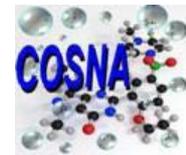




REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCEN

MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Par :

BADI AMINA

Sur le thème

SYNTHÈSE DE PRÉCURSEURS DE QUELQUES ANALOGUES CYCLIQUES DU RGD

Soutenu publiquement le 26 juin 2019 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mme CHOUKCHOU BRAHAM Esma	Professeur	Université de Tlemcen	Présidente
Mme BENSMAIN Amal	MCA	Université de Tlemcen	Examinatrice
Mme DRICI Wassila	MCA	Université de Tlemcen	Encadreur

*Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA)
Tlemcen- Algérie*

ANNÉE : **2018 – 2019**

Dédicaces

Je dédie ce travail.....

A mes très chers parents

A mon mari

A mes frères et ma sœur

A toute ma famille, surtout ma belle mère

A mes amies

A toutes les mains qui m'ont été tendues....

A mon encadrant Mme Drici Wassila

Je vous adore

REMERCIEMENT

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses (COSNA), Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen.

Je tiens à remercier, tout d'abord, Monsieur le professeur ARRAR Zoheir, le directeur du laboratoire de recherche COSNA. Je remercie également Monsieur le professeur KAJIMA MULENGI Joseph le responsable de la formation Master Chimie Pharmaceutique.

Mes plus sincères remerciements à Mme Wassila DRICI pour son soutien, sa confiance, ses conseils judicieux, pour la qualité de son encadrement, sa rigueur, sa méthodologie et sa très grande disponibilité malgré ses obligations

Je remercie Mme Esmâ CHOUKCHOU BRAHAM, pour l'honneur qu'elle me fait de présider ce jury. Je remercie également Mme Amal BENSMAIN pour avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie les membres des équipes de recherche du laboratoire COSNA pour leurs intérêts et leurs bons conseils. Un merci tout particulier à Mr. Djamel Bendiabedallah pour son aide.

Merci à toutes les personnes avec qui j'ai passé ces dernières années, mes meilleures Amies : Amel, Zahira, Zoulikha, Houda, Asma, Amina,...

Un énorme MERCI à mes parents....

Liste des abréviations

Boc : Tert-butoxycarbonyle

Cat : Catalyseur

CBz : Benzyloxycarbonyle

DCM : Dichlorométhane

DCC : Dicyclohexyl carboiimide

Et₃N : Triéthylamine

HCOOH : Acide formique

MeOH : Méthanol

Pht : Phtalimido

RGD : Arginine-Glycine- Acide aspartique

SOCl₂ : Chlorure de thionyle

Liste des figures.

Figure 1 : Structure du RGD1

Figure 2 : Structure secondaires des peptides

Figure 3 : Chaîne de α et β des intégrines

Figure 4 : Antagonistes naturels

Figure 5 : Antagonistes synthétiques

Figure 6 : Un antioxydant peptidique

Figure 7 : Peptides antimicrobiens

Liste des schémas.

Schéma 1 : Objectif du travail

Schéma 2 : Exemple de synthèse en solution

Schéma 3 : Synthèse peptidique en phase solide

Schéma 4 : Ester de tertio-butyle

Schéma 5 : Ester de benzyle

Schéma 6 : Ester de THP

Schéma 7 : Ester méthylique

Schéma 8 : Alkylation

Schéma 9 : Hydrolyse et décarboxylation

Schéma 10 : Mécanisme de l'estérification

Schéma 11 : Réaction de condensation

Schéma 12 : Mécanisme de la réaction de condensation

Schéma 13 : Hydrolyse de la fonction ester méthylique

Schéma 14 : Cyclisation dans l'acide formique

Schéma 15 : Réaction de couplage peptidique

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures.	
Liste des schémas.	
Introduction générale	8

Chapitre I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. INTRODUCTION	12
II. Peptides et peptidomimétiques	
II.1. Antagonistes peptidomimétiques naturels.....	14
II.1. Antagonistes peptidomimétiques synthétique	15
III .Intérêt biologique des peptides et dérivés	
III .1. Activité antioxydante.....	16
III .2. Activité antimicrobienne.....	17
III .3. Activité anticancéreuse.....	17
IV. Stratégies de synthèse des peptides et dérivés	
IV.1. Synthèse en solution	18
IV.2. Synthèse sur support solide	20
V. Conclusion	25

Chapitre II: Résultats et discussion

I. INTRODUCTION	27
II. Estérification des acides aminés	
II .1. Protection de la fonction amine	27
II .2. Protection de la fonction acide	28
II .3. Protections effectuées	28
III. La condensation	
III .1. Condensations réalisées.....	29
VI. Déprotection de la fonction ester	
VI .1 .la cyclisation de l'allylglycine	30
VI .2 .l'hydrolyse effectuées.....	31
V. Couplage peptidique	32
IV. Conclusion	35

Chapitre III: Partie expérimentale

I.	Purification du Méthanol	38
II.	Protection des acides aminés	
	II.1. Estérification de L-phénylalanine...	38
	II.2. Estérification de la L-alanine	39
	II.3. Estérification du β -alanine	39
I.	Synthèse de l'ester d'allylglycine	
	III.1. Alkylation	40
	III.2. Hydrolyse et décarboxylation	40
	III.3. Estérification de l'allylglycine:.....	41
IV.	Condensation	
	IV.1. Condensation de l'ester de phénylalanine	42
	IV.2. Condensation de l'ester de l'alanine :	42
	IV.3. Condensation de l'ester de β -alanine :.....	43
	IV.4. Condensation de l'ester de l'allylglycine :	43
V.	Hydrolyse de la fonction ester	
	V.1. Hydrolyse de l'ester de lactame de phényle alanine :	44
	V.2. L'hydrolyse de lactame de l'ester de l'alanine :	45
	V.3. Hydrolyse de lactame de l'ester de β -alanine :	45
VI.	Cyclisation du lactame de l'allylglycine :	46
VII.	Hydrolyse de l'ester d'allylglycine:	46
VII.	Couplage peptidique	
	VII.1. Couplage de γ -lactames de phénylalanine avec l'acide aspartique protégé.....	47
	VII.2. Couplage de γ -lactames d'alanine avec l'acide glutamique protégé.....	48
	VII.3. Couplage de γ -lactames de β alanine avec l'acide aspartique protégé	48
	VII. 4. Couplage d'azaobicycloalcane avec l'acide aspartique protégé.....	49
III.	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVE.....	51
IV.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....	53

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Au cours du dernier quart du siècle, plusieurs peptides biologiquement actifs ont été développés et caractérisés. Ces molécules bioactifs sont les unités essentielles dans les organismes vivants, ils contrôlent et influencent les fonctions physiologiques selon des processus d'interaction avec leurs récepteurs ^[1].

Cependant leur utilisation en tant qu'agents thérapeutique reste gênée par des facteurs limitatifs comprenant : une faible stabilité métabolique vis-à-vis de la protéolyse, difficulté de traverser les barrières biologiques, et une diversité des actions biologiques ^[2].

Le nombre de peptides naturels et modifiés, comme agents thérapeutiques, continue d'augmenter, aussi beaucoup de peptides bioactifs sont utilisés dans la découverte de nouveaux produits thérapeutiques, dans le traitement du cancer, diabète et les maladies cardiovasculaires ^[3]. C'est pour cet effet, les peptides sont des molécules de choix en chimie thérapeutique ^[4].

D'après la littérature, beaucoup de composés naturels ont été identifiés et caractérisés par les chimistes et les biologistes comme la séquence RGD, qui a attiré l'attention de plusieurs chercheurs à cause de sa structure simple et de son activité biochimique. Le RGD est un tripeptide naturel composé de trois acides aminés : arginine, glycine et acide aspartique (Arg-Gly-Asp), ce motif tripeptidique est reconnu par des récepteurs transmembranaires : les intégrines ^[5]. Celles-ci sont engagées dans les cohésions cellules/cellules ou cellules/ matrice extracellulaire et jouent un rôle important dans de nombreux phénomènes cellulaires comme l'angiogénèse ou la métastase des tumeurs.

Les fonctions carboxyliques et guanidinium de l'acide aspartique et de l'arginine du motif RGD représentent au même temps des sites actifs, et de reconnaissance dans les interactions avec le récepteur biologique ^[6].

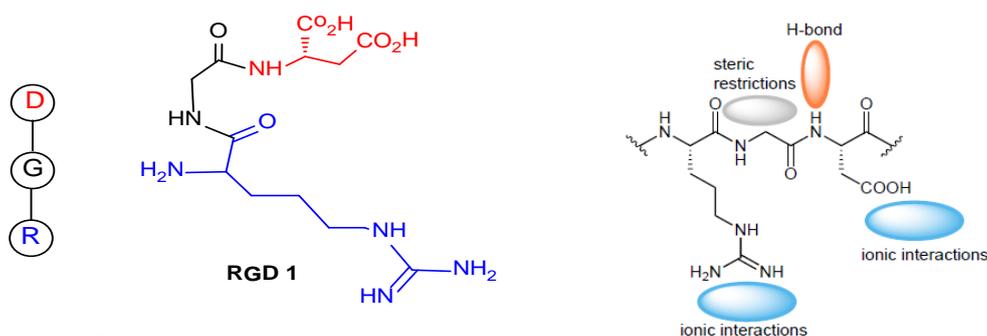


Figure1 : Structure du RGD

En s'appuyant sur ces données bibliographiques, nous nous sommes intéressés à la synthèse d'un hétérocycle du type pyrrolidinone qui peut être préparé à partir d'un acide aminé comme produit de départ. L'hétérocycle et ses dérivés représentent des précurseurs rigides des analogues cycliques du RGD, cette rigidité offre des antagonistes stables en milieu biologique. La structure de l'acide aminé, permet d'introduire une chaîne R_1 avec un site basique, acide ou hydrophobe et une chiralité. Les produits de cette synthèse donnent des possibilités variées de fonctionnalisation et constituent d'intéressants intermédiaires avec divers applications en synthèse totale des analogues du RGD.

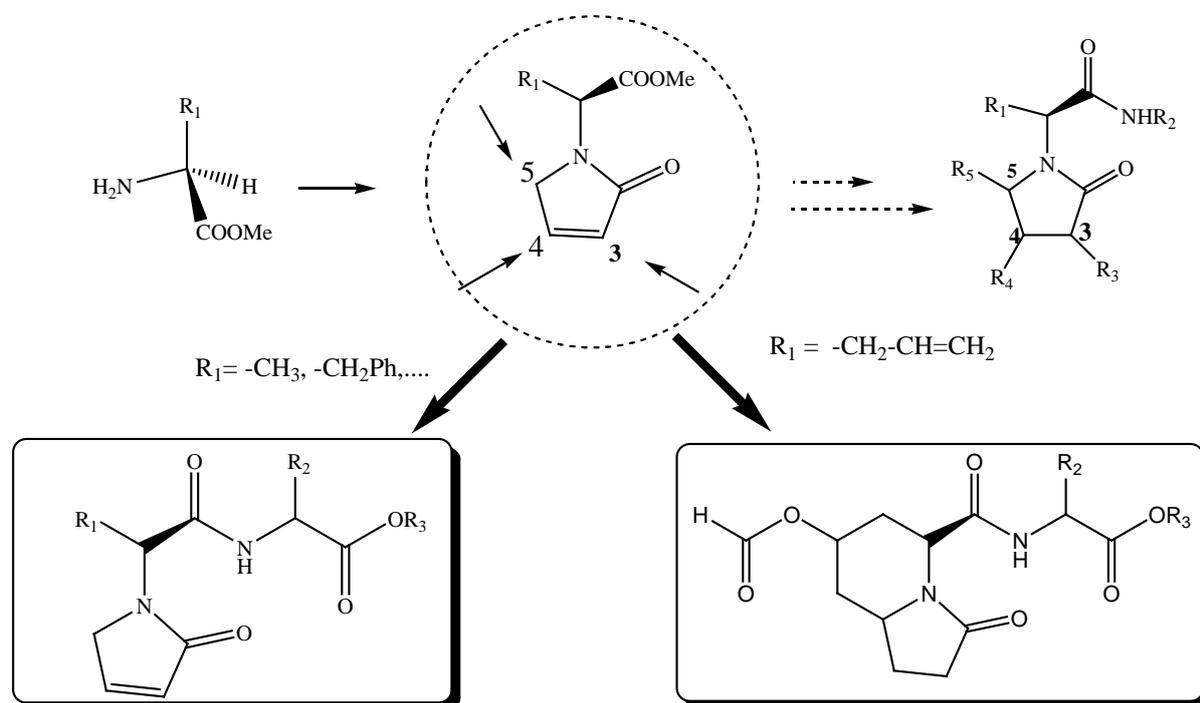


Schéma 1 : Objectif du travail

Le présent travail comporte trois chapitres :

Chapitre 1 : expose les différentes données de l'étude bibliographique effectuée sur la synthèse et l'activité biologique des peptides.

Chapitre 2 : présente le travail réalisé avec les résultats et discussions.

Chapitre 3 : englobe les différentes méthodes et techniques utilisées dans la partie pratique.

Chapitre I :

Etude bibliographique

Introduction

Les peptides sont les molécules de choix en chimie thérapeutique, ils représentent les unités constitutives de la structure de membranes, aussi ils interviennent dans plusieurs processus biologiques et métaboliques. Toutefois, l'utilisation des peptides comme agents thérapeutiques reste limité à cause de leur faible stabilité métabolique, de la difficulté de traverser les barrières biologiques et de la diversité des actions biologiques grâce à la flexibilité des conformations [7].

Par définition, un peptide est un squelette formé par un nombre d'acides aminés inférieur à 50 unités. Pour un nombre supérieur à 10 on parle de polypeptides, s'il est inférieur à 10 c'est la famille des oligopeptides, lorsque le motif renferme deux acides aminés c'est un dipeptide [8].

Les coudes inverses sont l'un des trois plus importantes structures secondaires des peptides. Ces motifs sont sous la forme d'une hélice alpha ou un feuillet bêta ; leur structure originale connue pour inverser la direction de la chaîne peptidique par la présence des liaisons hydrogènes, de façon à adopter la conformation d'un U, qui joue un rôle important dans la stabilisation des structures tertiaires.

Un coude beta est défini comme un segment de quatre résidus d'acides aminés, formant un cycle à dix chaînons, situé dans une région non hélicoïdale. Il y a aussi les coudes gamma, constitués de trois résidus d'acides aminés qui induisent un cycle à sept chaînons.

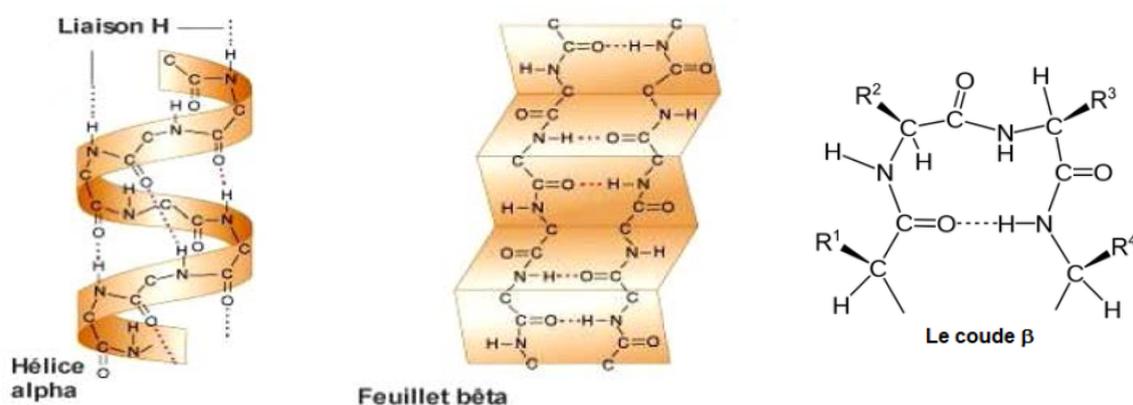


Figure 2 : Structures secondaires des peptides

Dans le but de retrouver des composés mimant les structures des coudes inverses de peptides, la synthèse de nombreux peptidomimétiques a été réalisée. Plusieurs composés non peptidiques de conformation rigide ont donc été imaginées.

I. Peptides et peptidomimétiques

Un peptidomimétique est une molécule qui présente des similitudes structurelles et ou biologique avec le peptide naturel reconnu par les récepteurs membranaires dans l'organisme vivant. La définition d'un peptidomimétique a été donnée la première fois par Gant en 1994^[9]. Ces analogues de peptides représentent des avantages variés comme par exemple :

- ❖ une stabilité et affinité métabolique importante.
- ❖ une résistance vis-à-vis des enzymes protéolytique.
- ❖ une sélectivité avec les récepteurs biologiques.
- ❖ Moins d'effets secondaires.

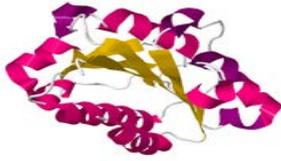
Dans la littérature, de nombreuses méthodes sont décrites sur la synthèse des analogues peptidiques, de type isostères et peptidomimétiques^[10]. Ces composés sont obtenus par des réactions de bases de la chimie organique selon différentes modifications, comme exemple par :

- ❖ incorporation d'un cycle ou hétérocycle sur la chaîne du peptide.
- ❖ modification des résidus d'acides aminés sur la chaîne peptidique.
- ❖ couplage peptidique entre des acides aminés non naturels ou autres réactifs.
- ❖ Application des réactions de condensation et de cyclisation.

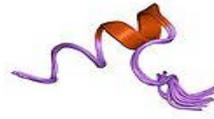
Les chercheurs sont donc intéressés à la conception de peptidomimétiques, dérivés peptidiques, qui représentent des molécules cibles et très utile dans la lutte contre différentes affections susceptibles de provoquer des maladies graves comme les tumeurs.

Dans le but de sélectionner des antagonistes stables en milieu biologique et sélectifs avec certains récepteurs comme les intégrines, de nombreux mimes de peptides RGD ont été décrits^{[11], [12], [13]}.

Le motif RGD est un tripeptide naturel reconnu par les intégrines, qui sont des récepteurs transmembranaires impliquées dans les adhésions cellulaires. Elles sont constituées d'une sous-unité alpha et d'une sous-unité bêta .



Chaîne Béta



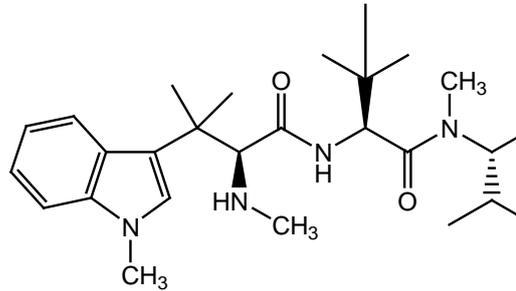
Chaîne alpha

Figure 3 : Chaînes β et α des intégrines

II.1 Antagonistes peptidomimétiques naturels

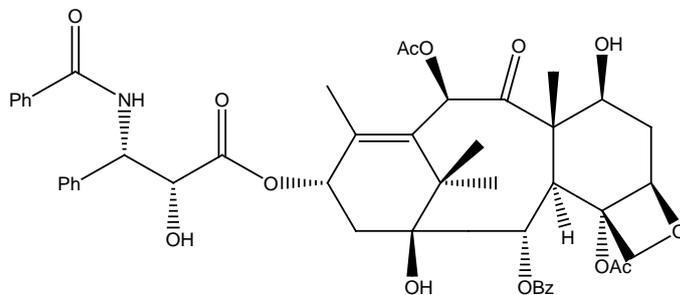
Le milieu naturel représente toujours une source importante de molécules bioactives. Il est très riche en composés chimiques telles que : les alcaloïdes, les terpènes, les flavonoïdes et les peptides. Dans ce travail nous nous sommes intéressés par les dérivés peptidiques qui sont les molécules les plus prépondérants.

A titre d'exemple nous présentons ci-dessous deux antagonistes naturels, un composé de la famille des hemiasterlines utilisé pour l'inhibition de la polymérisation de la tubuline ^[14] et le taxol dans le traitement du cancer ^[15].



tripeptide de la famille des hemiasterlines

Figure 5 : Antagonistes synthétiques



Taxol
Traitement des cancers de l'ov
du poumon et du sein

Figure 4 : Antagonistes naturels

II.2. Antagonistes peptidomimétiques synthétiques

Les antagonistes naturels sont toujours obtenus en faible quantité, et par conséquence leurs structures sont étudiées et développées en synthèse à fin d'élaborer des analogues avec le même intérêt ou par fois une meilleur activité biologique.

A titre illustratif, nous avons choisi des analogues synthétiques du RGD avec des structures cycliques et rigides. Le RGD2 est un dérivé sélectif de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$, par contre le RGD3 a une bonne affinité pour cette intégrine mais peu sélectif^[16]. En ce qui concerne le RGD4 et ses analogues, ces derniers n'ont pas donné de résultats remarquables.

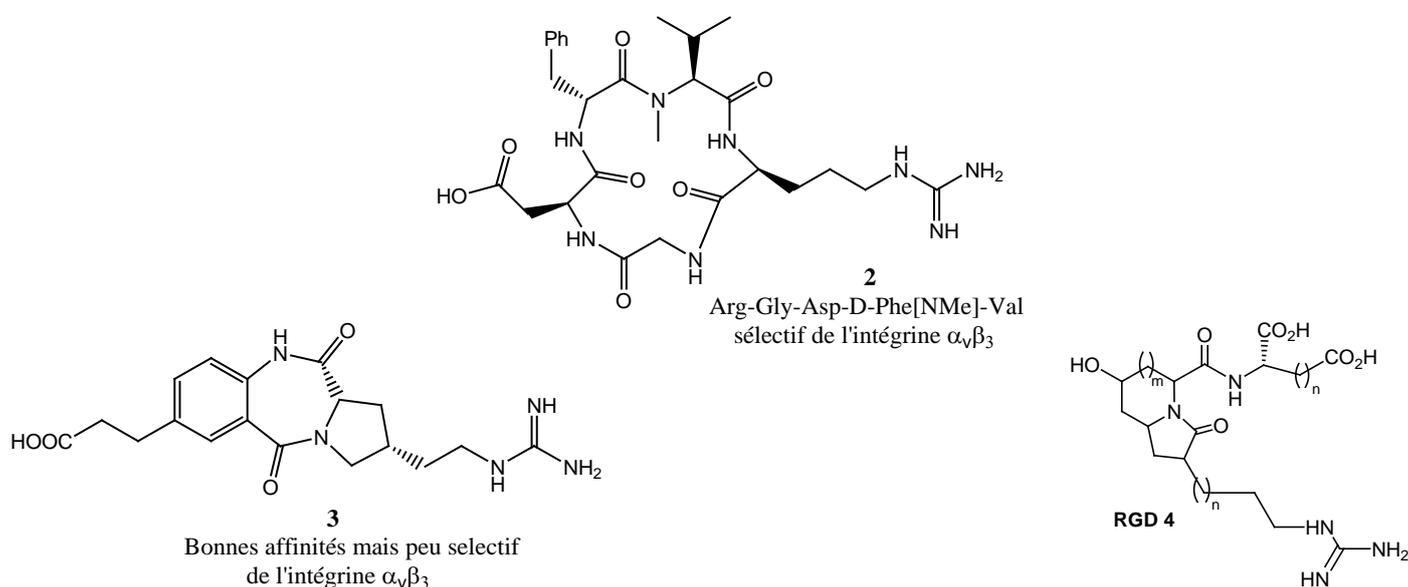


Figure 5 : Antagonistes synthétiques

II. Intérêt biologique des peptides et dérivés

III.1. Activité antioxydante

Les espèces oxygénées et réactives sont engagées dans des phénomènes physiologiques à des faibles quantités. Cependant, l'augmentation de la production des radicaux libre dans les cellules devient toxique^[17], et par conséquence donne lieu au stress oxydatif qui sera impliqué dans diverses pathologies à savoir les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson), le cancer, le diabète, les maladies inflammatoires, le vieillissement^[18],...etc.

Par ailleurs, pour lutter les phénomènes oxydatifs, la cellule fait appel à des systèmes appelés antioxydants. Un antioxydant est une substance ayant la capacité de prévenir, de retarder, ou de réparer un dommage oxydatif d'une molécule ^[19].

D'après l'étude bibliographique, il a été constaté que le dipeptide (CA-Pro-His-NH₂) possède une forte activité anti-oxydante ^[20].

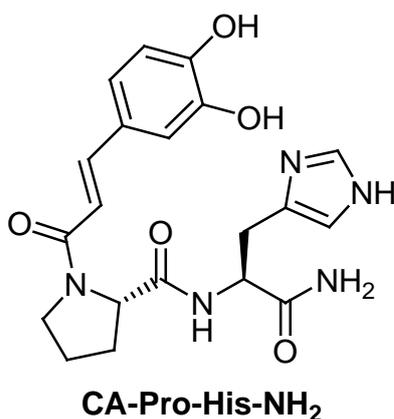


Figure 6 : *Un antioxydant peptidique.*

III.2. Activité antimicrobienne

Le mot antimicrobien indique les différents agents qui tuent (Microbicides), ou arrêtent (Microbiostatiques) la croissance des microorganismes, telles que : les bactéries (activité antibactérienne), les mycètes ou les champignons (activité antimycosique ou antifongique), les virus (activité antivirale) et les parasites (activité antiparasitaire) ^[21].

L'apparition de pathogènes multi-résistants n'a pas de limites et présente un problème majeur de santé publique. La recherche de nouveaux agents antimicrobiens considérée comme solutions de remplacement des antibiotiques conventionnels. Une des alternatives prometteuses est l'utilisation des peptides comme nouveaux agents antimicrobiens.

Les AMP (Antimicrobial peptide), sont des molécules multifonctionnelles jouant un rôle biologique fondamental, spécialement dans l'élimination de micro-organismes pathogènes ^[22].

La figure 7, présente la structure de deux dérivés de dicétopipérazines qui sont : le cis-cyclo (L-Phe, L-Pro) et le cis-cyclo (L-prolyl, L-valine). Ces peptides ont été purifiés et

caractérisés à partir de la souche de *Streptomyces* TN97 et possèdent des activités antibactériennes et antifongiques^[23].

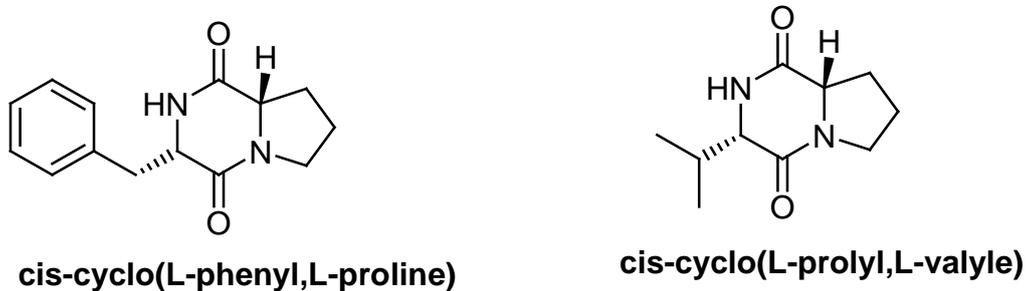
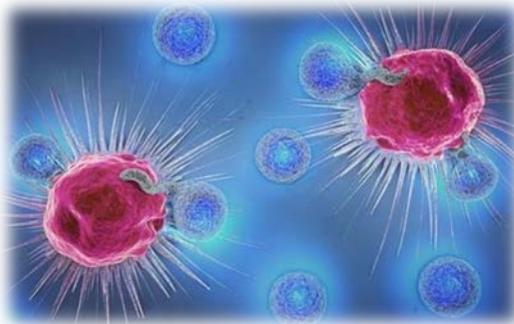


Figure 7: *Peptides antimicrobiens*

III.3. Activité anticancéreuse

Les cellules tumorales sont caractérisées par une prolifération illimitée et résistance à l'apoptose. Elles ont la capacité à induire l'angiogénèse et l'invasion tissulaire ce qui provoque la diffusion métastatique. Ces processus impliquent une anomalie de récepteurs membranaires, un affaiblissement du système immunitaire et une modification des enzymes membranaires^[24].

Les tendances thérapeutiques actuelles consistent à inhiber la réplication de l'ADN et les enzymes protéolytiques appelés : peptidases ou protéases. Elles visent aussi un blocage de la signalisation intracellulaire comme l'inhibition de la liaison des intégrines avec leurs ligands naturels. Malheureusement, ces approches restent limitées et possèdent beaucoup d'effets secondaires^[25].



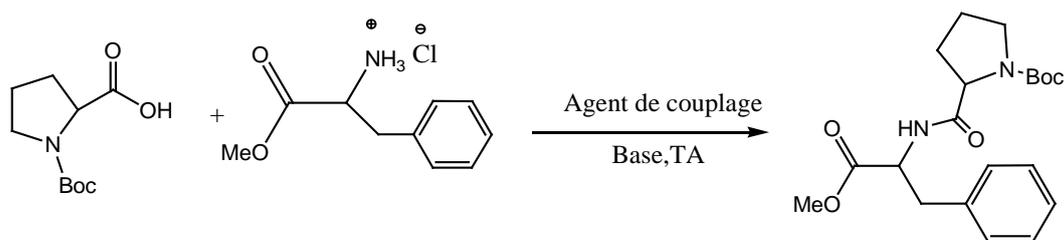


Schéma 2: Exemple de synthèses en solution.

IV.2. Synthèse sur support solide

La synthèse sur support solide (SPS) est une technique dans laquelle les molécules sont liées par des liaisons covalentes à un support insoluble et réagissent avec un réactif en solution.

Cette méthodologie permet d'éliminer plus facilement le produit supporté par la phase solide du réactif en excès ou des impuretés en solution.

Par ailleurs, cette technique a bénéficié d'un développement considérable depuis les premiers supports présentés par Merrifield en 1963^[26] et pour lesquels il a obtenu le prix Nobel en 1984.

La phase solide est constituée d'une matrice de polymère, d'un bras espaseur et d'une fonction d'ancrage. Le principe de la synthèse sur support solide repose sur l'immobilisation d'un substrat sur le support grâce à la fonction d'ancrage. Ce substrat supporté réagit ensuite avec un réactif en solution. A la fin de la réaction, le produit immobilisé sur le support est aisément séparé par filtration.

Pour mieux comprendre le principe de la synthèse des peptides sur support solide, nous représentons ci-contre un schéma simplifié et qui comporte les différentes étapes de cette méthode, allant de la mise en contact des réactif jusqu'à la séparation et l'élimination du produit désiré. Ce dernier est séparé directement après filtration sans la nécessité d'une méthode de purification qui peut influencer le rendement de la réaction^[27].

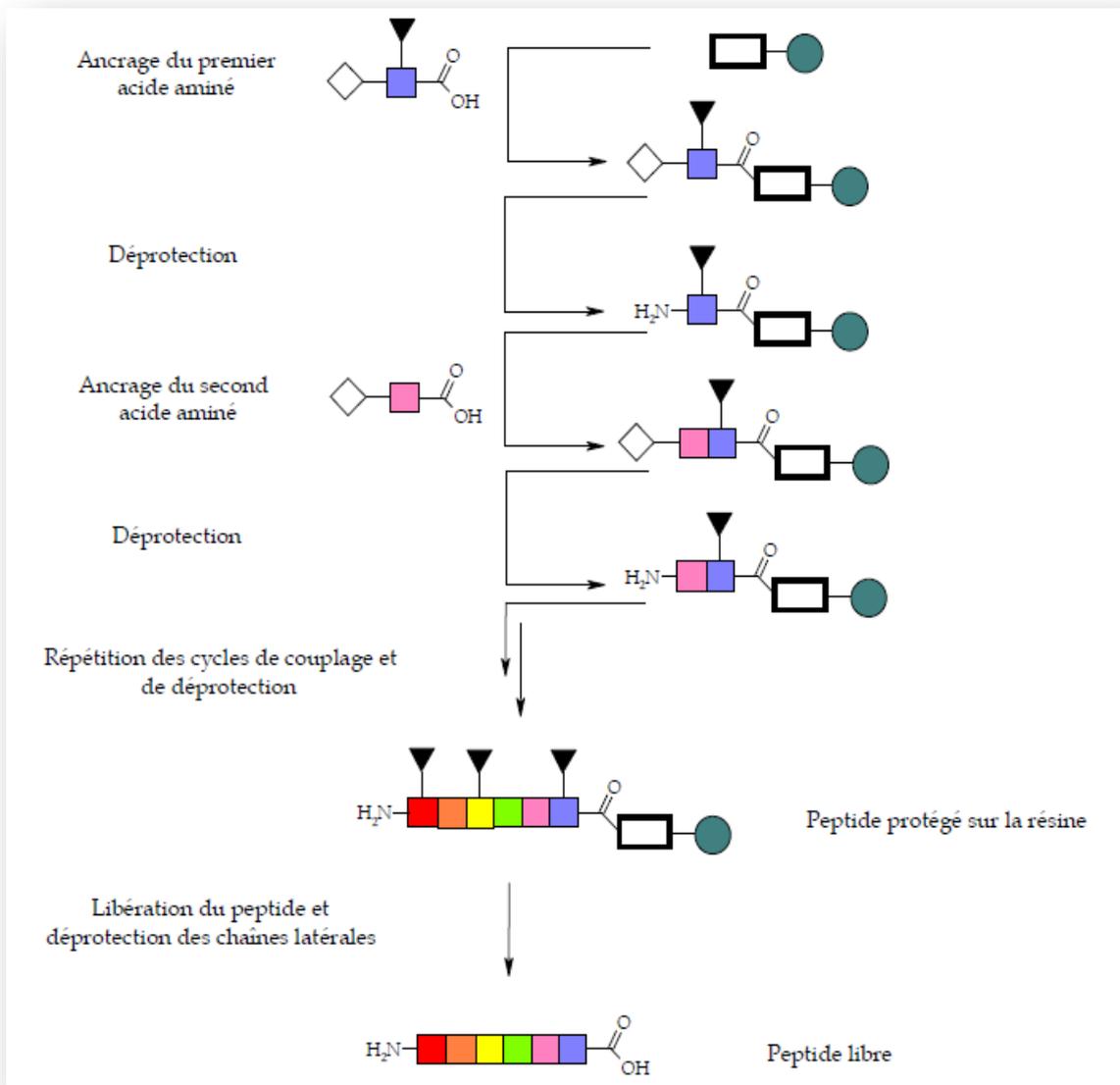


Schéma 3: Synthèse peptidique en phase solide ^[27]

La synthèse sur support solide représente une nouvelle technique, facile à mettre en œuvre avec plusieurs avantages ^[28].

- ❖ Les produits sont séparés et purifiés par filtration.
- ❖ Les rendements sont importants en utilisant des réactifs en excès.
- ❖ Le groupement protecteur de la fonction amine ou acide peut être utilisé par le support lui-même à travers le groupe d'ancrage.
- ❖ L'automatisation des réactions supportées est possible.
- ❖ La réactivité du réactif ou du catalyseur instable peut être affaiblie sur le support.
- ❖ L'utilisation des substances toxiques peut être facile et moins dangereuse.

Cependant, des inconvénients sont également à percevoir lors de l'application de la synthèse sur support solide, tels que^[29] :

- ❖ Le coût de la synthèse du support.
- ❖ Le temps est très lent sur support.
- ❖ Le clivage peut être incomplet et/ou peut endommager le support.
- ❖ La stabilité thermique du support ainsi la capacité en sites actifs sont limitées.
- ❖ L'identification des produits supportés peut être difficile.

IV. Conclusion

Les peptides sont des polymères d'acide aminés reliés entre eux par des liaisons peptidiques, ils sont des molécules de choix en chimie thérapeutique à cause de leurs nombreuses propriétés biologiques. L'obtention d'un peptide par synthèse est facile à mettre en œuvre. Elle peut être réalisée soit en solution ou bien sur support solide.

Dans le but de sélectionner des composés stables en milieu biologique, antagonistes sélectifs de certaines intégrines de nombreux peptidomimétiques du RGD ont été décrits dans la littérature. Les analogues cycliques du RGD ont montrés une forte rigidité et sélectivité dans l'inhibition des intégrines.

L'utilisation des acides aminés dans la synthèse des peptidomimétiques reste toujours originale parce que ces derniers sont reconnus par l'organisme ce qui limite ou réduit les effets secondaires des peptidomimétiques.

Chapitre II:

Résultats et discussion

I. INTRODUCTION

Ce travail s'intéresse à la synthèse des précurseurs cycliques du RGD. Le RGD représente un tripeptide naturel reconnu par les intégrines.

Cette synthèse utilise les acides aminés comme produit de départ. Ces derniers sont transformés aux esters correspondants. L'étape clés de ce protocole consiste à faire une condensation des esters des acides aminés avec un réactif spécifique à fin d'arriver à une structure cyclique qui sera par la suite engagé dans un couplage peptidique.

II. Estérification des acides aminés

L'utilisation des acides aminés dans la synthèse demande la protection de la fonction acide ou amine parce que les deux fonctions sont les sites réactifs des aminoacides qui peuvent réagir dans les mêmes conditions opératoires c'est pour cela on protège une des fonctions (acide ou amine).

II.1. Protection de la fonction amine

De nombreux groupements protecteurs existent pour protéger la fonction amine par exemple : le phtalimido (Pht), le tert-butoxycarbonyle (Boc) ; le benzyloxycarbonyle (CBz). Ces groupements sont stables dans les conditions de couplage.

II.2. Protection de la fonction acide

Ils existent plusieurs méthodes pour protéger la fonction acide carboxylique. Dans ce chapitre nous rappelons les plus utilisées comme par exemple la transformation de la fonction acide en esters méthyliques ^[28]

A. Ester de tertiobutyle

Les esters de tertiobutyle sont préparés avec l'isobutylène dans un milieu acide et le dichlorométhane comme solvant ^[29].

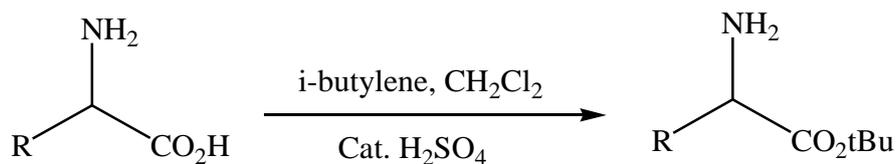


Schéma 4 : Ester de tertiobutyle

B. Ester de benzyle

Ce dérivé est préparé avec l'alcool benzylique dans le benzène en présence d'un catalyseur acide .^[30].

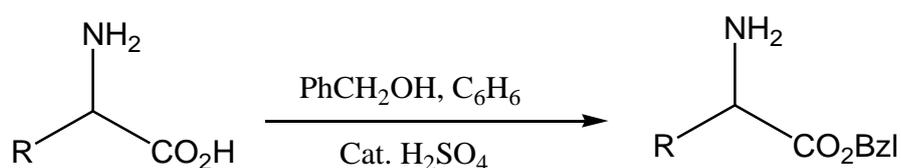


Schéma 5 : Ester de benzyle

C. Ester de tétrahydropyranne (THP)

L'ester de tétrahydropyranne est synthétisé à partir d'un composé cyclique qui est le dihydropyranne en présence de l'acide para toluène sulfonique dans le dichlorométhane .^[30].

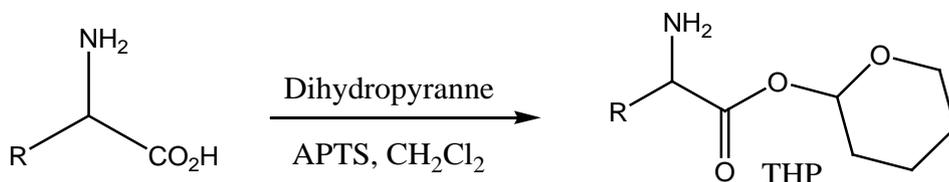


Schéma 6 : Ester THP

D. Ester de méthyle et d'éthyle

Cette réaction consiste à convertir l'acide carboxylique en ester méthylique ou éthylique. Elle est réalisée en présence de chlorure de thionyle dans le méthanol anhydre^[30].

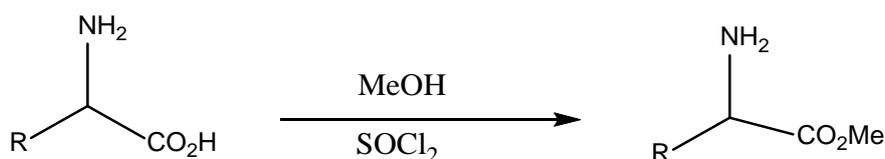


Schéma7 : Ester méthylique

II .3. Protections effectuées

Pour réaliser notre travail, nous avons choisi quatre acides aminés, trois de type α et un quatrième de type β .

L'allylglycine, un acide aminé de type α , représente une matière onéreuse. Ce dernier a été synthétisé dans notre laboratoire en deux étapes.

A. Etape 1 : Alkylation

Cette réaction consiste à dissoudre le sodium dans l'éthanol anhydre, pour former l'éthanolate de sodium, l'acétamidomalonate de diéthyle est ensuite ajouté pour donner le carbanion nécessaire à la substitution nucléophile sur le bromure d'allyle. Le produit, 2-acétylamino-2-allylmalonate de diéthyle, est obtenu avec un rendement de 76,7%.

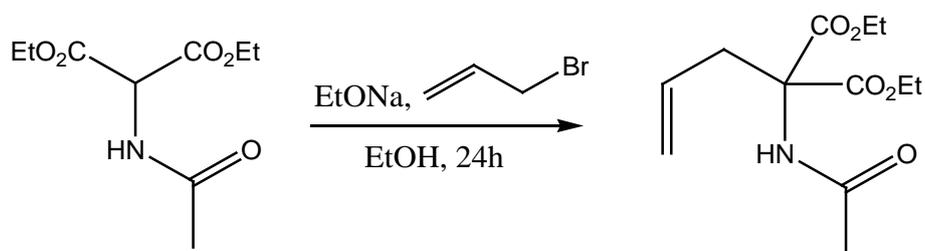


Schéma 8 : Alkylation

B. Etape 2 : Hydrolyse et décarboxylation.

En présence du HCl et chauffage à reflux pendant 24h, l'allylacétamido malonate de diéthyle est transformé en chlorhydrate d'allylglycine selon une hydrolyse, une déacétylation et une décarboxylation en une seule étape. Cette réaction en *One Pot* donne un produit avec un rendement de 80%.

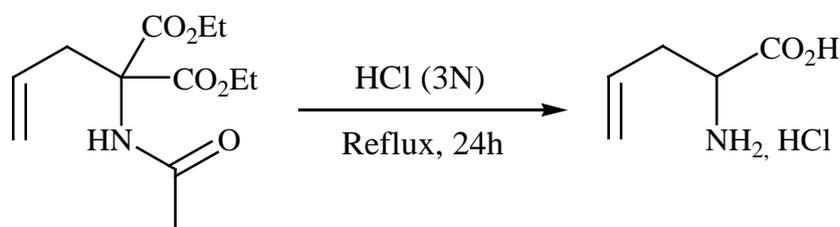


Schéma 9 : Hydrolyse et décarboxylation

C. Estérification des acides aminés

Pour atteindre notre but, nous avons commencé par la protection de la fonction acide carboxylique des acides aminés : alanine, β -alanine, phénylalanine et allylglycine préparé.

Nous nous sommes basés sur la réaction d'estérification avec le chlorure de thionyle et le méthanol anhydre sous reflux de 2h. Le mécanisme de cette réaction est décrit dans le schéma suivant :

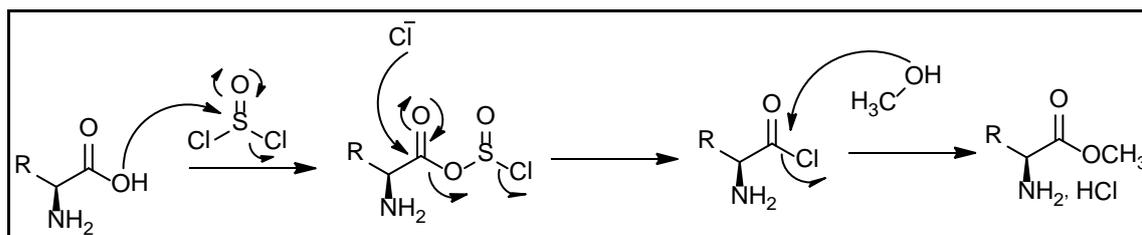


Schéma 10 : Mécanisme de l'estérification

Les résultats de la réaction d'estérification sont regroupés dans le tableau suivant :

Ester de l'acide aminé	Aspect	Rdt (%)	T _f (°C)
L-phénylalanine <chem>NC(Cc1ccccc1)C(=O)OC</chem>	Solide blanc	99,8	159 Tf lit = 158-162
L-alanine <chem>NC(C)C(=O)OC</chem>	Solide blanc	93,7	88 Tf lit= 109-111
β -alanine <chem>NC(CCC)C(=O)OC</chem>	Solide blanc	98,07	106 Tf lit= 109-111
Allylglycine <chem>NC(C=C)C(=O)OC</chem>	Solide blanc	80	102°C /

Tableau 1 : Résultats de l'estérification

Les chlorhydrate des acides aminés ont été séchés et gardés dans un dessiccateur. Après avoir obtenu un solide blanc et sec nous avons mesuré la température de fusion avec un Banc Köfler et analysé les produits par IR en ATR.

D'après les résultats du tableau 1, les rendements de la réaction d'estérification sont qualitatifs et varient entre 80 et 99,8 %.

III. Condensation avec le 2,4-diméthoxydihydrofurane

III.1. Les γ -lactames α , β -insaturés

Les γ -lactames α , β -insaturés, également appelés 5-dihydropyrol-2-ones ou 3-pyrolin-2-ones représentent des intermédiaires très importants en synthèse organique puisqu'ils offrent plusieurs variétés de fonctionnalisation.

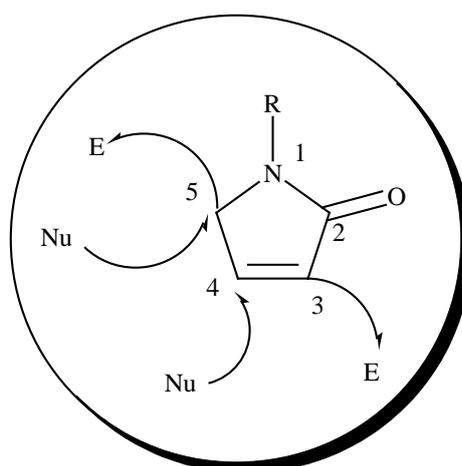


Figure 9 : Réactivité du γ -lactames α , β -insaturés

Les γ -lactames α , β -insaturés possèdent plusieurs sites réactifs vis-à-vis des électrophiles ou nucléophiles ^[31].

- La position C₃ possède une réactivité vis-à-vis d'un électrophile.
- La position C₄ est réactive devant un nucléophile.
- La position C₅ possède deux propriétés une réactivité vis-à-vis des nucléophiles et une réactivité vis-à-vis des électrophiles parce qu'elle présente la position γ d'un amide et la position α d'un azote.

III .2. Condensations réalisées

La réaction de condensation entre l'ester méthylique de l'acide aminé et le 2,4-diméthoxydihydrofurane a été effectuée dans un milieu aqueux en présence de HCl et à température ambiante.

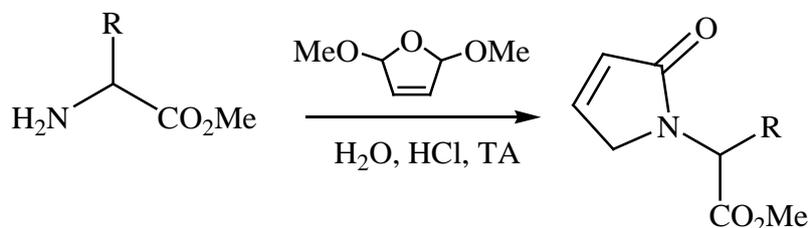


Schéma 11 : Réaction de condensation

Le schéma explicitant le mécanisme de la réaction de condensation montre le processus de transformation qui permet de donner le γ -lactames α , β -insaturés, ce mécanisme est représenté ci-dessous :

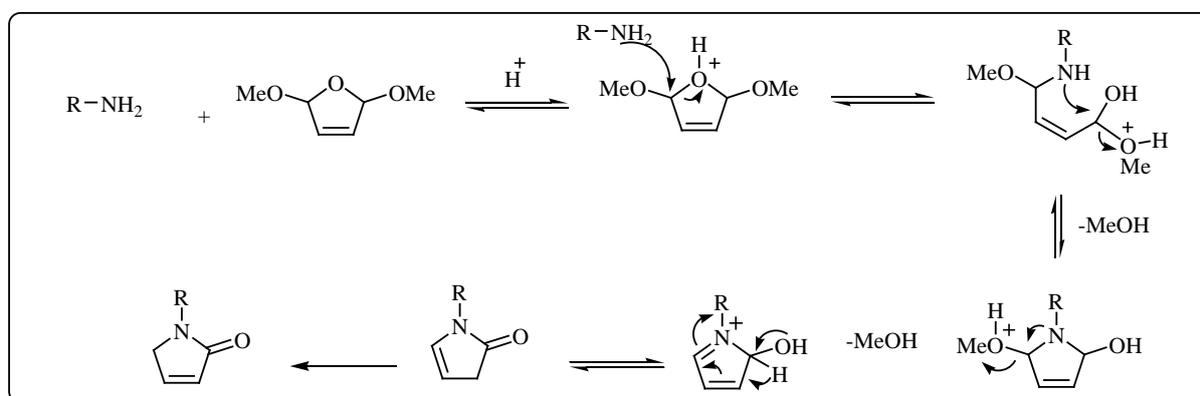


Schéma 12 : Mécanisme de la réaction de condensation^[31].

A fin de déterminer le temps de la réaction de condensation nous avons suivi la transformation par chromatographie sur couche mince (CCM). Les produits ont été purifiés sur colonne chromatographique et obtenus avec des rendements moyens. L'analyse Infra rouge (IR) a montré la présence des deux bandes caractéristiques de l'ester et l'amide (C=O) à 1738 et 1661 cm^{-1} respectivement.

Les résultats des différentes condensations effectuées sont regroupés dans le tableau suivant :

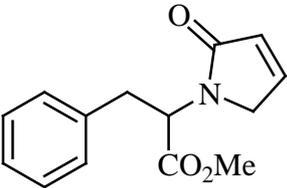
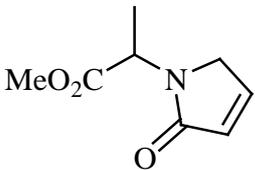
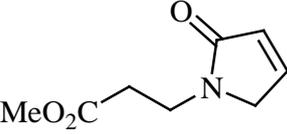
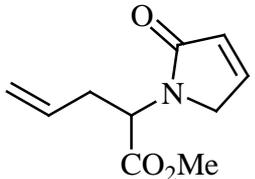
γ -lactames α , β -insaturés	Rdt (%)	Aspect	Rf
	71,62	Huile rouge -marron	0,5
	79,3	Huile rouge -marron	0,6
	30	Huile rouge -marron	0,5
	50	Huile rouge -marron	0,4

Tableau 2 : Résultats de la condensation.

IV. Hydrolyse de la fonction ester

Les molécules obtenues dans l'étape précédentes, sont des hétérocycles à cinq chaînons de type γ -lactames α , β -insaturés, elles sont généralement stables ce qui a permis d'isoler et purifier ces composés. A fin de réaliser des couplages peptidiques avec ces substances, qui représentent elles mêmes des précurseurs cycliques du RGD, nous avons réalisé une déprotection de la fonction acide qui est sous forme d'un ester méthylique selon une hydrolyse basique en utilisant le LiOH dans le THF^[32].

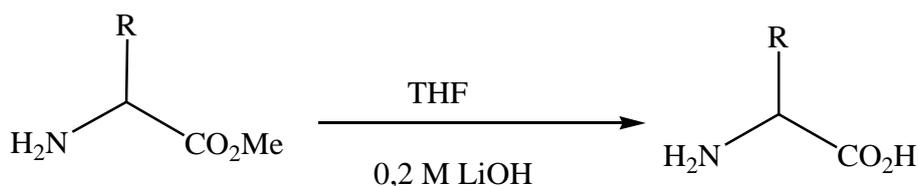


Schéma 13 : *Hydrolyse de la fonction ester méthylique*

IV. 1. Cyclisation du γ -lactame α , β -insaturé provenant de l'allylglycine

Le γ -lactame α , β -insaturé de l'allylglycine possède une double liaison sur sa chaîne latérale, c'est à dire sur son groupement R (alkyle), donc il est possible de faire une réaction de cyclisation intramoléculaire entre la double liaison et l'hétérocycle, réaction décrite dans la littérature ^[33], en présence de l'acide formique à reflux pendant 4h.

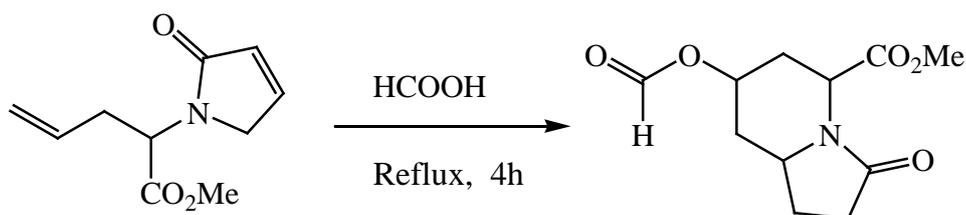


Schéma 14 : *Cyclisation dans l'acide formique.*

Le bicyclic obtenu dans cette réaction de cyclisation, représente notre deuxième précurseurs cyclique du RGD devant les γ -lactames α , β -insaturés préparés. Le produit de cyclisation est obtenu avec un rendement satisfaisant de 70%. L'analyse IR nous a montré la présence des fonctions esters et amide.

Pour effectuer la réaction suivante, tous les esters obtenus y compris le produit de la cyclisation, dérivé de l'allylglycine, ont été analysés par CCM et IR.

IV.2. Hydrolyses effectuées

A ce stade, nous avons trois γ -lactames α , β -insaturés avec des chaînes latérales différentes et un bicyclic dérivé de l'allylglycine.

Ces échantillons comportent tous une fonction ester méthylique, susceptible d'être hydrolyser avec LiOH dans le THF en utilisant la réaction décrite précédemment. Cette dernière facilite la libération de la fonction acide pour effectuer un couplage peptidique avec un autre acide aminé. Les produits obtenus après hydrolyse sont dans le tableau suivant :

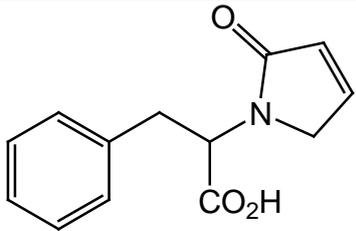
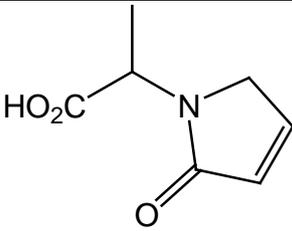
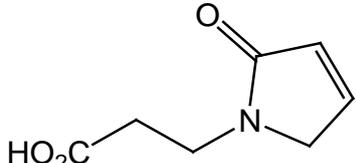
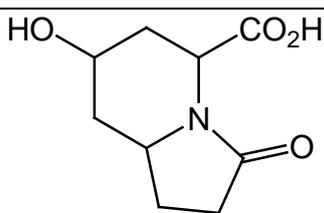
Produits	Rdt (%)	Aspect
	60	Huile rouge -marron
	56	Huile rouge -marron
	58	Huile rouge -marron
	80	Huile rouge -marron

Tableau3 : Résultats de l'hydrolyse

Nous remarquons d'après le tableau représenté ci-dessus, que les produits obtenus sont sous forme des huiles rouge marron avec des rendements allant du bon aux moyens. Les spectres IR de quelques produits ont montré la présence de la fonction acide libérée.

V. Couplage peptidique

Le couplage peptidique est la formation d'une fonction amide, c'est un assemblage entre deux aminoacides, ou bien dans le cas générale entre une fonction acide et amine soit en intermoléculaire ou intra moléculaire dans des conditions précises.

Pour avoir des bons rendements et éviter des transformations intermédiaires, des agents de couplage sont utilisés, ces derniers sont mentionnés dans le tableau suivant ^[34]:

Agents de couplage	Exemples
Carbodiimide	DCC, EDC
Additifs	HOBt, HOAt
Sels de thionuim	HOTT, HMPT
Imidazolium	CDI, BMTB, CBMIT

Tableau 4 : Exemples d'agents de couplage

Le schéma réactionnel général du couplage peptidique entre deux acides aminés, dont un est protégé sur sa fonction acide et l'autre sur sa fonction amine est comme suit :

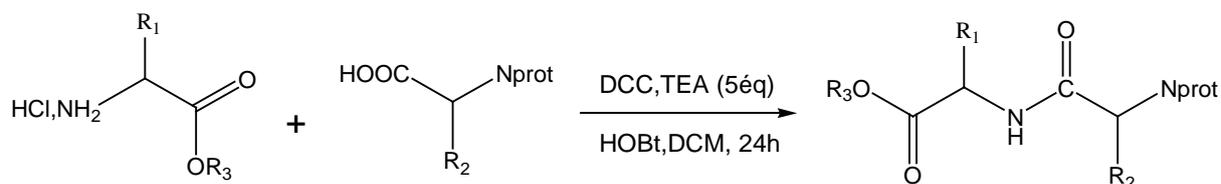


Schéma 15 : Réaction de couplage peptidique

Dans notre travail le couplage peptidique a été réalisé sans avoir fait des réactions de protections car les composés qui ont été utilisés possèdent une seule fonction amine ou acide libre.

En fait, c'est un couplage entre les produits obtenus dans l'étape précédente possédant une fonction acide libre et des aminoacides commerciaux avec une fonction amine libre sous forme chlorhydrate d'esters tels que : chlorhydrate du di-tertiobutyl ester de l'acide aspartique et chlorhydrate du di-tertiobutyl ester de l'acide glutamique. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

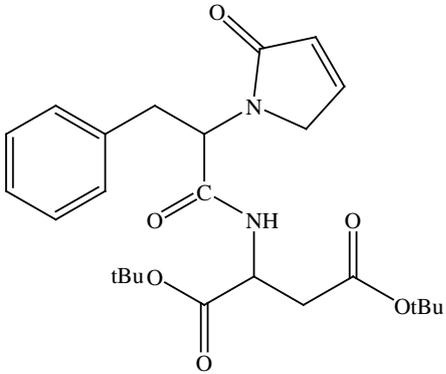
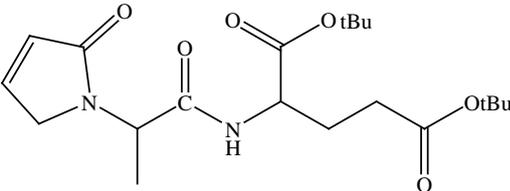
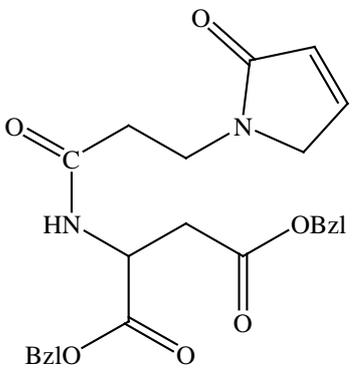
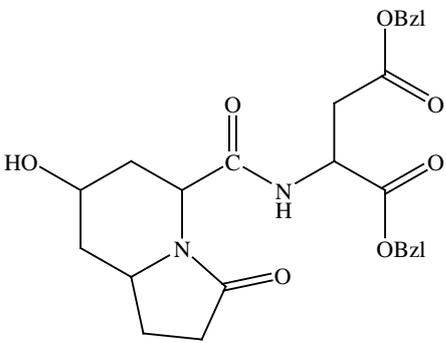
Le produit	Rdt (%)	Aspect	R _f
	60	Pâte rouge marron	0,5
	48	Pâte rouge marron	0,57
	60	Pâte rouge marron	0,5
	70	Pâte rouge marron	0,6

Tableau 5 : Peptides obtenus analogues du RGD

Les peptides obtenus dans cette étape sont au même temps des analogues cycliques du RGD et des précurseurs importants en synthèse pour élaborer d'autres analogues avec des structures beaucoup plus complexes et intéressantes. Ces dérivés ont été obtenus avec des rendements bruts moyens et analysés par CCM et IR.

IV. Conclusion

Dans ce chapitre plusieurs réactions ont été abordées : estérification, condensation, hydrolyse et couplage peptidique afin d'arriver à des analogues intéressants du RGD, ou bien à des structures importantes pour d'autres réactions chimiques. Donc le but de ce travail est réalisé, comme nous avons abouti à quatre dérivés qui peuvent être utilisés comme précurseurs ou analogues du RGD.

L'une des étapes clés et importante dans notre travail, est la condensation des esters méthylique avec le 2,4-diméthoxydihydrofurane pour arriver à des γ -lactames α , β -insaturés, intermédiaires intéressants en synthèse organique. Les rendements de cette étape et de toutes autres réactions ont été bons ou moyens.

Toutes les réactions ont été suivies par CCM et IR, en ce qui concerne l'analyse l'utilisation de l'IR reste insuffisante pour confirmer les structures malgré la caractérisation de certaines fonctions. Les composés obtenus gagnerait à être identifiés et caractérisés par RMN proton et carbone 13.

Chapitre III :

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1°/ Méthanol anhydre : pour obtenir le méthanol anhydre, nous avons fait un traitement par Mg et I₂ puis distiller sous atmosphère inerte, ensuite conserver dans un flacon sous tamis moléculaire de 4°A.

2°/ Ethanol anhydre : l'éthanol de 96% de pureté a été traité par CaCl₂, et distillé immédiatement sous atmosphère, ensuite engager directement dans le milieu réactionnel.

3°/ Chlorure de thionyle : utilisé après une simple distillation.

4°/ Détermination de la température de fusion :

Les points de fusion ont été déterminés à l'aide d'un Banc Köfler.

5°/ Chromatographie sur couche mince :

Les chromatographies sur couche mince ont été effectuées sur plaques en plastique recouvertes de gel de silice et ont été révélées à l'aide d'une lampe UV et avec une solution de l'acide phosphomolybdique en utilisant l'acétate d'éthyle et l'hexane comme éluant.

6°/ Chromatographie sur colonne :

Les chromatographies sur colonne ont été effectuées sur gel de silice Merck 60 (0.063-0.200 mm) en utilisant comme solvant acétate d'éthyle et hexane.

7°/ Infrarouge (IR): Les spectres infrarouge ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Agilent technologies (cary 660 FTIR) les composés sont placés sur ATR, les fréquences d'absorption sont données en nombre d'ondes (4000-400) cm⁻¹

I. Purification du Méthanol 96 %

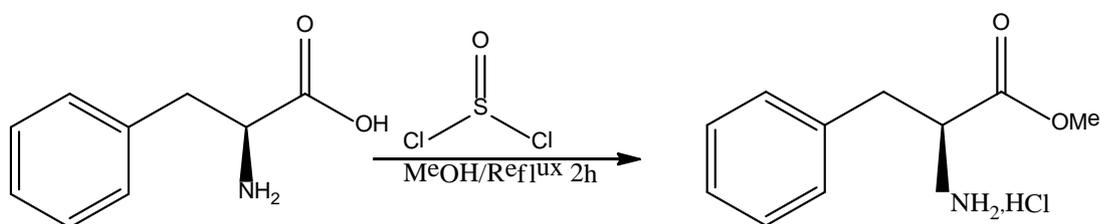
Mode opératoire :

Dans un ballon de 1L, on met 800 mL du méthanol (96 %), on ajoute une masse d'iode et de Magnésium .on porte le tout à reflux jusqu'à la disparition de la couleur marron brune, ensuite on procédera à la distillation et le distillat est recueilli sur un tamis moléculaire de 4°A.

II. Protection des acides aminés

II.1. Estérification de L-phénylalanine :

Schéma réactionnel :

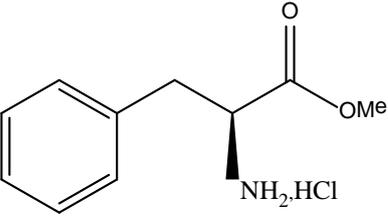


Protocole :

La phénylalanine (mg ; 0,0302 mol) est dissoute dans un volume de méthanol anhydre, dans un ballon surmonté d'un réfrigérant muni d'une garde à CaCl₂ et sous courant d'azote.

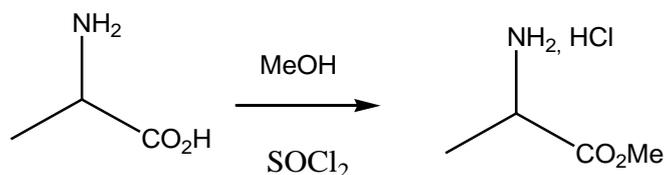
A 0°C le chlorure de thionyle (SOCl₂) fraîchement distillé (2,18mL) est ajouté goutte à goutte au mélange réactionnel à l'aide d'une seringue. . Une fois l'addition terminée on laisse l'agitation environ 5 min ensuite le mélange est porté à reflux pendant 2 heures. . Quand la réaction est achevée, on laisse le mélange refroidir et le solvant est évaporé sous vide en utilisant l'évaporateur rotatif.

Résultat :

	<p>Formule brute : C₉H₁₁O₂N, HCl Aspect : Solide blanc Masse molaire : 215.68g /mol Rdt : 99.8% IR (cm⁻¹):(C=O :1742 ; C=C :1491 ; C-O :1236) T_f : 160°C</p>
-------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

II.2. Estérification de la L-alanine :

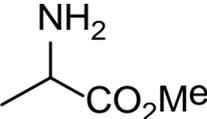
Schéma réactionnel:



Protocole :

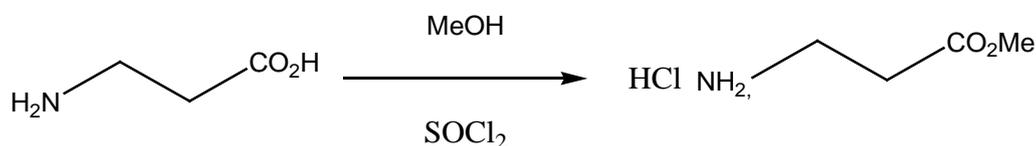
On a utilisé le même mode opératoire décrit précédemment.

Résultat :

	<p>Formule brute : C₄H₈O₂N, HCl Aspect : Solide blanc Masse molaire : 139,45g/mol Rdt : 93,7% IR (cm⁻¹): (C=O :1739 ; C-O :1114) T_f : 88 °C</p>
-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

II.3. Estérification de β-alanine :

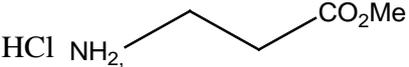
Schéma réactionnel :



Protocole :

On a utilisé le même mode opératoire.

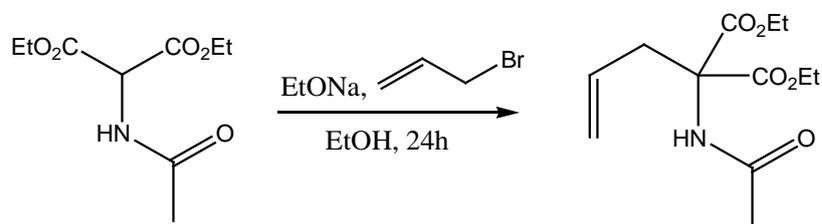
Résultat :

	<p>Formule brute : C₄H₈O₂N ;HCl Aspect : Solide blanc Masse molaire : 139,45 g/mol Rdt : 98,07% IR(cm⁻¹): (C=O :1732; C-O :1213). T_f : 106°C</p>
-------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

III. Synthèse de l'ester d'allylglycine

III.1. Alkylation

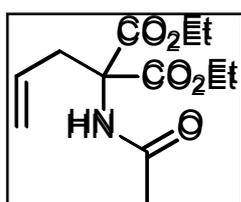
Schéma réactionnel :



Protocole :

De l'éthanol anhydre (11.2 mL) est placé dans un ballon surmonté d'un réfrigérant avec garde à chlorure de calcium. Du Na (mg, 0.02 mol) est ajouté lentement par petits morceaux en vérifiant que le mélange ne chauffe pas trop. Une fois le sodium totalement dissous, l'acétamidomalonate de diéthyle (m g, 23 mmol) est ajouté et le mélange est agité 30 min (on obtient un mélange laiteux).

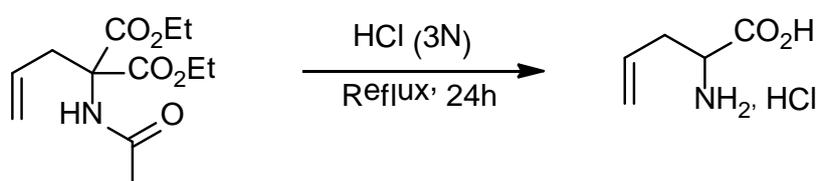
Le bromure d'allyle (2.2 mL) est ajouté goutte à goutte en maintenant la température à température ambiante puis le mélange est agité pendant 24 heures. L'éthanol est évaporé sous vide et le résidu est repris dans 5 mL d'eau. Après avoir acidifié la solution avec une solution de H₂SO₄ 1M, le produit est extrait avec Et₂O et séché sur Na₂SO₄ anhydre, puis le solvant est évaporé sous vide. Une huile jaune est obtenue. Après séchage la cristallisation peut-être amorcée au congélateur on obtient un solide jaune pâle.



Formule brute : C₁₂H₁₉NO₅
Masse molaire : 257,1 g/mol
Tf : 60°C
IR (cm⁻¹) : C=C : 1630 ; C=O : 1730 ;
C-O : 1215

III.2. Hydrolyse et décarboxylation

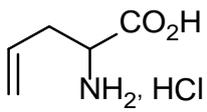
Schéma réactionnel



Protocole :

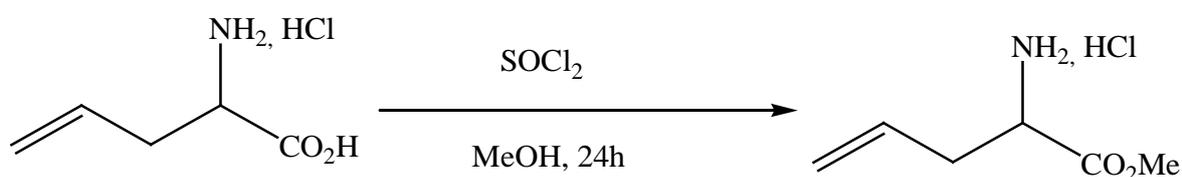
L'allylacétamidomalonate de diéthyle (mg, 0.015 mol) est dissous dans 46 mL de HCl (3M) et le mélange est agité à reflux pendant 24h .une fois le mélange refroidi, le solvant est évaporé sous vide. Le résidu est repris dans quelques mL d'éthanol absolu est évaporé, l'opération est répétée au mois 3 fois. Le composé est séché par la suite.

Résultat :

	<p>Formule brute : C₅H₉O₂N ;HCl Aspect : Solide marron Masse molaire : 151g /mol Rdt : 76,7% IR(cm⁻¹) : C=O(acide) :1710 ;C=C :1650</p>
-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

III.3. Estérification de l'allylglycine:

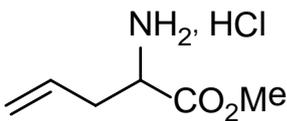
Schéma réactionnel



Protocole :

On a utilisé le même mode opératoire décrit précédemment.

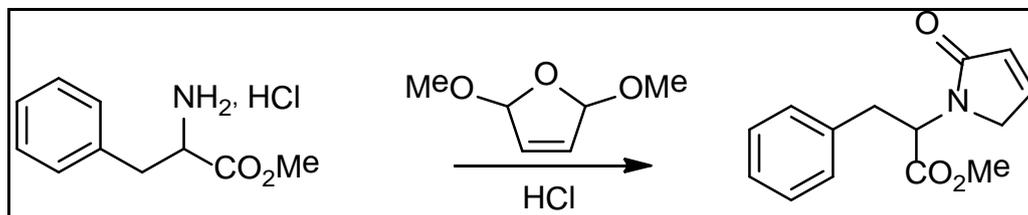
Résultat :

	<p>Formule brute : C₆H₁₂ClNO₂ Aspect : Solide blanc Masse molaire : 165.1g/mol Rdt : 80% IR (cm⁻¹) : C=O :1735 ;C-O :1253 T_f : 62°C</p>
-------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

IV. Condensation

IV.1. La condensation de l'ester de phénylalanine :

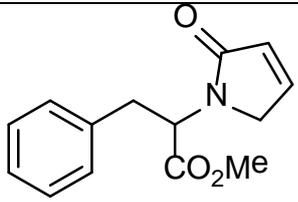
Schéma réactionnel



Protocole :

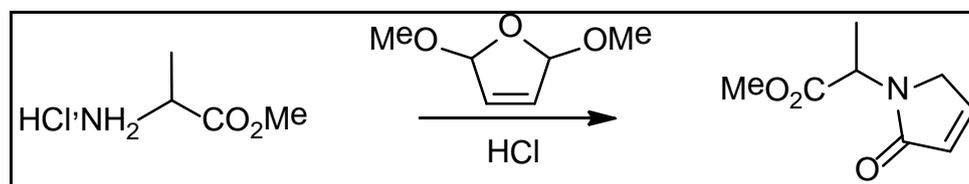
L'ester de phénylalanine (mg ; 0,02mol) est dissout dans un volume d'eau distillé avec HCl (1M, 3,6mL). Puis le 2,4-diméthoxydihydrofurane est ajouté, l'agitation et maintenue 24h à température ambiante. Le NaHCO_3 est ajouté à 0°C au mélange sous agitation jusqu'à pH basique, puis le mélange est extrait 3 fois au DCM. La phase organique est séché sur MgSO_4 anhydre et évaporé .une huile rouge est obtenue.

Résultat :

	<p>Formule brute : $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{NO}_3$ Aspect : huile rouge-marron Masse molaire : 245,11 g/mol IR cm^{-1}: C=O (ester) :1738 ; C=O (amide) :1665 ; C-O :1233 Rdt : 71,62% R_f : 0.5</p>
-------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

IV.2. La condensation de l'ester de l'alanine :

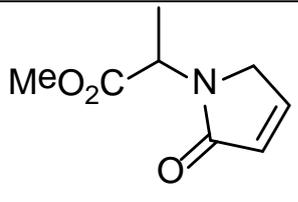
Schéma réactionnel



Protocole :

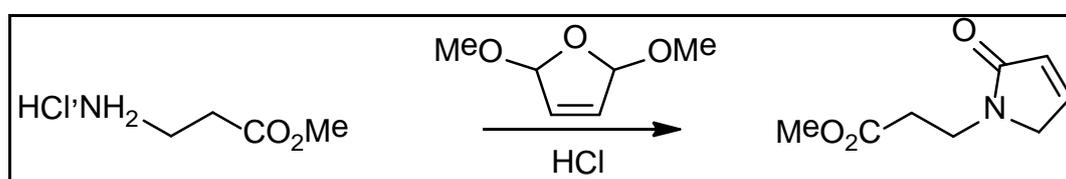
On a utilisé le même mode opératoire décrit précédemment.

Résultat :

	Formule brute : C ₈ H ₁₀ NO ₃ Aspect : huile rouge marron Masse molaire : 169g/mol Rdt : 79,3% IR cm⁻¹: C=O(ester) :1738;C=O(amide) :1661 ;C-O:1204 R_f : 0.6
-----------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

IV.3. La condensation de l'ester de β-alanine :

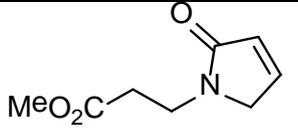
Schéma réactionnel



Protocole :

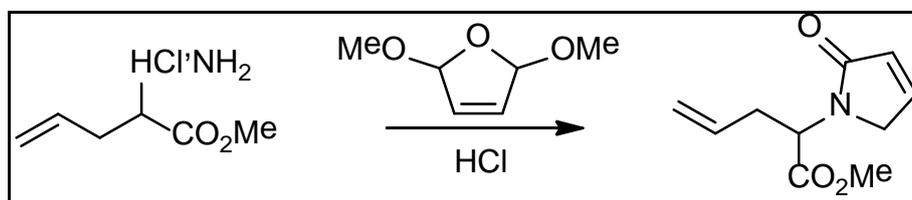
On a utilisé le même mode opératoire.

Résultat :

	Formule brute : C ₈ H ₁₁ NO ₃ Aspect : huile rouge marron Masse molaire : 169g/mol Rdt : 31% IR cm⁻¹: C=O(ester) :1732 ;C=O(amide) :1658 ; C-O :1200 R_f : 0,5
-------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

IV.4. La condensation de l'ester de l'allylglycine :

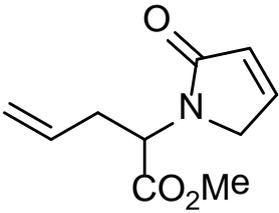
Schéma réactionnel



Protocole :

On a utilisé le même mode opératoire.

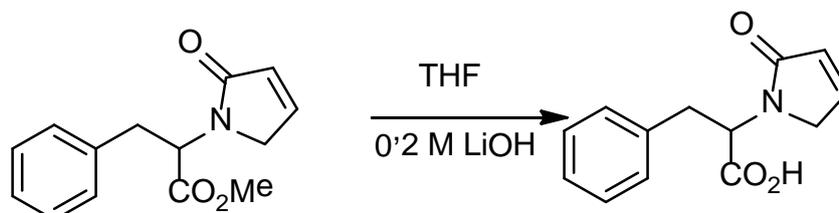
Résultat :

	Formule brute : C ₁₀ H ₁₃ NO ₃ Aspect : huile rouge marron Masse molaire : 195 ,1g/mol Rdt : 50% IR cm⁻¹: C=O(ester) :1739 ; C=O(amide) :1577 ; CO :1203,679 ; C=C : 1650 R_f : 0,4
-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

V. Hydrolyse de la fonction ester

V.1. Hydrolyse de l'ester de lactame de phényle alanine :

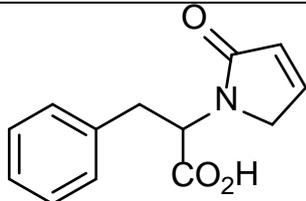
Schéma réactionnel



Protocole :

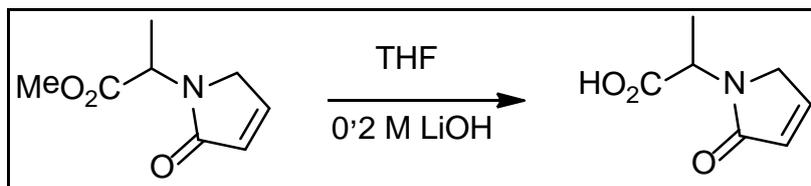
Dans un ballon on introduit 0.01 mol de lactame de phényle alanine qu'on solubilise dans un volume de THF à 0°C, un autre volume est ajouté (0.01mol, 55mL) d'une solution aqueuse 0.2 M de LiOH on laisse réagir 24h à température ambiante. La solution est extraite avec l'acétate d'éthyle. La phase aqueuse est ensuite acidifiée avec une solution de HCl (1N). La solution est extraite avec l'acétate d'éthyle, puis la phase organique est séchée filtré et évaporé.

Résultat :

	Formule brute : C ₁₃ H ₁₃ NO ₃ Aspect : huile rouge marron Masse molaire : 232g/mol IR : OH = 2944 cm ⁻¹
-------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

V.2. L'hydrolyse de lactame de l'ester de l'alanine :

Schéma réactionnel



Protocole :

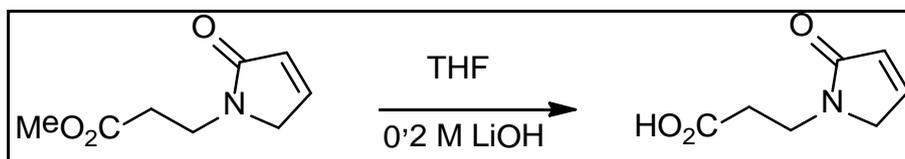
On a utilisé le même mode opératoire décrit précédemment.

Résultat :

<p><chem>OC(=O)Cn1cc[nH]1=O</chem></p>	<p>Formule brute : C₇H₉NO₃ Aspect : huile rouge marron Masse molaire : 169 g/mol Rdt : 56% IR : OH = 2905 cm⁻¹</p>
----------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

V.3. Hydrolyse de lactame de l'ester de β-alanine :

Schéma réactionnel



Protocole :

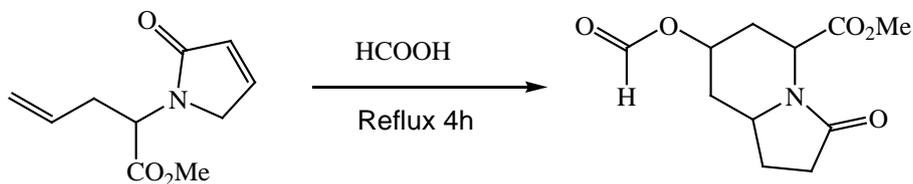
On a utilisé le même mode opératoire décrit précédemment.

Résultat :

<p><chem>OC(=O)CCn1cc[nH]1=O</chem></p>	<p>Formule brute : C₇H₉NO₃ Aspect : huile rouge marron Masse molaire : 169g/mol Rdt : 56% IR : OH = 2930cm⁻¹</p>
-----------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

VI. La cyclisation de lactame de l'allylglycine :

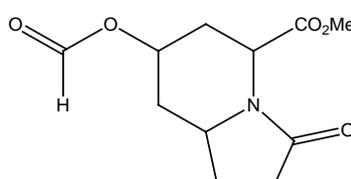
Schéma réactionnel



Protocole :

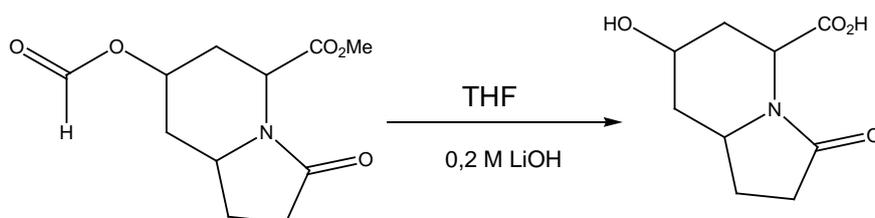
Le lactame (mg, 0,005mol) est dissous dans l'acide formique, le mélange est agité à reflux avec réfrigérant et garde à CaCl_2 pendant 24h .l'acide formique est ensuite évaporé. Le résidu est repris dans le DCM et le reste d'acide est neutralisé avec une solution saturé de NaHCO_3 . Le mélange est extrait 3 fois au DCM la phase organique est séchée sur MgSO_4 filtrée et évaporé.

Résultat :

	<p>Formule brute : $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NO}_5$ Aspect : huile rouge marron Masse molaire : 241,1g/mol Rdt : 70% IR(cm^{-1}) : C=O(amide) :1674 ;C=O :1715 R_f : 0,3</p>
-------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

VII. Hydrolyse de l'ester d'allylglycine:

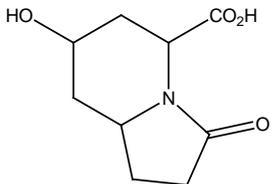
Schéma réactionnel



Protocole :

On a utilisé le même mode opératoire décrit précédemment.

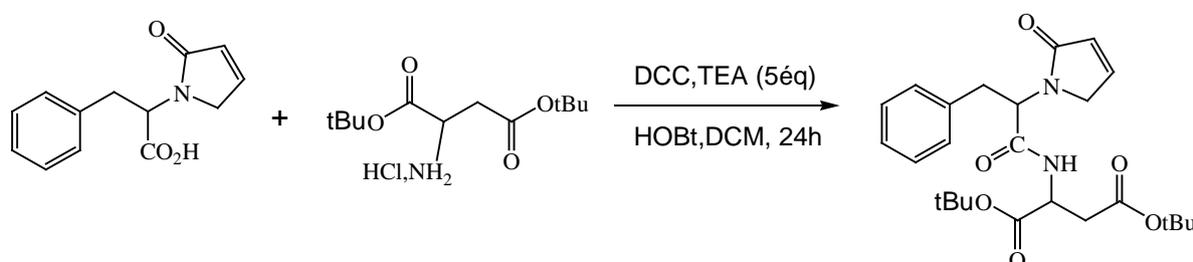
Résultat :

	Formule brute : C ₁₀ H ₁₃ NO ₅ Aspect : pâte rouge marron Masse molaire : 217 ,1g /mol Rdt : 80%
-----------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

VII. Le couplage peptidique

VII.1. Couplage de γ -lactames de phénylalanine avec l'acide aspartique protégé

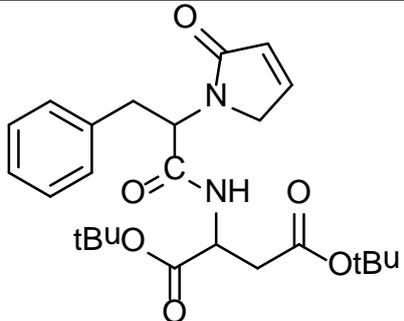
Schéma réactionnel



Protocole :

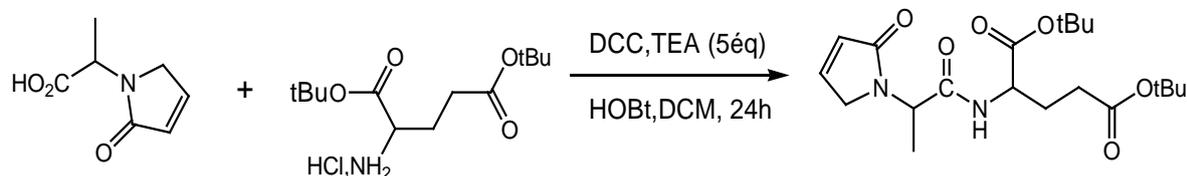
Dans un ballon, et sous agitation on introduit (mg, 0,0043mol) de lactame de phénylalanine dans le DCM, on ajoute le HOBT (1,1 éq ; 0,64g), la DCC (1,1 éq 0,0047mol ; 0,98g) sous agitation. Puis on ajoute l'acide aspartique (0,0043mol ; 1,2g) ; TEA (0,00215mol ; 2,17g) et on maintient l'agitation 24h. Puis on filtre et on fait un lavage avec NaHCO₃, l'acide citrique 10% ; et NaCl saturée. On laisse sécher sur MgSO₄ ensuite on évapore.

Résultat :

	Formule brute : C ₂₅ H ₃₄ N ₂ O ₆ Aspect : Pâte rouge marron Masse molaire : 458,55g/mol Rdt : 60% IR(cm⁻¹) : NH(amide) : 3310, C=C : 1616, C-O : 1240 R_f : 0,5
-------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

VII.2. Couplage de γ -lactames d'alanine avec l'acide glutamique protégé

Schéma réactionnel



Protocole :

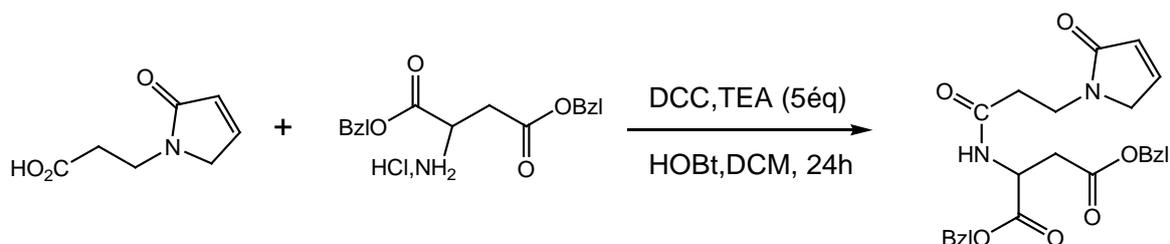
On a utilisé le même mode opératoire.

Résultat :

	<p>Formule brute : $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6$ Aspect : pâte rouge marron Masse molaire : 396g/mol Rdt : 48% IR cm^{-1} : C=O :1725 ;C=O :(amide) :1621 R_f : 0,57</p>
--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

VII.3. Couplage de γ -lactames de β alanine avec l'acide aspartique protégé

Schéma réactionnel



Protocole :

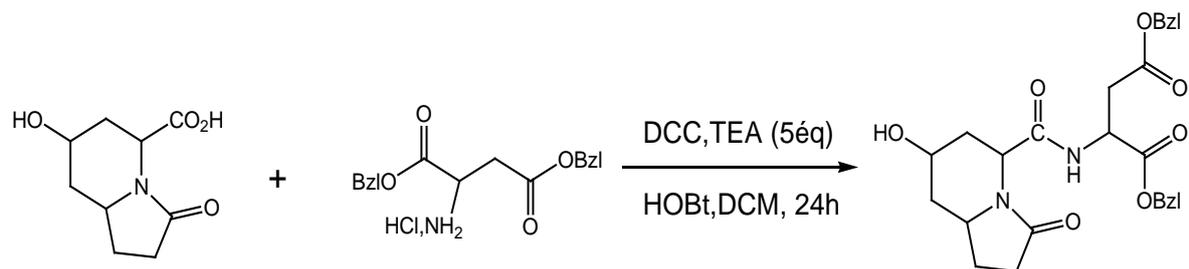
On a utilisé le même mode opératoire.

Résultat :

	<p>Formule brute : $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{NO}_6$ Aspect : Pâte rouge marron Masse molaire : 450,18 g/mol Rdt : 60% IR(cm^{-1}) : NH(amide) :3034 ;C=O :1659 R_f : 0,5</p>
--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

VII. 4. Couplage d'azaobicycloalcane avec l'acide aspartique protégé

Schéma réactionnel



Protocole :

On a utilisé le même mode opératoire.

Résultat :

<p>Chemical structure of the product: a bicyclic hydroxy-carboxylic acid derivative where the carboxylic acid group is coupled to the primary amine of a protected aspartic acid derivative. The product has a hydroxyl group on the six-membered ring, a carboxylic acid group on the six-membered ring, and a five-membered ring fused to it. The aspartic acid derivative has a primary amine and two carboxylic acid groups, all protected with benzyl (Bzl) groups.</p>	<p>Formule brute : C₂₈H₂₈N₂O₈ Aspect : Pâte rouge marron Masse molaire : 520,53g/mol Rdt : 70% R_f : 0,6 IR(cm¹) : NH(amide) :3034;C=O :1660</p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Conclusion Perspectives

Le travail de ce mémoire se focalise à la synthèse de quelques précurseurs des analogues cycliques du RGD. Les composés cycliques, dérivés du RGD, sont généralement stables en milieu biologique, et par conséquent antagonistes sélectifs de certaines intégrines.

Cette synthèse utilise les acides aminés comme produits de départ. Ces derniers sont transformés aux esters méthyliques correspondants. L'étape clé de ce protocole consiste à faire une condensation des esters des acides aminés avec un réactif spécifique à fin d'arriver à une structure cyclique qui peut être engagée par la suite dans un couplage peptidique.

L'utilisation des acides aminés dans la synthèse des peptidomimétiques reste toujours originale parce que ces derniers sont reconnus par l'organisme ce qui limite ou réduit les effets secondaires du peptidomimétiques. L'acide aminé permet d'introduire une chaîne R1 avec un site basique, acide ou hydrophobe et une chiralité.

Dans cette étude, diverses réactions ont été appliquées : estérification, condensation, hydrolyse et couplage peptidique, selon des conditions douces, pour aboutir à des structures rigides en peu d'étapes, susceptibles d'être utilisées dans la synthèse des analogues cycliques du RGD. Les rendements des réactions varient entre 40 et 99%.

Les molécules obtenues dans ce travail possèdent des structures intéressantes qui offrent plusieurs possibilités de fonctionnalisations. Elles sont substituées par deux fonctions acides de l'acide aspartique ou glutamique qui représentent des sites actifs vis-à-vis des récepteurs biologiques du RGD.

Les résultats obtenus dans ce travail seraient utiles et beaucoup plus intéressants avec une analyse à haute performance : RMN ^1H , ^{13}C et SM pour confirmer les structures exactes de nos produits devant l'analyse IR effectuée et qui reste insuffisante.

L'évaluation de l'activité biologique et plus précisément l'activité anticancéreuse consisterait aussi une approche importante pour la continuité de cette recherche.

Références Bibliographiques

- [1] T. Kobakawi ; Y. Matsuzaki ; K. Mozuni ; W. Nomura ; M. Nomiza ; H.Tamamura. Synthesis of chloroalkene Dipeptide isostere-containing peptidomimetic and its biological application. *ACS. Med. Chem. Lett.* **2018**, 9, 6-10.
- [2] D. F. Veber ; R.M. FRIEDINGER . The design of metabolically stable peptide analogs *Trends Neurosci* **1985**, 8,392-396
- [3] A. Graner, B. König, peptidomimetics ; A Versatile Route to biologically Active Compounds *Eur.J.org chem* .**2009**, 2009,5099-6011
- [4] (a)J .LlawandM.K.Dunn,*Bioorg.Med.Chem***2018**,26,2700-2707. (b)V. M. Ahrens. K. Bellnamsickertand A. G. BeckSICHINGER, *FuturMed.Chem*,**2012**,4,1567-1586; (c)A.Menninof,J.Collins and J.M .Nuss,*J.Med.Chem*,**2018**,65,1382-1414, (d)I.W.Huley,*Chem.Rev*,**2017**,117,14015-14041 .
- [5] F.Hander,z Bigdeli ,S Balalaie ,N.Sewald C.Michalek. «Efficient Synthesis of novel RGD based peptides and the conjugation of the pyrazine moiety to their-N-terminus .*New.J.Chem* **2019** 43, 2702-2709
- [6] K. E. Gottschalk; H. Kessler. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 3767-3774.
- [7] C . Prego,,et al. ;*J.Controlled Release*, **2005**, 101,151.
- [8] G. Hummel et al, U. Reineke, U. Reimer.*Mol.Biosyst.***2006**, 2,499
- [9] R.A. Wiley, D.H . Rich . *Med. Res. Rev.* **1993**, 13, 327.
- [10] J. Gante,, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, 33, 1699.
- [11] K. C. Nicolaou; J. I. Trujillo, B. Jandeleit, K. Chibale; M. Rosenfeld, B. Diefenbach, D. A. Cheresh;S. L. Goodman. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, 6, 1185-1208.
- [12] E. Bouguet, J. L.Banères, J. Parello, X.Lusinchi, J. P. Girard, J. P. Vidal. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 1561-1564.
- [13] L. Belvisi, A. Caporale, M. Colombo, L. Manzoni, D. Potenza, C. Scolastico, M. Castorina, M. Cati, G. Giannini, C. Pisano. *Helv. Chim. Acta.* **2002**, 85, 4353-4367.
- [14] G. Kuznetsov, K. TenDyke, M.Towle, H. Cheng, J .Liu, J.P .Marsh, S.E.R .Schiller, M.R. Spivee, H.Yang, B.M.Seletsky, C.J. Shaffer, V.Marceau, Y.Yao, E.M. Suh, S. Campagna, F.G. Fang, J.J. Kowalczyk,& B.A. Littlefield.Tubulin-based antimetabolic mechanism of E7974, a

- novel analogue of the marine sponge natural product hemiasterlin. *Molecular Cancer Therapeutics*. **2009**. 8(10), 2852.
- [15] T.L.Simmons, E.Andrianasolo, K.McPhail, P. Flatt, & W.H. Gerwick. Marine natural products as anticancer drugs. *Molecular Cancer Therapeutics*. **2005**. 4(2), 333.
- [16] S. E. Addicks, R. Mazitschek, A. Giannis. *Chem. BioChem*. **2002**, 3, 1078-1088.
- [17] Chellaram; T.P. Anand; S. Kumaran; D. Kesavan; Priya G. *J. Chem. Pharm. Res.*, **2011**, 3(1), 154-159.
- [18] R.C. Milton; S.C. Milton; S.B. Kent. *Science*, **1992**, 256, 1445-1448
- [19] Mark ; A.B. *Life Sciences*, **2006**, 78, 2343-2357.
- [20] L.Prescott, J.Harley, D.Klein. Microbiologie. De boeck (Ed). Bruxelles. 2003, 1135p
- [21] T.Alst ; M. Havelkova ; M. B. Strom. *J. Med. Chem*. **2010**, 53, 595-606.
- [22] V. Bernades-Genisson, J.Bernadou, I. Berque-Bestel, J.D. Brion, J. Couquelet, M. Cussac, M. Debaert, O. Duval, S. Giorgi-Renault, J. Huet, R. Lacroix, J. Laronze, J.Y. Laronze, G. Le Baut, P. Loiseau, A. Nuhrich, M. Plat, J. Poisson, S. Robert- Piessard, C. Tournaire-Arellano, P. Uriac, M.Varache-Lembege. (Eds). *Traité de chimie thérapeutique - Médicaments antitumoraux et perspectives dans le traitement des cancers* Lavoisier. **2003**
- [23] V. Bernades-Genisson, J.Bernadou, I. Berque-Bestel, J.D. Brion, J. Couquelet, M. Cussac, M. Debaert, O. Duval, S. Giorgi-Renault, J. Huet, R. Lacroix, J. Laronze, J.Y. Laronze, G. Le Baut, P. Loiseau, A. Nuhrich, M. Plat, J. Poisson, S. Robert- Piessard, C. Tournaire-Arellano, P. Uriac, M.Varache-Lembege. (Eds). *Traité de chimie thérapeutique - Médicaments antitumoraux et perspectives dans le traitement des cancers* Lavoisier. **2003**
- [24] G.P.Kalemkerian, X.Ou , M.R.Adil, R.Rosati, M.M. Khouliani , S.K. Madan, & G.R.Pettit. Activity of dolastatin 10 against small-cell lung cancer *in vitro* and *in vivo*: Induction of apoptosis and bcl-2 modification. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. **1999**, 43(6), 507-515.
- [25] M.Delgado, K. D. Janda. *Curr. Org. Chem*. **2002**, 6, 1031.
- [26] Y.J.Gordon , E.G. Romanowski , &A.M.McDermott . A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs. *Curr.Eye Res*. **2005**, 30(7), 505.
- [27] K.Apel, H. Hirt. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*. **2004**, 55, 373.

- [28] L. A. Carpino, D. Sadar-Aalae, H. G. Chao, R. H. DeSelms. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 9651.
- [29] D.B. Bryan, R.F. Hall, K.G. Holden, W.F. Huffman, *Chem. Soc.* **1977**, *99*, 2353.
- [30] T. Curtius; F. Goebel; J. Parket. *Chem.* **1988**, *37*, 150
- [31] I. Baussanne; B. DUDOT. J. Pérard-Viei; L. Planas; J. Royer. *Arkivoc* **2006**, *27*, 173.
- [32] E.J. Corey, I. Szekely, C. S. Shiner, *Tetrahedron Lett*, **1977**, 3529, 4520
- [33] L. Petruzzelli, M. Takami, H.D. Humes. *Am. J. Med.* **1999**, *106*, 467-476.
- [34] K. Otrubova, G. Lushington. D. Vander Velde, K.L. McGuire, and Sh.R. McAlpine, comprehensive study of sansalvamide derivatives and their structure- activity relationships against drug-resistant colon cancer cell lines, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 180

Résumé :

Le sujet de ce mémoire porte sur la synthèse de quelques précurseurs des analogues cycliques du RGD à partir des acides aminés comme produits de départ.

La méthode consiste à appliquer des réactions d'alkylation, de condensation, de cyclisation et de couplage pour accéder, selon des conditions douces, à des dérivés rigides de type γ -lactames α , β -insaturés et aza-2-oxobicycloalcane.

Une série de produits a été obtenue en utilisant des esters d'acides aminés avec un réactif spécifique, le 2,4-diméthoxydihydrofurane. Les rendements des réactions sont généralement moyens aux bons.

Mots clés : RGD, peptidomimétiques, intégrines, γ -lactames, aza-2-oxobicycloalcane.

Abstract :

The subject of this work relates to the synthesis of some precursors of RGD cyclic analogues from amino acids as starting materials.

The method consists in applying alkylation reactions, condensation, cyclization and coupling to access, under mild conditions, to rigid α , β -unsaturated γ -lactams and aza-2-oxobicycloalkane derivatives.

A series of products was obtained using amino acid esters with a specific reagent, 2,4-dimethoxydihydrofuran. The yields of the reactions are generally average to the good ones.

Key words: RGD, peptidomimetics, integrins, γ -lactams, aza-2-oxobicycloalkane.

ملخص :

موضوع هذا البحث يتعلق بتحضير بعض المركبات التي تستعمل في إنتاج مشتقات حلقة RGD باستعمال الأحماض الأمينية كمواد أولية.

طريقة الإنتاج تعتمد على بعض التحولات الكيميائية: الألكلة، التكتاف، الارتباط الببتيدي، للوصول إلى بعض المشتقات. قاما لاكتام الف بيط غير مشبعة وازاكريسيكلالكان. في ظل ظروف معتدلة.

تم الحصول على المركبات باستخدام استرات الأحماض الأمينية مع كاشف خاص ديميتوكسيديادغغان. مردود التفاعلات الكيميائية من مقبول إلى الجيدة.

الكلمات المفتاحية: RGD، المحاكاة الببتيدية، الأنترين، قاما لاكتام، ازاكريسيكلالكان.