

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID-TLEMCCEN



FACULTÉ DES SCIENCES
Département de Chimie



MÉMOIRE DE MASTER

Option

CATALYSE ET CHIMIE VERTE

Présenté par : *M^{elle} BOUCHERIF Amina*

THEME

***Synthèse de dimère à base de résorcinol
-visant à inhiber la γ -sécrétase-***

Soutenu le : 12/06/2011

Devant le jury composé de :

Président : **A.Choukchou-Braham** Professeur à U.A.B.B. Tlemcen.

Examineurs : **N.Choukchou-Braham** Professeur à U.A.B.B. Tlemcen.

B.Mostefa-Kara Professeur à U.A.B.B. Tlemcen.

Encadreur : **C. Ziani-Cherif** Maître de conférences à U.A.B.B. Tlemcen.

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes très chers parents

A mon frère Sofiane et mes sœurs Imane et Radjaà

A ma famille Boucherif et Abdelgheffar,

A tous mes ami(e)s

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

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de Catalyse et Synthèse en Chimie Organique « L.C.S.C.O » de l'université Abou-Bekr Belkaid Tlemcen, sous la direction de Monsieur C. Ziani Cherif, Maître de conférences à l'université de Tlemcen. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour m'avoir guidé tout au long de ce travail, pour sa contribution à ma formation et pour l'aide qu'il m'a apportée pour la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à remercier Monsieur le professeur R. Bachir, de m'avoir accueilli dans son laboratoire et Monsieur le professeur A. Choukchou-Braham, de m'avoir accueilli dans son master.

Je tiens à remercier Monsieur le professeur B. Mostefa Kara, pour l'aide très précieuse, pour sa grande disponibilité, ses conseils et ses encouragements.

Je tiens à remercier Monsieur le professeur N. Choukchou-Braham pour son aide.

Je tiens à remercier vivement tous les enseignants qui ont assuré ma formation.

J'adresse mes sincères remerciements à tous mes camarades de « promo » et en particulier Belhadj Fatima, Hamzi Imane et Ferouani Ghania pour leurs encouragements.

Je tiens à remercier Monsieur M. Benabdallah et M^{me} Z. Belhadj pour leurs aides, leurs disponibilités au cours de mon travail.

Je tiens aussi à exprimer ma profonde reconnaissance à tous les membres du laboratoire de catalyse et synthèse en chimie organique, qui nous ont toujours témoigné sympathie et gentillesse, que tous veuillent bien trouver ici l'expression de ma reconnaissance et ma profonde amitié.

Table de matière

<u>Abréviation</u>	1
<u>Introduction générale</u>	3
<u>Chapitre 01</u> : la maladie d'Alzheimer	
A-Généralités :	
1. La maladie d'Alzheimer.....	4
2. Les symptômes	4
3. Les causes ou les facteurs de risque	4
4. Le diagnostic de la maladie.....	5
5. Les traitements	5
6. L'aspect neuropathologiques	6
<i>a- Les plaques séniles</i>	<i>6</i>
<i>b- La dégénéscence neurofibrillaire</i>	<i>6</i>
7. Le fonctionnement moléculaire de la maladie	7
1. La formation des plaques séniles.....	7
2. La dégénéscence neurofibrillaire.....	8
8. Les approches thérapeutiques de la M.A	9
• <i>Inhibiteurs du cholinestérase</i>	<i>9</i>
• <i>Détruire les plaques de protéines bêta-amyloïdes</i>	<i>9</i>
• <i>Les inhibiteurs de la bêta sécrétase</i>	<i>9</i>
• <i>le renforcement de l'activité de α sécrétase</i>	<i>9</i>
• <i>les inhibiteurs de la gamma- sécrétase</i>	<i>10</i>
<i>a-structure de la gamma- sécrétase</i>	<i>10</i>
<i>b- les inhibiteurs de la γ-sécrétase décrites dans la</i>	
<i>littérature.....</i>	<i>11</i>
B-Présentation du sujet.....	13
Références bibliographiques	14
<u>Chapitre 02</u> : Donnés Bibliographiques	
I. Le composé <u>03</u>	16
I. 1-le choix de la cible	16
I. 2-la synthèse de composé <u>03</u>	18
I. -2-1-la réaction d'estérification	18
I. 2-2-la réaction de couplage	19
II. Le composé <u>02</u>	21
II. 1-la réaction de protection.....	21
II. 2-les groupements protecteurs de la fonction amine	21
III. Le composé <u>01</u>	22
III. 1-le choix de l'électrophile.....	22

Références bibliographiques	24
Chapitre 03 : Synthèses et Résultats	
Introduction	25
I. 1. Synthèse directe du composé <u>02</u> en utilisant le Dean-Stark	26
I. 2. synthèse du composé <u>03</u>	26
b. passage par le chlorure d'acide	26
c. utilisation du DCC	28
d. utilisation du TBTU	28
e. utilisation d'une autre base	29
II. Synthèse du composé <u>02'</u>	30
III. Synthèse de l'époxyde final <u>01</u>	31
Références bibliographiques.....	32
Conclusions et perspective	33
Partie expérimentale	34

Abréviation

aa	: acide aminé.
AcOEt	: Acétate d'éthyle.
APP	: Amyloid protein precursor.
APTS	: Acide p-toluène sulfonique.
A β	: Amyloïdes- β .
BOC	: Tert-butoxycarbonyle.
BOP	:Benzotriazol-1-yloxytris (diméthyl-amino) phosphonium hexafluorophosphate.
Cbz	: Benzyloxycarbonyle.
CH ₂ Cl ₂	: Dichloromethane
CH ₃ CN	: Acétonitrile.
DCC	: Dicyclohexylcarbodiimide.
DCU	: Dicyclohexyluré.
EDC	: 1-Ethyle-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide
Et ₃ N	Triméthylamine.
Fmoc	: 9-fluorenyméthoxycarbonyle.
H	: Heure
HBr	: Bromure d'hydrogène.
HCl	: Acide chlorhydrique.
iPr	: Iso-propyle
IR	: Infrarouge
IRM	: Imagerie par Résonance Magnétique.
K ₂ CO ₃	: Carbonate de potassium.
LCR	: Liquide céphalo-rachidien.
M	: Masse molaire
M	: Maladie.

M.A	: Maladie d'Alzheimer.
MgSO ₄	: Sulfate de magnésium.
mL	: Millilitre.
mmole	: Millimole.
NaCl	: Chlorure de sodium.
NaHCO ₃	: Bicarbonate de sodium.
NH ₄ Cl	: Chlorure d'ammonium.
Nu	: Nucléophile.
Ph	: Phényle.
Phe	: Phénylalanine.
Py	: Pyridine.
RMN	: Résonance magnétique nucléaire.
SO ₂	: Dioxyde de soufre
SOCl ₂	: Chlorure de thionyle.
t.a	: Température ambiante.
TBTU	: O-benzotrizol-1-yl-N, N, N', N'-tétra-méthyluroniumtétrafluorophosphate.
TFA	: Acide trifluoroacétique.

Introduction générale

La chimie organique est une science relativement « jeune ». Elle n'a que 200 ans à peu près. Elle a répondu à beaucoup de nos besoins ; elle continue d'ailleurs.

Le chimiste non seulement reproduit par synthèse un grand nombre de substances naturelles, mais crée de toutes pièces des molécules nouvelles susceptibles d'améliorer nos conditions de vie et surtout guérir les maladies.

La recherche médicale représente un axe majeur de nombreuses équipes de recherche en chimie organique dans le monde, dans le but de synthétiser des médicaments traitant certaines maladies chroniques tel que le Cancer, le Sida, l'Alzheimer etc... ; bien sur après une connaissance du mécanisme moléculaire et le dysfonctionnement cellulaire.

Notre intérêt s'est porté sur la maladie d'Alzheimer qui est un sujet de recherche fondamentale et clinique de nos jours ; car selon le « world Alzheimer Report 2010 » : « 36,5 millions de personnes vivent avec la maladie d'Alzheimer dans le monde ».

La maladie d'Alzheimer est connue depuis le début du siècle et nous la considérons souvent comme le « gâtisme des grands-parents » ou la « sénilité ». C'est une erreur ! Il est vrai que la fréquence d'apparition de la maladie augmente avec l'âge mais il s'agit bien d'une maladie.

En étudiant les travaux publiés dans le cadre de la maladie d'Alzheimer et les différentes stratégies thérapeutiques qui ont été réalisées, il s'avère clair que les sécrétases+ (α , β , γ) sont les plus ciblés.

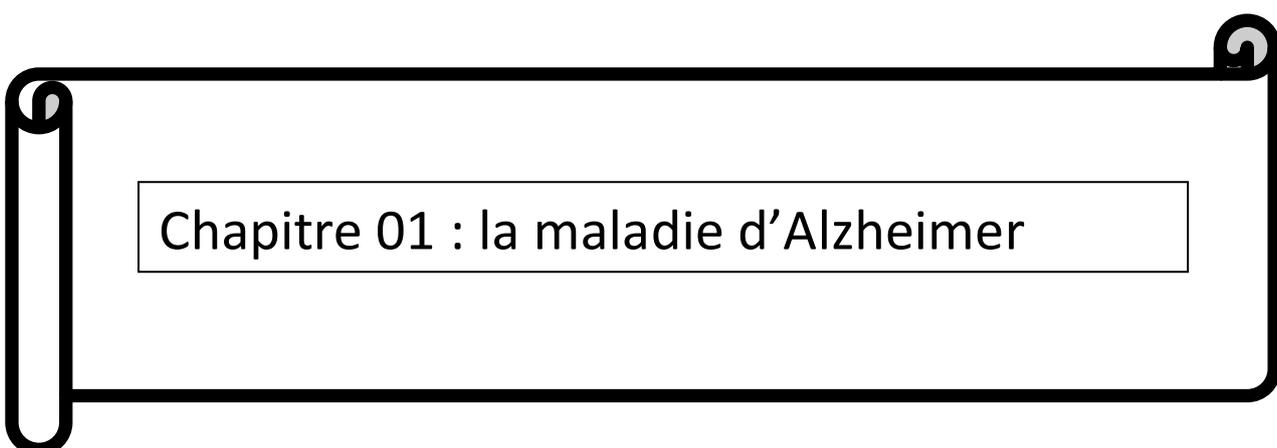
Notre travail s'est porté sur la synthèse des produits visant à inhiber la fonction de la γ sécrétase.

Dans son ensemble, ce mémoire se divise de la manière suivante :

Un premier chapitre qui présente une vue générale de la maladie d'Alzheimer. Nous décrirons ses symptômes, ses causes, et les différentes approches thérapeutiques.

Un deuxième chapitre traite du thème concerné en étudiant les outils chimiques impliqués dans la synthèse, ensuite le travail réalisé au cours de ce mémoire.

Enfin, nous terminons par une conclusion permettant de donner les éventuelles perspectives que ce travail ouvre.



Chapitre 01 : la maladie d'Alzheimer

A. Généralités :

1. La maladie d'Alzheimer :

La maladie d'Alzheimer fut initialement décrite par le médecin allemand Aloïs Alzheimer (1864-1915), le 4 novembre 1906, lors de la 37^{ème} Conférence des psychiatres allemands à Tübingen^[1].

La maladie d'Alzheimer, maladie de cerveau à caractère neurodégénératif^[2] du système nerveux central, est caractérisée par qui provoque une détérioration progressive et définitive des fonctions cognitives et des capacités mentales en raison de lésions neuropathologiques spécifiques. Elle s'accompagne d'une désorganisation de la personnalité et son évolution conduit à la démence.

On distingue deux formes de la maladie :

- la forme sporadique qui représente 90% à 95% des cas.
- la forme familiale d'origine génétique qui peut affecter plusieurs générations d'une même famille.

2. Les symptômes :

Au début, la maladie évolue silencieusement. Les symptômes peuvent être différents selon les personnes et s'aggravent souvent avec le temps^[3].

On distingue généralement :

- ✓ La perte de mémoire qui perturbe la vie quotidienne.
- ✓ Les désorientations dans le temps et dans l'espace.
- ✓ Des troubles de comportement.
- ✓ Des troubles de caractère: changement d'humeur et la personnalité.
- ✓ Des problèmes de langage.
- ✓ La difficulté à réaliser les tâches familières.
- ✓ La difficulté à reconnaître les choses, les personnes.
- ✓ Diminution ou manque de jugement.

3. Les causes de la M.A (et/ou facteurs de risque):

La ou les causes de la maladie d'Alzheimer ne sont pas encore bien connues, comme d'autres maladies. Elle se développe probablement en raison de facteurs multiples plutôt qu'une cause unique.

Différentes hypothèses ont été exprimées, mais ne seront pas détaillées dans ce rapport.

4. Diagnostique de la M.A :

Le diagnostique de la maladie d'Alzheimer de manière définitive ne peut se faire jusqu'à présent que post-mortem, parce que d'autres maladies présentent des caractéristiques similaires à celle de la maladie d'Alzheimer.

D'où plusieurs examens qui sont nécessaires afin d'écartier certaines maladies (vasculaire, dépressive,..) et de confirmer le diagnostique de l'Alzheimer: aphasie (perte de langage), apraxie (perte de stratégie des mouvements) ou agnosie (perte de reconnaissance visuelle) ^[4]. La liste des examens comporte entre autres.

- ❑ **un examen clinique** : c'est le questionnaire de Mac Nair permet d'évaluer la plainte mnésique.
- ❑ **un bilan neuropsychologique** : qui estime les aptitudes cognitives.
- ❑ **un bilan biologique.**

D'autres techniques qui détectent la maladie de plus en plus précisément incluent :

- ❑ **l'imagerie** : scanner, IRM ;
- ❑ **les ponctions lombaires** : prélèvement de liquide céphalo-rachidien (LCR) suivi du dosage de la quantité de protéine Tau et les peptides bêta42.

5. Les Traitements :

Actuellement, il n'existe aucun traitement guérissant la maladie d'Alzheimer. Mais il existe des médicaments susceptibles d'atténuer les symptômes et/ou ralentir la progression de la maladie.

- ✓ **-Traitements spécifiques** d'Alzheimer ^[5] :
 - Les anticholinestérasiques (donépézil, galantamine, rivastigmine),
 - Les antagonistes du glutamate.
- ✓ **-Traitements non spécifiques** :

Des antipsychotiques, des sédatifs légers, des antidépresseurs sont nécessaires.

✓ ***une prise en charge globale du patient est indispensable :***

Des séances de kinésithérapie, d'orthophonie ainsi que des activités intellectuelles et physiques sont recommandées.

6. L'aspect neuropathologique de la M.A :

La maladie d'Alzheimer est une maladie qui se caractérise par deux processus dégénératifs au niveau du cortex cérébral et l'hippocampe entraînant la mort des neurones ^[6] :

-Dans le milieu extracellulaire : la présence des plaques séniles.

-Dans le milieu intracellulaire : la dégénéscence neurofibrillaire.

a- Les plaques séniles (amyloïdes) :

Elles correspondent au dépôt progressif d'une substance insoluble appelée « amyloïde » entre les neurones. Ces plaques sont constituées de fragments protéiniques de 42 à 43 acides aminés (aa) appelées « peptides bêta amyloïdes » et notés « A β ». Ils sont issus de la dégradation d'une protéine appelée APP « amyloid protein precursor » par deux enzymes : la bêta-sécrétase puis la gamma-sécrétase ^[7] (**Figure 1**).

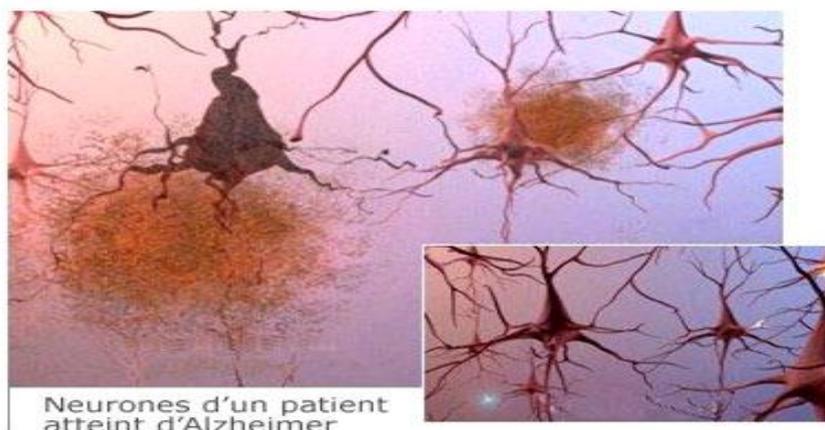


Figure 1 : présentation d'un neurone d'un patient atteint d'Alzheimer

b- La dégénéscence neurofibrillaire :

Il s'agit d'une accumulation intraneuronale de filaments constitués par une agrégation de protéines microtubulaires hyperphosphorylées appelées « Tau ». Dans ce cas, les protéines tau ne remplissent plus leur rôle qui consiste à stabiliser les microtubules qui servent au transport intracellulaire des messages biochimiques ^[8] (**Figure 2**).

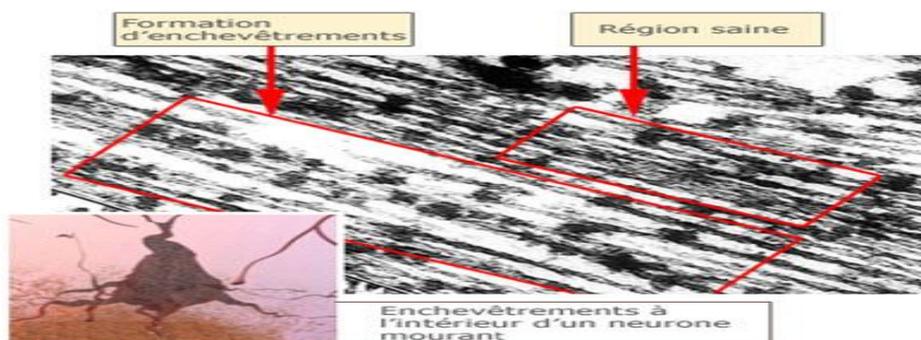


Figure 2 : présentation d'un enchevêtrement à l'intérieur d'un neurone mourant.

7. Le fonctionnement moléculaire de la maladie

Le mécanisme moléculaire de la maladie s'explique par deux phénomènes :

- 1)-la formation des plaques séniles.
- 2)-la dégénérescence neurofibrillaire.

1)-*La formation des plaques séniles :*

Comme mentionné plus haut, les plaques amyloïdes sont formées par un dépôt de fragments $A\beta$ provenant de l'APP.

a- Définition d'APP :

L'APP fait partie de la grande famille des protéines dites transmembranaires car elle traverse la membrane cellulaire du neurone, sa longue partie N-terminale étant située dans le milieu extracellulaire et sa courte région C-terminale dans le cytoplasme ; comme son nom l'indique, elle peut être coupée pour donner d'autres protéines plus petites.

Le gène de l'APP est situé sur le chromosome 21^[9], et s'exprime à peu près dans tous les tissus de l'organisme. Ce gène conduit à la production de glycoprotéine dont la longueur varie de 695 à 770 acides aminés^[10,11]. La forme 695 aa prédomine dans les neurones du cerveau.

b- Le clivage de la protéine APP :

Des enzymes distinctes coupant l'APP à différents endroits vont produire deux peptides différents. Les alpha-sécrétases vont libérer le peptide sAPP α , qui aurait des propriétés neuroprotectrices et un rôle utile neuronal. C'est la voie « *non-amyloïdogénique* » qui est un processus normal.

Chez les malades atteints d'Alzheimer, c'est la voie « *amyloïdogénique* » qui prédomine (**Figure 3**). Cette dernière fait intervenir les activités β et γ -sécrétases. Ces enzymes sont des aspartylprotéases, une catégorie particulière de protéases.

Ce type d'enzymes possèdent la particularité d'utiliser l'acide aspartique, un acide aminé, pour activer les molécules d'eau qui effectueront l'hydrolyse et ainsi pourront couper les protéines ^[12,13].

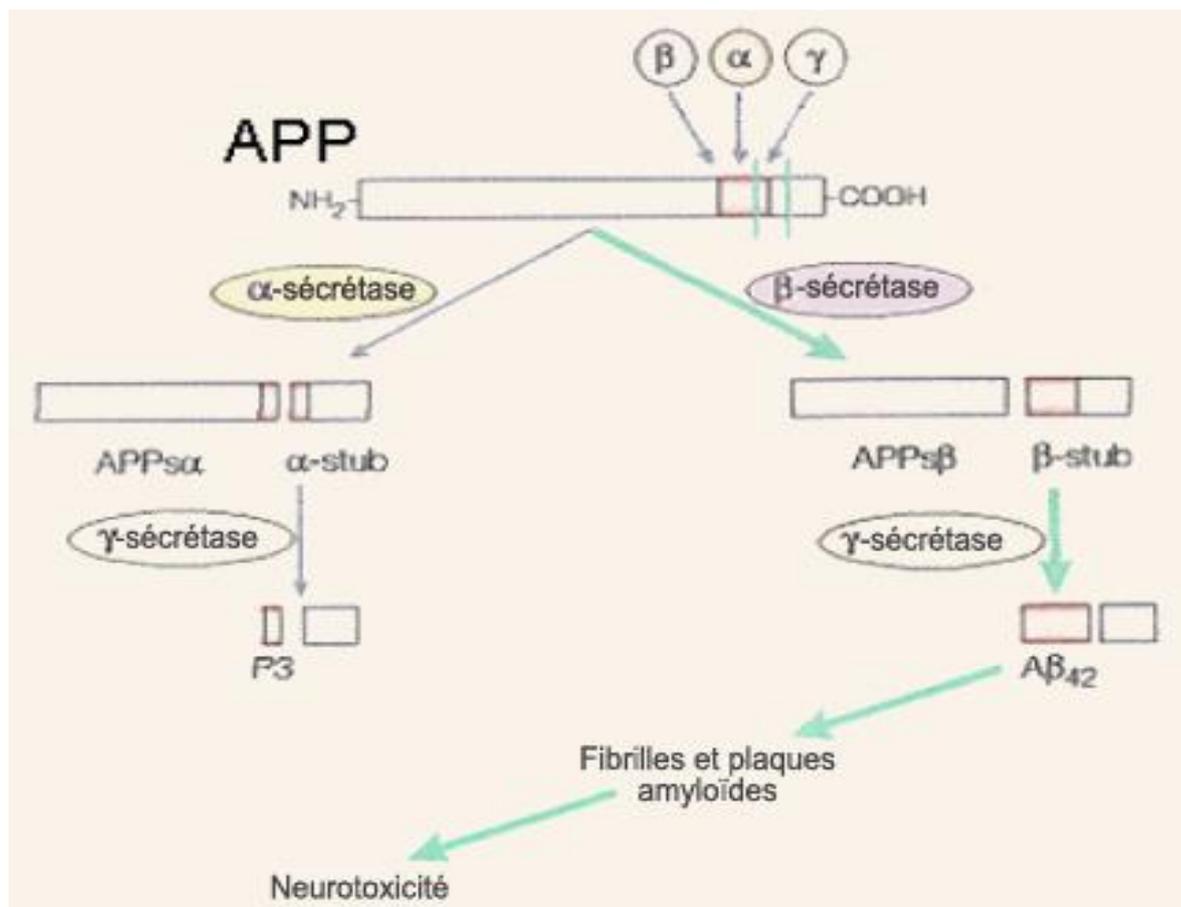


Figure 3 : présentation d'un processus de clivage de l'APP.

2) -La dégénérescence neurofibrillaire :

Les cellules neuronales sont composées de microtubules (**Figure 4**). La rigidité de ces derniers est assurée par les protéines Tau qui se positionnent à l'intérieur des microtubules.

Normalement, la protéine Tau est très peu phosphorylée. Chez les malades cependant, il y a une hyperphosphorylation de cette protéine ce qui entraîne l'impossibilité pour cette protéine de s'attacher aux microtubules. Ainsi les protéines se détachent des microtubules et tombent dans le milieu intracellulaire. Suite à cela, ils vont s'agréger : c'est la formation des neurofibrilles.

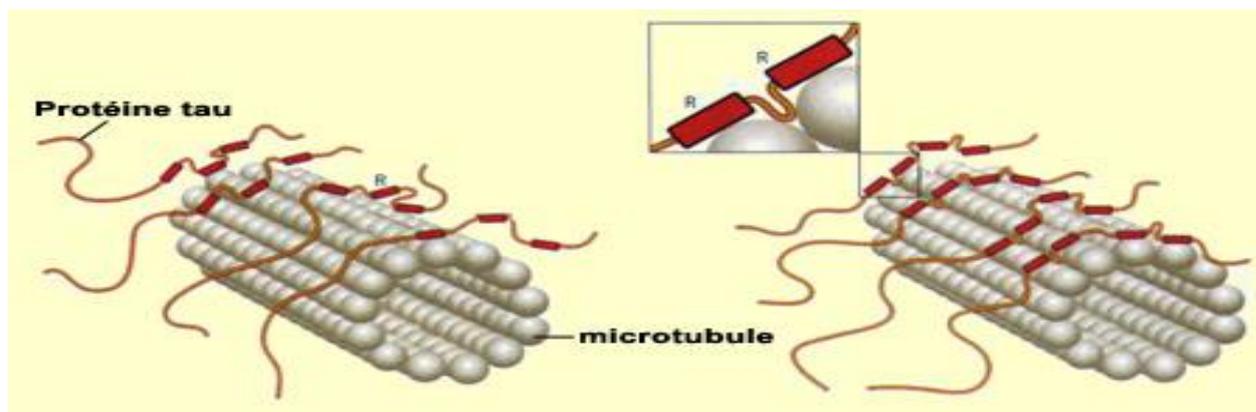


Figure 4 : présentation de la protéine Tau et les microtubules.

8. Les approches thérapeutiques de la M.A :

Les approches thérapeutiques qui sont actuellement au stade de la recherche, vise à s'attaquer au processus pathologique de la maladie :

- ✓ **L'inhibition de la cholinestérase** (enzyme qui hydrolyse l'acétylcholine):

L'acétylcholine est un neurotransmetteur qui permet la transmission de l'influx nerveux entre les neurones. La destruction des cellules nerveuses réduit la production de ce neurotransmetteur [5].

- ✓ **-Destruction des plaques de protéines bêta-amyloïdes :**

Elle se fait grâce à l'injection d'anticorps capables de les supprimer. Cette approche est nommée « vaccin thérapeutique » [14].

- ✓ **-Inhibition de la bêta sécrétase :**

La bêta-sécrétase est une protéase, enzyme qui catalyse le clivage des liaisons peptidiques intérieur d'une protéine ; sa découverte a été faite en 1999 et jusqu'à présent sa fonction physiologique reste inconnue. Elle est impliquée directement dans le développement précoce de la maladie d'Alzheimer [15,16].

Les études montrent que le blocage de l'activité de cette enzyme n'aura pas d'effet indésirable mais jusqu'à présent, Les inhibiteurs de la bêta-sécrétase ne sont toutefois pas encore prêts pour entrer dans des essais cliniques.

- ✓ **-Renforcement de l'activité de la α -sécrétase:**

Cette approche consiste à renforcer l'activité de l'alpha-sécrétase pour favoriser la voie non-amyloïdogénique [17], ce qui prendrait le dessus sur la β -sécrétase.

✓ **-Inhibition de la gamma- sécrétase :**

a- *structure de la gamma- sécrétase :*

La gamma sécrétase est une aspartyl protéase de clivage intramembranaire. C'est un complexe qui n'a pas encore été complètement caractérisé mais se compose de quatre protéines individuelles ^[18]:

1. La **préséniline** est la sous-unité catalytique responsable de la coupure de l'APP, qui porte le site actif de l'aspartate.
2. Le rôle principal de la **nicastrine** est de maintenir la stabilité du complexe assemblé et la régulation du trafic intracellulaire des protéines.
3. La **PEN-2** s'associe avec le complexe via la liaison d'un domaine transmembranaire de la préséniline. Elle aide entre autres à stabiliser le complexe après protéolyse.
4. L'APH-1, est nécessaire à l'activité protéolytique.

Le défi et dilemme rencontré jusqu'à ce jour réside dans le fait que la γ -sécrétase est nécessaire pour le développement normal des métabolismes, car elle traite une protéine appelée Notch dans les membranes cellulaires ^[19]. Toute inhibition de la γ -sécrétase toucherait au fonctionnement de la Notch et perturberait le processus biologique vital ou son développement cellulaire.

Quelques inhibiteurs de la gamma-sécrétase décrits dans la littérature:

Le développement des inhibiteurs de la gamma-sécrétase a été l'objectif de nombreuses équipes scientifiques à travers le monde, depuis qu'elle a été découverte. Plusieurs molécules structurellement différentes décrites dans la littérature ont été synthétisées ensuite testées (Figure 6).

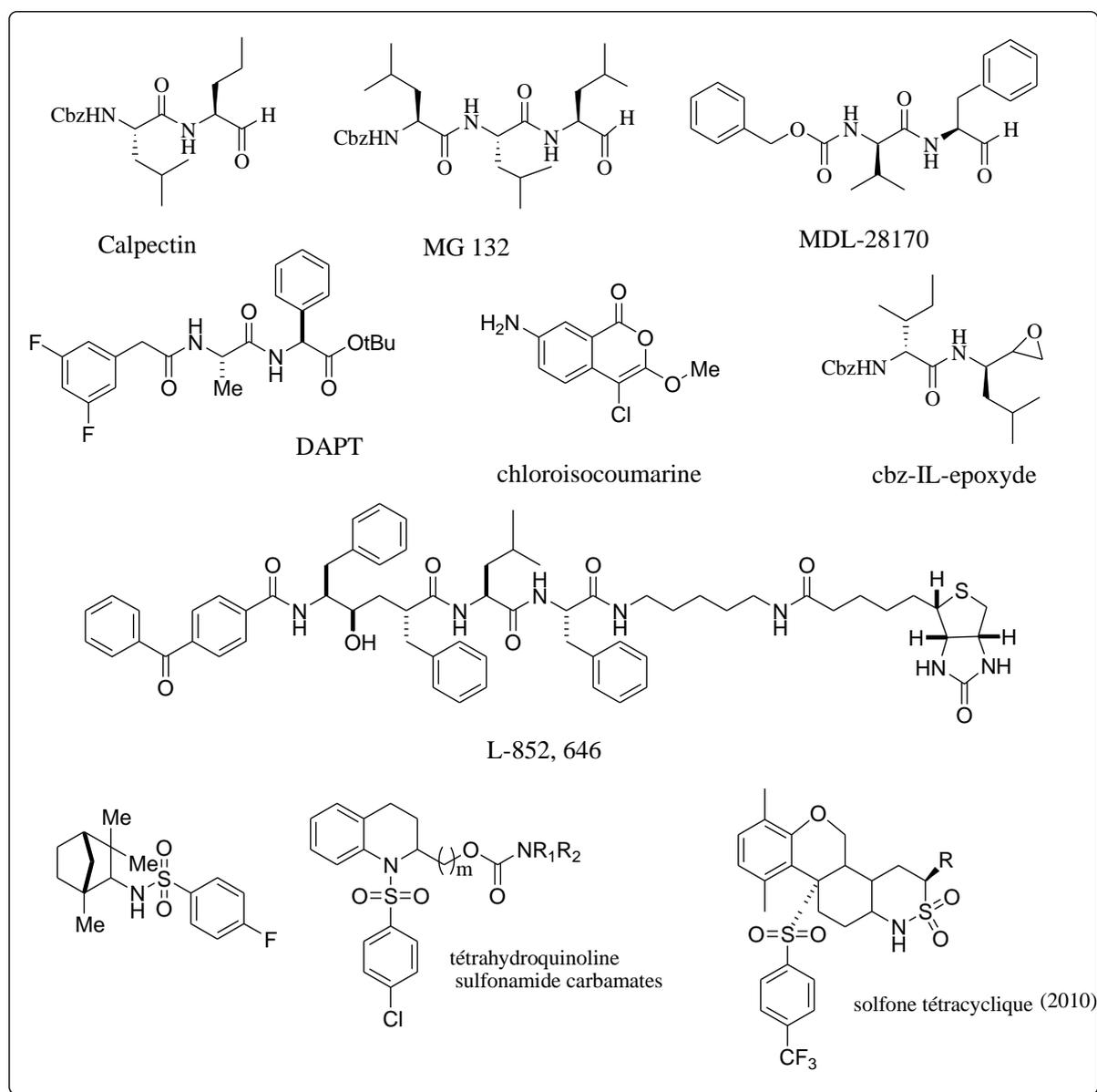


Figure 6 : Certains inhibiteurs de la gamma-sécrétase décrites dans la littérature

La série Calpectin, MG132, MDL28170 appartient à la première série des inhibiteurs de la gamma-sécrétase (série des peptides aldéhydes), qui sont des inhibiteurs forts de formation d'A β ₄₀ plus qu'A β ₄₂^[20].

Le DAPT est un inhibiteur très efficace qui montre sa puissance jusqu'à ce jour, mais c'est un inhibiteur aussi de la Notch^[21].

La chloroiscoumarine ne touche pas à la Notch. Il a vite perdu un intérêt vu qu'il n'est pas un inhibiteur direct de la gamma-sécrétase^[22].

Le composé Cbz-IL époxyde développé par M.Ziani-cherif.C a montré une inhibition acceptable^[23], mais comme le reste des inhibiteurs, n'a pas résolu le problème de la protéine Notch.

Le L852,646 développé par le groupe de Meck donne des bons résultats, sans pour autant résoudre le problème de la Notch^[24].

Les séries des sulfones aryles sont des nouveaux inhibiteurs de la gamma-sécrétase. On cite le sulfone tétracyclique qui présente une inhibition très efficace de la production d'A β ₄₂ in vitro^[25,26].

B. Présentation du sujet :

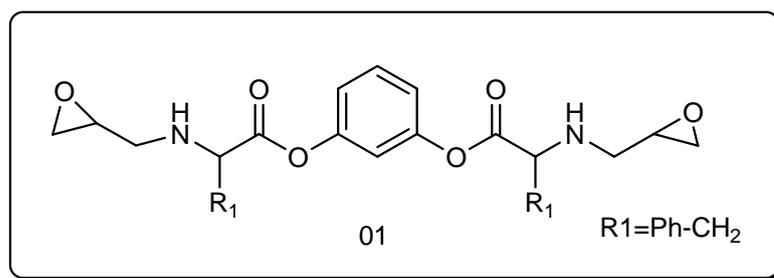
Le but de notre mémoire est la synthèse du dimère peptidique **01** pour deux raisons :

a- D'abord pour essayer de développer un nouveau type d'inhibiteur de la γ -sécrétase qui ne toucherait pas au processus Notch.

b- Surtout pour mieux connaître la γ -sécrétase, sa structure quaternaire.

Le choix de cette molécule n'a pas été fait au hasard, mais selon des critères :

1. Le choix du dimère comme molécule,
2. Le choix du résorcinol comme espaceur,
3. Le choix de la phénylalanine comme acide aminé,
4. Le choix de l'époxyde comme électrophile.



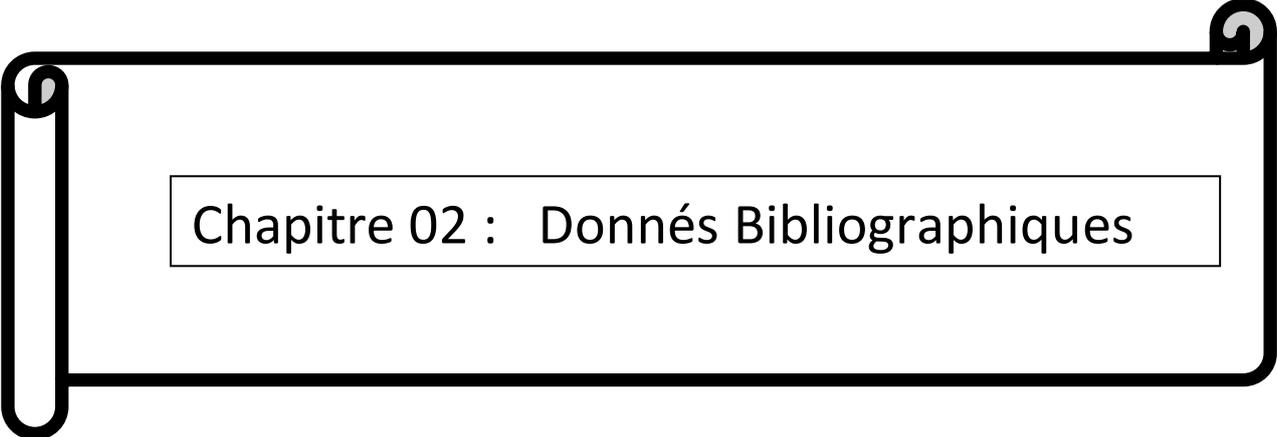
Pour atteindre cet objectif, ce travail passe par 3 étapes :

- La synthèse de l'ester du résorcinol du bis (N- tert-butoxycarbonylphénylalanine) à partir du résorcinol et du Boc N-phénylalanine.
- La synthèse de l'ester du résorcinol du bis-[L-phényl-alanine] par la déprotection de l'ester du résorcinol du bis-[N-(tert-butoxycarbonyl)-L-phényl-alanine].
- La synthèse de l'ester du résorcinol du bis-[2(-oxiran-2-ylmethylamino) - 3-phénylpropanoic acid] **01** à partir de l'ester du résorcinol du bis-[L-phényl-alanine] et l'épichlorhydrine.

Références bibliographiques

1. D.J. Selkoe, Alzheimer's disease : genes, proteins and therapy. *Physiological Reviews*. 2001, 81(2) ,741-66.
2. C.V.C. Prasad et al, *Bioorg. Med. Chem. Lett*, 14(2004), 1917-1921.
3. Katie Maslow, *Alzheimer's & Dementia*, 2010 Alzheimer's disease facts and figures, 6 (2010) 158–194.
4. Hannequim D et al, génétique de la maladie d'Alzheimer, *Rev. med. interne (Paris)*. 1996 ; 17 ; 545-550.
5. John B. Standridge, MD, *Pharmacotherapeutic Approaches to the Treatment of Alzheimer's Disease Clinical Therapeutics*, 2004. 26, 5.
6. D.J. Selkoe, the molecular pathology of Alzheimer's disease, *Neuron*. (1991), 6, 487-498.
7. Roher, A. E., Lowenson, J. D., M. J. beta-Amyloid-(1-42) is a major component of cerebrovascular amyloid deposits: implications for the pathology of Alzheimer disease.. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1993) 90, 10836-10840.
8. Kang, J., Lemaire, H.-G. et al, The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor (1987) *Nature* 325, 733-736.
9. B. De Strooper, P. Saftig et al, Deficiency of presenilin-1 inhibits the normal cleavage of amyloid precursor protein. *Nature*. 1998, 391, 387-90.
10. E.H. Koo, S. S. Sisodia, L.C. Cork et al, Differential expression of amyloid precursor protein mRNAs in cases of Alzheimer's disease and in aged nonhuman primates. *Neuron*. 1990, 4, 97-104.
11. S. Kar, S.P.M Slowikowski et al, Interactions between β -amyloid and central cholinergic neurons. *J. Psychiatry. Neurosci.* 2004, 29, 427-41.
12. Price, D.L., Sisodia, S.S., Mutant genes in familial Alzheimer's disease and transgenic models. (1998) *Annu. Rev. Neurosci.* 21, 479-505
13. Sinha, S., Lieberburg, I., Cellular mechanisms of A β -amyloid production and secretion. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 11049-11053
14. M.L. Michealis, Drugs targeting Alzheimer's disease : somethings old and somethings new, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2003 ,304 ,897-904.

15. Vassar R. et al. Beta-secretase cleavage of amyloid precursor protein of Alzheimer's by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* (22 octobre 1999) 286: 735-740.
16. Pennisi E. Way Point enzymes of potential Alzheimer's therapies *Science* (22 octobre 1999) 286: 650-651.
17. S.Lammich, E Kojro et al., Constitutive and regulated alpha-secretase cleavage of amyloid precursor protein of Alzheimer's by a metalloprotease disintegrin, *Proc Natl Acad Sci USA* (1999) 96 (7):3922-7.
18. Toshihiko Ogura et al. Three-dimensional structure of the c-secretase complex, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 343 (2006) 525–534.
19. Cruts, M., van Duijn, C.M et al., Estimation of the genetic contribution of presenilin-1 and -2 mutations in a population-based study of presenile Alzheimer's disease. *Hum. Mol. Genet.* (1998), 7, 43-51.
20. Klafki HW, Abramowski D et al. The carboxy termini of β -amyloid peptides 1-40 and 1-42 are generated by distinct γ -secretase activities. *J. Biol. Chem* 1996,271, 28655-28659.
21. Dovey HF, John V et al. Functional gamma-secretase inhibitors reduce beta-amyloid peptide levels in brain. *J Neurochem* 2001, 76, 173-81.
22. Petit A, Bihel F et al. New protease inhibitors prevent γ -secretase-mediated production of A β 40/42 without affecting Notch cleavage. *Nat Cell Biol*, 2001, 3, 3141-52.
23. Piper SC, Amtul Z, Ziani-Cherif C, Golde TE et al. Peptide-based, irreversible inhibitors of γ -secretase activity. *Biochem Biophys Res Comm* 2003; 305, 529-33.
24. Li Y, Shearman MS, Xu M, Lai M-T, Huang Q, Castro JL, et al. Photoactivated gamma-secretase inhibitors directed to the active site covalently label presenilin 1. *Nature* 2000, 405, 689-94.
25. T. K. Sasikumar, Duane A. Burnett et al. Tetracyclic sulfones as potent c-secretase inhibitors: Synthesis and structure–activity relationship studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 20 (2010) 3645–3648.
26. Tao Guo, a Huizhong Gu et al. Design, synthesis, and evaluation of tetrahydroquinoline and pyrrolidine sulfonamide carbamates as c-secretase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 17 (2007) 3010–3013.



Chapitre 02 : Donnés Bibliographiques

I. Le dimère de l'ester du résorcinol du bis-[N-(tert-butoxycarbonyl)-L-phényl-alanine] :

1-Le choix de la cible :

Le choix de la cible synthétique est le point de départ évident de tout projet de synthèse. La synthèse d'un dimère est une stratégie efficace qui permet d'améliorer de façon exponentielle l'activité biologique d'un monomère selon le *concept de Portoghese*^[1].

Ces dimères peuvent avoir des propriétés particulières ; elles peuvent être des chélatants, comme elles peuvent être des agents intercalants et alkylants.

Plusieurs travaux sont publiés dans ce cadre. Wender et coll. ont démontré la puissance de ce concept dans la synthèse des dimères esters du phorbol **06** en tant qu'activateurs puissants de la protéine kinase C, une protéine fortement impliquée dans la régulation cellulaire^[2] (*Schéma01*).

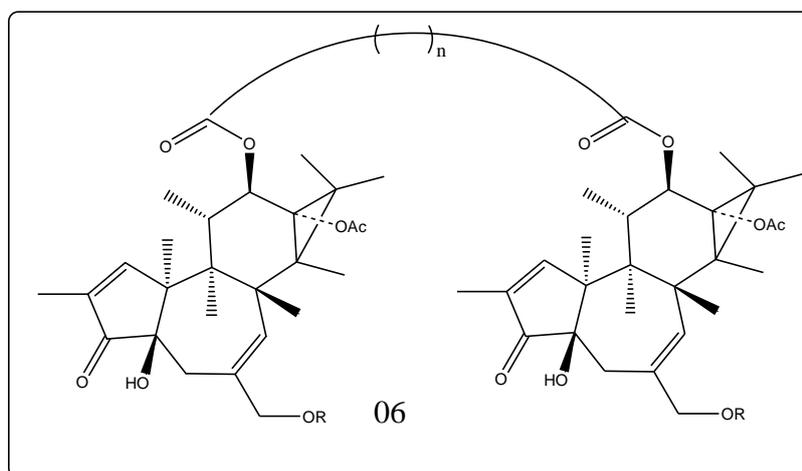


Schéma 01

Dans la synthèse de dimère, divers types espaceurs sont utilisés, soit sous forme chaîne linéaire de n-carbones **07 a** comme l'exemple précédant, ou bien un espaceur aromatique **07b**^[3] (*Schéma02*).

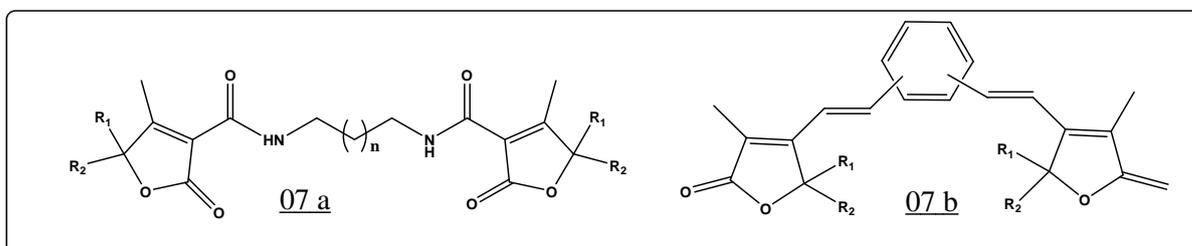


Schéma 02

De notre part, on a appliqué ce concept dans notre synthèse avec un espaceur cyclique aromatique : le résorcinol.

Le choix de résorcinol comme espaceur :

Le résorcinol ou bien 1,3- diphenol est un espaceur intéressant à cause de la flexibilité de ses bras d'un angle 120° .

Cette flexibilité facilite l'interaction, et par conséquent donne une bonne sélectivité d'attache du substrat au récepteur. Cela est démontré dans plusieurs travaux tels que la synthèse de composé **08** ^[4] (*Schéma03*).

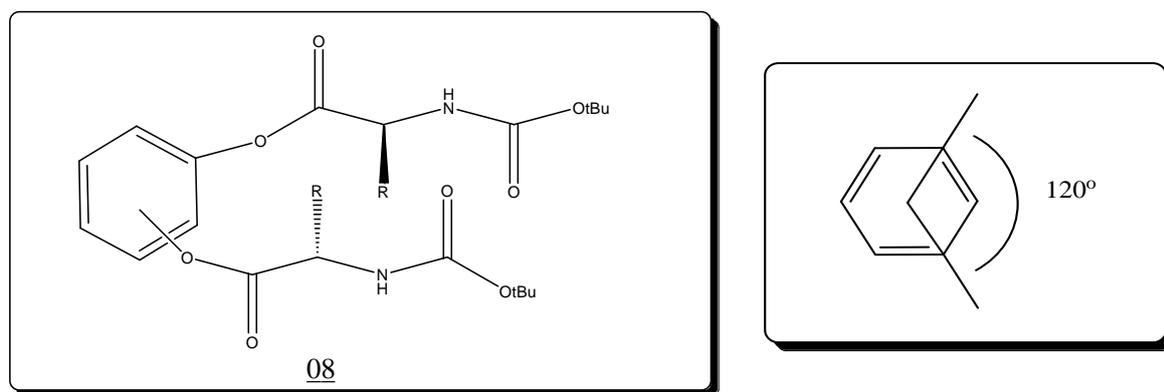


Schéma 03

De notre coté, nous avons préparé notre dimère selon différentes approches à partir de résorcinol et la phénylalanine en vue améliorer les rendements.

Le choix de la phénylalanine comme acide aminé :

Dans l'étude des processus biochimiques, des molécules très souvent cycliques aromatiques sont employées pour modeler la capacité de récepteur à cause de leur richesse en électrons.

La phénylalanine (Phe) est un acide aminé essentiel aromatique ; l'importance de son utilisation réside dans la structure qui contient le phényle qui renforce l'interaction avec le récepteur.

2- Synthèse de l'ester du résorcinol du bis-[N-(tert-butoxycarbonyl)-L-phényl-alanine].

2-1- La réaction d'estérification

2-1-1- Introduction :

L'estérification est l'une des méthodes les plus simples et les plus courantes en synthèse organique. Il s'agit de la condensation d'un acide carboxylique ou de l'un de ses dérivés (chlorure d'acyle, anhydride d'acide) avec un alcool, donnant l'ester et un autre composé (eau, acide chlorhydrique ou acide carboxylique) ^[5,6].

Dans le cas de la réaction d'un acide carboxylique avec un alcool, on a une réaction équilibrée (*Schéma04*).

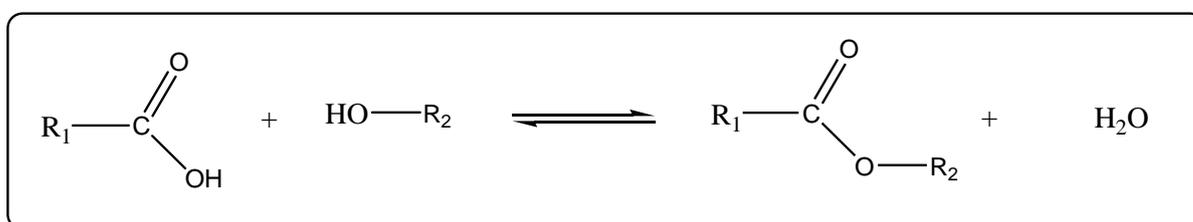


Schéma 04

Il faut donc déplacer l'équilibre vers la formation de l'ester. Pour cela il existe plusieurs approches :

1^{er} approche :

Une méthode couramment utilisée pour déplacer l'équilibre, consiste à éliminer l'eau du milieu réactionnel qui forme un mélange azéotropique avec le solvant (toluène) en utilisant le décanteur de Dean-Stark. La réaction est terminée quand la quantité théorique d'eau est recueillie dans le piège ^[7].

2^{ème} approche :

Une autre possibilité est d'utiliser des dérivés d'acides pour synthétiser des esters :

- à partir des anhydrides d'acides (*Schéma05*) :

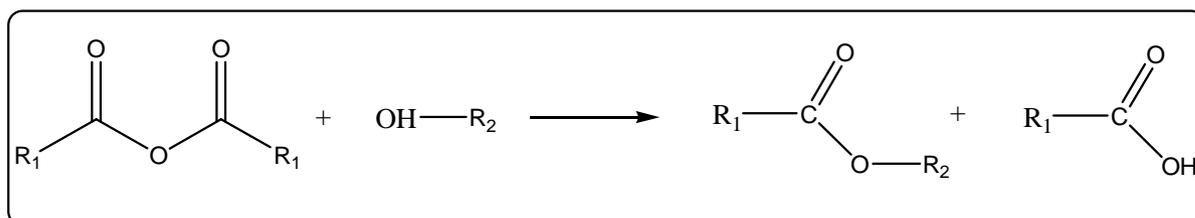
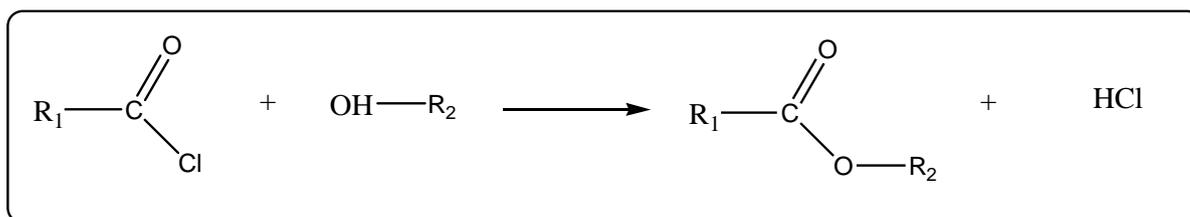


Schéma 05

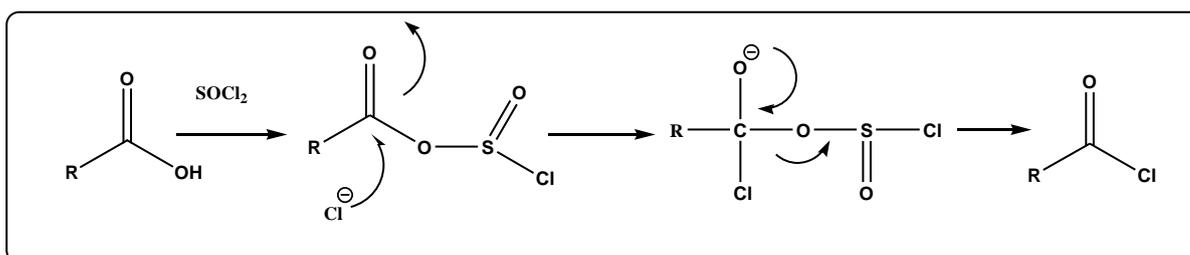
- à partir des chlorures d'acyles (*Schéma06*):

*Schéma 06*

Ces réactions, contrairement à l'estérification de Fischer présentent l'avantage d'être rapides et totales.

✓ *Les chlorures d'acyles :*

Les chlorures d'acyles sont des dérivés carboxyliques qui peuvent être obtenus par l'action de SOCl_2 , PCl_5 , PCl_3 sur un acide ^[8] (*Schéma07*).

*Schéma 07*

2-2- La réaction de couplage :

2-2-1-Introduction :

La réaction de couplage constitue une classe importante en synthèse organique, dans la quelle deux molécules sont couplées pour donner une nouvelle molécule à l'aide d'un agent de couplage.

Le couplage peptidique est une réaction de synthèse des protéines à partir des dérivés d'acide aminés, mais la formation de la liaison peptidique peut souvent présenter des difficultés telles que les faibles rendements, la racémisation, la dégradation, la purification difficile. Pour faire face à ces difficultés, de nombreux agents (réactifs) de couplage ont été développés ^[9].

Le schéma suivant présente certains agents de couplage très utilisés en synthèse (*Schéma08*) :

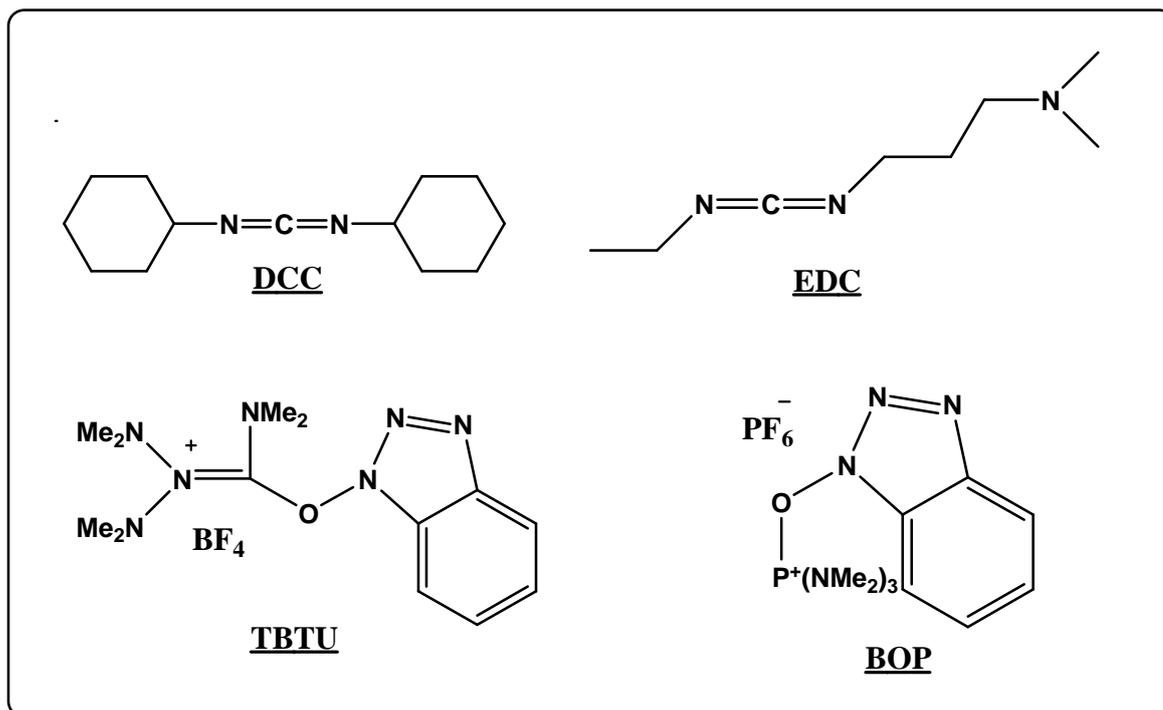


Schéma 08

En synthèse organique, les composés contenant la fonctionnalité de carbodiimide sont des agents de déshydratation et sont souvent utilisés pour activer des acides carboxyliques vers la formation de l'amide ou l'ester, et sont souvent ajoutés pour accroître les rendements et diminuer les réactions secondaires.

✓ **Le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) :**

Il est largement utilisé pour la formation d'amide et d'ester, en particulier dans la synthèse peptidique. Le DCC a acquis une popularité principalement à cause de son haut rendement des réactions de couplage et le fait qu'il est assez peu coûteux.

Le DCC est ajouté au mélange de l'acide, la base et l'amine ou bien l'alcool dans un solvant comme l'acétonitrile ou le dichlorométhane à 0°C conduit à la formation du produit désiré, ainsi que le dicyclohexylure DCU^[9].

✓ **L'O-benzotriazol-1-yl-N, N, N', N'- tétra-éthyluroniumtétrafluorophosphat(TBTU) :**

Le TBTU est un agent de couplage plus puissant, son utilisation est identique à celle de l'EDC. Le TBTU est un composé qui appartient à la famille de benzotriazol-yluroniums qui ne diffèrent que du type de substituant^[9].

L'avantage de TBTU est son coût bas et sa puissance par rapport aux autres ; cet agent est ajouté au mélange de l'acide, la base, et de l'alcool ou l'amine à basse température.

II. Le dimère déprotégé l'ester du résorcinol du bis-[L-phénylalanine]:

II.1-Introduction :

II. 1-1-La réaction de protection :

Pour effectuer des transformations chimiques satisfaisantes de substances organiques au cours d'une synthèse, il faut souvent bloquer une ou plusieurs fonctions réactives présentes sur la molécule, afin d'éviter leur participation dans des réactions secondaires indésirables.

Ce type de réaction est souvent utilisé dans la synthèse où les acides aminés sont les réactifs.

II. 1-2-Protection/déprotection de la fonction amine :

Les amines sont généralement protégées sous forme d'amide, qui est un groupe stable vis-à-vis de la plupart des manipulations chimiques et qui peut être facilement enlevé dans des conditions douces ^[10].

Les groupements tels que : le *tert*-**Butoxycarbonyl** (Boc), le *benzyloxycarbonyl* (Cbz) et *9-fluorenylméthoxycarbonyl* (Fmoc) comptent parmi les plus utilisés pour la protection des fonctions amines des acides aminés ^[11].

- *Groupement BOC (Schéma09) :*

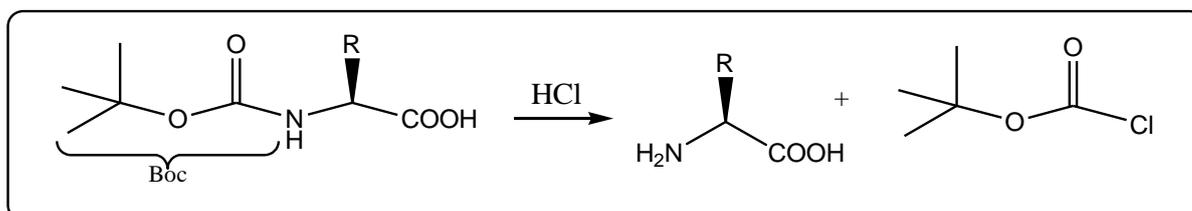


Schéma 09

- Groupement Fmoc (Schéma 10) :

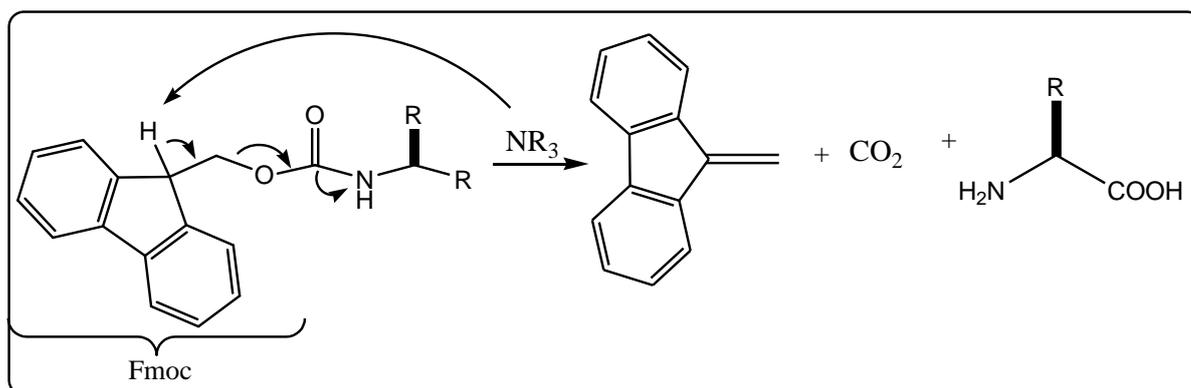


Schéma 10

- Groupement CBZ (Schéma 11) :

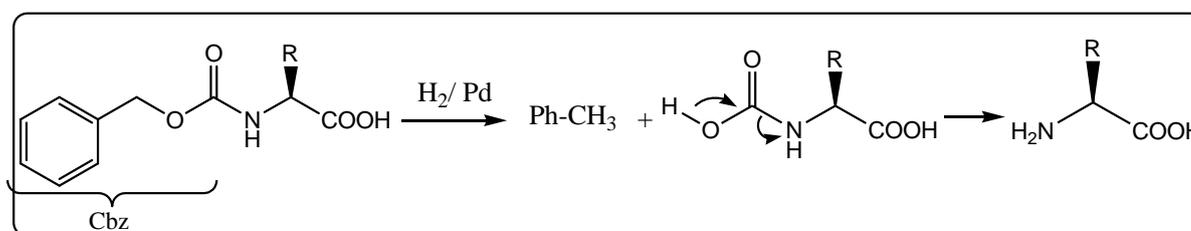


Schéma 11

Dans notre cas, le Boc était le groupement protecteur, le composé commercial de départ étant le N(Boc)-L-phénylalanine. De ce fait, les conditions acides sont celles considérées lors de la déprotection du Boc.

III. Notre cible 01 :

III. 1-Le choix d'époxyde comme électrophile :

III. 1-1-Introduction :

La synthèse d'un antagoniste permet de bloquer un processus biochimique par une réaction entre le substrat et le récepteur. Dans ce cas le récepteur est la gamma-sécrétase qui est une protéase aspartyl dont le site actif est un nucléophile dû à la présence d'une fonction alcool.

Pour que notre molécule ait une activité biologique, c'est-à-dire pouvoir bloquer la fonction de la gamma-sécrétase, elle doit posséder un site électrophile.

Notre choix d'électrophile s'est porté sur l'époxyde et non pas sur l'aldéhyde par exemple, car ce dernier s'ouvre de manière définitive et se fixe correctement, tout en évitant la réversibilité^[12]. (*Schéma 12*).

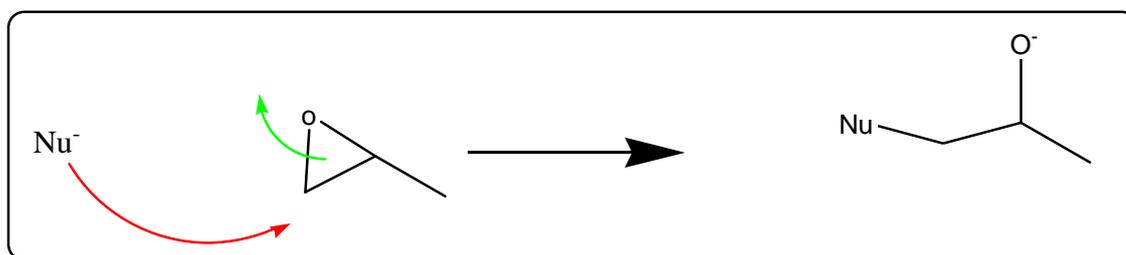


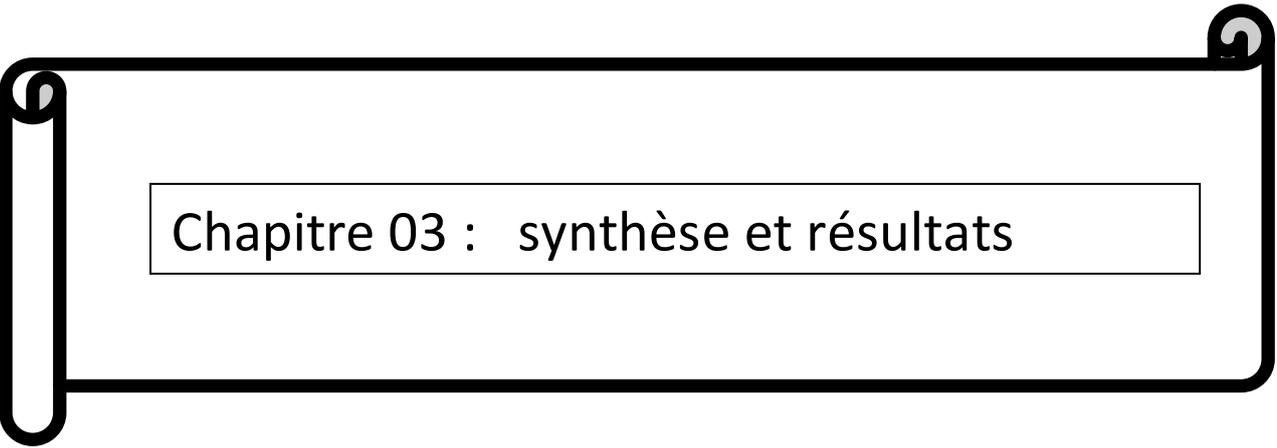
Schéma 12

Conclusion

Dans le présent chapitre, nous avons explicité notre choix de l'espaceur, de l'acide aminé à utiliser, de l'époxyde comme nucléophile, ainsi que le dimère en question. Tout cela rentre dans le cadre de l'étude structure-activité, domaine bien connu dans la chimie thérapeutique. Dans le chapitre suivant, nous présenterons l'application de cette étude.

Références bibliographiques

1. P.S. Portoghese, The rule of concepts in structure-Activity Relationship Studies of Opioids Ligands. *J. Med .Chem* 1992, 35,1927-37.
2. P.A. Wender, Michael F.T. Koehler, Dennis L. Wright, kazuhiko Irie, Mapping Phorbol Ester Binding Domains of Proteine Kinase C (PKC), The Design, Synthesis and Biological Activity of Novel Phorbol Ester Dimers. *Synthesis* 1999, 1401-06.
3. Naoual Cheikh. Thèse de doctorat de l'université Abou beker belkaid, 2008.
4. Markus Albecht et al. Tweezer-Type Catechol and Resorcinol Derivatives: Preparation, Structures, and First Investigations Towards their Hydrogen Bonding Abilities. *Synthesis* 2002 (10), 1434-1444.
5. Mohammad Aslam, G. Paull Torrence, al. Esterification « Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology », 4 décembre 2000.
6. William Henry Brown. *Organic Chemistry*. Edition : Cengage Learning. Chap. 17, 633.
7. Nicolas Rabasso. *Hétéroéléments, Stratégies de synthèse*. Edition : De Boeck. Chap. 14, 283-284, 2006.
8. Reinhard Bruckner. *Mécanismes réactionnels en chimie organique : Méthodes synthétiques*. Edition : De Boeck.
9. Bernad Gutte. *Peptides : Synthesis, Structure, and application*. Edition : Academic Press. Chap. 3, P129.
10. M. Ben Mohamed, *Synthèse des peptides queue-à-tête de l'acide aminooxy acétique*. Thèse de Magister 2006, Université Abou-Beker Belkaide ; Tlemcen.
11. *Handbook of Reagents For Organic Synthesis*. Activation agents and protecting groups. Editors A.J. Pearson and W. R. Roush. Willey, 1999.
12. Piper SC, Amtul Z, Ziani-Cherif C, Golde TE et al. Peptide-based, irreversible inhibitors of γ -secretase activity. *Biochem; Biophys Res Comm* 2003; 305, 529-33.



Chapitre 03 : synthèse et résultats

Introduction :

L'objectif de ce mémoire est la synthèse du dimère **01** visant à inhiber la fonction de la γ -sécrétase. Pour atteindre cet objectif, nous avons envisagé le schéma rétro synthétique suivant (*Schéma 13*):

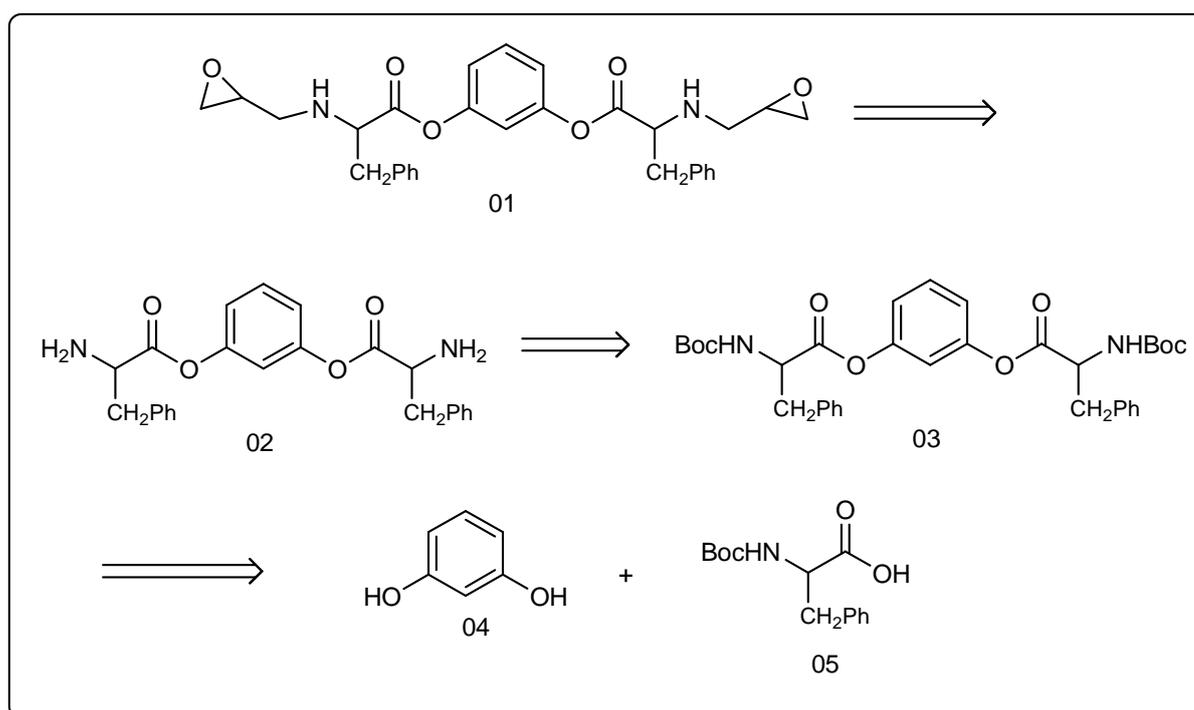


Schéma 13

L'étape clé de cette stratégie de synthèse est la réaction de préparation du dimère **02**.

Pour cela, on a essayé plusieurs approches pour le synthétiser avec un bon rendement. Ces approches sont détaillées dans ce qui suit.

1. Synthèse directe du composé 02 en utilisant le Dean-Stark :

Dans un premier temps, on a préparé le dimère 02 par la réaction d'estérification entre le résorcinol 04 comme alcool et le N-(Boc) phénylalanine 05 comme acide, en présence d'une quantité doublement stœchiométrique de l'acide *p*-toluènesulfonique (APTS) pour catalyser la réaction et déprotéger la fonction amine de l'acide aminé au même temps. L'équilibre est déplacé dans le sens de produit désiré par élimination de l'eau qui se forme. Nous avons utilisé comme solvant le toluène parce qu'il fait un bon azéotrope. De ce fait, on obtient une estimation précise de la quantité de l'eau théorique à éliminer ^[1] (*Schéma 14*).

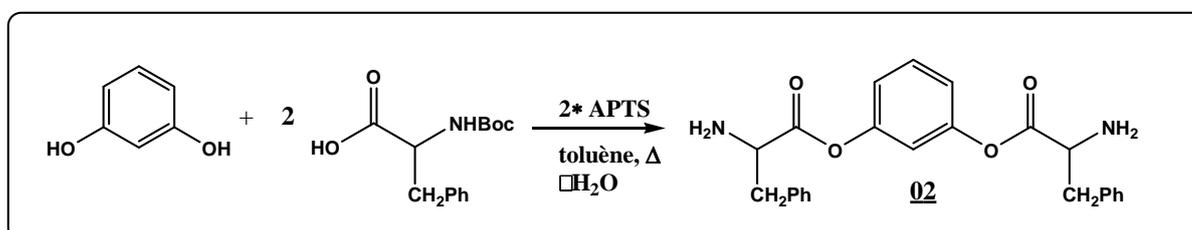


Schéma 14

Résultat :

Après traitement et évaporation des solvants, nous avons obtenu un mélange des produits : les réactifs de départ (le résorcinol et le boc-phénylalanine), le bon produit et autre non identifié.

2. Synthèse de composé 03 :

b- Passage par le chlorure d'acide :

Un mélange de produits, et par conséquent rendement faible. Pour cette raison nous avons pensé à une autre approche qui consiste à utiliser le chlorure d'acide au lieu l'acide afin de minimiser les sous produits.

Dans ce cas, on fait d'abord réagir l'acide (la phénylalanine) en présence de pyridine comme base, avec le chlorure de thionyle (SOCl₂) dans le toluène comme solvant, produisant chlorure d'acide ^[2]. Sans l'isoler, on introduit notre alcool (le résorcinol) dans la pyridine (*Schéma 15*).

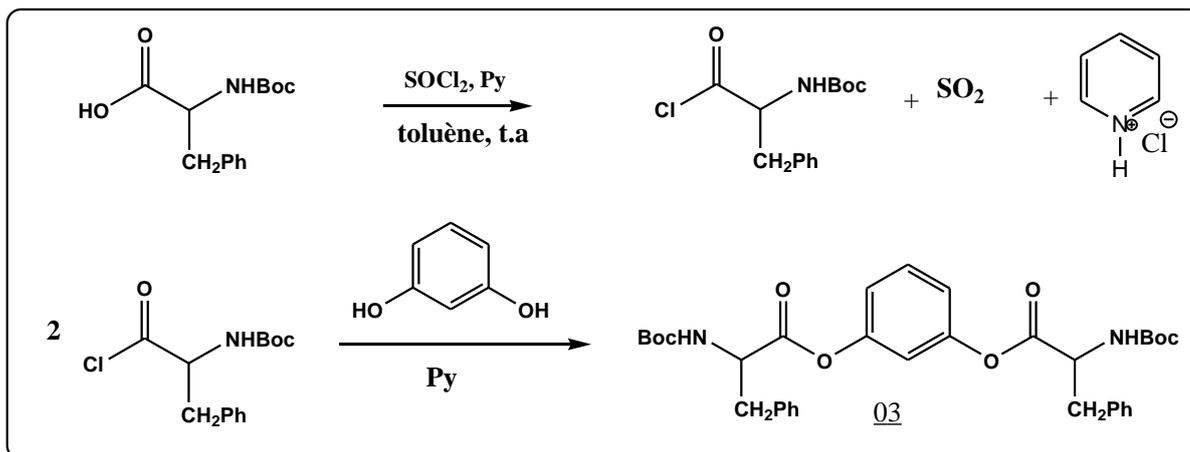


Schéma 15

Sur le plan pratique, la synthèse de chlorure d'acide et le produit désiré se font in one-pot.

Résultat :

Le résultat obtenu est le même que celui obtenu précédemment. Apparemment, le résorcinol n'est pas un bon nucléophile.

Mécanisme de la réaction (Schéma 16):

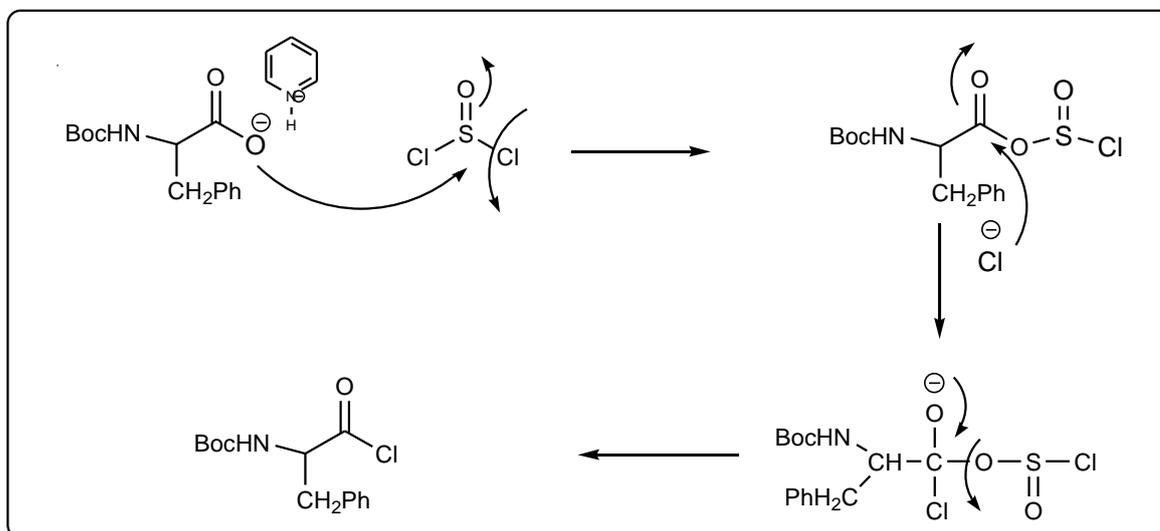
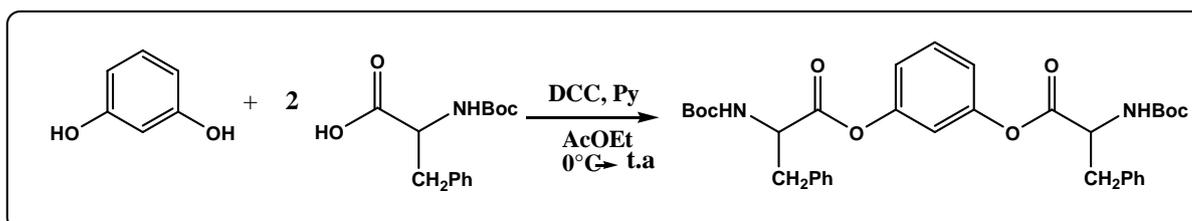


Schéma 16

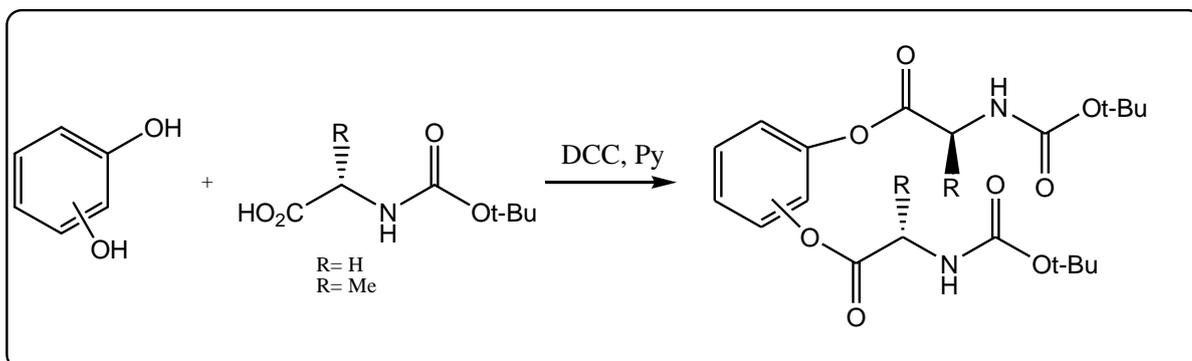
Pour solutionner ce problème, nous avons pensé à une autre approche de synthèse, la réaction de couplage en utilisant les agents de couplage disponibles dans notre laboratoire tel que le DCC, TBTU.

c -Utilisation du DCC :

La synthèse de notre dimère est réalisée par traitement d'un mélange de boc-phénylalanine, résorcinol, et la pyridine choisi comme base avec le DCC à 0°C ; ensuite le tout est porté à température ambiante pendant 16h, à la fin on additionne trois gouttes de l'acide acétique (*Schéma 17*).

*Schéma 17*

Il est à noter que ce protocole est celui utilisé par Albrecht et ses collaborateurs ^[3] qui ont obtenus un rendement de 40% (*schéma 18*).

*Schéma 18***Résultat :**

Après filtration de DCU et évaporation des solvants, l'obtention d'un mélange de produits persiste. Nous avons pensé à changer l'agent de couplage en utilisant un autre plus puissant, plus coûteux cependant et surtout disponible dans notre laboratoire. D'où notre choix évident : le TBTU.

d -Utilisation du TBTU :

Par analogie de l'approche précédente, une seule modification a été effectuée sur les conditions opératoires, c'est de remplacer le DCC par le TBTU ^[3] (*Schéma 19*).

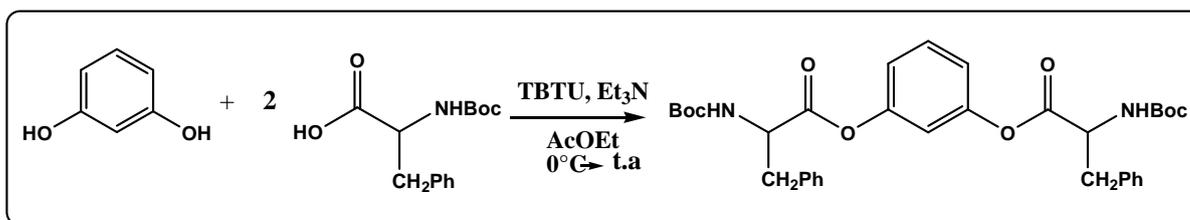


Schéma 19

Résultat :

Après extraction, lavage et évaporation des solvants, malheureusement, un mélange de quatre produits est obtenu : deux sont les réactifs de départ et les deux autres sont des composés nouveaux non identifiés.

Une autre modification a été effectuée sur les conditions opératoires telles que la nature de la base et l'équivalent gramme de la base.

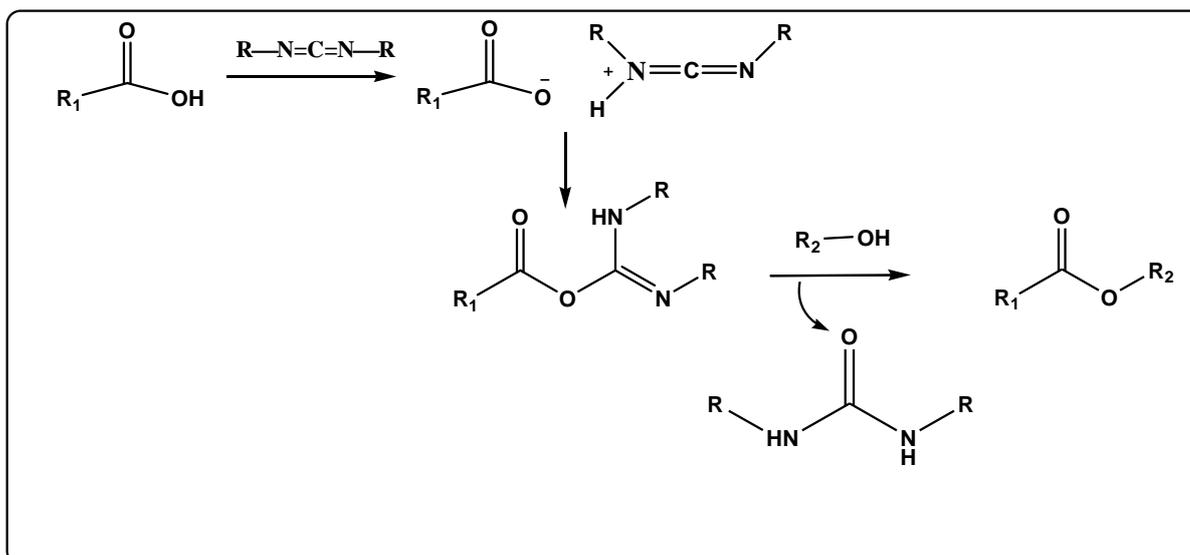
Mécanisme de la réaction (Schéma 20):

Schéma 20

e -Utilisation d'une autre base :

On fait réagir d'abord le résorcinol avec deux équivalents de bicarbonate de potassium K_2CO_3 dans l'acétonitrile, ensuite on introduit le mélange de boc-phénylalanine avec bicarbonate de potassium soluble dans l'acétonitrile, et on porte le tout sous agitation pendant 1h à température ambiante.

Après ce temps, on ajoute un excès de la base utilisé ensuite on chauffe le mélange réactionnel à reflux pendant deux jours (*Schéma 21*).

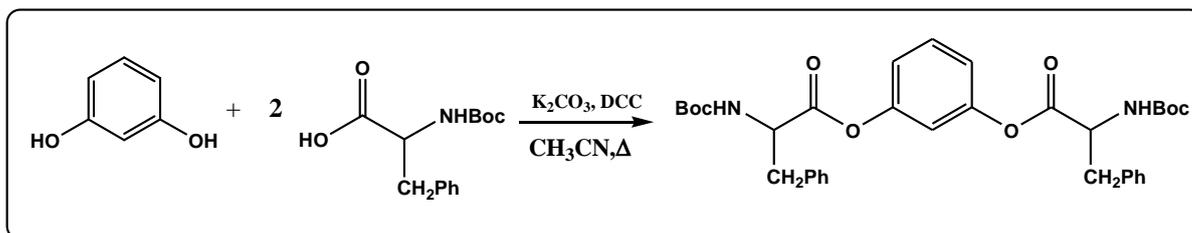


Schéma 21

Résultat :

La modification que nous avons faite sur la base n'a pas produit de changement, même nous avons essayé d'activer la réaction par chauffage sous micro onde. Le résultat obtenu est encore une fois le même que dans les cas précédents.

Remarque :

Notre but est l'obtention du produit pur avec un bon rendement. Pour cette raison, nous avons essayé la purification une seule fois en utilisant une colonne de chromatographie.

Cependant, vu les quantités assez petites de notre brut à chaque fois, vu les tâches sur CCM étaient très proches, et aussi vu que les produits ne révélaient pas très bien en UV, I₂ et nhydridine, on a dû abandonner la purification.

Cependant, on a soumis le brut de notre composé pour analyse IR et RMN. Nous attendons encore les résultats.

II. Synthèse du composé 02' :

Cette étape consiste à déprotéger la fonction amine de dimère 03 pour le faire réagir par la suite ; en traitant ce dernier par l'acide chlorhydrique dans l'éther dans des conditions douces qui n'affectent pas la liaison ester qui lie le résorcinol avec la phénylalanine (*Schéma 22*). Ces conditions ont été utilisées par Albrecht et coll [3].

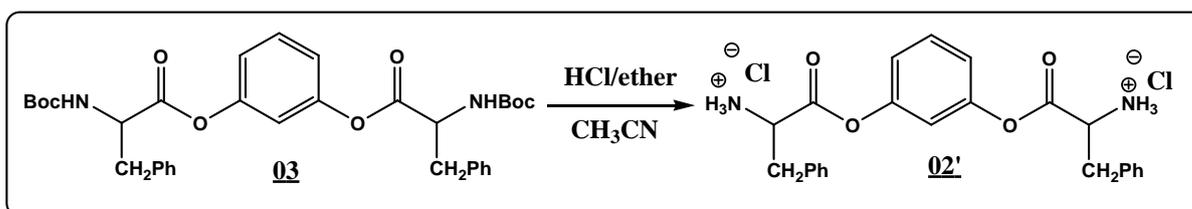


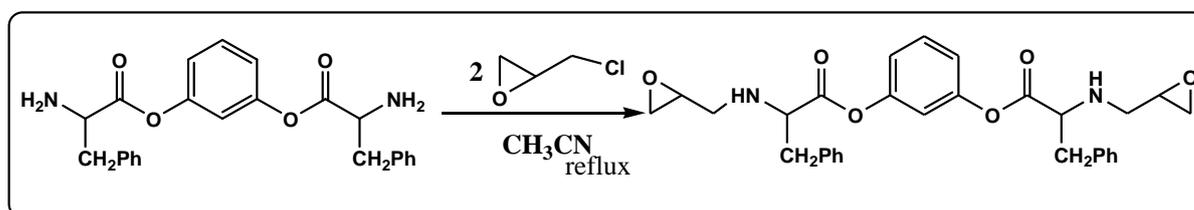
Schéma 22

Résultat :

Le produit obtenu après évaporation des solvants, a été isolé sous forme de solide blanc, alors que notre produit de départ était un solide blanc. La soumission du produit pour analyse IR et RMN a été faite. Nous attendons les résultats.

III. Synthèse de l'époxyde final 01 :

La dernière étape de notre schéma réactionnel consiste à placer un site électrophile sur la molécule finale. De ce fait, une substitution nucléophile entre le dimère 02 et l'épichlorhydrine en présence de K_2CO_3 comme base a été réalisée. (*Schéma 23*):

*Schéma 23*

Cette méthode permet d'obtenir notre produit après extraction, lavage, évaporation des solvants. Il a été isolé sous forme caramel marron foncé, avec un rendement indéterminé, faible cependant vu la masse totale récupérée. La purification et analyse de ce produit sont dans nos premières perspectives.

Références bibliographiques

1. Raj B.Durairaj, Resorcinol : chemistry, technology, and application. Edition Springer 2005, P 343.
2. C.Ziani-Cherif. Thèse de doctorat de l'université Louis Pasteur de Strasbourg, 1992.
3. Markus Albecht et al. Tweezer-Type Catechol and Resorcinol Derivatives: Preparation, Structures, and First Investigations Towards their Hydrogen Bonding Abilities. Synthesis 2002 (10), 1434-1444.

Conclusion et perspective:

Notre mémoire s'est attaché à préparer le dimère **01** que nous avons obtenu selon un schéma synthétique simple et réalisé avec des réactifs courants mais avec un rendement global très faible. Donc, comme première priorité, il s'agit d'améliorer les rendements.

Une fois le dimère obtenu, on peut envisager en guise de perspectives de lui coupler d'autres acides aminés pour obtenir les molécules suivantes **09** et **10**, afin de cibler le volume de concavité du récepteur de la gamma-sécrétase (*Schéma 24*).

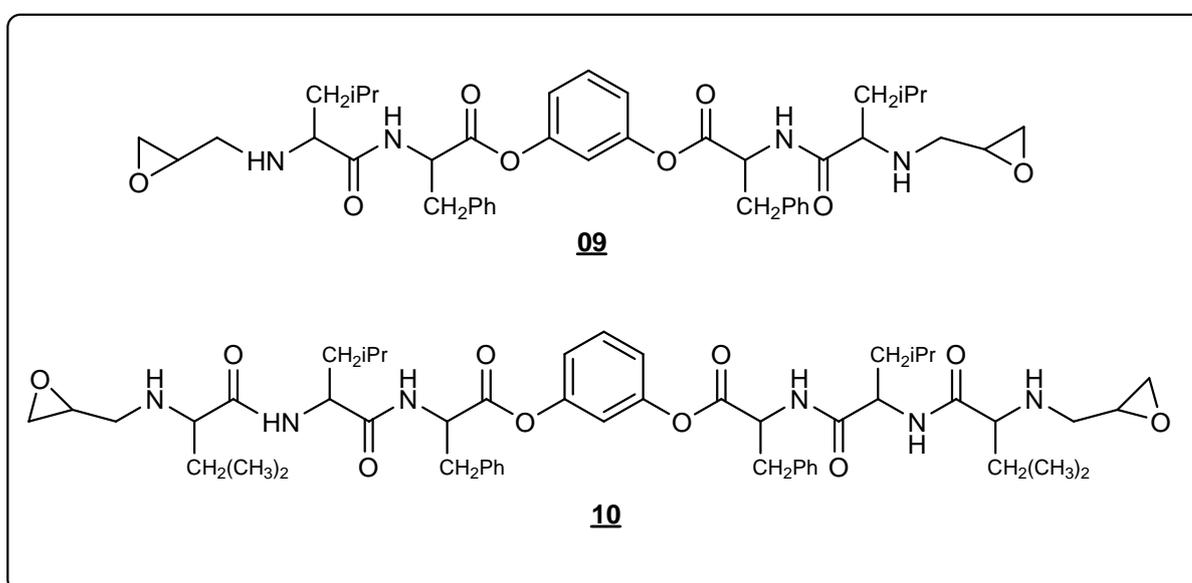


Schéma 24

Une perspective intéressante serait de tester ces molécules **01**, **09** et **10** dans l'espoir d'aboutir à des résultats intéressants.

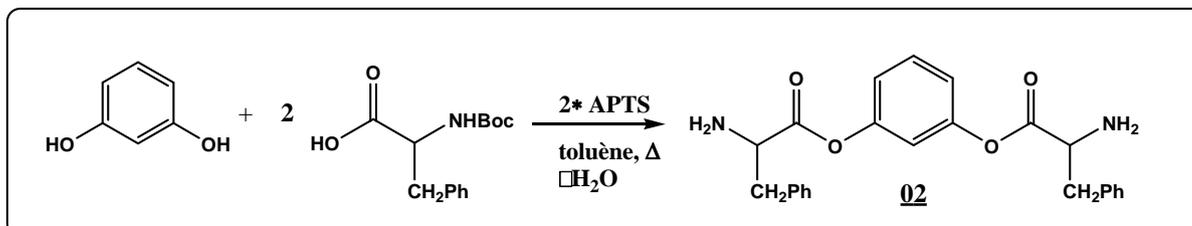


Chapitre 04 : partie expérimentale

1. Synthèse de l'ester du résorcinol du bis-[L-phényl-alanine]

02 :

Approche A :



Mode opératoire :

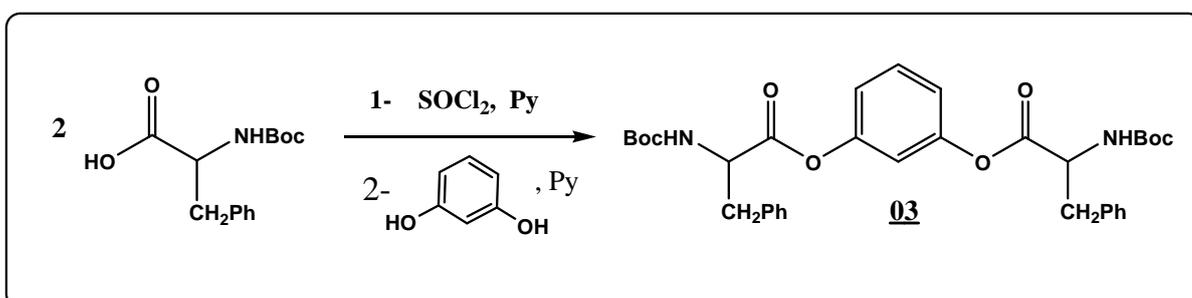
Dans un ballon de 200 mL muni d'un barreau magnétique, placé dans un chauffe ballon, on introduit le boc-phénylalanine (1 g ; 3,76 mmole), le résorcinol (0,19 g, 1,71 mmole), ainsi que l'acide *p*-toluènesulfonique (0,59 g ; 3,76 mmol). On ajoute 60 mL de toluène, puis on adapte sur ce ballon l'appareil de Dean-Stark surmonté d'un réfrigérateur. On chauffe à reflux pendant 6h, jusqu'à ce que la quantité théorique d'eau soit recueillie dans le piège (0,69 mL). On laisse refroidir.

Le mélange réactionnel est neutralisé par une solution saturée de NaHCO_3 (3* fois 15mL), puis on ajoute 20 mL de l'eau. Après extraction avec l'acétate d'éthyle, on réunit les phases organiques qu'on traite avec l'eau, puis une solution saturée en NaCl. Puis on sèche sur le sulfate de magnésium MgSO_4 ; on filtre puis on évapore les solvants.

Le mélange obtenu est formé par les réactifs de départ, plus deux autres nouveaux produits non identifiés.

Approche B :

Synthèse de l'ester du résorcinol du bis-[N-(tert-butoxycarbonyl)-L-phényl-alanine] 03 :

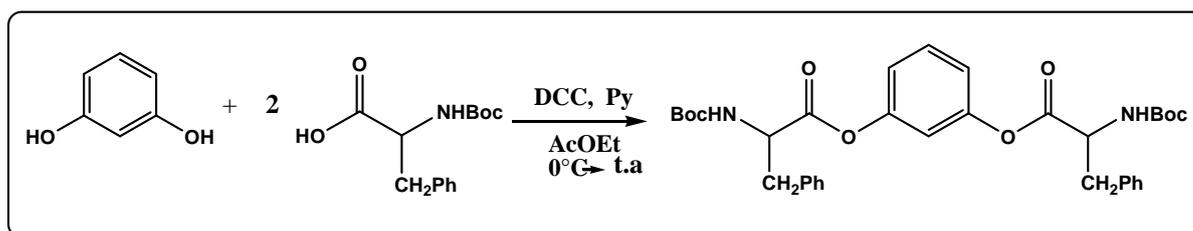


Mode opératoire :

Dans un monocol muni d'un barreau magnétique et d'une ampoule d'addition, on introduit le boc-phénylalanine (2,53 g ; 10 mmole) et la pyridine (0,8 mL ; 10 mmole) dans le toluène. On ajoute goutte à goutte à 0°C le chlorure de thionyle (2,05 mL ; 30 mmole) et 1,1 mL de la pyridine. Le mélange est porté sous agitation pendant 2h à 0 °C ensuite pendant 1h à t.a ; puis on concentre la solution jusqu'au quart de son volume (le toluène et le chlorure de thionyle formant un azéotrope à pression atmosphérique).

Après refroidissement du mélange réactionnel précédent, on additionne goutte à goutte une solution de résorcinol (0,5 g ; 5 mmole) dans 0,5 ml de pyridine. On agite la réaction pendant 2h à température ambiante puis on hydrolyse avec 15 mL de l'eau. Séparer les deux phases puis laver la phase organique avec une solution à 10% en acide chlorhydrique (2*fois) 15mL puis avec une solution saturée en chlorure de sodium, sécher sur sulfate de magnésium, filtrer et concentrer sous pression réduite.

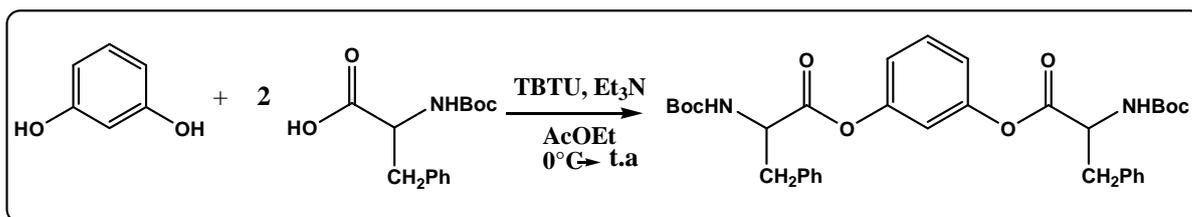
Approche C:



Mode opératoire :

Dans un erlenmeyer de 100 mL muni d'un barreau magnétique, placé dans un bain de glace, on introduit le résorcinol (1,10 g ; 10 mmole), le boc-phénylalanine (5,30 g ; 20 mmole), ainsi que le dicyclohexylcarbodiimide DCC (4,56 g ; 21 mmole), ensuite on ajoute 3 mL de pyridine dans 80 mL de l'acétate d'éthyle, on porte le tout sous agitation à 0°C pendant 2h puis pendant 3 jours à température ambiante. Après, on ajoute 3 gouttes de l'acide acétique et on laisse agiter pendant 30 min.

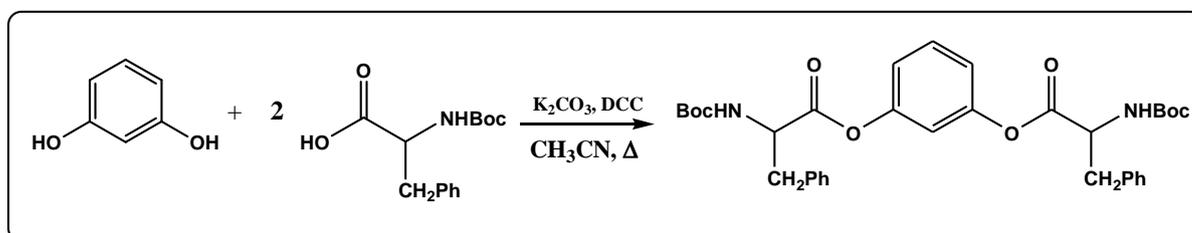
Le précipité DCU est filtré, le filtrat est évaporé, puis on le laisse dans l'éther diéthylique jusqu'à la précipitation.

Approche D :

Mode opératoire :

Dans un erlenmeyer de 100 mL muni d'un barreau magnétique est placé dans un bain de glace, on introduit le résorcinol (0,55 g, 5 mmole), le boc-phénylalanine (1,18 g ; 10 mmole), ainsi que le TBTU (3,36 g, 11,4 mmole), on ajoute ensuite à 0°C la triéthylamine (2,02 g, 10 mmole) et on laisse dans l'agitation. Le tout solubilisé dans le dichlorométhane (50 mL). On laisse sous agitation à 0°C pendant 2h puis pendant 16h à température ambiante.

Après ce temps, Le mélange réactionnel est lavé avec une solution saturée en NH₄Cl (3*fois) 15 mL. La phase aqueuse est ensuite extraite trois fois avec le dichlorométhane. La phase organique est lavée une fois avec une solution aqueuse saturée en NaCl. Enfin, elle est séchée sur le sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée sous vide.

Approche E :

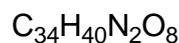
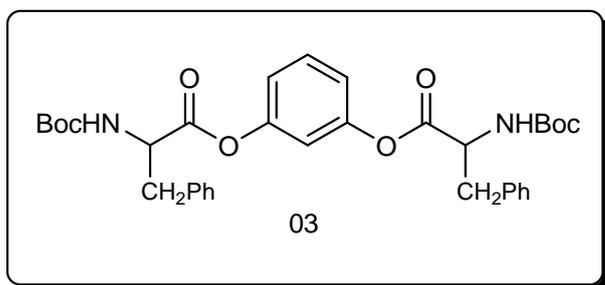
Mode opératoire :

Dans un monocol de 100 mL muni d'un barreau magnétique et un réfrigérant, le tout placé dans un bain de sable, on introduit le résorcinol (0,22 g ; 1,88 mmole) et le bicarbonate de sodium (0,55 g ; 3,76 mmole), le tout est solubilisé dans 30 mL l'acétonitrile. On prépare dans un autre ballon un mélange de boc-phénylalanine (1 g ; 3,76 mmole) et le dicyclohexylcarbodiimide DCC (0,78 g ; 3,76 mmole) dans 15 mL l'acétonitrile.

On ajoute le deuxième mélange sur le premier et on laisse agiter pendant 1h ; après on ajoute (0,55 g ; 3,76 mmole) de bicarbonate de sodium K₂CO₃ et on porte le mélange réactionnel au reflux pendant 2 jours.

Un mélange de quatre produits est obtenu (les réactifs de départ + le bon produit+ produit non identifié).

Après purification par chromatographie sur colonne, on obtient un solide blanc



$$M = 604,28 \text{ g/mole}$$

Solide blanc

$$P. F = 138 \text{ }^\circ\text{C}$$

$$R_f = 0,88 \text{ (AcOEt / Hex : 3 / 7)}$$

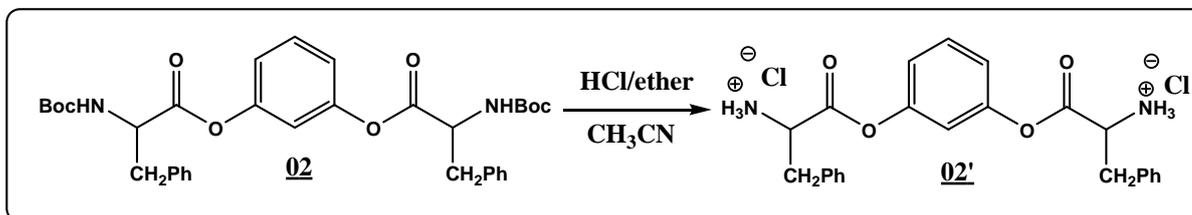
IR : cm^{-1}

33302 (CO-NH), 3029 (CH_{ar}), 1674 (C=O), 2930 (CH_2)

RMN¹H : (400 MHz, CDCl_3) δ :

1.35 (s, Boc) 3.19 (d, CH_2) 5.0 (d, NH-CO)
6.8 (d, $\text{CH}_2\text{-C}_{\text{ar}}$) 7.2 (m, CH_{ar})

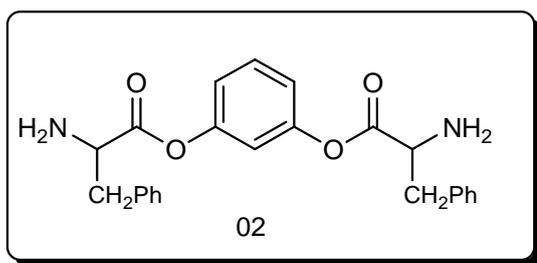
2. synthèse de l'ester du résorcinol du bis-[L-phényl-alanine], bis-chlorure d'ammonium 02':



Mode opératoire :

Dans un ballon de 100 mL muni d'un barreau magnétique, on introduit le composé 03 (0,6 g) avec le dichlorométhane. Ensuite on ajoute une solution de 15 mL saturée en HCl dans l'éther ; le tout est porté sous agitation pendant une nuit à t.ambiante.

Le mélange réactionnel est ensuite évaporé et on récupère avec l'acétate d'éthyle.

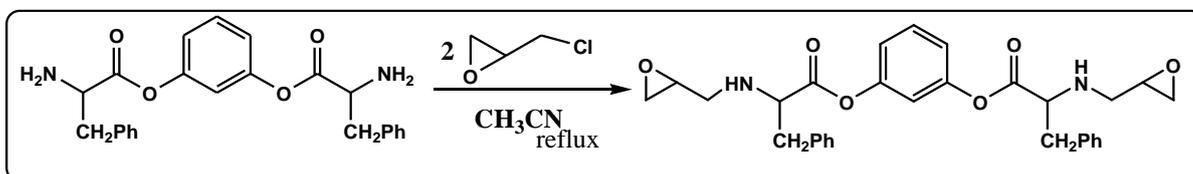

 $C_{24}H_{24}N_2O_4$
 $M = 404,17 \text{ g/mole}$

Solide blanc

P. F = 240 °C

 $R_f = 0,70 \text{ (AcOEt / Hex : 3 / 7)}$

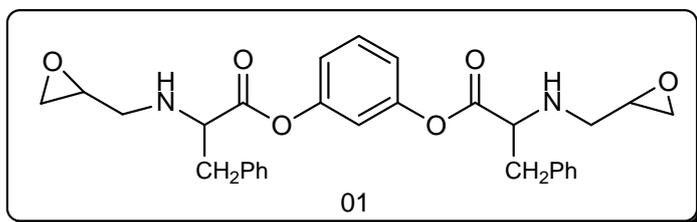
3. synthèse de l'ester du résorcinol du bis-[2(-oxiran-2-ylmethylamino) -3-phenylpropanic acid] 01 :



Mode opératoire :

Dans un ballon de 100 mL muni d'un barreau magnétique et d'un réfrigérant, le tout placé dans un bain de sable, on introduit le composé 02 (0,4 g) et l'épichlorhydrine (0,2 mL) puis le bicarbonate de sodium (0,5 g ; 4,2 mmole), le tout dans l'acétonitrile. On porte le mélange à reflux pendant 18h.

Après ce temps, on évapore d'abord l'acétonitrile, ensuite on reprend avec 30 mL de dichlorométhane. La phase organique est lavée avec 30 mL l'eau, puis séchée sur le sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous vide pour conduire à un liquide marron.


 $C_{30}H_{32}N_2O_6$
 $M = 516,23 \text{ g/mole}$

Liquide; un mélange de produits de couleur marron

IR, RMN¹H : En cours