

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université « Abbes Laghrour » Khenchela



Faculté des Sciences et Technologies

Département des Sciences de la Matière

N° de série : .....

# Mémoire de Fin d'Études

*En vue de l'obtention du diplôme de Master(LMD)*

*Filière : chimie*

**Spécialité** : Chimie des matériaux

**Intitulé**

**Synthèse, détermination structurale, amarrage moléculaire  
d'un nouveau complexe à base du ligand quinolone**

**Réalisé par** : Zeroual Anfel

**Dirigé par** : Dr. Boughougal Amina

**Mahdi** Rihab

**Membres Jury** :

**Dr. Djebaili** Kanza

**Dr. Athmani** Hamza

Présenté le : 17/06/2023



## Remerciement

Notre travail à été réalisé par laboratoire abbes laghrour khenchela elhamma. Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'elle est, sans l'aide d'ALLAH source de toute connaissance qui m'a donné la force afin de l'accomplir **وجهك لجلال ينبغي كما الحمد لك فاللهم و عظيم سلطانك** A réalisation de ce mémoire à été possible grâce au concours de plusieurs personnes a' qui nous voudrions témoigner toute nos reconnaissances au cours de ce travail, on tient à adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de notre formation. Nous tenons à remercier particulièrement Mme **BOUGHOUGAL AMINA**, en tant qu'en cadreur, elle s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour le soutien, l'aide, et le temps qu'elle a bien voulu me consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour. Nous tenons à remercier sincèrement Docteur **ELHAFNAOUI LANEZ** qui nous a aidé afin de réaliser une partie de ce travail. Nos remerciements s'adressent également, aux membres du jury qui ont bien voulu accepter d'évaluer ce travail, Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos remerciements à tous les enseignants du département de Sciences de la Matière qui ont été pour beaucoup dans mon cursus Universitaire et surtout à on n'oublie pas nos petites famille pour leurs contributions, leurs soutiens, leurs encouragements et leurs patiences tout au long de mon parcours scolaire et Universitaire, sans eux on ne serait pas là aujourd'hui. Enfin, on adresse nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenus et encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire.

**Anfel ,Rihab**

## Dédicace

*Je dédie ce travail :*

A mon père, à qui je dois tout le respect et l'amour, pour son soutien,  
Son encouragement et surtout sa confiance en moi.

A ma mère : la lumière qui m'a toujours éclairée le chemin,

A mon étoile et mon plus grand soutien et ma cousine : **ASMA MAHDI**

A mes cher frère : **CHIHAB, ABDOUL MOMEN, MOUSSAB**

Mes chères sœurs : **IMAN, Roukia, SOUHA**

*A mon cher ami :* **HAMZA MHIBLA**

*A ma binôme de ce travail* **ANFEL ZEROUAL** *je tu souhaites le bon courage.*

*Notre promoteur :* **Dr :BOUGHOUAL AMINA**

A tout personne que j'ai connue, et j'ai aimé. A les anges de ma famille : **ASIL, Lilian**

**MahdiRiheb**

## **Dédicace**

Je dédie ce modeste travail :

A mes chères et respectueux parents **Linda** et **Chaouki** pour leurs soutien tout au long de mes études.

A mes chères frères : **Abderrahmane** , **Abdullah**

A ma binôme de ce travail : **MAHDI RIHEB**

A mes chères : **Maroua** , **Rayane**

A mes chères amies

Et a tous les professeurs qui m'ont enseignée du primaire jusqu'à l'universitéJe tiens également à rendre hommage dans le présent travail à mes chères et défunts grands pères **Mustapha ZEROUAL** ET **Abdelmadjid AISSAOUI**

**ZEROUAL ANFEL**

# Liste des abréviations

---

## Liste des abréviations

<b>ADN</b>	Acide Désoxyribonucléique
<b>ARN</b>	Acide Ribonucléique
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>COVID-19</b>	Coronavirus disease of 2019
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IRM</b>	Imagerie par résonance magnétique
<b>IUPAC</b>	International union of pure and applied chemistry
<b>Kcal</b>	Kilocalorie
<b>KV</b>	KiloVolt
<b>MeV</b>	Méga Electron Volt
<b>MOFs</b>	Metal-Organic fram work
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>RMN</b>	Résonance magnétique nucléaire
<b>RMSD</b>	Root-mean-square devviation of atomic positions
<b>RSCB</b>	Romanian society for Cell Biology
<b>SARS-CoV-1</b>	Severe acute respiratory syndrome coronavirus 1

# Liste des figures

---

## Liste des figures

<b>Figure I.1 :</b> Cibles de la principale famille d'antibiotiques	7
<b>Figure I.2 :</b> Structure commune aux quinolones	8
<b>Figure II.1 :</b> conformation 3D du ligand et de son complexe de zinc (ORTEP View 03, V1.08), codes la couleur du carbone est noir, le hydrogéné blanc, l'azote en bleu, l'oxygéné en rouge, le fluor en rose et le zinc en marron	18
<b>Figure II.2 :</b> Conformation 3D du remdesivir téléchargée à partir de la base de données Pub Chem (CID12130416)	19
<b>Figure II.3 :</b> Montage experimental utilise pour la synthèse du complexe	23
<b>Figure II.4 :</b> Appareil de Faraday Appareil pour étudier les décharges électrique dans les gaz. Image : collection du département Des sciences de la matière ENS Lyon	23
<b>Figure II.5 :</b> Tube de Crookes (L'anode est en bas)	24
<b>Figure II.6.1 :</b> Wilhelm Conrad Röntgen	26
<b>Figure II.6.2 :</b> Premier cliché	26
<b>Figure II.7 :</b> la radiographie	27
<b>Figure II.8 :</b> W.L.Bragg et M.Von Laue	27
<b>Figure II.9 :</b> le spectre électromagnétique	28
<b>Figure II.10 :</b> Tube à rayon x	30
<b>Figure II.11 :</b> Production par rayonnement de freinage	31
<b>Figure II.12 :</b> Production par transition électronique	31
<b>Figure II.13 :</b> Schéma illustrant la loi de Bragg	33
<b>Figure II.14 :</b> Cliché de diffraction	33
<b>Figure II.15 :</b> Diffraction RX sur monocristal	34
<b>Figure II.16 :</b> Diffraction RX sur poudre	35
<b>Figure II.17 :</b> La détermination de la structure cristalline	36
<b>Figure II.18 :</b> Dispositif de l'IR	39
<b>Figure II.19 :</b> Les différentes parties d'un spectrophotomètre IR	40
<b>Figure III.20 :</b> Schéma représente que l'Autodok est le plus utilisé	43
<b>Figure III.1 :</b> Structure du complexe $[(Zn(Q1)(H_2O))_3] \cdot 3H_2O$	48
<b>Figure III.2 :</b> Le spectre IR du ligand et son complexe	49
<b>Figure III.3 :</b> Complexe d'arrimage et graphique d'interaction pour le ligand avec Mpro (PDB ID : 6LU7)	50
<b>Figure III.4 :</b> complexe d'arrimage et graphique d'interaction pour le	51

## Liste des figures

---

complexe de zinc avec Mpro (PDB ID : 6LU7)

**Figure III. 5:** Complexe d'amarrage et graphique d'interaction pour le Remdesivir avec Mpro(PDB ID : 6LU 7) 51

# Liste des Schémas

---

## Listedes schémas

Schéma III .1 : Le Mécanisme de synthés.

47

## Liste des Tableaux

---

### Listes des tableaux

<b>Tableau I.1</b> : Les géométries des complexes en fonction du nombre de ligand	<b>11</b>
<b>Tableau II.1</b> : Informations sur le récepteur	<b>20</b>
<b>Tableau III.1</b> : Absorptions caractéristiques en $\text{cm}^{-1}$ ligand / complexe	<b>48</b>
<b>Tableau III.2</b> : Affinité de liaison pour le ligand et son complexe de zinc avec la protéase principale du SRAS CoV-2 (PDB ID : 6LU7)	<b>50</b>
<b>Tableau III. 3</b> : Données Cristallographique $[(\text{Zn}(\text{Q1}) (\text{H}_2\text{O})).3\text{H}_2\text{O}]$	<b>63</b>
<b>Tableau III.4</b> : Longueurs [ $\text{\AA}$ ] et angles de liaison [ $^\circ$ ] dans le complexe : $[(\text{Zn}(\text{Q1}) 2 (\text{H}_2\text{O})).3\text{H}_2\text{O}]$	<b>63</b>

# Sommaire

---

<b>Sommaire</b>	
<b>Remerciement</b>	
<b>Dédicace</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste des Figures</b>	
<b>Listes des schémas</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Introduction générale</b>	2
<b>Chapitre I</b>	5
<b>Chapitre I : Etude bibliographique sur les antibiotiques, les complexes</b>	6
I.1.Généralités sur les antibiotiques	6
I.1.2.Définition des antibiotiques	6
I.1.3.Classification des antibiotiques	6
I.1.4.Mode d'action	7
I.1.5.Les quinolones	7
I.1.6.Mécanisme d'action	8
I.1.7.Classification des quinolones	8
I.2.Les complexes	9
I.2.1.Quelques définitions	9
I.2.2.Les ligands	10
I.2.3.Géométrie des complexes	10
I.2.4.Nomenclature des complexes	11
I.2.5.Propriétés et applications des complexes	12
I.2.5.a. Chimie analytique	13
I.2.5.b. Biochimie	13
<b>Chapitre II</b>	16
<b>Chapitre II :Le protocole expérimentale et les techniques d'analyses utilisées</b>	17
II.1.Objectif	17
II.2.Appareillage:	17
II.3.Diffraction des rayons X	17
II.4.Spectroscopie Infrarouge	18
II.5.L'amarrage moléculaire	18
II.5.1. Préparation du ligand	18
II.5.2. Préparation des récepteurs	19

# Sommaire

---

II.5.3. Etudes d'amarrage moléculaire	20
II.6. Réactifs utilisés et leurs propriétés	21
II.7. Solvants utilisés et leurs propriétés	22
II.8. Montage expérimental utilisé pour la synthèse des complexes	22
II.9. Techniques de caractérisations utilisées lors de ce travail	23
II.9.1. Diffraction des rayons X	23
II.9.1.a. La découverte des rayons X	25
II.9.1.b. Premières utilisations en imagerie médicale	26
II.9.1.c. Premières résolutions structurales par la diffraction des RX	27
II.9.1.d. Définition des rayons X	28
II.9.1.e. La nature des rayons X	28
II.9.1.f. Propriétés des rayons X	29
II.9.1.g. L'interaction des photons X avec la matière	29
II.9.1.h. Description microscopique des interactions	30
II.9.1.i. Production des rayons X	30
II.9.1.j. Diffraction des rayons X	31
II.9.1.k. Principe de la diffraction des rayons X	32
II.10. Les méthodes d'analyses par diffraction RX	33
II.10.1. Diffraction RX sur monocristal	34
II.10.2. Diffraction RX sur poudre	34
II.11. La détermination de la structure cristalline	35
II.11.1. Méthode essais erreurs	36
II.11.2. Méthode de l'atome lourd	36
II.11.3. Méthode de patterson	36
II.11.4. Les méthodes directes	37
II.12. Spectroscopie Infrarouge	38
II.12.1. Principe	39
II.12.2. Appareillage	39
II.12.3. Application de l'infrarouge	40
II.12.4. Principales parties d'un spectrophotomètre IR	40
II.13. Amarrage moléculaire	40
II.13.1. Introduction	41
II.13.2. Les outils du docking moléculaire	41
II.13.3. Autodock	42

# Sommaire

---

II.13.4.Le docking	43
II.15.5.Le redocking	43
<b>Chapitre III</b>	<b>45</b>
<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>	<b>46</b>
III.1.Introduction	46
III.2.Synthèse des complexes	47
III.2.1.Synthèse de complexes a bases de Cipro floxacine	47
III.3. Caractérisation du complexe	47
III.3.1. Caractérisation par diffraction des rayons X	47
III.3.1.a. Description de la structure	47
III.4. Caractérisation du complexe par spectroscopie Infrarouge	48
III.5. Etudes d'amarrage moléculaire	49
III.5.1. Activité antibiotique in silico	49
<b>Conclusion générale</b>	<b>53</b>
<b>Annexes</b>	<b>63</b>
<b>Références bibliographiques</b>	

# *Introduction générale*

### Introduction générale

En décembre 2019, un nouveau coronavirus a été identifié dans la ville de Wuhan, en Chine, [1]. En février 2020, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a désigné le nom de COVID-19 pour désigner la maladie causée par ce virus, qui a été initialement appelé en CoV-2019, puis SARS-CoV-2 par le comité international de taxonomie des virus [2,3].

Les médicaments antipaludéens à base de fraction quinolone tels que la chloroquine et l'hydroxychloroquine font partie des antibiotiques utilisés pour traiter les patients hospitalisés en raison du COVID-19 [2,3]. Ces médicaments ne sont utilisés que dans des cas d'urgence et dans des conditions particulières à cause de leurs toxicités pendant l'utilisation.

Parmi les médicaments utilisés pour prévenir l'aggravation de la COVID-19 on trouve le remdesivir. Il est uniquement administré aux patients qui présentent un risque élevé d'être hospitalisés en contractant la COVID-19 en raison de leur âge ou de leurs problèmes de santé. Ce médicament empêche le virus de se multiplier dans les cellules dans le corps.

Malheureusement il n'existe pas de médicaments spécifiques contre ce virus, sauf quelques vaccins tels que : la vaccination à partir d'ARN, d'ADN, de protéine recombinante ou de vecteur viral [1] qui sont disponibles sur le marché. Pour cette raison, maintes recherches chimiques ont été réalisées afin de développer de nouvelles molécules organiques possédant des activités prometteuses contre ce virus.

Actuellement nous savons que les complexes métallo-antibiotique présentent un intérêt très important pour la chimie bio inorganique, tirant parti de l'effet synergique pour aboutir à des composés ayant une activité pharmacologique améliorée. La reconnaissance du rôle des ions métalliques dans les systèmes biologiques et dans le traitement de diverses maladies attire l'attention sur les avantages d'étudier l'interaction des ions métalliques avec les molécules de médicaments organiques. On peut notamment citer les complexes cuivre (II)/sparfloxaciné considérés comme les complexes les plus actifs contre *S. aureus* et *P. aeruginosa* [4].

Dans ce mémoire notre objectif est de synthétiser, caractériser par diffraction des Rayon X monocristalline et infrarouge un nouveau composé de coordination à base d'ion métallique et de molécule bioactive commerciale (de type quinolone), afin d'évaluer l'efficacité de ce composé contre le COVID -19, une analyse d'amarrage moléculaire a été effectuée où nous avons étudié l'interaction de la liaison entre la protéase principale COVID-19 (M<sup>pro</sup>) avec le ligand et son complexe à l'aide AutoDock Vina [5]. Les valeurs de la concentration inhibitrice du ligand et de son complexe ont été comparées aux valeurs de la concentration inhibitrice du remdesivir. L'étude d'amarrage moléculaire a été réalisée en

## Introduction générale

---

collaboration avec Dr Elhafnaoui LANEZ Maître de Conférences en Chimie à L'université de El-Oued, Algérie.

Notre travail est réparti en trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur les antibiotiques, les complexes.
- Les techniques d'analyses et le matériel utilisé est présenté dans le deuxième chapitre
- Le dernier chapitre est réservé à la synthèse, la caractérisation, l'interprétation et la discussion des différents résultats obtenu

Enfin ce mémoire est clôturé par une conclusion générale

# *Chapitre I*

## *Etude*

### *bibliographique.*

### Chapitre I : Etude bibliographique sur les antibiotiques, les complexes

#### I.1.Généralités sur les antibiotiques :

##### I.1.2.Définition des antibiotiques :

On nomme « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par transmutation chimique d'une molécule de base naturelle selon les propriétés suivantes :

- Activité antibactérienne.
- Activité en milieu organique.
- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme.

##### I.1.3.classification des antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent être classés selon :

**3.1.Origine** : élaboré par un organisme ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).

**3.2.Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.

**3.3.Spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquels les antibiotiques sont actifs.

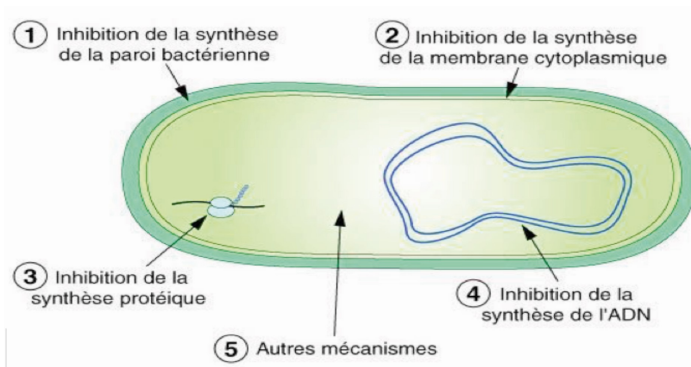
**3.4. Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle  $\beta$ lactame) sur laquelle il y a héli synthèse.

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles ( $\beta$  lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc.) Nous choisirons la classification selon le mode d'action.

### I.1.4.Mode d'action :

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. (Figure I.1) Action sur la paroi bactérienne (peptidoglycane) ;

- Action sur la structure de la membrane cytoplasmique bactérienne ;
- Action sur la synthèse protéique bactérienne ;
- Action sur la synthèse de l'ADN de la bactérie ;
- Action sur la synthèse des folates



**Figure I.1** : Cibles des principales familles d'antibiotiques  
(Mingoetleclercq,1999)

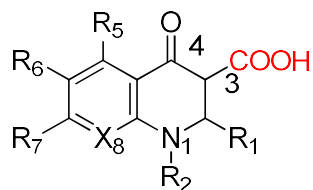
### I.1.5.Les quinolones :

Les quinolones sont les premiers agents antibactériens de synthèse utilisés chez l'homme. Ils forment une classe d'antibiotiques qui a pris une place importante dans l'arsenal thérapeutique depuis le tout premier agent, l'acide nalidixique, jusqu'au fluoroquinolones de quatrième génération.

Les quinolones sont des molécules obtenues par synthèse chimique, qui dérivent d'acide carboxylique hétérocycliques diversement substitués. Toutes les quinolones actuelles

## Chapitre I : Etude bibliographique sur les antibiotiques, les complexes

présentent une structure bicyclique décrite sur la **figure I.2** avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3 et un carbonyle en position 4. Les fluoroquinolones, dérivés des quinolones, ne diffèrent que par la substitution d'un atome de fluor en position 6.



**Figure I.2.** :Structure commune aux quinolones

### I.1.6. Mécanisme d'action

Les Quinolones inhibent spécifiquement la synthèse d'ADN bactérien en agissant sur les topoisomérases de type II :

- l'ADN gyrase : cible préférentielle des bactéries à Gram négatif
- la topoisomérase IV : cible préférentielle des bactéries à Gram positif

### I.1.7. Classification des quinolones : [6.7.8.9.10]

Les quinolones sont habituellement classées en première, seconde, troisième et quatrième génération.

- La première génération n'est active que sur quelques bactéries Gram(-) (bactéries enveloppées d'une membrane plasmique, d'une mince paroi de peptidoglycane et d'une membrane externe) et comprend : la cinoxacine, l'acide nalixique, la flumequine, et l'Acide oxolonique. Ils sont utilisés dans les cas d'infections urinaires. Cette génération comprend un seul produit fluoré : la flumequine.
- La deuxième génération contient : L'Enrofloxacin, la ciprofloxacin, la norfloxacin, l'ofloxacin, cette génération est beaucoup plus active sur des bactéries Gram(-) mais peut être active sur certaines pathologies à Gram(+) (c'est une bactérie enveloppée d'une membrane plasmique doublée d'une épaisse paroi de peptidoglycane et dépourvue d'une membrane externe).

## Chapitre I : Etude bibliographique sur les antibiotiques, les complexes

---

- La troisième génération, conçue pour couvrir plus de germe Gram(+), contient sparfloxacine, gatifloxacine, moxifloxacine.
- La quatrième génération contient : Lévofloxacine, et Trofloxacine, cette classe est la plus récente d'un point de vue commercial mais souffre cependant des retraits successifs des molécules d'où leurs limitations d'usage.

### I.2. Les complexes :

#### I.2.1. Quelques définitions

Un complexe (ion ou molécule de coordination) est une molécule constituée d'un ou de plusieurs atome(s) central (aux) (ion métallique) lié(s) à un certain nombre de ligands ou coordinats.

Les ligands, peuvent être des atomes (H, O, Cl, ...etc.), des fragments moléculaires ( $\text{CR}_3$ ,  $\text{NR}_2$ , ...etc.) ou des molécules ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{PR}_3$ ,  $\text{R}_2\text{C}=\text{CR}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , ...etc.).

L'atome central est un acide de Lewis, il possède plusieurs lacunes électroniques (orbitales atomiques vides).

Les ligands sont des bases de Lewis, ils possèdent un ou plusieurs doublets d'électrons libres. Nous pouvons donc imaginer que tout ion positif comme un acide de Lewis est susceptible de s'associer à une base de Lewis pour former un complexe. Les ions des éléments de transition sont parmi ceux qui forment un grand nombre de complexes.

Le nombre de ligands est appelé nombre de coordination (sauf dans le cas de ligands polydentates).

Le ligand peut se coordonner au métal de plusieurs façons :

Un ligand terminal : se coordonne à un seul métal.

Un ligand pontant : se coordonne à deux métaux ou plus.

Un ligand chélatant : les ligandpolydentates, peuvent se coordonner avec deux atomes ou plus avec le même métal, permettant ainsi la formation d'une structure cyclique. La

## Chapitre I : Etude bibliographique sur les antibiotiques, les complexes

---

formation de tels cycles par coordination est appelée chélation et le ligand est appelé un ligand chélatant.

Les complexes mononucléaires ont un seul ion métallique central, les complexes polynucléaires ont plusieurs ions métalliques centraux liés par des ligands formants un pont, ou par des liaisons directes métal-métal.

Un complexe qui réagit rapidement lors de la substitution d'un ligand par un autre est dit labile.

Un complexe qui réagit lentement lors de la substitution d'un ligand par un autre est dit inerte.

### I.2.2. Les ligands :

Il existe essentiellement deux types de ligands :

-Ceux qui apportent une ou plusieurs paires d'électrons au métal qu'on appelle les ligands "pairs" notent  $L$  ou  $L_n$ ,  $n$  étant le nombre de paires d'électrons donnés au métal.

Les ligands  $L$  assurent la liaison métal-ligand par les deux électrons d'une paire libre d'un hétéroatome (N, O, P, S, etc.) ou deux électrons d'une liaison entre deux atomes du ligand  $L$

- Ceux qui apportent un électron ou un nombre impair d'électron au métal, appelés ligands radicalaires notés  $X$  (un électron) ou  $L_nX$  (nombre impair d'électrons).

### I.2.3. Géométrie des complexes:

Un complexe est caractérisé par sa géométrie qui dépend de son nombre de coordination. Les géométries les plus répandues sont l'octaèdre (pour six ligands) et le tétraèdre ou plan carré (pour quatre ligands).

Le tableau I.1 regroupe l'ensemble des géométries des complexes en fonction du nombre de ligands

C	Géométrie	Représentation	exemple
2	linéaire		$[\text{NC-Ag-CN}]^-$
3	trigonale		
	forme de T		$[\text{Rh}(\text{PPh}_3)_3]^+$
4	tétraèdre		
	plan carré		
5	bipyramide trigonale		
	pyramide à base carrée		$[\text{Co}(\text{CNPh})_5]^{2+}$
6	octaédrique		
	pseudo-octaédrique		
	antiprisme		$[\text{WMe}_6]$
7	octaèdre cappé		$[\text{ReH}(\text{PR}_3)_3(\text{MeCN})_3]^+$
	biprisme pentagonal		$[\text{IrH}_5(\text{PPh}_3)_2]$

Tableau I.1. Les géométries des complexes en fonction du nombre de ligands [11]

### I.2.4. Nomenclature des complexes :

## Chapitre I : Etude bibliographique sur les antibiotiques, les complexes

---

La nomenclature est importante dans la Chimie de Coordination en raison de l'existence des isomères. En 1970, l'union internationale de chimie pure et appliquée (IUPAC) a recommandé de changer les règles de Nomenclature Inorganique datant de 1957. De nombreux manuels ne respectent pas ces nouvelles règles.

Les règles à respecter sont les suivantes :

1. Dans l'ion complexe, le nom du ligand ou des ligands précède celui de l'atome métallique central (c'est l'inverse dans l'écriture de la formule).

2. Le nom du ligand se termine généralement par 'o' si le ligand est négatif ('**chloro**' pour Cl-, '**cyano**' pour CN-, '**hydrido**' pour H-)

Quelques ligands ont des noms particuliers : '**aqua**' pour eau, '**ammine**' pour NH<sub>3</sub>, '**carbonyl**' pour CO, '**nitrosyl**' pour NO.

3. Un préfixe grec (**mono**, **di**, **tri**, **tetra**, **penta**, **hexa**, etc.) indique le nombre de chacun des ligands (**mono** est omis dans le cas d'un unique ligand d'un type donné). Si le nom du ligand contient lui-même les termes **mono**, **di**, **tri**, egtriphenylphosphine, alors le nom du ligand est mis entre parenthèses et son nombre est donné avec les préfixes bis, **tris**, tetrakis...

4. Un chiffre Romain ou un zéro entre parenthèses est utilisé pour indiquer le nombre d'oxydation de l'atome métallique central.

5. Si l'ion complexe est négatif, le nom du métal finit en '**ate**' comme dans ferrate, cuprate, nickelate, cobaltate etc.

6. Si plus d'un ligand est présent dans le complexe, les ligands sont nommés par ordre alphabétique quel que soit leur nombre. Par exemple : NH<sub>3</sub> (**ammine**) doit être considéré comme un ligand commençant par 'a' et vient avant Cl- (**chloro**).

### I.2.5. Propriétés et applications des complexes

#### I.2.5.a. Chimie analytique :

**a.1. Analyse qualitative :** la complexation permet la caractérisation d'ions (métalliques) grâce à leur teinte.

**a.2. Métallurgie extractive :** La complexation permet l'extraction de minerais dans la roche grâce à des solutions.

#### a.3. Purification d'eau :

On peut éliminer différents ions métalliques par complexation :  $\text{Cu}_2^+$ ,  $\text{Fe}_2^+$ ,  $\text{Ca}_2^+$ ... et surtout les métaux lourds : Cd, Hg... avec des ligands encombrants comme EDTA (Ethylène Diamine TetraAcétique).

#### a.4. Catalyse :

Plus de 20 procédés industriels utilisent des complexes de coordination comme catalyseurs dans des réactions d'hydrogénation, d'oxydation, synthèse d'acides, d'alcools.....

#### I.2.5.b. Biochimie : (chimie bio-inorganique)

Etude du rôle du métal dans divers processus biologiques Composés naturels :

#### b.1. Propriétés physiques :

##### b.1.1. Conductivité

##### b.1.2. Propriété photoélectrique (cellules photovoltaïques)

Magnétisme moléculaire (molécule aimant) (Stockage d'informations)

##### b.1.3. Luminescence : diagnostique de la maladie d'Alzheimer ou en Imagerie

Médicale : on utilise des complexes comme agents de contraste pour les IRM (Imagerie par résonance magnétique) comme les complexes de gadolinium.

### **b.1.4.Machines moléculaires :**

Des molécules qui s'entrecroisent dont le mouvement peut être circulaire ou rotatif sous l'effet de la lumière, courant, E, T.....)

**b.1.5.Pigments (colorants) :** le ferricyanure ferrique de potassium  $KFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]$

**b.1.6.Métal Organic Framworks (MOFs) :** ou les réseaux métallo-organiques, composés de coordination présentent de nouvelles possibilités pour le stockage de grande quantités de gaz.

***Chapitre II :***  
***Le protocole***  
***expérimental et les***  
***techniques d'analyses***  
***utilisées***

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

### II.1.Objectif :

L'objectif principal de ce travail est de synthétiser par voie chimique de nouveaux composés de coordination à base d'ions métalliques et de molécules bioactives de type (Quinolones). Afin d'évaluer l'efficacité de ce composé contre le COVID -19, une analyse d'amarrage moléculaire à été effectuée où nous avons étudié l'interaction de la liaison entre la protéase principale COVID-19 (Mpro) avec le ligand et son complexe à l'aide AutoDock Vina5.[10]

### II.2.Appareillage :

Balance, Erlenmeyer, barreau magnétique, un agitateur magnétique, pipette simple, cristallisateur, verre de montre.

### II.3.Diffraction des rayons X :

Les mesures de diffraction des rayons X sur monocristal ont été réalisées à l'aide d'un diffractomètre de type Oxford Gemini (source au Molybdène  $\lambda = 0.7173\text{\AA}$ ), généralement à température ambiante. Les données ont ensuite été traitées (intégration) à l'aide des programmes affiliées au diffractomètre (crystalis), toutes les données de tous les enregistrements ont été soumises à une correction d'absorption (analytique) basée sur la forme du cristal et la formule brute du complexe. Les structures ont été résolues par le programme SIR97 et affinées à l'aide du programme **Cristaie**.

Tous les paramètres des déplacements atomiques pour tous les atomes, sauf les atomes d'hydrogène, ont été affinés de façon anisotropiques, les atomes d'hydrogène, quant à eux, ont été positionnés à la densité électronique résiduelle soit en tenant compte de la présence de potentielles liaisons hydrogènes, soit en fonction de l'hydrogène considéré.

Dans tous les cas, le modèle Reding a été appliqué lors de l'affinement (contraintes sur les longueurs de liaisons, sur les paramètres de déplacements atomiques).

Pour la structure cristalline, les conditions d'enregistrements ainsi que les résultats de l'affinement sont regroupés dans un tableau en Annexes. Les angles de liaison ainsi que les

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

longueurs de liaison et les distances importantes sont rassemblées dans un tableau en Annexes.

### II.4.Spectroscopie Infrarouge

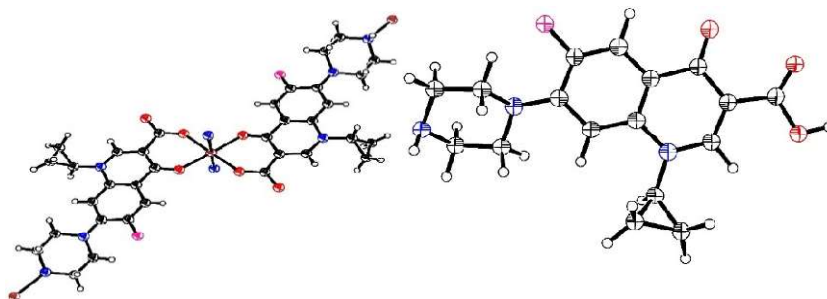
Les spectres FT-IR ont été réalisés de 4000 à 200  $\text{cm}^{-1}$  avec un Nicolet 380 FT-IR spectromètre FT-IR couplé avec le total atténué Accessoire de réluctance (ART).

### II.5.L'amarrage moléculaire

#### II.5.1.Préparation du ligand :

Afin d'évaluer les études d'amarrage moléculaire, une structure tridimensionnelle entièrement optimisée des composés a été obtenue en utilisant la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT), les calculs ont été réalisés avec le package Gaussian 09 [12]. La fonctionnelle d'échange de Becke et la fonctionnelle de corrélation de Lee, Yang et Parr (B3LYP) ont été utilisées avec un ensemble de bases 6-311 G ++ (d, p) [13,14]. La Figure II.1 montre les structures optimisées pour les composés.

La structure bidimensionnelle (2D) de l'analogue nucléotidique antiviral utilisée pour le traitement de la nouvelle maladie du coronavirus a été téléchargée à partir de la base de données PubChem[15], convertie en structure tridimensionnelle (3D) et ensuite préparée pour l'amarrage. La figure II.2 présente la structure 3D du Remdesivir

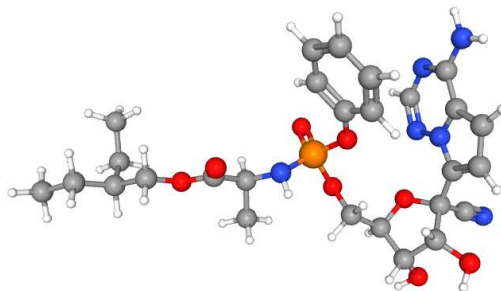


**Figure II.1** Conformation 3D du ligand et de son complexe de zinc, (ORTEP View 03, V1.08) ; codes la couleur du carbone est noir, le hydrogène en blanc, L'azote en

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

bleu, L'oxygène en rouge, le fluor en rose et le zinc en marron.



**Figure II.2.** Conformation 3D du Remdesivir téléchargée à partir de la base de données PubChem (CID 121304016)

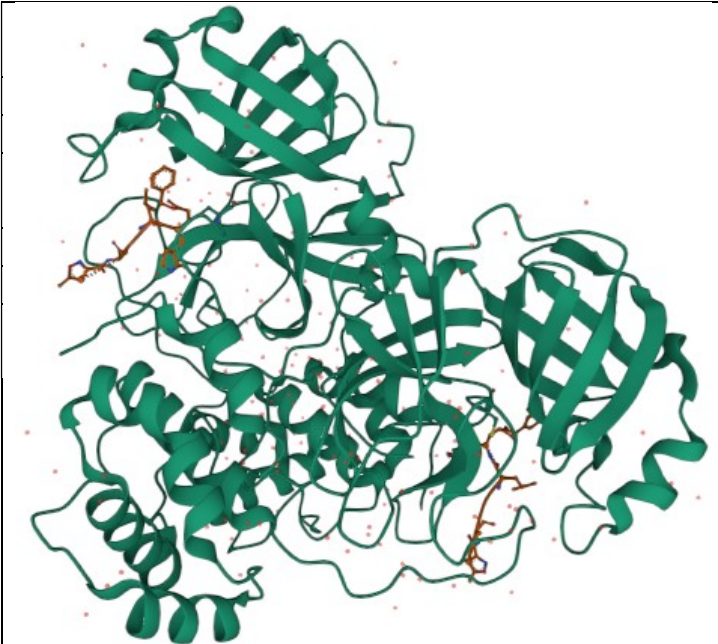
### III.5.2. Préparation des récepteurs :

La protéase principale du SARS CoV-2 (Mpro) (PDB ID : 6LU7) a été choisie comme cible pour cette étude (**tableau II.1**), la structure 3D du récepteur cible a été obtenue à partir de la RSCB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/structure/6LU7>) [16].

Le récepteur a été préparé à l'aide d'AutoDock Tools (ADT) [17], selon les étapes suivantes :

- L'élimination de toutes les molécules d'eau
- L'élimination de tous les cofacteurs,
- L'ajout d'hydrogènes polaires
- L'ajout des charges de Kollman.

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

	Protéase principale du SRAS CoV-2	
	ID de PDB	6LU7
	Resolution (Å)	2.16
	R-Valeur gratuite	0.235
	R-Valeur	0.202
	Mutation(s)	No
	Groupe d'espace	C 1 2 1
Chaînes	A	

**Tableau II.1** Informations sur le récepteur

### III.5.3. Études d'amarrage moléculaire :

Pour étudier les interactions de la liaison entre le récepteur (protéase principale du SARS CoV-2), le ligand et le complexe du zinc, un docking automatisé des composés a été réalisé en utilisant AutoDock [5]. La carte en grille qui représente le site de liaison des protéines pour l'amarrage a été calculé à l'aide d'Auto Grid.

La taille de la grille est 60 x 60 x 60 points Å, dans chaque dimension, des espacés de 0,5 Å avec les coordonnées  $X = -12,415$ ,  $Y = 12,303$  et  $Z = 69,983$  a été définie pour la protéase principale SARS CoV-2. Toutes les torsions possibles des molécules pour l'algorithme d'amarrage ont été utilisées via l'utilitaire autotors dans les outils AutoDock et l'amarrage a été effectué avec les paramètres suivants :

- 15 essais d'amarrage,
- 150 taille de population,
- 250 000 nombre maximum d'évaluations énergétiques,
- 27 000 nombre maximum de générations,

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

0,02 taux de mutation,

0,8 taux de croisement,

1 valeur d'élitisme et d'autres paramètres comme valeurs par défaut.

Enfin, la pose d'amarrage avec le meilleur score d'interaction de la liaison (kcal/mol) est classée comme l'orientation supérieure de chaque ligand contre Mpro, les meilleures poses avec l'énergie d'amarrage la plus faible [18-19] ont été sélectionnées et utilisées dans l'interaction de liaison d'amarrage.

**Analyse :** Les interactions d'amarrage ont été visualisées à l'aide des options d'interaction récepteur-ligand par Discovery Studio v2.5. [20].

### II.6.Réactifs utilisés et leurs propriétés :

#### Ciprofloxacin (HQ1) 97 % (Aldrich)

Formule brute:  $C_{17}H_{18}FN_3O_3$

Masse molaire (g/mol) : 331,346 g/mol

Forme : Poudre

Couleur : blanc

Solubilité : soluble dans le méthanol

#### Propriétés :

Point de fusion : 255 à 257 °C 318 à 320 °C

Solubilité : soluble dans le méthanol

Le sel métallique : Perchlorate de zinc hexahydraté  $Zn(ClO_4).6H_2O$

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

### II.7. Solvants utilisés et leurs propriétés :

#### Méthanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ )

Masse molaire (g/mol) : 32.04.

Point d'ébullition ( $^{\circ}\text{C}$ ) : 64.7 $^{\circ}\text{C}$ .

Point de fusion : -97.6 $^{\circ}\text{C}$ .

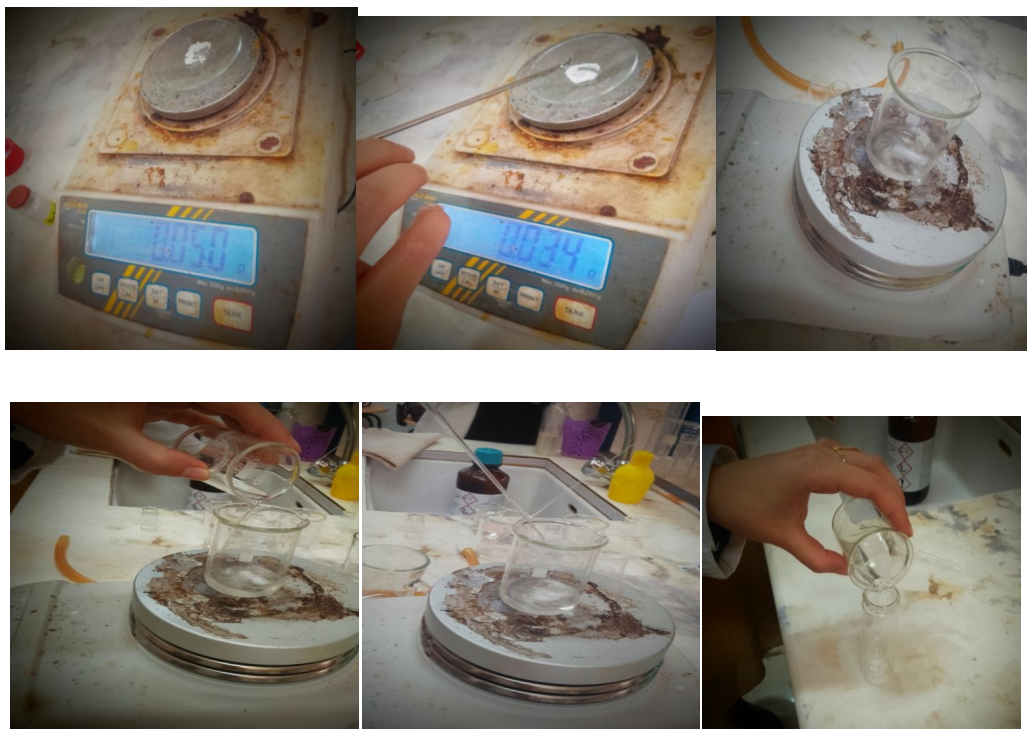
#### L'ammoniac ( $\text{NH}_3$ )

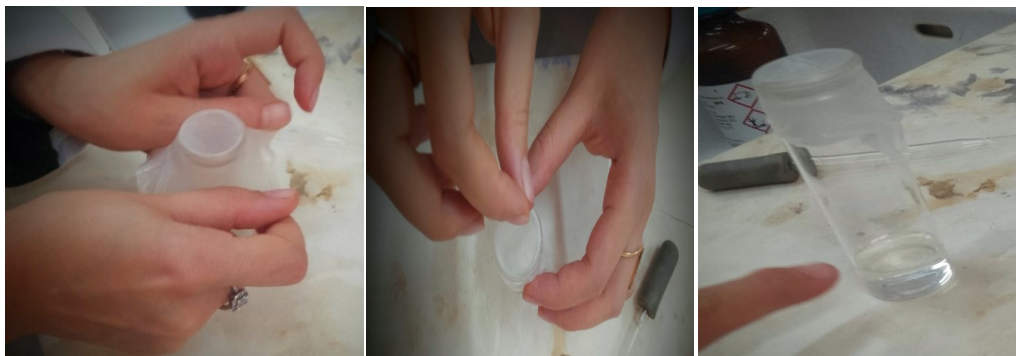
Masse molaire (g/mol) : 17.031.

Point d'ébullition ( $^{\circ}\text{C}$ ) : -33,34  $^{\circ}\text{C}$ .

Point de fusion : -77.73  $^{\circ}\text{C}$ .

### II.8. Montage expérimental utilisé pour la synthèse du complexe :





**Figure II.3** : Montage expérimental utilisé pour la synthèse du complexe

### II.9. Techniques de caractérisations utilisées lors de ce travail :

#### II.9.1. Diffraction des rayons X :

En 1838, le chimiste et physicien britannique Faraday s'intéresse aux décharges électriques dans les gaz raréfiés grâce à un dispositif (**Figure II.4**) : une anode et une cathode sont placées en vis-à-vis dans un tube en verre, la cathode est mise sous tension et si celle-ci est assez élevée cela déclenche une étincelle entre les deux électrodes.

Si on diminue la pression du gaz dans l'ampoule, on constate que l'apparence de l'étincelle se change en une émanation violette. Faraday pense alors avoir découvert un quatrième état de la matière qu'il nomme « matière radiante ».

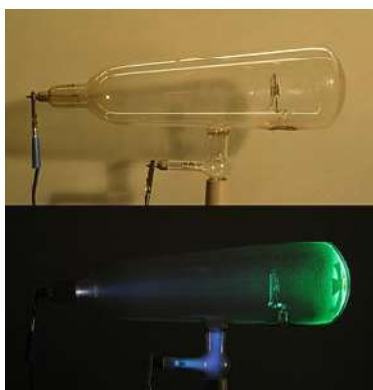


**Figure II.4** : Appareil de Faraday. Appareil pour étudier les décharges électriques dans les gaz. Image : collection du département Des sciences de la matière ENS Lyon

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

Cette expérience fut reprise tout au long du dix-neuvième siècle en variant de nombreux paramètres (nature du gaz, forme du tube, pression dans l'ampoule...), mais la nature du phénomène observé restait incomprise. Les progrès techniques dans la conception des ampoules à vide et des pompes à vide permettent au physicien allemand Plücker d'observer que le vide poussé rend le tube très résistant au passage du courant : la haute tension ne provoque plus qu'une fluorescence verte sur certaines parois du tube en verre et en particulier en face de la cathode. En 1869, son élève Hittorf prouve que cette lueur est due à l'arrivée sur le verre de rayons qui se propagent en ligne droite depuis la cathode. Pour cela il dispose une croix métallique face à la cathode et observe l'ombre de cette croix sur la paroi du tube opposée à la cathode (**Figures II.5**). Ces rayons seront nommés « rayons cathodiques ». Il montre également que les rayons cathodiques peuvent être déviés par un aimant.



**Figure II.5** : Tube de Crookes (L'anode est en bas).

L'arrivée des rayons cathodiques sur la paroi du tube provoque la fluorescence du verre, la croix de malte fait obstacle à ces rayons, on en voit l'ombre sur la paroi du tube. Image : The Cathode Ray Tube site [\[21\]](#)

Par la suite, le chimiste et physicien Crookes perfectionnera encore le dispositif en créant les tubes qui portent son nom. Au sein d'un tube de Crookes, la pression résiduelle est comprise entre 1 et 100 Pa et la cathode est concave pour concentrer le rayonnement. Ce sont ces tubes qui permettront au physicien anglais Thompson d'élucider la nature du rayonnement cathodique en découvrant l'électron en 1897 et à l'allemand Röntgen de découvrir les rayons X.

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

### II.9.1.a. La découverte des rayons X :

En 1895, le physicien allemand Wilhelm Röntgen alors âgé de 50 ans étudie le rayonnement cathodique avec des tubes de Crookes. Il s'intéresse plus précisément à la pénétration des rayons dans le verre. Il a déjà été constaté à l'époque que les rayons cathodiques peuvent franchir la paroi du tube et pénétrer de quelques centimètres dans l'air.

Dans la soirée du 8 novembre 1895, au cours de ses travaux préliminaires il décide de recouvrir le tube d'un cache en carton noir. Il constate alors qu'un écran recouvert d'une couche de platinocyanure de baryum placé fortuitement en face du tube devient fluorescent lors de la décharge. Or il sait qu'à cette distance, la fluorescence ne peut pas être due aux rayons cathodiques. Il éloigne encore l'écran et constate que la fluorescence persiste malgré l'augmentation de la couche d'air à traverser, puis il intercale des objets entre l'ampoule et l'écran : une feuille de papier, une feuille d'aluminium, du bois, du verre et même un livre de mille pages, à chaque fois la fluorescence persiste : il en conclut qu'il vient de découvrir un rayonnement distinct de celui émis par la cathode, très pénétrant puisqu'il est capable de traverser la matière.

Ces rayons étant inconnus jusqu'alors, il les nomme « X » du nom de L'inconnue en mathématiques, il consacre les dernières semaines de 1895 à manipuler en solitaire et parvient à attribuer les caractéristiques suivantes aux rayons X :

- Ils sont faiblement absorbés par la matière. Mais cette absorption augmente avec la masse atomique des atomes absorbants : une fine couche de plomb suffit à stopper le rayonnement produit avec ses sources de rayons X.
- Ils sont diffusés par la matière. C'est l'origine du rayonnement de fluorescence.
- Ils impriment une plaque photographique.
- Ils déchargent les corps chargés électriquement.

Il montre également que les rayons ont pour origine la paroi du tube de verre à l'endroit où arrive le rayonnement cathodique (i.e. les électrons).

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

Dans sa première communication faite à la Société Physico-Médicale de Würzburg « sur un nouveau type de rayon » [22], il remarque que « si l'on met la main entre l'appareil à décharge et l'écran, on voit l'ombre plus sombre des os de la main dans la silhouette un peu moins sombre de celle-ci. » Röntgen décrit la première image radiographique. Il réalise également le premier cliché radiographique le 22 décembre 1895 en intercalant la main de son épouse entre le tube de Crookes et une plaque photographique (Figure II.6.2). Les parties les plus denses et épaisses sont les plus sombres sur la plaque : on distingue une bague sur le majeur.

Röntgen se verra attribuer le premier Prix Nobel de physique en 1901 en récompense « des services extraordinaires rendus possible par sa découverte des rayons remarquables qui portent son nom » [23]



**Figure II.6.1** Wilhelm Conrad Röntgen **Figure II.6.2**: Premier cliché radiographique (Röntgen, 1895).

### II.9.1.b. Premières utilisations en imagerie médicale :

Les rayons X suscitent immédiatement un vif intérêt au sein du public : les premières radiographies font le tour du monde par voie de presse et il ne fallait pas longtemps pour que la radioscopie (observation sans prise de cliché) et la radiographie deviennent des attractions de foire (Figure II.7).

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---



Figure II.7: La radiographie : une attraction foraine.

### II.9.1.c. Premières résolutions structurales par la diffraction des RX :

Les premières structures cristallines résolues par diffraction des rayons X sont celles de NaCl, KClKBr et KI. [24.25]

À partir des clichés de diffraction, W. L. Bragg et M. Von Laue ont déterminé les arrangements atomiques dans les mailles de ces différentes structures qui leur ont valu le prix Nobel en 1915 et en 1914, respectivement.



Figure II.8 : W. L. Bragg et M. Von Laue

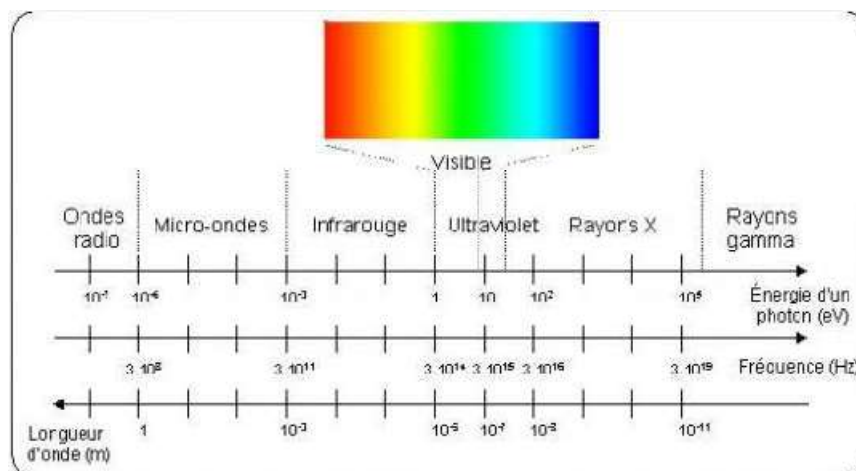
Depuis, la diffraction des rayons X a continué à progresser comme méthode de détermination structurale pour les phases condensées et tout particulièrement les cristaux.

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

### II.9.1.d. Définition des rayons X :

Les rayons X sont des rayonnements électromagnétiques (photons) comme les ondes radio, la lumière visible, ou les infra-rouges, Leurs longueurs d'ondes sont comprises approximativement entre 0,001 nanomètre et 10 nanomètres ( $10^{-12}$  m et  $10^{-8}$  m), correspondant à des fréquences de  $3 \cdot 10^{16}$  Hz à  $3 \cdot 10^{20}$  Hz. L'énergie de ces photons va d'une centaine d'électronvolt, à environ un MeV. C'est un rayonnement ionisant en médecine (imagerie médicale, ...etc.) et dans l'industrie (cristallographie).

La fréquence est le nombre de cycle par unité de temps d'une onde. Son unité de mesure est l'Hertz (Hz). Les rayons X ont une haute fréquence, de  $3 \cdot 10^{16}$  Hz à  $3 \cdot 10^{20}$  Hz, alors que la lumière visible possède une fréquence de  $4,3 \cdot 10^{14}$  Hz jusqu'à  $7,5 \cdot 10^{14}$  Hz. C'est donc pourquoi les rayons X sont beaucoup plus dangereux. De plus, la fréquence est inversement proportionnelle à la longueur d'onde. Donc, plus la fréquence est grande plus la longueur d'onde sera petite, l'inverse étant aussi vrai.



**Figure II.9** : le spectre électromagnétique.

### II.9.1.e. La nature des rayons X :

Les rayons X sont des photons, à savoir des objets électromagnétiques, ils se déplacent dans le vide à la vitesse de la lumière  $C$ , un rayonnement (ou une onde) électromagnétique consiste en la propagation d'un champ électrique  $E$  et d'un champ magnétique  $B$  perpendiculaires, ces champs oscillent en phase et sont eux-mêmes perpendiculaires à la

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

direction de propagation. Une onde électromagnétique sinusoïdale est caractérisée par sa fréquence de vibration  $U$  (ou par sa période  $T=1/U$ ) et par son amplitude.

La longueur d'onde est la distance parcourue par l'onde pendant une période, soit  $\lambda=cT=c/U$ . En général, un rayonnement électromagnétique est constitué par la superposition de rayonnements de fréquences différentes. Certaines interactions du rayonnement électromagnétique avec la matière, comme l'effet photoélectrique, ne sont pas explicables dans le cadre du modèle ondulatoire, mais peuvent s'interpréter si l'on considère le rayonnement comme un flux discontinu de paquets d'énergie (ou quanta d'énergie) appelés photons, chaque photon transporte, à la vitesse de la lumière, un quantum d'énergie  $E$  bien déterminée.

Liée à la fréquence  $\nu$  du rayonnement par la relation de Planck-Einstein :  $E= h \nu$  ;  $h$  est la constante de Planck.

### II.9.1.f. Propriétés des rayons X :

Ils sont absorbés facilement par l'air, par l'atmosphère, les télescopes à rayons X (qui détectent

les rayons X émis par les étoiles doivent être placés dans des satellites, et les radiographies médicales, la source de rayons X doit être proche du patient, l'ordre de grandeur de leur longueur d'onde étant celui des distances interatomiques dans les cristaux (métaux, roches...), ils peuvent diffracter sur ces cristaux, ceci permet de faire de l'analyse chimique, et plus précisément de l'analyse de phase par diffraction de rayons X (ou radiocristallographie)[26]

### II.9.1.g. L'interaction des photons X avec la matière :

Lorsqu'un faisceau de rayons X pénètre dans un milieu matériel, on constate une diminution progressive de son intensité, cette diminution du nombre de photons, l'atténuation du faisceau est due essentiellement à l'interaction des photons avec les électrons. Dans un tel processus, l'énergie perdue se retrouve sous deux formes : une partie  $E_A$  est absorbée par le milieu et une partie  $E_D$  est diffusée et sort de la matière dans une direction différente de la

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

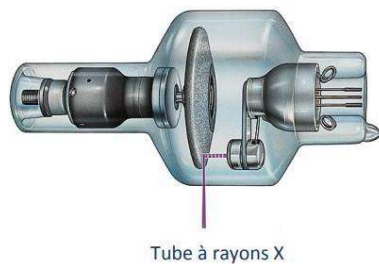
---

direction du faisceau initial. Les phénomènes d'atténuation et d'absorption sont à l'origine des applications et des effets des rayons X en radiodiagnostic et en radiothérapie.

**II.9.1.h.Description microscopique des interactions** : Deux types d'interactions entre photon X et matière sont envisageables : l'effet photoélectrique et l'effet Compton, l'effet photoélectrique prédomine aux faibles énergies.

### II.9.1.i.Production des rayons X

Les rayons X peuvent être produits par des changements d'orbites d'électrons provenant des couches électroniques, ou par accélération de particules. Ce dernier type de production est le plus couramment utilisé. On distingue cependant deux modes d'accélération de particules pour produire des rayons X.



**Figure II.10 : Tube à rayon X**

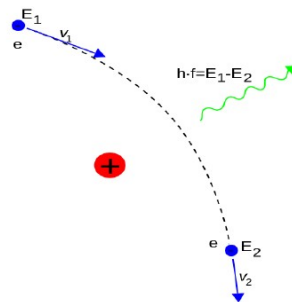
Les rayons X peuvent être produits de deux manières :

- a\ Le freinage des électrons sur une cible dans le tube à rayons X, les électrons sont extraits d'une cathode de tungstène chauffée, accélérés par une tension électrique dans un tube sous vide, ce faisceau sert à bombarder une cible métallique (anode ou anticathode), C'est le principe des tubes à rayons X, la source la plus répandue dans les laboratoires. Une haute tension électrique de l'ordre de 20 à 100 kV, est établie entre deux électrodes. Il se produit un courant d'électrons de la cathode vers l'anode, plus couramment appelée anticathode ou cible.

Les électrons sont alors freinés par les atomes de la cible, en provoquant un rayonnement continu de freinage, dont une partie du spectre est dans le domaine des rayons

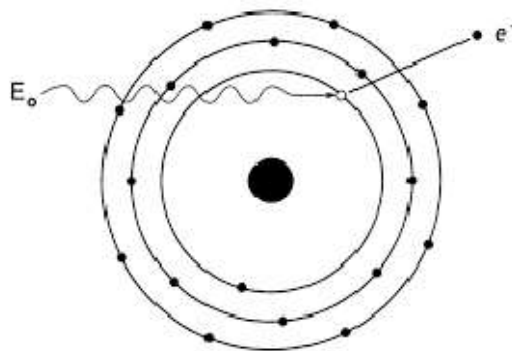
## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

X. Ces rayons X excitent les atomes de la cible, et ceux-ci réémettent un rayonnement X par le phénomène de fluorescence X.



**Figure II.11** : Production par rayonnement de freinage.

- b) Les électrons accélérés ont une énergie suffisante pour exciter certains des atomes de la cible, en perturbant leurs couches électroniques internes, ces atomes excités émettent des rayons X en retournant à leur état fondamental. Une faible portion, 1% environ de l'énergie cinétique cédée par les électrons est rayonnée sous forme de rayons X, les 99 % restants sont convertis en énergie thermique



**Figure II.12** : Production par transition électronique

### II.9.1.j. La diffraction des rayons X :

La diffraction des RX est une technique expérimentale de choix pour caractériser la structure tridimensionnelle d'un composé à l'état cristallin, en association ou non avec d'autres molécules. En effet, la localisation des positions atomiques constituant un édifice moléculaire

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

crystallin. Elle permet, d'une part, de décrire la géométrie d'une conformation stable (de basse énergie) du système en termes de longueur de liaison, d'angle de valence et d'angle de torsion.

D'autre part, l'examen des forces intermoléculaires (interactions électrostatiques, ponts hydrogène, interactions  $\pi$ , contacts de van der Waals...) assurant la cohésion cristalline fournit des indications sur les liaisons faibles susceptibles d'être mises en jeu lors des différentes interactions intermoléculaires (interaction d'un ligand avec son récepteur, par exemple)[27].

### II.9.1.k.Principe de la diffraction des rayons X :

La diffraction des rayons x est une technique très puissante car elle permet de déterminer les positions des atomes dans un cristal,[28] le principe de l'expérience consiste à envoyer un faisceau de rayons X, monochromatique en général, sur un cristal et de détecter l'intensité des rayons diffractés par celui-ci. Les rayons X ont une longueur d'onde de l'ordre de grandeur des distances interatomiques et permettent ainsi d'apporter des informations structurales sur l'échantillon. Si un faisceau de rayons X est envoyé sur un cristal, les électrons de ce dernier commencent à osciller et sont soumis à une accélération. Par conséquent, chaque électron émet des ondes électromagnétiques de mêmes énergies qui interfèrent, soit de manière constructive, soit de manière destructive, les atomes du cristal étant arrangés périodiquement les rayons transmis sortent du cristal dans des directions privilégiées et leurs intensités sont amplifiées, La condition pour l'observation d'un rayon diffracté dans un certain angle par rapport au rayon incident est donnée par la loi de Bragg :

$$2d \sin (\theta) = n.\lambda$$

Avec les notations suivantes :

$n$  : nombre entier ( $\in \mathbb{Z}$ ),

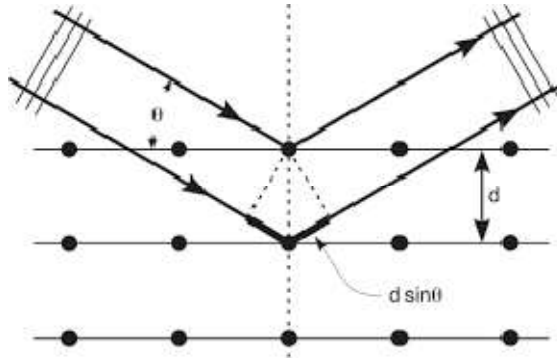
$\lambda$  : la longueur d'onde utilisée,

$d$  : la distance interréticulaire (distance entre deux plans réticulaires de la famille de plans (hkl))

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

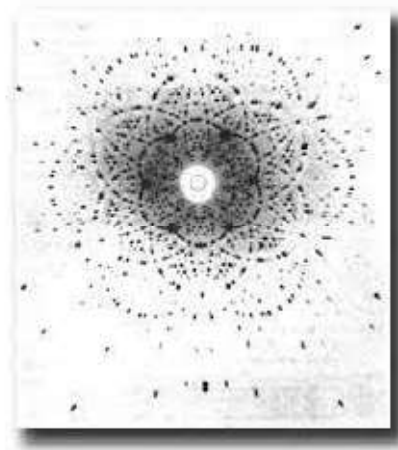
---

$\theta$  : l'angle de Bragg, c'est la moitié de l'angle entre le faisceau incident et le faisceau diffracté.



**Figure II.13** : Schéma illustrant la loi de Bragg.

Les rayons diffractés sont détectés sur un cliché de diffraction (**Figure II.13**) qui est constitué de taches ou pics de Bragg. Le cliché de diffraction contient plusieurs informations, la position des pics de Bragg est caractérisée par les paramètres de la maille du cristal tandis que leur intensité est en fonction des atomes qui constituent le plan diffractant.



**Figure II.14** : Cliché de diffraction

### II.10. Les méthodes d'analyses par diffraction RX :

L'analyse par diffraction des rayons X [29] ou diffractométrie X permet de déterminer les distances interatomiques et l'arrangement des atomes dans les réseaux cristallins. Comme les rayons X sont diffractés de façon différente par les éléments du réseau suivant la

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

construction de ce dernier, l'irradiation de la matière par rayons X permet de connaître sa nature cristallographique.

### II.10.1. Diffraction RX sur monocristal :

Un monocristal [30] est un objet macroscopique où les atomes sont parfaitement ordonnés dans les trois directions de l'espace. Les cristaux les plus communs sont les sels, le sucre, les roches, les métaux, les pierres précieuses (gemmes), certains objets sont composés d'un seul cristal (par exemple les pierres précieuses), on parle alors de « monocristal ». Mais la plupart des objets sont composés de plusieurs cristaux accolés (ou cristallites), on parle de « poly cristaux ». La diffraction des rayons X par les cristaux [31-32] est un outil privilégié de détermination de la structure tridimensionnelle des molécules.

En effet, les rayons X interagissent avec le nuage électronique des atomes du cristal, le cristal étant un milieu périodique tridimensionnel, ces ondes diffusées interfèrent et provoquent le phénomène de diffraction, la mesure de ces intensités diffractées donne alors accès aux composantes de Fourier de la densité électronique de la molécule. Une détermination structurale consiste donc à repérer, après un certain nombre d'étapes de calcul, les maximas de densité électronique, que l'on assimile aux positions atomiques.



Figure II.15 : Diffraction RX sur monocristal

### II.10.2. Diffraction RX sur poudre :

La méthode de diffraction par poudre [33] a été inventée en 1916 par Debye et Scherrer en Allemagne, et en 1917 par Hull aux Etats-Unis.

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

La technique c'est développée progressivement, pendant plus d'un demi-siècle, elle a été utilisée pour des applications traditionnelles comme l'identification des phases, la mesure précise des paramètres cristallins ou encore l'analyse d'imperfections structurales à partir du profil de raies de diffraction, cette méthode avait un grand intérêt pendant les années 70, après l'introduction par Rietveld en 1967 d'une méthode puissante pour l'affinement des structures cristallines à partir d'un Diagramme de poudre, appliquée initialement à des données issues de la diffraction des neutrons, la méthode c'est ensuite étendue au domaine de la diffraction des rayons X.



**Figure II.16 :** Diffraction RX sur poudre.

### II.11. La détermination de la structure cristalline :

La détermination de la structure cristalline d'un composé revient à déterminer les valeurs prises par la densité électronique  $\rho(x, y)$  à l'intérieur de la maille [34]. Les positions atomiques correspondent aux maximas de cette densité électronique. Nous avons déjà indiqué que le facteur de structure  $F$  mis en jeu avec la diffraction des RX est la Transformée de Fourier ( $T.F$ ) de  $\rho(r)$  (où  $r(x,y,z)$  est un vecteur de l'espace direct).

Inversement  $\rho(r)$  est la transformée de Fourier des  $F \equiv F(R)$  (où  $R(h,k,l)$  est un vecteur de l'espace réciproque), les techniques utilisées pour la recherche des phases sont de deux types :

- Les méthodes indirectes : on cherche une hypothèse structurale dans l'espace réel, à partir de laquelle les facteurs de structure (modules et phases) seront calculés.
- Les méthodes directes : les phases sont recherchées directement dans l'espace réciproque.

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

Nous proposons ci-après un aperçu volontairement très superficiel des principales méthodes mises

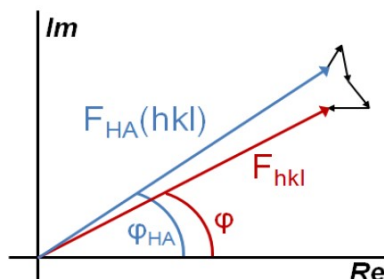


Figure II.17 : La détermination de la structure cristalline

### II.11.1. Méthode essais erreurs :

Cette méthode est appliquée pour les systèmes très simples 1 ou 2 atomes et ou des systèmes très symétriques, il faut que les atomes soient localisés sur des positions spéciales [35].

### II.11.2. Méthode de l'atome lourd :

Si la structure possède un atome beaucoup plus "lourd" que les autres la "déconvolution" des pics principaux de la fonction de Patterson permettra de le localiser, on calcule alors les facteurs de structure avec les atomes de ce type en faisant l'hypothèse qu'ils déterminent la phase de la majorité des réflexions les plus intenses, par approches successives ("fonctions de Fourier différence"), on déduit l'ensemble de la structure.

### II.11.3. Méthode de Patterson :

Si aucune structure proche n'est connue, deux méthodes rapides sont possibles et sont les mêmes que celles utilisées en diffraction sur monocristal :

Les méthodes directes [36-37] et la fonction de Patterson [38-39].

On peut appliquer ces deux méthodes par l'intermédiaire des logiciels SHELX97 [40], SIRPOW [41-42], ou EXPO [43].

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

Méthode de Patterson ; Si les facteurs de structure et leurs phases sont connus, la distribution de la densité électronique (ou de la densité liée aux noyaux dans le cas des neutrons) dans le volume de la maille élémentaire

On peut démontrer les propriétés de symétrie suivantes, pour la fonction de Patterson :

- Toutes les fonctions de Patterson sont centrosymétriques.
- Leur type de réseau (P, I, C, F, etc.) est le même que celui du groupe d'espace original de la structure.
- Leur groupe d'espace est dérivé du groupe d'espace original en remplaçant tous les éléments de symétrie avec translations (axes hélicoïdaux et plans de glissement) par les éléments correspondants sans translations (axes ordinaires et miroirs passant par l'origine), et en ajoutant un centre de symétrie s'il n'est pas déjà présent.
- Tout élément de symétrie avec translation du cristal devient dans la fonction de Patterson un élément de même nature sans translation et passant par l'origine. Les 230 groupes d'espace conduisent à seulement 23 groupes de Patterson.
- Malgré le problème du recouvrement des pics, des structures ont été résolues à partir de données de poudres au moyen des techniques de Patterson, et cette méthode semble moins sensible aux erreurs sur les intensités que les méthodes directes. Il n'est cependant pas forcément évident de reconstruire la liste des positions atomiques à partir de celle des vecteurs interatomiques.

### II.11.4. Les méthodes directes :

Les méthodes directes sont issues des études sur monocristal et adaptées aux poudres. Elle a été proposée au départ par Hauptman et Karle [44].

Elle essaye de déterminer directement la phase du facteur de structure à partir des intensités. Les méthodes directes se révèlent particulièrement adaptées dans le cas des molécules lorsque les atomes ont un nombre voisin d'électrons. De nombreux logiciels basés sur cette méthode sont disponibles. Ils sont efficaces et pratiques pour résoudre rapidement le

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

problème de la phase. L'avantage de cette méthode est d'être très rapide et de ne nécessiter que peu d'informations de départ (juste les intensités intégrées (hkl)). Par contre, dans le cas des poudres, elle est vite limitée au niveau de la taille des molécules. Elle ne peut être utilisée que pour les structures cristallines comportant peu d'atomes. Dans le cas des méthodes directes, il est courant d'obtenir, non pas la structure entière, mais seulement une partie des atomes bien placés. Pour permettre de localiser les atomes manquants ou mal placés, on peut utiliser la synthèse Fourier différence (logiciel SHELXL 97 [45] qui permet en calculant les déficits en électrons dans la maille, de retrouver la totalité des atomes de la maille cristalline.

Ces méthodes, qui atteignent aujourd'hui des complexités mathématiques très grandes, sont basées sur des hypothèses très simples :

- La densité électronique est positive partout dans l'espace
- Les atomes sont des objets séparés, la densité électronique est fortement "piquée" à leurs positions,
- Les amplitudes des facteurs de structure contiennent des informations sur leurs phases Nous ne rentrerons pas ici dans le détail de ces méthodes fortes complexes. La relation de base des méthodes directes est l'équation de Sayre (1953), qui peut être simplement démontrée en appliquant le théorème de convolution à la transformée de Fourier du carré de la densité électronique

Les méthodes directes reposent sur propriétés importantes de la densité électronique :

La positivité : La densité électronique est positive en tous points  $\rho(r) \geq 0$ .

L'atomicité : La structure (le cristal) est composée d'atomes discret

La symétrie, la structure, cristalline (origine). La composition chimique : de la maille cristalline.

### II.12. Spectroscopie infrarouge :

La spectroscopie d'absorption infrarouge est une technique d'analyse structurale fonctionnelle basée sur l'analyse vibrationnelle des liaisons elle permet de déterminer la nature des liaisons

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

chimiques présentes dans une molécule. En effet, l'expérience montre que certaines fréquences de vibrations, dites « fréquence de groupe », sont caractéristiques de la présence d'un groupement chimique dans la molécule étudiée. La théorie mécanique des vibrations permet de prévoir l'existence des fréquences de groupe à partir des ordres de grandeur des différents types de constante de force. Ainsi, la spectroscopie infrarouge est un très puissant moyen de caractérisation pour identifier des groupements moléculaires et obtenir de nombreuses informations microscopiques sur leur conformation et leurs éventuelles interactions.

### II.12.1. Principe :

L'échantillon est soumis à un rayonnement électromagnétique dans la gamme de longueur d'onde du centre infrarouge ( $2.5 \mu\text{m} < \lambda < 50 \mu\text{m}$ ). Le spectrophotomètre émet une radiation qui travers l'échantillon en balayant automatiquement une gamme de fréquences donné

La fréquence à laquelle le rayonnement est absorbé dépend de la nature des liaisons, de la masse des atomes concernés et de l'environnement proche du groupement considéré puis il trace un graphique du pourcentage de radiation transmise en fonction des nombres d'onde dans lesquels les radiations absorbées par les molécules apparaissent sous la forme de bandes (courbes orientées vers le bas) dans le spectre

### II.12.2. Appareillage :

L'appareillage utilisé est un spectroscope infrarouge constitué de quatre éléments fondamentaux : la source infrarouge, un interféromètre, un détecteur et l'électronique de calcul.

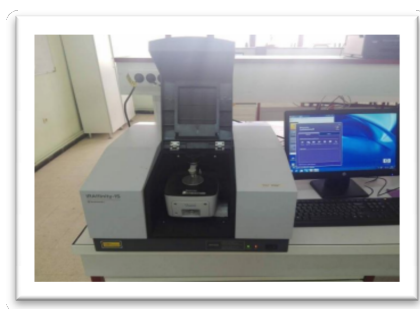


Figure II.18: Dispositif de l'IR.

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

### II.12.3. Application de l'infrarouge :

#### -Analyse qualitative :

Elle permet une identification des matières premières beaucoup plus sûre que les réactions colorées ou que la préparation de produits caractéristiques dont on mesure le point de fusion.

#### -Analyse quantitative :

L'infrarouge est une méthode beaucoup plus laborieuse et parfois c'est la seule utilisable.

### II.12.4.Principales parties d'un spectrophotomètre IR :

Il est composé des éléments suivants :

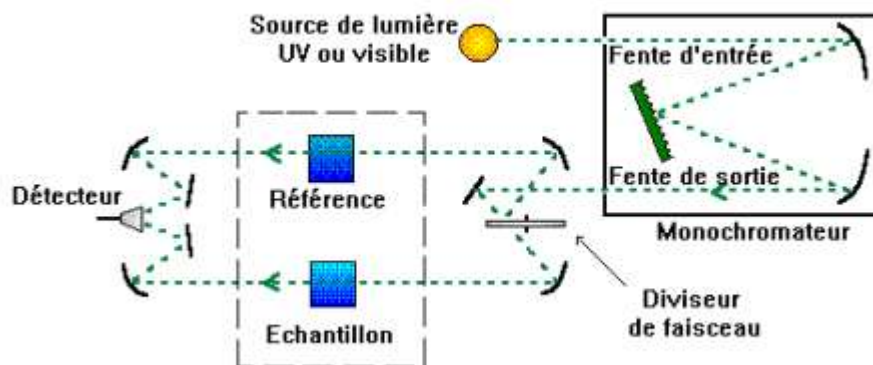


Figure. II. 19 : Les différentes parties d'un spectrophotomètre IR

## **Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées**

---

### **II.13. Amarrage moléculaire :**

#### **II.13.1. Introduction :**

L'interaction entre les molécules est à la base de la plupart des mécanismes biologiques. Par conséquent, les détails de ces interactions au niveau moléculaire sont très intéressants et peuvent être étudiés par cristallographie aux rayons X, ou par résonance magnétique nucléaire (RMN). Malheureusement, compte tenu de l'existence d'innombrables molécules différentes dans une seule cellule, ces techniques ne permettent pas une description détaillée de toutes ces interactions.

Le but de l'ancrage moléculaire est de prédire la structure des complexes moléculaires à partir de molécules isolées, comparé à une méthode expérimentale, la structure est facile à mettre en œuvre, marché et rapide. Par conséquent, le logiciel d'amarrage est un outil très utile en biologie, en pharmacie et en médecine, car la plupart des ingrédients actifs sont de petites molécules (ligands) qui interagissent avec des cibles biologiques thérapeutiquement significatives, Affectant ainsi le mécanisme de participation de cette protéine.

#### **II.13.2. Les outils du docking moléculaires :**

##### **-Le récepteur**

La première grande voie d'étude et de conception de molécules bioactives par modélisation moléculaire est celle qui se fonde sur la structure des récepteurs. Cette approche est basée sur l'exploitation de la structure moléculaire tridimensionnelle de la protéine cible. Trois méthodes expérimentales permettent aujourd'hui de déterminer la structure des protéines :

La résonance magnétique nucléaire (RMN), la microscopie électronique et la cristallographie par rayons X. Cette dernière technique est responsable de la majorité des structures issues d'une base de données de structures appelée la Protéine Data Bank (PDB).

La PDB est un répertoire mondial de dépôt d'informations sur la structure tridimensionnelle des protéines et des acides nucléiques. Ces molécules proviennent de

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

l'ensemble des règnes biologiques. La PDB est gratuitement accessible par Internet (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Elle contient plusieurs de milliers de structures protéiques obtenues soit par cristallographie aux rayons X, soit par RMN [46].

Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée [47].

### - Le ligand

En docking moléculaire, le choix du ligand est une étape très importante. Ce choix doit être pertinent en raison de la spécificité du site actif de la cible évitant de tester inutilement des molécules.

Pour un docking moléculaire, le ligand doit être également sous forme 3D. A présent, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné : La première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelés chimiothèques ou espace chimique. Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2....etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que chemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl...etc.

### -Un programme de docking moléculaire

Le docking moléculaire s'accomplit en deux étapes complémentaires. La première consiste à rechercher les conformations du ligand aptes à établir des interactions idéales avec le récepteur. La deuxième est une fonction de score qui permet d'évaluer ces conformations par un calcul rapide de leur énergie d'interaction avec ce récepteur [48].

#### II.13.3. Autodock :

L'étape de docking moléculaire est réalisée grâce au sous-programme AutoDock. Est une suite d'outils de docking automatisés. Il est conçu pour prédire comment de petites molécules, telles que des substrats ou des médicaments candidats, se lient à un récepteur de structure 3D connue. On a utilisé deux logiciels d'autodock :

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

### -Autodock vina

AutoDock Vina est une nouvelle génération de logiciel d'accueil du MGL (MolecularGraphicsLaboratory). Il réalise des améliorations significatives de la précision moyenne des prédictions de mode de liaison, AutoDock Vina ne nécessite pas de choisir les types d'atomes et de pré-calculer les cartes de grille pour eux. Au lieu de cela, il calcule les grilles en interne, pour les types d'atomes nécessaires, et il le fait pratiquement instantanément.

### -Autodock tools

AutoDockTools, (ADT), permet entre autres de définir quelles liaisons seront traitées comme rotatives dans le ligand et d'analyser les ancrages [49].

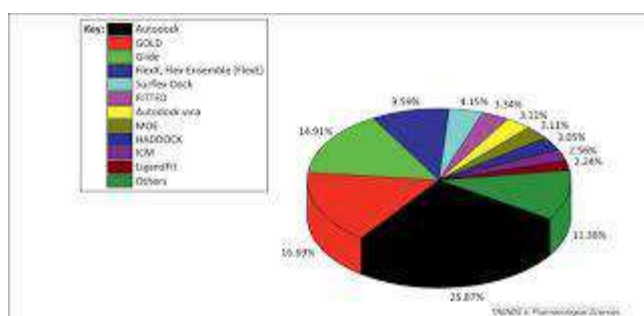


Figure II. 20 : Schéma représente que l'AutoDock est le plus utilisé [50].

### II.13.4. Le docking : du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité

L'étude du docking est une étape capitale dans la compréhension des réactions biologiques et dans la conception de médicaments. Les tentatives de docking ont longtemps été basées sur le concept « clé-serrure », considérant le récepteur et le ligand rigides. C'est sans aucun doute la catégorie la plus simple et rapide du docking moléculaire.

L'approche la plus utilisée dans le traitement de la flexibilité, considère la cible protéique comme corps rigide tandis que le ligand est flexible. Ce type de docking (semi-flexible) permet d'obtenir des résultats plus précis. Aujourd'hui, la puissance de calculs des ordinateurs permet, pour certains logiciels de docking, de traiter la flexibilité du ligand et de façon partielle le récepteur [51].

## Chapitre II : Le protocole expérimental et les techniques d'analyses utilisées

---

### II.13.5. Le Redocking :

Le processus par lequel un ligand est pris de la structure d'un complexe de celui-ci avec un récepteur, et ancré à la forme "induite-fit" du récepteur. Ceci est souvent effectué pour vérifier que les paramètres du docking spécifiés dans le fichier d'entrée pour la méthode du docking sont raisonnables et capables de récupérer la structure et les interactions d'un complexe connu [52].

La technique de simulation du docking moléculaire est validée en utilisant les paramètres suivants :

- **Énergie de liaison:** La méthode de simulation du docking moléculaire est initialement validée sur la base de l'énergie de liaison obtenue. La plage prédéfinie d'énergie de liaison doit être comprise entre -5 et -15 kcal / mol.

- **Méthodes de superposition ou similarité des acides aminés:** Une validation supplémentaire de la méthode du docking moléculaire est effectuée par la méthode de superposition. La conformation ancrée du ligand lié doit être impeccablement superposée en référence à la conformation bioactive du ligand présent dans la structure cristalline de la protéine téléchargée

**RMSD** La déviation quadratique moyenne si le ligand ancré affiche  $<2.0\text{\AA}$  ° Valeur RMSD (root-mean-square derivation) avec le ligand cristallographique, il est considéré comme un amarrage réussi [53]

*Chapitre*  
***III* : Résultats et  
discussion**

## Chapitre III : Résultats et discussion

### III.1.introduction :

Pour la synthèse des complexes, nous avons utilisé une méthode relativement simple décrite dans la littérature.[54] Notre stratégie de synthèse est basée sur l'utilisation d'une solution d'ammoniaque d'une part, comme agent de déprotonation, et d'autre part comme un solvant (ou co-solvant avec du méthanol). La déprotonation des ligands s'effectue au niveau de la fonction carboxylique COOH pour les ligands du type quinolone, ceci donne un ligand chélate anionique permettant la réaction de complexation.

Cependant, en présence de base, l'ion métallique peut réagir pour former l'hydroxyde correspondant : complexe neutre insoluble  $[M(OH)_n]$ . L'ajout d'un excès d'ammoniaque conduit à une compétition entre la formation de l'hydroxyde et la formation du complexe chargé  $M(NH_3)^{n+}$  jusqu'à obtenir une solution limpide. Cette solution est ensuite évaporée très lentement pour entamer un processus de cristallisation. Lors de ce processus lent, la concentration d'ammoniaque diminue. L'effet de concentration conduit à une compétition entre le ligand ammoniaque et les ligands bioactifs déprotonnés présents dans la solution.

L'équilibre chimique entraîne un échange entre les molécules  $NH_3$  et le ligand  $LY^-$ . Ce processus permet d'une part, la synthèse lente des complexes désirés et d'autre part, la formation de monocristaux permettant de déterminer la structure par l'analyse par diffraction des rayons X. Le **Schéma III.1** ci-dessous résume le mécanisme de synthèse de ces complexes.

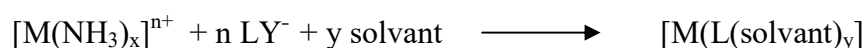
#### Le Schéma III.1 à refaire



Complexe soluble d'ammoniaque :



Formation de complexe et cristallisation :



Solvant : NH<sub>3</sub> /méthanol

### Schéma III.1: Le Mécanisme de Synthèse

## III.2.Synthèse des complexes

### III.2.1. Synthèse du complexe à base de Ciprofloxacine [(Zn(Q1)(H<sub>2</sub>O)].3H<sub>2</sub>O

A une solution méthanolique (5ml) du ligand de quinolone Q1H (0.05g, 0.1509 mmol), on ajoute goutte à goutte une solution méthanolique (5ml) de sel Zn ClO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O (0.04g, 1mmol).

Après 3 minutes d'agitation à une température ambiante une solution concentrée de NH<sub>3</sub> (25% de volume) a été ajoutée lentement jusqu'à l'apparition d'une couleur incolore. Après quelques jours d'évaporation lente. Des cristaux incolores (0.0306 g) sont récupérés par filtration. Rendement (55.13%).

## III.3.Caractérisation du complexe :

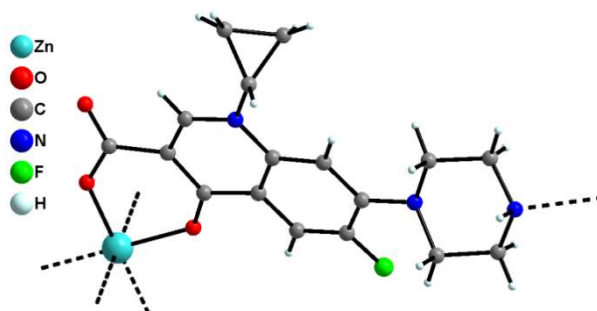
### III.3.1.Caractérisation par diffraction des Rayons X :

#### III.3.1.a. Description de la structure :

La structure du complexe a été résolue puis affinée à partir de données de diffraction des rayons X sur monocristal. Le complexe cristallisé dans le groupe d'espace centrosymétrique monoclinique P2<sub>1</sub>/c. La formule affinée de ce complexe est [(Zn(Q1)(H<sub>2</sub>O)].3H<sub>2</sub>O. Les conditions d'enregistrement des données de diffraction ainsi que les résultats de l'affinement structural sont détaillés en **Annexe (tableau III.1)**.

Les longueurs, les angles de liaison, et les distances interatomiques importantes sont rassemblés dans le **Tableau III.2. Annexe**.

Dans ce complexe, l'atome de zinc est hexacoordonné avec une géométrie octaédrique. Chaque ligand Q1 coordonné par un oxygène de la fonction carboxylique (Zn-O) et un oxygène de la fonction cétone (Zn-O). La sphère de coordination est complétée par deux atomes d'oxygène (Zn-O) provenant de deux molécules d'eau. Le zinc se retrouve alors dans un environnement ML<sub>6</sub> de type {O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>}.



**Figure III.1** : Structure du complexe  $[(Zn(Q1)_2)(H_2O)].3H_2O$

#### III.4.Caractérisation du complexe par spectroscopie Infrarouge :

Le spectre IR du complexe a été comparé à celui du ligand libre afin de déterminer les sites de coordination pouvant être impliqués dans la chélation (**Figure III.2**). Il existe certains pics guides dans les spectres du ligand, qui sont utiles pour atteindre cet objectif, la position et/ou les intensités de ces pics devraient être modifiées lors de la chélation.

Dans le spectre IR du ligand, le mode d'étirement  $\nu(C=O)_{carb}$  du groupe acide carboxylique est observé sous la forme d'une bande à  $1775\text{ cm}^{-1}$ , la bande à  $1623\text{ cm}^{-1}$  pourrait être attribuée à une pyridone C=O étirement. Alors que dans le spectre du complexe le pic à  $1775\text{ cm}^{-1}$  caractéristique de la fonction acide carboxylique a disparu et a été remplacé par deux nouveaux pics à  $1590$  et  $1498\text{ cm}^{-1}$  attribués à  $\nu(C=O)_{asym}$  et  $\nu(C=O)_{sym}$ . La différence entre ces deux bandes peut définir le mode de coordination de la fonction carboxylate qui est dans notre cas le mode bidenté car la différence entre  $\nu(C=O)_{asym} - \nu(C=O)_{sym} < 150$ , Le  $\nu(C=O)_p$  est décalé à  $1618\text{ cm}^{-1}$

Les résultats sont représentés dans le tableau ci-dessous

$\text{cm}^{-1}$	$\nu(C=O)_{carb}$	$\nu(C=O)_{asym}$	$\nu(C=O)_{sym}$	$\nu(C=O)_p$
Ligand	1775			1623
Complexe		1590	1498	1618

**Tableau III.1** : Absorptions caractéristiques en  $\text{cm}^{-1}$  du ligand / complexe

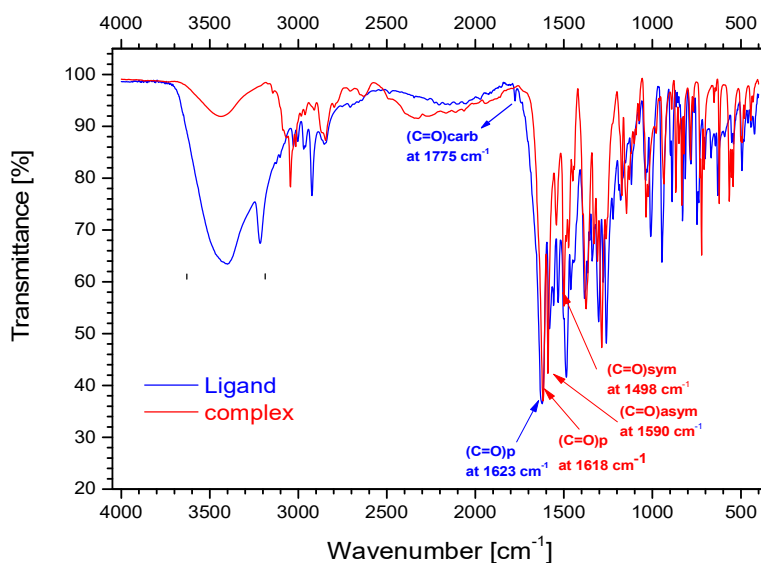


Figure III.2 : Le spectre IR du ligand et son complexe

### III.5. Études d'amarrage moléculaire :

#### III.5.1. Activité *in silico* :

Dans la présente étude, l'interaction de liaison des trois composés étudiés avec la protéase principale du SARS CoV-2 a été étudiée en effectuant une analyse d'amarrage moléculaire de l'interaction de liaison entre la protéase principale COVID-19 (Mpro) avec le ligand et son complexe du zinc à l'aide AutoDock Vina [5].

Les affinités de liaison et la concentration inhibitrice efficace du ligand et de son complexe de zinc étaient comparables à celles du remdesivir ( $IC_{50} = 2,19 \mu M$  et  $\Delta G = -32,27 \text{ kJ/mol}$ ) (Tableau III.3). De plus, les interactions étaient spontanées, comme observé à partir des valeurs négatives d'énergie libre de Gibbs [55].

Cependant, ces deux composés s'intègrent dans la poche de liaison au substrat de Mpro ayant un ou plusieurs modes de liaison légèrement différents. Pour le complexe Ligand\_Mpro, quatre liaisons hydrogènes (avec Thr190 (2,62 Å), Thr190 (2,05 Å), Gln192 (2,17 Å) et Gln192 (2,08 Å) de Mpro) et deux interactions hydrophobes (avec Met165 et Glu166 de Mpro) ont été observées (Figure 3). Lorsque le complexe de zinc a été ancré dans le site actif de Mpro, nous avons observé cinq liaisons hydrogène (avec His41 (3,00 Å), Tyr54

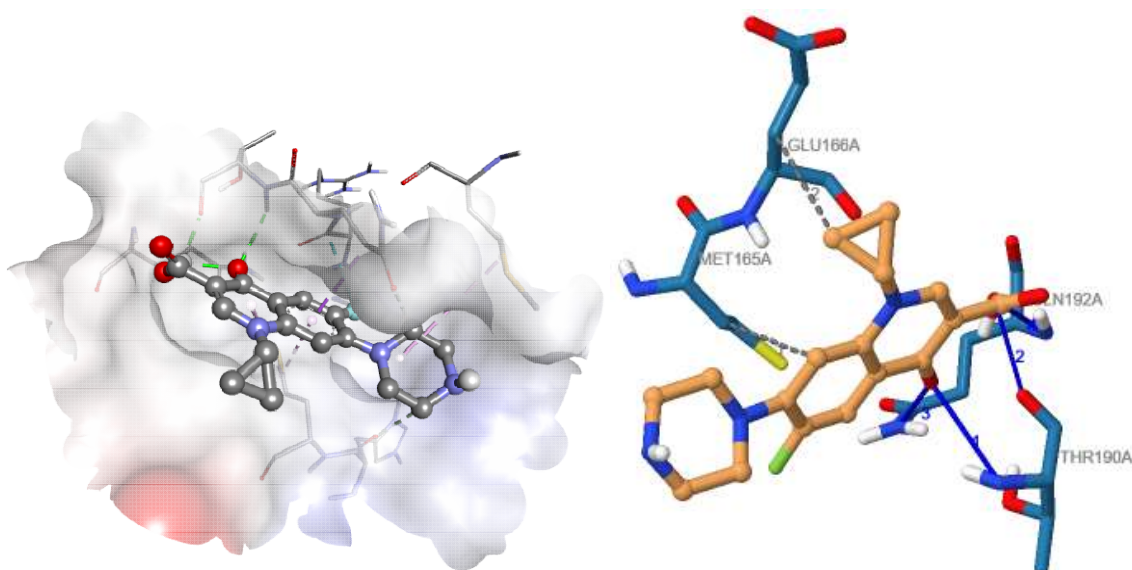
(2,73 Å), Asn142 (2,17 Å), Glu166 (2,47 Å) et Asp187 (2,30 Å) de Mpro) et un pont salin avec Asp187 (4,53 Å).

Cependant, le Remdesivir a formé quatre liaisons hydrogènes (avec Asn142 (2,03 Å), Gly143 (2,72 Å), His163 (2,67 Å) et Glu166 (2,42 Å) de Mpro) et six interactions hydrophobes (avec His41, Met49, Met165, Pro168, Asp187 et Gln189 de Mpro). Dans l'ensemble, l'analyse *in silico* de l'interaction protéique ligand des deux composés avec les résidus d'acides aminés présents dans le domaine du site actif de la protéase principale du SARS CoV-2 (tels que Thr190, His41, Tyr-54, GLN-189, etc.) ont confirmé l'effet inhibiteur de ces composés.

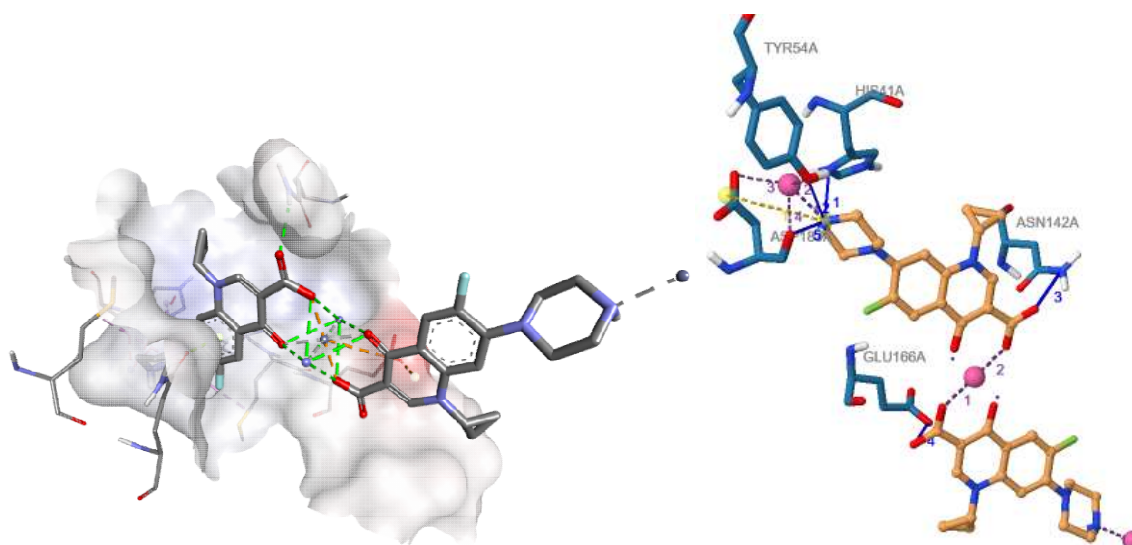
Étant donné que ces composés (Ligand et complexe de zinc) ont interagi avec le(s) résidu(s) catalytique(s) de la protéase Mpro et ont présenté une affinité de liaison négative, nous pouvons dire qu'ils peuvent éventuellement inhiber l'activité catalytique de la protéase Mpro et peut-être les bons candidats médicaments pour le traitement de la maladie COVID-19.

Adduct	$K_b (M^{-1})$	$-\Delta G (KJ.mol^{-1})$	IC50 ( $\mu M$ )
<i>SARS CoV-2 Ligand</i>	$7.65 \times 10^4$	27.88	12.95
<i>SARS CoV-2 complexe du zinc</i>	$5.84 \times 10^4$	27.21	16.92
<i>SARS CoV-2 Remdesivir</i>	$4.49 \times 10^5$	32.27	2.19

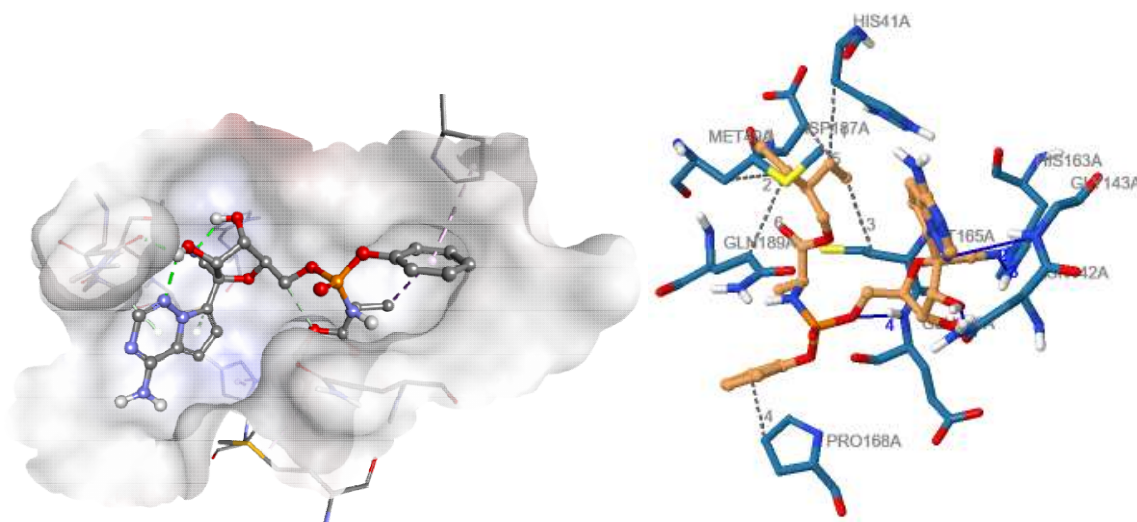
**Tableau III.2 :** Affinité de liaison pour le ligand et son complexe de zinc avec la protéase principale du SRAS CoV-2 (PDB ID : 6LU7)



**Figure III.3 :** Complexe d'amarrage et graphique d'interaction pour le Ligand avec Mpro(PDB ID : 6LU7)



**Figure III.4 :** Complexe d'amarrage et graphique d'interaction pour le complexe de zinc avec Mpro (PDB ID : 6LU7)



**Figure III.5 :** Complexe d'amarrage et graphique d'interaction pour le Remdesivir avec Mpro (PDB ID : 6LU7)

***Conclusion***

***générale***

### Conclusion générale

Ce travail de mémoire avait comme objectif primordial la synthèse de nouveaux composés antimicrobiens. Pour cette étude, nous avons utilisé différents ions métalliques que nous avons coordonné à des antibiotiques de type quinolones. Le choix de ces antibiotiques était basé sur leurs propriétés antibactériennes et le fait qu'ils possèdent des atomes donneurs qui en font de bons ligands.

Dans ce mémoire, nous avons synthétisé et caractérisé un nouveau complexe à base des ligands quinolones, la structure de ce dernier a été déterminée par l'analyse de diffraction des rayons X monocristalline, l'analyse spectrale par Infrarouge a confirmé les modes de coordinations de la fonction carboxylate.

Afin d'évaluer l'efficacité de ce composé contre le COVID -19, une analyse d'amarrage moléculaire a été effectuée où nous avons étudié l'interaction de la liaison entre la protéase principale COVID-19 (Mpro) avec le ligand et son complexe à l'aide AutoDock Vina [10]. Les valeurs de la concentration inhibitrice du ligand et de son complexe ont été comparées aux valeurs de la concentration inhibitrice du remdesivir.

Notre travail complète les connaissances scientifiques sur les complexes antibactériens à base métal-antibiotique et ouvre la voie pour le développement de nouveaux médicaments de type antibiotiques.

### Références Bibliographiques :

- [1] Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020;382(8):727–33
- [2] Wu Y, Ho W, Huang Y, Jin DY, Li S, Liu SL, et al. SARS-CoV-2 is an appropriate name for the new coronavirus. *Lancet* 2020;395(10228):949–50.
- [3] Wong G, Liu W, Liu Y, Zhou B, Bi Y, Gao GF. MERS, SARS, and Ebola: the role of super-spreaders in infectious disease. *Cell Host Microbe* 2015;18(4):398–401.
- [4] Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020;579(7798):270–3.
- [4] E.K. Efthimiadou, M.E. Katsarou, A. Karaliota, G. Psomas, *J. Inorg. Biochem.* **2008**, 102,910-920.
- [5] O. Trott and A. J. Olson, “AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading,” *J. Comput. Chem.*, vol. 31, no. 2, pp. 455–461, 2010.
- [6] J. Blondeau, Fluoroquinolones : Mechanism of action, classification, and development of resistance .*Survey of ophthalmology.* 49.SUP 2.**2004**
- [7] N. Saravana-Kumara, D. dhivyab, B. Vijayakumar.. *J. Int. J. Pharm .Sci.*1.N°.Octobre **2011**
- [8] G. S. Tillostion. *J. Med. Microbiol.* **1996**, 44 , 320-324
- [9] D.E. king, R. Malone, S.H Lilley, *J. Fam. Physician* **2000**, 61(9), 2741-8
- [10] S. Emami , A .Shafiee, A. Foroumadi. *.J. IJPR.* **2005** 3:123-136
- [11]
- [12] M. J. ea Frisch *et al.*, “Gaussian, Inc., Wallingford CT,” *Wallingford CT*, 2009.
- [13] A. D. Becke, “Density-functional thermochemistry. III The role of exact exchange *J Chem Phys* 98: 5648–5652.” 1993.
- [14] B. Miehlich, A. Savin, H. Stoll, and H. Preuss, “Results obtained with the correlation

- energy density functionals of Becke and Lee, Yang and Parr,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 157, no. 3, pp. 200–206, 1989.
- [15] S. Kim *et al.*, “PubChem substance and compound databases,” *Nucleic Acids Res.*, vol. 44, no. D1, pp. D1202–D1213, 2016.
- [16] “RCSB PDB: Homepage, (n.d.). <http://www.rcsb.org/> (accessed May 19, 2022).”.
- [17] G. M. Morris *et al.*, “AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility,” *J. Comput. Chem.*, vol. 30, no. 16, pp. 2785–2791, 2009.
- [18] B. Guhathakurta *et al.*, “Synthesis, characterization, structure, DNA binding aspects and molecular docking study of a novel Schiff base ligand and its bis ( $\mu$ -chloro) bridged Cu (II) dimer,” *Polyhedron*, vol. 126, pp. 195–204, 2017.
- [19] N. Bandyopadhyay *et al.*, “Synthesis, structure, DFT calculations, electrochemistry, fluorescence, DNA binding and molecular docking aspects of a novel oxime based ligand and its palladium (II) complex,” *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 160, pp. 336–346, 2016.
- [20] K. H. Darwin, S. Ehrt, J.-C. Gutierrez-Ramos, N. Weich, and C. F. Nathan, “The proteasome of *Mycobacterium tuberculosis* is required for resistance to nitric oxide,” *Science (80-. )*, vol. 302, no. 5652, pp. 1963–1966, 2003.
- [21] Des photos de tubes de Crookes en ligne sur le site The Cathode Ray Tube site
- [22] W. C. Röntgen, (1898). Reproduction in *Annalen der Physik und Chemie*, 64, 1.
- [23] R. A. Brown, (1979). *JCE*, 56, 191.
- [24] W. L. Bragg, (1913). *Proc. R. Soc. London Ser. A*. 89, 248-277
- [25] W. H. Zachariasen, (1929). *Z. Kristallogr.* 71, 501-516
- [26] M. Yan, M.J. Henderson, A. Gibaud, *Appl. Phys. Lett.* 91/2 (2007) 023104.
- [27] D. M., Kheiker, (1994). *Experimental Technique of X-Ray Structure Analysis of Single Crystals*. In: *Fundamentals of Crystals*. 2e edition. (Ed. B. K. Vainshtein). Springer-Verlag. pp.278-283.

- [28] E., De Matos Gomes, A. M., Beja, J.A., Paixao, L.A., De Veiga, M. R., Silva, J., Martin-Gil, F.J., Martin-Gil, (1995). *Z.Kristallogr.* 210, 929.
- [29] [www.chez.com/deuns/sciences/drx/drx.html](http://www.chez.com/deuns/sciences/drx/drx.html).
- [30] M.Tournarie, *C.R. Acad. Sci. Paris*, 242 (1965) 2161.
- [31] A.J.C. Wilson, *X-rays Optics*, London: Methuen & Co LTD. (1962).
- [32] H.M. Rietveld, *Acta Cryst.*, 6 (1967) 266.
- [33] J.I.Langford et D.Louër, *Rep. Prog. Phys.*,59 (1996) 131.
- [34] B., ES-SAKHI, P., GRAVEREAU and C., FOUSSIER. *Powder Diffraction* 13(3), 152-156 (1998)
- [35] w. L. bragg (1913). *procc.R.SOC. London Ser, A*.89,248 -277.
- [36] Giacovazzo C. *International tables for crystallography (Vol. B) (1995) pp 210-243.*
- [37] Noläng B.I. & Tergenius L.E. *Acta Chem. Scand*; Dordrecht : Kluwer Academic Publishers A34(1980) 311-312
- [38] Rossmann M.G. & Arnold E. *International tables for crystallography*; Dordrecht : Kluwer Academic Publishers (Vol. B) (1995) pp 230-263.
- [39] Berg J.E. & Werner P.E. *Zeits. Krist.*, 145(1977) 310-320
- [40] Sheldrick G. *MShelX97-Programs for crystal structure analysis (release 97-2) ; Institut fürAnorganische Chemie der Universität, Tammanstrasse 4, D-3400 Göttingen, Germany. (1998)*
- [41] Altomare A., Cascarano G., Giacovazzo C., Guagliardi A., Burla M.C., Polidori G., Camalli M. *J. Appl. Cryst.*, 27 (1994) 435-436
- [42] Cascarano G., Favia L., & Giacovazzo C. (1992) *J. Appl. Cryst.*, 25 ; 310-317
- [43] Altomare A., Burla M.C., Camalli M., Carrozzini B., Cascarano G.L., Giacovazzo C., Guagliardi A., Moliterni A.G.G., Polidori G., & Rizzi R. *J. Appl. Cryst.*, 32 (1999) 339-340
- [44] Hauptman H. & Karle J. *ACA Monograph No. 3. Dayton, Ohio : Polycrystal Book Service (1953)*
- [45] Sheldrick G.M. *ShelX97 – Programs for Crystal Structure Analysis (release 97- 2).*, InstitutfürAnorganischeChemie der Universität, Tammanstrasse 4, D-3400 Göttingen, Germany (1998).

[46] Krid A, Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant, Thèse de magister d'université, chimie théorique. Constantine, Université Mentouri de Constantine. Algérie. 2008, 75p

[47] Bensegueni A, Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxigénase et la cyclooxygénase, Thèse de doctorat d'université :Biochimie appliquée. Constantine, Université Mentouri de Constantine. Algérie. 2007. 76p.

[48] [http://autodock.scripps.edu/index\\_html/?searchterm=autodock](http://autodock.scripps.edu/index_html/?searchterm=autodock)

[49] <https://www.google.com/search?q=autodock>

[50] Mokrani E. H, Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation informatique, Thèse de magister d'université Technologie des explorations biochimiques, Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 75p.

[51] Arrault A, Stratégies de docking-scoring assistées par analyse de données. Application au criblage virtuel des cibles thérapeutiques COX-2 et PPAR gamma, Thèse de doctorat d'université, Modélisation Moléculaire et Chemoinformatique, Orléans : Université d'Orléans. France. 2007. 176p.

[52] <http://autodock.scripps.edu/faqs-help/glossary/redocking>.

[53] Shah et al., Molecular Docking and In Silico Cogitation Validate Mefenamic Acid Prodrugs as Human Cyclooxygenase-2 Inhibitor.

[54] J-B Tommasino, F.N.R. Renaud, D. Luneau, G. Pilet, *Polyhedron* **2011**, 30, 1663-1670.

[55] D. Systèmes, "Biovia, discovery studio modeling environment," *Dassault Systèmes Biovia San Diego, CA, USA*, 2016

## **Résumé**

Dans ce mémoire, nous avons présenté un mécanisme de synthèse simple et efficace à partir de ligands bioactifs et d'ions métalliques, conduisant à l'obtention d'entités sous forme de monocristaux essentiels, pour l'étude structurale par diffraction des rayons X. Nous avons ainsi synthétisé, isolé et caractérisé un nouveau complexe. L'analyse spectrale par Infrarouge a confirmé les modes de coordinations de la fonction carboxylate déterminés par l'analyse structurale par diffraction des rayons X, soit bidentate, soit monodentate. Une analyse d'amarrage moléculaire a été effectuée Afin d'évaluer l'efficacité de ce composé contre le COVID -19.

## **Abstract**

In this memory, we have presented a simple and efficient synthesis mechanism from bioactive ligands and metal ions, leading to the production of entitie in the form of essential monocrystal, for the structural study by X-ray diffraction. We have thus synthesized, isolated and characterized one new complexe. Infrared spectral analysis confirmed the coordination modes of the carboxylate function determined by structural analysis by X-ray diffraction, either bidentate or monodentate. Molecular docking analysis was performed to assess the efficacy of this compound against COVID -19.

# *Annexes*

## Annexes

### Annexes

**Tableau III.3 :** Données Cristallographique [(Zn(Q1)(H<sub>2</sub>O)).3H<sub>2</sub>O

Formule affinée	'C34 H35 F2 N6 O6.5 Zn1'
Masse molaire (g.mol <sup>-1</sup> )	367.53
Système cristallin	Monoclinique
Groupe d'espace	P 1 21/c 1
a (Å)	5.8984(4)
b (Å)	21.6256(12)
c (Å)	13.3275(9)
α (°)	90.0
β (°)	101.428(7)
γ (°)	90.0
V(Å <sup>3</sup> )	1666.31(19)
λ(Mo.Kα,Å)	0.71069
Z	2
T(K)	293
D	1.465
μ (mm <sup>-1</sup> )	0.805
réflexions mesurées	3984
R <sub>int</sub>	0.023
R(F)	0.0502
R <sub>w</sub> (F)	0.0518
S	1.0618
Nombre de réflexions	2945
Nombre de paramètres raffinés	232
ρ <sub>max</sub> (e Å <sup>-3</sup> )	0.66
ρ <sub>min</sub> (e Å <sup>-3</sup> )	-0.33
Correction d'absorption	Analytical

**Tableau III.4:** Longueurs [Å] et angles de liaison [°] dans le complexe : [(Zn(Q1)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)).3H<sub>2</sub>O

Zn1 . N20	2.243(2)	C9 .C15 .	1.406(3)
Zn1 . N20	2.243(2)	N10 . C11	1.349(3)
Zn1 . O7	2.0823(16)	N10 . C12	1.451(3)
Zn1 . O2	2.0753	C12 .C13 .	1.477(4)
Zn1 . O2	2.0753(19)	C12 . C14	. 1.494(5)
Zn1 . O7	2.0823(16)	C13 . C14	1.494(5)
O2 .C3 .	1.258(3)	C15 . C16	1.388(3)
C3 . O4	1.246(3)	C16 . N17	1.400(3)
C3 . C5	1.513(3)	C16 . C23	1.413(3)
C5 .C6 .	1.431(3)	N17 . C18	1.472(3)
C5 . C11	1.371(3)	N17 . C22	1.450(3)
C6 . O7	1.259(3)	C18 .C19 .	1.524(4)

## Annexes

C6 . C8	1.463(3)	C19 . N20	1.465(3)
C8 . C9	1.401(3)	N20 . C21	1.459(3)
C8 . C24	1.401(3)	C21 . C22	1.520(4)
C9 . N10	383(3)	C23 . C24	1.357(3)

N20 Zn1 . N20	179.995	C8 .C9 . N10	118.93(19)
N20 Zn1 . O7	86.78(7)	C8 .C9 . C15	120.0(2)
N20 Zn1 . O7	93.22(7)	N10 .C9 . C15	. 121.0(2)
N20 Zn1 . O2	91.15(8)	C9 .N10 .C11 .	. 119.32(19)
N20 Zn1 . O2	88.85(8)	C9 .N10 . C12	119.52(18)
O7 Zn1 . O2	87.05(7)	C11 .N10 .C12 .	120.97(19)
N20 Zn1 . O2	88.85(8)	C5 .C11 . N10	125.3(2)
N20 Zn1 . O2	91.15(8)	N10 .C12 . C13	120.7(2)
O7 Zn1 . O2	92.95(7)	N10 .C12 . C14	120.3(2)
O2 Zn1 . O2	179.994	C13 .C12 . C14	60.4(3)
N20 Zn1 . O7	93.22(7)	C12 .C13 . C14	60.4(2)
N20 Zn1 . O7	86.78(7)	C12 .C14 . C13	59.3(2)
O7 Zn1 . O7	179.994	C9 .C15 . C16	121.7(2)
O2 Zn1 . O7	92.95(8)	C15 .C16 . N17	122.57(19)
O2 .Zn1 . O7	87.05(8)	C15 .C16 . C23	116.3(2)
Zn1 .O2 . C3	132.48(15)	N17 .C16 . C23	120.8(2)
O2 .C3 .O4 .	123.5(2)	C16 .N17 . C18	118.67(19)
O2 .C3 . C5	119.5(2)	C16 .N17 . C22	116.26(18)
O4 .C3 . C5	117.0(2)	C18 .N17 . C22	110.7(2)
C3 .C5 . C6	124.9(2)	N17 .C18 . C19	110.3(2)
C3 .C5 .C11 .	116.0(2)	C18 .C19 . N20	113.6(2)
C6 .C5 . C11	119.05(19)	Zn1 N20 . C19	119.75(15)
C5 .C6 . O7	126.1(2)	Zn1 N20 . C21	110.65(15)
C5 .C6 . C8	115.19(19)	C19 .N20 . C21	108.55(19)
O7 .C6 . C8	118.66(19)	N20 .C21 . C22	114.4(2)
Zn1 .O7 . C6	128.02(15)	C21 .C22 . N17	109.6(2)
C6 .C8 .C9 .	122.13(19)	C16 .C23 . C24	123.1(2)
C6 .C8 . C24	119.45(19)	C16 .C23 .F25 .	119.3(2)
C9 .C8 . C24	118.40(19)	C24 .C23 .F25 .	117.5(2)