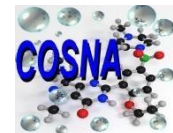




REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCEM

MEMOIRE

Présenté à:

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de:

MASTER EN CHIMIE

Spécialité: Chimie Pharmaceutique

Par:

M^{elle} Soltani Yassamine Ikram

Sur le thème

CONCEPTION ET SYNTHÈSE DE NOUVEAUX GLYCOPEPTIDES INHIBITEURS DE L'AMYLOIDOGENÈSE DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER

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

| | | | |
|----------------------|----------------------------|------------------------------------|--------------|
| Mr. SELLES CHAOUKI | Professeur | Université de Tlemcen | Président |
| Mme MAHBOUB RADIA | Professeur | Université de Tlemcen | Examinatrice |
| Mme KENICHE ASSIA | Maitre de conférences B | Centre universitaire de Maghnia | Encadrante |

*Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses
COSNA*

ABSTRACT: ALZHEIMER DISEASE IS CHARACTERIZED BY EXTRACELLULAR DEPOSITION OF SENILES PLAQUES, THESE PLAQUES ARE COMPOSED OF A PROTEIN FRAGMENTS CALLED BETA-AMYLOID (AB). EVENTUALLY THE AGGREGATION OF AB CAUSES THE LOSS OF CONNECTION AND TRANSMISS MESSAGE BETWEEN NERVE CELLS IN THE BRAIN. IN THIS WORK WE SUGGEST TO SYNTHESIS A NEW GLYCOPEPTIDES ARE ABLE TO INHIBIT THE FORMATION OF B-AMYLOID.

Keywords: Alzheimer, A β (Amyloid beta), Glycopeptides.

RESUME : LA MALADIE D'ALZHEIMER EST CARACTERISE PAR L'ACCUMULATION DES PEPTIDES AMYLOÏDES AB SOUS FORME DE PLAQUES DANS LE CERVEAU, A CAUSE DE LEUR CARACTERE INSOLUBLE ET NEUROTOXIQUE L'AGREGATION DE CES PEPTIDES BLOQUE LA TRANSMISSION DE MESSAGE ENTRE NEURONE ET QUI PROVOQUE A LONG TERME LA MORT NEURONALE.

CE TRAVAIL S'INSCRIT DANS LE CADRE DE LA CONCEPTION ET LA SYNTHÈSE DE NOUVELLES MOLECULES A BASE DE GLYCOPEPTIDE, EN CIBLANT L'INHIBITION DE L'AGREGATION DE L'AMYLOÏDE B (AB).

Mots clés : Alzheimer, A β (beta Amyloïde), Amyloïdogenèse, Glycopeptides.

ملخص : تطور مرض الزهايمر هو بسبب كسر على مستوى محدد و غير طبيعي للبروتينات (بروتينات بروتين اميلويد) الموجودة على سطح الخلية العصبية، والتي تسبب تراكم مادة سامة هي أميلويد بيتا، وبالتالي وفاة الخلية. من خلال فهم هذه الظاهرة يركز عملنا على إيجاد طريقة لإيقاف تراكم هذه البروتينات عبر صنع جزيئات ذات طبيعة غليكوبيبتيدية.

كلمات مفتاحية : الزهايمر, أميلويد بيتا, غليكوبيبتيد

DÉDICACE

« Chaque jour a sa science qu'il t'offre »

Anne Barratin

A mes chers parents.

A tous ceux que j'aime.

A tous ceux qui me sont chers.

A tous ceux qui m'ont cru en moi.

A toutes les personnes qui m'ont aidé.

A tous les patients atteints de la maladie d'Alzheimer.

Et à vous cher lecteur.

REMERCIEMENTS

EN TOUT PREMIER LIEU JE REMERCIE LE BON DIEU TOUT PUISSANT, DE M'AVOIR DONNE LA FORCE POUR SUIVRE ET REALISER CE TRAVAIL.

CETTE ETUDE A ETE REALISEE AU SEIN DU LABORATOIRE DE CHIMIE ORGANIQUE SUBSTANCES NATURELLES ET ANALYSES COSNA DE L'UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEEN, SOUS LA DIRECTION DU PR. ZOHAIR ARRAR, QUE JE SOUHAITE LUI REMERCIER DE M'AVOIR PERMIS DE REALISER CE PROJET DANS SON LABORATOIRE ET DE ME PROFITER D'EXCELLENTEES CONDITIONS DE TRAVAIL.

JE TIENS A REMERCIER CHALEUREUSEMENT LES MEMBRES DE JURY PROFESSEUR JOSEPH KAJIMA MULENGI, PROFESSEUR MAHBOUB RADIA ET LE PROFESSEUR SELLES CHAOUKI QUI ME FONT L'HONNEUR DE JUGER CE TRAVAIL.

MON PROFOND RESPECT ET MES SINCERES REMERCIEMENTS AU PR. JOSEPH KAJIMA MULENGI POUR VOTRE COMPETENCE, VOTRE QUALITES HUMAINES ET PROFESSIONNELLES ET POUR VOS PRECIEUX CONSEILS DURANT TOUTES CES DEUX ANNEES DE MASTER.

UN REMERCIEMENT SPECIALE AU PR. SELLES CHAOUKI, CHEF DE DEPARTEMENT DE CHIMIE DE L'UNIVERSITE DE TLEMCEEN, POUR SON AIDE EN CONTINU ET L'AGREABLE SORTIE ; JOURNEE SCIENTIFIQUE SUR L'EAU PASSE SOUS SA DIRECTION AU CENTRE UNIVERSITAIRE DE MAGHNIA LE 8 MAI 2018.

J'ADRESSE MES REMERCIEMENTS AU PR. MAHBOUB RADIA POUR VOS CONSEILS, VOS ENCOURAGEMENTS, VOTRE ENSEIGNEMENT ET POUR VOTRE GENTILLESSE, JE SUIS FIERE QUE VOUS AYEZ ACCEPTE DE JUGER CE TRAVAIL.

MES PLUS VIFS REMERCIEMENTS A MON ENCADREUR DOCTEUR KENNICHE ASSIA POUR VOTRE EXCELLENT ENCADREMENT POUR VOTRE SUIVI, VOS CONSEILS, VOS ENCOURAGEMENTS ET VOTRE DISPONIBILITE QUI NOUS A PERMIS DE REALISER CE TRAVAIL.

JE TIENS EGALEMENT A REMERCIER CHALEUREUSEMENT MADAME DRICI WASSILA POUR SA TRES GRANDE DISPONIBILITE SA PATIENCE ET POUR SES PRECIEUX CONSEILS. JE SOUHAITE REMERCIER VIVEMENT MONSIEUR BENDIABDELLAH DJAMEL POUR M'AVOIR ENSEIGNE LES TECHNIQUES D'ANALYSE, HYGIENE ET SECURITE AU LABORATOIRE, JE VOUS REMERCIE AUSSI POUR VOS PRECIEUX CONSEILS PRATIQUES. J'ADRESSE UN REMERCIEMENT TOUT PARTICULIER

A MADEMOISELLE MAMI IMENE DOCTORANTE EN CHIMIE QUI ANIME LABORATOIRE DE SON HUMOUR, POUR SON AMITIE, SA GENTILLESSE ET SES ENCOURAGEMENTS, JE LUI REMERCIER AUSSI POUR M'AVOIR REALISER LES SPECTRES INFRAROUGE.

JE TIENS A EXPRIMER MES REMERCIEMENTS LES PLUS SINCERES A MADEMOISELLE BENYAMINA SAMIA DOCTORANTE EN CHIMIE POUR M'AVOIR AINSI APPRIS AUTANT DE CHOSES JE N'OUBLIERAI JAMAIS TOUT CE QUE TU AS FAIT POUR MOI. DES REMERCIEMENTS SANS LIMITES A MES PARENTS POUR TOUT CE QUE VOUS M'AVEZ APPORTE POUR VOTRE SOUTIEN, VOTRE SUPPORT ET D'AVOIR M'ENCOURAGER ET ME POUSSER VERS L'AVANT ET TOUJOURS VERS LE BIEN.

UN IMMENSE MERCI A TOUTE MA FAMILLE ET A TOUS CE QUI M'ONT SOUTENU PENDANT TOUTE MA VIE. JE NE PEUX PAS CLOTURER CETTE PARTIE SANS REMERCIER TOUS MES AMIS POUR CHAQUE MOMENT ET CHAQUE SOUVENIR QU'ON L'A PARTAGE ENSEMBLE ET POUR LEUR SINCERE AMITIE, JE REMERCIE ENFIN TOUS CEUX QUI D'UNE MANIERE OU D'UNE AUTRE ONT CONTRIBUE A LA REUSSITE DE CE TRAVAIL ET QUI N'ONT PAS PU ETRE CITES ICI.

YOU ARE THE BEST FOREVER,

LISTE DES ABREVIATIONS

A β : Beta Amyloïde

AcOH :

APP : Amyloïde Precursor Protein (Protein précurseur de la beta amyloïde)

Ac₂O : Anhydride Acétique

BnBr : Bromure de benzyle

Boc₂O : Ter-butoxycarbonyle

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CD : Cyclodextrine

β -CD : Beta cyclodextrine

DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0] undéc-7ène

DCC : Dicyclohexylcarbodiimide

DCM : Dichlorométhane

DCU : Dicyclohexylurée

DIPEA : N,N-diisopropyléthylamine

DMAP : 4-diméthylaminopyridine

DMF : Diméthylformamide

Fmoc : Chlorure de fluorényl méthoxy carbonyle

HBTU : 3[Bis(diméthylamino)méthyliliummyl]-3H-benzotriazol-1-oxide
hexafluorophosphate

HMDS : Bis (triméthylsilyl)amine

HOBT : Benzotriazol-1-ol

rt-RT : room temperature

TEA : Triéthylamine

TFA : Trifluoroacétique

THF : Tétrahydrofurane

TIPS : Triisopropylsilane

Sommaire

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

| | | |
|-------------|---|-----------|
| I. | INTRODUCTION GÉNÉRALE | 1 |
| | Approche de la maladie d'Alzheimer | 1 |
| | Comment se forme la plaque sénile et quelle est son origine: | 1 |
| | Quel est le phénomène biologique responsable de la formation des fibres amyloïdes | 3 |
| II. | Problématique: | 4 |
| III. | Objectif | 4 |
| | Chapitre 1 : Synthèse des inhibiteurs glycopeptides de β-Amyloïde | 6 |
| 1. | Introduction | 6 |
| 2. | Synthèses des glycopeptides | 6 |
| | A. A partir d'un azidoglucidique: | 6 |
| | B. Synthèse d'un glycopeptide à partir d'un N-Acétyleglucosamine: | 6 |
| | C. Synthèse d'un glycopolymère: | 7 |
| | D. Synthèse de peptidométique 1-4 portant le D-glucopyranosyl: | 7 |
| | E. Synthèse de 2-imino-2-méthoxyéthyl-1-thioglycoside: | 8 |
| | F. Synthèse d'acides aminés glycosyliques dérivés de 1,2,3-triazole: | 9 |
| | Synthèse de α -GlcNAc-1-O-triazol-2Man α -ThrOH: | 9 |
| | Synthèse de Gal- β 1,4- α -GlcNAc-1-O-triazol-2Man α -ThrOH: | 9 |
| | G. Synthèse des glycopeptides analogues des mucines α -dystroglycane | 10 |
| | H. A partir des glycopeptides d'un saccharide γ -acide aminé: | 11 |
| 3. | Conclusion générale | 12 |
| | Chapitre 2 : Modification sélective des saccharides | 13 |
| I. | Introduction générale | 13 |
| II. | Méthodes pour la modification sélective des saccharides | 13 |
| | Monomodification des saccharides | 13 |
| | L'acylation sélective: | 13 |
| | La protection sélective: | 14 |
| | Monomodification en position (3) | 14 |
| | Monomodification en position (4) | 15 |
| | Thiofonctionnalisation sélective en position (6) | 16 |
| | Permodification des saccharides | 16 |
| | II.2.1 Silylation globale d'un saccharide: | 16 |
| | II.2.2 Synthèse de sialyle per-O-benzylé: | 16 |
| III. | Modification sélective de la cyclodextrine "CD" | 17 |
| | Monomodification de la CD: | 17 |
| | Monomodification en position (6) | 17 |
| | Synthèse de mono-6-tosyl- β -CD | 17 |
| | Permodification de la CD: | 18 |
| | Persubstitution en position (2) | 18 |
| VI. | Conclusion générale: | 21 |

Resultats et discussion

| | | |
|------------|--|-----------|
| | Chapitre 3 : Travail effectué. | 21 |
| I. | Introduction. | 21 |
| II. | Synthèses. | 23 |
| | Protection des acides aminés | 23 |
| | a. Estérification de la L-Phénylalanine | 23 |
| | b. Protection de la fonction aminée de la L-Phénylalanine et 6-aminocaproïque | 23 |
| | c. Couplage dipeptidique entre N-Ft-6-aminocaproïque et le chlorhydrate de L-Phénylalanine estérifié | 23 |
| | d. L'hydrolyse du dipeptide N-Ft-6-aminocaproïque-L-Phénylalanine estérifié | 23 |
| | e. Synthèse de l'acyle azide du dipeptide N-Ft-6-aminocaproïque-L-Phénylalanine | 24 |

| | | |
|---------------|--|-----------|
| II-2. | Synthèse du Motif saccharide... | 24 |
| II-2.1 | Synthèse du prop2-ynyl-D-glucopyranoside | 24 |
| II-2.2 | La réaction de Click Chemistry entre le propargyl glucose et l'azido-peptide | 24 |
| II-2.3 | Synthèse de l'inhibiteur B à base de cyclodextrine | 25 |
| | II-2. 3.1. Estérification du dipeptide avec le propargyl alcool | 25 |
| III-3. | Conclusion | 27 |

PARTIE EXPERIMENTALE

| | | |
|-------------|--|-----------|
| I. | Indications générales. | 28 |
| II. | Matériel et méthodes | 28 |
| | a. UV-Visible. | 28 |
| | b. Les CCM. | 28 |
| | c. Infra rouge. | 28 |
| | d. Température de fusion | 28 |
| III. | Synthèse de l'inhibiteur glycopeptidique | 28 |
| | Synthèse partie peptidiques | 28 |
| | 1. Estérification de la L-Phénylalanine | 28 |
| | 2. La protection de la L-phénylalanine et 6-aminocaproïque | 28 |
| | 3. Couplage di peptidique entre Nft-6- aminocaproïque et Chlorhydrate phénylalanine estérifiée | 30 |
| | 4. L'hydrolyse du dipeptide Nft-6-aminocaproïque-L-Phénylalanine estérifié | 30 |
| IV. | Synthèse des motifs saccharides | 31 |
| | Synthèse de prop-2-ynyl-D-glucopyranoside | 31 |
| | a. Préparation du catalyseur de la synthèse de prop-2-ynyl-D-glucopyranoside | 31 |
| V. | Synthèse de l'azide Nft-6-aminocaproïque-L-Phénylalanine | 31 |
| VI. | Synthèse des glycopeptide à base de glucose | 32 |
| V.1. | Synthèse de triazoline catalysée par cuivre | 32 |
| VII. | Synthèse des glycopeptide à base de cyclodextrine | 32 |
| | Estérification du dipeptide | 32 |
| | Synthèse de l'azido cyclodextrine avec le propargyl-dipeptide | 33 |
| | Références bibliographiques | 34 |
| | Annexe | |

Partie bibliographique

I. INTRODUCTION GÉNÉRALE

Approche de la maladie d'Alzheimer :

La maladie d'Alzheimer (MA) a été décrite pour la première fois en 1907 par le psychiatre allemand Alois Alzheimer, il a réalisé l'étude pathologique du système nerveux central de sa patiente nommée August. D¹. Il a démontré la présence de deux types de lésions dans le cerveau : la formation d'une plaque sénile et une dégénérescence neurofibrillaire.

La maladie d'Alzheimer est définie comme « une affection neurodégénérative du système nerveux central, caractérisée par une détérioration durable et progressive des fonctions cognitives et des lésions neuropathologiques spécifiques »².

Comment se forme la plaque sénile (plaque amyloïde) et qu'elle est son origine ?

Nous savons que le cerveau est constitué de neurones, et ils sont connectés entre eux par une synapse qui permet de faire passer le signal d'une neurone à une autre. A la surface des neurones, il y a APP (Amyloid Precursor Protein)³, dans les conditions normales l'APP est coupée par deux enzymes qui sont l'alpha-sécrétase et gamma-sécrétase en libérant deux fragments hors de la membrane et ces deux fragments libérés sont favorables au cerveau et se dégradent dans l'organisme³.

¹ D.Christian, La maladie d'Alzheimer: regards sur le présent à la lumière du passé.Une approche historique.*Psychol NeuroPsychiatr Vieil*. **2008**, 8, 120-121.

² B.Lavallart J.P.DelabrousseMayou,C.Mekies,M.Paccalin,F.Puisieux,S.Romatet ,Prescription des traitements spécifiques dans la maladie d'Alzheimer en France 2008 :Evaluation du respect des procédures de l'étude de profil.*La lettre du pharmacologue*. **2009** , 23, 99-103.

³ B.Bernard, L.D. Yoland,H.Gerda,E.W.Emmanuel,D.B.Nicole,M.Jean ,Inflammatory process induce β -amyloid precursor proteinchanges in mouse brain.*Proc Nat Aca Sci USA*. **1995**, 92, 3032-3035.

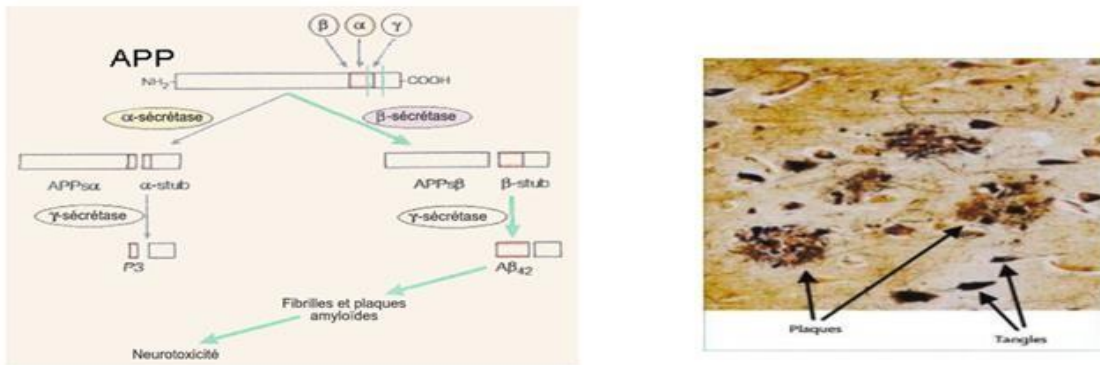


Figure 1: a). Les étapes de la « cascade amyloïde » ; b). Coupe d'un cortex cérébral de la maladie d'Alzheimer avec les plaques séniles (plaques) et les dégénérescences neurofibrillaires (tangles)⁴.

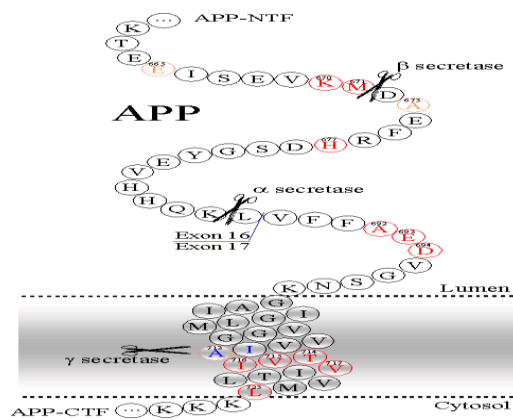


Figure 2: La différence de clivage de l'APP entre alpha-sécrétase et bêta-sécrétase⁵.

Par contre dans la MA une autre enzyme appelée beta-sécrétase effectuera la coupure à la place de l'alpha-sécrétase, ce clivage est différent à celui de alpha-sécrétase et qui libérera des peptides appelés beta-amyloïde (Aβ), ces peptides vont se retrouver en grande quantité et s'agrègeront sous formes de fibres insolubles qui forment des plaques séniles dans l'environnement extracellulaire, ces plaques vont bloquer la transmission de message entre les neurones qui conduit à la mort neuronale⁶.

Quel est le phénomène biologique responsable de la formation des fibres amyloïdes :

⁴ K.Blennow,M.J. de Leon,H. Zetterberg, Alzheimer's disease. *Lancet*. **2006**, 368, 387-403.

⁵ A.Nicolas .Etudes des effets des peptides amyloides : du fonctionnement de la synapse aux modifications du cytosquelette dans l'apoptose neuronale ,Thèse de doctorat en Biologie du vieillissement ,Sous la direction de M. Jean.Paris,Université René Descartes. **2005**, 2 -69.

⁶ S.Lammich,E.Korjo,R.Postina,S.Gilbert,R.Pfeffer,M.Jasionowski,C.Haass,Fahrenholz ,Constitutive and regulated alpha-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by a disintegrin metalloprotease.*Proc Natl Acad Sci USA*. **1999**, 96, 39-22-7.

Lorsque la cellule synthétise ses propres protéines, ces derniers vont se regrouper en une structure tridimensionnelle spécifique « *conformation native* » qui est stable⁷. Tandis que si ces protéines sont mal repliées elles s'accumulent en formant des fibrilles amyloïdes ; c'est le phénomène d'agrégation protéique⁸.

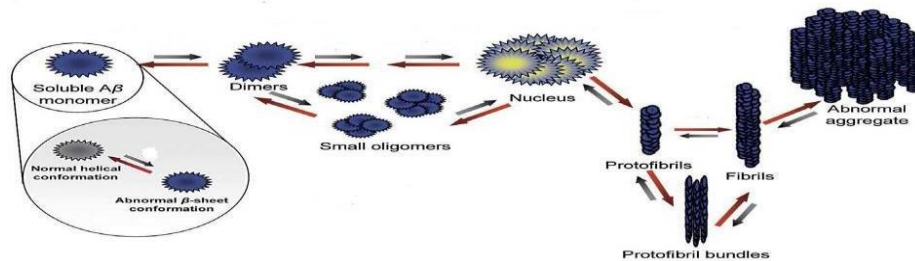


Figure 3 : Schéma qui représente le processus de la formation des fibrilles et l'agrégation d'Aβ⁹.

(Aβ) est une substance organique, ou tout simplement un peptide qui est constitué de 39 jusqu'à 42 acides aminés¹⁰. Les fibres amyloïdes sont construites à partir de la transformation de la forme native, en une forme qui est riche en feuillets β, en une orientation antiparallèle et qui est stabilisée par des liaisons hydrogènes et en plus elle est insoluble dans l'environnement cellulaire¹¹.

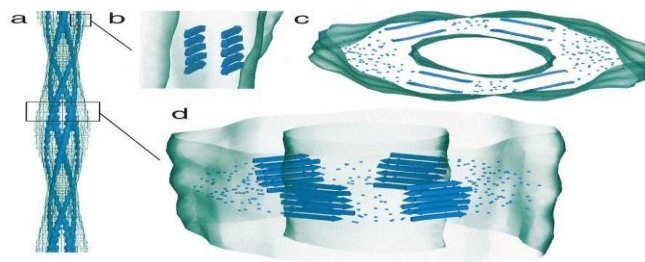


Figure 4 : Un model de la structure de bêta-amyloïde (Aβ) avec : a) "La structure des fibrilles", b) "Côté vu d'un seul protofilament", c) "Coupe transversale de la fibrille", d) "Vue latérale légèrement inclinée de la fibrille"¹².

⁷ B. Ansgar, J. Julia, Misfolded proteins: from little villains to little helpers in the fight against cancer. *Frontiers in Oncology*. **2015**, 5, 3-8.

⁸ S. Massimo, M. Christopher, Protein aggregation and aggregate toxicity: new insights into protein folding, misfolding diseases and biological evolution. *Journal of Molecular Medicine*. **2003**, **81**, 678-699.

⁹ F. Pierre, Implication des récepteurs nicotiniques α7 dans les déficits mnésiques induits par des injections intra-hippocampiques de peptides amyloïdes-Béta(1-42) chez les souris, Thèse de doctorat en Neurosciences, Sous direction de D.M. Beracochea. Bordeaux, *Ecole doctorale des sciences de la vie et de la santé*. **2015**, 2-231.

¹⁰ G.G. Glenner, C.W. Wong, Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*. **1984**, **120**, 885-890.

¹¹ B. Clippingdale, J.D. Wade, The amyloid β peptides and its role in Alzheimer's disease. *Journal of peptide science*, **2001**, **7**, 227-249.

¹² L.J. José, J. Iñaki Guijarro, O. Elena, Z. Jesús, M.D. Christopher, S. Margaret, R.S. Helen, Cryo-electron microscopy structure of an SH3 amyloid fibril and model of the molecular packing. *The EMBO journal*. **1999**, **18**, 815-821.

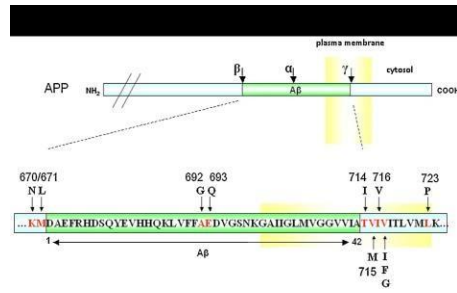


Figure 6 :Les codons de β -amyloïde¹⁶.

Dans un but méthodologique, il faut annoncer le plan de ce mémoire, qui est divisé en deux grandes parties : la première partie sert à présenter la synthèse bibliographique, la deuxième partie est réservée pour les études expérimentales, réalisées au sein de laboratoire, détaillées avec les résultats obtenus au cours de toutes les synthèses effectuées avec purification et analyses . A la fin de chaque chapitre vous trouverez une conclusion générale.

La recherche scientifique est un domaine très vaste, chaque jour et chaque moment on se retrouve devant des mystères, qui se cachent derrière cet univers que le bon Dieu l'a créé et qui poussent la curiosité de l'être humain, qui était depuis longtemps le point de départ de la création du monde scientifique : à découvrir , à chercher ,développer les connaissances et à trouver des réponses à plusieurs interrogations .

“*Le plus noble prix de la science, est le plaisir d'éclairer l'ignorance*“ . Citation de Charles-Irénée.

¹⁶ N.El kadmiri ,K.Hamzi,B.El Moutawakil,I.Slassi,S.Nadifi, Les aspects génétiques de la maladie d'Alzheimer. *Pathologie Geologie*. **2013**, *61*, 228-238.

Chapitre 1: Synthèse des inhibiteurs glycopeptides de β -Amyloïde

1. Introduction :

Le traitement disponible actuellement, n'est pas définitivement assuré pour guérir cette pathologie. La stratégie de ces médicaments est basée sur la diminution de l'agrégation des plaques séniles. Dans cette partie nous décrirons quelques synthèses des inhibiteurs de nature glycopeptide qui représentent une nouvelle voie et un grand challenge, dans les laboratoires de recherche qui permettent de construire des espoirs concrets pour éradiquer le phénomène d'Amyloïdogenèse.

2. Synthèses des glycopeptides :

A. A partir d'un azidoglucidique:

Ichikawa et *col.*, ont réalisé la synthèse du glycopeptide (5), à partir d'un azidoglucide (1). Ce dernier est réduit en une fonction formamide (2) puis en une fonction isocyanure. Le glycosylisocyanure (3) va être oxydé (4), afin de réagir avec le motif peptidique cible via sa fonction amine (5)¹⁷.

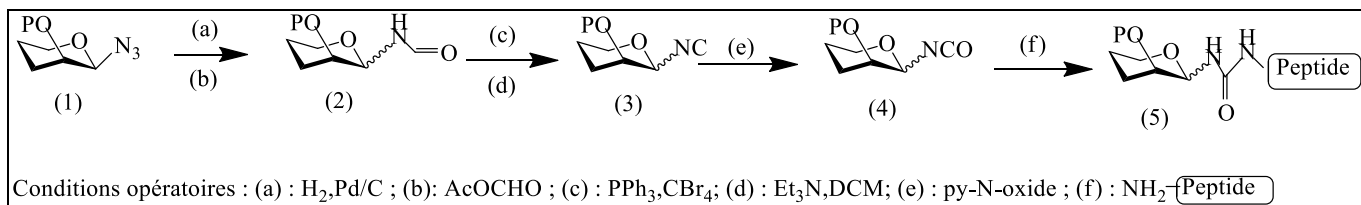


Schéma (1): Synthèse du Glycosylisocyanure.

B. Synthèse d'un glycopeptide à partir d'un N-Acétyleglucosamine:

Hindsgaul et *col.*, ont décrit la réaction entre le dérivé sucre le N-acétyleglucosamine (6), avec l'éthylènediamine anhydre pur à $70^\circ C$ pendant deux jours¹⁸, ce qui a permis de transformer les esters en amines primaires (7). Tandis pour le couplage avec les protéines, a été réalisé en présence de diéthyle squarate ce dernier joue le rôle du connecteur^{18 17}.

¹⁷ B.G.Davis, Synthesis of Glycoproteins. *Chemical Reviews*. **2002**, 102,559-598.

¹⁸ P.K.Vivekanand, D.Paul, H.Ole, Use of diethyl squarate for the coupling of oligosaccharide amines to carrier proteins and characterization of the resulting neoglycoproteins by MALDI-TOF mass spectrometry. *Glycoconjugate Journal*. **1996**, 13, 315-319.

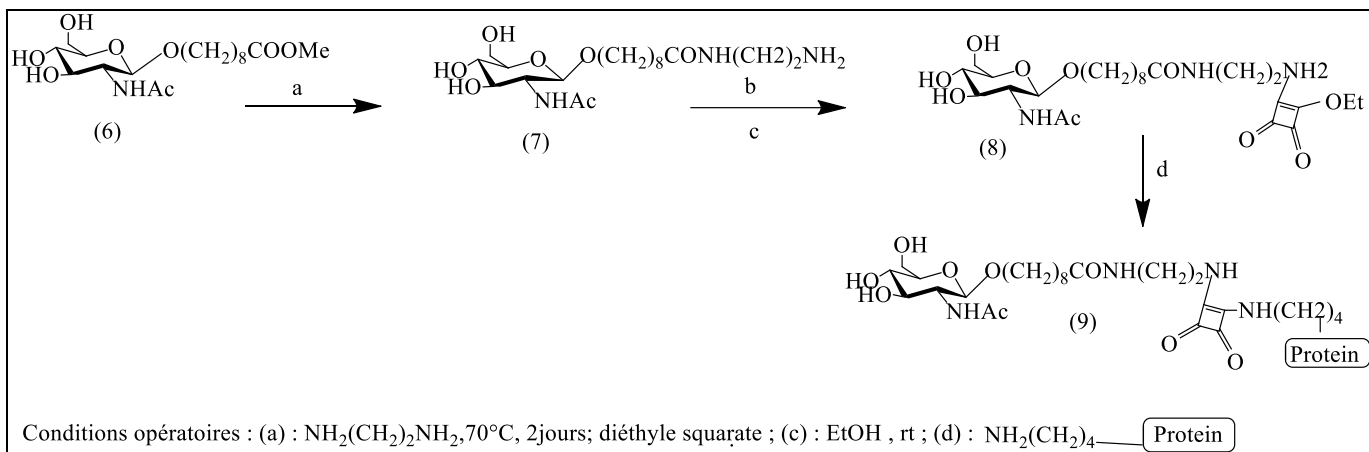


Schéma (2): Couplage d'un glucide à une protéine en utilisant l'éthyle squarate.

C. Synthèse d'un glycopolymère :

Un polymère qui porte un tréhalose (α -D-glycopyranosyl-(1-1) α -D-glucopyrnoside) inhibe l'agrégation de l'A β (1-42)¹⁹, la synthèse est réalisée par une estérification enzymatique des saccharides non réducteurs, suivie par une polymérisation radicalaire, les conditions (H_2O_2 , acide L-ascorbique et H_2O dans le DMSO) sont utilisées comme initiateurs des radicaux²⁰.

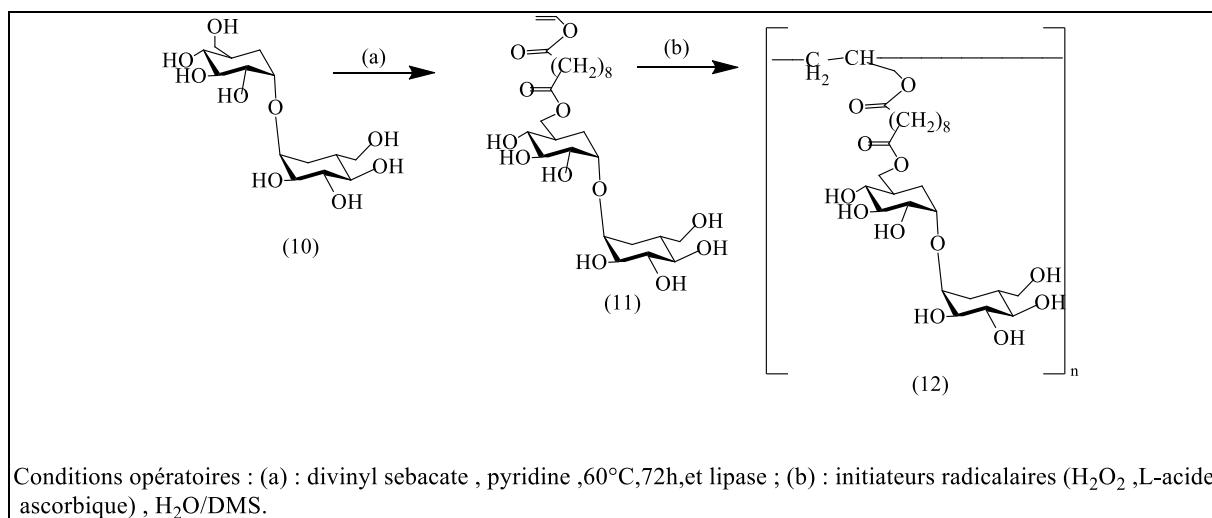


Schéma (3): La synthèse d'un glycopolymère¹⁹.

D. Synthèse de peptidomimétique 1-4 portant le D-glucopyranosyl :

L'intermédiaire (16) est obtenu à partir de la trilatation de l'hydroxyle en position (6) du méthyl- α -D-glucopyranoside (13) et ensuite la benzoylation des hydroxyles en position (2-3et4) suivie d'une déprotection de la position (6) par hydrolyse qui donne le produit (15). La formation d'une liaison carboxyéthyle sur l'hydroxyle en position (6) est obtenue (17) par une addition de Michael du composé (16) sur l'acrylate de tert-butyle , le composé (18) est

¹⁹ M.Yoshiko, Y.Chouga, O.Reiko, Inhibition of Alzheimer amyloid β aggregation by polyvalent trehalose. *Science and Technology of Advanced Materials*. 2008, 9, 1-6.

couplé avec le dipeptide HeVal-LeuOMe ,pour donner le composé (19),ensuite réaliser une réaction de substitution nucléophile par l'azidopropanole et par l'azidoéthanol pour donner les produits (20)et (20').Le groupe azido des composés (20) et (20') est réduit par la réaction de Staudinger .Les amines des composés (21) et (21') sont couplées avec le N-Boc-L-Ala.Le groupe Boc est clivé par TFA et les amines libres sont couplées avec N-Boc-L-Al pour conduire aux composés (23) et (23'), à la fin le clivage des groupes benzyle par hydrogénation donne le produit final qui est le peptidomimétique 1-4²¹.

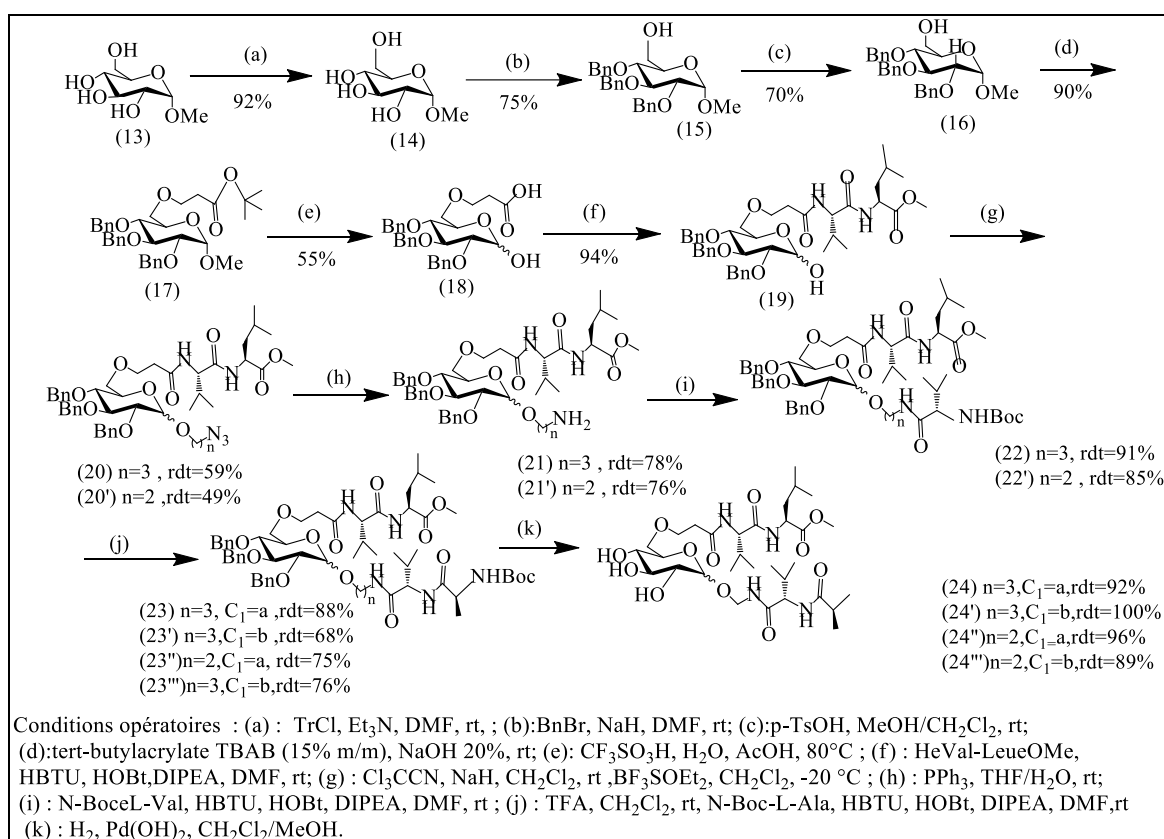


Schéma (4): synthèse du peptidomimétique 1-4 portant le D-glucopyranosyl.

E. Synthèse de 2-imino-2méthoxyéthyl-1-thioglycoside:

La synthèse de 2-imino-2méthoxyéthyl-1-thioglycoside est réalisée en présence d'un thiocarbamide et le chloroacétonitrile le traitement avec le méthoxyde de sodium dans le méthanol, a permis la transformation du cyanométhyl 1-thioglycoside (25) en méthylimido ester (26) et à la fin le couplage de ce dernier, avec un peptide conduit au produit final (27)¹⁷.

²¹ B.Dorger,L.Khemtmourian,I.Correia, J.L.Soulier,O.Lequin,S.Ongeri,Sugar based peptidomimetics inhibit amyloid β -peptide aggregation.*European Journal of Medicinal Chemistry*. **2011**, *46*, 5953-5969.

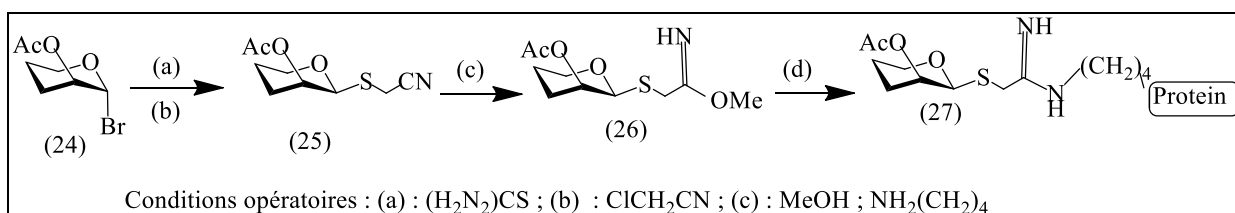


Schéma (5): La synthèse de 2-imino-2méthoxyéthyl-1-thioglycoside.

A. Synthèses d'acides aminés glycosyliques dérivés de 1,2,3-triazole :

F-1. Synthèse de $\alpha\text{GlcNAc-1-O-triazol-2-}\alpha\text{Man-ThrOH}$:

Vanessa Leiria Campo et *Col.*, ont réalisé la synthèse sous les conditions suivantes : le sulfate de cuivre (CuSO_4) / ascorbate de sodium ($\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6\text{Na}$), en utilisant le DMF (N,N-diméthylformamide) comme solvant et irradiation par micro-onde à 100°C pendant 30 minutes, les deux réactifs sont reliés par un cycle de cinq chaînons (triazole disubstitué), la formation de ce cycle s'effectue entre l'alcyne vrai et l'azoture par une réaction de cycloaddition 1,3 dipolaire²². Il est à noter que, le composé (29) est préparé à partir de l'acétate per-O-acétyl-2-azide-2-désoxy mannosyle et un acide aminé protégé en présence de $\text{BF}_3/\text{Et}_2\text{O}$ (trifluorure de bore /éther diéthylique) et le dichlorométhane (CH_2Cl_2)²².

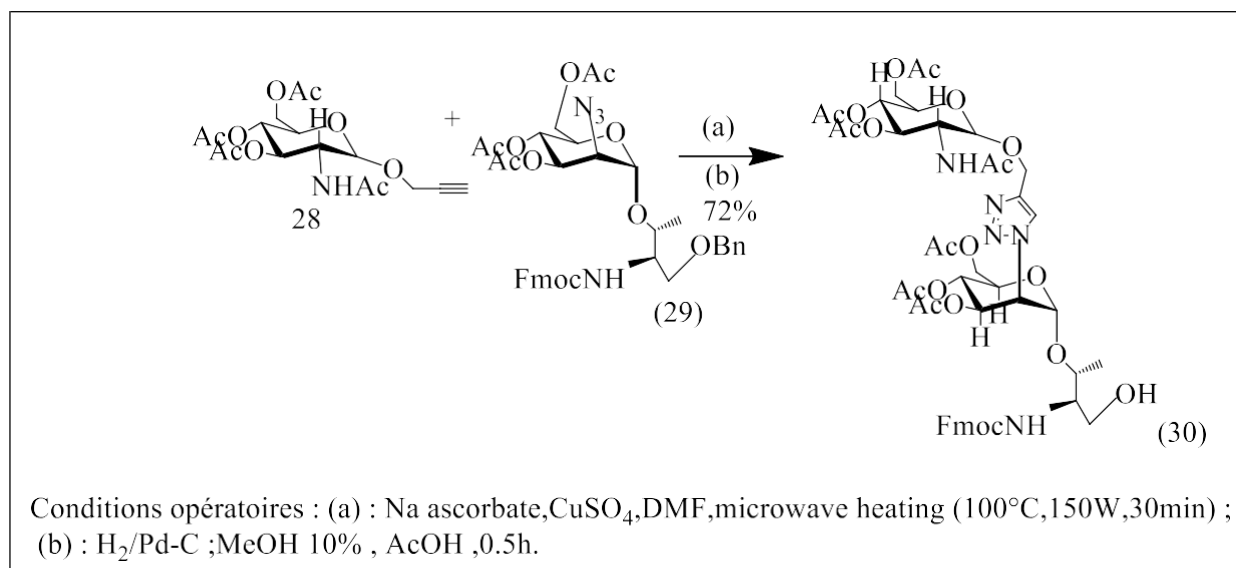


Schéma (6): Synthèse de $\alpha\text{GlcNAc-1-O-triazol-2-}\alpha\text{Man-ThrOH}$.

²²M.F.Marchiori, G.P.Iossi, L.O.Bortot, M.Dias-Baruffi, V.L.Campo, Synthesis of novel triazole-derived glycopeptides as analogs of α -dystroglycan mucins. *Carbohydrate Research*. **2018**. 472.23-32.

F-2. Synthèse de Gal-β1,4-αGlcNAc-1-O-triazol-2αMan-ThrOH :

Le même procédé et les mêmes conditions utilisés dans la synthèse précédente sauf le temps d'irradiation est différent, pour cette synthèse la réaction est réalisée pendant 60 minutes dans un réacteur de micro-onde.

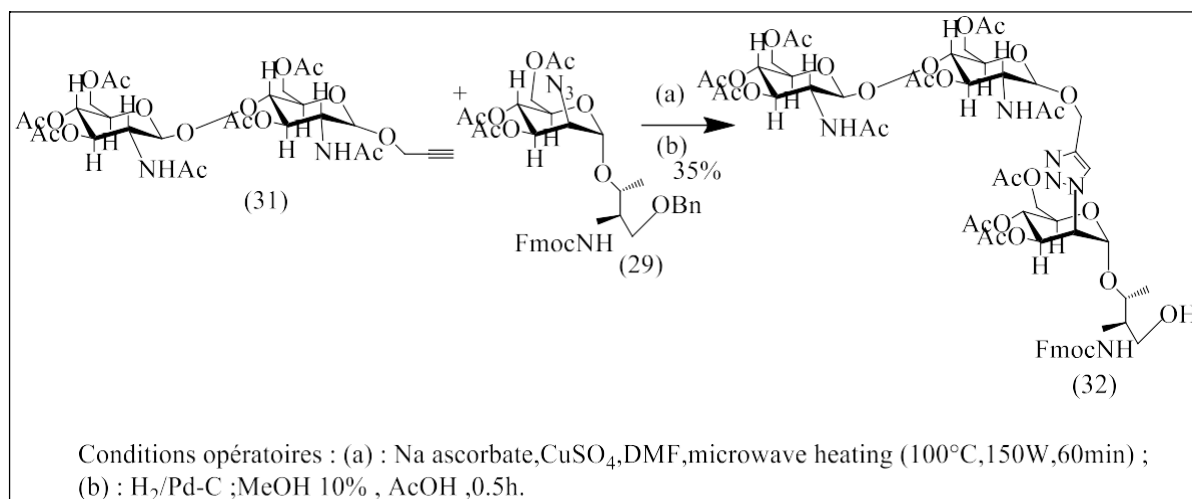


Schéma (7): Synthèse de Gal-β1,4-αGlcNAc-1-O-triazol-2αMan-ThrOH.

A. Synthèse des glycopeptides analogues des mucines α-dystroglycane (DG):

La synthèse peptidique est réalisée en utilisant une résine commerciale préchargée avec Fmoc-Gly comme support solide²². Les groupes Fmoc(chlorure de fluorényl méthoxy carbonyle) sont éliminés en utilisant la morphine dans le DMF²², ensuite réaliser un couplage des acides aminés en présence de PyBOB /HOBT(benzotriazol-1-yl-oxytrypyrrolidino phosphonium hexafluorophosphate/hydroxybenzotriazole) et DIPEA (N,N-diisopropyl éthylamine) dans le DMF²². Les glycopeptides (34) et (34') sont obtenus à partir d'une N-acétylation suivie d'un clivage de la résine en présence de TFA (trifluoroacétique et le TIPS (triisopropylsilane) avec une élimination des groupes protecteurs des acides aminés. La dernière étape est d'éliminer les groupements acétyles du scharide par le NaOMe (méthanolate de sodium) et MeOH qui conduit au produit final (35 et 35')²².

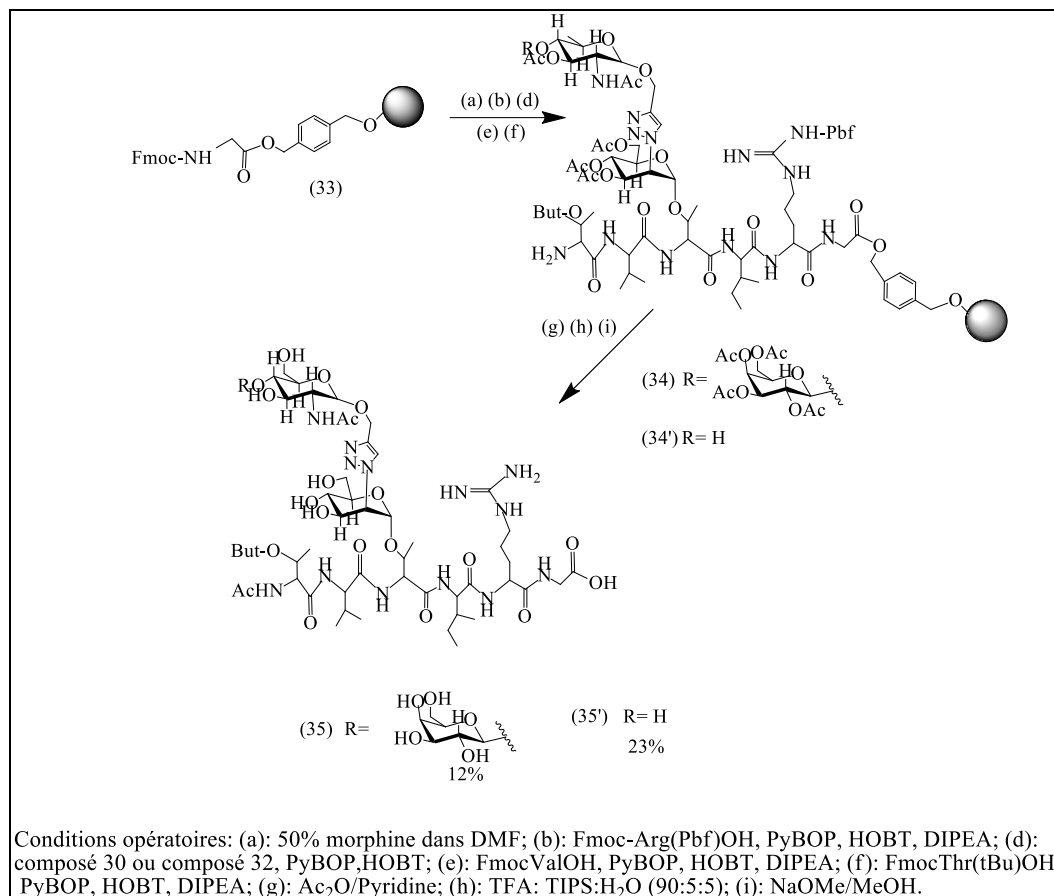


Schéma (8): Synthèse des glycopeptides analogues des mucines α -DG.

F. A partir d'un saccharide γ -acide aminé :

Le nitro ester (**37**) est obtenu par le traitement avec le DBU (1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène) dans le nitrométhane la réduction du groupe nitro en présence de Boc₂O(tert-butoxycarbonyle) dans le méthanol donne un mélange (composés **38** et **39**) . Le produit (**40**) est obtenu en traitant le composé (**39**) par LiOH dans un mélange de THF/H₂O ensuite réaliser une protection de la fonction amide (composé**41**) . Le produit (**42**) est obtenu à partir du couplage du composé (**41**) avec le méthylamine(NH₂Me). L'élimination du groupe protecteur tert butoxycarbonyle Boc) est obtenue par l'ajout de l'acide trifluoroacétique(TFA) dans le dichlorométhane (CH₂Cl₂) le produit brut est couplé avec le Boc-L-Ala-OH , ensuite une attaque nucléophile de l'oxygène de la position (4) sur l'amide (**43**)²³ .

²³ R.Mylène,F.Anne-SophieC.Françoise,A.P.Marie-Christine,P.M.Nadia,Synthesis and conformtional studies of γ/α -glycopeptides based on sugar $\gamma^{3,3}$ -amino acids.*Tetrahedron*. **2017**,73,6795-6804.

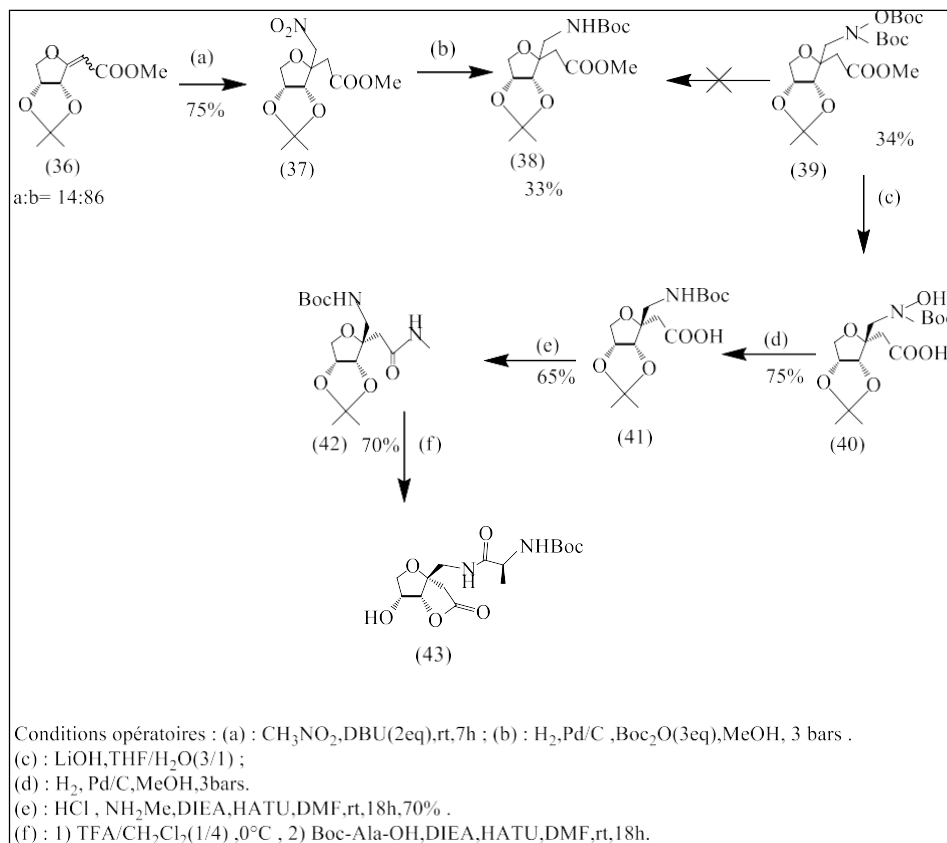


Schéma (9): Synthèse d'un glycopeptide à partir d'un γ -acide aminé.

3- Conclusion générale Chapitre 1:

Comme l'objectif de notre présent travail est la synthèse d'un glycopeptide à viser anti-Amyloïdogenèse. Nous avons regroupé dans ce chapitre, quelques synthèses de la littérature concernant les glycopeptides, cette particularité leur donne un rôle primordial surtout dans les domaines de la pharmacologie, la biologie et la thérapie. Ces molécules peuvent être présents naturellement, par exemple dans le corps humain à la surface des cellules ou bien synthétisés, ils sont très utilisés dans les industries pharmaceutiques comme médicaments par exemple pour le traitement anti cancéreux ou bien utilisés comme des inhibiteurs des plaques amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer ou encore comme des antibiotiques.

Chapitre 2 : Modification sélective des saccharides

G. Introduction :

Saccharide, sucre, glucide ou encore hydrate de carbone, c'est une substance organique qui forme un assemblage d'atomes d'hydrogène, d'oxygène et de carbone. Elle représente un autre monde dans la chimie, appelé tout simplement chimie des sucres.

Dans ce chapitre nous allons décrire quelques méthodes, trouvées dans la littérature concernant la modification sélective des saccharides, qui présente plusieurs problématiques²⁴ due à :

- a)- Réactivité similaire des groupes hydroxyles ;
- b)- Acidité similaire des groupes hydroxyles présents sur le motif saccharidique.
- c)- Equilibre entre la forme linéaire et cyclique ;
- e)- La coexistence des anomères α et β ;
- f)- L'insolubilité dans les solvants organiques ;
- g)-La complexité des produits secondaires et problèmes de purifications.

II. Méthodes pour une modification sélective des saccharides :

Mono modification des saccharides:

L'acylation sélective :

Jian et *Col.*, ont décrit une double acylation sélective et ils ont observé une grande réactivité des groupes hydroxyles équatoriaux, protection sélective de la position (6) dans toutes les réactions, ils ont donné comme argument : la gêne stérique (le groupe Chlorure de Pivaloyl est assez volumineux) et la réactivité des groupes OH primaires par rapport aux OH secondaires²⁴.

²⁴ J.Manuel,J.Adrian,Regioselective modification of unprotected glycosides . *ChemComm* . 2016, 52,656 -664/

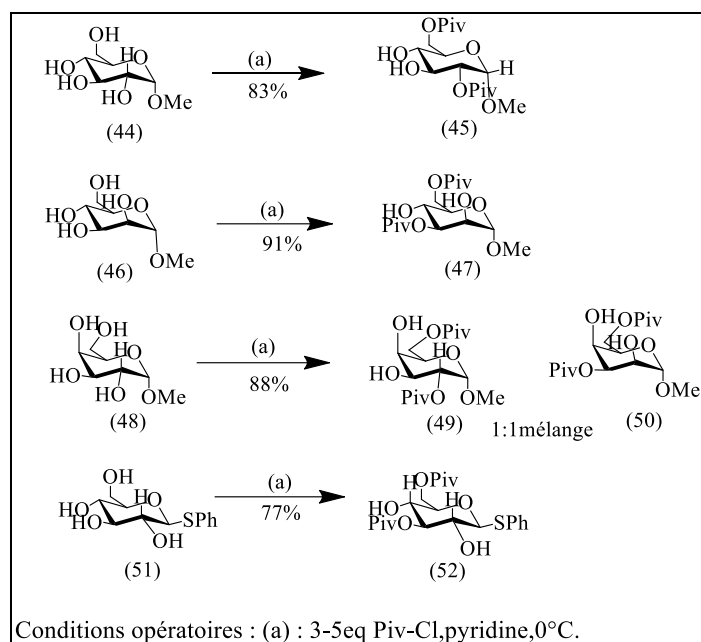


Schéma (10): Méthode d'acylation sélective.

La protection sélective:

Les conditions de la réaction s'effectuent comme suit: une quantité d'anhydride acétique Ac_2O , 4-diméthylaminopyridine DMAP (catalyseur), le tous dans le chloroforme CHCl_3 . Les glycosides obtenus sont protégés en position (3-4 et 6), la réactivité des groupes hydroxyles en position (3-4 et 6) est due à la liaison hydrogène (répartition de la charge positive) par contre dans la position(2) la répartition des charges positives est négligeable²⁴.

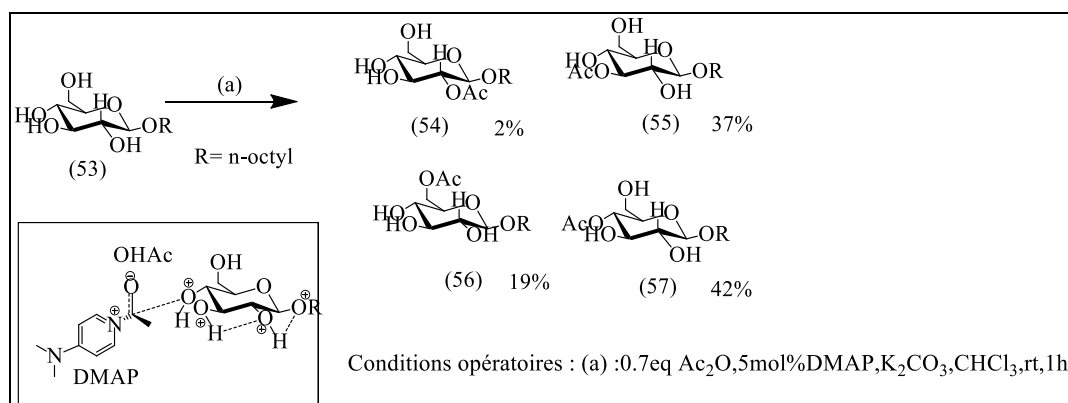


Schéma (11): L'influence de la liaison hydrogène intramoléculaire sur l'acylation sélective de glucosides²⁴.

Mono modification en position (3):

Le méthyle α -D-glucopyranoside est traité avec le catalyseur (a) dans l'acétonitrile aqueux, Jäger et *col.* ont utilisé la benzoquinone comme terminal oxydant²⁵. Cette oxydation catalysée par le palladium en position (3) donne un excellent rendement et un seul produit²⁴.

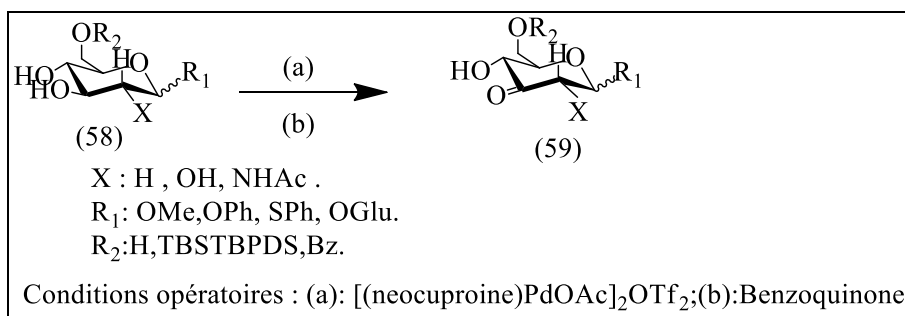


Schéma (12): L'oxydation sélective de la position (3) catalysée par le Palladium.

Mono modification en position (4):

Kawabata et *Col.*, ont réalisé une excellente sélectivité d'acylation de la position (4) avec un excellent rendement²⁴. La sélectivité est due à l'approche du catalyseur tripeptidique avec le sucre, ce qui laisse accessible la position 4²⁴.

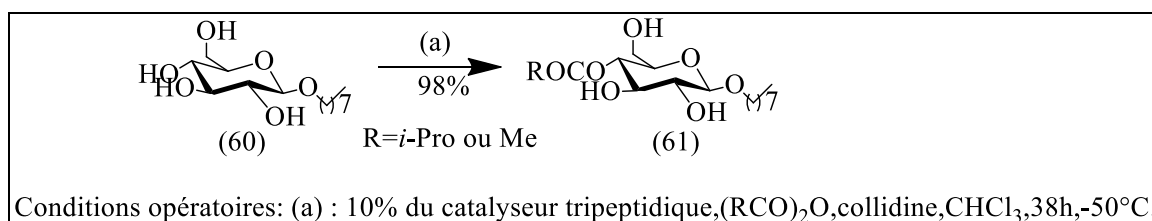


Schéma (13): L'acylation sélective de la position (4) en présence d'un catalyseur Tripeptidique¹⁷.

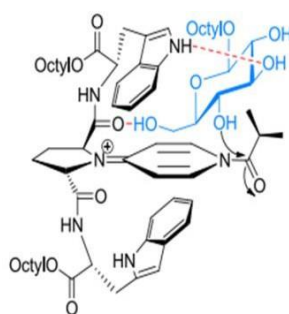


Figure 7: Approche du catalyseur pseudo-tripeptide contenant DMAP.

²⁵ M.Jäger, M.Hartmann, J.G.De Vries, A.J.Minnaard, Catalytic regioselective oxydation of glycosides. *Angewandte chemie International Edition*. 2013, 52, 7809-7812.

II. 1.5. La thiofonctionnalisation sélective en position (6):

Thiem et *Col.*, ont réalisé une thiofonctionnalisation sélective en position (C-6), ils ont utilisé comme conditions opératoires le diéthylazodicarboxylate “DEAD”, le triphénylphosphine PPh_3 (conditions de la réaction de Mitsunobu qui présente un lancement optimal pour obtenir le produit final) et le 2-mercaptobenzothiazole autant qu’un nucléophile²⁴.

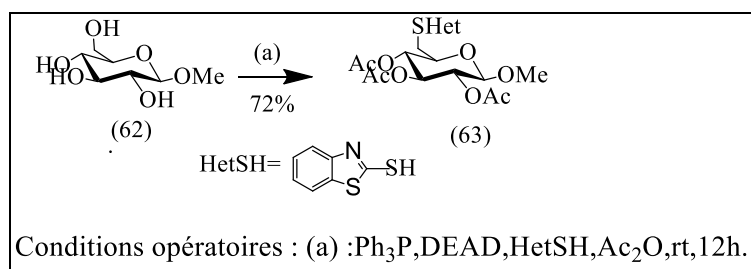


Schéma (14): la thiofonctionnalisation de la position (6)²⁴.

Per modification des saccharides:

Silylation globale d'un saccharide :

Wang et *Col.*, ont amélioré les conditions de cette réaction et ils ont remarqué qu'en présence d'une quantité catalytique de TMSOTf (Triflate de triméthylsilyle) et une quantité de HMDS (Bis(triméthylsilyl)amine) tous les groupements hydroxyles sont silylés. Ce protocole est très utilisé pour une per-O-silylation d'une variété de sucres et leurs dérivés²⁶.

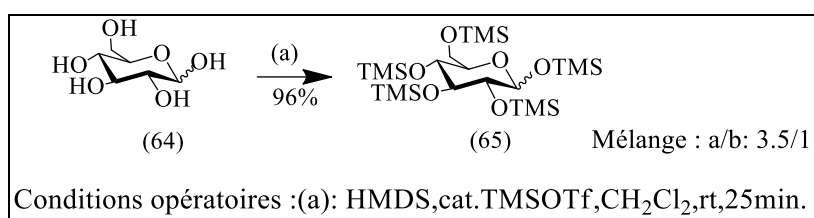


Schéma (15): silylation d'un saccharide.

Synthèse de Sialyle per-O-benzylé :

Le composé α -thioéthyle sialoside (**66**) peut être synthétisé à partir de N-acide acetylneuraminique (NANA ou Neu5Ac), l'ajout du méthanol et une base autant qu'un

²⁶ A.A. Joseph, V.P. Verma, X.Y. Liu, C.H. Wu, V.M. Dhurandhare, C.C. Wang, TMSOTf-catalyzed silylation: streamlined regioselective one-pot protection and acetylation of carbohydrates. *Eur J Org Chem.* **2012**, 2012, 744-753.

catalyseur va éliminer les groupements O-Acétyle et donner le produit **(67)**, l'ajout de CaH_2 et KOH comme bases a conduit au produit **(68)**²⁷.

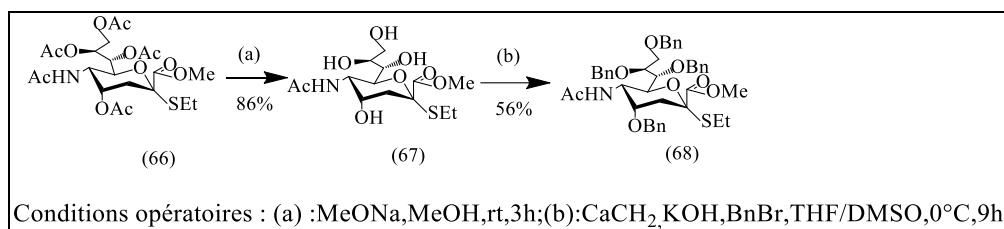


Schéma (16): Synthèse de sialyle per-o-benzylé.

II. La modification sélective de la cyclodextrine “CD” :

La modification sélective de la cyclodextrine (CD) est une stratégie très importante et à la fois c'est une porte ouverte vers un véritable défis pour les chimistes .La (CD) est très utilisée dans nombreux domaine, surtout dans les industries pharmaceutiques pour la formulation médicamenteuse¹⁷.

Mono modification de la CD :

Mono modification en position (6) :

Synthèse de mono-6-tosyl-β-CD :

Cette synthèse est obtenue en préparant le composé intermédiaire 1-(*p*-toluène sulfonyl) imidazole (Tslm) à partir de mono-6-tosyl-β-CD , une substitution nucléophile par l'alkylimidazole et un échange d'anion permettent la mono substitution des β-CD-alkylimidazolium, une méthode implique le chauffage de mono-6-tosyl-β-CD avec des alkylimidazoles , dans du DMF à 90 °C pendant deux jours , l'anion tosylate a été converti en chlorure par échange d'anion à travers de l'amberlite 900(CI) de la résine²⁸.

²⁷ Mei, X. ; Na, L. ; Yonglians, Z. ; Zhenni, H. ; Dahai, D. ; Jian, G. ; Zhongwu, G. ; Guofeng, G. ; Feng, C. Per-O-benzylated Ethyl5-N-Acetyl-α-thioaliosialoside as a glycosyl donor for α-silylation. *Journal of Carbohydrate Chemistry*. **2018**, 0, 1-13.

²⁸ T. Weihua, C. Siu, Monosubstituted positively charged cyclodextrins :Synthesis and applications in chiral separation. *J Sep Sci*. **2008**, 31, 3246-3256.

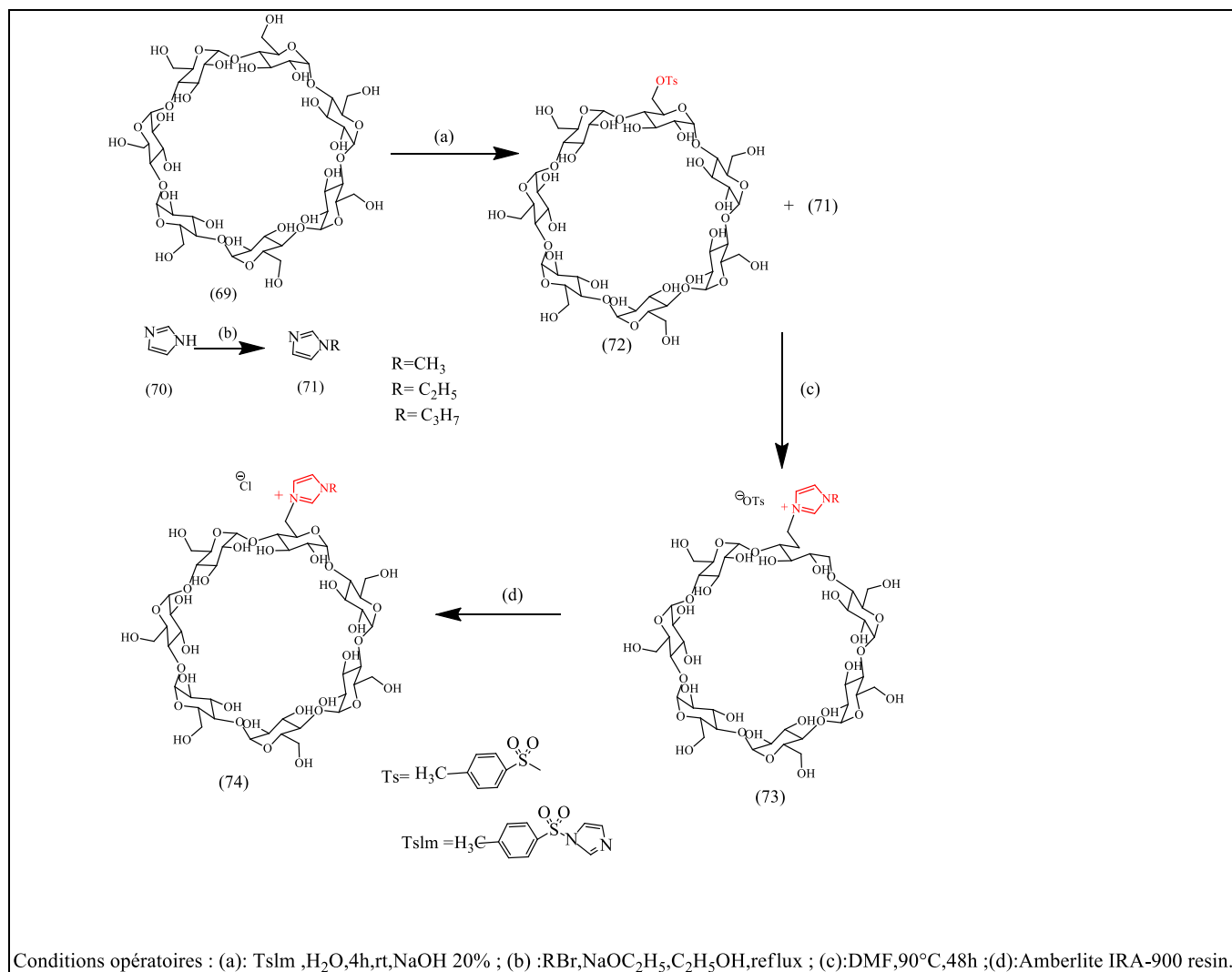


Schéma (17): Synthèse de mono-6-alkylimidazolium β -CD²³.

Permodification de la CD :

: La persubstitution en position (2) :

Le composé (75) est traité avec l'hydruide de sodium NaH à dans le DMF sec sous atmosphère d'argon le chlorure du benzènesulfonyle va réagir avec les oxyanions obtenus pendant 30minutes à une température ambiante²⁹ pour forme l'intermédiaire clé qui est le Heptakis (6-O-tert-butyldiméthylsilyl-2,3-époxy)- β -CD (77) . Le dérivé sulfoné est isolé du mélange, l'époxyde (77) est désilylé en le chauffant au reflux avec le tétrabutylammonium fluorure pendant quatre heures, l'ajout du méthanol au résidu bien sûr après l'élimination du solvant va donner un précipité du composé (78) brut. Le composé (78) réagit avec le nucléophile et en plus il est stable, ensuite réaliser une réaction nucléophile sur la β -CD pour obtenir le produit final (79)¹.

¹ R.K.Abdul,B.Lawrence,T.D.Valerian,Heptakis-2-,3-epoxy- β -cyclodextrin,a key intermediate in the synthesis of Custom designed cyclodextrins. *J Chem Soc* .1992,0,1112-1114.

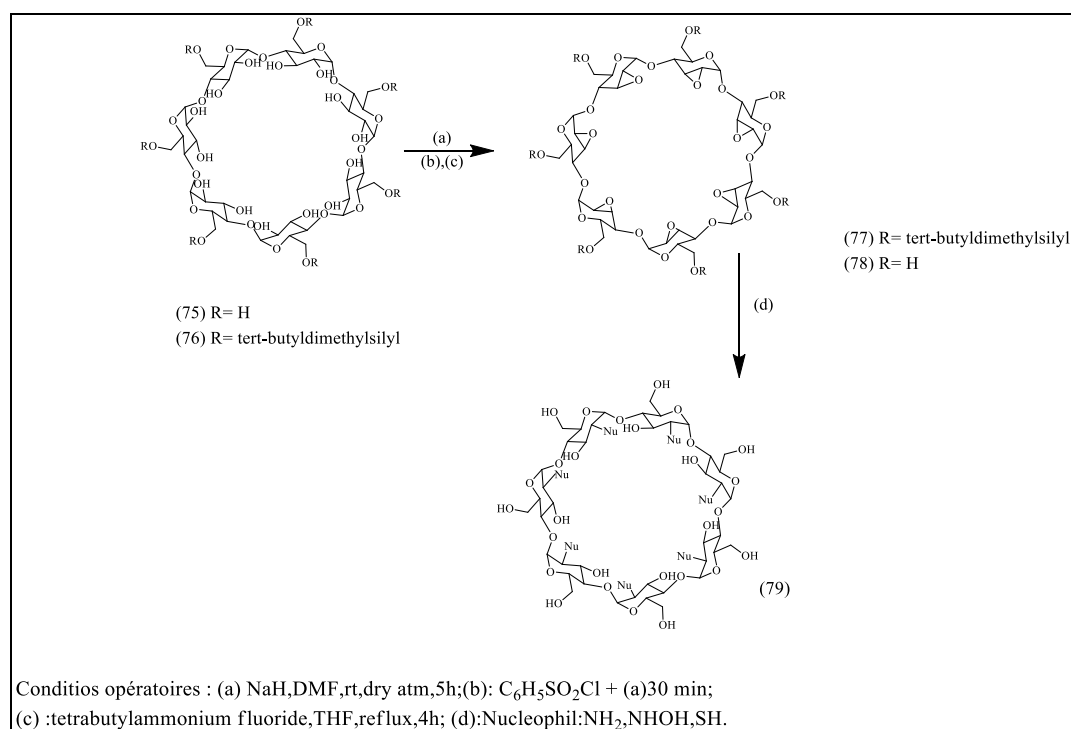


Schéma (18): La per substitution de la position (2).

Dans le tableau ci après, nous avons résumés quelques méthodes de modification des CD :

Tableau 1 : les méthodes pour modifier la cyclodextrine³⁰ :

| Cyclodextrine | Conditions | positions modifiées |
|---------------|--|-----------------------------------|
| | *Faible base (eg : pyridine)/électrophile non complexant (réactivité normale). | *6-modifiée. |
| | **Base forte /électrophile non complexant (réactivité inversée). | **2-modifiée. |
| | ***Electrophile complexant (réaction via formation de complexe). | ***2-3ou6 ou un mélange des trois |

²⁹ R.K.Abdul,B.Lawrence,T.D.Valerian,Heptakis-2-,3-epoxy-β-cyclodextrin,a key intermediate in the synthesis of Custom designed cyclodextrins . *J Chem Soc.* **1992**,0,1112-1114.

³⁰ K.Abdul Rauf ,F.Peter,J.Keith,T.Valerian,Methods for selective modifications of Cyclodextrins. *Chemical Reviews.* **1998**, 98,1977-1996.

| | | |
|--|---|---|
| | <p>****Protéger la position -2-toute base n'importe quel électrophile.</p> <p>*****Protéger la position -6, faible base, n'importe quel électrophile.</p> | <p>****6-modifiée</p> <p>***** 3ou 2-modifiée</p> |
|--|---|---|

VI- Conclusion Chapitre 2:

Afin de réussir notre projet de synthèse des glycopeptides, il est important de maîtriser la modification sélective des sucres. C'est pour cela nous avons présenté quelques méthodes de synthèse qui décrivent la modification et l'introduction de d'autres fonctions chimiques sur un motif saccharidique.

Conclusion générale

En raison de l'importance biologique et synthétique des saccharides, leur modification sélective avec de bon rendement reste un objectif qu'il faut l'atteindre, à cause de leur stéréochimie complexe, qui pousse la recherche scientifique vers des nouveaux procédés, qui permettent aux chimistes de développer des structures saccharidiques multifonctionnelles pour réaliser de nouvelles applications utilisées dans différents domaines tels que la médecine, la pharmacie et la biologie .

Combiner les saccharides à des séquences peptidiques de reconnaissance impliquée dans des maladies, constitue une voie ciblée de recherche de nouvelles molécules bioactifs. C'est pour cela nous avons choisit de réaliser dans ce projet de mémoire de master, de synthétiser des glycopeptides capables d'inhiber l'Amyloidogenèse.

PARTIE II: RESULTATS ET DISSCUSSION

Chapitre 3: Travail effectué

I. INTRODUCTION :

Cette partie de notre projet consiste à montrer et discuter les résultats de la synthèse de notre nouveau glycopeptide qui va être obtenu à partir d'un couplage d'un dipeptide qui sert comme élément de reconnaissance avec A β 42, avec un motif saccharidique qui peut être monosaccharide (glucose) ou bien un polysaccharide (cyclodextrine), le dipeptide le saccharide sont reliés par un groupe perturbateur (Triazole) en se basant sur le principe de la réaction de **Click Chemistry**.

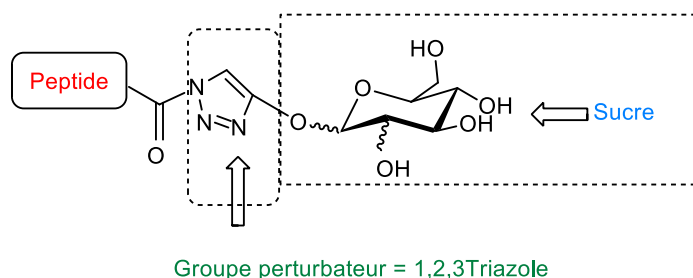


Figure 8: Le glycopeptide inhibiteur **A** proposé à base de monosaccharide.

Le choix de la cyclodextrine, comme polysaccharide pour ce deuxième inhibiteur, est due à la caractéristique de la CD comme vecteur pharmaceutique. L'objectif ultérieur est d'améliorer la perturbation des plaques amyloïdes mais aussi de vectoriser le principe actif vers le cerveau.

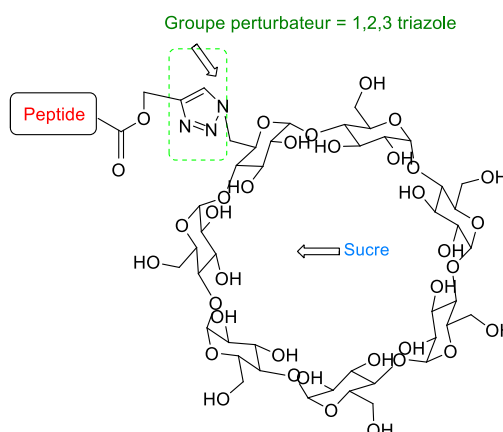


Figure 9: Le glycopeptide inhibiteur **B** proposé à base de cyclodextrine.

II. Synthèses :

II-1. Protection des acides aminés:

a. Estérification de la L-Phénylalanine :

Cette méthode est très utilisée pour protéger les acides aminés, c'est-à-dire transformer la fonction acide carboxylique en ester en traitant l'acide aminé avec le chlorure d'acétyle et le méthanol. L'obtention du produit est confirmée par la disparition de la bande acide et la fréquence de la bande du carbonyle de l'ester à $C=O$ à 1742.493cm^{-1} .

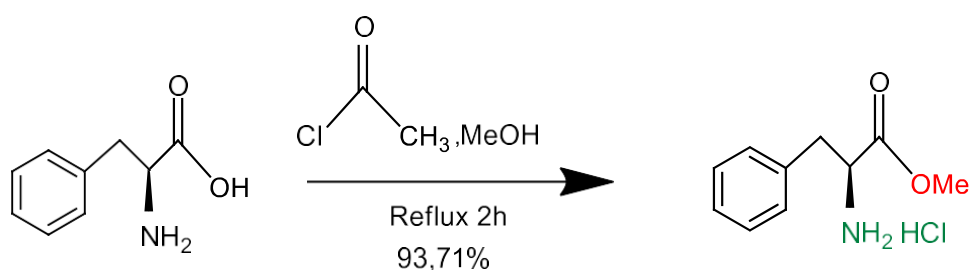


Schéma 19: Estérification de L-Phénylalanine.

b. Protection de la fonction amine de l'acide 6-aminocaproïque (6-aminocaproïque) :

Concernant la protection de la fonction amine nous avons choisi comme réactif l'anhydride phtalique (disponible dans notre laboratoire) sous reflux dans l'Acide acétique glacial.

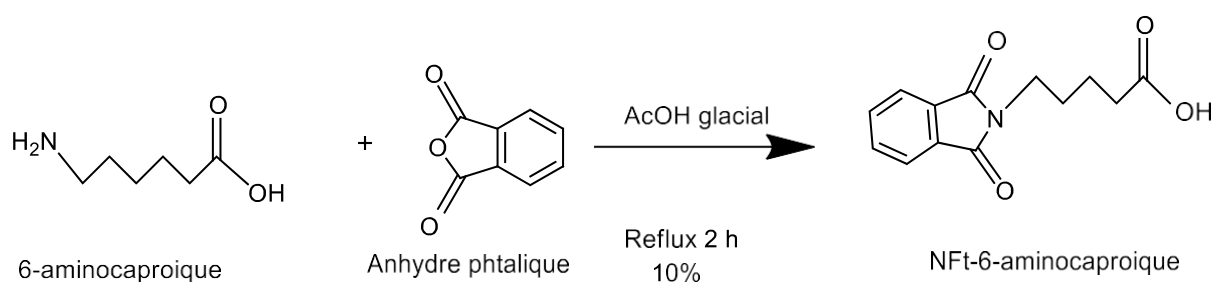


Schéma 20: La protection de 6-aminocaproïque.

a. Couplage di peptidique entre NFt-6-aminocaproïque et le chlorhydrate de L-Phénylalanine estérifié :

Après la protection des acides aminés, le couplage est réalisé en présence d'un agent de couplage qui est le DCC dans le DCM pour condenser les deux aminoacides, l'ajout du TEA (triéthylamine) libère la fonction amine de sa forme chlorhydrate pour le couplage.

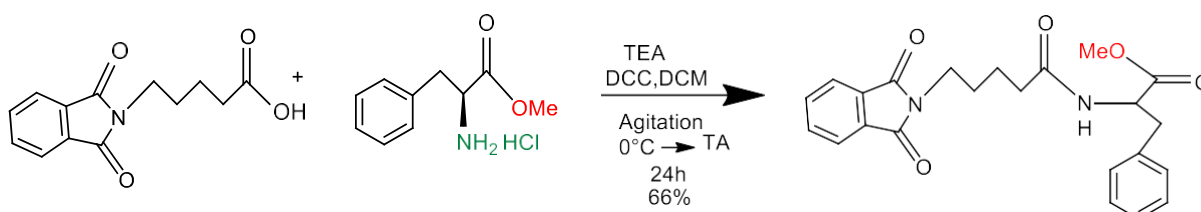


Schéma 21: Couplage di peptidique entre NFt-6-aminocaproïque et le chlorhydrate de L-Phénylalanine estérifié.

b. L'hydrolyse du dipeptide NFt-6-aminocaproïque-L-Phénylalanine estérifié :

L'hydrolyse sert à transformer la fonction ester en acide le dipeptide est introduit dans un mélange de THF /Eau puis l'ajout d'une solution de LiOH (1N), le mélange réactionnel est suivie par CCM, la réaction est achevée après 24h.

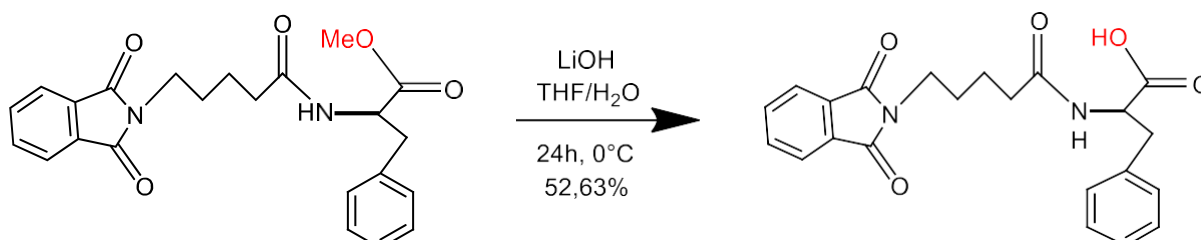


Schéma 22: L'hydrolyse du dipeptide NFt-6-aminocaproïque-L-Phénylalanine estérifié.

a. Synthèse de l'acyle azide du dipeptide NFt-6-aminocaproïque-L-Phénylalanine:

L'introduction du groupe azide indispensable à la réaction de click chemistry ultérieure, la réaction est réalisée en présence de chlorure d'acétyle et TEA.

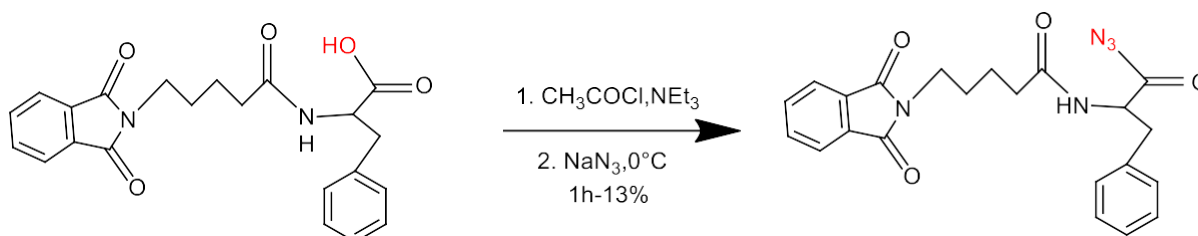


Schéma 23: Synthèse de l'acyle azide du dipeptide NFt-6-aminocaproïque-L-Phénylalanine.

II-2. Synthèse du Motif saccharide :

II-2.1 Synthèse du prop2-ynyl-D-glucopyranoside :

Avant de réaliser cette étape, il est noté que nous avons préparé le catalyseur de cette réaction qui est à base de gel de silice, d'éther et d'acide sulfurique.

Cette synthèse nous a permis de faire réagir un glucose avec un propargyl alcool, l'avantage c'est que cette réaction se réalise sans passer par l'étape de la per protection du saccharide, la synthèse se fait en présence du catalyseur Silice- H_2SO_4 que nous avons préparé au préalable 24h à l'avance.

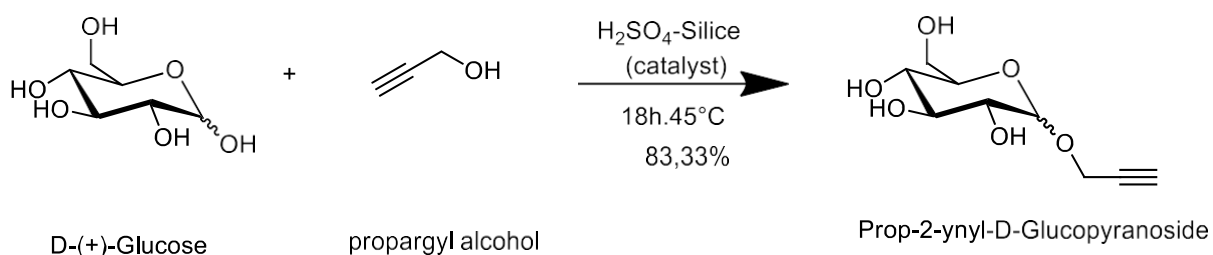


Schéma 24: Synthèse du prop2-ynyl-D-glucopyranoside.

II-2.2 La réaction de Click chemistry entre le propargyl glucose et l'azido-peptide:

La réaction de cycloaddition 1,3 dipolaire d'Huisgen ou encore Click Chemistry cette réaction se fait entre l'azoture et l'alcyne vrai, catalysée par le cuivre qui a un nombre

d'oxydation qui est égal à 1, c'est un catalyseur efficace qui rend la réaction plus sélective et plus rapide. Sharpless et *col.* ont proposé un mécanisme pour décrire cette réaction qui commence par la formation d'un complexe entre le cuivre et l'alcyne:

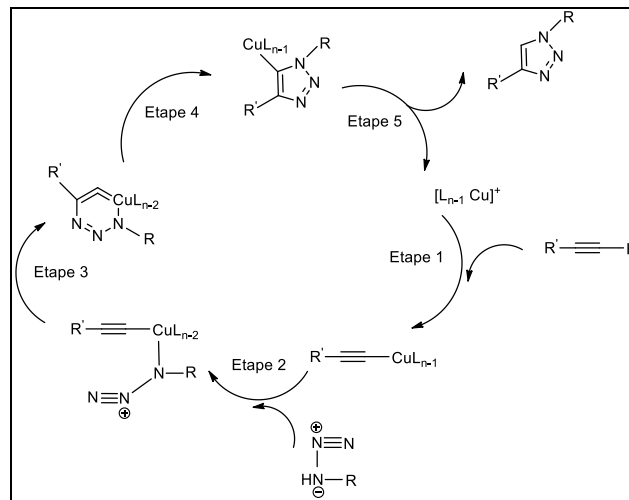


Schéma 25: Mécanisme de la chimie clic proposé par Sharpless et *col.*

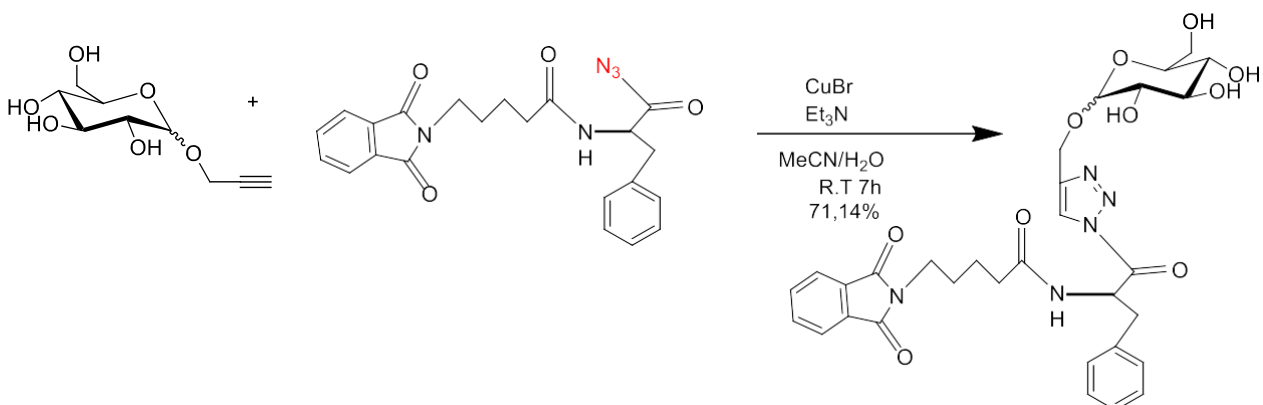


Schéma 26: Synthèse de l'inhibiteur **A** à base de glucose.

II-2.3 Synthèse de l'inhibiteur **B** à base de cyclodextrine :

II-2.3. Estérification du dipeptide

Cette réaction est réalisée sous atmosphère d'azote, en présence de dichlorométhane autant que solvant, un agent de couplage qui le DCC et le DMAP comme catalyseur dans des conditions douces. La réaction est suivie par CCM jusqu'à la disparition des réactifs de départ.

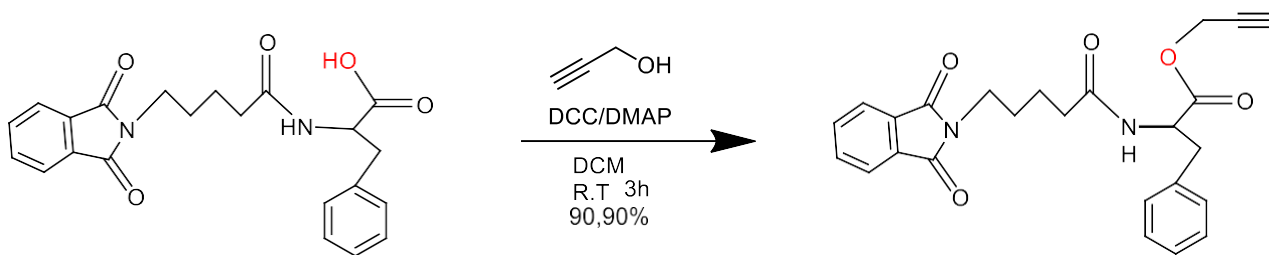


Schéma 26: L'estérification du dipeptide avec le propargyl alcool.

II-2.3.2. La réaction de Click chemistry entre le propargyl dipeptide et l'azido cyclodextrine :

Cette réaction est réalisée en présence d'une base azotée DIPEA et un catalyseur qui est le CuBr à température ambiante, dans un mélange de solvant acétonitrile/eau. L'ordre d'ajout des réactifs est primordiale, afin d'éviter de formation de complexe d'inclusion avec la CD. Ce genre de réaction à base de polysaccharide est plus long par rapport à la première réaction à base de glucose.

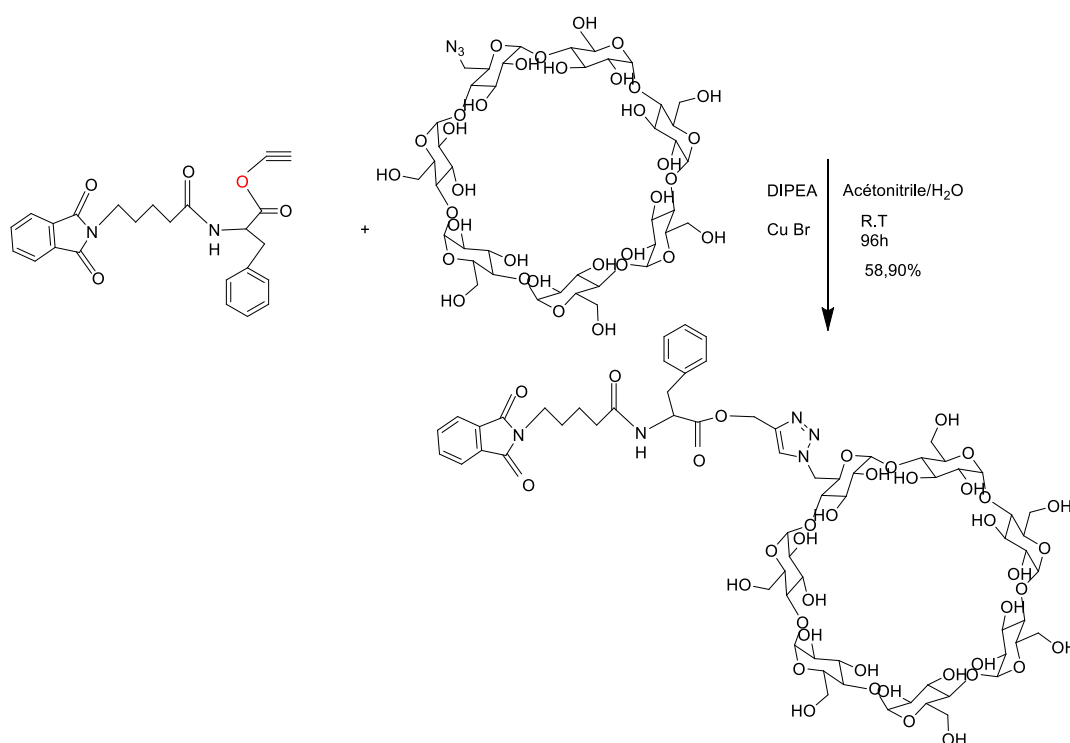


Schéma 27: Synthèse de glycopeptide à base de cyclodextrine.

III. Conclusion et perspectives:

Le couplage entre un alcyne et un azide catalysé par Cu^I cette réaction qui est désignée par Click Chemistry, représente la réaction de base de notre nouveau glycopeptide inhibiteur de l'Amyloidogenèse. Dans ce travail nous avons choisis de synthétiser deux inhibiteurs: l'inhibiteur A à base de glucose et l'inhibiteur B à base de β -CD mais se différencient par la fonction alcyne-azide portée par les deux saccharides .

Pour l'inhibiteur A le glucose porte la fonction alcyne et le peptide porte la fonction azide, pour l'inhibiteur B nous avons inversé les fonctions, c'est le β -CD qui porte la fonction azide.

Les deux réactions se déroulaient dans les mêmes conditions opératoires sauf le temps de réaction pour le glycopeptide B est plus long et la base utilisée est différente, dans la réaction de Click Chemistry le choix de la base est ouvert l'essentiel l'utilisation d'une base azotée, nous avons utilisé comme catalyseur CuBr qui est disponible dans notre laboratoire mais cette réaction peut se dérouler en présence de CuSO_4 à condition d'utiliser un agent réducteur comme l'ascorbate de sodium qui est largement utilisé.

Concernant notre étude, les glycopeptides synthétisés, pour assurer que se sont des inhibiteurs capables de déstabiliser les feuillets β et arrêter leur accumulation, ce travail doit être complété par la RMN , étudier leurs effets sur l'Amyloidogenèse et confirmer leur activité biologique

Ce présent travail est une initiation vers un développement de nouvelles approches thérapeutiques et qui ouvre des nouvelles perspectives, ce glycopeptide peut subir des modifications non seulement au niveau du peptide mais aussi au niveau du motif saccharidique, en remplaçant le glucose et le β -CD par d'autres saccharides comme le mannose, galactose et les autres types de la cyclodextrine, en inversant aussi les fonctions alcyne-azide entre le peptide et le sucre, en espérant que le principe de ce travail sera atteint dans le futur proche.

Actuellement il n'existe aucun traitement efficace pour la maladie d'Alzheimer, la prévention de l'aggrégation du dipeptide $A\beta$ ainsi que l'inhibition de leur formation peut être un des objectifs de la thérapie et la prévention de la maladie d'Alzheimer.

Partie expérimentale:

I. Indications générales :

Toute manipulation et toute analyse concernant ce travail a été réalisé dans le laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses COSNA.

II. Matériel et méthodes :

a. Les CCM :

Chromatographie sur Couche Mince (CCM), réalisée sur des plaques d'Aluminium recouvertes de gel de silice 60 F₂₅₄.

b. Infra rouge :

Les spectres infra rouges ont été réalisé dans laboratoire de recherche de Chimie Organique Substance Naturelles et Analyses *COSNA* et au laboratoire de recherche sur les macromolécules de l'université de Tlemcen.

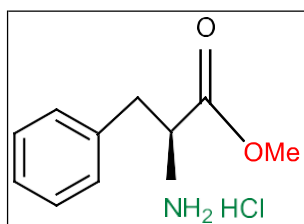
c. Température de fusion :

La prise des points de fusion a été réalisée par le banc Kofler qui est largement utilisé au laboratoire.

I. Synthèse de l'inhibiteur glycopeptidique:

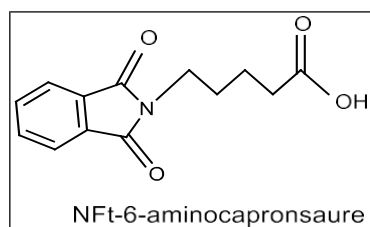
III.1. Synthèse partie peptidiques:

1. Estérification de la L-Phénylalanine :



Dans un ballon et sous un courant d'azote on introduit 40ml du méthanol qui est refroidi à 0°C, ensuite on verse lentement le chlorure d'acétyle (5ml- 1,2 éq) (goutte à goutte), le mélange est agité pendant 5 min, on ajoute 5 g de l'acide aminé (L-Phénylalanine) après 30 min d'agitation on porte le mélange réactionnel à reflux pendant 2 h à 40°C . Lorsque la réaction est terminée on réalise une évaporation sous vide, le produit récupéré est sous forme de Chlorhydrate de l'ester méthylique de la Phénylalanine. $C_{10}H_{13}NO_2.HCl$ MM = 215,68 g/mol ; $T_f = 158^\circ C$; Aspect : Solide blanc ; $R_f = 0.6$ (L'éluant : acétate d'éthyle/ éther de pétrole [80/20]). IR : NH_2 à $284.587cm^{-1}$; $C=O$ à $1742.493cm^{-1}$; $C-O$ à $1237.711cm^{-1}$; $C=C_{Aromatique}$ à 1583.289 et $1484.395cm^{-1}$, Rdt % = 93,71%.

2. La protection de l'acide 6-aminocaproïque :



Dans un ballon muni d'un réfrigérant on introduit 5 g d'acide aminé (6-aminocaproïque), 5.62 g de l'Anhydride Phtalique recristallisé dans 40 ml d'Acide Acétique glacial, on porte à reflux pendant 2 h et 30 min, on laisse refroidir à température ambiante puis dans un bain de glace toute une nuit, ensuite on filtre sous vide on utilise pour le lavage l'éthanol froid, on réalise une purification par recristallisation en utilisant comme solvant de recristallisation un mélange d'eau-éthanol.

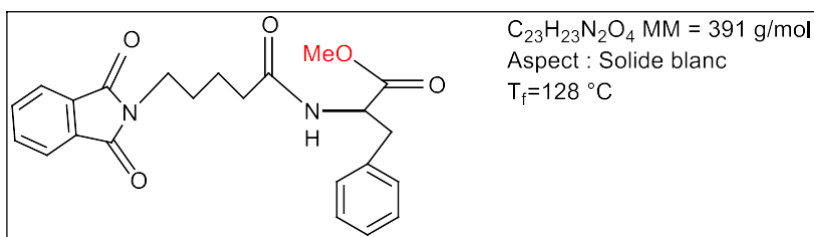
Résultat du N-Phtalimido -6-aminocaproïque : $C_{14}H_{13}NO_4$

MM = 259 g/mol

Aspect : Solide blanc $T_f = 106^\circ C$ Rdt% = 10%

IR de 6-aminocaprone : OH à 3255 cm^{-1} ; $C=O_{\text{acide}}$ à 1692.172 ; $C=O_{\text{anh.ph}}$ à 1742.119 cm^{-1} ; C-N à 1393.005 cm^{-1}).

3. Couplage di peptidique entre Nft-6- aminocaproïque et Chlorhydrate phénylalanine estérifiée :

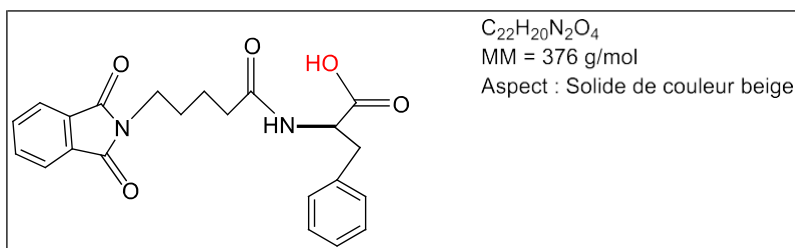


Dans un ballon, on introduit 0.20 g de Nft-6- aminocaproïque et 0.3 g de Chlorhydrate de Phénylalanine estérifiée dans 2,4 ml de DCM à $0^\circ C$, on ajoute 0,90 ml de TEA goutte à goutte avec une forte agitation. Une solution de 0.264 g de DCC dans 1,6 ml de DCM est additionnée goutte à goutte avec une forte agitation, le mélange réactionnel est agité à $0^\circ C$ jusqu'à température ambiante pendant 72 h, à la fin la DCU formée est éliminée par filtration et le solvant est évaporé.

IR: NHamide à 3331.657 cm^{-1} ; CH2 à 2925.809 cm^{-1} ; $C=O_{\text{anh.ph}}$ à 1651.126 cm^{-1} ; $C=O_{\text{ester}}$ à 1704.213 cm^{-1}

$C=C_{\text{Aromatique}}$ à 1557.393 et 1526.144 cm^{-1} Rdt%=66%.

4. L'hydrolyse du dipeptide Nft-6-aminocaproïque-L-Phénylalanine estérifié :



Dans un ballon on introduit 0,20g du dipeptide dans un mélange THF/Eau [2,1], on ajoute 1eq de la solution de LiOH (1N) goutte à goutte, le mélange réactionnel est agité à $0^\circ C$ jusqu'à température ambiante pendant 24 heures. Le mélange est lavé avec de l'acétate d'éthyle deux fois, on récupère la phase aqueuse ensuite on l'acidifie avec une solution de HCl 1N jusqu'à pH= 2, après l'acidification de la phase aqueuse on fait une extraction avec l'acétate d'éthyle ensuite un lavage par une solution de

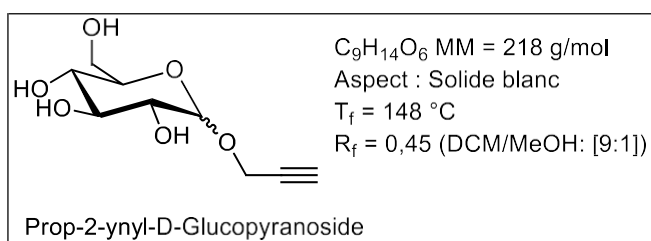
Na Cl saturée, on réalise une extraction pour une dernière fois avec l'acétate d'éthyle, les phases organiques sont combinées, séchées, filtrées puis évaporée. Rdt %=52, 63%.

III. Synthèse des motifs saccharides :

IV.1.Synthèse de prop-2-ynyl-D-glucoopyranoside :

a) Préparation du catalyseur de la synthèse de prop-2-ynyl-D-glucoopyranoside:

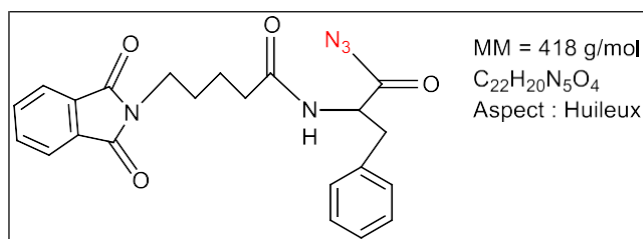
Dans un ballon rodé on introduit 10 g de gel de silice 60-0.010 dans 50 ml d'éther et on ajoute 3 ml d'acide sulfurique (on verse l'entement l'acide), le mélange est agité pendant 5 min ensuite on évapore l'éther, on laisse le catalyseur se sécher pendant 4 jours.



Dans un ballon, on introduit 10g de glucose

dans 16 ml du propargyl alcool, on ajoute 0,5 g du catalyseur préparé Silice- H_2SO_4 , en réalisant un montage à reflux sous une température de 45°C , la réaction est suivie par CCM. Le mélange réactionnel est purifié par une colonne de gel de silice le propargyl alcool qui est en excès est élué avec le dichlorométhane seul ensuite le produit final de la réaction est élué avec un mélange du dichlorométhane/méthanol. Rdt%=83, 33%.

IV. Synthèse de l'azide Nft-6-aminocaproïque-L-Phénylalanine :

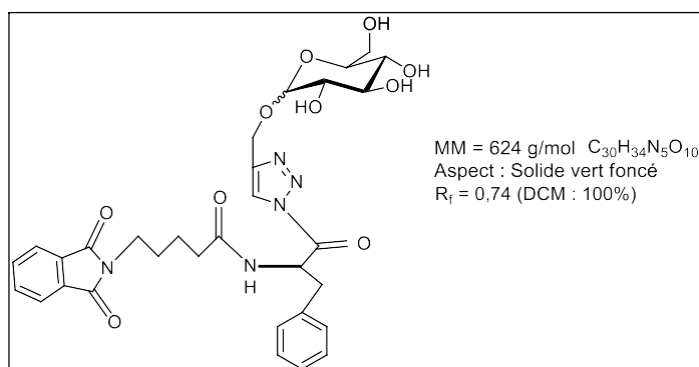


Dans un balonn sec et balayé par un courant d'azote placé dans un bain de glace /sel, on introduit 70mg du dipeptide et 0,2ml de triéthylamine dans 0,01ml de dichlorométhane anhydre, on ajoute 0,04ml du chlorure d'acétyle dissout dans le dichlorométhane sec on ajoute cette solution lentement sur une durée de 15 min, le mélange réactionnel est agité à $0\text{ }^\circ\text{C}$ pendant 20 min on additionne une solution d'azide de sodium NaN_3 , 0,003g dissout dans 0,01ml d'eau froide goutte à goutte, le mélange est agité pendant 1heure à 0°C . A la fin de la réaction le mélange réactionnel est versé dans la glace pilée puis on extrait la phase aqueuse 3

fois avec CH_2Cl_2 , les phases organiques sont lavées avec une solution de NaCl saturée, séchées par le sulfate de calcium, filtrées puis évaporées sous vide, le bain est strictement maintenu à $T^\circ=40^\circ\text{C}$ afin d'éviter toute explosion de l'azide. Rdt%= 13%.

V. Synthèse des glycopeptide à base de glucose :

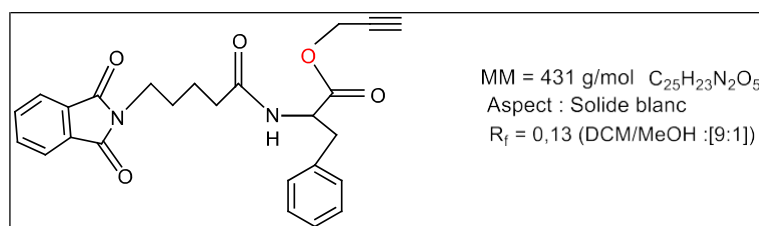
Synthèse de triazoline catalysée par cuivre :



Dans un ballon on introduit 0,1g d'azide dans 1ml d'acétonitrile / Eau [1:1] ensuite on ajoute 0,01g de propargylglucose, 0,006 ml de Et_3N et 0,001g de CuBr, le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 7h. Le mélange réactionnel est dilué avec de l'eau, ensuite refroidi dans la glace et extrait avec DCM les phases organiques sont combinées lavées avec une solution de Na Cl saturée ,séchées ,filtrées puis évaporées . Rdt%=71,14% .

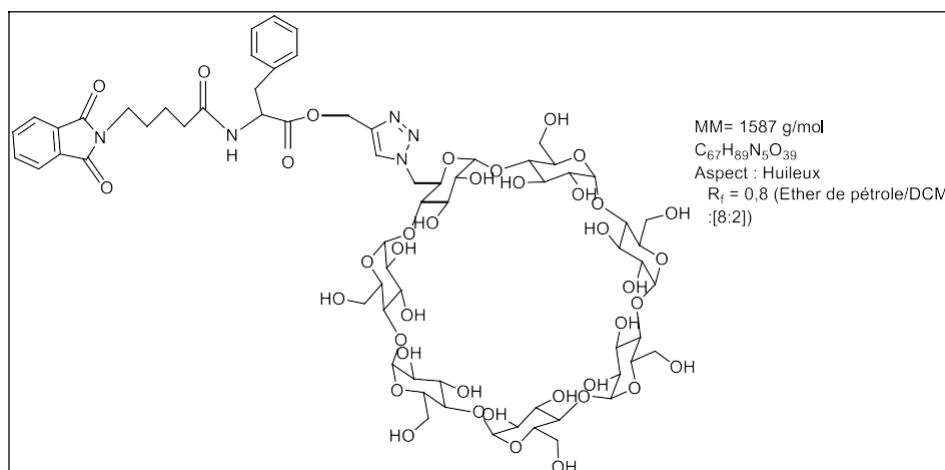
VI. Synthèse des glycopeptide à base de cyclodextrine :

Estérification du dipeptide :



Dans un ballon rodé on introduit 0,02g du dipeptide hydrolysé on ajoute 0,015g du DCC dilué dans 1 ml du DCM, 0,5 eq du DMAP, ensuite on ajoute 3,5 ml de DCM, le mélange réactionnel est agité pendant quelques minutes sous atmosphère d'azote et à température ambiante. On introduit une quantité de 0,01 ml de propargyl alcool. La réaction est réalisée pendant 3 h à température ambiante, à la fin de la réaction le mélange réactionnel est lavé avec de l'eau acide et une solution de NaCl saturée, les phases organiques sont combinées, séchées, filtrées puis évaporées. Rdt %= 90, 90%.

VII.2.Synthèse de l'azido cyclodextrine avec le propargyl-di-peptide :



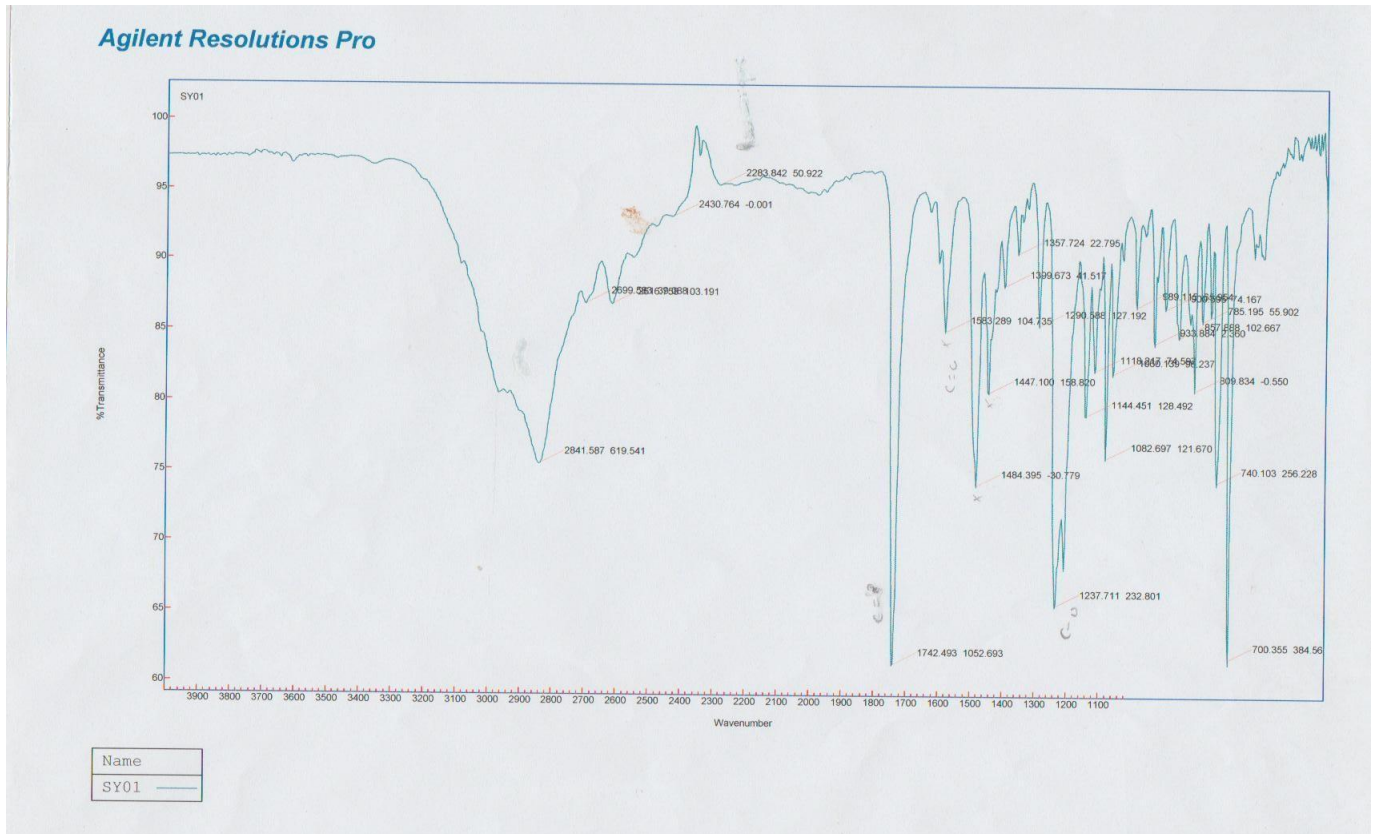
Dans un ballon on introduit 5 éq d'azido cyclodextrine dans un mélange de solvant acétonitrile/ Eau [1 :2], on ajoute 1éq du propargyl-di-peptide, 1éq de DIPEA et 0,1 éq de CuBr le mélange réactionnel est agité à température ambiante ensuite il est dilué avec de l'eau , refroidi dans la glace, ensuite on réalise une extraction avec DCM, les phases organiques sont combinées lavées avec une solution de Na Cl saturée ,séchées ,filtrées puis évaporées .Cette réaction est suivie par CCM . Rdt%= 58,90%. Il est à noter que la révélation de ce produit se fait dans une solution de Vaniline- H_2SO_4 et une solution de PMA .

Références bibliographiques :

- ¹ D.Christian,La maladie d'Alzheimer :regards sur le présent à la lumière du passé. Une approche historique.*Psychol NeuroPsychiatr Vieil*.**2008** , 8,120-121.
- ² B.Lavallart,J.P.DelabrousseMayou,C.Mekies,M.Paccalin,F.Puisieux,S.Romatet,Prescription des traitements spécifiques dans la maladie d'Alzheimer en France 2008 :Evaluation du respect des procédures de l'étude de profil.*La lettre du pharmacologue*.**2009** , 23, 99-103.
- ³ B.Bernard,L.D.Yoland,H.Gerda,E.W.Emmanuel,D.B.Nicole,M.Jean,Inflammatory process induce β -amyloid precursor proteinchanges in mouse brain.*Proc Natl Acad Sci USA*.**1995** ,92,3032-3035.
- ⁴ K.Blennow, M.J.de Leon,H. Zetterberg, Alzheimer's disease. *Lancet* . **2006**, 368, 387-403.
- ⁵ A.Nicolas, Etudes des effets des peptides amyloides : du fonctionnement de la synapse aux modifications du cytosquelette dans l'apoptose neuronale ,Thèse de doctorat en Biologie du vieillissement ,Sous la direction de Jean, M.Paris,Université René Descartes.**2005**,2 -69.
- ⁶ S.Lammich,E.Korjo,R .Postina,S.Gilbert,R.Pfeffeir,M.Jasionowski,C.Haass,Fahrenholz,Constitutive and regulated alpha-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by a disintegrin metalloprotease.*Proc Natl Acad Sci USA* .**1999**, 96, 39-22-7.
- ⁷ B.Ansagar, J.Julia,Misfolded proteins: from little villains to little helpers in the fight against cancer . *Frontiers in Oncology*. **2015**,5,3-8.
- ⁸ S. Massimo , M.Christopher,Protein aggregation and aggregate toxicity :new insights into protein folding, misfolding diseases and biological evolution .*Journal of Molecular Medicine*.**2003** ,81, 678-699.
- ⁹ F.Pierre, Implication des recepteurs nicotiniqes $\alpha 7$ dans les déficits mnesiques induits par des injections intra-hippocampiques de peptides amyloides-Béta(1-42) chez les souris,Thèse de doctorat en Neurosciences,Sous direction de Beracochea, D.M. Bordeaux,*Ecole doctorale des sciences de la vie et de la santé*.**2015** , 2-231 .
- ¹⁰ G.G.Glenner, C.W. Wong, Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*. **1984**, 120,885-890.
- ¹¹ B.Clippingdale,J.D.Wade,C.J.Barrow,The amyloid β peptides and its role in Alzheimer's disease.*Journal of peptide science*,**2001**, 7, 227-249.
- ¹² L.K.José,J.Iñaki Guijarro ,O.Elena,Z.Jesús,M.D. Christopher,S.Margaret,Helen ,R.S.Cryo-electron microscopy structure of an SH3 amyloid fibril and model of the molecular packing.*The EMBO journal*.**1999**,18, 815-821.
- ¹³ O.Anders,L.Malin,S.E.Elisabeth,öAnders,Amide solvent protectionanalysis demonstrate that amyloid- β (1-40) and amyloid β (1-42) form different fibrillar structure under identical conditions.*Biochemical Journal Portland Press*.**2007** ,404, 63-70.
- ¹⁴ J.Jarett,E.Berger,J.P.Lansbury,The C-terminalof the protein is cristical in amyloidogeneses.*Ann NY Acad Sci*.**1993** ,695, 8-144.
- ¹⁵ D.Emilie,Inhibiteurs et modèles moléculaire des fibres amyloides beta et tau impliquées dans la maladie d'Alzheimer :conception synthèse et caractérisation.Thèse de doctorat en Chimie-Biologie,Sous la direction de Julian,G.Grenoble,*Ecole doctorale chimie et sciences du vivant*.**2013** ,6-17.
- ¹⁶ N.El kadmiri ,K.Hamzi,B.El Moutawakil,I.Slassi,I.S.Nadifi, Les aspects génétiques de la maladie d'Alzheimer .*Pathologie Geologie*.**2013**, 61, 228-238.
- ¹⁷ B.G.Davis,Synthesis of Glycoproteins.*Chemical Reviews*.**2002**, 102,559-598.

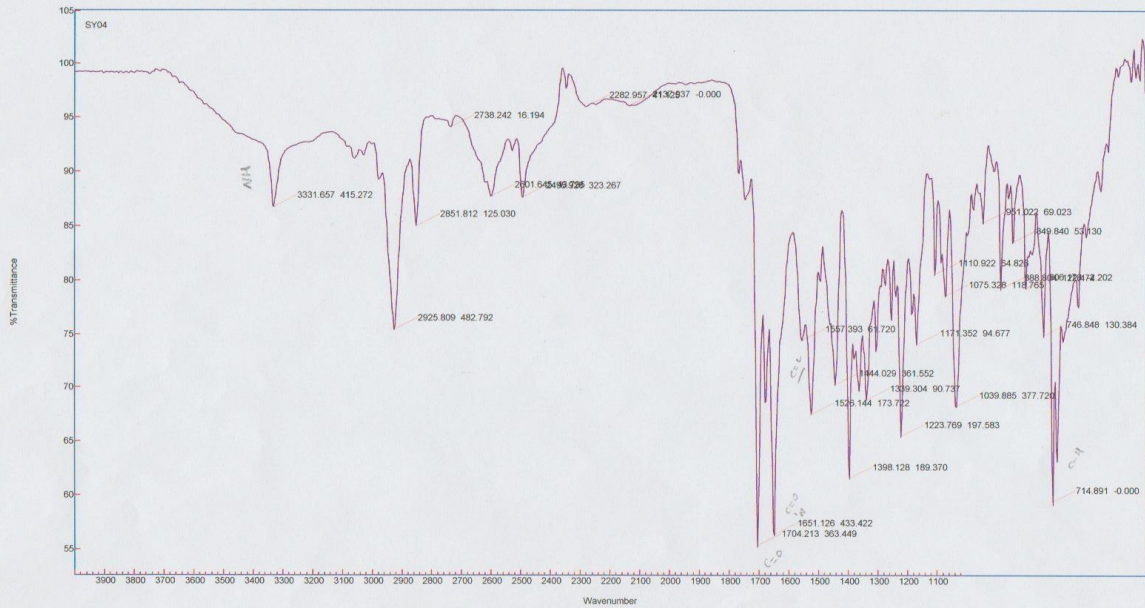
- ¹⁸ P.K.Vivekanand,D.Paul,Ole,Use of diethyl squarate for the coupling of oligosaccharide amines to carrier proteins and characterization of the resulting neoglycoproteins by MALDI-TOF mass spectrometry. *Glycoconjugate Journal*, **1996**, *13*, 315-319.
- ¹⁹ M.Yoshiko,Y.Chouga,O.Reiko,Inhibition of Alzheimer amyloid β aggregation by polyvalent trehalose. *Science and Technology of Advanced Materials*.**2008**, *9*, 1-6.
- ²⁰ Y.Miura,N.Wada,Y.Nishida,H.Mori,K.Kobayashi,Chemozymatic synthesis of glycoconjugate polymers starting from nonreducing disaccharides.*Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*.**2004**,*42*, 4598-4606.
- ²¹ B.Dorger,L. Khemtémourian,I.Correia, J.L.Soulier,JO.Lequin,S.Ongeri,Sugar based peptidomimetics inhibit amyloid β -peptide aggregation.*European Journal of Medicinal Chemistry*.**2011**.*46*.5953-5969.
- ²² M.F.Marchiori,G.P.Iossi,L.O.Bortot,M.Dias-Baruffi,V.L.Campo,Synthesis of novel triazole-derived glycopeptides as analogs of α -dystroglycan mucins.*Carbohydrate Research*.**2018**. *472*.23-32.
- ²³ R.Mylène,F.Anne-Sophie,C.Françoise,CA.P.Marie-Christine,P.M.Nadia,Synthesis and conformational studies of γ/α -glycopeptides based on sugar $\gamma^{3,3}$ -amino acids.*Tetrahedron*.**2017**,*73*,6795-6804.
- ²⁴ J.Manuel,J.Adrian,Regioselective modification of unprotected glycosides . *ChemComm* .**2016**, *52*,656 -664.
- ²⁵ M.Jäger,M.Hartmann,J.G.De Vries,A.J.Minnaard,Catalytic regioselective oxydation of glycosides. *Angewandte chemie International Edition*.**2013**,*52*,7809-7812.
- ²⁶ A.A.Joseph,V.P.Verma,X.Y.Liu,C.H.Wu,V.M.Dhurandhare,C.C.Wang,TMSOTf-catalyzed silylation:streamlined regioselective one-pot protection and acetylation of carbohydrates .*Eur J Org Chem*.**2012**,*2012*,744-753.
- ²⁷ X.Mei,L.Na,Z.Yonglians,H.Zhenni,D.Dahai,G.Jian,G.Zhongwu,G.Guofeng,C.Feng,Per-O-benzylated Ethyl5-N-Acetyl- α -thioaliosialoside as a glycosyl donor for α -silylation .*Journal of Carbohydrate Chemistry*.2018,*0*,1-13.
- ²⁸ T.Weihua,C.Siu,Monosubstitued positively charged cyclodextrins :Synthesis and applications in chiral seperation.*J Sep Sci*.**2008**,*31*,3246-3256.
- ²⁹ R.K.Abdul,B.Lawrence,T.D.Valerian,Heptakis-2- ,3-epoxy- β -cyclodextrin,a key intermediate in the synthesis of Custom designed cyclodextrins .*J Chem Soc* .**1992**,*0*,1112-1114.
- ³⁰ K.Abdul Rauf ,KF.Peter,J.Keith,T.Valarian.Methods for selective modifications of Cyclodextrins.*Chemical Reviews*.**1998**, *98*,1977-1996.

Annexes



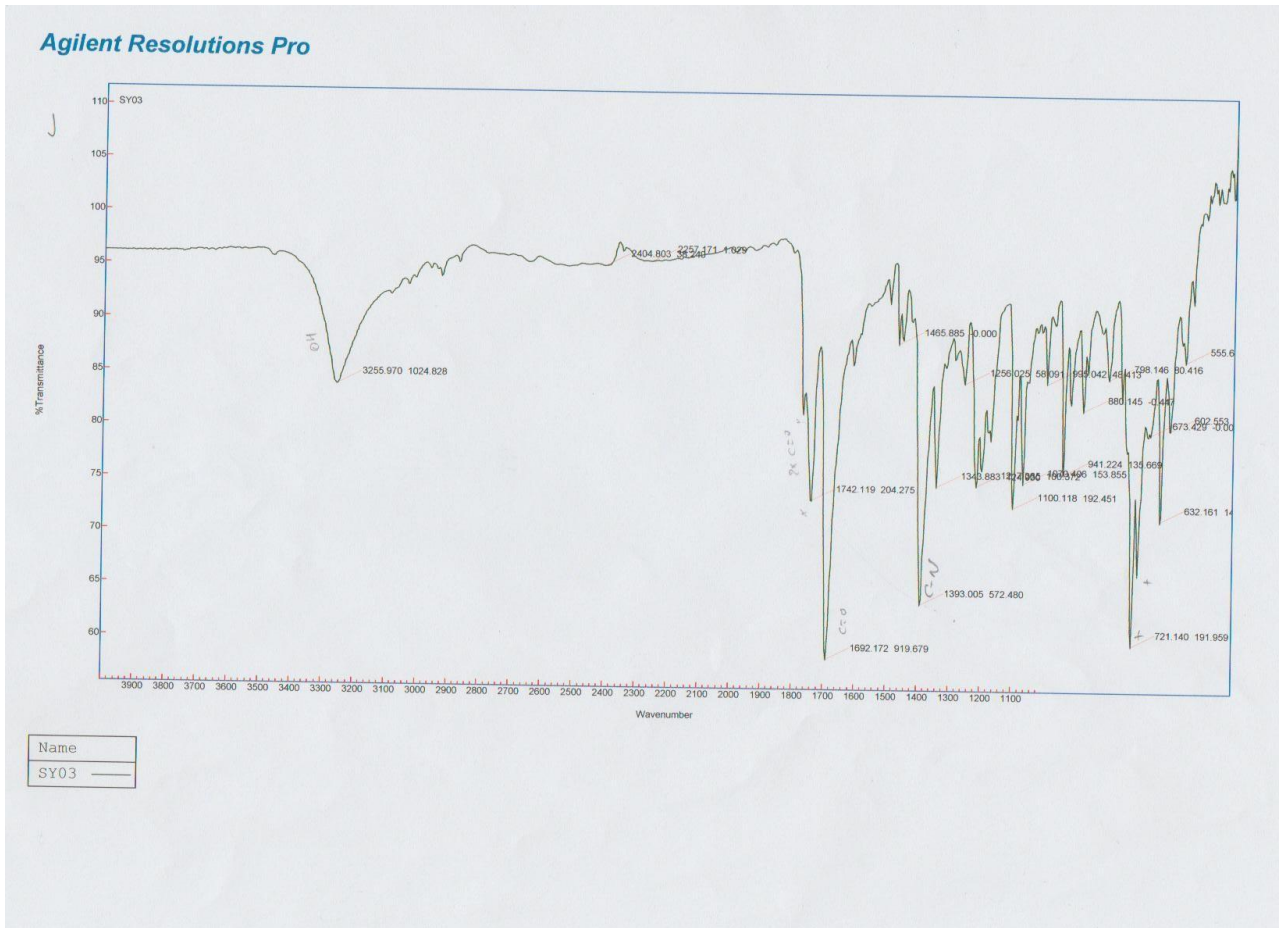
Spectre infra rouge (1) : L-Phénylalanine estérifiée.

Agilent Resolutions Pro



| |
|------|
| Name |
| SY04 |

Spectre infra rouge (2): Le dipeptide.



Spectre infra rouge (3): Le dipeptide hydrolysé.

