » lorsque le rapport CMB / CMI = 1, s'il est juste proche de 1, l'antibiotique est dit « bactéricide », et si jamais, il est supérieur à 2, l'antibiotique est appelé simplement « bactériostatique ».

Il existe également d'autres paramètres qui servent à caractériser le mode d'action d'un antibiotique et en particulier sa pharmacologie chez le patient tels que : l'index thérapeutique sérique, le temps d'antibiotique utile, etc. [12].

La CMI, en pratique, est définie comme la concentration minimale d'antibiotique qui inhibe complètement la croissance bactérienne (bactériostatique) après 18 à 24 heures d'exposition à 37 ° C. Il en existe plusieurs variantes :

- **La CMI50** est la plus faible concentration inhibant, en 18 à 24 heures, la multiplication de 50 % des bactéries.
- **La CMI90** est définie comme étant la plus faible concentration inhibant, en 18 à 24 heures, la croissance de 90 % des bactéries.

La CMB : La concentration bactéricide minimale est également définie comme étant la concentration minimale à laquelle 99,99% des bactéries sont tuées (stérilisées) après 18 à 24 heures de contact avec des antibiotiques.

I.2. Mode d'action d'un antibiotique

Les mécanismes d'action des antibiotiques sont très variables. Ils sont plus ou moins spécifiques de certaines familles bactériennes [13]

- ✓ *Inhibition de la synthèse des parois bactériennes* : la plupart des antibiotiques agissant sur la paroi des bactéries sont considérés comme inhibiteurs de la synthèse du peptidoglycane, un polymère qui forme la paroi des bactéries. Ils cassent alors cette paroi pour tuer la bactérie. Par conséquent, ce sont des antibiotiques bactéricides. Ces antibiotiques comprennent, les β-lactamines, les glycopeptides et les fosfomycines.
- ✓ *Action sur la membrane plasmique* : la polymyxine B et la colistine sont deux antibiotiques qui perturbent la synthèse membranaire en agissant sur la membrane. Ils sont actifs sur les bacilles gram négatif.
- ✓ *Inhibition de la synthèse protéique* : c'est le cas, par exemple, de la tétracycline, des aminosides, du chloramphénicol, des macrolides, de l'acide alginique et du linézolide. Ceux-ci se fixent à des composants spécifiques de ribosomes bactériens. Ils bloquent ou interfèrent avec la traduction de l'ARNm pour former de nouvelles protéines.
- ✓ *Inhibition du fonctionnement et la synthèse des acides nucléiques* : les rifampicines, les sulfamides, les quinolones et les triméthoprimes inhibent la synthèse ou bien le fonctionnement des acides nucléiques de différentes manières en fonction des familles d'antibiotiques :
    - Inhibition de la réplication de l'ADN
    - Inhibition de la transcription / ARN polymérase
    - Diminution de la synthèse des précurseurs nucléotidiques
- ✓ *Action sur l'ADN:* En se fixant au brin hélicoïdal de l'ADN, il est possible d'empêcher la réplication et l'inhibition des processus de l'ADN polymérase (par exemple, les quinolones et les sulfamides).

I.3. L'évaluation de la sensibilité / résistance des bactéries aux différents antibiotiques

La résistance des bactéries aux antibiotiques est soit naturelle, soit acquise. [14]

La résistance naturelle d'une espèce ou d'un genre est :

- Une caractéristique propre, concernant l'ensemble des souches de l'espèce ou du genre ;
- Portée par un chromosome donc toujours transmissible à la descendance : transmission verticale ;
- Un caractère permettant de définir le phénotype sauvage ou sensible de l'espèce ;
- Une aide à l'identification d'une espèce.

La résistance acquise, pour sa part :

- relative à une proportion plus ou moins importante, variable dans le temps, de souches d'une espèce ;
- Résulte d'une modification génétique par obtention ou par mutation de plasmides, (résistance extra chromosomique) transmissible horizontalement, parfois entre espèces différentes ;
- Définit des phénotypes « résistants ».

Il existe trois méthodes [15,16] pour l'évaluation de la sensibilité des bactéries aux différents antibiotiques :

- La méthode de dilution en milieu liquide.
- La méthode de dilution en milieu solide (gélose).
- La méthode de diffusion sur gélose (Antibiogramme) [17,18].

I.4. Méthodes d'étude in vitro

Les différentes techniques d'efficacité antibactérienne in vitro peuvent être classées comme suit :

- *Technique d'étude sur milieu solide* [19,20] :

La méthode de dilution en milieu solide consiste [21-25] à incorporer l'antibiotique à une concentration donnée dans la gélose, maintenue liquide à 42°C. Une série de boites de Pétri est préparée avec des concentrations d'antibiotique variant selon une progression géométrique de base de 2, comme précédemment.

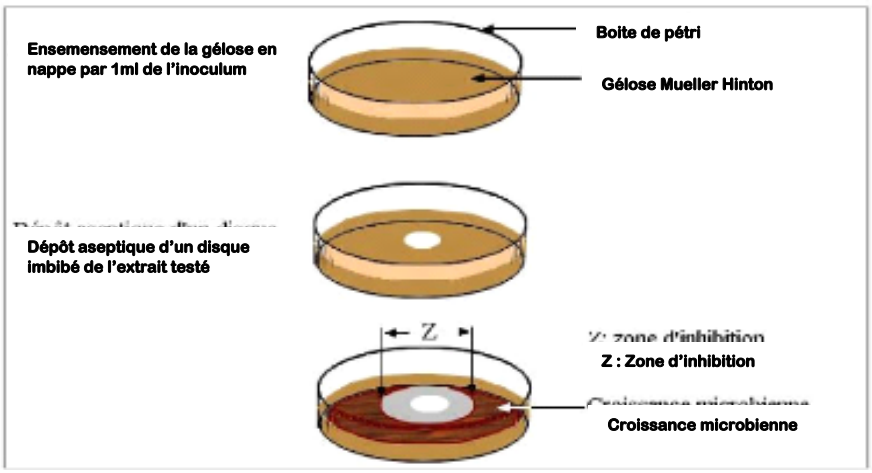


Figure 21 : **Illustration de la méthode de diffusion sur boîte Pétri**

Le procédé, consiste à ensemencer la gélose par les germes à étudier, et à déposer les disques de papier buvard préalablement imprégnés à la surface de la gélose. Chaque produit diffuse au sein de la gélose à partir du disque et y détermine la concentration minimale inhibitrice inversement proportionnelle à la distance du disque.

Après 24 heures d'incubation, les disques apparaissent entourés d'une zone d'inhibition dont le diamètre permet de mesurer la zone d'inhibition, plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique et plus il est petit, plus la souche est résistante. [26]

- *Technique d'étude sur milieu liquide* [27,28] :

Cette technique repose sur le même principe que la méthode des proportions réalisée en milieu solide. Mais plutôt que de dénombrer des colonies, en milieu liquide et en atmosphère confinée, on utilisera comme indicateur de croissance, la production de CO_2 en présence ou en absence d'antibiotiques.

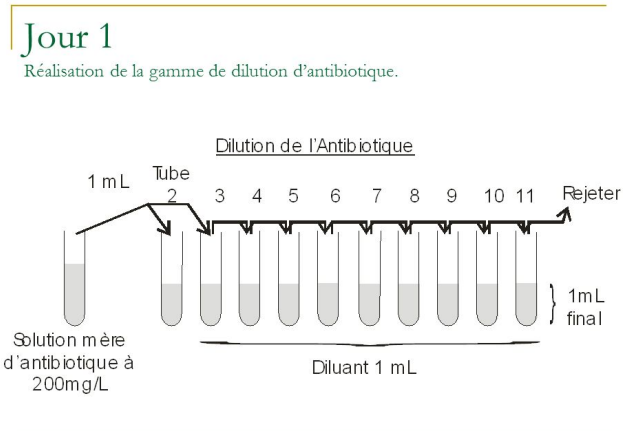


Figure 22 **: Méthode de dilution dans un milieu liquide.**

La sensibilité est exprimée par une inhibition de croissance dans les flacons contenant les antibiotiques, elle est ensuite comparée à la croissance observée dans les milieux témoins sans antibiotique ensemencé dans les mêmes conditions que le test (témoins 100 %) et les témoins inoculés avec la dilution au 1/100 de la précédente (témoins 1 %).

Une souche peut être considérée comme sensible si la croissance obtenue en présence d'antibiotiques est inférieure à celle du témoin 1 %.

- *La méthode de la diffusion sur gélose* (antibiogramme) :

Un antibiogramme est une technique de laboratoire permettant de tester la sensibilité d'une souche bactérienne à un ou plusieurs antibiotiques suspectés ou connus.



Figure 23 : **Antibiogramme**

L'antibiogramme a pour objectif de préciser la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'une souche bactérienne contre divers antibiotiques. La détermination de cette valeur n'est pas très précise, mais elle est influencée par l'usage et elle bénéficie d'une masse importante d'informations recueillies à son sujet.

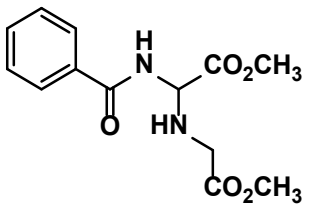
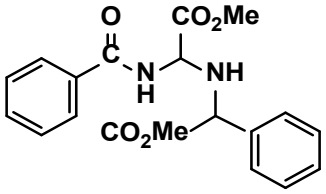
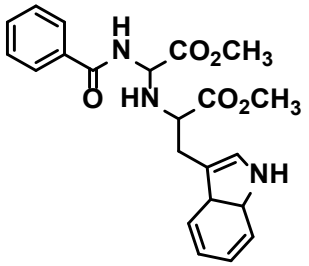
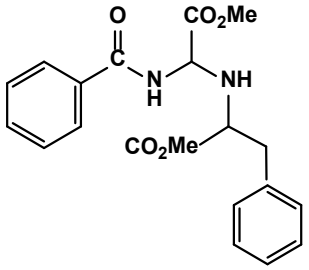
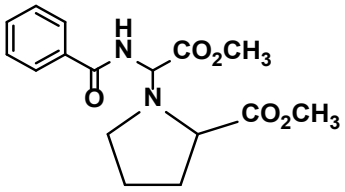
II. Etude du pouvoir antibactérien

II.1. Produits testés

Dans la présente étude, nous avons testé l'activité antimicrobienne des cinq dérivés α,α-diamino-diesters carboxyliques synthétisés.

Les structures chimiques des dérivés testés sont illustrées sur le tableau N° 13. Ils sont issus de la réaction de substitution de l'α-azidoglycinate de méthyle **1** par différents dérivés d'α,α -aminoesters carboxyliques.

Tableau 13 : **Molécules sélectionnées pour l'évaluation antimicrobienne.**

Références	Noms	Structures
2a	***2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)propanoate de méthyle***	
2b	***2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxo-1-phénylethyl)aminoacétatede méthyle***	
2c	***2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)-3-(1H-indol-2-yl)propanoate de méthyle***	
2d	***2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)-3-phénylpropanoate de méthyle***	
2e	***1-(1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl) pyrrolidine-2-carboxylate deméthyle***	

II.2. Bactéries utilisées

Les cinq souches bactériennes utilisées lors de cette étude, ont été fournies à partir de la banque des gènes de l'unité de technologie alimentaire au niveau du centre régional de recherche de Rabat de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA).

Trois souches de bactéries à Gram négatif : ***E. coli*** CIP 53126, ***Pseudomonas aeruginosa*** CIP 82118 et ***Salmonelle entérique*** CIP 8039, et deux souches de bactéries à Gram positif : ***Staphylococcus aureus*** CIP 483, ***Bacillus subtilis*** CIP 5262.

II.3. Culture bactérienne

La gélose Trypticase Soy Agar (TSA) est un milieu universel convenant pour un large éventail d'emplois, du fait de son excellent apport nutritif. Ce milieu d'agar a été inoculé avec 0.5ml des cultures contenant environ 10^6UFC/ml (unité formant colonie/millilitre), le temps d'incubation était 24 h à une température de 37°C.

III. Réalisation des tests : résultats et discussion

III.1. Méthode de diffusion sur disque

Nous avons utilisé la méthode classique de diffusion sur disque en papier Wattman n°3 de 6 mm de diamètre, en utilisant le milieu frais d'agar de Mueller Hinton. Ce milieu d'agar a été inoculé avec 0.5mL des cultures contenant environ 10^6UFC/ml. Des disques de papier filtre (diamètre de 5 millimètres) imprégnés avec des solutions de chaque composé (concentration 20 mg/1mL DMSO), ont été placés ensuite sur la surface du milieu gélosé dans des boites de pétri préalablement ensemencées par inoculation. Le temps d'incubation était de 24 h à une température de 37°C. Deux boites de pétri témoins sont également préparées ; un témoin négatif représenté par des disques imbibés d'une solution constituée de DMSO 1% et un témoin positif constitué d'un antibiotique (le chloramphénicol (30µg/ml). L'activité inhibitrice a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone claire observée autour du disque (en millimètre) [29-30].

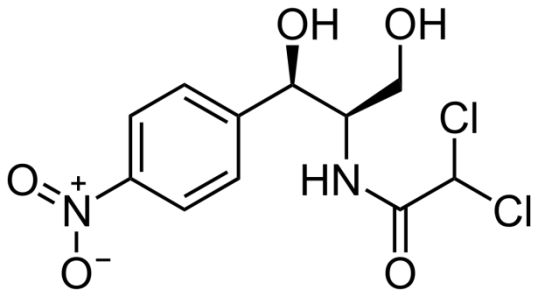


Figure 24 : **Structure du chloramphénicol**

III.2. Méthode de microtitration sur microplaques

La technique de microtitration sur microplaques stériles, a été adoptée pour déterminer la CMI en utilisant la résazurine comme indicateur de viabilité. Pour ce faire, 100 µl de milieu de culture

liquide TSA est versé dans chaque puits, plus 100 µl de la solution de chaque produit à tester (20 mg/mL, m/v à DMSO 90%). Des dilutions successives sont ensuite réalisées en commençant à transférer 100 µl de solution de la première rangée vers les puits suivants de la rangée suivante de la même colonne et de façon à ce que chaque puits contienne 100 µL de matériel d'essai en concentrations décroissantes. Chaque puits est ensuite ensemencé par 10 µL de la suspension bactérienne. Les microplaques ont été placées dans un incubateur réglé à 37 °C pendant 24 heures. Chaque plaque avait une colonne avec un antibiotique comme contrôle positif et une colonne avec toutes les solutions sauf celui du produit testé et enfin une colonne avec toutes les solutions à l'exception de la suspension bactérienne. Finalement, la solution de résazurine a été préparée en dissolvant 270 mg de poudre de résazurine dans 40 ml d'eau distillée stérilisée [31]. Un volume de 10 µl de solution de résazurine a été ajouté dans chaque puits après incubation. Les microplaques ont été placées à nouveau dans un incubateur à 37 ° C pendant seulement 2 heures. Le changement de couleur a ensuite été évalué visuellement. Tous les changements de couleur du violet au rose ou incolore ont été enregistrés comme positifs. La plus faible concentration à laquelle le changement de couleur s'est produit a été prise comme la valeur CMI [32].

III.3. Discussion des résultats

Les résultats de l'antibiogramme relatifs aux diamètres des zones d'inhibition (ZI mesurée en mm) des dérivés α,α-diaminodiesters carboxyliques contre des souches de bactéries à Gram positif et à Gram négatif sont présentés dans les graphiques des figures donnés ci-après.

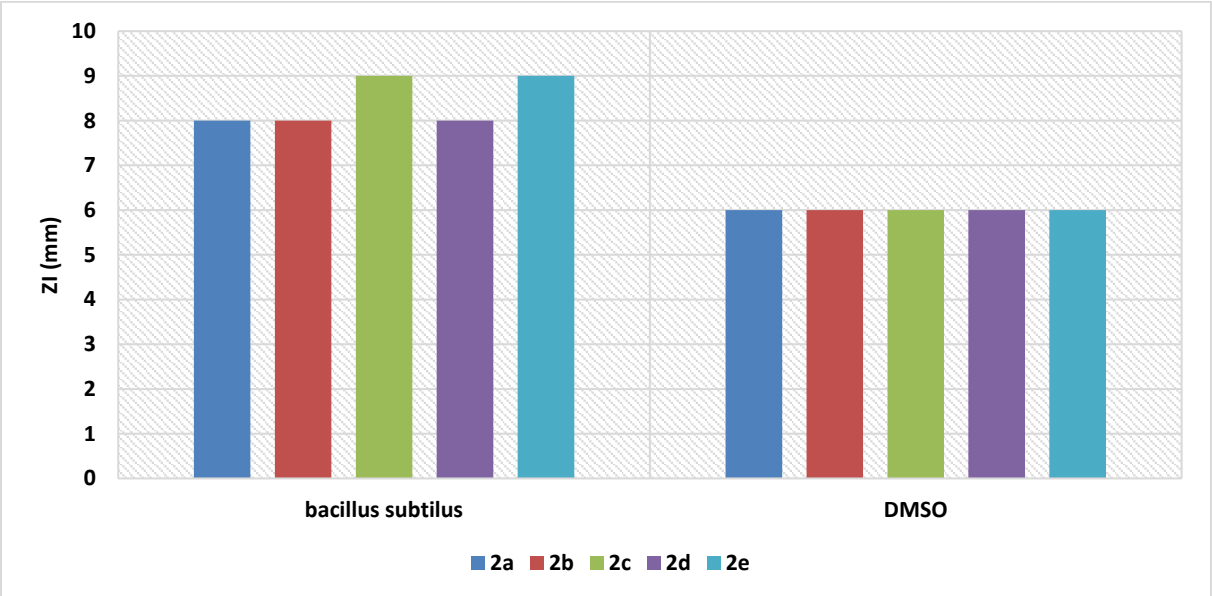


Figure 25 : **Résultats de l'activité antibactérienne des substances synthétiques sur *Bacillus subtilis***

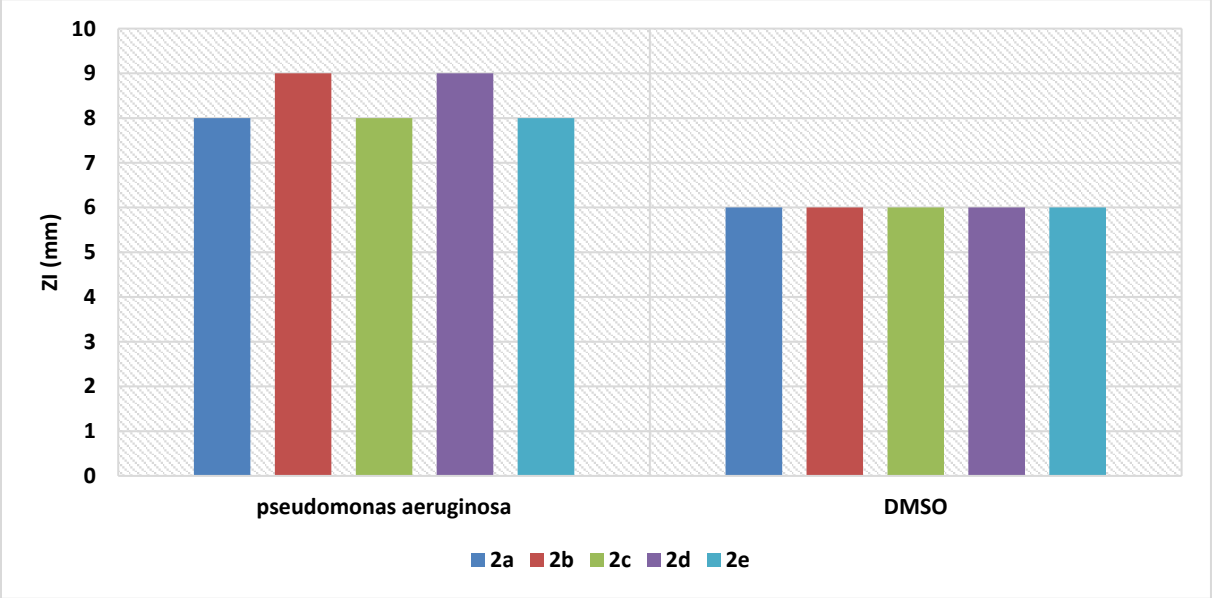


Figure 26 : **Résultats de l'activité antibactérienne des substances synthétiques sur *Pseudomonas aeruginosa***

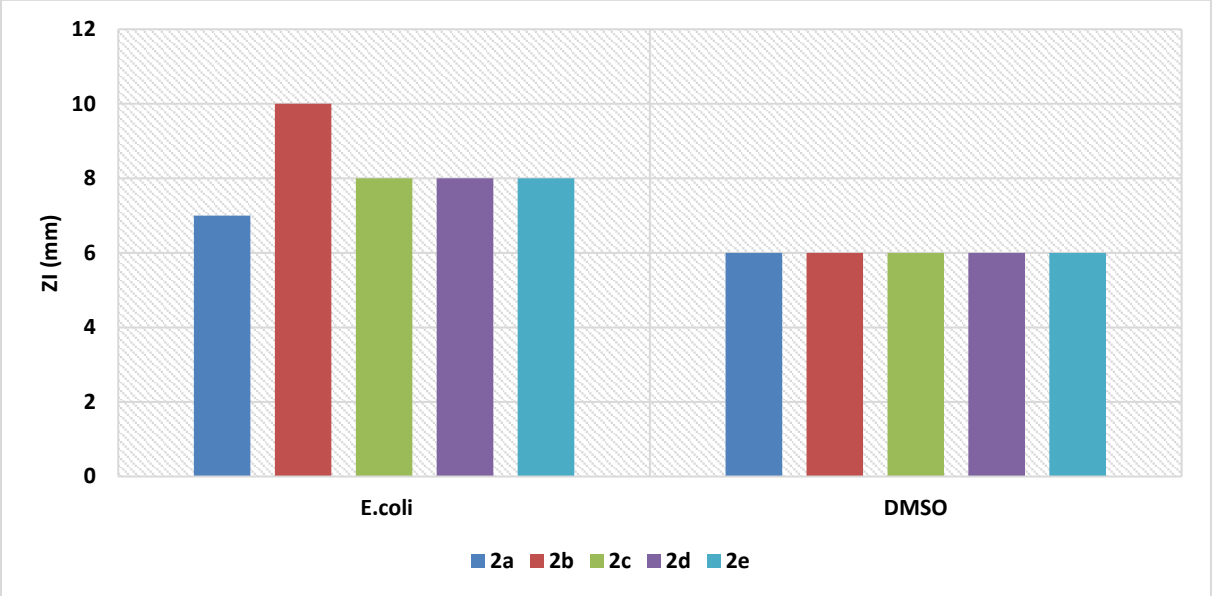


Figure 27 : **Résultats de l'activité antibactérienne des substances synthétiques sur *E. Coli***

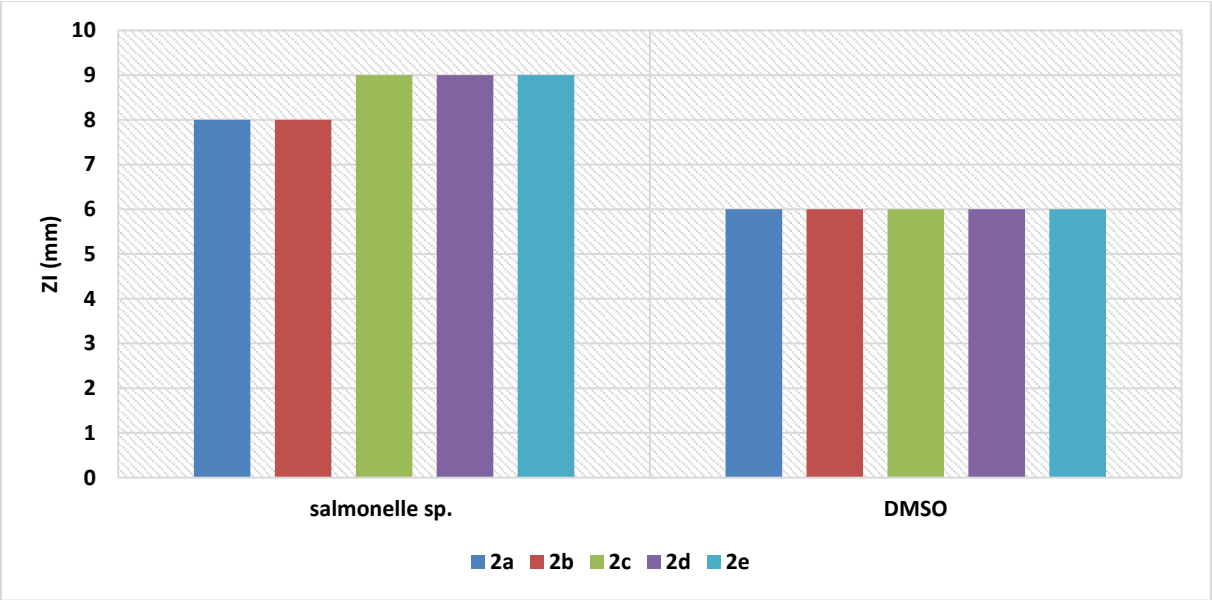


Figure 28 : **Résultats de l'activité antibactérienne des substances synthétiques sur*salmonelle entérique***

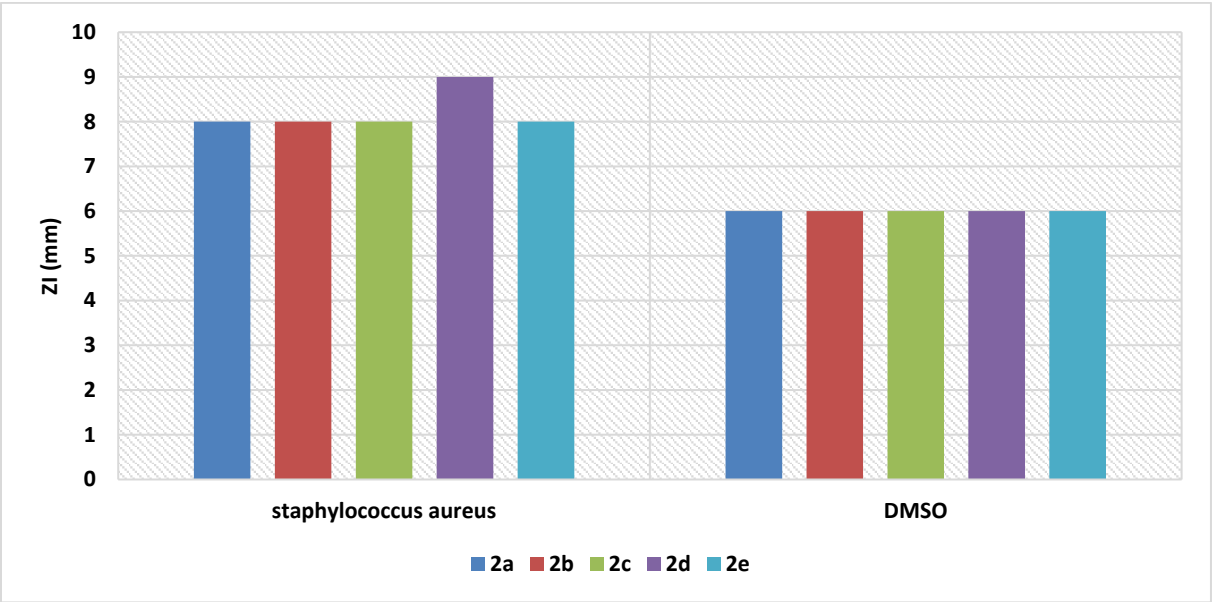


Figure 29 : **Résultats de l'activité antibactérienne des produits synthétiques sur *Staphylococcus aureus***

D'après les résultats de diffusion discale obtenus, il s'est avéré que tous les composés synthétisés testés possèdent une activité antimicrobienne. Ces substances ont été capables d'inhiber la croissance des bactéries à Gram négatif (***Escherichia coli***, ***Pseudomonas aeruginosa*** et ***salmonelle enterique***) (ZI 07-10), plus que les bactéries à Gram positif (***Staphylococcus aureus***, ***Bacillus subtilis***) (ZI 08-09).

En effet, les composés **2a**, **2d** et **2b** ont montré une sensibilité moyenne contre la souche ***Bacillus*** (ZI 08mm), par contre les composés **2c** et **2e** présentaient une résistance plus forte contre la même souche (ZI 09mm),

Par ailleurs, la souche *E. coli* (Gram négatif), a exhibé une forte résistance pour le composé **2b** dont le plus grand diamètre d'inhibition (ZI 10mm), contrairement au composé **2a** qui a le plus petit diamètre (ZI 07mm), alors que les autres substances **2c**, **2d** et **2e** ont montré une sensibilité moyenne (ZI 08mm).

D'autre part les souches ***Pseudomonas, salmonelle et Staphylococcus*** ont été sensibles en présence des composés **2c**, **2d** et **2b**, tandis que les produits **2a**et **2e** ont manifesté une sensibilité moins importante.

Quant à la détermination des concentrations minimales inhibitrices(CMI), les dérivés α,α-diaminoesters carboxyliques inhibent la croissance des souches testés avec des CMI variant de 1,25mg/ml à 5 mg/ml (Tableaux 14 et 15).

Tableau 14 : CMI (mg/ mL) des produits de synthèse vis-à-vis des bactéries à Gram négatif

	2a	**2b**	**2c**	**2d**	**2e**	**Chloramphénicol**
Escherichia coli CIP 53126	5	**1,25**	2,5	5	5	0 ,05
Pseudomonas aeruginosa CIP 82118	2,5	5	2,5	2,5	5	0 ,05
salmonelle entériqueCIP 8039	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	0 ,05

Tableau 15 : CMI (µg/ mL) des produits de synthèse vis-à-vis des bactéries à Gram positif.

	2a	**2b**	**2c**	**2d**	**2e**	**Chloramphénicol**
Bacillus subtilisCIP 5262	5	5	2,5	5	5	0 ,095
Staphylococcus aureus CIP 483	5	2,5	5	5	2,5	0 ,095

Ainsi, Comme il est rapporté dans les tableaux **2** et **3**, le composé ***2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxo-1-phénylethyl)amino acétate de méthyle*** **2b** a exercé une activité inhibitrice importante contre les souches de bactéries à Gram négatif. ***E.coli.***, en particulier, a montré une sensibilité élevée à ce composé, avec une valeur de CMI de 1,25 mg/ml. Il est à noter que le dérivé de la proline **2e** présente les mêmes résultats de CMI obtenus avec le composé **2b**, à l'exception de ***E.coli.***, ou il s'est révélé moins actif avec une CMI faible de 5mg/ml

De plus, le dérivé ***2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)-3-(1H-indol-2-yl)propanoate de méthyle*****2c** a montré des valeurs de CMI similaires de 2,5 mg/ml contre toutes les souches de bactéries testées, à l'exception de Staphylococcus aureus (CMI = 5 mg/ml).

Quant aux dérivés de la glycine **2a** et de la phényl alanine **2d,** ces derniers inhibent d'une part la croissance des souches bactériennes *Escherichia coli, Bacillus subtilis et Staphylococcus aureus* avec une valeur de CMI similaire de 5mg/ml, et d'autre part présentent un pouvoir antibactérien assez intéressant vis-à-vis des souches bactériennes *Pseudomonas aeruginosa et Salmonelle entérique* avec une CMI similaire de 2.5mg/ml

Au vu des résultats présentés, nous pouvons avancer que nos produits testés ont montré un pouvoir antibactérien assez intéressant vis-à-vis des souches bactériennes à gram positif et à gram négatif, dans la mesure ou l'un des composés le ***2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxo-1-phénylethyl)amino acétate de méthyle*** **2b** issu de la réaction de « couplage » entre l'α-azidoglycinate de méthyle et de l'ester méthylique de la phénylglycine a présenté la plus petite valeur de CMI 1,25 mg /ml et la plus grande valeur de ZI (10 mm) contre la bactérie à Gram négatif ***E.coli.*** Le chloramphénicol utilisé comme témoin pour les tests de l'activité antibactérienne, a révélé une activité très forte avec de grandes valeurs de ZI (36 mm) et de petites CMI (0,05 mg / ml).

Références bibliographiques

[1] W.B. Abdullah., H.Anow, A. dolig, T.S.Mina,N.k Amrun, A.korshed ,A.Neor ,N. aliya , N.b. alakrish, L.stephen, B. Rkobert , Bacteremic, *Emerging Infectious Diseases.*, **2005**,11(2), p. 326 - 329.

[2] A.Bryskier, Antimicrobial Agents: Antibacterial and antifungals, Washignton, *ASM Press.*, **2005**, 1456p.

[3] J. Deval,Atlang in Daguet.*GL Examen de laboratoire et Technique de bactériogie*.,**1971**.

[4] R. Fuerst.*Microbiologie du Clinique traduit et adapté par les éditeurs HRW*.,**1973**.

[5] C. in Leminor.*Livre de bactériologie médicale. Chap.,***1982**, 12.

[6] N. Jamaly, A. Benjouad, M. Bouksaim, *Probiotic Potential ofLactobacillus strains Isolated from Known Popular Traditional Moroccan Dairy, Products. Br.* **2011**, Mic. R. J. 1(4):79-94.

[7] M. El-Hamdani, L. Zaaraoui, A. El Housni, M. Bendaou, A. Douaik, A. Zouahri, K. Ounine, M. Bouksaim, Seasonal Effect on Bovine Raw. Milk Composition of Oulmes Local Race in Morocco. *Food Science and Quality Management*. **2016**,52: 2224-6088.

[8] J. Deval, C.J. Soussi.*Antibiothéra 2ieme éd, Paris.*, **1980**, 176, 11-37.

[9] J. Davies, D. Davies. *Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. MicrobiolMolBiol Rev.,***2010**;74(3):417-3.

[10] M.Bouksaim, C.Lacroix, P. Audet et R.E.Simard, Effects of mixed starter composition on nisin Z production by Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis UL 719 during production and ripening of Gouda cheese. *Int. J. Food. Microbiol.,***2000**,59:141-156.

[11] M.Bouksaim, C.Lacroix, R. Bazin et R.E.Simard, Production and utilization of polyclonal antibodies against nisin in an ELISA and for immuno-location of nisin in producing and sensitive bacterial strains. *Journal of Applied Microbiology.,***1999**,87:500-510.

[12] A. Moisan.*Les antibiotiques en médecine vétérinaire, UP pharmacie-toxicologie.,* **2012/2013.**

[13] J.R. Housley, H.C. Righards, D.F. Sponer.Chem. Abstr.,**1964**, 61, 13316.

[14] F. Depardieu, I. Podglajen, R. Leclercq, E. Collatz, P. Courvalin.*Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression. ClinMicrobiol Rev*.,**2007,** 20 ,79 – 114.

[15] H. Montei, D. Rasoamananjara, « Autres bacilles à gram négatif et Antibiotiques », in Antibiogramme (P. Couvalin, F. Goldestein, A. Philippon, J. Sirotédts.).,*MPC-Videon.,***1985**, pp127-132.

[16] G.P. Bodey, R. Bolivar, V. Fainstein, L. Jadeja., "Infections caused by Pseudomonas aeroginosa", *REV.INF.Dis.,***1983**, 5 ,279-313.

[17] L.dubreuil., Méthodes d'études de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries anaérobies stricts. *Rev. Franç. Lab.***,1993** : 256 : 91 – 98

[18] M.sixou, D.kone, D.duffaut-lagarrigue, J. Ph.Lodter, C. Berdoulat., Etude in-vitro de la sensibilité aux antibiotiques des principales bactéries impliquées dans l'étiologie des parodontites chez l'homme. *J. Parodontol.,***1993**,12: 257 – 263.

[19] L.L. Zaika., *J. Food Safety.,***1998**,9,97.

[20] Smith. M.D , P.L. Navilliat, *J.Microbiol.Meth*, 28, **1997**, 21.

[21] Deans. S.G., G.Ritchie, *Int. J.Food Microbiol*, **1987**, 5, 162.

[22] Lis- Balchin.M , Hart. S.L., *Phytotherap. Research*, **2000**, 14, 623.

[23] Burt. S.A, Reinders. R.D, *Lett. Appl. Microbiol*., **2003**,36, 162.

[24] Faleiro.M.L., Miguel. M. G., *Lett. Appl. Microbiol*.,**2003**, 36, 35.

[25] Kunle. O., Okogun. J., Egamana. E., Emojevwe. E., Shok M..*J. Phytomed*, **2003**; 10, 59.

[26] Fauchère. J.L, L. Avril, « Bactériologie générale et médicale», *Ellipses*, **2002**.

[27] C.M. Mann, Markham. J.L, *J.Appl. Microbiol*, 84, **1998**, 538.

[28] Lahlou. M, *Phytotherap. Research*, 18, **2004**, 435.

[29] Ponce. A.G., Fritz. R., Valle. C. D., Roura. S.I., *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **2003**, 36, 679.

[30 Jagadeesh. B. A, A.Rupa Sundari. A.R., Indumathi1. J., Srujan. R.V.N., Sravanthi M., *Veterinary World*, **2011**, 4(7), 311.

[31] McNicholl BP, McGrath JW, Quinn JP. Development and application of a resazurin based biomass activity test foractivated sludge plant management, *Water Res*. 2006; 41: 127–133

[32] Ponce A. G., Fritz R., del Valle C., and Roura S. I., Antibacterial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Society of Food Science and Technology* (Elsevier), 36, **2003**, 679

CHAPITRE 4

EVALUATION DU POUVOIR RÉDUCTEUR DES DÉRIVES α,α-DIAMINOESTERS CARBOXYLIQUES ET DE LEUR EFFET ANTIRADICALAIRE

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des extraits synthétisés, nous avons utilisé deux méthodes complémentaires, en l'occurrence le piégeage du radical libre DPPH$^{\bullet}$ et le pouvoir réducteur FRAP. Mais avant de présenter les résultats obtenus de cette étude, nous présentons un breefing concernant les différents types d'anioxydants et leurs origines.

Introduction

L'oxydation est l'une des manifestations les plus importantes à l'origine du vieillissement des produits cosmétiques et alimentaires. La dégradation oxydative affecte les qualités nutritionnelle et sensorielle des aliments et peut avoir des répercussions sur la santé du consommateur [1]. Elles sont également impliquées dans le vieillissement des organismes et des tissus biologiques ainsi que dans de nombreuses pathologies. Les principaux agents oxydants sont les espèces réactives de l'oxygène, des enzymes (lipoxygénase, peroxydase), des ions métalliques (Cu, Fe) et les peroxydes lipidiques, qui concourent tous à la formation en chaîne de radicaux libres [2]. Ceux-ci attaquent les protéines, les acides nucléiques, les acides gras insaturés, les vitamines ou d'autres constituants [3-4]. L'homme et les animaux ont développé des systèmes de défense contre ces agressions : Enzymes de détoxication (glutathion peroxydase, catalase, superoxyde dismutase, glutathion réductase), complexassions du fer et du cuivre par des protéines, agents antioxydants [5-6]. L'alimentation apporte une grande variété d'antioxydants : vitamine E et C, polyphénols et pigments caroténoïdes. Les études épidémiologiques soulignent l'intérêt d'une alimentation variée, riche en fruits et légumes [7] et [8]. Par conséquent, le rôle des antioxydants dans les formulations alimentaires non seulement maintient les qualités sensorielles du produit, mais devrait également améliorer sa valeur nutritionnelle. De nos jours, il existe un intérêt croissant envers la biologie des radicaux libres. Cela tient non seulement à leur rôle dans les phénomènes aigus tels que l'ischémie, mais également à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires ainsi que dans la dégénérescence du système immunitaire. [9]; [10].

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les espèces réactives oxygénées (Reactive Oxygen Species ROS) à l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques des ROS [11]. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres, intracellulaire par la chaîne respiratoire mitochondriale et le système des oxydases à fonction mixte, ou extracellulaire d'origine surtout phagocytaire [12-13].Contre cette

production potentiellement toxique, l'organisme dispose de systèmes complexes protecteurs antioxydants tels que les superoxydesdismutases (SOD), la catalase (CAT), le système des enzymes du glutathion (GPx), la séquestration d'ions métalliques, les enzymes dégradant des protéines lésées par les radicaux libres, métabolisant les hydroperoxydes et réparant l'ADN et des vitamines E, C, P, et bêta-carotène [14]. On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule, l'une est enzymatique et l'autre est non enzymatique, cette dernière se décompose en deux catégories : endogène et exogène [15].

Enfin, des travaux récemment publiés ont révélé l'intérêt des dérivés d'aminoesters hétérocycliques comme des agents antioxydants**.**

En 2018, Mrkus et al. [16] ont préparé différents dérivés d'esters de quercétine et de resvératrol et de tétrapeptide. Tous les composés préparés ont exhibé une activité antioxydante, en particulier le dérivé de la quercétine contenant la Met-enképhaline.

Dans la même année, Galehshahiet al. [17] ont synthétisé une série d'aminoesters N-coumariliques, afin de les tester contre l'activité antioxydante en utilisant les méthodes DPPH et FRAP. Les résultats du test ont montré que tous les produits testés manifestent une activité antioxydante importante.

I. Radicaux libres

I.1. Définition des radicaux libres

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés dits célibataires sur l'orbitale externe [18]. Cette propriété rend les radicaux libres hautement électrophiles car ils essaieront de ré-apparier leur électron célibataire en attaquant toute molécule pouvant se faire arracher un électron. Par conséquent, leur durée de vie est très courte. L'espèce attaquée est rendue à son tour radicalaire, ce qui initie un processus de réaction en chaîne. Les radicaux libres sont des composés caractérisés par une structure électronique déséquilibrée qui leur confère une grande réactivité sur les constituants organiques et sur les structures cellulaires [19].

I.2. Formation des ERO

Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. Les principales espèces réactives de l'oxygène sont : le radical superoxyde ($O2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle ($^{\bullet}OH$), le monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$), et aussi certains

dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxynitrite (ONOO-) [20].

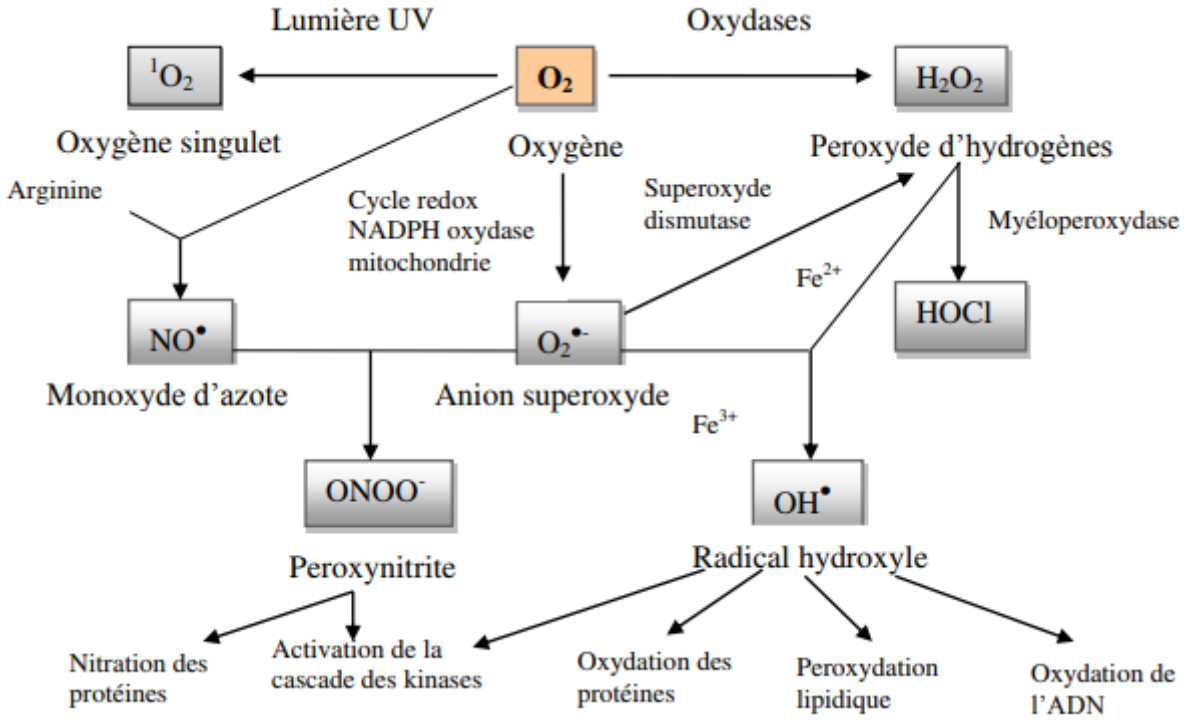


Figure 30 : **Les processus de formation des ERO [21].**

I.3. Origine des radicaux libres

Ils sont produits par différents mécanismes physiologiques afin de détruire les bactéries qui existent dans des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler le fonctionnement cellulaire létales, telles que la mort cellulaire programmée ou l'apoptose. Cependant, lors du contact entre l'oxygène et certaines protéines du système respiratoire, des anions superoxydes sont produits lors du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. Des sources importantes de radicaux libres sont le résultat des mécanismes de cycles redox qui produisent dans l'organisme l'oxydation de molécules comme les quinones. Ce cycle redox a lieu soit spontanément, soit surtout lors de l'oxydation de ces composés au niveau du cytochrome [22]. Les rayonnements UV sont capables de générer des radicaux libres et les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources de radicaux libres. L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes, également des antibiotiques, des anticancéreux, l'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme. [23].

I.4. Stress oxydatif

Le stress oxydatif apparaît donc quand un déséquilibre se forme dans la balance anti/pro-oxydants. C'est seulement à ce moment que les espèces réactives de l'oxygène vont exercer leur action délétère sur l'organisme[24].Les radicaux libres sont responsables de dommages sur toutes les molécules biologiques comme les lipides, les protéines, les acides nucléiques, ou les hydrates de carbone[23] : Les mécanismes d'oxydation des composés insaturés biologiques (acides gras, caroténoïdes, polyphénols, etc.) sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire et présentent différentes phases[25].

I.5. Conséquences du stress oxydatif

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN**,** les lipides (peroxydation), les protéines [26] etc. Cette oxydation entraîne des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement, et provoquant des maladies telles les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, cancer, diabète, etc., causant aussi la dégradation des cellules et des tissus. Au niveau de l'ADN, les radicaux libres peuvent induire des effets oxydatifs et mutagènes ou un arrêt des réplications. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins [27]. Les lipides sont une cible privilégiée des radicaux libres. Ceux-ci provoquent en effet l'oxydation des acides gras poly-insaturés (AGPI) des phospholipides membranaires (principaux constituants des membranes des cellules), mais aussi des organites cellulaires et des noyaux. Ce phénomène est appelé peroxydation lipidique ou lipopéroxydation aboutissant à la formation de LDL oxydée qui est captée par des macrophages, au dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, à l'attaque des phospholipides membranaires modifiant ainsi la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux [28-29].

Les radicaux libres peuvent aussi agir sur les macromolécules en provoquant des inactivations enzymatiques, des fragmentations de ces molécules (collagène, protéoglycannes, acide hyaluronique) et la formation de dimères ou d'agrégats protéiniques dans les membranes cytoplasmiques [27].

II. Les antioxydants

II.1. Définition des antioxydants

Les antioxydants présentent une grande variété de composés associant des protéines à activité enzymatique (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase) et non enzymatique (séquestrant des métaux) ainsi que des petites molécules liposolubles (vitamine E, β-carotène) ou hydrosolubles (vitamine C, acide urique). Une définition large du terme antioxydant donnée par Halliwell et al. [30], « Toute substance qui, présente à faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat ». En tant qu'additif alimentaire, un antioxydant est une molécule qui protège les aliments contre les réactions d'oxydation qui accélèrent leur vieillissement. Ceci est dû essentiellement à l'oxygène de l'air, à la lumière, aux traces de métaux et éventuellement à certains enzymes [23].

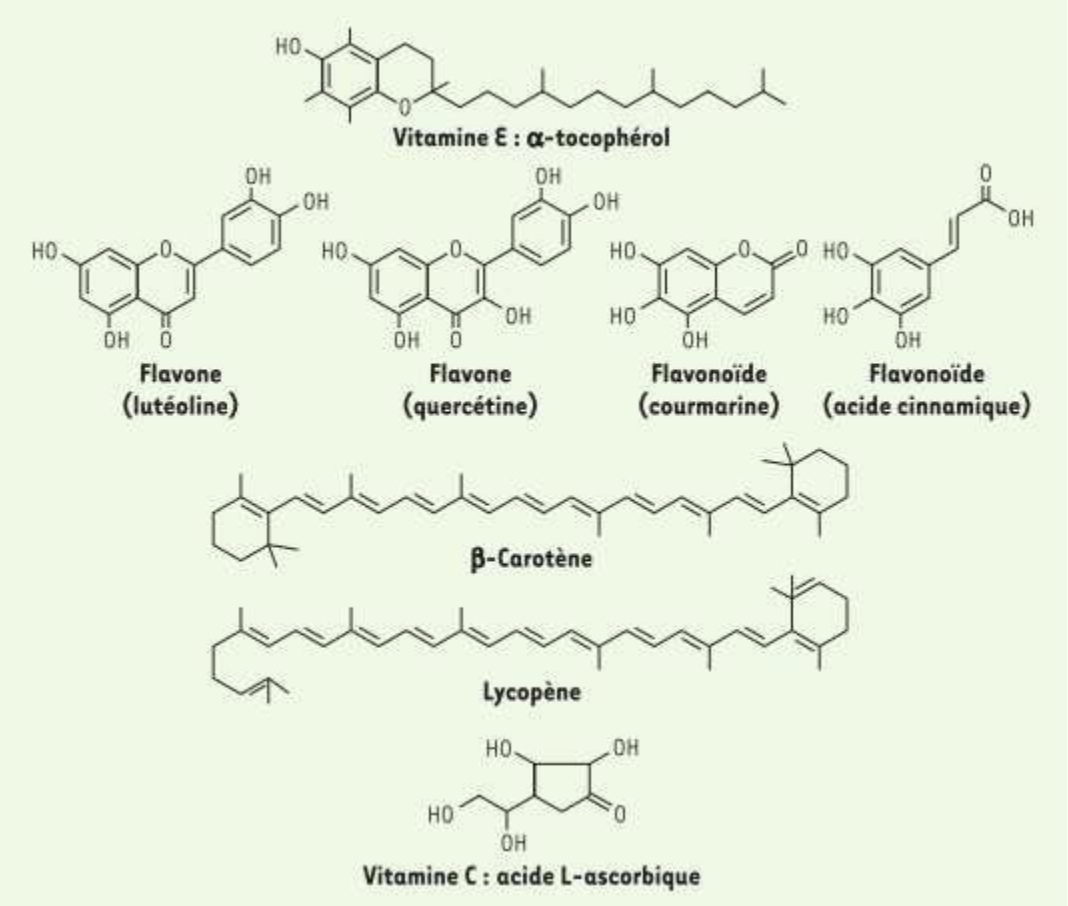


Figure 31 : **Principaux composés possédant des propriétés Antioxydantes [31].**

II.2. Types d'antioxydants

Les antioxydants sont classés en deux catégories, selon leur mode d'action,

- **Un système de défense primaire :** Les antioxydants endogènes sont des enzymes développées par notre corps à l'aide de certains minéraux, parmi ces enzymes on cite la superoxyde dismutases (SOD), la catalase (CAT), la glutathion réductase et la glutathion peroxydase (GPX). Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur nombre diminue avec l'âge. Ces enzymes sont considérées comme la première ligne de défense contre les ROS dans notre organisme ***(fig.32)*** [32].

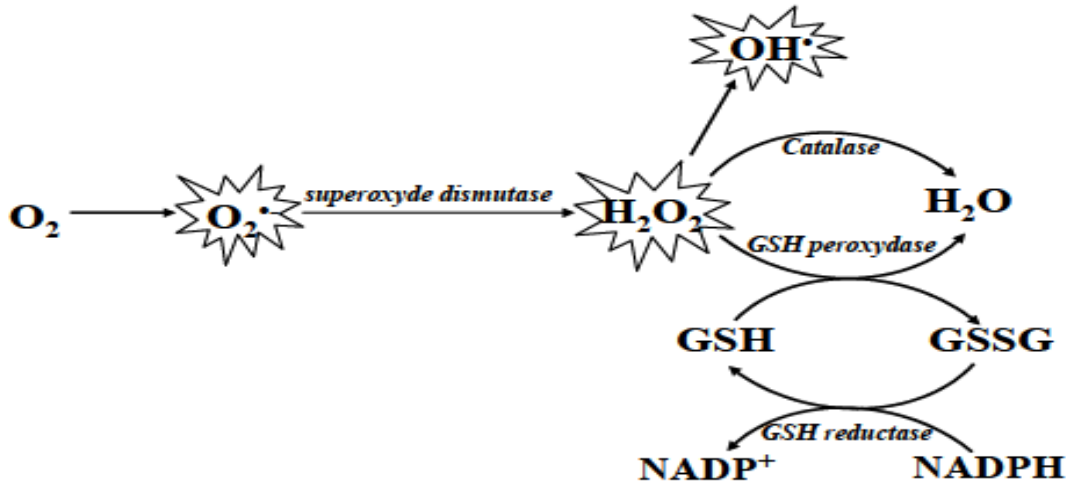


Figure 32 : **Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques [33].**

- **Un système de défense secondaire :** composé d'enzymes protéolytiques, des phospholipides, des ADN endonuclease, ligase et des macroxyprotéinases [34].

III. Les sources d'antioxydants

III.1. Les antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques sont utilisés pour prévenir la pourriture des aliments gras et servent aussi pour la protection des vitamines liposolubles (A, D, E et K) contre l'oxydation. Les esters d'acides galliques, le butylhydroxytoluene et le butylhydroxyanisole, font partie de cette catégorie. Les vitamines C et E ont également des propriétés antioxydants et ont l'avantage d'augmenter la valeur nutritionnelle des aliments.

Les antioxydants synthétiques sont généralement préparés au laboratoire, et sont principalement constitués de composants chimiques. Dans l'industrie alimentaire, l'ajout d'antioxydants naturels aux aliments constituent une nouvelle technologie depuis environ 1980. Cependant, il est courant de trouver dans les aliments une substance qui ne soit pas complètement toxique sans granit.

III.2. Les antioxydants naturels

Plusieurs substances ont été proposées pour agir comme antioxydants dans le corps. On trouve notamment le béta carotène, l'albumine, l'acide urique, les oestrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E... Ils stabilisent la membrane en réduisant sa perméabilité et ont également la capacité de se lier aux acides gras libres [35].

III.2.1. La vitamine C

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piégeur très efficace des ions superoxydes $O_2^{\bullet}$, du peroxyde d'hydrogène OH, des radicaux hydroxyles $HO^{\bullet}$ et de l'oxygène singulet $^1O_2$. Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxyles aqueux, le produit formé étant le radical ascorbyl. En piégeant les radicaux peroxyles dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydationlipidique, la vitamine C protège les biomembranes et les lipoprotéines[36].

III.2.2. La vitamine E

C'est un antioxydant très important qui sert pour la protection des cellules contre les dommages causés par les radicaux libres, prolongeant ainsi la vie des cellules tout en ralentissant le processus de vieillissement et en réduisant l'athérosclérose.

La vitamine E joue un rôle très remarquable dans l'agrégation de la vitamine β-amyloide (Aβ), voire que les données cliniques indiquent que c'est bénéfique pour les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Il a été déterminé que la biodisponibilité de la vitamine E naturelle semblait être plus importante que celle de la vitamine E synthétisée.

La vitamine E est rencontrée surtout dans les huiles végétales, les noix et les germes de diverses graines [36].

III.2.3. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des composants membranaires des chloroplastes qui forment un groupe de pigments liposolubles. Ils servent à la contribution par coloration jaune, orange ou rouge des fruits et légumes. Ils se trouvent généralement dans les plantes alimentaires.

Les caroténoïdes réagissent avec l'oxygène singlet, les radicaux peroxyles et alkyles en capturant les radicaux libres [37].

IV. Composés phénoliques

IV.1. Définition des composés phénoliques

Les polyphénols, ou composés phénoliques, constituent la plus grande famille de molécules organiques présentes dans le règne végétal. Ce sont des métabolites cibles caractérisés par la présence de cycles aromatiques avec des groupes hydroxyles libres ou des groupes hydroxyle liés à des glucides. On les retrouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits, et ils font donc partie intégrante de l'alimentation [38], Ce sont des métabolites produits par les plantes qui interagissent avec les autres végétaux et animaux. Le terme phénolique est surtout utilisé dans la définition des substances ayant au moins un groupement hydroxyle (OH) substitué sur le cycle aromatique. Ce nom vient du composé d'origine le plus simple : le phénol. Par conséquent les polyphénols naturels peuvent être des molécules simples telles que les acides phénoliques, ils peuvent être aussi des composés parfaitement polymérisés comme les tanins. Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à ce jour dans le règne végétal. On compte, à l'heure actuelle, pas moins de 8000 composés. Ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles [39]. Les principales classes des composés phénoliques sont les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide ferulique, acide chlorogenique, etc), les flavonoïdes, les tanins, et les coumarines.

Les substances phénoliques sont des molécules biologiquement actives, elles sont largement utilisées en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires, antimicrobiens. Les composés phénoliques ou les polyphénols (PP) font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale [40]. Ces corps jouent un rôle fondamental car ce sont des éléments importants de qualité sensorielle (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelle des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé, que consomme l'homme. Cette consommation est d'environ un gramme de polyphénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou vitamine E [41]. L'activité antioxydante des polyphénols est reconnue et pourrait expliquer leur rôle potentiel dans la prévention de plusieurs maladies associées au stress oxydatif.

IV.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes désignent une variété de composés naturels qui appartient à la famille des polyphénols. Ces molécules sont susceptibles d'être comme des pigments quasiment universels des végétaux ; ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et même parfois des feuilles. Ils existent le plus souvent à l'état naturel sous forme d'hétérosides [42]. Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-γ-pyran. Leur structure d'origine est celle d'un diphénylpropane ayant 15 atomes de carbone (C6-C3 -C6), qui consiste en deux cycles aromatiques (ou anneaux) représentant les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C. Parmi des milliers de plantes, les flavonoïdes ne contiennent que plus de 4 000 substances isolées et identifiées. Elles sont classées dans les catégories suivantes : Les flavones, les flavonols et les dihydroflavonols, les isoflavonoïdes, les biflavonoides, les flavanones, les flavanediols (leucocyanidines), les anthocyanidines, les chalcones et les dihydrochalcones, les aurones [43].

Les flavonoïdes possèdent de nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés antioxydantes de ces composés naturels [44]**.** L'action antioxydante de ces composés ne s'exerce pas seulement par l'inhibition des radicaux libres, mais elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation d'ions métalliques responsables de la production des ERO [45-46].

À cause de leur faible potentiel redox, les flavonoïdes (Fl-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants ($R^{\bullet}$), comme le superoxyde, le peroxyle, l'alkoxyle et l'hydroxyle, par transfert d'hydrogène et le radical Flavonoxy (FL-o) qui en résulte peut réagir avec un autre radical pour former une structure stable [47].

Les flavonoïdes sont aussi considérés comme de bons chélateurs d'ions métalliques [48], comme les ions du fer (Fe^{2+}) et du cuivre (Cu^{+}) qui sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques, mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyle d'hydrogène selon la réaction suivante :

$$H_2O_2 + Fe^{2+}\ (Cu+) \rightarrow {}^{\bullet}OH + {}^{\bullet}OH + Fe^{3+}\ (Cu^{2+})$$

V. Matériels et méthodes

V.1. Pouvoir antioxydant

V.1.1. Préparation des extraits

L'extraction à partir des dérivés α,α-diaminodiesterssynthétisés, a été réalisée dans l'éthanol à 95%. Par la suite, 10ml du solvant Ethanol, sont ajoutés à 20mg de l'extrait. Le mélange est agité à l'aide d'un agitateur (300 rpm). La solution finale a été conservée en obscurité à (-20°C), pour une analyse ultérieure par DPPH et FRAP [49]

V.1.2. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH•

L'activité antioxydante a été évaluée en mesurant le pouvoir de piégeage d'un radical libre, DPPH·(1,1-Diphenyl-2-picryhydrazyl), ce dernier, après sa préparation donne une coloration violette due à un électron non apparié de l'azote. La capacité de donation des électrons par les extraits testés est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique en suivant la disparition de cette couleur violette en une couleur jaune [50], ce qui démontre qu'il y a eu une réaction de réduction avec l'atome de l'oxygène d'un piégeur du radical libre, et donc le DPPH-H (1,1- diphényl-2-picrylhydrazyl) est formé [51-52].

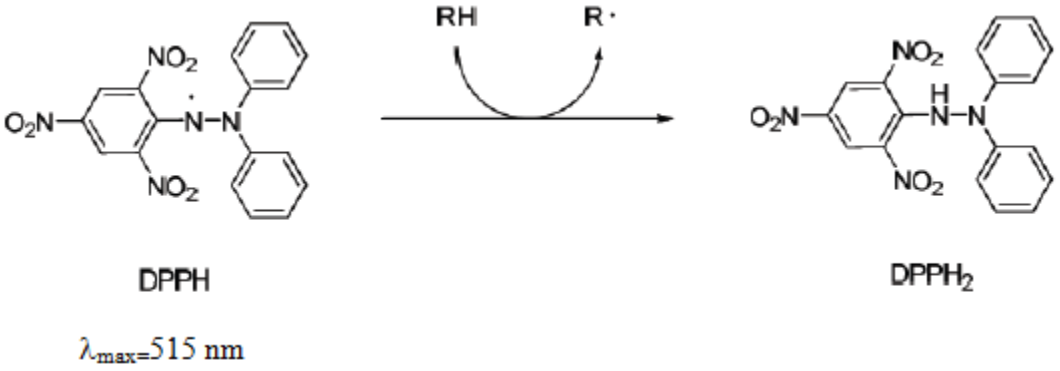


Schéma 1

Le protocole suivi lors de cette analyse était celui de Huang et al. [53]. Dans un premier temps, nous préparons la solution mère de DPPH à une concentration de 60µmole, donc on met 2,4mg de DPPH dans 100ml de méthanol. Après la stabilisation de cette solution, on prend 3,8ml qu'on ajoute à 200µl de l'extrait déjà préparé, et on mélange à l'aide d'un vortex. Après 30min d'incubation en obscurité et à une température ambiante, la lecture de la densité optique (DO) est effectuée à 515nm. Une gamme de concentration de la vitamine C (Acide L-ascorbique) a été préparée pour faire la comparaison lors de l'analyse des résultats. Tous les essais ont été effectués en triplicata.

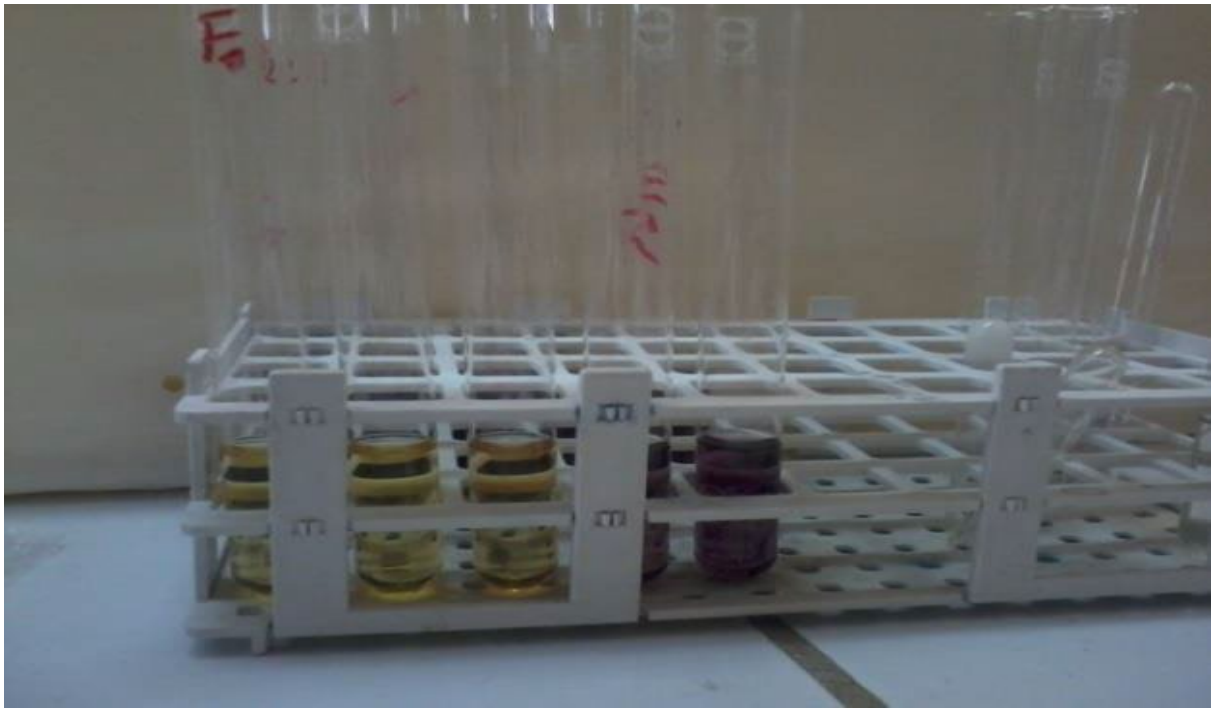


Figure 33 : **Réduction du DPPH par l'acide ascorbique (INRA Rabat)**

Les résultats de l'activité anti radicalaire sont estimés en pourcentage [54], selon la formule suivante :

I% = (A blanc – A échantillon) x100/A blanc

A blanc : Absorbance du blanc (DPPH dans le méthanol) ;

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

La CI_{50} a été déterminée pour chaque extrait, elle est définie comme étant la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50% [55].

V.1.3. Pouvoir réducteur (FRAP)

Le pouvoir réducteur des échantillons a été déterminé en suivant le principe de Benzie et al.[56]. Selon Djahra et al.[57] l'absorbance du mélange réactionnel est lue à 700 nm. Plus grande est l'absorbance, plus grand est le pouvoir réducteur.

Le protocole adopté a été comme suit : 250 µl d'extrait d'échantillon préalablement préparé, est ajouté à un mélange de 250 µl d'une solution tampon phosphate (200 mM, pH 6,6) et de 250 µl de ferricyanure de potassium 1%, (p / v). L'ensemble a été incubé dans un bain-marie à 50 °C pendant 20 minutes, puis 250 µl d'acide trichloroacétique à 10% (p/v) a été ajouté au mélange. Par la suite, on centrifuge à 10000 ppm pendant 10 min. On récupère 1ml du surnageant, on y ajoute 1ml d'eau distillée et 0,1 ml d'une solution de chlorure ferrique (0,1%, p/v). La lecture

de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard : L'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

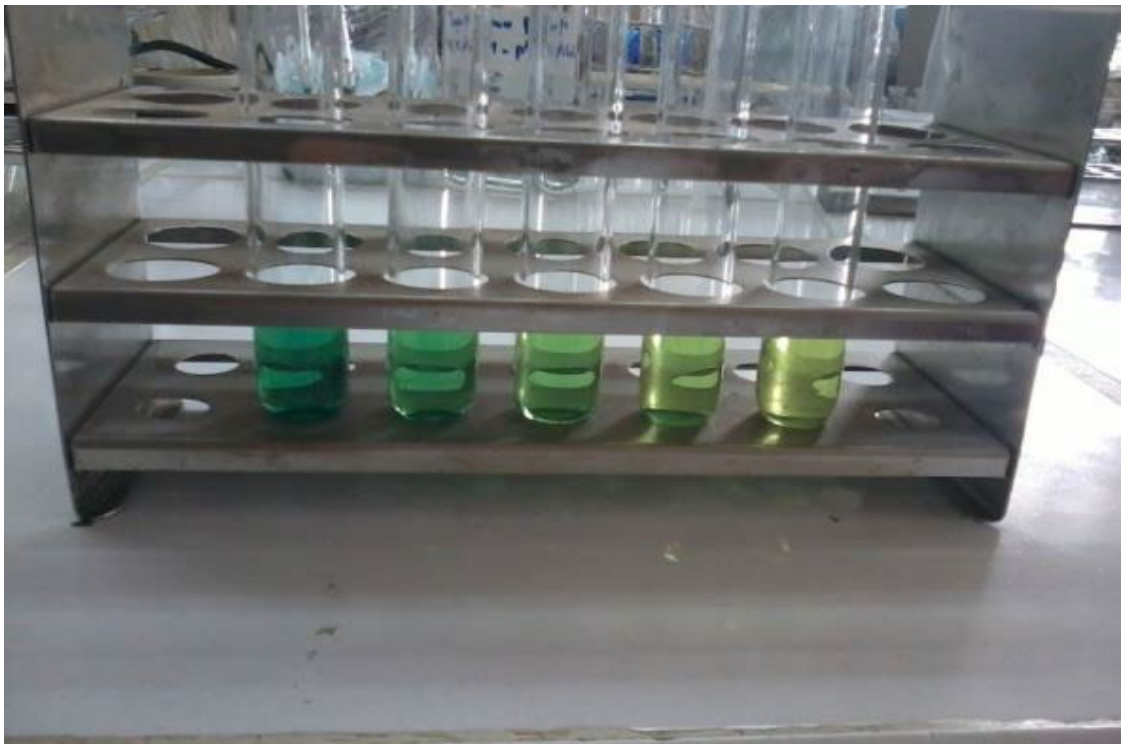


Figure 34 : **Réduction du Fer ferrique en Fer ferreux**

VI. Résultats et discussion

VI.1. Activité antioxydante

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des produits synthétisés, on a fait appel à deux méthodes complémentaires, en l'occurrence le piégeage du radical DPPH et le pouvoir réducteur.

VI.2. Piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante des produits synthétisés et du témoin positif qui est l'acide ascorbique, a été déterminée par la méthode du DPPH. Cette activité a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH$^{\bullet}$) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires [58].

Les profils d'activité antiradicalaire obtenus lors de cette étude indiquent que les extraits de synthèse testés possèdent un pouvoir antioxydant. A noter que l'activité antiradicalaire est proportionnellement dépendante de leur concentration.

Le pouvoir antioxydant des extraits de synthèse est confirmé aussi par comparaison des valeurs des IC_{50} qui expriment la concentration de l'extrait étudié nécessaire pour réduire à moitié le pourcentage du DPPH en solution. Pour chaque extrait, l'IC_{50} est déduite de la droite d'étalonnage correspondante [59];[60].

Les résultats obtenus sont représentés sous forme de droites dont les équations sont les suivantes :

L'extrait **2a** :	**Y = 77,644x + 12,274**	**R^2 = 0,9619**
L'extrait **2b** :	**Y = 129,1x +25,94**	**R^2 = 0,922**
L'extrait **2c** :	**Y = 48,56x + 14,28**	**R^2 = 0,977**
L'extrait **2d** :	**Y = 54,14x + 0,357**	**R^2 = 0,981**
L'extrait **2e** :	**Y = 38,03x + 5,133**	**R^2 = 0,987**
Le témoin **(A.ascorbique)** :	**Y = 58,30x +45,17**	**R^2 = 0,971**

Le tableau suivant regroupe les valeurs des IC_{50} des extraits de synthèse ainsi que l'antioxydant de référence.

Tableau 16 : ***Valeurs des IC_{50}des extraits bruts et témoin déterminées par le test du DPPH.***

Extrait	IC_{50} (mg/ml)
*2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)propanoate de méthyle***2a**	0,49
*2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxo-1-phénylethyl)amino acétate de méthyle***2b**	0,19
*2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)-3-(1H-indol-2-yl)propanoate de méthyle***2c**	0,74
*2-((1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl)amino)-3-phénylpropanoate de méthyle***2d**	0,92
*1-(1-benzamido-2-méthoxy-2-oxoéthyl) pyrrolidine-2-carboxylate de méthyle***2e**	1,18
A. Ascorbique	0,083

Parmi les cinq extraits testés, l'extrait **2b** est un antioxydant efficace par rapport aux autres extraits. On peut dire que tous les extraits possèdent une activité antiradicalaire et que la faculté de piéger le radical libre DPPH par l'extrait **2b** est puissante par rapport aux autres extraits. Néanmoins, le pouvoir de l'antioxydant de référence reste supérieur à celui des extraits étudiés. A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que les différents extraits testés possèdent un pouvoir antioxydant important comparé au témoin positif considéré.

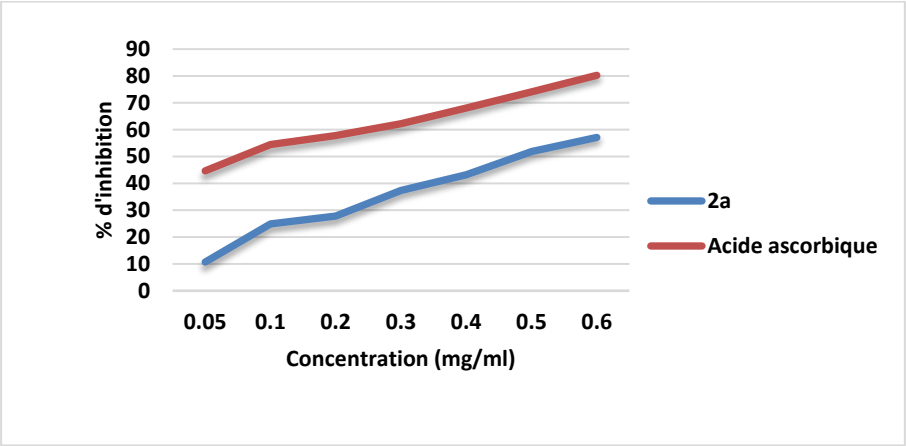


Figure 35 : **Activité antioxydante de l'extrait 2a comparée à celle de l'acide ascorbique.**

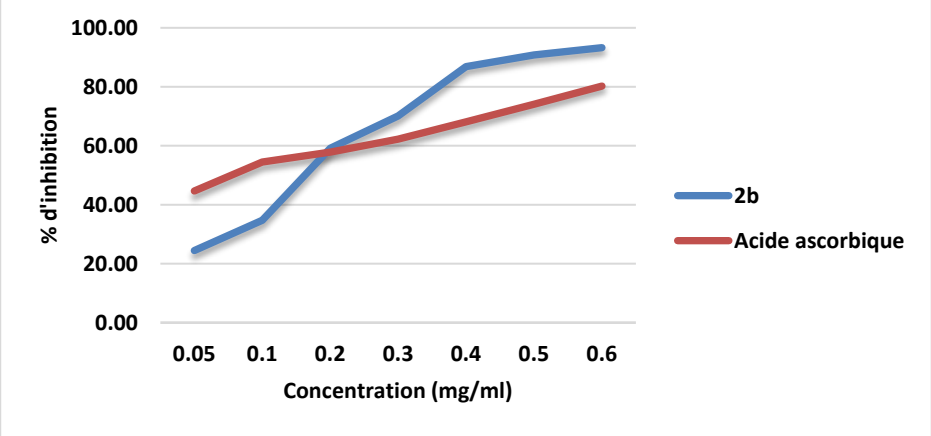


Figure 36 : **Activité antioxydante de l'extrait 2b comparée à celle de l'acide ascorbique.**

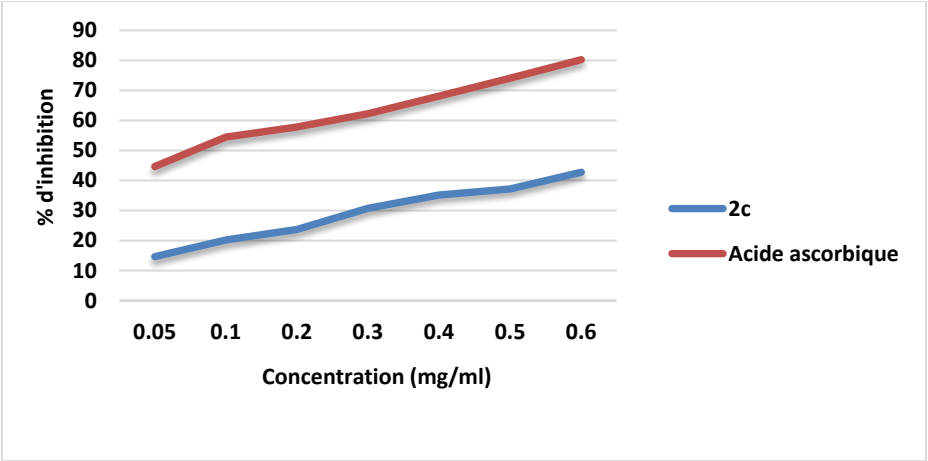


Figure 37 : **Activité antioxydante de l'extrait 2c comparée à celle de l'acide ascorbique.**

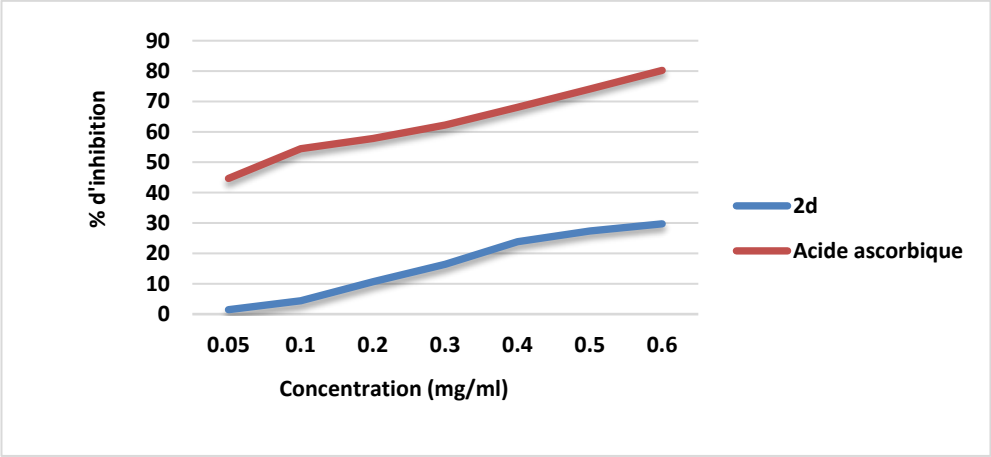


Figure 38 : **Activité antioxydante de l'extrait 2d comparée à celle de l'acide ascorbique.**

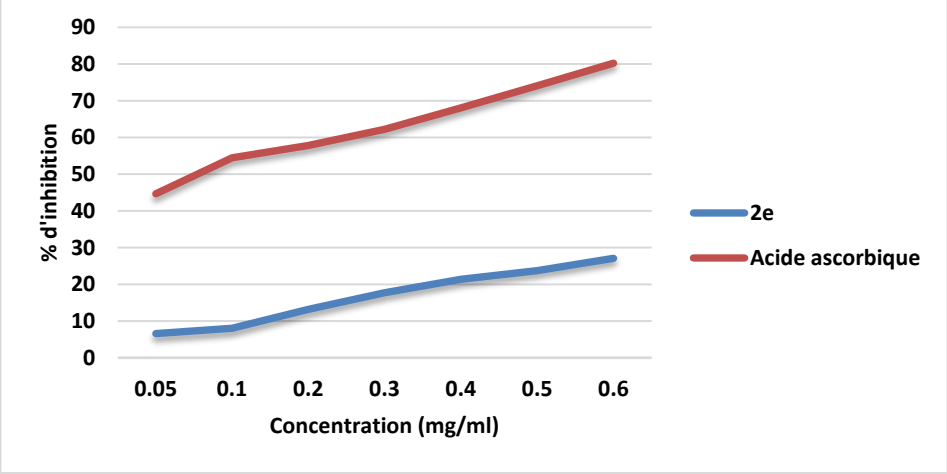


Figure 39 : **Activité antioxydante de l'extrait 2e comparée à celle de l'acide ascorbique.**

VI.3. Pouvoir réducteur (FRAP)

Les ions métalliques sont nécessaires pour le fonctionnement des processus biochimiques et physiologiques cellulaires, mais dans certains cas et lorsque leur mécanisme d'action n'est pas bien contrôlé, ces mêmes ions peuvent être à l'origine d'une peroxydation lipidique, un stress oxydatif ou une blessure des tissus [61].Pour la méthode FRAP, la révélation du pouvoir réducteur est basée sur le virage de la couleur jaune du ferrocyanure de potassium vers une couleur bleue verdâtre dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de chaque échantillon. Ce dernier dépend essentiellement de la quantité de réducteur présent dans le milieu testé. Ce qui se traduit par l'augmentation de l'absorbance qui est mesurée à 700nm [62].

Les résultats obtenus montrent que le pouvoir réducteur des extraits de synthèse est en fonction de leurs concentrations utilisées. On note que le pouvoir réducteur des extraits testés reste inférieur à celui de l'antioxydant de référence (acide ascorbique).

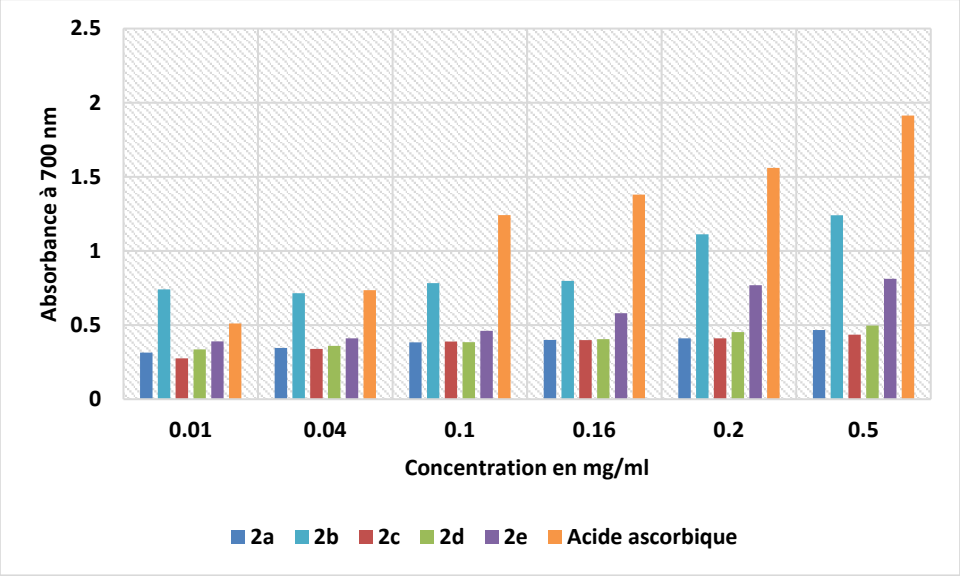


Figure 40 : **Pouvoir réducteur des extraits de synthèse comparé à celui de l'acide ascorbique.**

Les résultats sont exprimés en IC_{50}. Pour chaque extrait, l'IC_{50} est déduite de la droite d'étalonnage correspondante. Plus la valeur d'IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 17 : **Valeurs des IC_{50} (mg/ml) des extraits bruts et témoin déterminées.**

Extrait	IC_{50} (mg/ml)
2a	176,41
2b	43,66
2c	194,55
2d	155,88
2e	54,6
A. Ascorbique	18,78

Les résultats révèlent que les composés testés sont des donneurs d'électrons et qu'ils sont capables de réduire les ions Fe^{3+} de manière linéaire en fonction de la concentration. Ces résultats sont comparés entre eux, avec l'antioxydant standard (Acide ascorbique). A des concentrations allant de 0,01à 0.5mg/ml, l'extrait **2b** présente le pouvoir réducteur le plus important suivi des extraits **2e**, **2d**, **2a** et **2c** respectivement.

Il est à noter que le test DPPH effectué sur des aminoesters synthétisés par Galéhshahi et al. [17], a montré que tous les extraits testés ont exhibé une activité antioxydante importante, avec des valeurs d'IC_{50} allant de 3,9-33,6 % comparé avec l'antioxydant de référence l'hydroxytoluène butylé ou 2,6-di-*tert*-butyl-4-méthylphénol (BHT) qui présente une valeur de 1,1%. Tandis que nos produits synthétisés α,α-diaminodiesters carboxyliques ont présenté des valeurs d'IC_{50} allant de 0,19-1,18% comparé avec l'antioxydant de référence qui a présenté une valeur de 0,018% . De ce fait, les deux résultats montrent que l'activité antioxydante de cette famille de molécules malgré son importance, reste toujours moins importante que celle de l'antioxydant de référence.

Références bibliographiques

[1] J.E.M.Walker, M.J.Saraste, Runswick, N.J.Gay. Distantly relatad sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *Embo J.*, **1982** ,1 (8) : 945-51

[2] E. Gauche, C. Hausswirth, Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice. *Science & Motricité.*, **2006,** 58 : 43-66.

[3] B. Aurousseau, Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim.*, **2002**, 15 (1): 67-82.

[4] M. Valko, CJ. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, M. Mazur., Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *ChemBiol Interact.*, **2006,** 160, 1–40.

[5] B. Halliwel., Free radicals, antioxidant and human disease: curiosity, cause or consequence? *The Lancet.*, **1994,** 344 (8924): 721-724.

[6] S. Virot, Les petites protéines de stress et leur rôle dans la mort cellulaire. Etude de leur fonction chaperon à travers l'exemple de la mutation R120G de l'αβ-cristalline. *Thèse de doctorat*, *Université Claude Bernard-Lyon 1*., **2004.**

[7] J. Defraigne, C.Pincemail., Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *RevMed Liège*., **2008,** 63, 10-19.

[8] U.Singh, S.Devaraj, I.Jialal., Vitamin E, Oxidative Stress, and Inflammation.*Annual Review of Nutrition.,***2005**, 25, 151-175.

[9] C.Y.Li, R.M. Jackson, Reactive species mechanisms of cellular hypoxiareoxygenationinjury. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.*, **2002,** 282: C227–C241.

[10] M.Valko, M. Izakovic, M. Mazur, C.J.Rhodes, J.Telser, Role of Oxygen Radicals in DNA Damage and Cancer Incidence. *Mol. Cell. Biochem.,* **2004** 266: 37–56.

[11] I. Rahman, Oxidative stress and Gene Transcription in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Antioxidant therapeutic target. *Curr Drug TargetsInflammAllergy.,* **2002**, 1(3) : 291-315.

[12] H. Milane, La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. T*hèse de doctorat enSciences Domaine : Pharmacochimie, Université Louis Pasteur Strasbourg I.,* **2004.**

[13] P. Van Antwerpen, Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myeloperoxydase / peroxyde d'hydrogène /chlorure. *Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques*, Académie universitaire Wallonie-Bruxelles., **2006.**

[14] B.Kalpakcioglu, K.Senel., The interrelation of glutathione reductase, catalase,glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and glucose-6-phosphate in thepathogenesis of rheumatoid arthritis. *ClinRheumatol*., **2008**, 27, 141 -145.

[15] M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, MT. Cronin, M. Mazur, J.Telser., Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J BiochemCellBiol.*, **2007,** 39(1), 44-84.

[16] L. Mrkus, J. Batinić, N.Bjelis, R. Jakas, *AminoAcids.,***2018**, 51, 319-329.

[17] H. GolshadiGhalehshahi, S.Balalaie, A. Aliahmadi, R. Moghimi, *AminoAcids.,* **2018,** 50, 1461-1470.

[18] B .Jacques, R. André,*Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris*.,**2004** 217-219-220-223-225.

[19] M. Martinez-Cayuela., Oxygen free radicals and human disease. *Biochem*., **1995** 77: 147-161.

[20] J.M. Gutteridge., Free radicals in disease processes: a complication of cause andconsequence. *Free Radic. Res. Commun*., **1993,** 19: 141-158.

[21] A. Favier., Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*., **2003,** 17: 501-512.

[22]. A. Favier, Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *l'actualité chimique*., **2003**, 108-115.

[23]. A. Favier., Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*., **2003,**108-115.

[24] B. Boyd, C. Ford, M.C. Koepke, K. Gary,E. Horn, S. McAnalley,B. McAnalley., 2003.Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé.*Glycoscience& Nutrition*.,**2005,** 4 (6):7.

[25] D.Huang, B.Ou, R.L. Prior., The chemistry behind antioxidant capacity assays.*JofAgr Food chem.,* **2005,** 53:1841-1856.

[26] M .Valko, D.Leibfritz, J. Moncol, MT.Cronin, M.Mazur, J.Telser., Free radicals andantioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.*, **2007,** 39(1), 44-84.

[27] K. Shimizu, M. A.Hitt, D. Vaidyanath, V. Pisano, Theoretical foundations of cross-border mergers and acquisitions: A review of current research and recommendations for the future. *Journal of International Management.*, **2004,** *10*(3), 307-353.

[28] S. E. Atawodi, Antioxidant potential of African plants.*African J. of Biotec*., **2005,** 4 (2): 128-133.

[29] S.R.Georgetti, R.Casagrande, V. M.Di Mambro, A. Ana, ECS. Fonseca J.V. Maria., Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by thechemiluminescencemedhod. *AAPS PharmSci.*, **2003,** 5 (2):5p.

[30] B.Halliwell, J. M. C. Gutteridge, Role of free radicals and catalytic metal ions inhuman disease: an overview. *Methods Enzymol.*, **1990,** 186: 1-85.

[31] F. Marc, A. Davin, L. Deglène-Benbrahim, C. Ferrand, M. Baccaunaud, P. Fritsch.,Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. M/S : *médecine sciences.,* **2004**,20 (4): 458-463.

[32] S. Virot, *Thèse de doctorat*, Université Claude Bernard-Lyon 1. **2004.**

[33] A.Mika, F. Minibayeva, R.Beckett, S. Luthje., Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews*., **2004**;3:173–193.

[34] B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge, Role of free radicals and catalytic metal ions inhuman disease: an overview. *Methods Enzymol.*, **1990,** 186: 1-85.

[35] C. X.Zhang, H.Wu, X. C.Weng., Two novel synthetic antioxidant for deep frying oils. *Food Chemistry*., **2004**, 84, 219.

[36] U.Singh, S.Devaraj, I.Jialal., VITAMIN E, Oxidative Stress, and Inflammation. *Annual Review of Nutrition.,* **2005,** 25, 151-175.

[37] J. Bruneton, Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales, *TEC&DOC Lavoisier, 4ème édition, Paris***., 2009**, pp. 307-308, 559-561, 937-938.

[38] K.Ghedira, Flavonoids: structure, biological activities, prophylactic function and therapeutic uses. *Phytothérapie.,* **2005,** 3(4), 162-169.

[39] L. Bravo., Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance, Nutrition Reviews., 1998, 56, 11, 317–333.

[40] R .Martin , R. sitohaina., Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium.,2002, 51, 6, 304-315.

[41] A.Scalbert, C.Manach, C.Morand, C.Remesy, L.Jimenez, Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *CritRev Food SciNutr.***, 2005,** 45, 287–306.

[42] J.Bruneton, Pharmacognosie, Phytochimie – *Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris.***, 1999,** pp: 227-310-312-313-314.494.

[43] G. Di Carlo, N. Mascolo, A. Angelo lzzo, F. Capasso.,*Life Sci.,***1999**, 65 (4): 337-353.

[44] B.Fuhrman,A.Lavy, M.Aviram.,*Am. J.Clin. Nutr.*, **1995**,61:549-554.

[45] B. Halliwell, Free radicals and antioxidants.*Nutr.Rev.,* **1994,** 52:253-265.

[46] N. Cotelle., Role of flavonoids in oxidative stress.*Curr.Top. Med. Chem.,* **2001**, 1:569-590.

[47] S.V.Jovanovic, S.Steenken, M.Tosic, B. Marjanovic, M.G. Simic Flavonoidsasantioxidants.*J. Am. Chem. Soc.,* **1994,** 116: 4846-4851.

[48] J.E.Brown, H.Khodr, R.C.Hider, C. Rice-Evans.*Biochem.J.*,**1998,** 330: 1173-1178.

[49] R. Manzali, N. Saidi, A. Douaik, N. Aoussar, M. Benchekroun et M. Bouksaim, Total phenolics, flavonoids, carotenoids in Moroccan oat lines and cultivars and their relations to antioxidant capacity, *IJAR*. **Article soumis**.

[50] P.Molyneux,J. Songklanakarin,*Sci.Technol*., **2004**,26 (2): 212.

[51] A.Prakash, *Medallion Laboratories analytical progress*., **2001**,19, 2: 2.

[52] W. Brand-Williams, M.E.Cuvelier, C. Berset, *Lebensm.Wiss. Technol*., **1995,** 28: 25-30.

[53] D.Huang, B. Ouand, R.L.Prior. The chemistry behind antioxidant capacity assays.*Jofagr Food chem.***, 2005**.53:1841-1856.

[54] F.Sharififar, M.H.Moshafi, S.H.Mansouri, M. C.Khodashenas, M.Khoshnoodi, *Food Control.,*2007,18, 7, 800-805.

[55] N.Canillac, A.Mourey,Food Microbiology., **2001,** 18, 3, 261-268.

[56] I.F.F.Benzie, J.J.Strain, *AnalyticalBiochemistry.*, **1996**, 239 (1): 70-76.

[57] A.B.Djahra, Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubiumvulgare*L. *Thèse doctorat. Université Badji Mokhtar – Annaba.,* **2014,** p.114.

[58] C. Sanchez-Moreno, Methods used to evaluate the free radical scavenging activity infoods and biological systems. *Int. J. of FoodsSci.,* **2002,** *Tech*. 8: 121-137.

[59] J.Wan, A.Wilcock, M.J.Coventry., The effect of essential oils of basil on thegrowth of *Aeromonashydrophila*and*Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Microbiol.,* **1998,** 84:152–158.

[60] N.Canillacand,A. Mourey., Antibacterial activity of the essential oil of *Piceaexcels*on*Listeria, Staphylococcus aureus* and *coliform* bacteria. *Food Microbiol.,***2001,** 18: 261–268.

[61] A.K. Tiwari, Imbalance in antioxidant defence and human diseases: Multiple approach of natural antioxidants therapy. *Current science*.,**2001,** 81, pp. 1179-1187.

[62] J.Yang, J.Guo,J. Yuan,*In vitro antioxidant properties of rutin. LWT*.,**2008,** 41, pp.**,** 1060–1066.

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'objectif principal de notre travail de recherche était d'apporter une contribution dans la recherche de nouvelles molécules, pouvant présenter des propriétés antibactériennes et antioxydante importantes. Ainsi, nous avons pusynthétiser de nouveaux α,α-diamino-diesters carboxyliques, en utilisant l'α-azido-glycinate de méthyle comme matière première dans la réaction de N-alkylation. Les propriétés biologiques et antioxydantes des dérivés synthétisés ont été évaluées pour leurs activités antibactérienne et antioxydante au sein de l'unité de biotechnologie alimentaire à l'Institut National de Recherche Agronomique (INRA). Une étude structurale a été établie également sur deux monocristaux, issus de la synthèse.

Ainsi, pour situer notre thème dans le contexte actuel de la recherche, nous avons présenté dans un premier chapitre de cette thèse, une revue bibliographique sous forme d'une mise au point impliquant les différentes voies de synthèse des aminoacides et de leurs dérivés diaminoesters et diaminodiesters carboxyliquesainsi qu'un étalement sur leurs réactivités.

Le deuxième chapitre a été consacré à la description de nos propres travaux relatifs à la préparation de nouveaux dérivés α,α-diaminodiesters carboxyliques par réaction de substitution nucléophile entre le 2-azido-2-benzamidoacétate de méthyle et différents aminoesters hétérocycliques ou non hétérocycliques. Tous les produits obtenus ont été caractérisés par les méthodes spectroscopiques (RMN-1H et RMN-13C, MS-ESI). Deux composés de cette série ont été isolés sous forme de monocristaux dont les structures chimiques ont été confirmées également par diffraction aux rayons X.

Dans le troisième chapitre, nous avons présenté un bref aperçu sur les bactéries, les antibiotiques et les techniques de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques. Une évaluation de l'activité antibactérienne des dérivés α,α-diaminodiesters carboxyliques a été rapportée. Les produits testés ont montré ainsi un pouvoir antibactérien assez intéressant vis-à-vis des souches bactériennes à gram positif et à gram négatif, dans la mesure ou l'un des dérivés, le ***2-benzamido-2-((2-méthoxy-2-oxo-1-phénylethyl)amino acétate de méthyle,*** issu de la réaction de « coulage » entre l'α-azidoglycinate de méthyle et de l'ester méthylique de la phénylglycine, a présenté la plus petite valeur de CMI 1,25 mg /ml et la plus grande valeur de ZI (10 mm) contre la bactérie à gram négatif *Escherichia coli*.

Quant au dernier chapitre de cette thèse, consacré à l'étude de l'activité antioxydante des dérivés α,α-diaminodiesters carboxyliques, les deux méthodes DPPH et FRAP, nous ont assisté dans notre cas de figure, à constater que le même composé ***2-benzamido-2-((2-methoxy-2-oxo-***

1-phényléthyl)amino)acétate de méthyle) présente le pouvoir antioxydant le plus important. Il a montré également un potentiel donneur d'électrons et un pouvoir de piégeage du radical libre DPPH$^{\bullet}$ très fort, lui valant un pouvoir réducteur significatif et la caractéristique d'un antiradicalaire puissant. Tandis que les autres composés ont montré une activité antioxydante modeste.

En perspective de ce travail, nous envisageons d'une part, de généraliser les méthodes de synthèse adoptées à une large gamme d'aminoacides et d'autre part, nous comptons soumettre nos produits synthétisés à d'autres types d'activités biologiques.

ANNEXE

molbank

MDPI

Short Note

Methyl *N*-[1-(Benzoylamino)-2-methoxy-2-oxoethyl]-tryptophanate

Oumaima Karai [1], Maha El Hamdani [2], Hassane Faraj [1], Anouar Alami [1,*], Mohammed Rachid Kabbour [2], Abdelilah El Hallaoui [1], Mohammed Bouksaim [2] and Younas Aouine [1]

[1] Organic Chemistry Laboratory (LCO), Faculty of Sciences Dhar El Mahraz–Sidi Mohammed Ben Abdellah University, Fez 30000, Morocco; oumaima.karai@gmail.com (O.K.); hassanefaraj@yahoo.fr (H.F.); elhallaoui.a@gmail.com (A.E.H.); anawr12000@yahoo.fr (Y.A.)

[2] Regional Center for Agronomic Research of Rabat, INRA-Rabat, Rabat 10000, Morocco; elha.maha@yahoo.fr (M.E.H.); kabbour_mohammedrachid@yahoo.fr (M.R.K.); mbouksaim@hotmail.com (M.B.)

* Correspondence: alamianouar@yahoo.fr; Tel.: +212-61-79-64-80

Received: 17 August 2017; Accepted: 12 September 2017; Published: 22 September 2017

Abstract: The title compound, methyl *N*-[1-(benzoylamino)-2-methoxy-2-oxoethyl]tryptophanate **2**, was synthesized in high yield, via *N*-alkylation reaction of methyl 2-azido-2-benzamidoacetate with methyl 2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate in acetone, with the presence of diisopropylethylamine as a base. The structure of the prepared compound was characterized by ^{1}H, ^{13}C NMR in addition to MS, X-Ray diffraction data, and elemental analysis. This compound was tested in vitro for its antibacterial activity against Gram-positive bacteria, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*, and Gram-negative bacteria, *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa,* and *Salmonella enteric*. The MIC values showed that the synthesized compound had a bactericidal effect against the strains tested.

Keywords: antibacterial activity; carboxylic amino esters; *N*-alkylation

1. Introduction

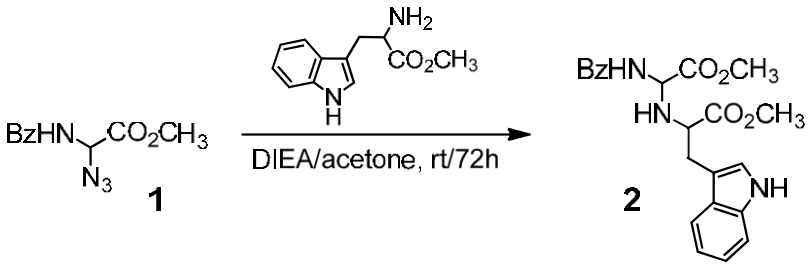
Heterocyclic α-amino acids play a predominant role in medicinal chemistry because of the large activity spectrum they present. The rapid assembly of molecular diversity is an important goal of synthetic organic chemistry and is one of the key paradigms of modern drug discovery. The synthesis of new α-carboxylic amino esters containing heterocyclic systems occupies an important place in the realm of synthetic organic chemistry [1–3] and they are the fundamental units of life because oftheir wide utility of such compounds as components of proteins, peptides, and as starting materials for the synthesis of naturally occurring biologically active compounds [4–6].

Recently, heterocyclic α-amino acids have shown biological properties including antibacterial activity [7]. In view of these observations and in continuation of our previous work in heterocyclic chemistry, we synthesized the methyl *N*-[1-(benzoylamino)-2 -methoxy-2-oxoethyl]tryptophanate **2** through *N*-alkylation between methyl 2-azido-2-benzamidoacetate and methyl 2-amino- 3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate [8,9]. Compound **2** was obtained with good yield (86% yield) and characterized by spectroscopic techniques, such as 1D and 2D NMR spectroscopy, mass spectrometry (MS), X-ray crystallography, MS data, and elemental analysis.

2. Results

2.1. Chemistry

The starting methyl 2-azido-2-benzamidoacetate **1** was prepared from glycine derivative by reaction with sodium azide in room temperature using acetone as solvent. This intermediate azide compound **1** was obtained pure with a good yield (92% yield), as a white solid after chromatography on silica gel column (ether/hexane: 1/4). After that, the compound **1** was substituted by 2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate via *N*-alkylation reaction in the presence of diisopropylethylamine as base in acetone at room temperature (Scheme1).



Scheme 1. Synthesis strategy of compound **2**.

A single crystal of the title compound was obtained by recrystallization from Acetone and its structure was established on the basis of NMR spectroscopy (^{1}H, ^{13}C) (Figures1and2), MS data and elemental analysis, and X-ray crystallography (Figure3). The definite assignment the chemical shifts of protons and carbons are shown in Table1.

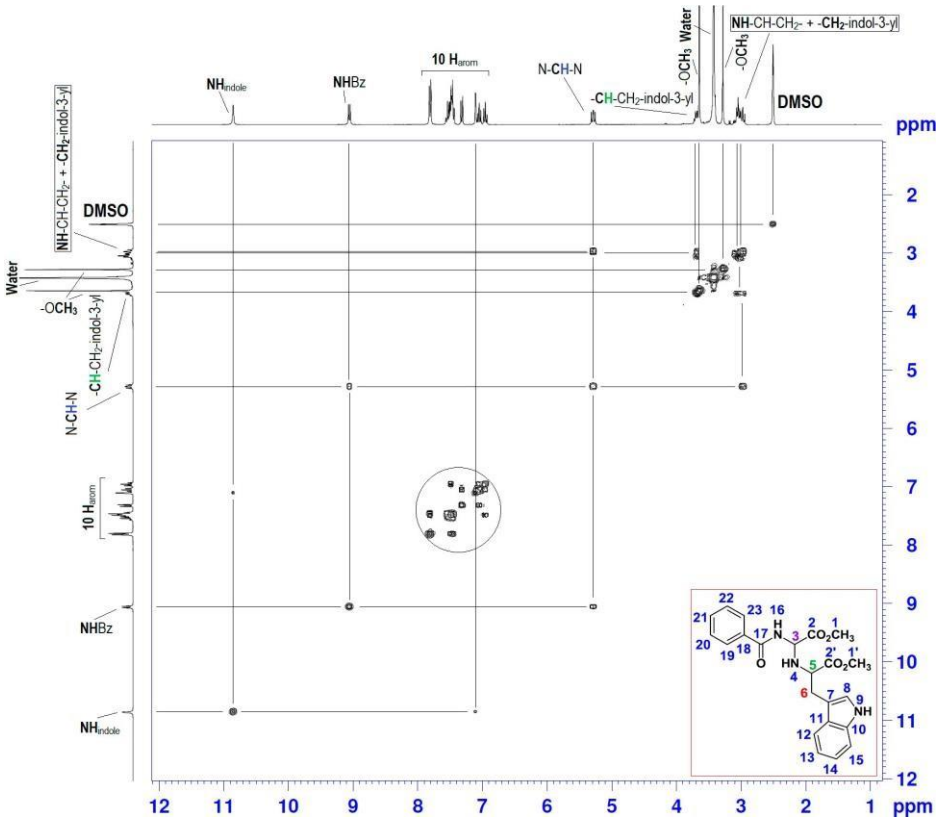


Figure 1. Homonuclear ^{1}H-^{1}H 2D spectrum of compound **2**.

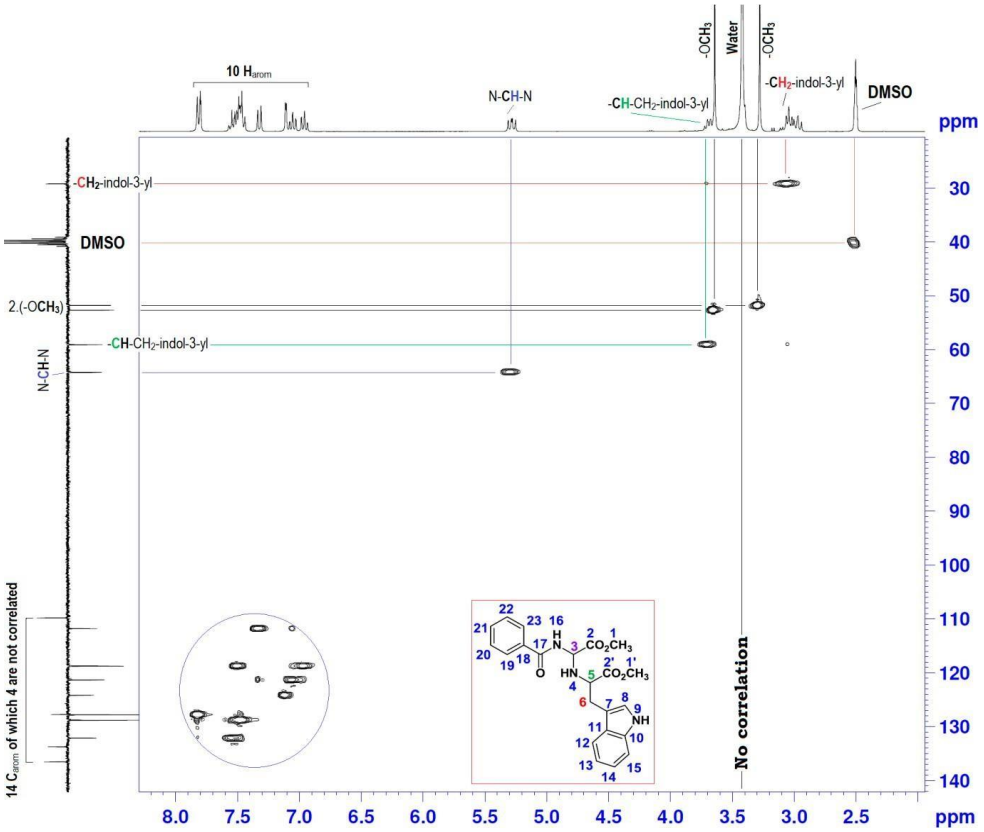


Figure 2. Heteronuclear ^{1}H-^{13}C 2D spectrum of compound **2**.

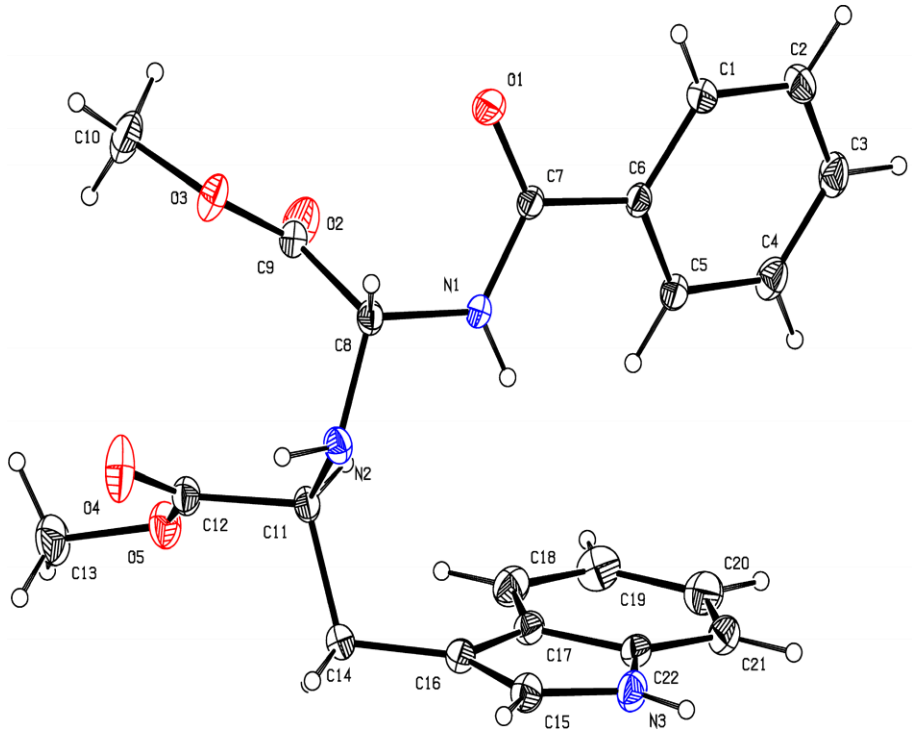


Figure 3. ORTEP view of compound **2** showing the atom-numbering scheme.

Table 1. ^{1}H (300.13 MHz) and ^{13}C (75.47 MHz) NMR spectral data for compound **2** in DMSO-d_6, including results obtained by homonuclear 2D shift-correlated and heteronuclear 2D shift-correlated HMBC. Chemical shifts (**δ** in ppm) and coupling constants (*J* in Hz).

Position	δ_H	δ_C	Correlation H-H	Correlation C-H
1	3.28 (s)	51.78	$3H^{1}$-$3H^{1}$	C^{1}-$3H^{1}$
2	-	166.61	-	-
1^{J}	3.64 (s)	52.61	$3H^{1^J}$-$3H^{1^J}$	C^{1}-$3H^{1^J}$
2^{J}	-	174.89	-	-
3	5.25–5.31 (dd, J_1 = 10.17; J_2 = 7.73)	64.18	$1H^{3}$-$1H^{3}$; $1H^{3}$-$1H^{4}$; $1H^{3}$-$1H^{16}$	C^{3}-$1H^{3}$
4	2.94–3.02 (m)	-	$1H^{4}$-$1H^{4}$; $1H^{4}$-$1H^{3}$; $1H^{4}$-$1H^{5}$	-
5	3.67–3.72 (t, *J* = 6.90)	59.06	$1H^{5}$-$1H^{5}$; $1H^{5}$-$1H^{4}$; $1H^{5}$-$2H^{6}$	-
6	2.94–3.02 (m)	29.18	$2H^{6}$-$2H^{6}$; $2H^{6}$-$1H^{5}$	C^{6}-$2H^{6}$
9	10.9 (s)	-	$1H^{9}$-$1H^{9}$; $1H^{9}$-$1H^{8}$	-
16	9.1 (s)	-	$1H^{16}$-$1H^{16}$; $1H^{16}$-$1H^{3}$	-
17	-	170.38	-	-
7, 8; 10–15 and 18–23	6.93–7.82 (m)	109.80–136.48	$10H^{ar}$-$10H^{ar}$; $1H^{8}$-$1H^{9}$	$10C^{ar}$-$10C^{ar}$

2.2. Biological Activity

2.2.1. Disc Diffusion Method

The synthesized product exhibited varying antibacterial activity as is shown by the inhibition zones (IZ) in Figure4. The results from the disc diffusion assay indicated that the tested compound showed higher antibacterial activity against Gram-positive bacteria (IZ 08-09) than against Gram-negative bacteria (IZ 07-10).

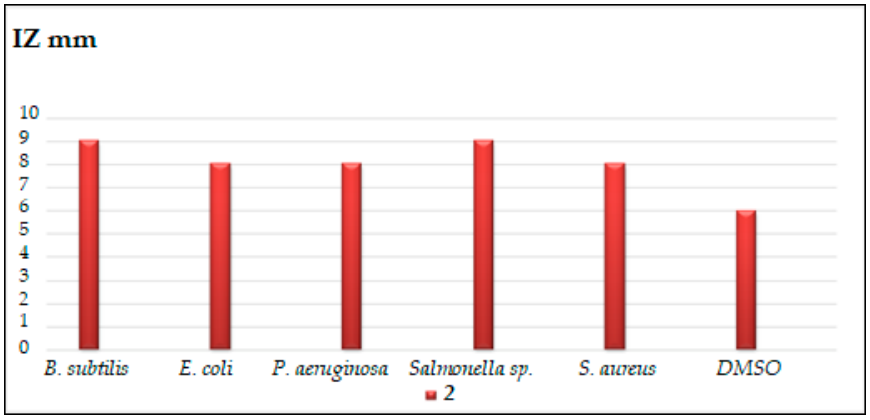


Figure 4. Antibacterial activity (inhibition zone (IZ) measured in mm) of compound **2** against pathogenic bacteria.

2.2.2. Resazurin Microtiter Plate Assay

In the present study, we used the modified resazurin microtiter plate assay to evaluate the antimicrobial activity of synthesized products. This method provided reproducible and accurate results and allowed direct comparison of the antibacterial activity of the tested compound.

The average of MIC of this compound varied between 2.5–5 mg/mL against the strains tested. As is shown in Table2, the compound **2** showed similar MIC value of 2.5 mg/mL against Gram-negative bacteria *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Salmonella enteric*, the same value against Gram-positive bacteria *Bacillus subtilis* except *Staphylococcus aureus* which present a MIC of 5 mg/mL.

Table 2. Antibacterial activity minimum inhibitory concentration (MIC) in mg/mL of compound **2** against pathogenic bacteria presented.

	Compound 2	**Chloramphenicol**
E. Coli CIP 53126	2.5	0.05
S. aureus CIP 483	5	0.095
S. enterica CIP 8039	2.5	0.05
B. subtilus CIP 5262	2.5	0.095
P. aeruginosa CIP 82118	2.5	0.05

3. Materials and Methods

3.1. Chemistry

All solvents were purified following the standard techniques and commercial reagents were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Melting point was determined with an Electrothermal melting point apparatus and was uncorrected. NMR spectra (^{1}H and ^{13}C) were recorded on a Bruker AM 300 spectrometer (operating at 300.13 MHz for 1H, at 75.47 MHz for ^{13}C) (Bruker Analytische Messtechnik GmbH, Rheinstetten, Germany). NMR data are listed in ppm and are reported relative to tetra-methylsilane (^{1}H, ^{13}C); residual solvent peaks being used as internal standard. All reactions were followed by TLC. TLC analyses were carried out on 0.25 mm thick precoated silica gel plates (Merck Fertigplatten Kieselgel 60F_{254}) and spots were visualized under UV light or by exposure to vaporized iodine. Mass spectra were recorded on a PolarisQ Ion Trap GC/MSn Mass Spectrometer (CNRST-Rabat). Ortep of compound **2** was obtained on a Bruker APEXII CCD detector diffractometer (CNRST-Rabat).

To a solution of 2.6 mmol of *N*-benzoylated methyl α-azidoglycinate **1** and 3.12 mmol of diisopropylethylamine (DIEA) in 10 mL of acetone, 2.86 mmol of 2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate was added. The reaction mixture was stirred for 72 h at room temperature. The solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was quenched with saturated aqueous solution of ammonium chloride (20 mL) and extracted with methylene chloride (3 × 20 mL). The organic layer was dried over sodium sulfate (Na_2SO_4) and the solvent was removed under reduced pressure. The product obtained was recrystallized from acetone.

N-benzoylated methyl α-azidoglycinate **1:** Yield = 92% (white solid); m.p = 80–82 °C. ^{1}H-NMR (DMSO, δ_H ppm): 3.74 (s, 3H, -OCH_3); 5.82 (d, 1H, N-CH-N_3, J = 7.80Hz); 7.49–7.91 (m, 5H, 5H_{arom}); 9.83 (d, 1H, NHBz, J = 7.80Hz). ^{13}C-NMR (DMSO, δ_C ppm): 53.41 (C, -OCH_3); 65.62 (1C, N-CH-N_3); 128.03, 129.04, 132.76 and 132.87 (6C, C_{arom}); 167.18 and 167.67 (2C, CO). MS ESI *m/z* (%) = 235.

Methyl N-[1-(benzoylamino)-2-methoxy-2-oxoethyl]tryptophanate **2:** Yield = 86% (white solid); m.p. = 174–176 °C. ^{1}H-NMR (DMSO, δ_H ppm): 2.94–3.02 (m, 3H, NH-CH-CH_2- and -CH_2-indol-3-yl); 3.28 (s, 3H, -OCH_3); 3.64 (s, 3H, -OCH_3); 3.67–3.72 (t, 1H, N-CH-CH_2-, J = 6.90 Hz); 5.25–5.31 (dd, 1H, N-CH-N, J_1 = 10.17 Hz and J_2 = 7.73 Hz); 6.93–7.82 (m, 10H, 10H_{arom}); 9.1 (s, 1H, NHBz); 10.9 (s, 1H, NH_{indole}). ^{13}C-NMR (DMSO, δ_C ppm): 29.18 (1C, -CH_2-indol-3-yl); 51.78 and 52.65 (2C, -OCH_3); 59.06 (1C, -CH-CH_2-indol-3-yl); 64.18 (1C, N-CH-N); 109.80, 111.79, 118.74, 121.33, 124.15, 127.74, 127.78, 128.78, 132.12, 133.71 and 136.48 (14C, C_{arom}); 166.61, 170.38 and 174.89 (3C, CO). Calcd. for $C_{22}H_{23}N_3O_5$ (%): C, 64.54; H, 5.66; N, 10.26; Found (%): C 64.28, H 5.71, N 10.16. MS ESI *m/z* (%) = 409.60.

3.2. Biological Activity

3.2.1. Disc Diffusion Method

The antimicrobial studies was evaluated using the agar diffusion technic in petri dishes [10], this activity was carried out against five bacterial strains: *Staphylococcus aureus* CIP 483, *Bacillus subtilis* CIP 5262, *Escherichia coli* CIP 53126, *Pseudomonas aeruginosa* CIP 82118, and *salmonella enteric* CIP 8039.

Briefly, 100 µL of suspension containing approximatively 5 × 10^5 colony-forming units (CFU)/mL of bacteria cells on Tryptic Soy Agar (TSA). The sterile filter discs (6 mm diameter) were separately impregnated with 15 µL of the synthesized product and placed on the agar which had previously been inoculated with the tested microorganism. These petri dishes were incubated overnight at 37 °C [11]. After incubation, all plates were checked for inhibition zones and the diameters were measured in millimeters, chloramphenicol antibiotics (50 mg/mL) and DMSO were used as positive and negative control respectively.

3.2.2. Resazurin Microtiter Plate Assay

For the minimum inhibitory concentration (MIC) of the synthesized product, a modified resazurin microtiter plate assay was used as reported by Sarker [12]. Briefly, a volume of 100 µL of each product solution (20 mg/mL, *v/v* in DMSO 90%), was pipetted into the first row of the 96 well plates, then to all other wells of microtiter plates, we added 100 µL of tryptic soya broth. A serial dilution was achieved by starting transferring 100 µL test material from first row to the subsequent wells in the next row of the same column and so that each well has 100 µL of test material in serially descending concentrations. Then 10 µL of bacterial suspension (10^8 CFU/mL) was added to each well. The microplates were placed in an incubator set at 37 °C for 24 h. Each plate had a set of controls: A column with an antibiotic as positive control (chloramphenicol in serial dilution (50 mg/mL)), a column with all solutions except the test material, and a column with all solutions with the exception of the bacterial suspension. Finally, the resazurin solution was prepared by dissolving 270 mg of resazurin powder in 40 mL sterile distilled water [13]. A volume of 10 µL of resazurin solution as indicator was added in each well after incubation. The microplates were placed again in an incubator at 37 °C for just 2 h. The color change was then assessed visually. Any color changes from purple to pink or colorless were recorded as positive. The lowest concentration at which color change occurred was taken as the MIC value [14].

4. Conclusions

The synthesis of methyl *N*-[1-(benzoylamino)-2-methoxy-2-oxoethyl]tryptophanate **2** was performed via *N*-alkylation reaction and characterized by ^{1}H, ^{13}C NMR, MS data, elemental analysis, and X-ray crystallography. The synthesized compound was screened for its antimicrobial activity. Antibacterial results indicated that the compound **2** had a bactericidal effect towards all bacterial strains when compared to standard drug Chloramphenicol.

Supplementary Materials: The following are available online atwww.mdpi.com/2017/3/M958, Figure S1: 13C-NMR spectrum of compound **1**, Figure S2: 1H-NMR spectrum of compound **1**, Figure S3: 13C-NMR spectrum of compound **2**, Figure S4: 1H-NMR spectrum of compound **2**, Figure S5: Mass spectrum of compound **2**.

Acknowledgments: This work was supported by Sidi Mohammed Ben Abdellah University (USMBA), Regional Center for Agronomic Research of Rabat (INRA) and National Center for Scientific and Technical Research (CNRST).

Author Contributions: O.K. performed the experiments; H.F., A.A., and A.E.H. conceived and designed the experiments; M.E.H., M.R.K., and M.B. performed the antibacterial activity experiments; Y.A. analyzed the data and wrote the paper.

Conflicts of Interest: The authors declared that they have no conflicts of interest as regards this work.

References

1. Henry, G.D. De novo synthesis of substituted pyridines. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 6043–6061. [CrossRef]
2. Bagley, M.C.; Chapaneri, K.D.; Dale, W.; Xiong, X.; Bower, J. One-pot multistep Bohlmann−Rahtz heteroannulation reactions: Synthesis of dimethyl sulfomycinamate. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1389–1399. [CrossRef] [PubMed]
3. Gilchrist, T.L. Synthesis of aromatic heterocycles. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **2001**, 2491–2515. [CrossRef]

4. Leite, A.L.; Lima, R.S.D.; Moreira, R.M.; Cardoso, M.V.; Brito, A.C.G.; Santos, L.M.F.; Hernandes, M.Z.; Kiperstok, A.C.; Limac, R.S.; Soaresc, M.B.P. Synthesis, docking, and in vitro activity of thiosemicarbazones, aminoacyl-thiosemicarbazides and acyl-thiazolidones against Trypanosoma cruzi. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3749–3757. [CrossRef] [PubMed]
5. Mikolajczyk, M.J. Acyclic and cyclic aminophosphonic acids: Asymmetric syntheses mediated by chiral sulfinyl auxiliary. *J. Organomet. Chem.* **2005**, *690*, 2488–2496. [CrossRef]
6. Joly, G.D.; Jacobsen, E.N. Thiourea-catalyzed enantioselective hydrophosphonylation of imines: Practical access to enantiomerically enriched α-amino phosphonic acids. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4102–4103. [CrossRef] [PubMed]
7. Prakasha, K.C.; Raghavendra, G.M.; Harisha, R.; Channe, G.D. Design, synthesis and antimicrobial screening of amino acids conjugated 2-amino-4-arylthiazole derivatives. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2011**, *3*, 120–125.
8. Mabrouk, E.H.; Elachqar, A.; Alami, A.; El Hallaoui, A. Synthesis of new racemic α,α-diaminocarboxylic ester derivatives. *Molecules* **2010**, *13*, 9354–9363. [CrossRef]
9. Boukallaba, K.; Elachqar, A.; El Hallaoui, A.; Alami, A.; El Hajji, S.; Labriti, B.; Martinez, J.; Rolland, V. Synthesis of new α-heterocyclic α-aminophosphonates. *Phosphorus Sulfur Silicon* **2006**, *181*, 819–823. [CrossRef]
10. Kelen, M.; Tepe, B. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three Salvia species from Turkish flora. *Bioresour. Technol.* **2008**, *99*, 4096–4104. [CrossRef] [PubMed]
11. Luís, Â.; Cruz, C.; Duarte, A.P.; Domingues, F. An alkenylresorcinol derivative from *Hakea sericea* Fruits and their antimicrobial activity. *Nat. Prod. Commun.* **2013**, *8*, 1459–1462. [PubMed]
12. Sarker, S.; Nahar, L.; Kumarasamy, Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods* **2007**, *42*, 321–324. [CrossRef] [PubMed]
13. McNicholl, B.P.; McGrath, J.W.; Quinn, J.P. Development and application of a resazurin-based biomass activity test for activated sludge plant management. *Water Res.* **2007**, *41*, 127–133. [CrossRef] [PubMed]
14. Ponce, A.G.; Fritz, R.; Del Valle, C.; Roura, S.I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Soc. Food Sci. Technol.* **2003**, *36*, 679–684. [CrossRef]



© 2017 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

IUCrData

ISSN 2414-3146

Methyl (2*R*)-2-benzamido-2-{[(1*R*)-2-methoxy-2-oxo-1-phenylethyl]amino}acetate

Oumaima Karai,[a] Younas Aouine,[b] Hassane Faraj,[b] Anouar Alami,[b]* Abdelilah El Hallaoui[b] and Hafid Zouihri[c]

[a]Formation Doctorale Molécules Bioactives, Santé et Biotechnologies, Centre détudes Doctorales Sciences et Technologies, LCO, Faculté des Sciences Dhar El Marhaz, Fès, Morocco, [b]Laboratoire de Chimie Organique, Faculté des Sciences Dhar el Mahraz, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès, Morocco, and [c]Laboratoire de Chimie des Matériaux et Biotechnologie des Produits Naturels, E.Ma.Me.P.S., Université Moulay Ismail, Faculté des Sciences, Meknès, Morocco. *Correspondence e-mail: anouar.alami@usmba.ac.ma

Received 27 July 2017
Accepted 4 August 2017

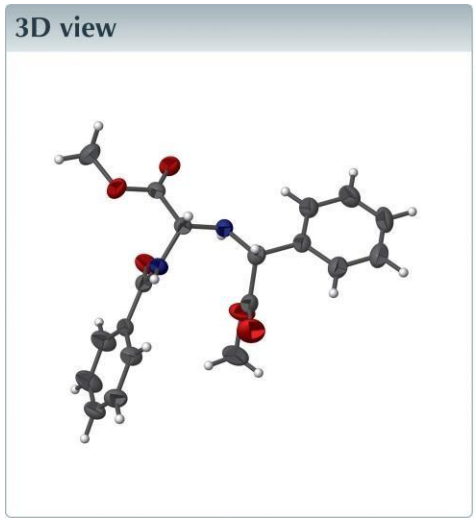
Edited by J. Simpson, University of Otago, New Zealand

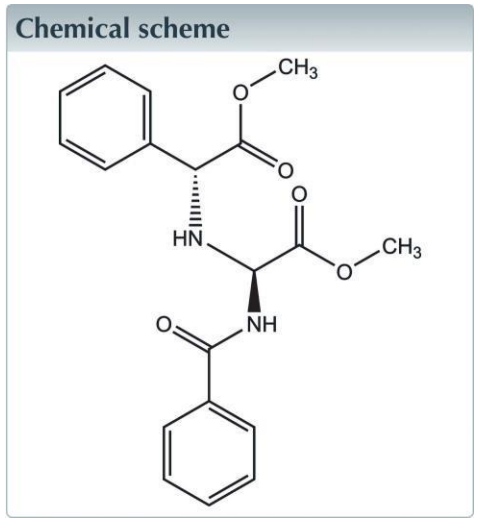
Keywords: crystal structure; α-aminoacetates; hydrogen bonds; one-dimensional chains.

CCDC reference: 1566970

Structural data: full structural data are available from iucrdata.iucr.org

In the title compound, $C_{19}H_{20}N_2O_5$, the dihedral angle between the phenyl rings is 58.85 (8)°, while that between the planes of the methyl acetate groups is 88.30 (8)°. The molecular conformation is also influenced by the presence of an intramolecular N—H· ·O hydrogen bond. In the crystal, N—H· O hydrogen bonds link the molecu·les, forming chains propagating along the *a*-axis direction.





Structure description

The synthesis of new α-AAs (α-aminoacetates) and their esters is of international interest because of their extensive applications in enzymology, medicine, pharmacology and industry (Leite *et al.*, 2006; Mikołajczyk, 2005; Joly *et al.*, 2004). Our strategy used nucleophilic substitution of the *N*-protected methyl α-azido glycinate with 2-amino-2-phenylacetate in methylene chloride, in the presence of triethylamine as a base (Boukallaba *et al.*, 2006) to produce the title compound in good yield.

In the title molecule (Fig. 1), the dihedral angles between the phenyl rings and those between the planes of the methyl acetate groups are 58.85 (8) and 88.30 (8)° respectively. The twisted conformation of the molecule is also influenced by the presence of an intramolecular N—H·· ·O hydrogen bond (Table 1). In the crystal, N—H·· O and C—
H·O hydrogen bonds·(Table 1, Fig. 2) link the molecules into chains propagating along th·e *a*-axis direction.

OPEN ACCESS

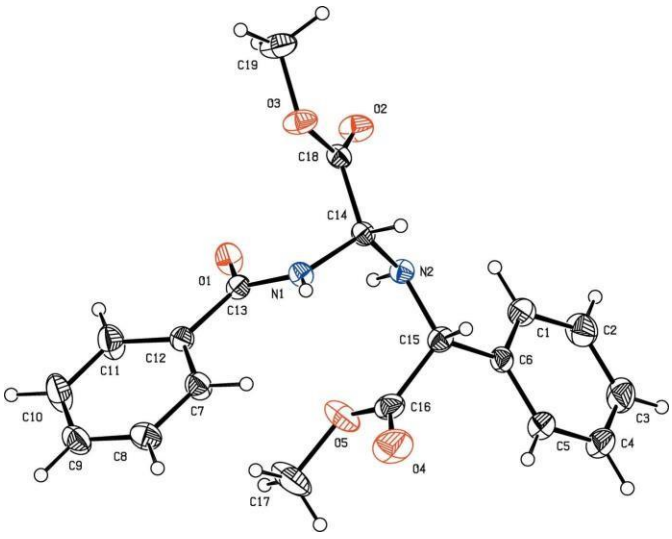


Figure 1
The structure of the title compound, showing the atom-labeling scheme. Displacement ellipsoids are drawn at the 50% probability level. H atoms are represented as small spheres with arbitrary radii.

Synthesis and crystallization

To a stirred solution of methyl 2-amino-2-phenylacetate (2 mmol) and triethylamine (4 mmol) in 10 ml of dry methylene chloride, *N*-benzoylated methyl α-azidoglycinate (2.6 mmol) was added. The mixture was stirred at 0°C for 1 h then at room temperature for 16 h. The resulting solution was washed with citric acid (15%), then with a saturated solution of sodium bicarbonate ($NaHCO_3$). Solvents were removed and colourless single crystals of the title compound were obtained by recrystallization from ether (yield = 86%; m.p = 126–128°C.).

^{1}H NMR (300.13 MHz; $CDCl_3$, δ_H p.p.m.): 3.3 (*e*, 1H, NH–CH–Ph); 3.51 (*s*, 3H, –OCH_3); 3.78 (*s*, 3H, –OCH_3); 4.65 (*s*, 1H, NH–CH–Ph); 5.52 (*d*, 1H, N–CH–N, *J* = 8.4 Hz); 6.75 (*d*, 1H, NHBz, *J* = 8.4 Hz); 7.28–7.82 (*m*, 10H_{arom}).

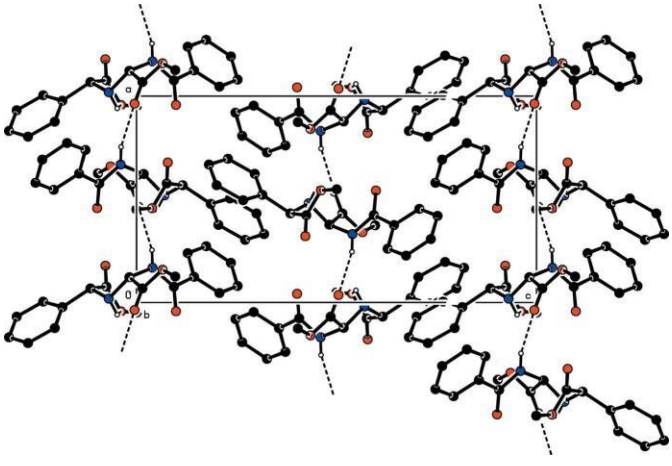


Figure 2
A view of the crystal packing of along the *b* axis. Hydrogen bonds are drawn as dashed lines.

Table 1
Hydrogen-bond geometry (Å, °).

D—H···*A*	*D*—H	H···*A*	*D*···*A*	*D*—H···*A*
N1—H1*N*···O2^{i}	0.85 (1)	2.09 (1)	2.9147 (15)	162 (1)
N2—H2*N*···O5	0.85 (1)	2.52 (1)	2.8334 (15)	103 (1)

Symmetry code: (i) $x-\frac{1}{2}, -y+\frac{1}{2}, -z+2$.

Table 2
Experimental details.

Crystal data	
Chemical formula	$C_{19}H_{20}N_2O_5$
M_r	356.37
Crystal system, space group	Orthorhombic, $P2_12_12_1$
Temperature (K)	173
a, *b*, *c* (Å)	9.3432 (6), 10.4314 (8), 18.0901 (14)
V (Å^3)	1763.1 (2)
Z	4
Radiation type	Mo *K*α
μ (mm^{-1})	0.10
Crystal size (mm)	0.35 ~ 0.16 ~ 0.14
Data collection	
Diffractometer	Bruker APEXII CCD
Absorption correction	Multi-scan (*SADABS*; Bruker, 2005)
T_{min}, T_{max}	0.967, 0.986
No. of measured, independent and observed [$I > 2\sigma(I)$] reflections	28362, 3455, 3246
R_{int}	0.029
$(\sin\theta/\lambda)_{max}$ (Å^{-1})	0.617
Refinement	
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$, $wR(F^2)$, *S*	0.027, 0.065, 1.04
No. of reflections	3455
No. of parameters	246
No. of restraints	2
H-atom treatment	H atoms treated by a mixture of independent and constrained refinement
$\Delta\rho_{max}$, $\Delta\rho_{min}$ (e Å^{-3})	0.14, −0.13
Absolute structure	Flack (1983), 1822 Friedel pairs
Absolute structure parameter	−0.3 (8)

Computer programs: *APEX2* and *SAINT* (Bruker, 2005), *SHELXS97* (Sheldrick, 2008), *SHELXL2014* (Sheldrick, 2015), *PLATON* (Spek, 2009) and *publCIF* (Westrip, 2010).

^{13}C NMR (75.47 MHz; $CDCl_3$, δ_C p.p.m.): 52.44 (1C, OCH_3); 52.88 (1C, OCH_3); 61.97 (1C, NH–CH—Ph); 63.62 (1C, N–CH—N); 127.13–137.48 (10C, C_{arom}); 167.14, 170.14 and 173.63 (3C, CO).

Elemental Analysis: Calculated for $C_{19}H_{20}N_2O_5$ (%): C, 64.04; H, 5.66; N, 7.86; Found (%): C 63.84, H 5.67, N 7.89. MS ESI *m*/*z* (%) = 356.49.

Refinement

Crystal data, data collection and structure refinement details are summarized in Table 2.

References

Boukallaba, K., Elachqar, A., El Hallaoui, A., Alami, A., El Hajji, S., Labriti, B., Martinez, J. & Rolland, V. (2006). *Phosphorus Sulfur Silicon*, 181, 819–823.

Bruker (2005). *APEX2*, *SAINT* and *SADABS*. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.
Flack, H. D. (1983). *Acta Cryst.* A39, 876–881.
Joly, G. D. & Jacobsen, E. N. (2004). *J. Am. Chem. Soc.* 126, 4102–4103.
Leite, A. C. L., de Lima, R. S., Moreira, D. R. de M., Cardoso, M. V. de O., Gouveia de Brito, A. C., Farias dos Santos, L. M., Hernandes, M. Z., Kiperstok, A. C., de Lima, R. S. & Soares, M. B. P. (2006). *Bioorg. Med. Chem.* 14, 3749–3757.
Mikołajczyk, M. (2005). *J. Organomet. Chem.* 690, 2488–2496.
Sheldrick, G. M. (2008). *Acta Cryst.* A64, 112–122.
Sheldrick, G. M. (2015). *Acta Cryst.* C71, 3–8.
Spek, A. L. (2009). *Acta Cryst.* D65, 148–155.
Westrip, S. P. (2010). *J. Appl. Cryst.* 43, 920–925.

full crystallographic data

IUCrData (2017). **2**, x171155 [https://doi.org/10.1107/S2414314617011555]

Methyl (2*R*)-2-benzamido-2-{[(1*R*)-2-methoxy-2-oxo-1-phenylethyl]amino}-acetate

Oumaima Karai, Younas Aouine, Hassane Faraj, Anouar Alami, Abdelilah El Hallaoui and Hafid Zouihri

Methyl (2*R*)-2-benzamido-2-{[(1*R*)-2-methoxy-2-oxo-1-phenylethyl]amino}acetate

Crystal data

$C_{19}H_{20}N_2O_5$
M_r = 356.37
Orthorhombic, $P2_12_12_1$
Hall symbol: P 2ac 2ab
a = 9.3432 (6) Å
b = 10.4314 (8) Å
c = 18.0901 (14) Å
V = 1763.1 (2) Å^3
Z = 4
$F(000)$ = 752
D_x = 1.343 Mg m^{-3}
Mo $K\alpha$ radiation, λ = 0.71073 Å
Cell parameters from 365 reflections
θ = 1.6–25.2°
μ = 0.10 mm^{-1}
T = 173 K
Prism, colourless
0.35 × 0.16 × 0.14 mm

Data collection

Bruker APEXII CCD diffractometer
Radiation source: fine-focus sealed tube
Graphite monochromator
φ and ω scan
Absorption correction: multi-scan (SADABS; Bruker, 2005)
T_{min} = 0.967, T_{max} = 0.986
28362 measured reflections
3455 independent reflections
3246 reflections with $I > 2\sigma(I)$
R_{int} = 0.029
θ_{max} = 26.0°, θ_{min} = 2.3°
h = −11→7
k = −12→12
l = −22→22

Refinement

Refinement on F^2
Least-squares matrix: full
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$ = 0.027
$wR(F^2)$ = 0.065
S = 1.04
3455 reflections
246 parameters
2 restraints
Primary atom site location: structure-invariant direct methods
Secondary atom site location: difference Fourier map
Hydrogen site location: inferred from neighbouring sites
H atoms treated by a mixture of independent and constrained refinement
$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0234P)^2 + 0.3377P]$ where $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
$(\Delta/\sigma)_{max}$ = 0.001
$\Delta\rho_{max}$ = 0.14 e Å^{-3}
$\Delta\rho_{min}$ = −0.13 e Å^{-3}
Extinction correction: SHELXL2014 (Sheldrick, 2015), $Fc^*=kFc[1+0.001xFc^2\lambda^3/\sin(2\theta)]^{-1/4}$
Extinction coefficient: 0.0073 (8)
Absolute structure: Flack (1983), 1822 Friedel pairs
Absolute structure parameter: −0.3 (8)

Special details

Geometry. All esds (except the esd in the dihedral angle between two l.s. planes) are estimated using the full covariance matrix. The cell esds are taken into account individually in the estimation of esds in distances, angles and torsion angles; correlations between esds in cell parameters are only used when they are defined by crystal symmetry. An approximate (isotropic) treatment of cell esds is used for estimating esds involving l.s. planes.

Refinement. Refinement of F^2 against ALL reflections. The weighted R-factor wR and goodness of fit S are based on F^2, conventional R-factors R are based on F, with F set to zero for negative F^2. The threshold expression of $F^2 > 2\mathrm{sigma}(F^2)$ is used only for calculating R-factors(gt) etc. and is not relevant to the choice of reflections for refinement. R-factors based on F^2 are statistically about twice as large as those based on F, and R- factors based on ALL data will be even larger.

Fractional atomic coordinates and isotropic or equivalent isotropic displacement parameters (Å²)

	x	*y*	*z*	U_{iso}*/U_{eq}
C14	0.12279 (14)	0.23661 (11)	0.98202 (7)	0.0305 (3)
H14	0.2102	0.2580	0.9526	0.037*
N1	0.16831 (11)	0.14782 (10)	1.03988 (6)	0.0315 (2)
O3	0.15911 (11)	0.40644 (9)	1.06499 (6)	0.0464 (3)
O1	−0.04242 (10)	0.16104 (10)	1.09856 (6)	0.0456 (3)
O2	−0.03638 (11)	0.41900 (9)	0.99493 (6)	0.0475 (3)
C15	0.06822 (15)	0.08188 (12)	0.88463 (7)	0.0359 (3)
H15	0.1676	0.1036	0.8684	0.043*
N2	0.01902 (12)	0.18778 (10)	0.93039 (6)	0.0321 (2)
C12	0.12463 (14)	0.00585 (12)	1.14380 (7)	0.0330 (3)
C18	0.06847 (13)	0.36261 (11)	1.01468 (7)	0.0323 (3)
C13	0.07640 (13)	0.11150 (12)	1.09329 (7)	0.0322 (3)
C1	−0.12382 (16)	0.15859 (14)	0.79537 (8)	0.0452 (3)
H1	−0.1444	0.2276	0.8279	0.054*
C6	−0.02209 (14)	0.06888 (13)	0.81452 (7)	0.0353 (3)
C9	0.19247 (18)	−0.19864 (15)	1.23588 (9)	0.0493 (4)
H9	0.2146	−0.2693	1.2669	0.059*
O5	−0.04305 (14)	−0.07267 (10)	0.96120 (7)	0.0620 (3)
C8	0.27280 (17)	−0.17514 (15)	1.17398 (9)	0.0479 (4)
H8	0.3519	−0.2288	1.1627	0.057*
C19	0.1260 (2)	0.53040 (15)	1.09662 (10)	0.0572 (4)
H19A	0.1460	0.5977	1.0602	0.086*
H19B	0.1851	0.5443	1.1407	0.086*
H19C	0.0246	0.5332	1.1104	0.086*
C7	0.23931 (16)	−0.07355 (13)	1.12783 (8)	0.0423 (3)
H7	0.2954	−0.0582	1.0849	0.051*
C4	−0.0684 (2)	−0.04241 (16)	0.70022 (9)	0.0571 (4)
H4	−0.0492	−0.1120	0.6678	0.069*
C5	0.00429 (18)	−0.03273 (15)	0.76647 (8)	0.0474 (4)
H5	0.0730	−0.0960	0.7794	0.057*
C11	0.04614 (19)	−0.01734 (17)	1.20718 (9)	0.0560 (4)
H11	−0.0316	0.0373	1.2196	0.067*
C16	0.07709 (18)	−0.04722 (14)	0.92455 (8)	0.0471 (4)
O4	0.17846 (16)	−0.11697 (13)	0.92196 (8)	0.0816 (4)
C3	−0.1684 (2)	0.04823 (18)	0.68102 (9)	0.0619 (5)

H3	−0.2179	0.0418	0.6353	0.074*
C10	0.0801 (2)	−0.11964 (19)	1.25270 (9)	0.0657 (5)
H10	0.0250	−0.1351	1.2959	0.079*
C2	−0.1965 (2)	0.14844 (17)	0.72849 (9)	0.0592 (4)
H2	−0.2660	0.2110	0.7155	0.071*
C17	−0.0486 (3)	−0.19393 (18)	1.00059 (13)	0.0933 (8)
H17A	−0.0225	−0.2637	0.9669	0.140*
H17B	−0.1458	−0.2081	1.0193	0.140*
H17C	0.0186	−0.1918	1.0421	0.140*
H1N	0.2540 (14)	0.1193 (14)	1.0386 (8)	0.039 (4)*
H2N	−0.0591 (14)	0.1679 (13)	0.9516 (7)	0.033 (4)*

Atomic displacement parameters (Å²)

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{12}	U^{13}	U^{23}
C14	0.0284 (6)	0.0311 (6)	0.0321 (6)	−0.0018 (5)	−0.0005 (5)	0.0026 (5)
N1	0.0270 (5)	0.0325 (5)	0.0352 (5)	0.0043 (4)	−0.0002 (5)	0.0039 (4)
O3	0.0447 (5)	0.0364 (5)	0.0581 (6)	0.0044 (4)	−0.0181 (5)	−0.0123 (5)
O1	0.0363 (5)	0.0549 (6)	0.0454 (5)	0.0140 (5)	0.0072 (4)	0.0097 (5)
O2	0.0412 (6)	0.0406 (5)	0.0607 (6)	0.0089 (4)	−0.0159 (5)	−0.0052 (5)
C15	0.0341 (6)	0.0374 (7)	0.0362 (7)	−0.0007 (6)	0.0017 (5)	−0.0037 (5)
N2	0.0307 (5)	0.0324 (5)	0.0332 (5)	−0.0013 (4)	−0.0016 (5)	−0.0005 (4)
C12	0.0340 (6)	0.0337 (6)	0.0314 (6)	−0.0010 (5)	−0.0040 (5)	0.0003 (5)
C18	0.0311 (6)	0.0305 (6)	0.0351 (6)	−0.0020 (5)	−0.0040 (5)	0.0042 (5)
C13	0.0322 (6)	0.0333 (6)	0.0310 (6)	0.0022 (5)	−0.0010 (5)	−0.0018 (5)
C1	0.0494 (8)	0.0441 (8)	0.0421 (7)	−0.0024 (7)	−0.0045 (7)	−0.0009 (6)
C6	0.0383 (7)	0.0365 (7)	0.0310 (6)	−0.0076 (5)	0.0033 (5)	0.0012 (5)
C9	0.0577 (9)	0.0423 (8)	0.0479 (8)	−0.0024 (7)	−0.0112 (7)	0.0134 (7)
O5	0.0676 (8)	0.0449 (6)	0.0736 (8)	−0.0110 (6)	−0.0148 (6)	0.0246 (6)
C8	0.0477 (8)	0.0397 (7)	0.0562 (9)	0.0076 (7)	−0.0043 (7)	0.0055 (7)
C19	0.0653 (10)	0.0380 (8)	0.0681 (10)	0.0046 (7)	−0.0147 (9)	−0.0170 (7)
C7	0.0429 (8)	0.0412 (7)	0.0427 (7)	0.0053 (6)	0.0041 (6)	0.0062 (6)
C4	0.0746 (11)	0.0543 (9)	0.0426 (8)	−0.0127 (9)	−0.0008 (8)	−0.0113 (7)
C5	0.0570 (9)	0.0446 (8)	0.0407 (8)	−0.0036 (7)	0.0012 (7)	−0.0050 (7)
C11	0.0566 (10)	0.0626 (10)	0.0487 (8)	0.0169 (8)	0.0150 (8)	0.0159 (8)
C16	0.0599 (9)	0.0377 (7)	0.0436 (8)	0.0078 (7)	−0.0176 (7)	−0.0074 (6)
O4	0.0964 (10)	0.0652 (8)	0.0831 (9)	0.0450 (8)	−0.0142 (8)	−0.0072 (7)
C3	0.0760 (12)	0.0700 (11)	0.0397 (8)	−0.0191 (10)	−0.0167 (8)	0.0003 (8)
C10	0.0731 (12)	0.0746 (12)	0.0494 (9)	0.0129 (10)	0.0160 (9)	0.0265 (9)
C2	0.0636 (10)	0.0595 (10)	0.0546 (10)	−0.0007 (9)	−0.0191 (8)	0.0069 (8)
C17	0.139 (2)	0.0537 (11)	0.0873 (14)	−0.0394 (13)	−0.0489 (15)	0.0349 (10)

Geometric parameters (Å, º)

C14—N2	1.4395 (16)	C9—H9	0.9500
C14—N1	1.4610 (16)	O5—C16	1.331 (2)
C14—C18	1.5277 (17)	O5—C17	1.4527 (19)
C14—H14	1.0000	C8—C7	1.385 (2)

N1—C13	1.3469 (17)	C8—H8	0.9500
N1—H1N	0.855 (13)	C19—H19A	0.9800
O3—C18	1.3246 (15)	C19—H19B	0.9800
O3—C19	1.4474 (17)	C19—H19C	0.9800
O1—C13	1.2282 (15)	C7—H7	0.9500
O2—C18	1.1973 (15)	C4—C3	1.374 (3)
C15—N2	1.4549 (16)	C4—C5	1.381 (2)
C15—C6	1.5294 (18)	C4—H4	0.9500
C15—C16	1.530 (2)	C5—H5	0.9500
C15—H15	1.0000	C11—C10	1.385 (2)
N2—H2N	0.850 (12)	C11—H11	0.9500
C12—C11	1.382 (2)	C16—O4	1.1952 (19)
C12—C7	1.3848 (19)	C3—C2	1.378 (3)
C12—C13	1.5009 (17)	C3—H3	0.9500
C1—C6	1.378 (2)	C10—H10	0.9500
C1—C2	1.392 (2)	C2—H2	0.9500
C1—H1	0.9500	C17—H17A	0.9800
C6—C5	1.393 (2)	C17—H17B	0.9800
C9—C8	1.370 (2)	C17—H17C	0.9800
C9—C10	1.369 (2)		

N2—C14—N1	115.89 (10)	C9—C8—H8	119.8
N2—C14—C18	109.37 (10)	C7—C8—H8	119.8
N1—C14—C18	111.41 (10)	O3—C19—H19A	109.5
N2—C14—H14	106.5	O3—C19—H19B	109.5
N1—C14—H14	106.5	H19A—C19—H19B	109.5
C18—C14—H14	106.5	O3—C19—H19C	109.5
C13—N1—C14	120.44 (11)	H19A—C19—H19C	109.5
C13—N1—H1N	121.3 (10)	H19B—C19—H19C	109.5
C14—N1—H1N	118.2 (10)	C12—C7—C8	120.44 (14)
C18—O3—C19	116.33 (11)	C12—C7—H7	119.8
N2—C15—C6	111.39 (11)	C8—C7—H7	119.8
N2—C15—C16	114.64 (11)	C3—C4—C5	120.22 (16)
C6—C15—C16	110.07 (11)	C3—C4—H4	119.9
N2—C15—H15	106.8	C5—C4—H4	119.9
C6—C15—H15	106.8	C4—C5—C6	120.67 (15)
C16—C15—H15	106.8	C4—C5—H5	119.7
C14—N2—C15	115.15 (10)	C6—C5—H5	119.7
C14—N2—H2N	111.8 (9)	C12—C11—C10	120.44 (15)
C15—N2—H2N	110.0 (10)	C12—C11—H11	119.8
C11—C12—C7	118.61 (13)	C10—C11—H11	119.8
C11—C12—C13	118.31 (12)	O4—C16—O5	124.52 (15)
C7—C12—C13	122.99 (12)	O4—C16—C15	124.07 (16)
O2—C18—O3	123.96 (12)	O5—C16—C15	111.41 (12)
O2—C18—C14	125.39 (12)	C4—C3—C2	119.61 (15)
O3—C18—C14	110.51 (10)	C4—C3—H3	120.2
O1—C13—N1	120.90 (12)	C2—C3—H3	120.2
O1—C13—C12	122.21 (12)	C9—C10—C11	120.49 (15)

N1—C13—C12	116.86 (11)	C9—C10—H10	119.8
C6—C1—C2	120.23 (15)	C11—C10—H10	119.8
C6—C1—H1	119.9	C3—C2—C1	120.43 (16)
C2—C1—H1	119.9	C3—C2—H2	119.8
C1—C6—C5	118.82 (13)	C1—C2—H2	119.8
C1—C6—C15	121.92 (12)	O5—C17—H17A	109.5
C5—C6—C15	119.17 (12)	O5—C17—H17B	109.5
C8—C9—C10	119.61 (14)	H17A—C17—H17B	109.5
C8—C9—H9	120.2	O5—C17—H17C	109.5
C10—C9—H9	120.2	H17A—C17—H17C	109.5
C16—O5—C17	116.64 (16)	H17B—C17—H17C	109.5
C9—C8—C7	120.38 (15)		

N2—C14—N1—C13	−68.46 (15)	N2—C15—C6—C5	−175.99 (12)
C18—C14—N1—C13	57.43 (15)	C16—C15—C6—C5	−47.69 (17)
N1—C14—N2—C15	−64.44 (15)	C10—C9—C8—C7	−1.2 (2)
C18—C14—N2—C15	168.63 (10)	C11—C12—C7—C8	1.0 (2)
C6—C15—N2—C14	−158.86 (11)	C13—C12—C7—C8	−175.46 (13)
C16—C15—N2—C14	75.32 (15)	C9—C8—C7—C12	0.3 (2)
C19—O3—C18—O2	−0.1 (2)	C3—C4—C5—C6	−0.3 (2)
C19—O3—C18—C14	175.61 (13)	C1—C6—C5—C4	1.1 (2)
N2—C14—C18—O2	−7.24 (17)	C15—C6—C5—C4	−175.50 (14)
N1—C14—C18—O2	−136.67 (13)	C7—C12—C11—C10	−1.4 (2)
N2—C14—C18—O3	177.07 (11)	C13—C12—C11—C10	175.25 (16)
N1—C14—C18—O3	47.65 (14)	C17—O5—C16—O4	0.2 (2)
C14—N1—C13—O1	−6.90 (19)	C17—O5—C16—C15	179.10 (13)
C14—N1—C13—C12	171.27 (10)	N2—C15—C16—O4	−131.74 (15)
C11—C12—C13—O1	−13.9 (2)	C6—C15—C16—O4	101.76 (17)
C7—C12—C13—O1	162.54 (13)	N2—C15—C16—O5	49.39 (16)
C11—C12—C13—N1	167.94 (13)	C6—C15—C16—O5	−77.11 (14)
C7—C12—C13—N1	−15.60 (19)	C5—C4—C3—C2	−0.4 (3)
C2—C1—C6—C5	−1.2 (2)	C8—C9—C10—C11	0.8 (3)
C2—C1—C6—C15	175.29 (14)	C12—C11—C10—C9	0.5 (3)
N2—C15—C6—C1	7.55 (18)	C4—C3—C2—C1	0.3 (3)
C16—C15—C6—C1	135.86 (14)	C6—C1—C2—C3	0.5 (2)

Hydrogen-bond geometry (Å, º)

D—H··· *A*	*D*—H	H··· *A*	*D*··· *A*	*D*—H··· *A*
N1—H1*N*···O2 ^{i}	0.85 (1)	2.09 (1)	2.9147 (15)	162 (1)
N2—H2*N*···O5	0.85 (1)	2.52 (1)	2.8334 (15)	103 (1)
C1—H1···N2	0.95	2.44	2.8000 (18)	102
C7—H7···O2 ^{i}	0.95	2.58	3.4530 (18)	153

Symmetry code: (i) *x*+1/2, −*y*+1/2, −*z*+2.

IUCrData

ISSN 2414-3146

Methyl (1-benzamido-2-methoxy-2-oxoethyl)-tryptophanate

Oumaima Karai,[a] Younas Aouine,[b] Hassane Faraj,[b] Anouar Alami,[b]* Abdelilah El Hallaoui[b] and Hafid Zouihri[c]

[a]Formation Doctorale Molécules Bioactives, Santé et Biotechnologies, Centre d'études Doctorales Sciences et Technologies LCO, Faculté des Sciences Dhar El Marhaz, Fès, Morocco, [b]Laboratoire de Chimie Organique, Faculté des Sciences Dhar el Mahraz, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès, Morocco, and [c]Laboratoire de Chimie des Matériaux et Biotechnologie des Produits Naturels, E.Ma.Me.P.S., Université Moulay Ismail, Faculté des Sciences, Meknès, Morocco. *Correspondence e-mail: anouar.alami@usmba.ac.ma

Received 13 October 2017
Accepted 24 October 2017

Edited by J. Simpson, University of Otago, New Zealand

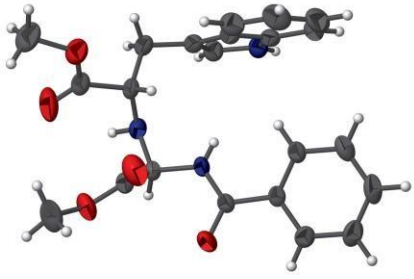
Keywords: crystal structure; indole; benzamido; hydrogen bonds.

CCDC reference: 1573006

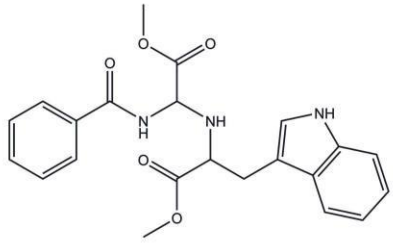
Structural data: full structural data are available from iucrdata.iucr.org

The title molecule, $C_{22}H_{23}N_3O_2$, is U-shaped, with a dihedral angle of 80.76 (9)° between the indole ring system and the phenyl ring. In the crystal, N—H···O hydrogen bonds combine with N—H···π and C—H···π interactions to generate a three-dimensional structure.

3D view



Chemical scheme



Structure description

The molecule of the title compound is approximately U-shaped, Fig. 1, with the indole ring system and the benzene ring linked by a complex alaninate chain and with a dihedral angle of 80.76 (9)° between them. This conformation is supported by an intramolecular C5—H5···*Cg*3 interaction (Table 1).

In the crystal, classical N3—H3*N*···O1 hydrogen bonds together with unusual intermolecular N2—H2*N*···*Cg*2 contacts and C20—H20···*Cg*1 interactions combine to generate a three dimensional network, Fig. 2.

Synthesis and crystallization

To a solution of 2.6 mmol of *N*-protected methyl α-azidoglycinate and 3.12 mmol of diisopropylethylamine (DIEA) in 10 ml of acetone, 2.86 mmol of 2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate was added. The reaction mixture was stirred at room temperature. The solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was quenched with saturated aqueous solution of ammonium chloride (20 ml) and extracted with methylene chloride (3 ~ 20 ml). The organic layer was dried over sodium sulfate (Na_2SO_4) and the

OPEN ACCESS

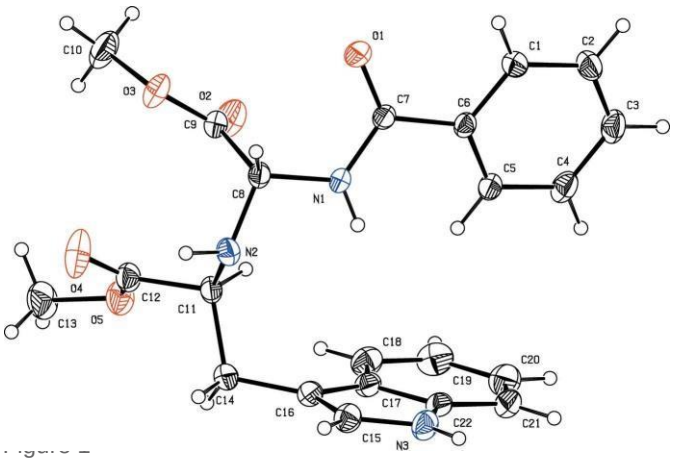


Figure 1

The structure of the title compound, showing the atom-labelling scheme. Displacement ellipsoids are drawn at the 50% probability level. H atoms are represented as small spheres of arbitrary radii.

solvent was removed under reduced pressure. Single crystals of the title compound were obtained by recrystallization from chloroform ($CHCl_3$) solution, yield = 86% (white solid); m.p. = 174–176°C.

^{1}H NMR (DMSO, δ_H p.p.m.): 2.94–3.02 (*m*, 3H, *NH*—CH—CH_2– and –CH_2-indol-3-yl); 3.28 (*s*, 3H, –OCH_3); 3.64 (*s*, 3H, –OCH_3); 3.67–3.72 (*t*, 1H, N—*CH*—CH_2–, J = 6.90 Hz); 5.25–5.31 (*dd*, 1H, N—*CH*—N, J_1 = 10.17 Hz and J_2 = 7.73 Hz); 6.93–7.82 (*m*, 10H, 10H_{arom}); 9.1 (*s*, 1H, *NH*Bz); 10.9 (*s*, 1H, *NH*$_{indole}$). ^{13}C NMR (DMSO, δ_C p.p.m.): 29.18 (1 C, –CH_2-indol-3-yl); 51.78 and 52.65 (2 C, –OCH_3); 59.06 (1 C, –*C*H—CH_2-indol-3-yl); 64.18 (1 C, N—*C*H—N); 109.80–136.48 (14C, C_{arom}); 166.61, 170.38 and 174.89 (3 C, *C*O). Calculated for $C_{22}H_{23}N_3O_5$ (%): C, 64.54; H, 5.66; N, 10.26; found (%): C 64.28, H 5.71, N 10.16. MS ESI *m*/*z* (%) = 409.60.

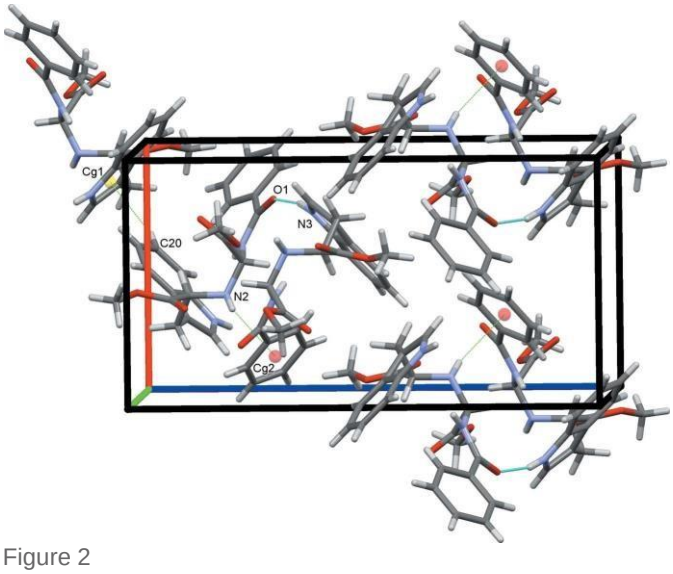


Figure 2

A view of the crystal packing of the title compound along the *b* axis. N—H··· O hydrogen bonds are drawn as blue dashed lines with N—H ··· and C—H···contacts shown as dotted green lines. Ring centroids are displayed as coloured spheres.

Table 1

Hydrogen-bond geometry (Å, °).

*Cg*1, *Cg*2 and *Cg*3 are the centroids of the N3/C15–C17/C22, C1–C6 and C17–C22 rings, respectively.

D—H···*A*	*D*—H	H···*A*	*D*···*A*	*D*—H···*A*
N3—H3*N*···O1^{i}	0.87 (2)	2.03 (2)	2.862 (2)	162 (3)
N2—H2*N*···*Cg*2	0.89 (2)	2.65 (3)	3.4451 (18)	149 (2)
C5—H5···*Cg*3	0.93	2.83	3.662 (2)	149
C20—H20···*Cg*1^{iii}	0.93	2.83	3.684 (3)	154

Symmetry codes: (i) $-x+1, y-\frac{1}{2}, -z+\frac{1}{2}$; (ii) $-x+1, y+\frac{1}{2}, -z+\frac{1}{2}$; (iii) $x+1, -y+\frac{1}{2}, -z$.

Table 2

Experimental details.

Crystal data	
Chemical formula	$C_{22}H_{23}N_3O_5$
M_r	409.43
Crystal system, space group	Orthorhombic, $P2_12_12_1$
Temperature (K)	293
a, *b*, *c* (Å)	9.5716 (3), 11.6875 (4), 18.1827 (6)
V (Å^3)	2034.06 (12)
Z	4
Radiation type	Mo $K\alpha$
μ (mm^{-1})	0.10
Crystal size (mm)	0.23 ~ 0.21 ~ 0.14
Data collection	
Diffractometer	Bruker APEXII CCD
Absorption correction	Multi-scan (*SADABS*; Bruker, 2005)
No. of measured, independent and observed [$I > 2\sigma(I)$] reflections	22029, 4675, 4359
R_{int}	0.027
$(\sin\theta/\lambda)_{max}$ (Å^{-1})	0.650
Refinement	
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$, $wR(F^2)$, S	0.034, 0.097, 1.05
No. of reflections	4675
No. of parameters	285
No. of restraints	3
H-atom treatment	H atoms treated by a mixture of independent and constrained refinement
$\Delta\rho_{max}$, $\Delta\rho_{min}$ (e Å^{-3})	0.22, −0.17
Absolute structure	Flack *x* determined using 1822 quotients $[(I^+)-(I^-)]/[(I^+)+(I^-)]$ (Parsons *et al.*, 2013).
Absolute structure parameter	0.0 (2)

Computer programs: *APEX2* and *SAINT* (Bruker, 2005), *SHELXS97* (Sheldrick, 2008), *SHELXL2014* (Sheldrick, 2015), *PLATON* (Spek, 2009), *Mercury* (Macrae *et al.*, 2008) and *publCIF* (Westrip, 2010).

Refinement

Crystal data, data collection and structure refinement details are summarized in Table 2. With no heavy atoms in the molecule the absolute structure could not be determined reliably.

References

Bruker (2005). *APEX2*, *SAINT* and *SADABS*. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA.

Macrae, C. F., Bruno, I. J., Chisholm, J. A., Edgington, P. R., McCabe, P., Pidcock, E., Rodriguez-Monge, L., Taylor, R., van de Streek, J. & Wood, P. A. (2008). *J. Appl. Cryst.* **41**, 466–470.

Parsons, S., Flack, H. D. & Wagner, T. (2013). *Acta Cryst.* B**69**, 249–259.
Sheldrick, G. M. (2008). *Acta Cryst.* A**64**, 112–122.
Sheldrick, G. M. (2015). *Acta Cryst.* C**71**, 3–8.
Spek, A. L. (2009). *Acta Cryst.* D**65**, 148–155.
Westrip, S. P. (2010). *J. Appl. Cryst.* **43**, 920–925.

full crystallographic data

IUCrData (2017). **2**, x171547 [https://doi.org/10.1107/S2414314617015474]

Methyl (1-benzamido-2-methoxy-2-oxoethyl)tryptophanate

Oumaima Karai, Younas Aouine, Hassane Faraj, Anouar Alami, Abdelilah El Hallaoui and Hafid Zouihri

Methyl 3-(1*H*-indol-3-yl)-2-{[2-methoxy-2-oxo-1-(phenylformamido)ethyl]amino}propanoate

Crystal data

$C_{22}H_{23}N_3O_5$
M_r = 409.43
Orthorhombic, $P2_12_12_1$
a = 9.5716 (3) Å
b = 11.6875 (4) Å
c = 18.1827 (6) Å
V = 2034.06 (12) Å^3
Z = 4
$F(000)$ = 864
D_x = 1.337 Mg m^{-3}
Mo $K\alpha$ radiation, λ = 0.71073 Å
Cell parameters from 275 reflections
θ = 1.3–57°
μ = 0.10 mm^{-1}
T = 293 K
Prism, colourless
0.23 × 0.21 × 0.14 mm

Data collection

Bruker APEXII CCD diffractometer
Radiation source: fine-focus sealed tube
Graphite monochromator
φ and ω scan
Absorption correction: multi-scan (SADABS; Bruker, 2005)
22029 measured reflections
4675 independent reflections
4359 reflections with $I > 2\sigma(I)$
R_{int} = 0.027
θ_{max} = 27.5°, θ_{min} = 2.1°
h = −12→12
k = −15→15
l = −23→23

Refinement

Refinement on F^2
Least-squares matrix: full
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)]$ = 0.034
$wR(F^2)$ = 0.097
S = 1.05
4675 reflections
285 parameters
3 restraints
Hydrogen site location: mixed
H atoms treated by a mixture of independent and constrained refinement
$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0569P)^2 + 0.2737P]$ where $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
$(\Delta/\sigma)_{max} < 0.001$
$\Delta\rho_{max}$ = 0.22 e Å^{-3}
$\Delta\rho_{min}$ = −0.17 e Å^{-3}
Absolute structure: Flack x determined using 1822 quotients $[(I^+)-(I^-)]/[(I^+)+(I^-)]$ (Parsons *et al.*, 2013).
Absolute structure parameter: 0.0 (2)

Special details

Geometry. All esds (except the esd in the dihedral angle between two l.s. planes) are estimated using the full covariance matrix. The cell esds are taken into account individually in the estimation of esds in distances, angles and torsion angles; correlations between esds in cell parameters are only used when they are defined by crystal symmetry. An approximate (isotropic) treatment of cell esds is used for estimating esds involving l.s. planes.

Fractional atomic coordinates and isotropic or equivalent isotropic displacement parameters (Å²)

	x	*y*	*z*	U_{iso}*/U_{eq}
C7	0.71253 (18)	0.07261 (14)	0.23815 (10)	0.0313 (3)
C6	0.77399 (19)	−0.04380 (14)	0.22646 (10)	0.0309 (3)
C5	0.7366 (2)	−0.11460 (15)	0.16841 (10)	0.0361 (4)
H5	0.6644	−0.0934	0.1370	0.043*
C1	0.8802 (2)	−0.07750 (17)	0.27415 (11)	0.0393 (4)
H1	0.9056	−0.0306	0.3133	0.047*
C4	0.8070 (2)	−0.21720 (17)	0.15728 (13)	0.0464 (5)
H4	0.7830	−0.2640	0.1179	0.056*
C2	0.9483 (2)	−0.18102 (19)	0.26330 (14)	0.0486 (5)
H2	1.0180	−0.2041	0.2957	0.058*
C3	0.9124 (2)	−0.24964 (19)	0.20450 (14)	0.0510 (5)
H3	0.9596	−0.3181	0.1967	0.061*
N1	0.58969 (17)	0.09702 (13)	0.20564 (9)	0.0349 (3)
C8	0.52998 (19)	0.21167 (15)	0.21117 (10)	0.0327 (4)
H8	0.5171	0.2306	0.2632	0.039*
C9	0.6299 (2)	0.29926 (15)	0.17664 (11)	0.0365 (4)
O1	0.77431 (17)	0.14492 (12)	0.27462 (9)	0.0497 (4)
O3	0.61318 (19)	0.40054 (12)	0.20853 (9)	0.0517 (4)
O2	0.70594 (19)	0.28145 (14)	0.12588 (10)	0.0582 (4)
C10	0.6864 (3)	0.4950 (2)	0.17486 (19)	0.0675 (7)
H10A	0.6760	0.5621	0.2049	0.101*
H10B	0.6480	0.5094	0.1270	0.101*
H10C	0.7837	0.4764	0.1704	0.101*
N2	0.39521 (17)	0.21076 (14)	0.17551 (9)	0.0352 (3)
C12	0.3859 (2)	0.33133 (17)	0.06305 (11)	0.0401 (4)
C11	0.3936 (2)	0.21081 (15)	0.09530 (10)	0.0340 (4)
H11	0.4796	0.1744	0.0777	0.041*
C13	0.3913 (3)	0.4341 (2)	−0.04853 (15)	0.0638 (7)
H13A	0.4554	0.4918	−0.0320	0.096*
H13B	0.2972	0.4595	−0.0403	0.096*
H13C	0.4052	0.4205	−0.1001	0.096*
O5	0.41550 (19)	0.32938 (14)	−0.00816 (9)	0.0514 (4)
O4	0.3559 (3)	0.41515 (15)	0.09638 (11)	0.0743 (6)
N3	0.2625 (2)	−0.15885 (14)	0.13318 (10)	0.0431 (4)
C17	0.3845 (2)	−0.05961 (16)	0.04926 (10)	0.0370 (4)
C16	0.2847 (2)	0.01589 (16)	0.08328 (11)	0.0379 (4)
C14	0.2676 (2)	0.14084 (17)	0.06700 (12)	0.0413 (4)
H14A	0.1828	0.1686	0.0902	0.050*
H14B	0.2583	0.1516	0.0143	0.050*
C15	0.2145 (2)	−0.04813 (17)	0.13370 (11)	0.0422 (4)
H15	0.1441	−0.0208	0.1642	0.051*
C22	0.3673 (2)	−0.16815 (16)	0.08245 (11)	0.0381 (4)
C18	0.4861 (2)	−0.0466 (2)	−0.00585 (12)	0.0480 (5)
H18	0.4993	0.0237	−0.0288	0.058*
C21	0.4464 (3)	−0.26306 (19)	0.06147 (12)	0.0481 (5)

H21	0.4324	−0.3344	0.0829	0.058*
C19	0.5659 (3)	−0.1399 (2)	−0.02529 (14)	0.0584 (6)
H19	0.6345	−0.1318	−0.0611	0.070*
C20	0.5456 (3)	−0.2470 (2)	0.00800 (14)	0.0564 (6)
H20	0.6007	−0.3085	−0.0065	0.068*
H2N	0.343 (3)	0.2689 (19)	0.1905 (14)	0.047 (7)*
H1N	0.537 (2)	0.0475 (18)	0.1878 (12)	0.036 (6)*
H3N	0.233 (3)	−0.212 (2)	0.1624 (15)	0.070 (9)*

Atomic displacement parameters (Å²)

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{12}	U^{13}	U^{23}
C7	0.0333 (8)	0.0256 (7)	0.0350 (8)	−0.0013 (7)	0.0002 (7)	−0.0008 (6)
C6	0.0307 (8)	0.0247 (7)	0.0373 (8)	−0.0019 (6)	0.0032 (7)	0.0033 (6)
C5	0.0382 (9)	0.0278 (8)	0.0422 (10)	−0.0006 (7)	0.0000 (8)	0.0005 (7)
C1	0.0341 (8)	0.0367 (9)	0.0472 (10)	−0.0005 (8)	−0.0037 (8)	0.0032 (8)
C4	0.0507 (11)	0.0310 (9)	0.0574 (12)	−0.0001 (8)	0.0075 (9)	−0.0088 (8)
C2	0.0337 (9)	0.0427 (11)	0.0694 (14)	0.0071 (8)	−0.0038 (9)	0.0087 (10)
C3	0.0427 (11)	0.0310 (9)	0.0793 (15)	0.0081 (8)	0.0102 (10)	−0.0008 (10)
N1	0.0366 (8)	0.0219 (6)	0.0463 (8)	0.0003 (6)	−0.0065 (7)	−0.0013 (6)
C8	0.0366 (9)	0.0256 (8)	0.0358 (8)	0.0032 (7)	−0.0010 (7)	0.0002 (7)
C9	0.0394 (9)	0.0290 (8)	0.0411 (9)	0.0009 (7)	−0.0015 (8)	0.0024 (7)
O1	0.0485 (8)	0.0338 (7)	0.0669 (9)	0.0035 (6)	−0.0163 (7)	−0.0159 (7)
O3	0.0640 (10)	0.0268 (7)	0.0643 (9)	−0.0053 (7)	0.0080 (8)	−0.0036 (6)
O2	0.0665 (10)	0.0450 (8)	0.0630 (9)	−0.0052 (8)	0.0244 (9)	−0.0024 (7)
C10	0.0796 (18)	0.0320 (11)	0.0910 (19)	−0.0118 (11)	0.0063 (16)	0.0059 (12)
N2	0.0335 (7)	0.0330 (7)	0.0391 (8)	0.0057 (6)	0.0023 (6)	0.0022 (6)
C12	0.0409 (10)	0.0335 (9)	0.0460 (10)	0.0008 (8)	0.0002 (8)	0.0089 (8)
C11	0.0343 (8)	0.0279 (8)	0.0396 (9)	0.0044 (7)	−0.0009 (7)	0.0047 (7)
C13	0.0725 (16)	0.0576 (15)	0.0614 (14)	−0.0001 (13)	−0.0020 (13)	0.0283 (12)
O5	0.0655 (10)	0.0446 (8)	0.0442 (8)	0.0014 (7)	−0.0002 (7)	0.0135 (6)
O4	0.1215 (18)	0.0361 (8)	0.0655 (11)	0.0202 (10)	0.0198 (11)	0.0083 (8)
N3	0.0521 (10)	0.0345 (8)	0.0429 (9)	−0.0053 (7)	0.0003 (8)	0.0085 (7)
C17	0.0414 (10)	0.0336 (9)	0.0360 (9)	−0.0049 (8)	−0.0063 (8)	0.0004 (7)
C16	0.0416 (10)	0.0335 (9)	0.0386 (9)	−0.0027 (8)	−0.0074 (8)	0.0023 (7)
C14	0.0405 (10)	0.0345 (9)	0.0488 (11)	−0.0003 (8)	−0.0099 (9)	0.0080 (8)
C15	0.0457 (10)	0.0388 (9)	0.0421 (10)	−0.0012 (9)	0.0009 (9)	0.0026 (8)
C22	0.0417 (10)	0.0340 (9)	0.0386 (9)	−0.0050 (8)	−0.0091 (8)	−0.0005 (8)
C18	0.0519 (12)	0.0469 (12)	0.0451 (11)	−0.0085 (10)	0.0022 (9)	0.0012 (9)
C21	0.0572 (12)	0.0339 (10)	0.0534 (12)	−0.0001 (9)	−0.0111 (10)	−0.0056 (9)
C19	0.0559 (14)	0.0651 (15)	0.0543 (13)	−0.0040 (12)	0.0085 (11)	−0.0120 (11)
C20	0.0565 (13)	0.0512 (12)	0.0614 (13)	0.0065 (11)	−0.0012 (11)	−0.0177 (11)

Geometric parameters (Å, º)

C7—O1	1.226 (2)	C12—O5	1.326 (3)
C7—N1	1.347 (2)	C12—C11	1.528 (2)
C7—C6	1.497 (2)	C11—C14	1.546 (3)

C6—C5	1.388 (3)	C11—H11	0.9800
C6—C1	1.393 (3)	C13—O5	1.446 (3)
C5—C4	1.391 (3)	C13—H13A	0.9600
C5—H5	0.9300	C13—H13B	0.9600
C1—C2	1.388 (3)	C13—H13C	0.9600
C1—H1	0.9300	N3—C22	1.367 (3)
C4—C3	1.378 (3)	N3—C15	1.373 (3)
C4—H4	0.9300	N3—H3N	0.87 (2)
C2—C3	1.380 (3)	C17—C18	1.405 (3)
C2—H2	0.9300	C17—C22	1.414 (3)
C3—H3	0.9300	C17—C16	1.440 (3)
N1—C8	1.460 (2)	C16—C15	1.361 (3)
N1—H1N	0.831 (19)	C16—C14	1.499 (3)
C8—N2	1.444 (2)	C14—H14A	0.9700
C8—C9	1.535 (3)	C14—H14B	0.9700
C8—H8	0.9800	C15—H15	0.9300
C9—O2	1.194 (3)	C22—C21	1.396 (3)
C9—O3	1.328 (2)	C18—C19	1.377 (4)
O3—C10	1.444 (3)	C18—H18	0.9300
C10—H10A	0.9600	C21—C20	1.372 (4)
C10—H10B	0.9600	C21—H21	0.9300
C10—H10C	0.9600	C19—C20	1.404 (4)
N2—C11	1.459 (2)	C19—H19	0.9300
N2—H2N	0.89 (2)	C20—H20	0.9300
C12—O4	1.187 (3)		

O1—C7—N1	120.83 (16)	N2—C11—C12	112.63 (16)
O1—C7—C6	120.90 (16)	N2—C11—C14	109.92 (16)
N1—C7—C6	118.24 (15)	C12—C11—C14	108.79 (15)
C5—C6—C1	119.54 (17)	N2—C11—H11	108.5
C5—C6—C7	123.24 (16)	C12—C11—H11	108.5
C1—C6—C7	117.08 (16)	C14—C11—H11	108.5
C6—C5—C4	119.97 (18)	O5—C13—H13A	109.5
C6—C5—H5	120.0	O5—C13—H13B	109.5
C4—C5—H5	120.0	H13A—C13—H13B	109.5
C2—C1—C6	120.0 (2)	O5—C13—H13C	109.5
C2—C1—H1	120.0	H13A—C13—H13C	109.5
C6—C1—H1	120.0	H13B—C13—H13C	109.5
C3—C4—C5	120.1 (2)	C12—O5—C13	116.56 (19)
C3—C4—H4	119.9	C22—N3—C15	108.96 (16)
C5—C4—H4	119.9	C22—N3—H3N	127 (2)
C3—C2—C1	120.0 (2)	C15—N3—H3N	124 (2)
C3—C2—H2	120.0	C18—C17—C22	118.80 (19)
C1—C2—H2	120.0	C18—C17—C16	134.39 (19)
C4—C3—C2	120.33 (19)	C22—C17—C16	106.81 (18)
C4—C3—H3	119.8	C15—C16—C17	106.25 (17)
C2—C3—H3	119.8	C15—C16—C14	127.9 (2)
C7—N1—C8	120.39 (15)	C17—C16—C14	125.78 (19)

C7—N1—H1N	123.4 (16)	C16—C14—C11	111.37 (16)
C8—N1—H1N	115.5 (16)	C16—C14—H14A	109.4
N2—C8—N1	108.18 (15)	C11—C14—H14A	109.4
N2—C8—C9	112.20 (15)	C16—C14—H14B	109.4
N1—C8—C9	109.88 (15)	C11—C14—H14B	109.4
N2—C8—H8	108.8	H14A—C14—H14B	108.0
N1—C8—H8	108.8	C16—C15—N3	110.40 (19)
C9—C8—H8	108.8	C16—C15—H15	124.8
O2—C9—O3	124.51 (19)	N3—C15—H15	124.8
O2—C9—C8	125.43 (18)	N3—C22—C21	130.20 (19)
O3—C9—C8	109.93 (16)	N3—C22—C17	107.58 (17)
C9—O3—C10	115.99 (19)	C21—C22—C17	122.2 (2)
O3—C10—H10A	109.5	C19—C18—C17	118.8 (2)
O3—C10—H10B	109.5	C19—C18—H18	120.6
H10A—C10—H10B	109.5	C17—C18—H18	120.6
O3—C10—H10C	109.5	C20—C21—C22	117.4 (2)
H10A—C10—H10C	109.5	C20—C21—H21	121.3
H10B—C10—H10C	109.5	C22—C21—H21	121.3
C8—N2—C11	117.27 (15)	C18—C19—C20	121.2 (2)
C8—N2—H2N	111.2 (17)	C18—C19—H19	119.4
C11—N2—H2N	107.5 (16)	C20—C19—H19	119.4
O4—C12—O5	124.37 (19)	C21—C20—C19	121.6 (2)
O4—C12—C11	125.23 (19)	C21—C20—H20	119.2
O5—C12—C11	110.40 (17)	C19—C20—H20	119.2

Hydrogen-bond geometry (Å, º)

Cg1, Cg2 and Cg3 are the centroids of the N3/C15–C17/C22, C1–C6 and C17–C22 rings, respectively.

D—H··· *A*	*D*—H	H··· *A*	*D*··· *A*	*D*—H··· *A*
N3—H3*N*···O1 [i]	0.87 (2)	2.03 (2)	2.862 (2)	162 (3)
N2—H2*N*··· *Cg*2[ii]	0.89 (2)	2.65 (3)	3.4451 (18)	149 (2)
C5—H5··· *Cg*3	0.93	2.83	3.662 (2)	149
C20—H20··· *Cg*1[iii]	0.93	2.83	3.684 (3)	154

Symmetry codes: (i) −*x*+1, *y*−1/2, −*z*+1/2; (ii) −*x*+1, *y*+1/2, −*z*+1/2; (iii) *x*+1/2, −*y*−1/2, −*z*.

Available free online at www.medjchem.com

Mediterranean Journal of Chemistry

Mediterranean Journal of Chemistry **2018**, 7(4), 267-271

Synthesis, characterization and antibacterial activity of Methyl (*2R*)-2-benzamido-2-{[(*1R*)-2-methoxy-2-oxo-1-phenylethyl]amino}acetate

Oumaima Karai [1], Younas Aouine [1], Hassane Faraj [1], Anouar Alami [1,*], Mohammed Rachid Kabbour [1], Abdelilah El Hallaoui [1] and Mohammed Bouksaim [2]

[1] Organic Chemistry Laboratory (LCO), Faculty of Sciences Dhar El Mahraz–Sidi Mohammed Ben Abdellah University, Fez 30000, Morocco

[2] Regional Center for Agronomic Research of Rabat, INRA-Rabat, Rabat 10000, Morocco

Abstract: The present work covers the recent synthetic of methyl (*2R*)-2-benzamido-2-{[(*1R*)-2-methoxy-2-oxo-1-phenylethyl]amino}acetate, via *N*-alkylation of methyl α-azido glycinate *N*-benzoylated with methyl 2-amino-2-phenylacetate in methylene chloride and presence of triethylamine as a basic catalyst. The structure of the prepared compound was determined by spectroscopic methods: ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, MS data, elemental analysis and confirmed by X-Ray diffraction. This compound was screened *in vitro* for its antibacterial activity against Gram-positive bacteria (*Bacillus subtilis and Staphylococcus aureus*) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa and Salmonella enteric)*. The MIC values confirmed that the title compound had a bactericidal effect against the strains tested.

Keywords: Antibacterial activity; aminoesters carboxylic; *N*-alkylation.

Introduction

Amino acid derivatives are an important group of peptidomimetics [1]. They exhibit several applications in medicinal chemistry. The amino acids were used as starting keys for synthesis peptides, are known to contribute to various chemotherapeutic effects, as antileukemic [2], antitumor [3], antimicrobial [4], and antiviral agents [5].
Heterocyclic α-amino acids frameworks constitute an essential pharmacophore in many naturally occurring and biologically active agents [6].

In continuation of our ongoing research [7,8], this work deals to describe the synthesis and design of the methyl (2R)-2-benzamido-2-{[(1R)-2-methoxy-2-oxo-1-phenylethyl]amino}acetate **2**. This latter was obtained through N-alkylation of methyl α-azido glycinate N-benzoylated 1 by methyl 2-amino-2-phenylacetate. The structure of the title compound was determined by usual spectroscopic techniques, such as NMR, MS, elemental analysis and corroborated by X-ray crystallography.

Results and Discussion

Chemistry

The methyl α-azido glycinate *N*-benzoylated **1** was prepared using Steglich method [9] and Achamlale's procedure [10,11] by the reaction of sodium azide with the methyl α-bromo glycinate.

Azide **1** is obtained with a good yield (92% yield), as a white solid. After that, it was substituted with methyl 2-amino-2-phenylacetate (derived from L-phenylglycine) through *N*-alkylation reaction in the presence of methylene chloride at room temperature (Scheme 1). After chromatography on a column of silica gel, we isolated only one regisomer in the form of a single crystal [12] whose configuration is well defined (Figure 2).

The structure of the compound 2 was established by ^{1}H and ^{13}C NMR spectroscopy. The ^{1}H NMR spectrum reveals in particular, a singlet at 4,65ppm attributed to the proton of the secondary amino group (**NH**-CH-Ph). The proton of the second amino group (Bz-**NH**) appears at 6,75 ppm. A singlet at 3,3 ppm corresponds to methylenic proton (NH-**CH**-Ph).

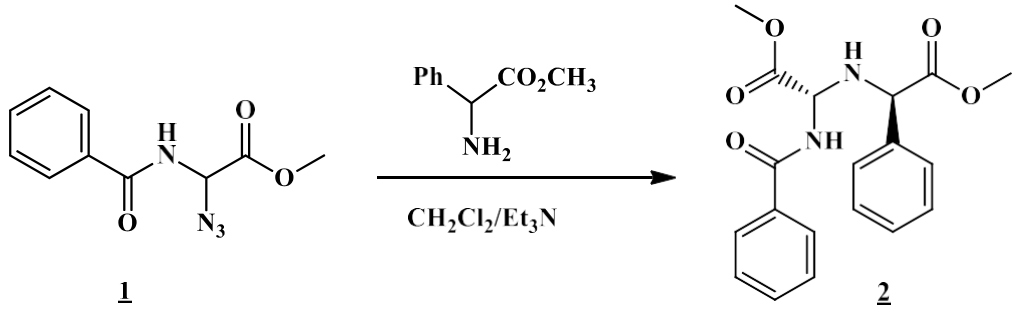
A doublet centred at 5,52ppm due to the resonance of the other methylenic proton (NH-**CH**-NH). The same for ^{13}C NMR spectrum

taken in $CDCl_3$ as solvent we note the presence of the main signals, at 61.97 ppm attributed to the

**Corresponding author: Alami Anouar*
Email address: anouar.alami@usmba.ac.ma
DOI:

Received August 11, 2018
Accepted October 10, 2018
Published November 6, 2018

carbon (-**C**H-phenyl), at 52.44 and 52.88 ppm attributed to two methyls of the methoxy group, 63.62 ppm attributed to carbon (NH-**C**H-NH).



Scheme 1. Synthesis strategy of compound **2**.

This attribution has been carried out by the HSQC (Figure1) NMR spectrum. Which, show correlations between the protons and the neighboring carbons. As it shows an interaction between amide proton and the adjacent asymmetric carbon. In contrast, the proton of the amine showed no correlation.

The definite assignment the chemical shifts of protons and carbons are shown in Table 1.

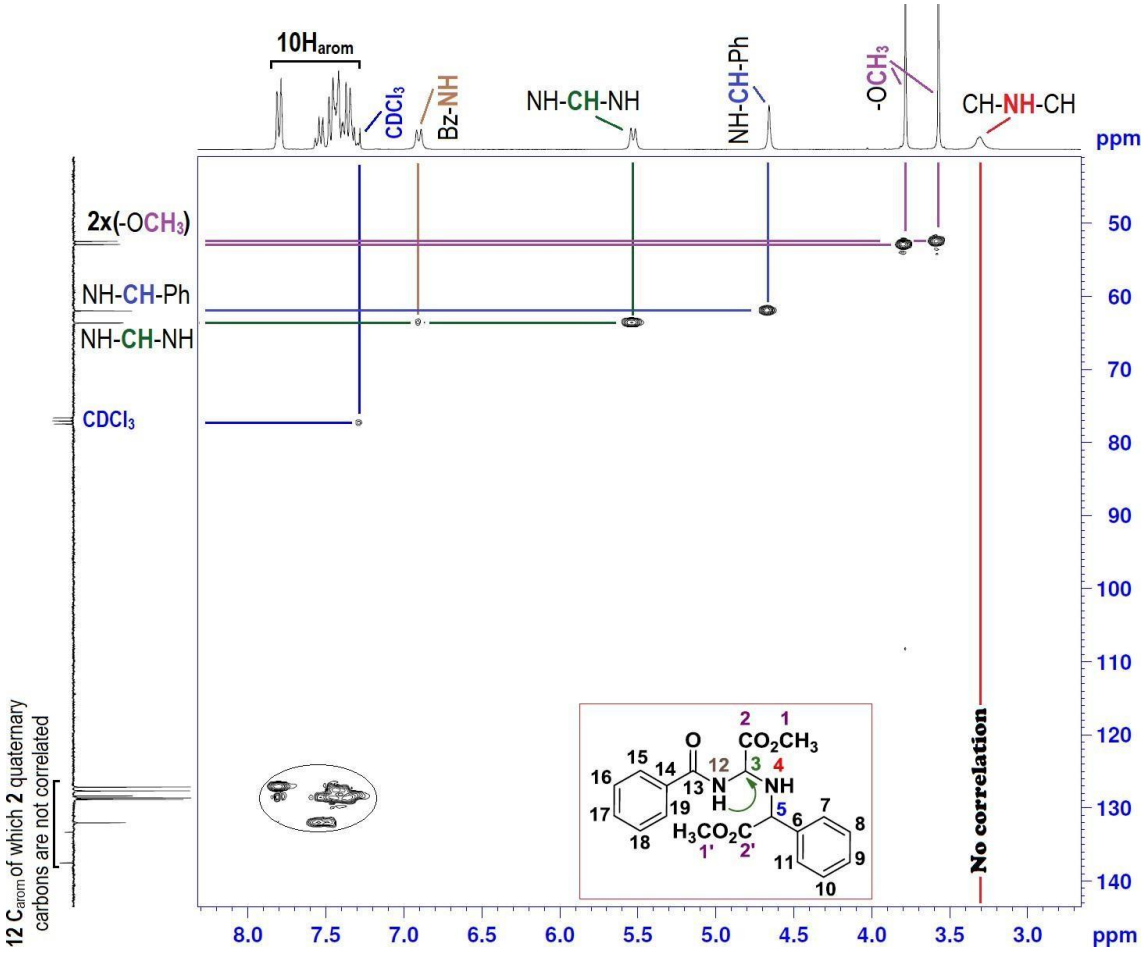


Figure 1. Heteronuclear ^{1}H-^{13}C 2D spectrum of compound **2**.

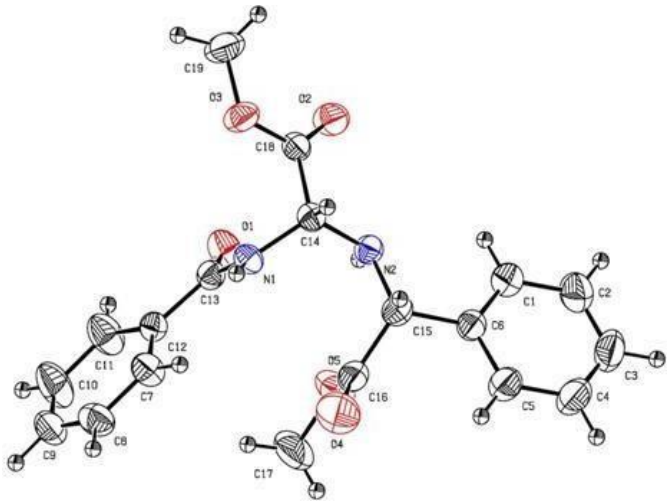


Figure 2. ORTEP diagram of compound **2**.

Table 1. ^{1}H (300.13 MHz) and ^{13}C (75.47 MHz) NMR spectral data for compound **2** in $CDCl_3$, including results obtained by homonuclear 2D shift-correlated and heteronuclear 2D shift-correlated HMBC. Chemical shifts (**δ** in ppm) and coupling constants (*J* in Hz).

Position	δ_H	δ_C	Correlation C-H
1	3.51 (s)	52.44	C^1-$3H^1$
2	-	167.14	-
1’	3.78 (s)	52.88	$C^{1'}$-$3H^{1'}$
2’	-	173.63	-
3	5.52 (d, *J* = 8.4 Hz)	63.62	C^3-$1H^3$ and C^3-$1H^{12}$
4	3.3 (e)	-	-
5	4.65 (s)	61.67	C^5-$1H^5$
12	6.75 (d, *J* = 8.4 Hz)	-	-
13	-	170.14	-
6–11 and 14–19	7.28–7.82 (m)	127.13–137.48	$10C_{arom}$-$10H_{arom}$

Biology Activity

Disc Diffusion Method

The synthesized product exposed diversified antibacterial activity as is shown by the inhibition zones (IZ) in Figure 3. The results from the disc diffusion assay indicated that the tested compound showed important antibacterial activity against Gram-positive bacteria (IZ 08) and Gram-negative bacteria (IZ 08-10).

Resazurin microtiter-plate assay

In this study, we used the modified resazurin microtiter plate assay it is a dye used as an oxidation-reduction indicator in bacterial cell viability assays to evaluate the antimicrobial activity of synthesized products [8]. This method provided the reproducible and accurate results and allowed direct comparison of the antibacterial activity of the tested compounds.

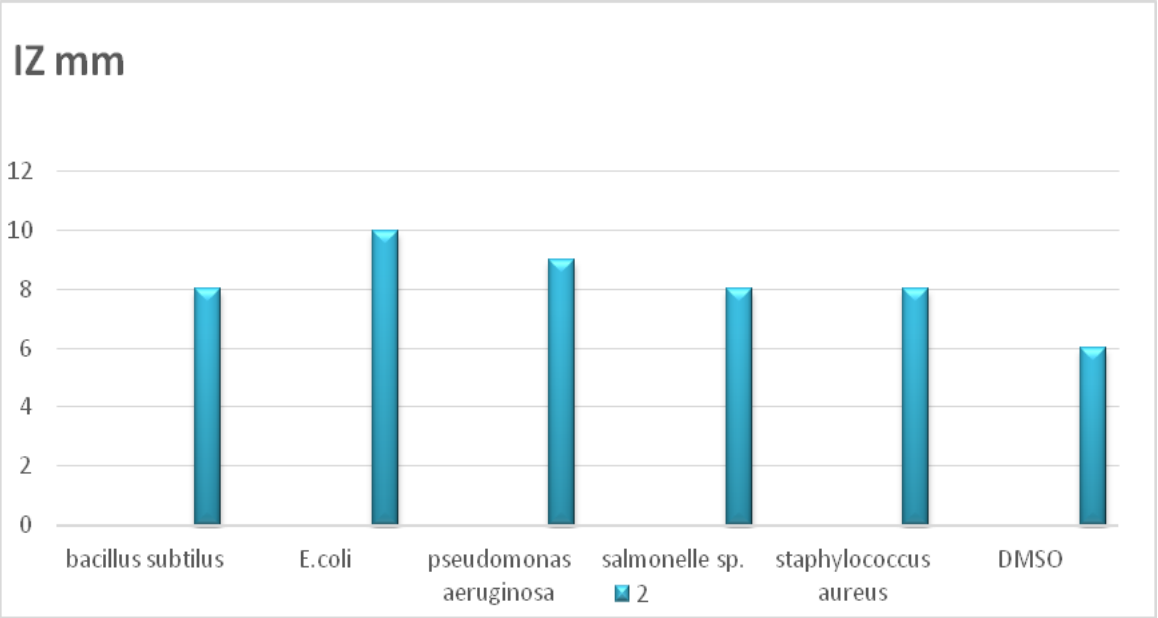


Figure 3. Antibacterial activity (inhibition zone (IZ) measured in mm) of compound **2** against pathogenic bacteria

As can be seen in this Table 2, compound **2** exercised an important inhibitory activity against Gram-negative bacteria more than Gram-positive bacteria. Especially, *Escherichia coli* which have shown a high sensitivity to this compound, with a MIC value of 1.25 mg/mL. The compound **2** showed similar MIC value (2.5 mg/mL) against *salmonella enteric* and *Pseudomonas aeruginosa*, while the growth inhibition of *Bacillus subtilis and Staphylococcus aureus* were achieved at a MIC value of 5 mg/mL.

Table 2. Antibacterial activity minimum inhibitory concentration (MIC) in mg/mL of compound **2** against pathogenic bacteria presented.

	Compound 2	Chloramphenicol
Escherichia coli CIP 53126	1,25	0,05
Staphylococcus aureus CIP 483	5	0,095
S. enterica CIP 8039	2,5	0,05
B. subtilus CIP 5262	5	0.095
P. aeruginosa CIP 82118	2,5	0,05

Experimental

Melting point was determined with an Electrothermal melting point apparatus and was uncorrected. NMR spectra (^{1}H and ^{13}C) were recorded on a Bruker AM 300 (operating at 300.13 MHz for ^{1}H, at 75.47 MHz for ^{13}C) spectrometer (City of Innovation, USMBA-Fez, Morocco). NMR data are listed in ppm and are reported relative to tetramethylsilane (^{1}H, ^{13}C); residual solvent peaks being used as an internal standard. All reactions were followed by TLC. TLC analyses were carried out on 0.25 mm thick precoated silica gel plates (Merck Fertigplatten Kieselgel $60F_{254}$), and spots were visualized under UV light or by exposure to vaporized iodine. Mass spectra were recorded on a PolarisQ Ion Trap GC/MSn Mass Spectrometer (CNRST-Rabat, Morocco). Ortep of compound **2** was obtained on a Bruker APEXII CCD detector diffractometer (CNRST-Rabat, Morocco). Elemental analysis was performed with Flash 2000 EA 1112, Thermo Fisher Scientific-Elemental Analyzer (CNRST-Rabat, Morocco).

To a stirred solution of 2 mmol of methyl 2-amino-2-phenylacetate and 4 mmol of triethylamine in 10 mL of dry methylene chloride,
2.6 mmol of *N*-benzoylated methyl α-azidoglycinate **1** were added. The mixture is stirred at 0°C for 1 hour then at room temperature for 16 hours. The resulting solution was washed with citric acid (15%), then with a saturated solution of sodium bicarbonate

($NaHCO_3$). A single crystal of the title compound is obtained by recrystallization from the ether.

Methyl(2R)-2-benzamido-2-{[(1R)-2-methoxy-2-oxo-1-phenylethyl]amino}acetate **2**: Yield = 86% (white solid); m.p = 126–128 °C.
^{1}H-NMR (300.13 MHz; $CDCl_3$, δ_H ppm): 3.3(e, 1H, NH-CH-Ph); 3.51(s, 3H, -OCH_3); 3.78(s, 3H, -OCH_3); 4.65(s, 1H, NH-CH-Ph); 5.52(d, 1H, N-CH-N, *J* = 8.4 Hz); 6.75(d, 1H, NHBz, *J* = 8.4 Hz); 7.28–7.82(m, 10H_{arom}).
^{13}C-NMR (75.47 MHz; $CDCl_3$, δ_C ppm): 52.44 (1C, OCH_3); 52.88 (1C, OCH_3); 61.97 (1C, NH-CH-Ph); 63.62 (1C, N-CH-N); 127.13–137.48 (10C, C_{arom}); 167.14, 170.14 and 173.63 (3C, CO).
Calcd. for $C_{19}H_{20}N_2O_5$ (%): C, 64.04; H, 5.66; N, 7.86; Found (%): C 63.84, H 5.67, N 7.89.
MS ESI *m/z* (%) = 356.49.

Concerning the disc diffusion method and resazurin microtiter assay plate testing, the operative protocol adopted has already been validated in our previous paper [8].

Conclusion

In summary, the synthesis of methyl (2R)-2-benzamido-2-{[(1R)-2-methoxy-2-oxo-1-phenylethyl]-amino}acetate **2** was performed via *N*-alkylation reaction. The spectroscopic and elemental data are in perfect agreement with the proposed structure of the obtained product. Indeed, the antibacterial screening of compound **2** showed good activity towards all bacterial strains when compared to standard drug Chloramphenicol.

Acknowledgements

This work was supported by Sidi Mohammed Ben Abdellah University (USMBA, Fez), Regional Center for Agronomic Research of Rabat (INRA, Rabat) and National Center for Scientific and Technical Research (CNRST, Rabat).

References

1- V.S. Vinutha, N. Badiadka, K.S. Balladka, *N*-(4-Nitrophenyl)-2-{2-[3-(4-chlorophenyl)-5-[4-(propan-2- yl)phenyl]-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl]-4-oxo-4,5-dihydro-1,3-thiazol-5-yl}acetamide. *Molbank* **2017**, M943. DOI: 10.3390/M943.
2- L.C. Chou, L.J. Huang, J.S. Yang, F.Y.Lee, C.M.Teng, S.C. Kuo, Synthesis of furopyrazole analogs of 1-benzyl-3-(5-hydroxymethyl-2-furyl)indazole (YC-1) as novel anti-leukaemia agents. *Bioorg. Med. Chem*. **2007**, 15, 1732-1740. PMID: 17189698.
3- J. Li, Y.F. Zhao, X.L. Zhao, X.Y. Yuan, P. Gong, Synthesis and anticancer activities of novel 1,4-disubstituted phthalazines. *Molecules* **2006**, 11, 574-582. PMID: 17971729.
4- A.A. Elhenawy, Design, synthesis of new amino acid derivatives and evaluate DNA binding activity, anticancer and antimicrobial activity. *Int. J. of Bioorg. Chem*. **2017**, 2, 36-50. DOI: 10.11648/j.ijbc.20170202.11.
5- R.Z. Yan, X.Y. Liu, W.F. Xu, C. Pannecouque, M. Witvrouw, E. De Clercq, Synthesis and anti-HIV evaluation of the novel 2-(m-chlorobenzyl)-4-substituted-7-methyl-1,1,3-trioxo-pyrazolo[4,5-e] [1,2,4]thiadiazines. *Arch. Pharm. Res*. **2006**, 29, 957-962. PMID: 17146963.
6- R. Subinoy, B. Avinash, M. Rubul, M.R. Vincent, Monolayer coated gold nanoparticles for delivery applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2012**, 64, 200–216. DOI.org/10.1016/j.addr.2011.08.006.
7- E.H. Mabrouk, A. Elachqar, A. Alami, A. El Hallaoui, Synthesis of new racemic α,α-diaminocarboxylic ester derivatives. *Molecules* **2010**, 13, 9354–9363. DOI: 10.3390/molecules15129354.
8- O. Karai, M. El Hamdani, H. Faraj, A. Alami, M.R. Kabbour, A. El Hallaoui, M. Bouksaim, Y. Aouine, Methyl *N*-[1-(benzoylamino)-2-methoxy-2-oxoethyl]-tryptophanate. *Molbank* **2017**, M958; DOI:10.3390/M958.
9- W. Steglich, R. Kober, Untersuchungen zur Reaktion von Acylaminobrommalonestern und Acylaminobromessigestern mit Trialkylphosphiten-eine einfache Synthese von 2-Amino-2-(diethoxyphosphoryl)Essigsäure Ethylester. *Liebigs Ann Chem*. **1983**, 4, 599-609. DOI.org/10.1002/jlac.198319830409.
10- S. Achamlale, A. Elachqar, A. El Hallaoui, S. El Hajji, M.L. Roumestant, Ph. Viallefont, Synthesis of α- triazolyl α-amino acid derivatives. *Amino Acids* **1997**, 12, 257-263. DOI.org/10.1007/BF01373006.
11- S. Achamlale, A. Elachqar, A. El Hallaoui, S. El Hajji, A. Alami, M.L. Roumestant, Ph. Viallefont, Synthesis of biheterocyclic α-amino acid. *Amino Acids* **1999**, 17, 149-163. DOI.org/10.1007/BF01361878.
12- O. Karai, Y. Aouine, H. Faraj, A. Alami, A. El Hallaoui, H. Zouihri, Methyl (2R)-2-benzamido-2-{[(1R)-2-methoxy-2-oxo-1-phenylethyl]amino}acetate. *IUCr Data* **2017**, 2, x171155. DOI.org/10.1107/S2414314617011555.