

# REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOUBAKR BELKAID, TLEMCEEN

Faculté des Sciences

Département de Chimie

Laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses

- COSNA-

## MEMOIRE DE MASTER

*Présentée par*

**M<sup>elle</sup> BELKAID Wassila**

*En vue d'obtenir le diplôme de*

**MASTER EN CHIMIE**

*Discipline : Chimie Bio-Organique Et Thérapeutique*

### Synthèse des glycoconjugués d'intérêt thérapeutique

Soutenance, le 09 juin 2015,  
devant le jury

Mr le <b>Pr. MUSTAFA KARA Bachir</b>	Président	UAB-Tlemcen
Mr le <b>Pr.KAJIMA MULENGI Joseph</b>	Examineur	(superviseur scientifique) UAB-Tlemcen
Mlle la <b>Pr.NEGADI Latifa</b>	Examinatrice	UAB-Tlemcen
Mr le <b>Dr.ARRAR Zoheir</b>	Examineur	UAB -Tlemcen
Mr <b>BENDIABDELLAH Djamel</b>	Examineur	UAB -Tlemcen
Mme la <b>Dr. DRICI Wassila</b>	Examinatrice	UAB -Tlemcen
Mme la <b>Dr. SEBAA, née Lemrini Wafaa</b>	Examinatrice	UAB -Tlemcen
Mr le <b>Dr.MEZRAI Abdelmoumin</b>	Promoteur	UAB -Tlemcen

*A mon adorable maman et mon cher papa,*

*A mon mari Tadjeddine,*

*A mes frères Abderrahman et Mohamed Seddik et ma sœur Siham,*

*A ma famille,*

*A mes amis,*

*A toutes les mains qui m'ont été tendus ; mon encadreur*

*Dr. Mezrai Abdelmoumin*

## **Remerciements**

*Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de « Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses (COSNA), Université Aboubekr Belkaid Tlemcen ; je tiens à remercier Monsieur le Professeur J. Kajima Mulengi, pour m'avoir permis de réaliser ce travail dans son laboratoire (COSNA).*

*Mes plus sincères remerciements au Monsieur le docteur en Abdelmoumin Mezrai le directeur de mon sujet pour son soutien, sa confiance, ses conseils judicieux, pour la qualité de son encadrement, sa rigueur, sa méthodologie et sa très grande disponibilité malgré ses obligations liées à l'autre université.*

*Je remercie le Professeur Mustafa Bachir kara, pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury de ce mémoire. Je remercie également tous les membres de jury pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Je remercie l'équipe de Laboratoire COSNA pour leur intérêt et leurs bons conseils. Merci à toutes les personnes qui j'ai passé ces dernières années, et Un merci tout particulier à Mme keniche Assia pour leur intérêt et son aides.*

*De plus, je remercie, l'équipe de l'analyse du laboratoire de LASNABIO pour tous les spectres IR.*

*Je remercie mes meilleurs amis atmani nadia et lazouni imen, et je tien à remercier mon camarade amine sisaide pour son aides et ses conseils.*

*Un énorme **MERCI** à mes parents, j'ai toujours pu compter sur vous, je voulais que vous saches à quel point ton soutien à été une grande aide pour moi, quand je ne voulais plus voir personne, vous êtes revenus à la charge, sans relâche, je vous remercie de tout mon cœur. Merci à mon mari tadjeddine, pour ta grande patience avec moi, pour ton écoute pour la confiance que tu me portes, merci pour votre générosité, votre gentillesse et votre spontanéité, merci pour tout ce que tu as fait pour moi....*

## TABLE DES MATIERES

<u>Chapitre 1 : introduction bibliographique</u> .....	1
I. Généralités sur le cancer .....	03
1. Définition et caractéristique du cancer.....	03
2. Biologie du cancer.....	04
3. Genèse des cellules cancéreuse .....	06
II. Traitement du cancer.....	07
III. Les produits naturels utilisés dans le traitement du cancer.....	07
IV. Les produits d'origine marine utilisés dans le traitement du cancer.....	08
✓ Les inhibiteurs de kinase.....	08
✓ Les agents interagissant avec l'ADN.....	08
✓ Les molécules agissant sur les microtubules.....	09
<u>Chapitre 2 : La glycochimie</u> .....	10
I. La glycochimie.....	11
II. Les glycoconjugués.....	11
III. Importance biologique des glycoconjugués.....	12
i. Rôle in vivo.....	12
ii. Les rôles de reconnaissance moléculaire.....	13
iii. Rôle de modulateur chimique et physique-chimique .....	13
IV. L'intérêt thérapeutique des glycoconjugués.....	14
A. La KRN 7000 et son analogue.....	14
B. La porphyrine glycolysée.....	15
C. Candidat vaccin à base d'antigènes saccharidiques.....	16
V. Méthodes de synthèse.....	16
• Synthèse en phase solide .....	17
• Synthèse enzymatique.....	17
• Synthèse chimio enzymatique.....	18
• Synthèse et extraction à partir d'une usine cellulaire .....	18
<u>Chapitre 3 : Présentation du travail</u> .....	20
1. L'hymenistatine.....	21
2. Sansalvamide 1 et Sansalvamide 2.....	21
3. Dehydrodidemnine.....	22
4. Objectif du travail.....	23
5. Examen rétrosynthétique.....	24
6. Schéma de synthèse.....	25
A. Protection de la fonction acide de la L-tyr.....	25
B. Protection de la fonction amine des acides aminés L-Pro et L-Leu.....	26
C. Couplage peptidique.....	27
D. Protection des sucres.....	29
<u>Chapitre 4 : Travail effectués</u> .....	32
1. Généralités.....	33
2. Protection des acides aminés.....	33
2.1 Protection de la fonction acide.....	33
2.2 Estérification de la tyrosine.....	34
2.3 Protection de la fonction amine.....	34
2.3.1 Protection par le BOC.....	34
2.3.2 Protection par le Fmoc.....	35
2.3.3 Protection par le Cbz.....	36
2.3.4 Protection par l'anhydride phtalique et l'anhydride acétique.....	37

3. Protection effectuées.....	39
4. Couplage peptidique entre la L-tyrosine et N-acétyl-L- proline.....	39
5. Couplage peptidique entre la L-tyrosine et la L-leucine .....	40
6. Protection des sucres.....	41
6.1 Protection des sucres selon Michael.....	41
6.2 Acétylation des alcools avec l'anhydride acétique .....	41
7. Méthode générale de glycosylation.....	42
8. Synthèse de l'anhydride glucoronique.....	43
9. Les protections des sucres effectués .....	43
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b> .....	45
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b> .....	46
1. Appareils utilisés.....	47
2. Purification de solvants.....	47
I. Protection effectués.....	48
a. Protection de la L-Leu.....	48
b. Protection de la L-Pro.....	49
c. Estérification de la fonction acide de la L-tyr.....	50
II. Couplage effectuées.....	51
III. Protection du sucre .....	53
IV. Greffage effectués .....	57
Référence .....	60

## ABREVIATION

**Boc** : tert-butyloxycarbonyl

**Boc-ON** : t-(butoxycarboxyloxyimino)- 2-phénylacétonitrile

**Boc-azide** : t-butylazidoformiate

**Cbz**: benzyloxycarbonyl

**CDK** : cyclines kinases dépendantes

**DCC**: N, N'-dicyclohexylcarbodiimide

**DCM**: dichloromethane

**DCU**: dicyclohexylurée

**DMF** : N, N-diméthylformamide

**EDC** :1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide

**Fmoc**: 9-Fluorénylméthoxyloxycarbonyl

**Ft**: anhydride ftalique

**HOBt**: hydroxybenzotriazole

**Ir**: infra-rouge

**Ile**: illecine

**KLH**: Keyhole- Limpet Hemocyanin

**KRN 7000** :  $\alpha$ -galactosylcéramide

**Leu** : L-Leucine

**MDRI** : Le développement des phénomènes de résistance par les tumeurs

**NKT** : lymphocyte T

**Pro**: L-Proline

**SPPS** : synthèse peptidique en phase solide

**TEA**: triéthylamine

**TFA** : trifluoroacétique

**THF**: tétrahydrofurane

**Tyr**: L-Tyrosine

## **CHAPITRE 1 : INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE**

## INTRODUCTION GENERALE

Même si le cancer est une des rares maladies communes à la quasi-totalité du règne animal, il n'apparaît que très peu dans notre Histoire. Ceci est normal car, d'une part, le diagnostic de cancer était méconnu dans de nombreux cas et d'autre part la moitié des cancers sont diagnostiqués après 65 ans. Or 15% de la population avant 1750 atteignait 60 ans, 30% en 1850 et près de 80% de nos jours. C'est donc un ancien problème devenu très présent dans nos sociétés modernes du fait de l'allongement de nos espérances de vie. Ainsi, la lutte contre les cancers est devenue une priorité absolue du fait de l'augmentation de l'espérance de vie et de son corollaire morbide, l'augmentation du nombre de cancers parmi la population. Notre vision des maladies en général et du cancer en particulier, a beaucoup évolué au cours du temps ainsi que les moyens de combattre ces infections. D'un point de vue historique, le diagnostic du cancer apparaît très tôt : dès l'antiquité les égyptiens puis les grecs caractérisent le cancer comme une tumeur envahissante conduisant à une mort inéluctable. Le mot cancer vient de *carcinus* qui signifie crabe en Grec car dans l'esprit des gens de l'antiquité le cancer y est comparé à un crabe dévorant les tissus.

A partir de la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, des découvertes se sont imposées comme des supports très précieux à la chirurgie voir comme des alternatives dans les cas où la chirurgie ne pouvait être pratiquée : la radiothérapie notamment (première tentative de traitement d'un cancer du sein, par Emil Grubbe en 1895) puis la chimiothérapie avec notamment l'utilisation dès 1944 de la « moutarde azotée » ou caryolysine pour le traitement des lymphomes. Pendant longtemps, la recherche de composés pour la chimiothérapie à but curative était limitée aux produits naturels ou dû au hasard tandis que les évaluations biologiques étaient réduites aux expérimentations animales *in vivo*. Ce n'est qu'à partir des années 1990 qu'une large gamme de tests biologiques *in vitro* a été développée pour compléter les évaluations biologiques *in vivo* (Cultures cellulaires et tests colorimétriques<sup>1</sup>). De plus, de nombreuses cibles biologiques potentielles sont maintenant connues et accessibles dans le cadre d'études *in vitro* (tests d'inhibition enzymatique<sup>2</sup>) ou *in silico* (docking moléculaire<sup>3</sup>). Avec l'aide de nouveaux concepts, les méthodes de recherche de composés thérapeutiques ont été rationalisées (méthode QSAR<sup>4</sup> et synthèse focalisée ou diversifiée<sup>5</sup>) et optimisées (criblages à haut débit<sup>6</sup> et chimie combinatoire<sup>7</sup>). La génomique a aussi contribué à la recherche de molécules thérapeutiques par le développement d'outils

permettant de mieux appréhender les expressions génomiques et protéiques (puces à protéines<sup>8</sup> ou à ADN<sup>9</sup>) induites par des maladies ou des composés chimiques. Avec ces nouvelles méthodes, les chimiothèques anticancéreuses se sont considérablement enrichies au cours des 30 dernières années : à côté des agents alkylants,<sup>10</sup> d'autres médicaments altérant l'ADN ont vu le jour: les agents intercalants<sup>11</sup> (Daunorubicine), les inhibiteurs de la topoisomérase<sup>12</sup> I et II (Irinotécan, Etoposide), les intermédiaires électrophiles<sup>13</sup> (Cisplatine, Carboplatine et Oxaliplatine) ainsi que d'autres familles d'anticancéreux comme les antimétabolites<sup>14</sup> (5-Fluoro-uracile et Mercaptopurine), les inhibiteurs enzymatiques<sup>15</sup> (Raltitrexed, Hydroxyurée et Méthotrexate), les cytokines (interféron alpha) et les molécules altérant le fuseau mitotique<sup>16</sup> (Vinblastine, Vincristine, Vindésine, Navelbine et Paclitaxel). La finalité est systématiquement de déclencher la mort cellulaire ou de lutter contre les mécanismes de prolifération et de migration cellulaire d'où la question centrale sélectivité vis-à-vis des cellules saines et donc *in fine* de la toxicité.

Ces évolutions en matière de chirurgie, de radiothérapie, de chimiothérapie mais aussi au niveau des diagnostics du cancer ont contribué à diminuer de manière continue la mortalité de la majorité des cancers : depuis les années 1990 on constate une baisse de 1,5 % par an en moyenne de la mortalité dues aux cancers. Certains cancers comme celui du col de l'utérus ont vu leur mortalité être divisée par 3 en 40 ans en France.

## **I. GENERALITES SUR LE CANCER**

### **1. Définition et caractéristique du cancer**

Le cancer est une maladie caractérisée par la croissance anarchique de cellules anormales. Ces cellules dérivent toutes de la même cellule, initiatrice du cancer, qui a acquis certaines caractéristiques lui permettant de se diviser indéfiniment. Au cours de l'évolution de la maladie, certaines cellules prennent l'apparence d'une excroissance locale : une tumeur primitive qui, dans un premier temps, grossit et dissocie les tissus voisins. D'autres cellules forment des cancers « non solides » sous forme de cellules sanguines anormales qui ne sont pas associées à un organe en particulier.

La division cellulaire est contrôlée par le cycle cellulaire. Ce dernier a pour fonction de reproduire des cellules filles identiques à la cellule mère ; celles dont l'ADN est altéré sont réparées ou détruites<sup>1</sup>. Le dérèglement des systèmes régissant et contrôlant l'avancement du cycle cellulaire est à l'origine de la prolifération incontrôlée des cellules cancéreuses.

Au cours du cycle cellulaire (figure 1), la cellule est capable de dédoubler son matériel génétique en vue de le transmettre à une cellule fille. La réplication du matériel génétique d'origine est un passage obligé pour la perpétuation de la vie mais c'est aussi un moment où d'éventuelles mutations peuvent avoir lieu.

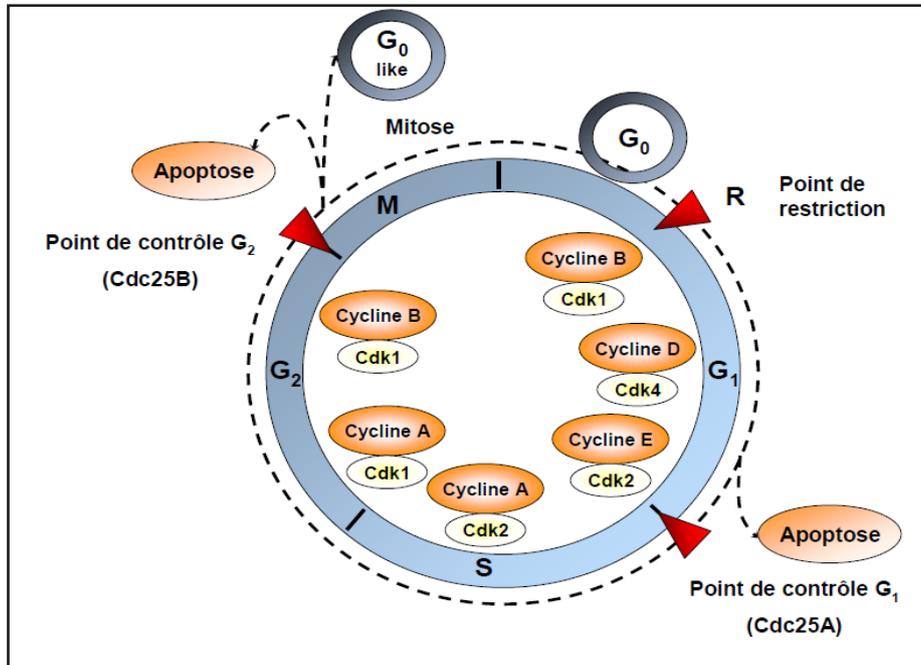
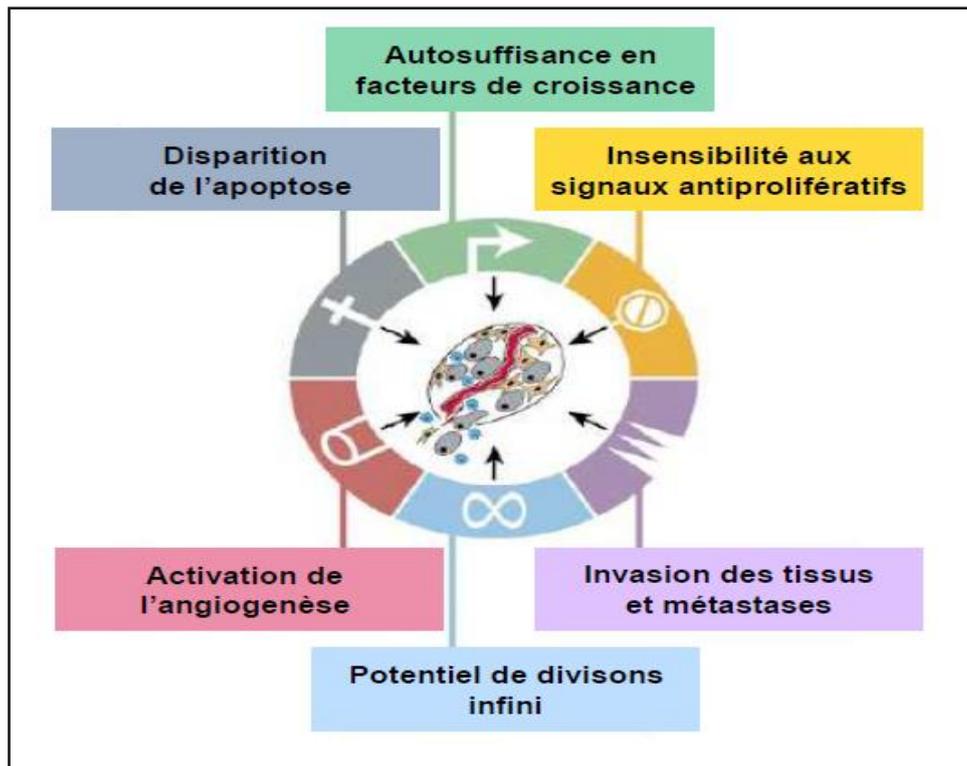


Figure 1 : Le cycle cellulaire<sup>1</sup>.

## 2. Biologie du cancer

Le cancer résulte de six altérations de la physiologie cellulaire<sup>3</sup>. Ces altérations sont communes à toutes les cellules cancéreuses et sont à l'origine de leur prolifération incontrôlée. Les différentes altérations physiologiques sont représentées sur la figure 2.



**Figure 2 : Les six altérations physiologiques de la cellule conduisant à la formation de cellules cancéreuses<sup>3</sup>.**

La cellule cancéreuse va au cours de son développement acquérir une série de capacités que ne possèdent pas les cellules normales. En 2000, R.Weinberg et D. Hanahan<sup>18</sup> ont suggéré que l'apparition de cellules cancéreuses passe par l'acquisition d'au moins six propriétés

(Figure 2) :

- ✓ Indépendance vis-à-vis des signaux stimulant la prolifération : Normalement, les cellules ne se divisent que lorsqu'elles reçoivent un stimulus particulier mais dans les tumeurs, les cellules n'ont plus besoin de ce signal à cause de l'expression accrue et continue des gènes de la prolifération cellulaire.

- ✓ Insensibilité aux signaux inhibiteurs de la prolifération cellulaire.

- ✓ Abolition de l'apoptose ou mort cellulaire programmée. En cas de stress ou d'anomalie ne pouvant pas être éliminée, une cellule normale se suicide en utilisant l'apoptose. Les cellules tumorales ont inactivé tous ces mécanismes pour mieux survivre.

- ✓ Capacité proliférative illimitée : le nombre usuel de divisions cellulaires pour une cellule humaine est de 50 à 60 (sénescence cellulaire, limite de Hayflick), après quoi elle

cesse de pouvoir se diviser. Les cellules tumorales continuent de se diviser sans limite visible grâce à l'activité de la télomérase qui est fortement active dans toutes les cellules cancéreuses. Les cellules deviennent immortelles.

✓ Capacité de susciter l'angiogenèse. Les cellules tumorales (et la tumeur) ont un besoin important en oxygène et en nutriments pour survivre. Elles vont donc stimuler la formation de nouveaux vaisseaux sanguins afin d'alimenter la tumeur.

✓ Acquisition d'un pouvoir invasif. Les cellules tumorales sont capables de passer à l'intérieur d'un vaisseau sanguin afin d'être transportées dans un autre organe où elles vont générer une seconde tumeur.

De manière générale, les cancers résultent de mutations de l'ADN de certaines cellules mais des facteurs génétiques et des agents extérieurs comme les cancérogènes physiques (UV et les rayonnements ionisants), chimiques et biologiques (hépatite B, virus du papillome humain, virus de l'immunodéficience humaine, schistosomiase, Hépatite B et C tendent à accroître de manière importante l'apparition des cancers.

Le tabagisme, la consommation d'alcool, la consommation insuffisante de fruits et de légumes ainsi que le vieillissement ont une incidence directe avec l'apparition des cancers. De plus, on estime que 5 % à 10 % des mutations génétiques à l'origine d'un cancer sont héréditaires. Plus globalement, c'est la conjugaison de ces différents facteurs qui entraînent l'apparition de cancers.

### **3. Genèse des cellules cancéreuses**

Une cellule devient cancéreuse suite à une altération de son ADN. Il existe deux types de modifications génétiques conduisant à la formation d'une cellule cancéreuse (Karp, 2010; Lechat, 2006) :

- L'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs,
- L'activation de proto-oncogènes en oncogènes.

Le processus par lequel une cellule normale devient une cellule maligne ayant la capacité de former une tumeur requiert plusieurs dérèglements de la machinerie cellulaire. La disparition du phénomène d'apoptose (mort cellulaire programmée) est l'un de ces dérèglements.

La mort cellulaire programmée fait partie intégrante de la physiologie normale d'un organisme. Un dérèglement peut être à l'origine de nombreuses pathologies. La disparition de ce phénomène est l'une des raisons qui explique la survenue d'un cancer. Il

existe d'autres types de mort cellulaire, comme la nécrose, la sénescence ou encore l'autophagie qui ne compensent qu'en partie la disparition du phénomène d'apoptose chez les cellules tumorales. Par conséquent, de nombreuses recherches se focalisent sur les voies cellulaires qui régissent ce phénomène afin que l'apoptose puisse être restaurée chez les cellules cancéreuses (de Bruin & Medema, 2008).

## II. TRAITEMENTS DES CANCERS

Pour traiter le cancer il existe deux grands types de traitements.<sup>2</sup> Les traitements locorégionaux (la chirurgie, la radiothérapie et la thérapie photodynamique) qui agissent directement sur la tumeur, et les traitements systématiques qui ne sont pas ciblés (l'hormonothérapie, l'immunothérapie et la chimiothérapie). Les différents traitements sont généralement couplés.

## III. LES PRODUITS NATURELS UTILISES DANS LE TRAITEMENT DU CANCER

Les produits naturels sont directement ou indirectement à l'origine de 60% des traitements anticancéreux. Des exemples comme le paclitaxel et la vincristine (issue de plantes) (figure3), la mitomycine C (Schéma 1), montrent l'importance des sources naturelles dans les traitements du cancer.<sup>(19)(20)</sup>

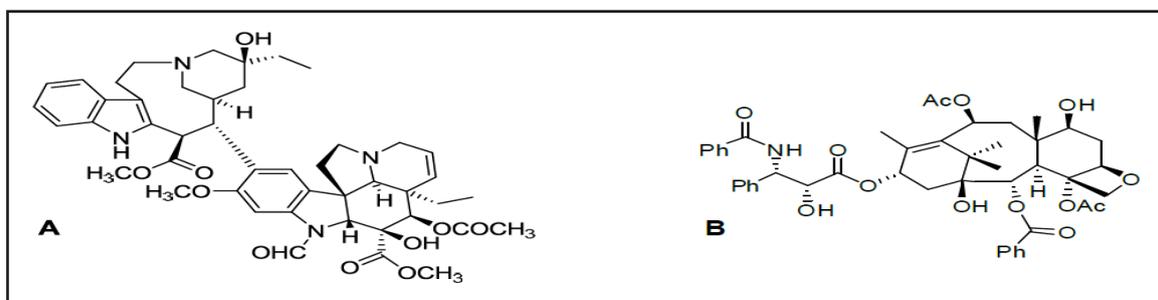


Figure 3 : Présentation du Vincristine<sup>(22)</sup> et le Paclitaxel<sup>(21)</sup>

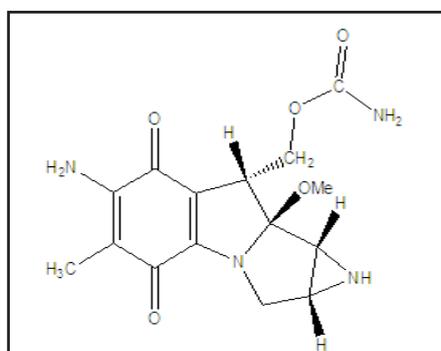


Schéma 1 : Présentation du mitomycine C<sup>(23)</sup>

#### IV. LES PRODUITS D'ORIGINE MARINE UTILISES DANS LE TRAITEMENT DU CANCER

Le monde marin est reconnu comme la source de molécules à activité biologique présentant le plus grand potentiel. <sup>(24)(25)</sup> Les substances naturelles isolées d'organismes marins se caractérisent souvent par la présence d'éléments chimiques ou de structures rarement observées en milieu terrestre en raison de la composition chimique de l'eau de mer. <sup>(28)(29)(30)</sup> Les particularités des molécules marines du point de vue structural mais aussi au niveau de leur mécanismes d'action constituent un avantage dans la recherche de nouvelles Molécules anticancéreuses. <sup>(26) (27) (31)</sup>.

##### ➤ Les inhibiteurs de kinases :

Il existe de nombreuses kinases, dont les kinases cyclines dépendantes (CDK), qui interviennent dans la régulation du cycle cellulaire et peuvent ainsi contrôler la prolifération anarchique des cellules de la tumeur. <sup>(32)</sup> L'hymenialdisine est extraite d'une éponge (*Hymeniacidon aldis*) et possède de telles activités inhibitrices, associées à une activité sur Une glycogène synthase kinase. <sup>(33)</sup>

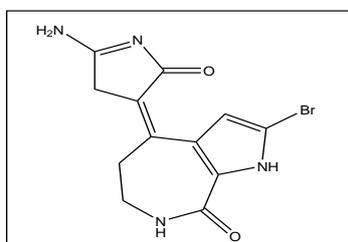
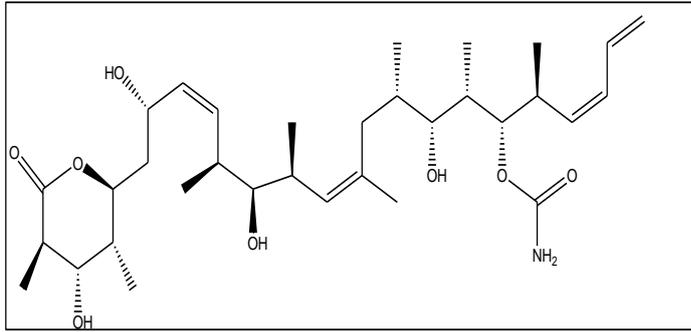


Schéma 2 : présentation de l'hymenialdisine

##### ➤ Les molécules agissant sur les microtubules :

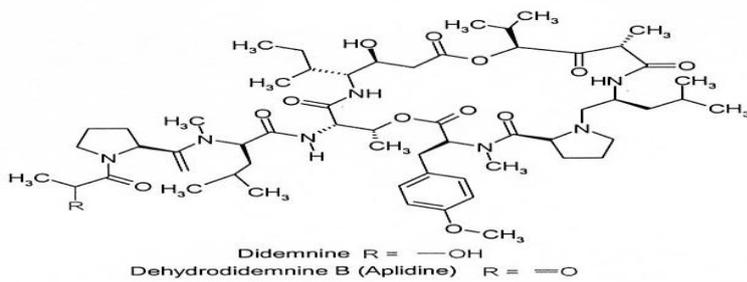
Le développement des phénomènes de résistance par les tumeurs (MDRI), apparus, entre autres, avec les anticancéreux du type taxane, a incité à la recherche d'agents antitumoraux interférant avec les microtubules, dans le but de résoudre ce problème. Les composés marins ont permis d'isoler de nombreux produits, dont le discodermolide obtenu à partir d'une éponge, *Discodermia dissoluta*. Le discodermolide est un immunosuppresseur il est actif sur la prolifération cellulaire. <sup>(34)(35)</sup>



**Schéma 3: présentation de discodermolide**

➤ **Les agents interagissant avec l'ADN :**

Ils possèdent souvent des propriétés anticancéreuses. L'Aplidine® (déhydrodidemnine) Qui est isolée d'un tunicier méditerranéen, *Aplidium albicans*, possède une structure peptidique quasi identique et semble moins toxique. Il est, de surcroît, plus actif, notamment sur le cancer colorectal <sup>(36)</sup>, et présent des propriétés antiangiogéniques.



**Figure 4 : présentation de didemnine et dehydrodidemnine**

## **CHAPITRE 2 : LA GLYCOCHIMIE**

## **I. INTRODUCTION :**

La glycosylation est une des modifications post-traductionnelles des protéines les plus courantes. Ce type de modification est retrouvé aussi bien chez les bactéries que chez les cellules eucaryotes. L'importance des glycoprotéines dans beaucoup de processus biologiques comme le cancer est bien établie <sup>37</sup>. Certaines protéines portent des chaînes osidiques de plusieurs dizaines d'unités d'oses. La complexité de ce type de modification réside principalement dans la liaison glycoside-protéine. La nature de ces liaisons permet de les classer en plusieurs catégories <sup>38</sup>.

A l'heure actuelle, le rôle de ces modifications n'est pas précisément connu, mais elles sont souvent essentielles au fonctionnement des protéines.

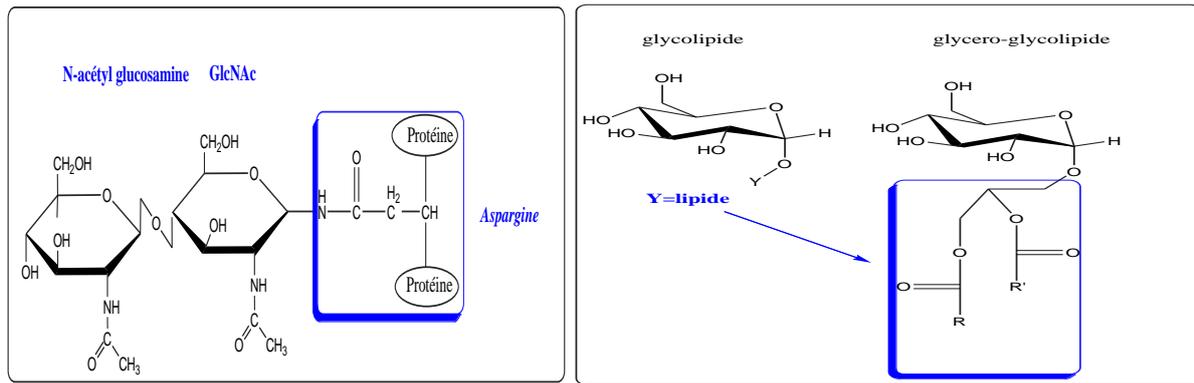
## **II. LA GLYCOCHIMIE:**

La glycochimie c'est la chimie du sucre. Les sucres jouent un rôle essentiel dans les communications entre les cellules et dans le fonctionnement du système immunitaire, ils représentent une nouvelle génération de médicaments, destinés à lutter contre les maladies infectieuses et contre le cancer. <sup>(39)</sup>

L'application de nouvelles méthodologies par des glycochimistes à des substrats polyfonctionnalisés tels que les sucres est souvent source de résultats inattendus et de progrès en synthèse Organique. En retour, ces méthodologies permettent d'accélérer la synthèse et donc la mise en évidence de molécules d'intérêt thérapeutique.

## **III. LES GLYCOCONJUGUES**

Les Glycoconjugués sont des molécules comportant une chaîne glucidique (mono\_ ou oligosaccharide) liée de manière covalente à une partie non glucidique (aglycone) selon la nature de la partie aglycone on peut mettre en évidence trois classes différentes de Glycoconjugués (Schéma 4) : Les glycolipides, les glycoprotéines et les protéoglycannes. <sup>(40)</sup>



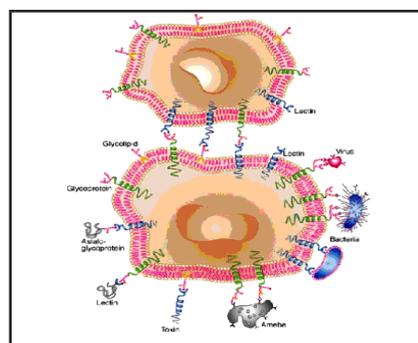
**Schéma 4 : exemple de Glycoconjugués**

#### **IV. IMPORTANCE BIOLOGIQUE DES GLYCOCONJUGUES**

Les fonctions biologiques associées à la partie glucidique des glycoconjugués sont aussi nombreuses que leur diversité structurale. Cependant deux grandes familles des fonctions peuvent être mises en évidence : la fonction structurale et celle de reconnaissance moléculaire. <sup>(41)</sup>

##### ***i. Rôle des Glycoconjugués in vivo :***

Les Glycoconjugués ont une distribution ubiquitaire et sont retrouvés aussi bien en Situation extracellulaire qu'en situation intracellulaire. Les réactions de glycosylation modifient les propriétés physico-chimiques d'une protéine ou d'un lipide mais les Oligosaccharides représentent surtout des messages qui sont progressivement décodés et qui interviennent dans de multiples fonctions <sup>(41)</sup>, les protéoglycanes et les glycolipides Constituent des signaux de reconnaissance permettant des interactions intercellulaires. Ils ont également un rôle majeur dans la fonction, la destinée et la durée de vie des glycoprotéines sécrétées.



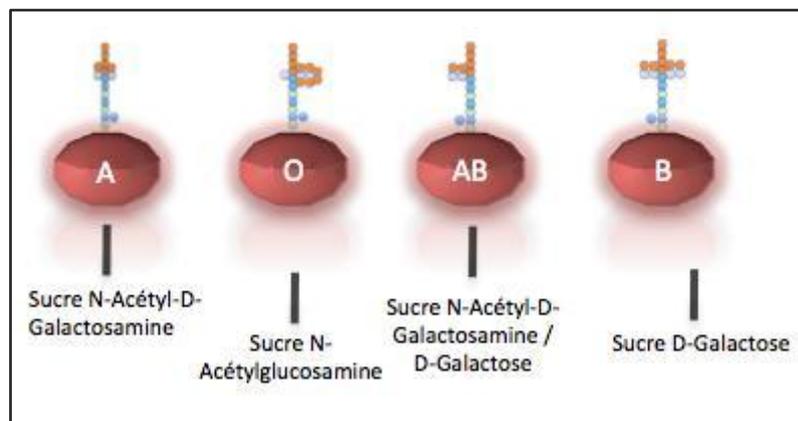
**Figure 6: Exemple de rôles de glycoconjugués situés sur la surface cellulaire**

### *ii. Les rôles de reconnaissance moléculaire:*

Les oligosaccharides participent à de nombreux phénomènes de reconnaissance Moléculaire De type récepteur-ligand impliquant des lectines et de nombreuses études confirment leurs rôles dans la vie sociale des cellules <sup>(42)</sup>. Les lectines reconnaissent généralement les monomères terminaux des oligosaccharides.

Au niveau des structures périphériques des glycoconjugués (surtout O-glycanes et glycolipides), on trouve souvent des épitopes antigéniques comme les déterminants des groupes sanguins A, B et O. Par ailleurs, il a été montré que des anomalies de glycosylation accompagnent fréquemment Les états physiologiques anormaux ou pathologiques, comme le cancer.

EN Conséquence, ce sujet reçoit maintenant une grande attention et de nombreuses études ont été effectuées dans le but d'élucider les structures complexes et les Rôles de ces glycanes. <sup>(43)</sup>

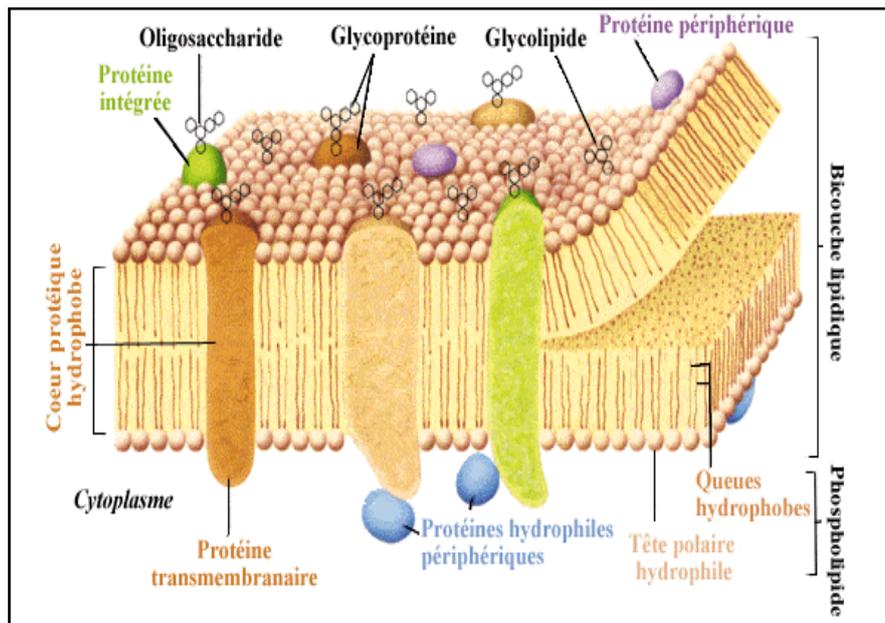


**Figure 7 : les Déterminants des groupes sanguins A, B et O**

### *iii. Rôle de modulateurs chimiques et physico-chimiques :*

La présence de chaînes glycaniques sur les protéines affecte certaines de leurs propriétés telles que conformation, solubilité et stabilité. <sup>(44)(45) (46)</sup> Les chaînes glycaniques facilitent l'hydratation des protéines par rétention d'eau et stabilisent la conformation tridimensionnelle de la protéine en réalisant des interactions parfois nécessaires au repliement de la protéine dans sa conformation active. En outre, les sucres présentent une hydrophilie qui

permet d'augmenter la solubilité de la protéine dans les milieux aqueux et évite dans certains cas la formation d'agrégats insolubles. Nombre de glycoprotéines, lorsqu'elles sont dépourvues de leurs sucres, ne sont plus correctement secrétées. Les saccharides qui sont souvent répartis de manière homogène à la surface des protéines constituent une véritable barrière protectrice qui maintient la stabilité des protéines et leur confère une résistance à la chaleur et à l'attaque protéolytique. <sup>(43)</sup>



**Figure 8 : Rôle de modulateurs chimiques et physico-chimiques**

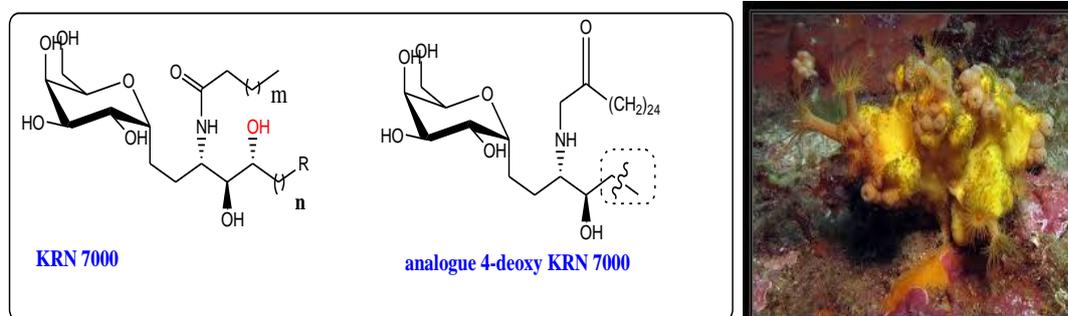
## V. L'INTERET THERAPEUTIQUE DES GLYCOCONJUGUES

90% des protéines du corps humain sont des glycoprotéines, c'est-à-dire des protéines portant un groupement de polysaccharides ou sucres. Par exemple, tous les anticorps sont des glycoprotéines et la plupart des virus ou des cancers utilisent des composés glucidiques pour se lier à certains récepteurs de glycoprotéines. La compréhension des mécanismes de ces interactions permettrait de découvrir de nouveaux médicaments. Cependant une glycoprotéine compte des centaines de polysaccharides différents et il est difficile de connaître leurs fonctions.

### A. Evaluation In vivo de prodrogues 4-deoxy-KRN7000 comme agents anticancéreux :

Le KRN 7000 est un dérivé d'agelasphines ; il s'agit d'un  $\alpha$ -galactosylcéramide, issu de l'éponge *Agelas mauritanus* <sup>(47)</sup>. Il active la réponse immunitaire et stimule la

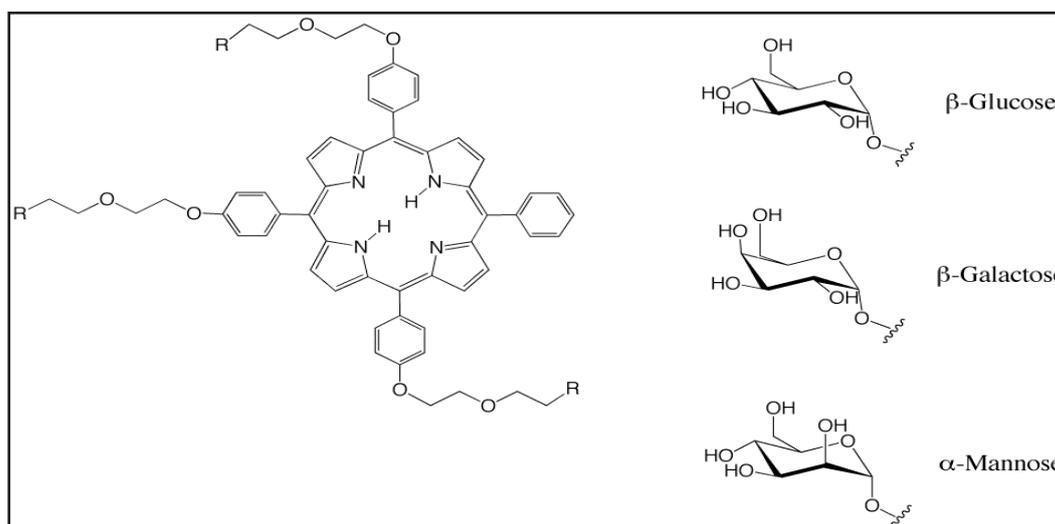
production de lymphocyte T ou (NKT). Il présente également des activités antimétastatiques (48), (49), L'analogues 4-désoxy du KRN7000 présente des profils immunomodulateurs similaires au KRN7000 tant in vitro qu'in vivo.



**Schéma 5: Présentation de la structure de KRN 7000 et l'analogue 4-désoxy-KRN7000**

### B. les porphyrines purement glycosylées :

La porphyrine suivante (Schéma 6), qui est un candidat potentiel pour un traitement curatif du rétinoblastome, est à rattacher à cette catégorie. Le rétinoblaste est la tumeur maligne intraoculaire la plus commune de l'enfant, touchant 1 bébé sur 20 000 naissances. Le traitement actuel de cette maladie orpheline est basé sur l'utilisation d'anticancéreux mutagènes. (50)



**Schéma 6: porphyrine para-triglycoconjuguée présentant une bonne activité *in vitro* dans le traitement du rétinoblastome**

### C. Candidats vaccins à base d'antigènes saccharidiques :

Dans le cadre d'une approche immunothérapeutique du cancer, L'élaboration de vaccins de type glycoconjugués devrait donc permettre l'induction d'une réponse immunitaire plus efficace puisque cela permettrait de mimer la surface des cellules cancéreuses.

On peut citer en exemple des vaccins de première génération élaborés par Danishefsky a été conjugué à une protéine transporteuse de type KLH (Keyhole- Limpet Hemocyanin) par l'intermédiaire d'un espaceur approprié. <sup>(51)(52)</sup>

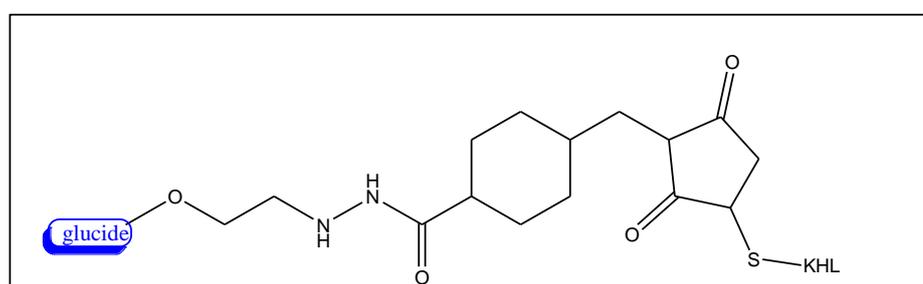


Schéma 7: Vaccin glycoconjugués monovalent

### VI. Méthodes de synthèse

Les glycoconjugués sont des longues chaînes moléculaires qui composent les protéines liés avec des sucres. Les glycoconjugués synthétiques sont utilisés soit comme médicaments, ou dans le diagnostic de la maladie. La synthèse des glycoconjugués n'est pas aisée, on doit veiller à ce que les acides aminés qui composent la chaîne soient ajoutés dans l'ordre correct et qu'ils ne subissent pas d'autres réactions. Par conséquent, il faut greffer les différents amino acides en tenant compte des processus de protection et de déprotection. Tout ceci prend du temps, peut devenir laborieux spécialement lorsque les rendements s'en ressentent.

Les glycopeptides et les oligosaccharides synthétiques représentent de bons modèles pour mener à bien une étude fonctionnelle. Cependant, la complexité des structures glucidiques ne facilite pas la production de tels mimes, et la plupart du temps, les problèmes de purification et les rendements faibles de synthèse permettent difficilement de réaliser une évaluation biologique du produit synthétisé.

- **Synthèse en phase solide :**

Depuis le travail de Merrifield en synthèse peptidique sur phase solide, qui lui a valu le Prix Nobel en 1963, la synthèse organique supportée a connu une popularité et un développement constants. La phase solide a tout d'abord été appliquée à la synthèse oligomérique de produits naturels tels que les polypeptides, polysaccharides et oligonucléotides. Ce sont les travaux de Fréchet et Leznoff, à la fin des années 1970, qui ont initié son utilisation dans la synthèse de petites molécules en effectuant des réactions organiques dans lesquelles un substrat, un réactif ou un catalyseur étaient greffés sur un polymère solide insoluble. Une autre application est la purification de mélanges réactionnels par des agents piégeants attachés sur supports solides : les « scavengers ». Un nombre important et une grande diversité de réactions organiques ont été transposés, avec succès, à la phase solide et ont été à l'origine, dans les années 1990, du développement de la synthèse combinatoire puis de la synthèse parallèle. Une technique qui a été mise au point consiste à attacher une extrémité du peptide à un polymère solide, ce qui signifie que le peptide ne peut pas être éliminé avec l'acide en excès. C'est beaucoup plus rapide que la synthèse classique, et conduit de façon spectaculaire à l'amélioration des rendements.

La chimie sur phase solide limite l'utilisation de solvants toxiques, inflammables, réduisant ainsi leur production et leur élimination, puisqu'elle résume les étapes de purification à de simples filtrations solide/liquide. Le polymère est recyclable, ce qui réduit les déchets. Les synthèses chimiques sont moins dangereuses et moins nocives, du fait de la grande stabilité chimique et physique des supports. L'activation par micro-ondes, ultrasons, haute pression et l'influence positive de solvants verts tels que les liquides ioniques ont été démontrées. Enfin, la toxicité ou la volatilité des composés greffés sont minimales, ce qui permet de prévenir les accidents, les maladies, les explosions et les incendies. Pour toutes ces raisons, la chimie sur phase solide a toute sa place dans le concept de la chimie verte.

- **Synthèse enzymatique :**

Parallèlement aux méthodes chimiques, la synthèse enzymatique est reconnue comme étant une alternative performante pour la synthèse d'oligosaccharides.<sup>(53)(54)</sup>

Naturellement stéréo- et régiosélective, la voie enzymatique a recours à des schémas de synthèse simplifiés, évitant toutes les étapes complexes de protection/déprotection de la chimie traditionnelle. Impliquées dans la biosynthèse naturelle des glucides ou glycoconjugués (glycoprotéines et glycolipides), les glycosyltransférases et les glycosidases

se révèlent être les deux classes d'enzymes les plus adaptées au développement d'une telle approche. Cependant, les premières catalysent la synthèse de glucides ou glycoconjugués à partir de sucres nucléotidiques, substrats rares et coûteux. De plus, très peu sont commercialisées. Les deuxièmes utilisent des substrats moins coûteux. Elles sont aussi plus faciles d'accès mais parfois peu efficaces en réaction de synthèse.

D'autre part, la spécificité des catalyseurs a ses revers. En effet, elle limite les réactions faisant intervenir des substrats non naturels. Ces dernières années, le remodelage d'enzymes basé sur des techniques d'ingénierie aussi bien rationnelle qu'aléatoire voire semi-rationnelle, s'est montré extrêmement prometteur pour conférer de nouvelles spécificités aux enzymes.<sup>(55)</sup>

Les étapes enzymatiques, une fois sélectionnées, peuvent être facilement intégrées dans des procédés de synthèses automatisées. Aucune synthèse purement enzymatique d'oligosaccharides mimant des haptènes anti-bactériens n'a été décrite à ce jour. En effet, la synthèse enzymatique d'un oligosaccharide composé de  $n$  résidus différents implique la formation de  $(n-1)$  liaisons osidiques et par conséquent, l'action de  $(n-1)$  enzymes distinctes. Du fait de la complexité des motifs oligosaccharidiques bactériens, ces enzymes sont rarement disponibles. C'est pourquoi la voie chimio-enzymatique est l'alternative préférée.

- **La synthèse chimio-enzymatique :**

Elle combine la flexibilité de la synthèse chimique et la haute sélectivité de la synthèse enzymatique en intégrant une ou plusieurs étapes enzymatiques dans une voie de synthèse chimique. Le plus souvent cette étape est intégrée en fin de synthèse. L'étape enzymatique met en oeuvre une  $\beta$ -(1-4) galactosyltransférase qui catalyse le greffage d'une unité galactose sur des intermédiaires oligosaccharidiques linéaires synthétisés chimiquement<sup>(56)</sup> <sup>(57)</sup> La combinaison chimio-enzymatique a été également proposée pour la synthèse d'un pentasaccharide, Le pentamère est obtenu en faisant agir successivement 3 enzymes sur du lactose préalablement dérivatisé *via* 4 étapes chimiques<sup>(58)</sup>. Dans ce cas, les étapes enzymatiques prédominent. La simplicité et le rendement global (80%) de cette synthèse illustrent l'efficacité de l'approche.

- **La synthèse et extraction à partir d'une usine cellulaire :**

L'utilisation de microorganismes génétiquement modifiés, nommés «usines cellulaires» s'ils sont utilisés en croissance, apparaît comme une méthode très efficace pour la

production d'oligosaccharides à grande échelle. <sup>(59)</sup> Il s'agit de modifier le microorganisme (généralement *Escherichia coli*) de façon à orienter certaines de ses voies métaboliques vers la synthèse de l'oligosaccharide d'intérêt. Les gènes codant pour les glycosyltransférases impliquées dans la biosynthèse de l'oligosaccharide sont introduits dans la bactérie dite alors recombinante et devront être exprimés sous une forme active. Si nécessaire, les gènes requis pour la synthèse de donneurs de type nucléotide-sucres sont aussi intégrés dans le génome ou dans un vecteur approprié. Le substrat de départ ou « accepteur » doit pouvoir être internalisé efficacement dans les cellules sans avoir subi de modification (hydrolyse) ou être produit par la cellule si elle est pourvue des enzymes adéquates. Ce système offre l'avantage d'un accès direct aux nucléotide-sucres sans avoir recours à l'isolement d'enzymes. Des niveaux de production de trisaccharide de l'ordre de 200g/L <sup>(60)</sup> ont été décrits. Néanmoins, cette voie a été expérimentée principalement pour des structures osidiques simples (di- ou trisaccharidique) et reste encore peu décrite pour la synthèse d'oligosaccharides plus complexes.

### **CHAPITRE 3 : PRESENTATION DE TRAVAIL ET GENERALITES**

## 1. HYMENISTATINE :

### 1.1- Généralités :

L'hymenistatine constitue l'un des meilleurs exemples récents dans la recherche de thérapies anticancéreuses. L'hymenistatine c'est un cyclo octapeptides naturel isolé d'une éponge *Hymeniacidon* trouvée dans l'ouest de l'océan Pacifique <sup>(61)</sup>, la séquence peptidique de l'hymenistatine est la (L-pro, L-pro, L-pro, L- Tyr, L-Val, L-Leu, L-Ile, L-Ile), isolée par petite et al en 1990 <sup>(63)</sup>. Seimion et ces collègues ont montré que l'hymenistatine possède une excellente activité contre la lignée cellulaire P388 de la leucémie<sup>(62)</sup>.

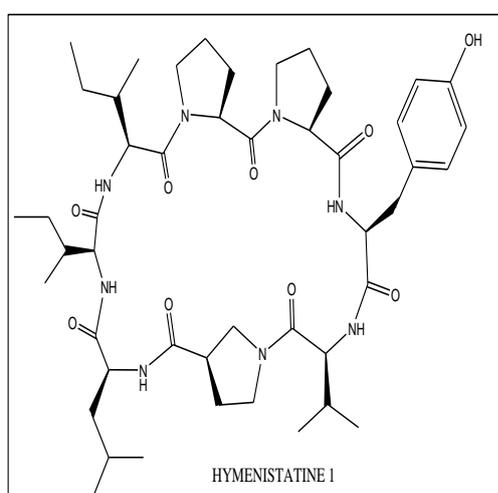


Schéma 8 : présentation de L'hymenistatine

## 2. SANSALVAMIDE:

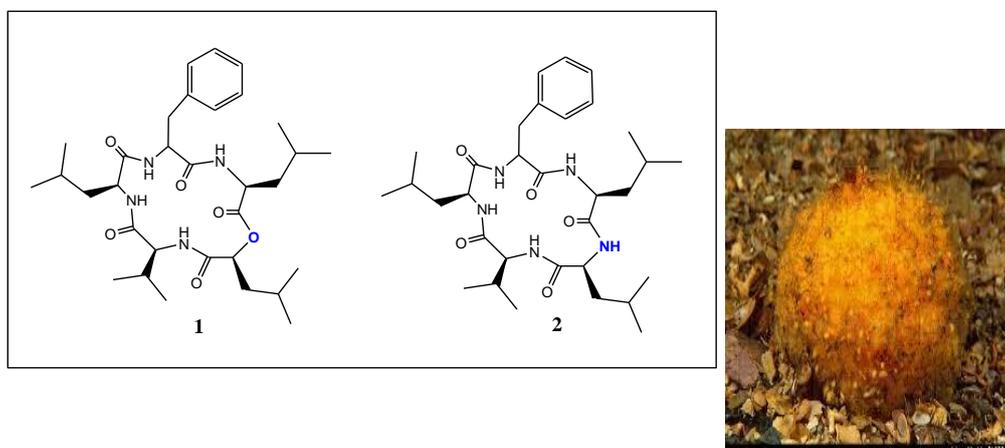
### 2.1-Généralités :

La survie des patients atteints de cancer du pancréas reste médiocre en raison des options chimio thérapeutiques inadéquates. <sup>(64)</sup>

Seulement 10% des patients sont éligibles pour la chirurgie, et du taux de mortalité de cinq ans pour les patients diagnostiqués avec le cancer du pancréas est de 95% <sup>(65)</sup>. Ces faibles taux de réponse exigent un besoin immédiat de nouveaux médicaments qui offrent des options supplémentaires à chimiothérapeutiques des patients.

La Sansalvamide 1 produit naturel a été isolée en 1999 par Fenical et ses collègues d'un champignon marin, possède une activité anti-tumorale, est un depsipeptide. Les dérivées du sansalvamide possèdent des activités contre le cancer du pancréas, cancer du sein, de la

prostate ceci indiquent clairement que ces dérivés possèdent un potentiel en tant que des nouveaux agents thérapeutiques pour le traitement de divers cancers. (66, 67)



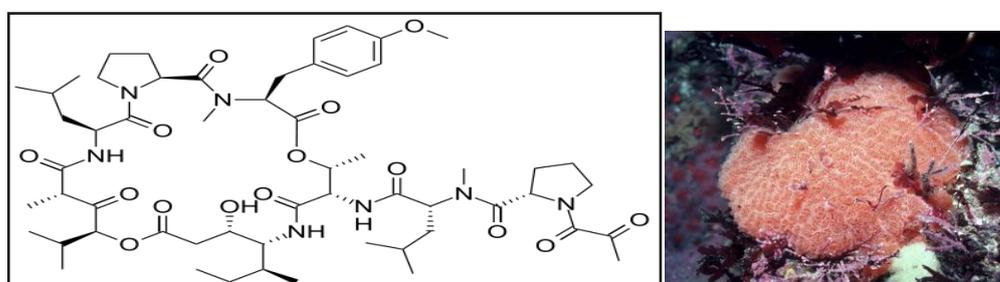
**Schéma 9: présentation du Sansalvamide**

### 3. DEHYDRODIDEMNINE :

#### 3.1-Généralités :

Aplidine, aussi connu comme Dihydrodidemnin B, est un depsipeptide cyclique dans lequel il ya une ou plusieurs liaisons ester à la place d'une ou plusieurs liaisons peptidiques. Sa structure chimique est très proche de celle de la didemnine B, la seule différence étant que le résidu de lactate dans la didemnine B est présent dans la version de pyruvate oxydé.

La didemnine, premier composé marin à faire l'objet d'essais cliniques de phase 2 sur sujet humains pour le traitement de certains cancers, il s'est avéré tellement toxique. La didemnine a été remplacée par l'aplidine qui possède une structure semblable à celle de la didemnine. Mais elle est moins toxique. (36)



**Schéma 10: Présentation de la Didemnine B**

#### 4. OBJECTIF DU TRAVAIL

L'objectif majeur de notre travail est la synthèse de dérivés glucidiques de fragments de l'hymenistatine, Sansalvamide après modification et dehydrodidemnine (schéma 11 et 12).

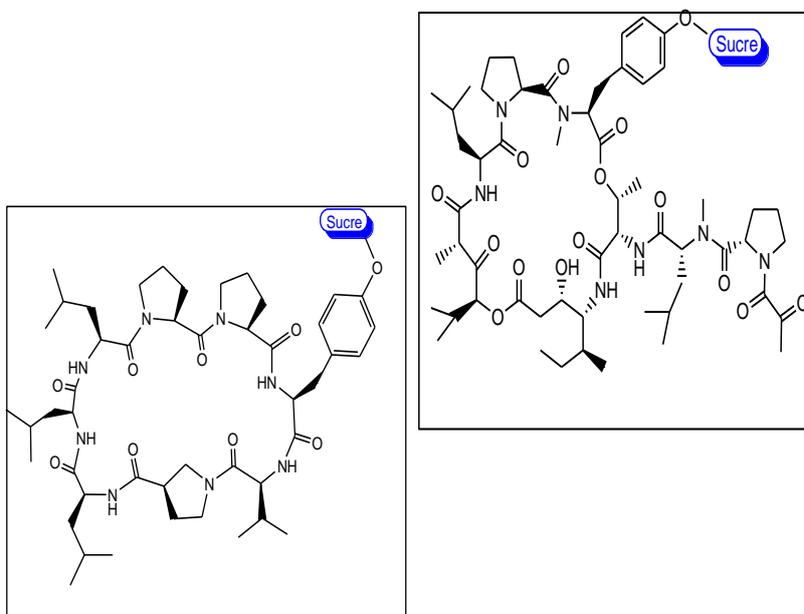


Schéma 11: Dérivés glucidique l'hymenistatine et Déhydrodidemnine

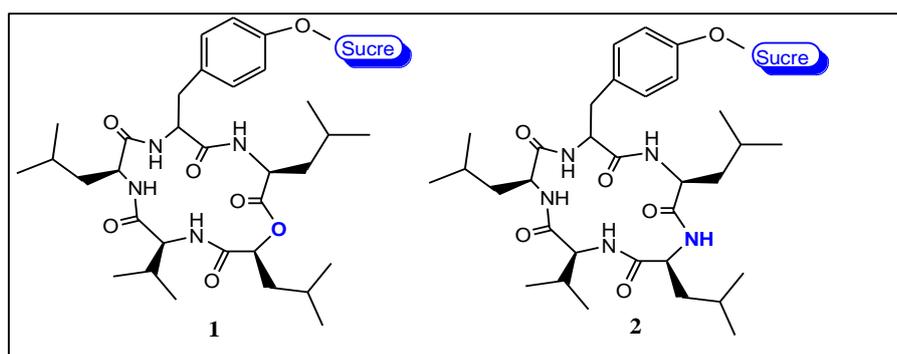


Schéma 12: Dérivés glucidique de Sansalvamide 1 et Sansalvamide 2

## 5. EXAMEN RETROSYNTHETIQUE

### a. Hymenistatine et dehydrodidemnine :

Pour les besoins de la rétrosynthèse, l'hymenistatine ou dehydrodidemnine peut être décomposée en deux unités. L'unité **A** est notre fragment cible (schéma 13). Le reste de la molécule est une séquence des acides aminés (schéma 13) que l'on peut coupler les uns aux autres.

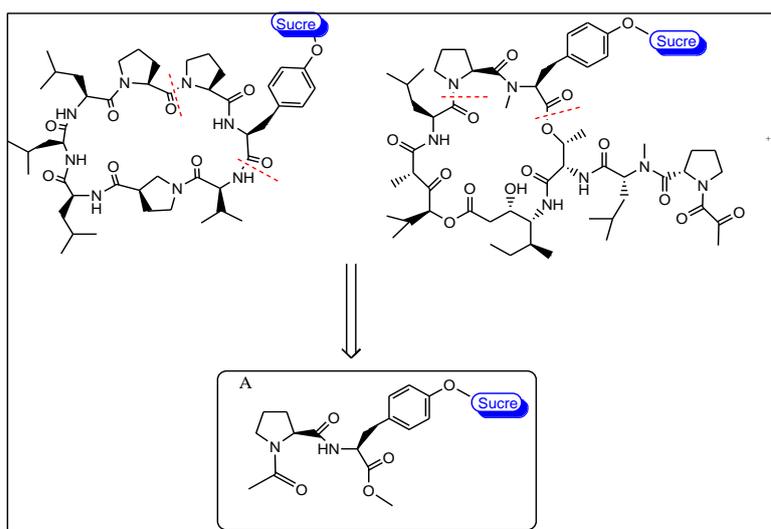


Schéma 13 : Fragment A

### b. Sansalvamide 1 et Sansalvamide 2 :

Aussi la Sansalvamide peut être décomposée en deux unités. L'unité **B** est notre fragment cible (schéma 14). Le reste de la molécule est une séquence de trois acides aminés que l'on peut coupler les uns aux autres.

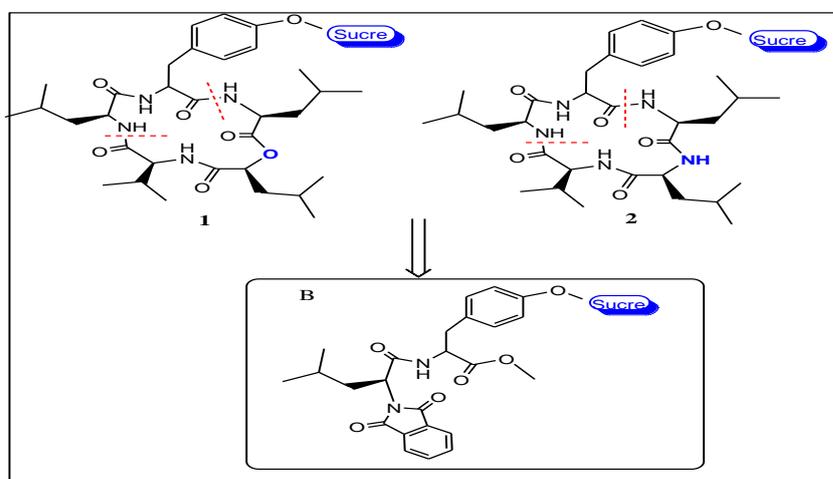


Schéma 14 : Fragment B glucidique cible

## 6. SCHEMA DE SYNTHESE

### ✓ Les réactions 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.

#### A. Protection de la fonction acide de la L-tyrosine

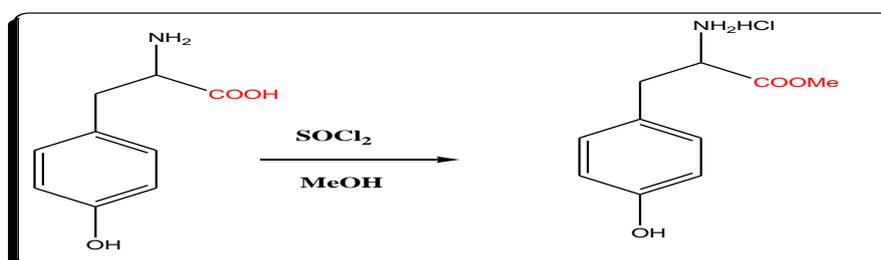


Schéma 15: protection de la fonction acide de la L-Tyrosine

A cause de la présence simultanée des fonctions acide et amino sur les amino-acides, il est souvent nécessaire de protéger au préalable la fonction acide carboxylique lorsqu'on souhaite effectuer des transformations ou des synthèses à partir du groupe amino. Une des méthodes d'obtention quasiment quantitative des esters des acides carboxyliques consiste à traiter ces derniers avec le chlorure de thionyle (SOCl<sub>2</sub>) pour former un chlorure d'acyle intermédiaire qui est ensuite traité avec un alcool. Ce processus peut parfois conduire à une racémisation du produit de réaction.

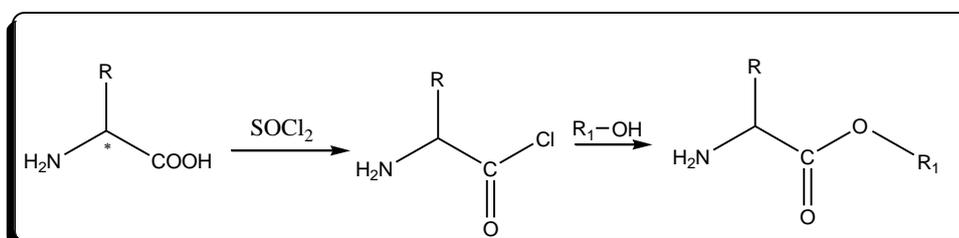
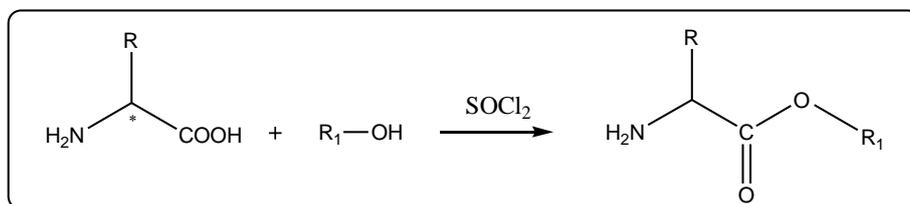


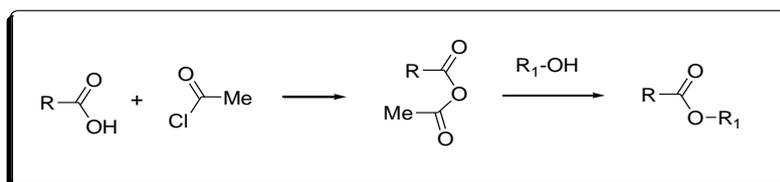
Schéma 16 : protection de la fonction acide

Pour éviter ou réduire la racémisation, on peut traiter le mélange d'acide et d'alcool par le chlorure de thionyle. <sup>(68)</sup>



**Schéma 17**

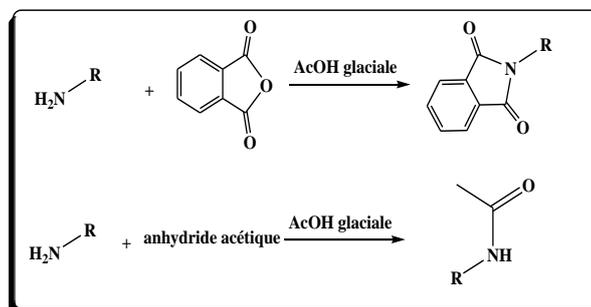
Une méthode plus douce et qu'on utilise souvent consiste à traiter l'acide aminé avec le chlorure d'acétyl en présence de l'alcool (**Schéma 18**).



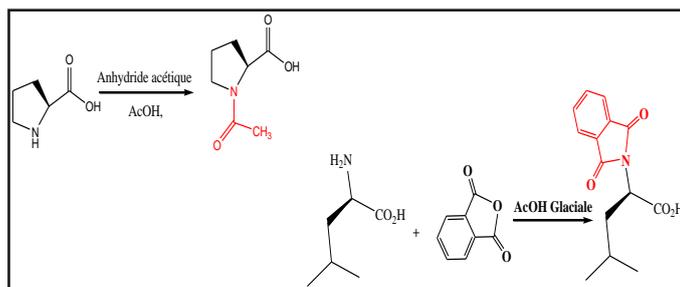
**Schéma 18 : traitement de la fonction acide de l'acide aminé avec le chlorure d'acétyl**

### B. Protection de la fonction amine des acides aminés L-pro et la L-leu :

Dans notre laboratoire, les acides aminés sont protégés par l'anhydride phthalique en solution dans l'acide acétique glacial, et par l'anhydride acétique dans les mêmes conditions opératoires.



**Schéma 19 : protection de la fonction amine des acides aminés**



**Schéma 20 : protection de la L-proline et L-leucine**

### C. Couplage peptidique :

La réaction de couplage constitue une classe importante en synthèse organique, dans laquelle 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. Les aminoacides sont utilisés lors de la synthèse peptidique dont ils sont les "monomères". Lors d'une réaction de couplage peptidique, il est nécessaire de rajouter un agent de couplage. L'EDC est un bon exemple d'un tel agent, mais d'autres composés comme le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) <sup>(69)</sup> <sup>(70)</sup> sont aussi utilisés. Parfois, on ajoute aussi au milieu réactionnel *N*-hydroxybenzotriazole (HOBt) afin d'éviter toute épimérisation des centres stéréogènes.

DCC	EDC	HOBt
	$\text{Et}-\text{N}=\text{C}=\text{N}-(\text{CH}_2)_3-(\text{NMe})_2\text{HCl}$	

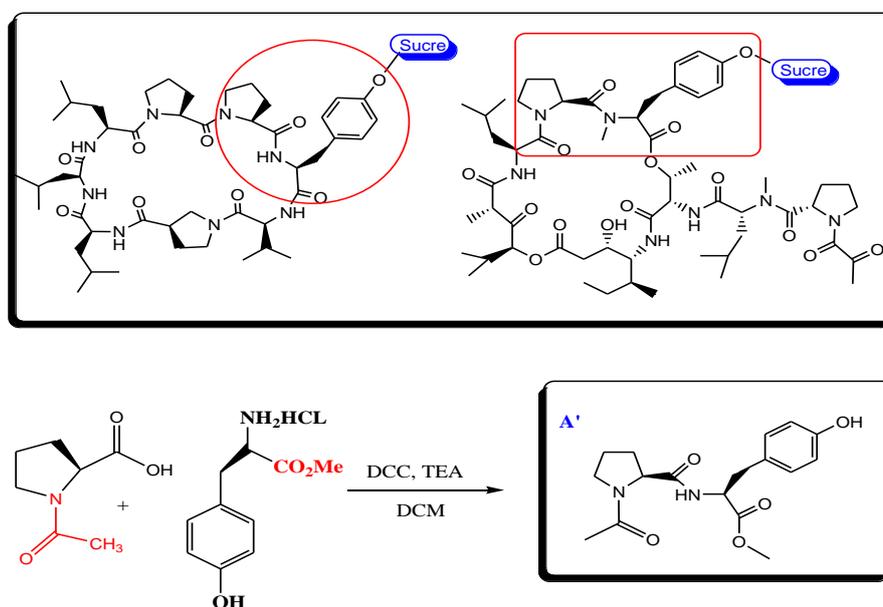
**Schéma 21 : Présentation structurale d'EDC et HOBt**

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 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.

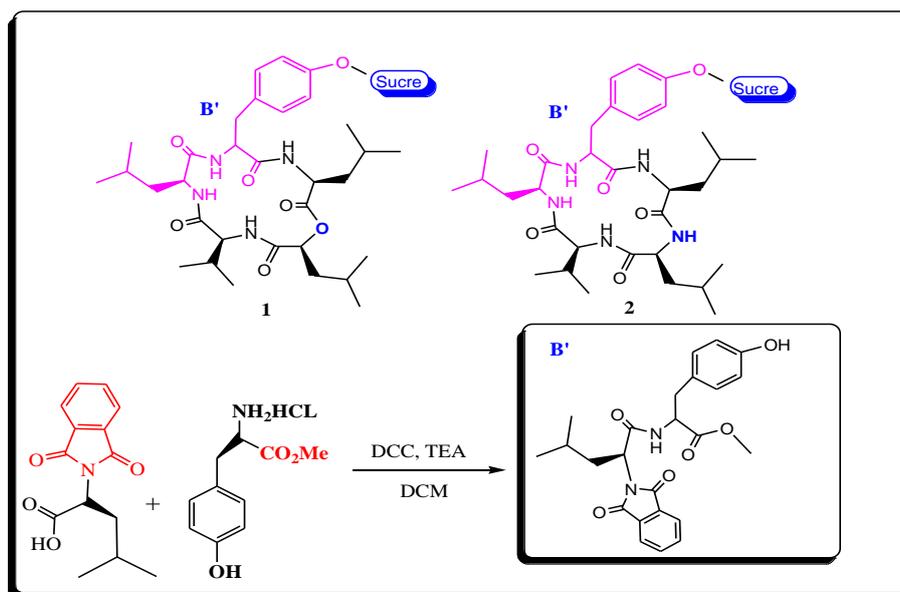
Le DCC est ajouté au mélange de l'acide, la base et l'amine ou bien l'alcool dans Un solvant comme l'acétonitrile ou le dichlorométhane à 0°C conduit à la formation du Produit désiré, ainsi que le dicyclohexylure DCU.

Dans notre cas, le couplage peptidique entre la N-acétyl-L-proline et l'ester méthylique de la L-Tyrosine conduit au fragment A' qui est le précurseur de notre produit cible A (Schéma 22).



**Schéma 22 : couplage peptidique entre la L-Proline et la L-Tyrosine**

**Et puis,** le couplage peptidique entre la N-phthalimido-L-leucine et l'ester méthylique de la L-Tyrosine conduit au fragment B' qui est le précurseur de notre produit cible B (Schéma 23).



**Schéma 23 : couplage entre la L-Leucine et la L-Tyrosine**

## D. PROTECTION DES SUCRES :

### 1. Généralités :

Les sucres ou saccharides sont les biomolécules les plus abondantes sur la planète. Ils sont importants dans bon nombre de rôles biologiques. Ce sont les constituants majoritaires de l'alimentation. Les sucres insolubles servent également de matériel structural dans la paroi cellulaire des végétaux et des bactéries ainsi que dans les tissus conjonctifs et membranes cellulaires des animaux. Les polymères de sucres servent également à lubrifier les articulations du squelette, ont une fonction de reconnaissance cellulaire, de sites antigéniques.

### 2. Protection des sucres :

Au même titre que la synthèse peptidique, la manipulation de groupes protecteurs est primordiale en chimie des sucres. Elle présente de nombreuses difficultés qui sont essentiellement liées à la nature de fonctions réactives d'un sucre (hydroxyles). Un choix rigoureux de groupements protecteurs doit permettre de libérer spécifiquement au cours de la synthèse une position choisie. Comme on peut le voir sur le schéma 24. Les groupes protecteurs peuvent être de nature différentes : les éthers qui demanderont des conditions de déprotections assez fortes (TFA, Pd/C, NaOMe), les esters, ou les acétals qui se déprotégeront dans des conditions plus douces.<sup>(71)</sup>

Protection de la fonction hydroxy des sucres	
ETHER	
	R=H=Bn conditions de déprotection (Pd/C) R=OMe conditions de déprotection (TFA) R=OAc conditions de déprotection (NaOMe) R=halogène conditions de déprotection (Pd,Amine,Acide)
	Conditions de déprotection (TsOH)
	conditions de déprotection (tBuOK,Pd)
ACETAL	
	R=Me R=Ph les conditions de déprotection (TFA,AcOH)
ESTER	
	R=Me,Ph,CIPh conditions de déprotection NaOMe, NaHCO3, thiourée

**Schéma 24 : Groupes protecteurs classiques utilisés en chimie des sucres (conditions de déprotections entre parenthèse) <sup>(72)</sup>**

De plus, la nature du groupement protecteur du carbone en C-2 influence fortement l'orientation de la réaction lors d'une étape de couplage glycosidique. La présence d'un groupe acylé participant en position 2-équatoriale oriente l'attaque du nucléophile du côté le moins encombré, via un intermédiaire dioxocarbénium (assistance anchimérique). Dans ce cas, une liaison de type (1,2trans) est formée stéréoselectivement<sup>(73)</sup>. En induit la formation préférentielle de l'isomère, mais peut fournir également une quantité non négligeable de l'isomère. Il en résulte un mélange de deux diastéréoisomères souvent difficiles à séparer. On peut dans ce cas favoriser une configuration plutôt qu'une autre.

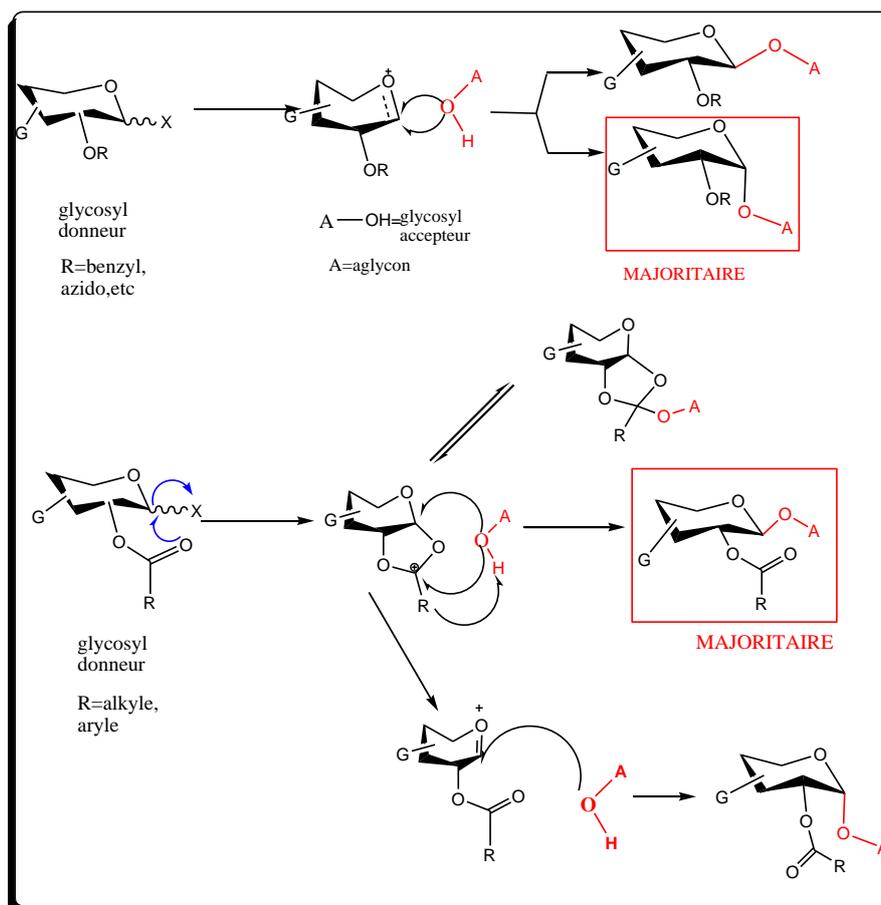


Schéma 25 : Mécanisme de glycosylation avec ou sans assistance anchimérique. <sup>(74)</sup>

La dernière étape de notre travail consiste à préparer les analogues glucidiques de fragments de l'hymenistatine, Sansalvamide et dehydrodidemnine (Schéma 26)

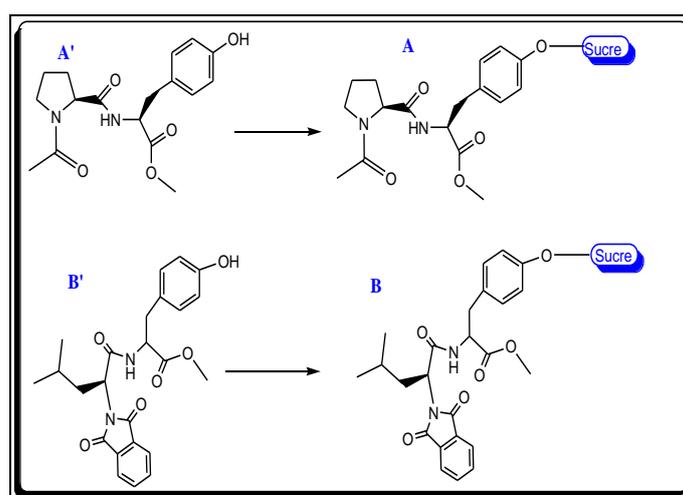


Schéma 26: les analogues glucidiques de fragments de l'hymenistatine, sansalvamide et dehydrodidemnine

## **Chapitre 04: TRAVAIL Effectué**

## 1. Généralités:

Les acides aminés sont des composés qui possèdent une fonction amine (basique) et une fonction acide carboxylique (acide). Il existe deux familles importantes d'acides aminés : les  $\alpha$ -amino-acides (les fonctions amines et acides carboxyliques sont portées par le même carbone) et les  $\beta$ -amino-acides (la fonction acide est en  $\beta$  de la fonction amine). Les acides aminés sont donc des molécules chirales, qui possèdent deux isomères possibles : l'un de la série D l'autre de la série L.

Il se trouve que tous les acides aminés naturels trouvés dans les molécules du vivant sont de la série L.

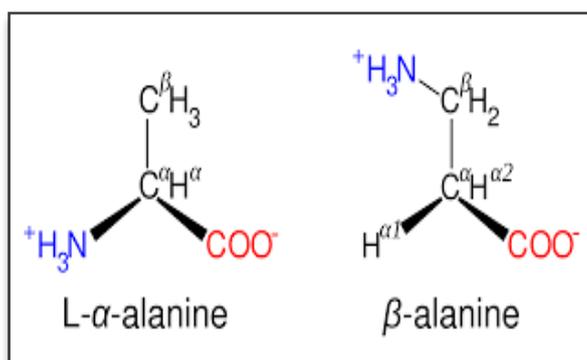


Figure 9

## 2. Protection des acides aminés :

### 2.1-Protection de la fonction acide

Une des méthodes d'obtention quasiment quantitative des esters des acides carboxyliques consiste à traiter ces derniers avec le chlorure de thionyle ( $SOCl_2$ ) pour former un chlorure d'acyle intermédiaire qui est ensuite traité avec un alcool. Ce processus peut parfois conduire à une racémisation du produit de réaction.

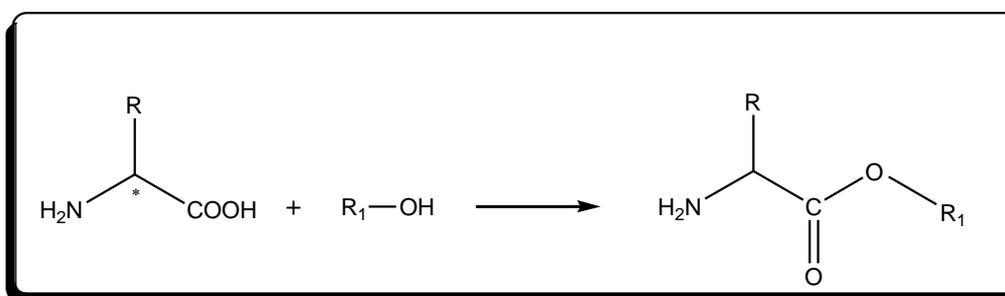
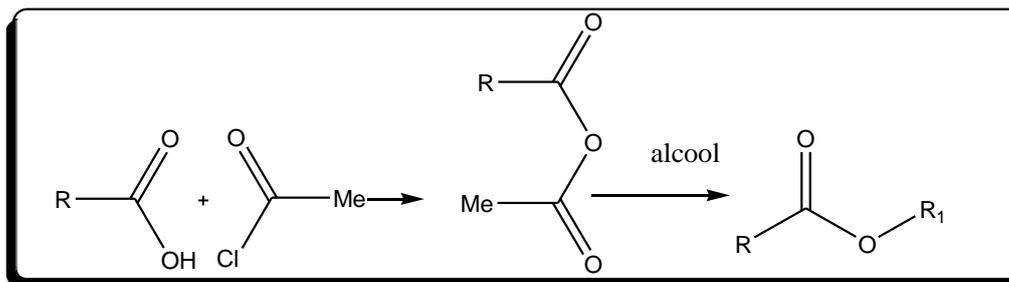


Schéma 28

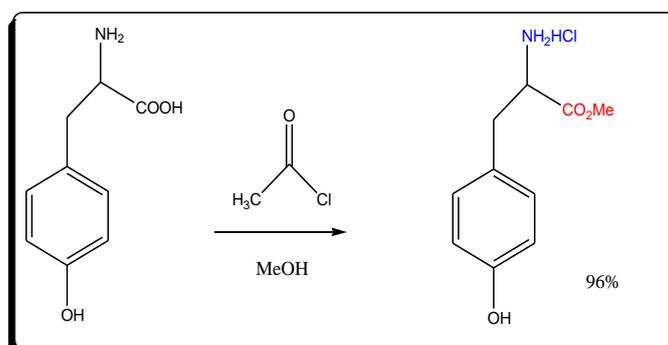
Une méthode plus douce et qu'on utilise souvent consiste à traiter l'acide aminé avec le Chlorure d'acétyle en présence de l'alcool.



**Schéma 29 : le traitement de l'acide avec le Chlorure d'acétyle en présence de l'alcool**

### 2.2.-Estérification de la L-tyrosine :

L'estérification de la L-tyrosine a été effectuée conformément à ce dernier procédé et le rendement de la réaction est élevé.



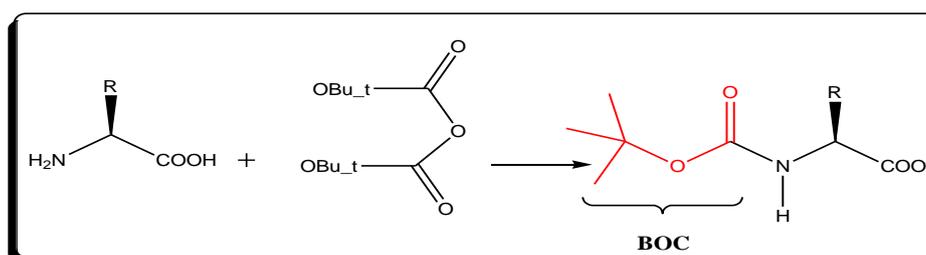
**Schéma 30 : Estérification de la L-tyrosine**

### 2.3-Protection de la fonction amine

Il existe plusieurs groupements protecteurs dont chacun présente des atouts et des inconvénients en fonction des conditions opératoires.

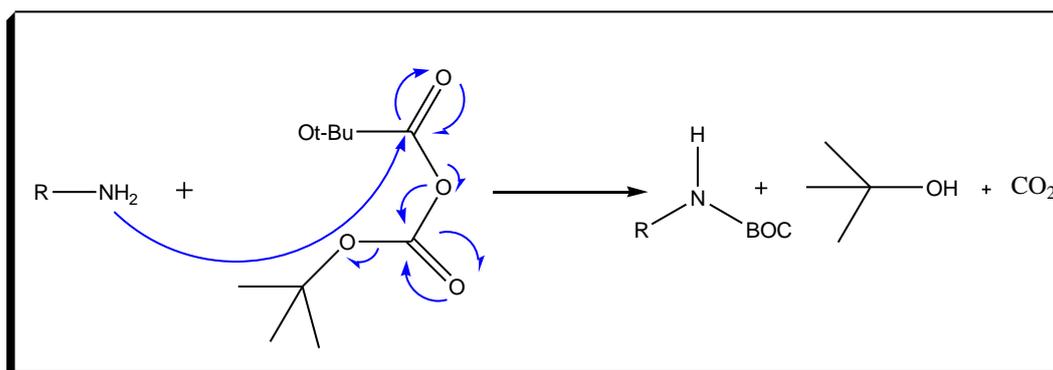
#### 2.3.1-Protection par le t-butoxycarbonyle (Boc)

Le groupe tertibutoxycarbonyle (Boc)<sup>75</sup> se prête bien à la protection du groupe amino comme le montre le schéma suivant :



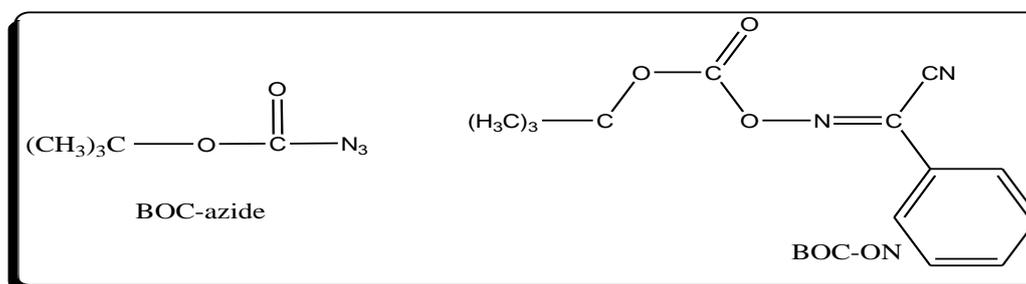
**Schéma 31 : Protection par le t-butoxycarbonyle (Boc)**

Le mécanisme de la protection par le Boc :



**Schéma 32 : Le mécanisme de la protection par le Boc**

Deux autres réactifs peuvent être utilisés pour introduire le groupe Boc sur une fonction amino, il s'agit du t-butylazidocarbonate (Boc-azide)<sup>76,77</sup> et du t-(butoxycarbonyloxyimino)-2-phénylacétonitrile (Boc-ON)<sup>78, 79</sup>. Signalons qu'il est nécessaire de prendre des précautions lors de l'utilisation du Boc-azide à cause de sa forte tendance à exploser lors de la distillation qui suit le processus de protection<sup>80</sup>.



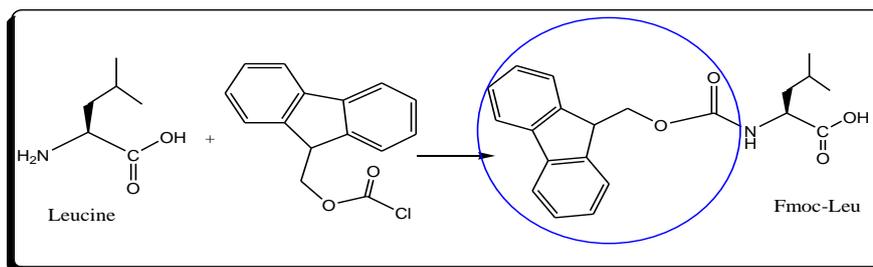
**Schéma 32 : présentation du Boc-azide et Boc-ON**

La déprotection de groupe Boc se fait dans les conditions opératoires impliquant l'utilisation de l'eau, l'acide trifluoroacétique (TFA) et l'acide bromhydrique dans le dichlorométhane.

### 2.3.2 Protection par le 9-Fluorenylméthoxycarbonyle (Fmoc) :

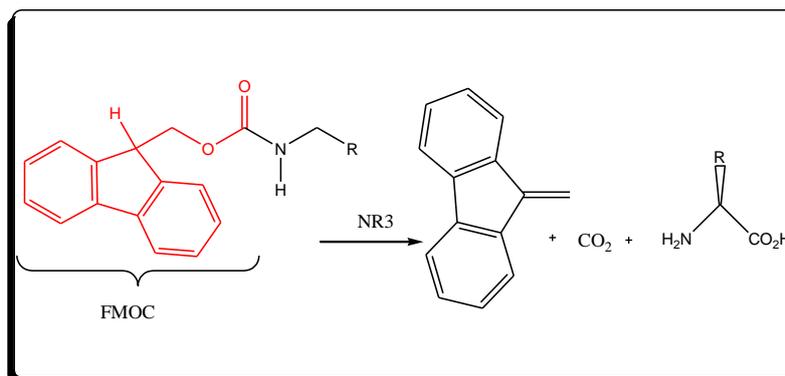
La stratégie Fmoc utilise le fluoreneméthoxycarbonyle, labile en milieu nucléophile ; il est enlevé en quelques secondes par une solution de pipéridine dans le DMF dans des conditions Douces<sup>81</sup>. La déprotection de groupe Fmoc se fait selon le schéma suivant :

- **Protection**



**Schéma 33 : Protection par le 9-Fluorenylméthoxycarbonyle**

- **Déprotection**

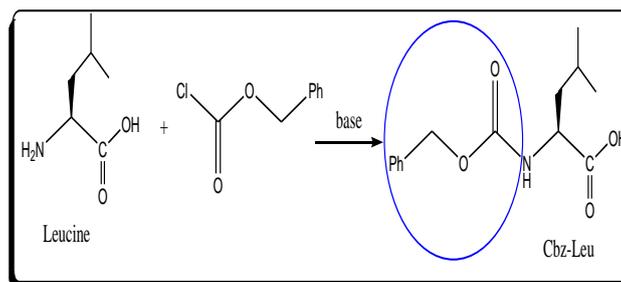
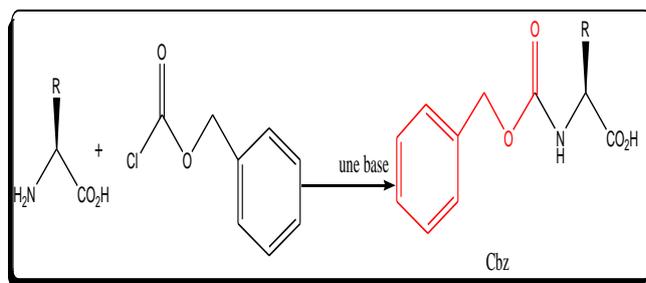


**Schéma 34 : La déprotection de groupe Fmoc**

### 2.3.3 Protection par le benzyloxycarbonyle (Cbz) :

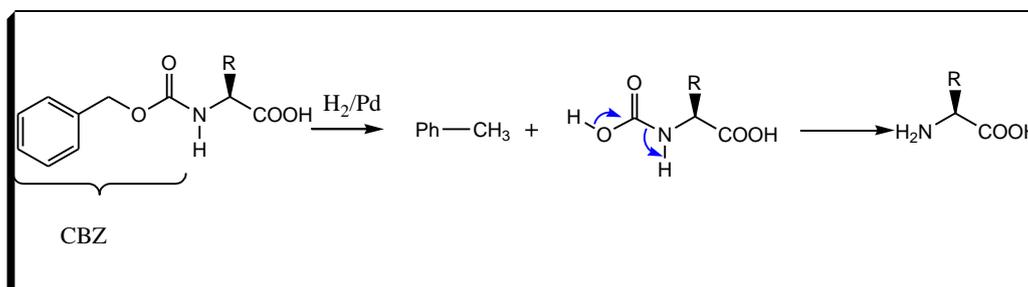
Le groupe Cbz est le groupe protecteur le plus utilisé actuellement pour la fonction amino. Le processus de protection est réalisé par l'addition à l'amine d'un équivalent de chloroformiate de benzyle et d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium 2N, suivi d'un reflux<sup>82</sup>

A la place de la soude caustique, d'autres bases comme le bicarbonate de sodium<sup>83</sup> ou de potassium<sup>84</sup> peuvent être utilisées. Dans ce cas, les rendements en aminoacides protégés sont sensiblement améliorés.



**Schéma 35 : Protection par le benzyloxycarbonyle (Cbz)**

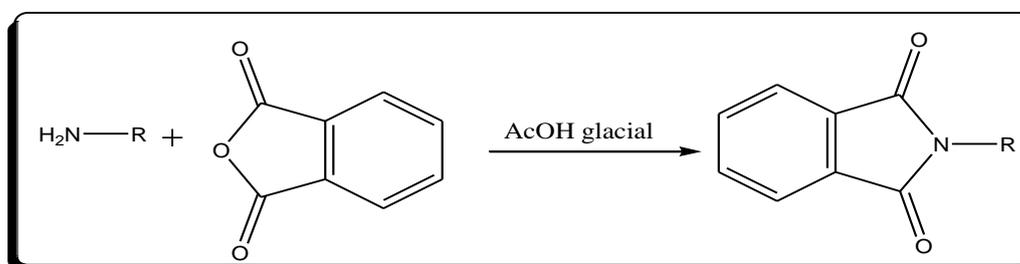
D'autre part, le groupe Cbz est relativement stable dans des conditions acides mais facilement enlevé par hydrogénation catalytique. La déprotection de groupe Cbz se fait dans les conditions opératoires : hydrogénolyse, HBr, CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H.



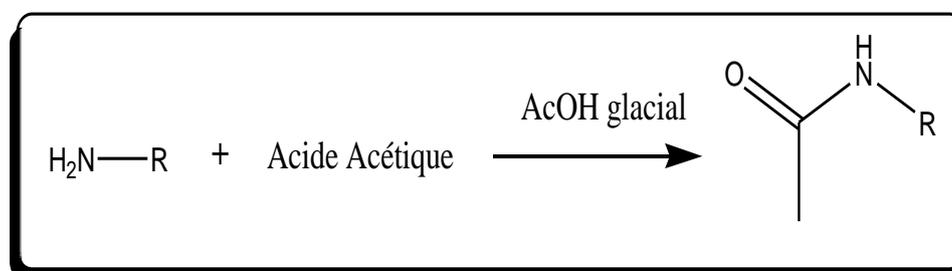
**Schéma 36 : La déprotection de groupe Cbz**

### 2.3.4 Protection par l'anhydride phtalique et l'anhydride acétique :

Dans notre laboratoire, les amino acides sont protégés par l'anhydride phtalique en solution dans l'acide acétique glacial<sup>85</sup>, et par l'anhydride acétique dans les mêmes conditions Opératoires Le choix de l'anhydre phtalique n'a pas été fait hasard, ce réactif est utilisé dans cette protection pour deux raisons, premièrement parce qu'il est disponible dans notre laboratoire et qui n'est pas onéreux, et deuxièmement, il présente une bonne stabilité dans les conditions opératoires utilisées dans ce travail.

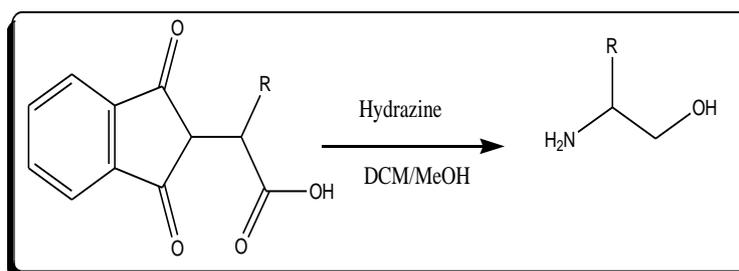


**Schéma 37 : Protection de la fonction amine par l'anhydride phtalique**



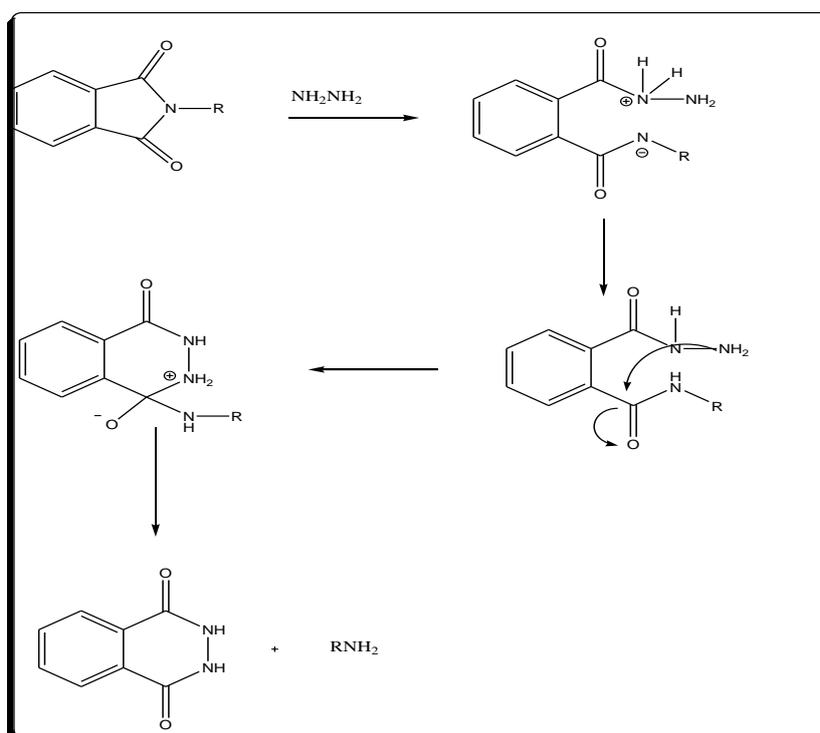
**Schéma 38 : Protection de la fonction amine par l'anhydride acétique**

- **Déprotection**



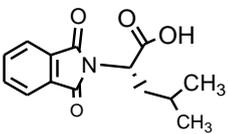
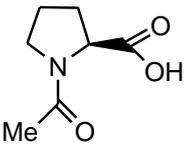
**Schéma 39: la déprotection de la fonction amine**

- **Mécanisme de la déprotection**



**Schéma 40 : mécanisme de la déprotection de la fonction amine**

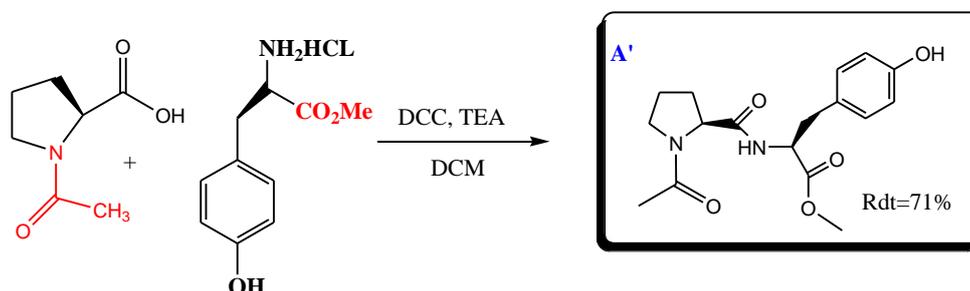
### 3. Protections effectuées :

Produit	Structure	Conditions Opératoires	Purification	Rendement
N-phthalimido-L-leucine		anhydride phtalique/AcOH glaciale reflux 2h	recristallisation eau/éthanol	70%
N-acétyl-L-proline		chlorure d'acétyle Anhydride acétique AcOH	cristallisation dans l'éther	99,65%

#### Schéma 41: les protections de la fonction amine effectuées au laboratoire

### 4. Couplage peptidique entre l'ester méthylique de la L-tyrosine et N-acétyl-L-proline :

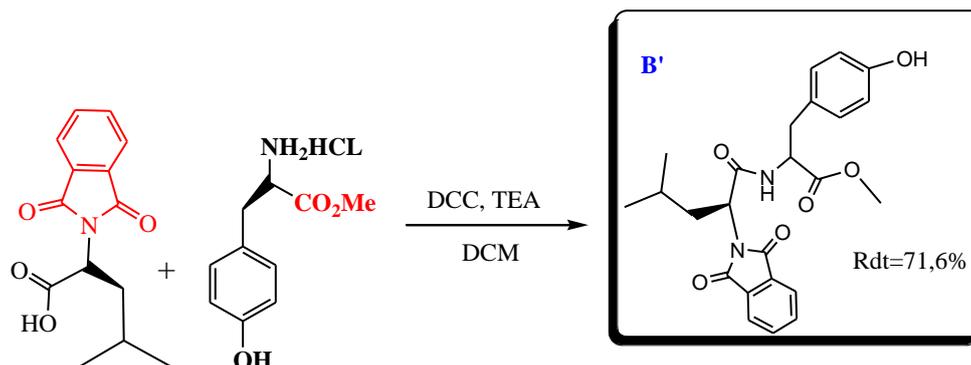
Le couplage de la *N*-acétyl-L-proline avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de la L-tyrosine dans le dichlorométhane en utilisant le DCC et la triméthylamine pour libérer la fonction amine *in situ* (schéma 42), conduit au dipeptide **A'**. Cette manière de procéder évite l'isolation de l'ester avec la fonction amino libre, pour la condenser ensuite avec le groupe carboxyle de la *N*-acétyl-L-proline.



#### Schéma 42 : Couplage peptidique entre l'ester méthylique de la L-tyrosine et N-acétyl-L-proline :

## 5. Couplage peptidique entre l'ester méthylique de la L-tyrosine et la L-leucine :

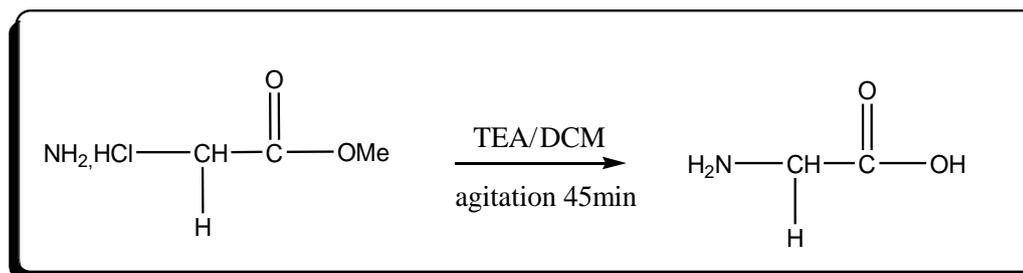
Le couplage de la *N*-phtalimido-L-leucine avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de la L-tyrosine dans le dichlorométhane en utilisant le DCC comme agent de couplage et la triméthylamine pour libérer la fonction amine *in situ* (schéma 43), conduit au dipeptide **B'**. Cette manière de procéder évite l'isolation de l'ester avec la fonction amino libre, pour la condenser ensuite avec le groupe carboxyle de *N*-phtalimide-L-leucine



**Schéma 43 : Couplage peptidique entre l'ester méthylique de la L-tyrosine et la N-phtalimido- L-leucine**

### • Récupération de l'amine libre à partir du chlorhydrate de l'ester méthylique de l'acide aminé :

La récupération classique de l'amine libre à partir d'un chlorhydrate de l'ester méthylique de l'acide aminé est très difficile si on utilise comme base le NaOH, parce que l'amine libre est très soluble dans la phase aqueuse, et cela réduit considérablement les rendements. Une méthode originale et très efficace que nous avons développée dans notre laboratoire consiste à traiter une suspension du chlorhydrate dans le THF anhydre avec un équivalent de triéthylamine (TEA). Le mélange est agité pendant 45min puis, on filtre le chlorure detriéthylammonium et on évapore le filtrat pour récupérer l'amine libre.



**Schéma 44 : Récupération de l'amine libre à partir du chlorhydrate de l'ester**

## 6. Protection des sucres :

### 6.1- protection des sucres selon Michael :

Le chemin décrit dans le schéma 46 permet d'obtenir le bromure de 2, 3, 4, 6-penta-O-acétyl-D-glucopyranose et comporte deux étapes. L'acétylation du glucose en présence de pyridine donne le 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-acétyl-D-glucopyranose avec un rendement de 75% après une double recristallisation dans l'éthanol absolu. Le traitement avec une solution de HBr à 33 % dans l'acide acétique à température ambiante donne le bromure de 2, 3, 4, 6-penta-Oacétyl- D-glucopyranose avec un rendement de 86%. Le produit cristallise dans un mélange le hexane-éther éthylique 70:30. Dans son ensemble, cette réaction conduit à un rendement global de 73,5% à partir du glucose.

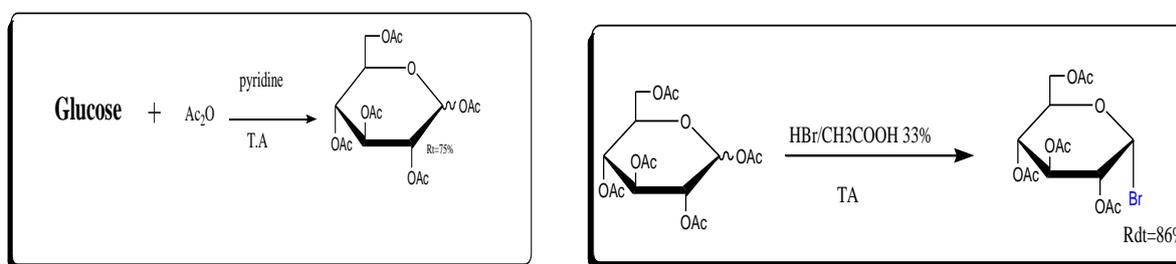


Schéma 46 : protection des sucres selon Michael

### 6.2-Acétylation des alcools avec l'anhydride acétique :

Concrètement, nous avons procédé de la manière suivante : l'action de l'anhydride acétique en présence d'iode sur le glucose permet d'arriver au dérivé avec un rendement de 50,76% après une double recristallisation dans l'éthanol (schéma 47).

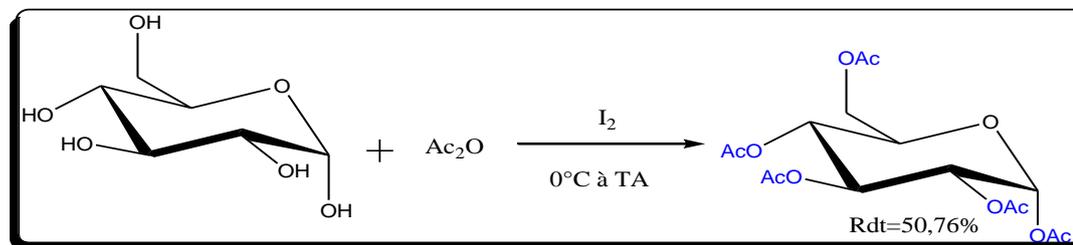


Schéma 47 : Acétylation des alcools avec l'anhydride acétique

## 7. Méthode générale de glycosylation :

Le procédé général applicable à la glycosylation des phénols se déroule de la manière suivante : une solution contenant le phénol et le NaOH est agitée pendant 1h et refroidie dans un bain de glace. A cette solution, on additionne goutte à goutte une solution de bromure de glycosyle dans l'acétone, sur une période de 30 min. L'agitation est maintenue à température ambiante sous azote à l'abri de la lumière jusqu'à disparition totale du produit de départ. A la fin de la réaction, on évapore l'acétone et on extrait au dichlorométhane.

La phase organique est lavée à l'eau, séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre, filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu restant est purifié par chromatographie sur gel de silice avec des mélanges hexane-AcOEt ou DCM-Acétone. Pour déprotéger la partie sucre du glucoside, on traite ce dernier dans le méthanol à 25°C par une quantité catalytique de méthanolate de sodium. A la fin de la réaction, on neutralise avec quelques gouttes d'acide acétique et on évapore le méthanol puis on sépare le *O*-glycoside d'aryle par chromatographie liquide sur gel de silice avec comme éluant un mélange AcOEt-MeOH (7 :3)

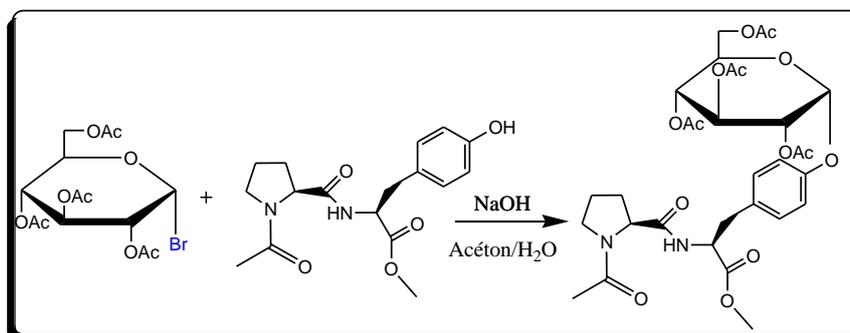


Schéma 48: le greffage de 2, 3, 4, 6-penta-Oacétyl- D-glucopyranose sur le fragment A'

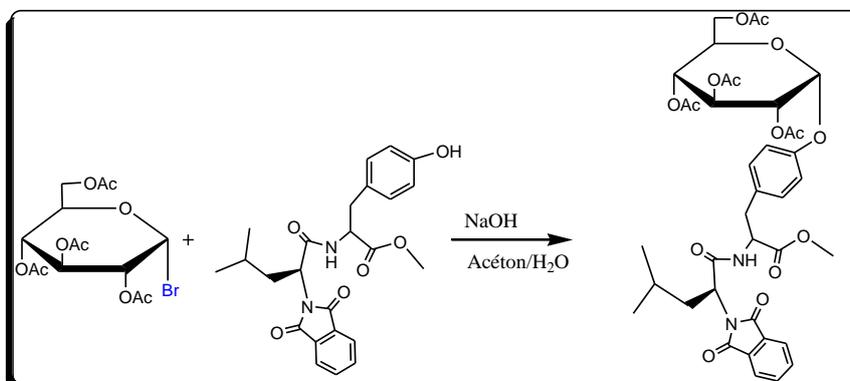


Schéma 49: le greffage de 2, 3, 4, 6-penta-Oacétyl- D-glucopyranose sur le fragment B'

## 8. Synthèse de l'anhydride glucuronique :

Concrètement, nous avons procédé de la manière suivante : l'action de l'anhydride acétique en présence d'iode sur l'acide glucuronique permet d'arriver au dérivé (D) avec un rendement de 89% après une recristallisation dans le cyclohexane (schéma 50).

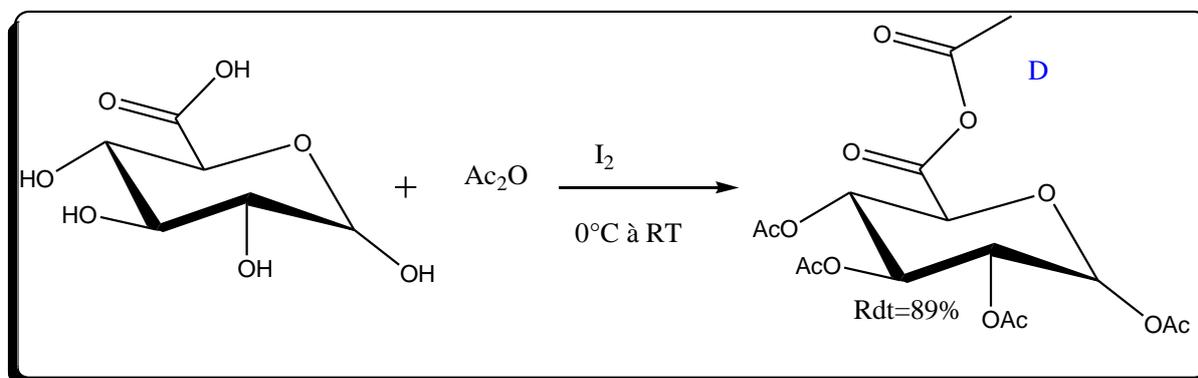
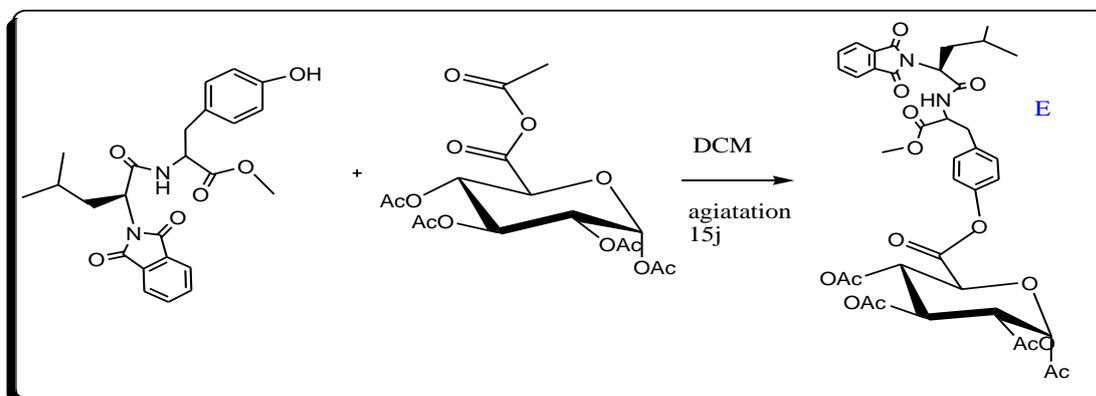


Schéma 50 : Synthèse de l'anhydride glucuronique

## 9. les protections des sucres effectués :

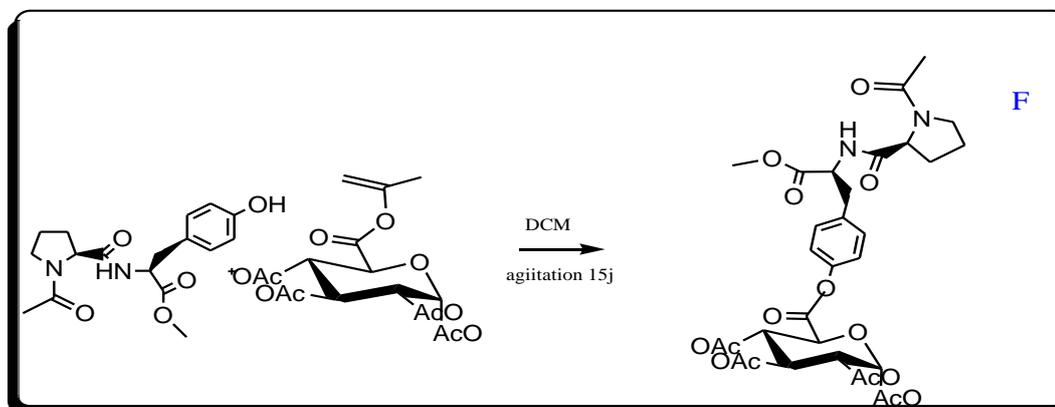
structure	nomenclature	recristallisation	rendement
	1,2,3,4,6-penta-O- acétyl-D- glucopyranose	éthanol absolu	50,76%
	1,2,3,4,6-penta-O- acétyl-D- glucopyranose	éthanol absolu	74,31%
	anhydride glucuronique	cyclohexane	89%

Nous avons couplé le fragment A' avec l'anhydride glucuronique. La réaction se déroule durant 15j sous agitation dans le DCM. Après purification par recristallisation avec un mélange AcOEt- cyclohexane (1 :9), on obtient le composé (E) avec un rendement de 67%, sous forme d'un solide blanc (schéma 51).



**Schéma 51 : le greffage de l'anhydride glucuronique sur le fragment A'**

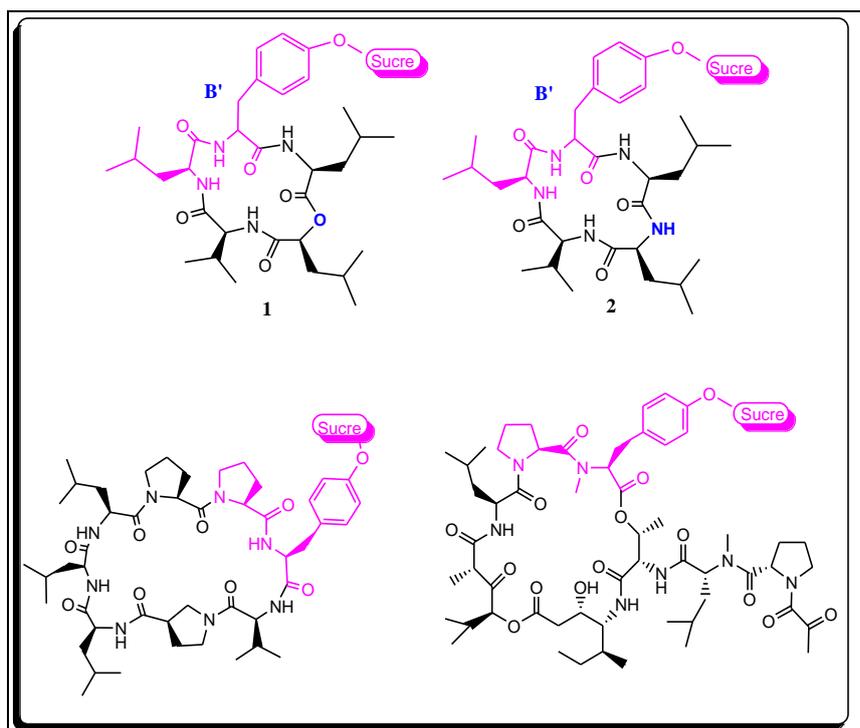
De même, le greffage de l'anhydride glucuronique dans les mêmes conditions sur le fragment B' permet d'accéder au composé (F) avec un rendement de 84 %, sous forme d'un solide blanc, après purification faite avec un mélange AcOEt-cyclohexane (1:9) (schéma 52)



**Schéma 52 : le greffage de l'anhydride glucuronique sur le fragment B'**

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Pour l'industrie pharmaceutique, les produits d'origine naturelle restent une source inépuisable de nouveaux médicaments. La présence d'un fragment sucre dans une cible pourrait contribuer aux propriétés de reconnaissance moléculaire supplémentaires de ces produits. Notre objectif est la synthèse des analogues glucidiques de fragments de **l'hymenistatine, Sansalvamide et dehydrodidemnine**.



**Schéma 53: les analogues glucidiques de l'hymenistatine, sansalvamide et dehydrodidemnine**

Une perspective intéressante serait la synthèse des analogues glucidiques de **l'hymenistatine, Sansalvamide et dehydrodidemnine** dans l'espoir d'améliorer l'activité, la sélectivité et la biodisponibilité du produit naturel.

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

## **1. Appareils utilisés :**

### ➤ **Infra-rouge :**

Les spectres dans l'infra-rouge ont été obtenus au centre de mesures du laboratoire LASNABIO sur un appareil Perkinelmer L1600300 spectrum two.

. Les échantillons étaient traités en solution dans le DCM ou sous forme pastilles de KBr. Les principales fréquences d'absorption sont données en nombre d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ ).

### ➤ **Température de fusion :**

Tous les points de fusion ont été déterminés grâce à un fusionomètre digital de la série IA 9000 d'Electrothermal en utilisant des tubes capillaires.

## **2. Purification de solvants :**

L'anhydride acétique : distillé a pression atmosphérique. L'anhydride phtalique : recristallisé dans l'anhydride acétique fraîchement distillé et lavé trois fois avec l'éther.

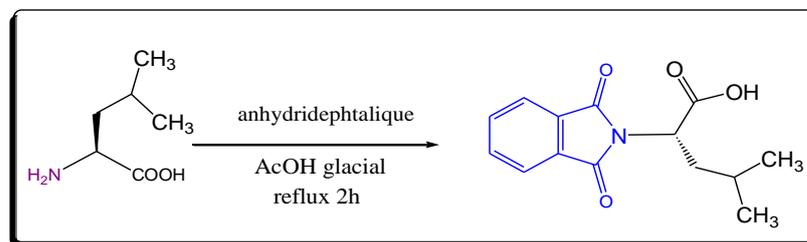
Le méthanol : distillé et gardé dans une bouteille contenant le tamis moléculaire, et le THF purifié sur sodium effilés.

Les solvants anhydres sont préparés soit par distillation, en présence d'un desséchant juste avant l'emploi, soit par conservation après purification sur tamis moléculaire pour d'autres solvants, la distillation s'effectue sous atmosphère inerte. Le (DCM) est distillé sur peroxyde de phosphore ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ).

## I. Les protections effectuées :

### a. Protection de la L-leucine :

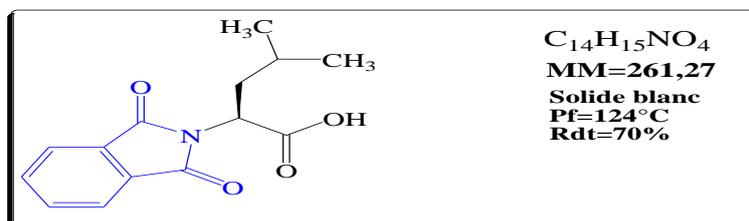
- Schéma réactionnel :



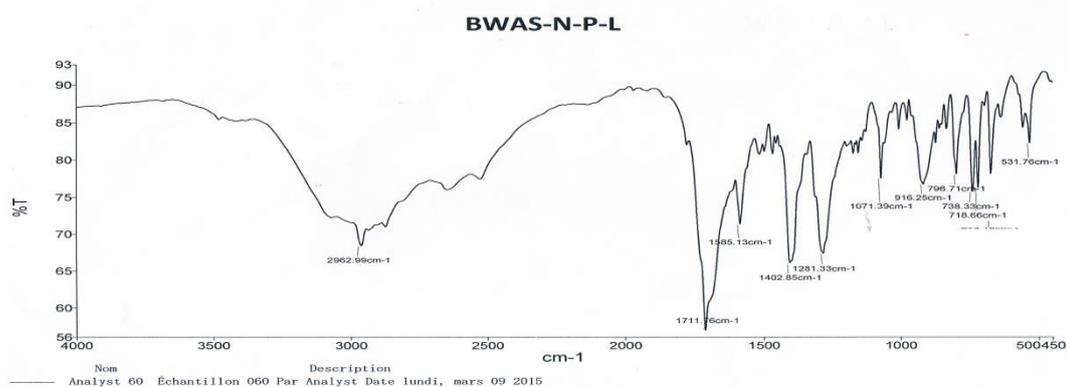
- Mode opératoire :

Dans un ballon muni d'un réfrigérant, on introduit 5g (0,038mol) la L-leucine, (5,62g 0,038mol) d'anhydride phtalique dans 40ml d'acide acétique glacial, et on porte à reflux pendant 2h. Ensuite, on laisse refroidir le mélange et le solide cristallisé est filtré sous vide en faisant des lavages avec l'éthanol pour entraîner l'acide acétique. Le produit brut est purifié par recristallisation dans un mélange eau-éthanol. La purification permet d'isoler 6,97g du produit final.

- Résultat : N-phtalimido-L-leucine

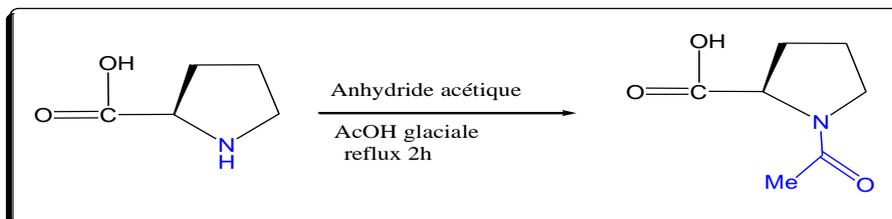


**IR v max (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ) :** 2962,99 $\text{cm}^{-1}$  (O-H de l'acide), 1711,76 $\text{cm}^{-1}$  (C=O carboxyle), 718,66 $\text{cm}^{-1}$  (aromatique).



**b. Protection de la L-proline :**

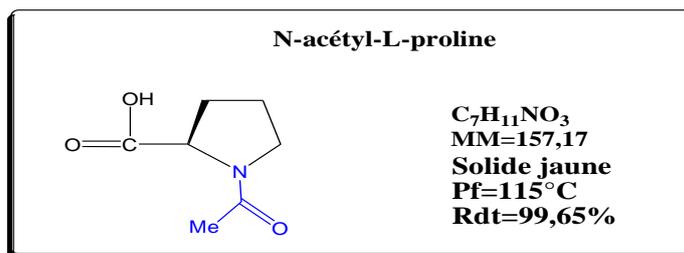
• **Schéma réactionnel :**



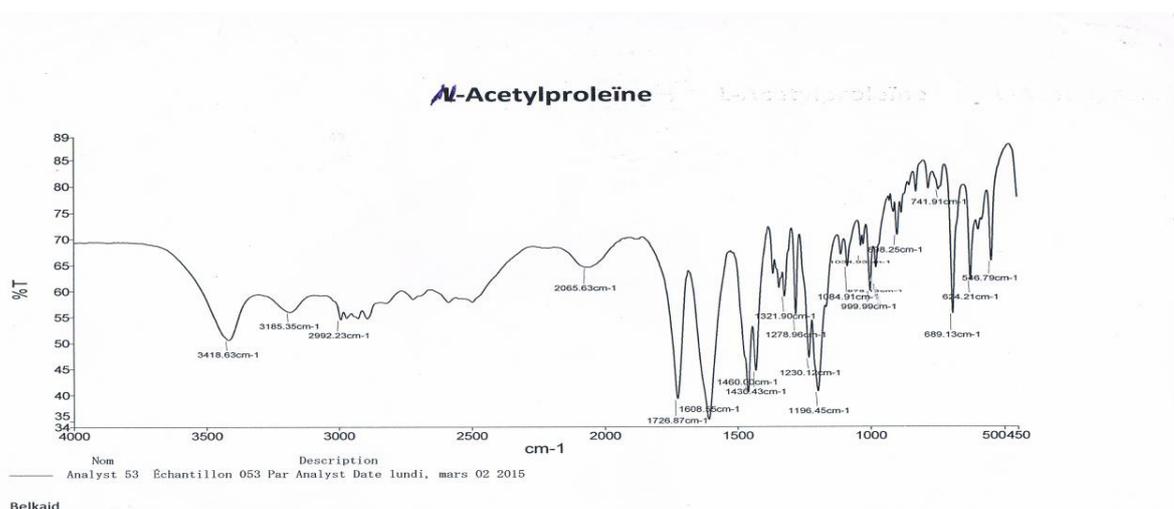
• **Mode opératoire :**

Dans un Bicol, on introduit 3g de la L-proline (26,05mmol) dans 30 ml d'AcOH. On ajoute 2,4ml d'anhydride acétique fraîchement distillé (26,05mmol). On porte à reflux pendant 2 h, après on évapore le solvant. Une cristallisation du mélange dans l'éther permet d'isoler 4,08g (Rt=99,65%) solide jaune.

• **Résultats : N-acétyl-L-proline**

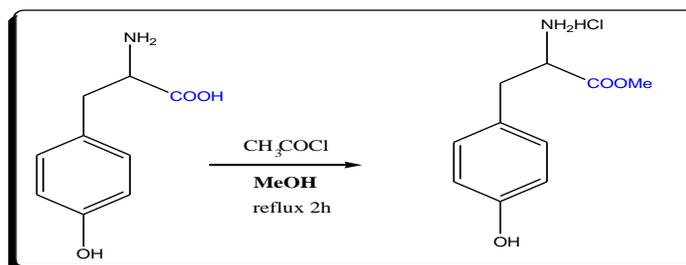


**IR v max (KBr)  $cm^{-1}$  :** 3185,35 $cm^{-1}$  (OH de l'acide), 1726,85  $cm^{-1}$  (C=O carboxyle), 1608,55(C=O acétyl)



c. **Estérfication de la fonction acide de la L-tyrosine :**

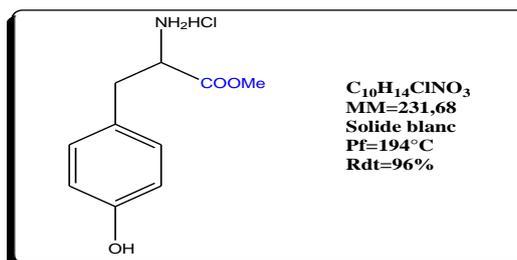
• **Schéma réactionnel :**



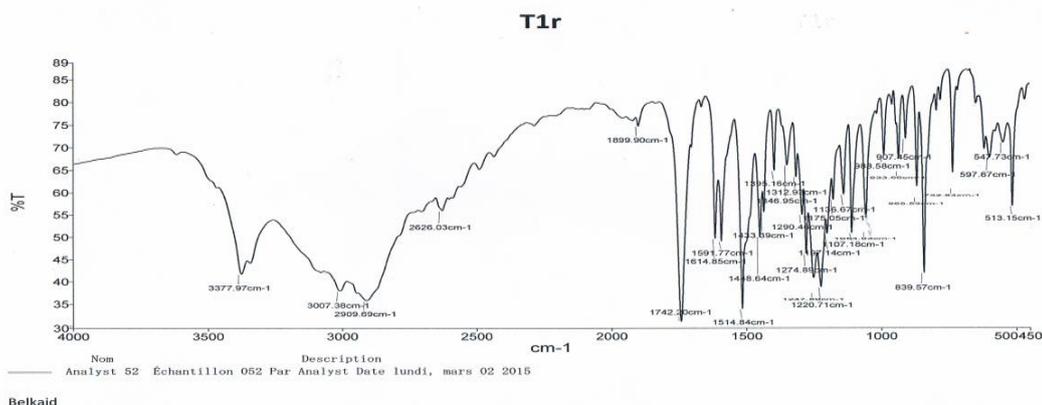
• **Mode opératoire :**

Dans un ballon et sous courant d'azote, on introduit 50ml de méthanol, la solution est refroidie à 0° C on verse lentement le chlorure d'acétyl 4,7 ml (1eq) goutte à goutte à la solution précédente, la solution est agitée 5mn, ensuite la 4,42g (24,4mmol) L-tyr est ajoutée en une seule portion, puis le mélange est chauffé lentement sous reflux pendant 2h. On évapore le solvant, on laisse refroidir à température ambiante, le séchage de notre produit permet d'isoler 5,46g solide blanc.

• **Résultats : chlorhydrate de l'ester méthylique de la L-tyrosine**



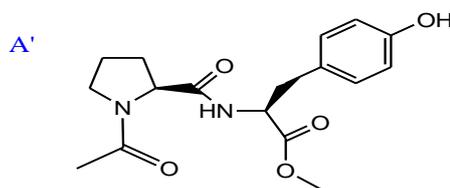
**IR v max (KBr) cm<sup>-1</sup>:** 1742.20, 3377, 97cm<sup>-1</sup>(OH phénolique),



**II. Couplage effectuées :**

- **fragment A' :**

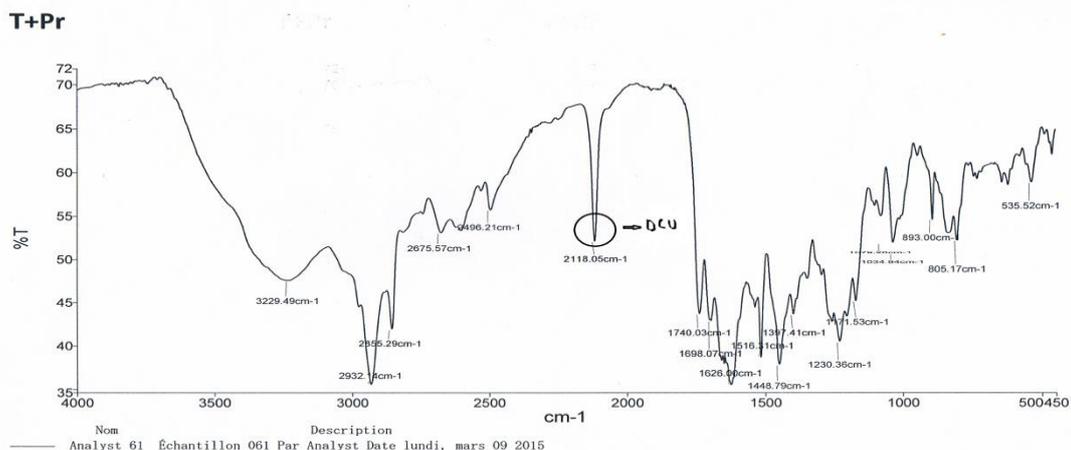
methyl 2-(1-acetylpyrrolidine-5-carboxamido)-3-(4-hydroxyphenyl)propanoate



**C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>**  
**MM=334,37**  
**Pateux jaune**  
**Rdt=71%**

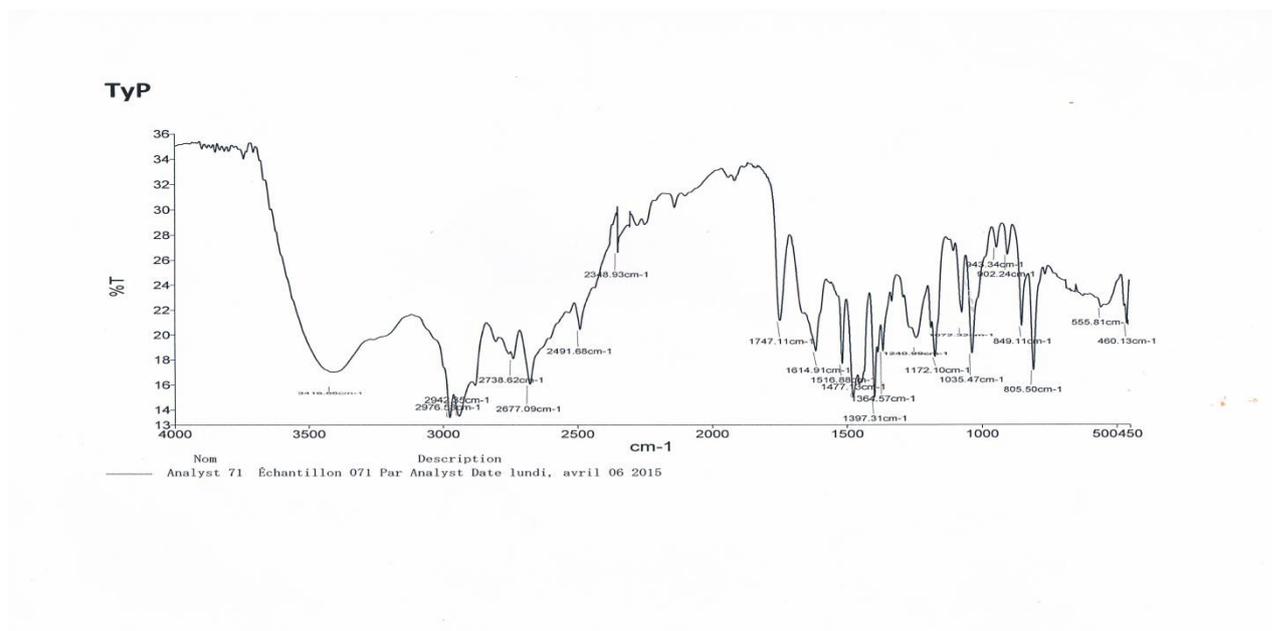
- **Mode opératoire:**

Dans un bicol, à 0°C on mélange 2,5g de la N-acétyl-L-proline (0,016 mol) et 3,7 g du chlorhydrate de l'ester méthylique de la L-tyrosine (0,016mol) dans 30ml de DCM (solvant) on ajoute 11,16 ml de TEA (5éq) goutte à goutte avec une forte agitation. Un mélange de DCC (3,3 g, 0,016mol) dans 20ml de DCM est additionné goutte à goutte avec une forte agitation. Le mélange est agité de 0°C jusqu'à température ambiante pendant 72h. À la fin la DCU formée est éliminée par filtration et le solvant est évaporé. La réaction est terminée après 12 jours d'agitation.

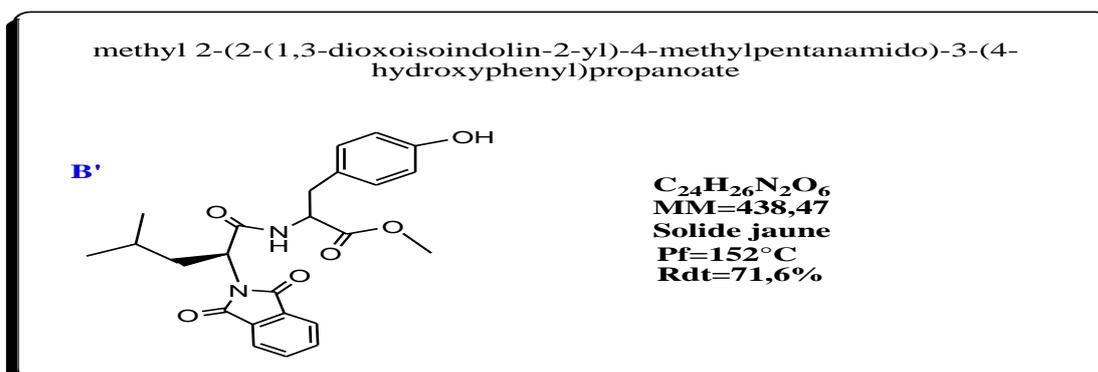


Après 12j d'agitation la bande caractéristique de DCU a disparu. Une recrystallisation du produit dans THF permet d'isoler 3,80g (71%) du produit final.

**IR v max (KBr) cm<sup>-1</sup>:** 1614.91, 1747.11, 3416.66.



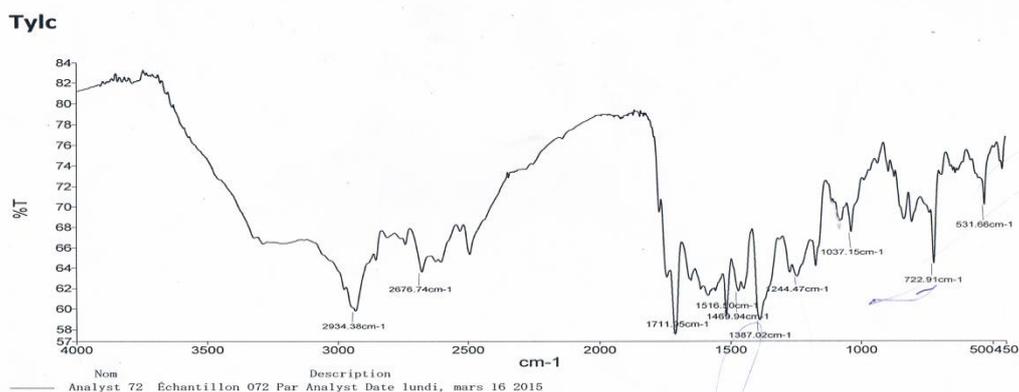
- **fragment B' :**



- **Mode opératoire :**

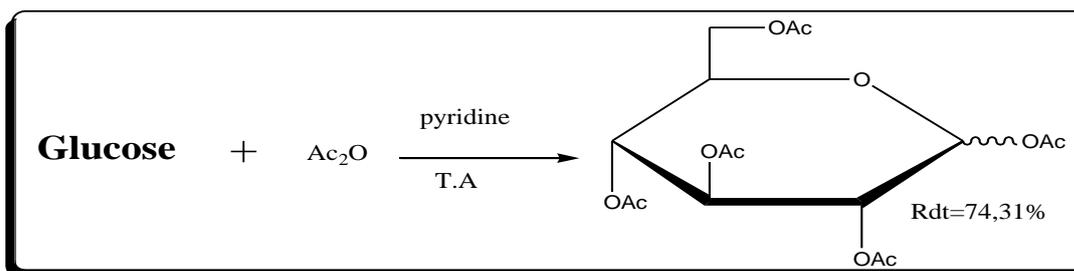
Dans un bicol et à 0°C, on mélange (1g, 0,0043mol) le chlorhydrate de l'ester méthylique de la L-tyrosine (1,12g,0,043mol) et de la N-phthalimide- L-leucine dans 20ml de DCM (solvant), on ajoute 3ml de TEA (5éq) goutte à goutte et (0,88g,0,0043mol) de DCC dans 10ml de DCM, on laisse agiter pendant 72h, on filtre puis on évapore le solvant, La réaction est terminée après 10 jours d'agitation. Une recristallisation du produit dans THF permet d'isoler 1,35g (71,6%) du produit final.

**IR v max (KBr) cm<sup>-1</sup>: 1711.95, 1715, 1760, 2934.38**



### III. Protection du sucre :

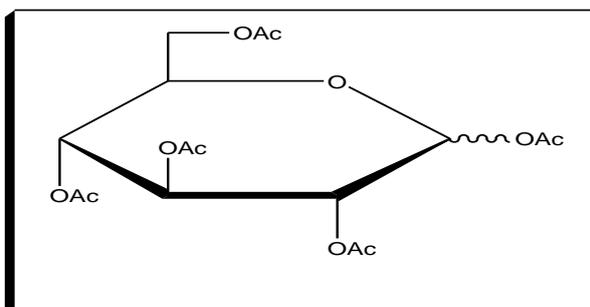
- **Procédé A :**
- **Schéma réactionnel :**



- **Mode opératoire :**

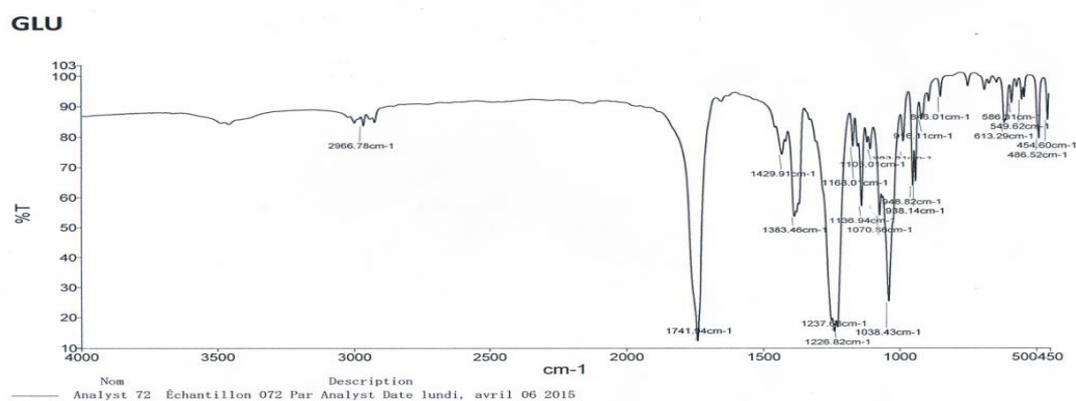
Sous courant d'azote, a une solution de glucose (3g, 16.65mmol) dans la pyridine (22,5ml), refroidie à 0°C est additionné goutte à goutte l'anhydride acétique (8,32 ml, 5.3 éq.). Le mélange est agité une nuit à T.A., puis on ajoute de l'éthanol (28 ml). Après évaporation du solvant, on obtient un résidu solide qui est recristallisé 2 fois dans l'éthanol absolu pour donner 4,83g du produit final, (74,31%) de rendement.

- **Résultat : 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-acétyl-glucopyranose**

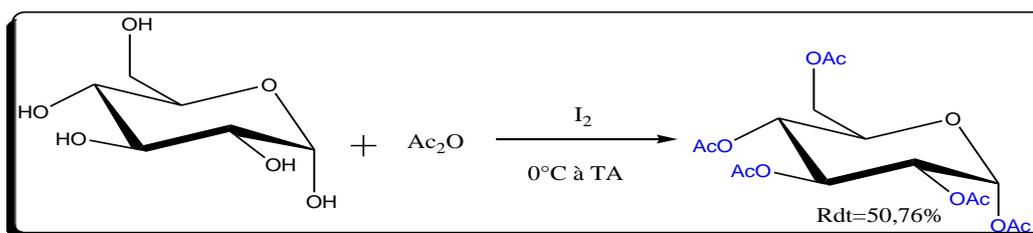


$C_{16}H_{22}O_{11}$   
 MM=390,34  
 Solide blanc  
 Pf= 110°C  
 Rdt=74,31%

IR v max (KBr)  $cm^{-1}$  : 1741.94.



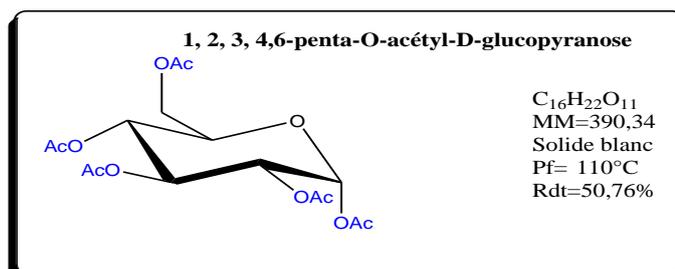
- **Procédé B :**
- **Schéma réactionnel :**



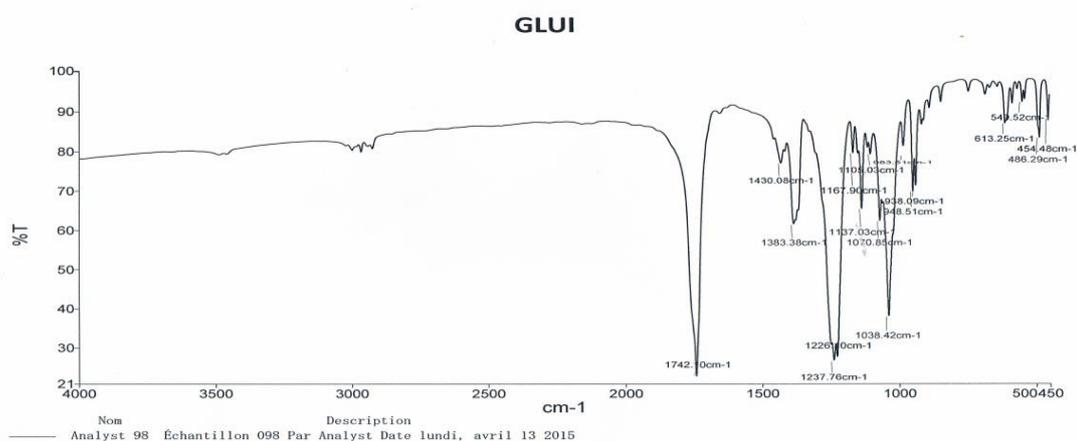
- **Mode Opérateur :**

Dans un ballon , on introduit 0,2g d'iode et 15,75ml de l'anhydride acétique et 3g de glucose (0,016mol), la solution est refroidie à 0°C dans un bain de sel-glace, le milieu est agité à 0°C jusqu'à la dissolution de glucose, ensuite on laisse le mélange refroidie à TA, puis le mélange est lavé avec une solution saturé de 10% de thiosulfate de sodium sous agitation la solution caramélisée devient jaune claire, ensuite on ajoute le carbonate de calcium jusqu'à le dégagement de CO<sub>2</sub>, le résidu est traité avec 30ml de DCM et successivement lavé avec l'eau 3 fois après séchage avec le sulfate de calcium, le solvant est évaporé sous vide, permet d'isole 3,17g du produit final.

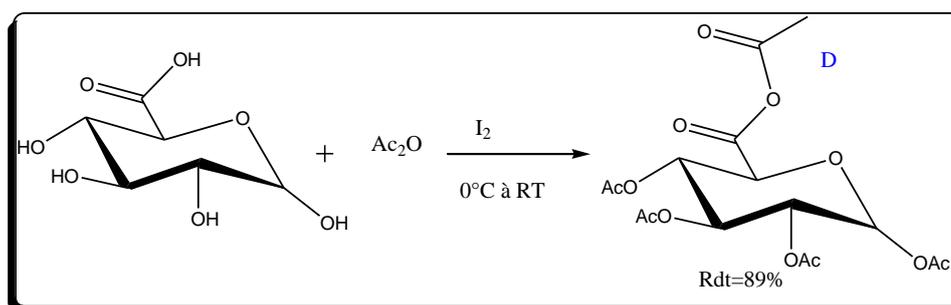
- **Résultat : 1, 2, 3, 4, 6-penta-O-acétyl-glucofuranose**



**IR v max (KBr) cm<sup>-1</sup>: 1742.10.**



- **Procédé C :**
- **Schéma réactionnel :**



- **Mode opératoire**

Dans un ballon et sous courant d'azote, on introduit 5,26 ml d'Ac<sub>2</sub>O et on ajoute 0,065g d'I<sub>2</sub> et 1 g de l'acide glucuronique (5.15 mmol); la solution est ensuite refroidie à 0°C dans un Bain de sel-glace.

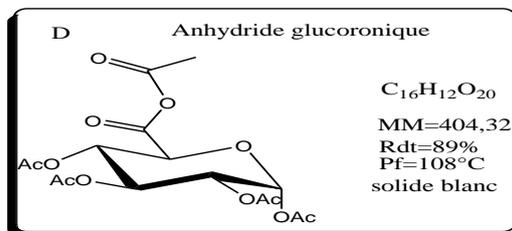
Le milieu est agité à 0°C pendant 2h, puis on laisse refroidir à température ambiante. On Laisse agité à TA toute la nuit. Le milieu est ensuite séché au rotavap, puis le mélange

Réactionnel est dissous dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , lavé avec une solution saturée de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (2x100ml),  
Puis avec une solution saturée de  $\text{NaCl}$ .

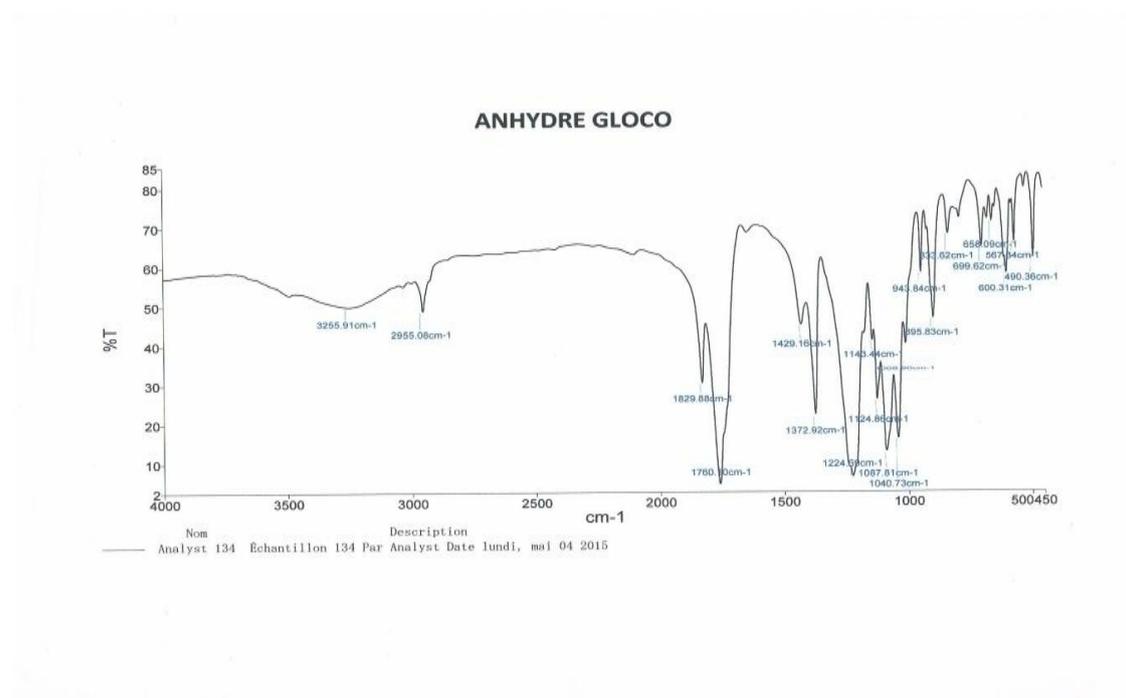
Séché sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtré et évaporé. Le produit est recristallisé dans le cyclohexane.

➤ Obtention 1,85 g (89%) du composé

• **Résultats : Anhydride glucuronique**

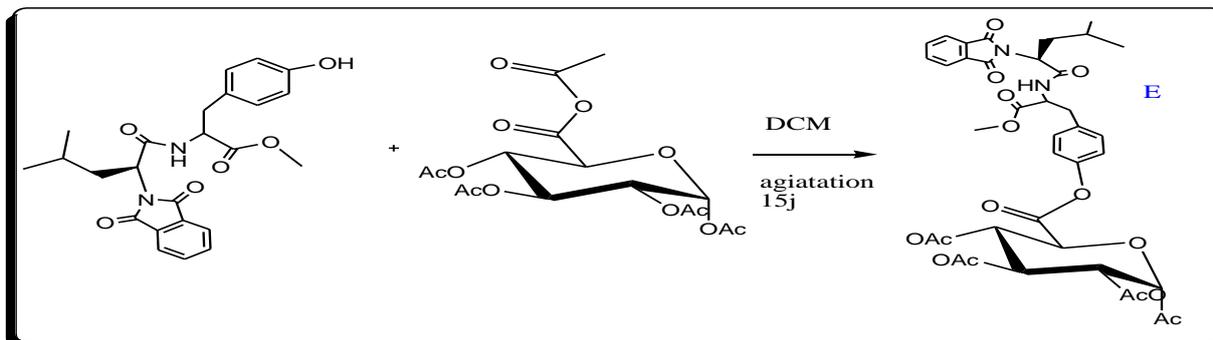


IR v max (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 1760.10, 1829.88.



#### IV. Greffage effectués :

- **Schéma réactionnel :**

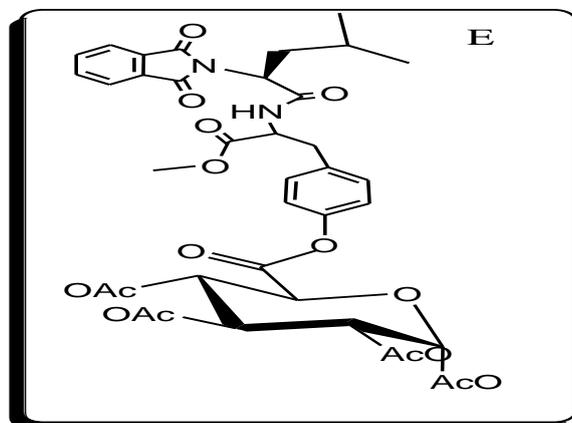


- **Mode opératoire :**

Dans un ballon et sous courant d'azote, on introduit le dipeptide A' (0.0827 g, 1 équiv.) et on ajoute 10 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, et 0.1 g de composé D (0.25 mmol, 1 equiv). Le milieu est agité pendant 15j à température ambiante. Le mélange réactionnel est dissous dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, lavé avec une solution saturée de NaCl, séché sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtré et évaporé.

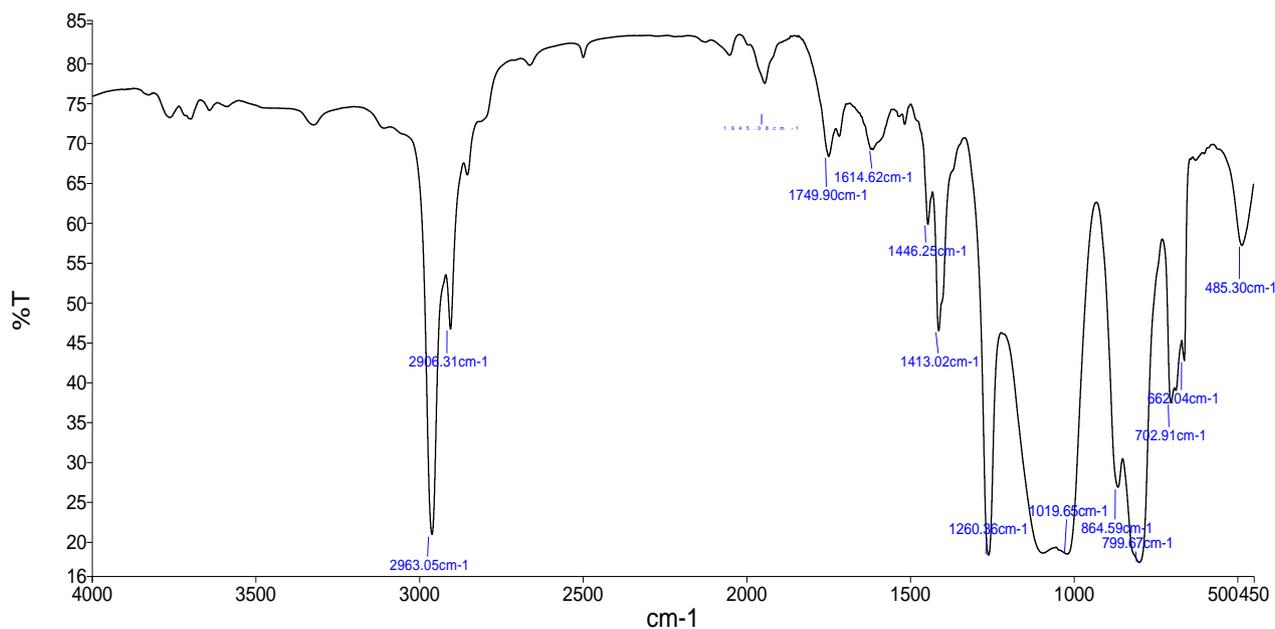
Une recrystallisation dans un mélange d'acétate d'éthyle-cyclohexane (1-9) donne le produit E avec un rendement de 67%, sous forme d'un solide blanc.

- **Résultats : fragment B**



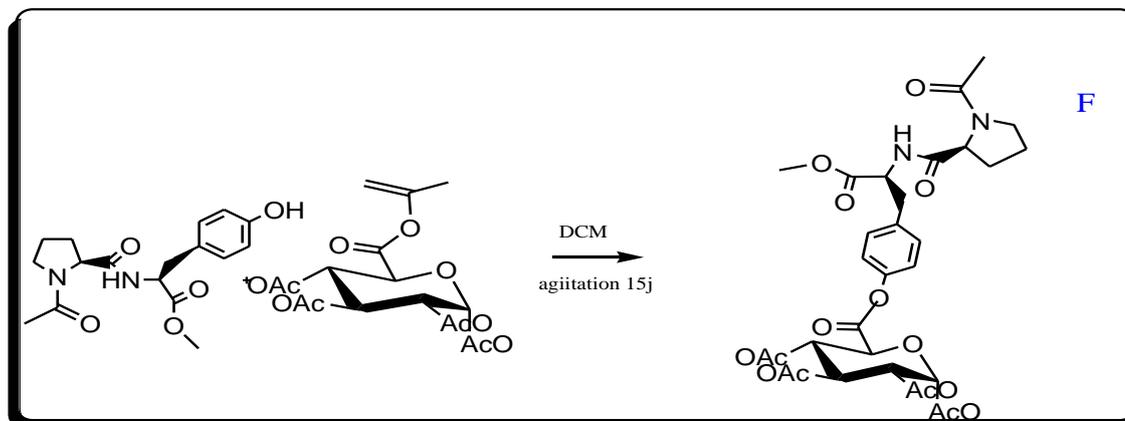
$C_{38}H_{42}N_2O_{16}$   
Rdt=67%  
MM=782,8  
Pf=131°C  
solide blanc

IR v max (KBr) cm<sup>-1</sup>: 1614.62, 1749.90, 1945.08 et disparition de la bande OH phénolique.



Nom Description  
 ——— Analyst 166 Échantillon 166 Par Analyst Date lundi, mai 11 2015

- **Schéma réactionnel :**

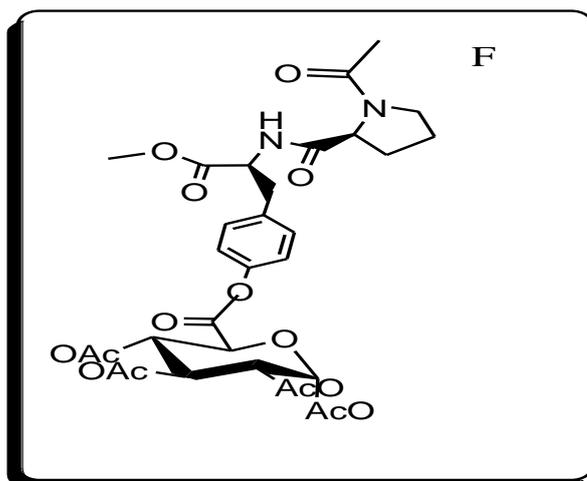


- **Mode Opérateur :**

Dans un ballon et sous courant d'azote, on introduit le dipeptide B' (0.1mmol, 1 équiv.) et on ajoute 10 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , et 0.1 g de composé D (0.25 mmol, 1 equiv). Le milieu est agité pendant 15j à température ambiante. Le mélange réactionnel est dissous dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , lavé avec une solution saturée de NaCl, séché sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtré et évaporé.

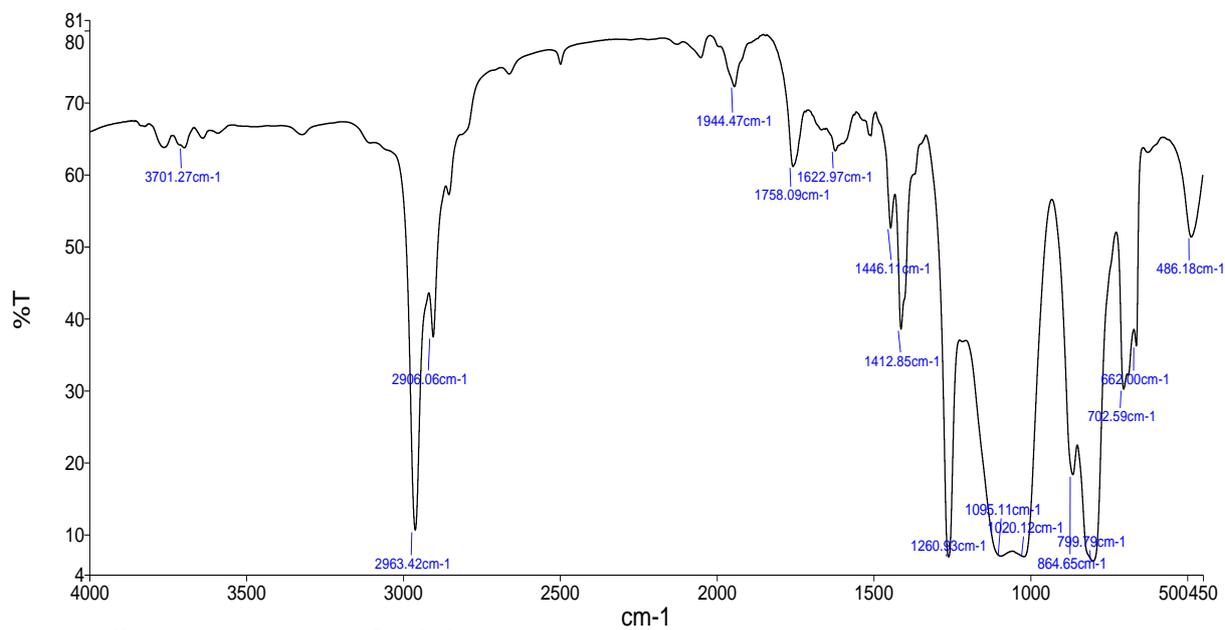
Une recrystallisation dans un mélange d'acétate d'éthyle-cyclohexane (1-9) donne le produit F avec un rendement de 84%, sous forme d'un solide blanc.

• Résultats : fragment A



$C_{31}H_{38}N_2O_{15}$   
 Rdt=84%  
 MM=618  
 Pf=123°C  
 solide blanc

IR v max (KBr)  $cm^{-1}$ : 1622.97, 1758.09, 1944.47 et disparition de la bande OH phénolique.



Analyst 163 Échantillon 163 Par Analyst Date lundi, mai 11 2015

## Référence:

- [1]- T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival- application to proliferation and cyto-toxicity assays. *J. Immunol. Methods*, **1983**, 65 (1-2), 55.
- [2]- H. U. Permyer, *Methods of enzymatic analysis*. Academic press, **1974**, 4, 2066.
- [3]- A. R. Leach, *Molecular Modelling: Principal and applications*. Pearson, **2000**.
- [4]- R. Todeschini, V. Consonni, *Handbook of Molecular Descriptors*, Wiley, **2000**.
- [5]- S.L. Scheiber, Target- oriented and diversity-oriented organic synthesis in drug discovery. *Science*, **2000**, 287(5460), 1964.
- [6]- M.M. Hann, T.I. Opera, Pursuing the leadlikeness concept in pharmaceutical research, *Curr. Opin.Chem. Biol*, **2004**, 8(3), 225.
- [7]- X.D. Xiang, X.D. Sun, G. Briceno, Y.L.Lou, K. A. Wang, H. Y. Chang, W. G. Wallacefreedman, S. W. Chen, P.G. Schultz, A combinatorial Approach to Materials Discovery. *Science*, **1995**, 268 (5218), 1738.
- [8]- H. Zhu, M. Bilgin, R. Bangham, D. Hall, A. Casamayor, P. Bartone, N. Lan, R. Jansen, S. Bidlingmaier, T. Houfek, T Mitchell, P Miller, R A Dean, M. Gerstein, M. Synder, Global analysis of protein activities using proteome chips. *Science*, **2001**, 293(5537), 2101.
- [9]- C. M. Wei, J. N. Li, R. E. Bumgarner, Simple size for detecting differentially expressed genes in microarray experiments. *BMC Genomics*, **2004**, 5, 10.
- [10]- T. Li, Q. Zeng, S. E. Rokita, Target promoted alkylation of DNA. *Bioconjugate Chem*, **1994**, 5(6), 497.
- [11]- M Waring, Recent studies on intercalating drugs. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*, **1968**, 349(8), 954.
- [12]- B.C. Giovanella, J.S. Stehlin, M.E. Wall, M.C. Wani, A.W. Nicholas, L.F. Liu, R. Silber, M. Potmesil, DNA topoisomeras targeted chemotherapy of human colon cancer in xenografts. *Science*, **1989**, 246(4933), 1046.
- [13]- A. Alt, K. Lammens, C. Chiochini, A. Lammens, J. C. Pieck, D. Kuch, K. P. Hopfner, T. Carell, Bypass of DNA lesions generated during anticancer treatment with ciplastin by DNA polymeras. *Science*, **2007**, 318 (5852), 967.
- [14]- B. J. Katchman, R. E. Zipf, J. P. Murphy, Effect of 6-mercaptopurine on carbohydrate metabolism of human cancer cells, *Nature*, **1962**, 195, 500.
- [15]- D. Papamichael, The use of thymidilate synthase inhibitors in the treatment of advanced colorectal cancer: current status. *Oncologist*, **1999**, 4(6), 478.
- [16]- B. Gigant, C. G. Wang, R. B. G. Ravelli, F. Roussi, M. O. Steinmetz, P. A. Curmi, A. Sobel, M. Knossow, Structural basis for the regulation of tubilin by vinblastin. *Nature*, **2005**, 435 (7041), 519.
- [17]- V. Moret, Y. Laras, T. Cresteil, G. Aubert, D.Q .Ping, M. Barthelemy-Requin, C. Beclin, V. Peyrot, D. Allegro, A. Rolland, F. De Angelis, E. Gatti, P. Pierre, L. Pasquini, E. Petrucci, U. Testa, J.L. Kraus, Discovery of a new family of bis-8-hydroxyquinoline substituted benzylamines with pro-apoptotic activity in cancer cells :Synthesis, structur-activity relationship, and action mechanism studies. *European journal of medicinal chemistry*, **2009**, 44(2), 588.
- [18]- D. Hanahan, R. A. Weinberg, The hallmarks of cancer. *Cell*, **2000**, 100(1), 558.
- [19]- V. B. Genisson, J. Bernadou, I. Berque-Bestel, J.D. Brion, J. Couquelet, M. Cussac, Debaert, O. Duval, S. Giorgi-Renault, J. Huet, R. Lacroix, J. Laronze, J.Y. Laronze, G. Le Baut, P. Loiseau, A. Nuhrich, M. Plat, J. Poisson, S. R. Piessard, C. Tournaire-Arellano, P. Uriac, M. Varache-Lembege, *Traité De chimie thérapeutique - Médicaments antitumoraux et perspectives dans le Traitement des cancers* Lavoisier, **2003**.
- [20]- C. Bailly, *Biochem. Pharmacol.* **2009**, 77(9), 1447.

- [21]-J.E. Leibmann, J.A. Cook, C. Lieschultz, D. Teague, J. Fisher, J. B. Mitchell, cytotoxic studies of paclitaxel in human tumor cell lines. *Brj cancer*. **1983**, 68(6), 1104.
- [22]-R. Dettmeyer, F. Driever, A. Becker, O.D. Wiestler, B. Madea, Fatal myeloencephalopathy due to accidental intrathecal vincristin administration : a report of two cases. *Science* **2001**, 122(1), 60.
- [23]-B. Gignat, C.G. Ravelli, R.B.G. Roussi, F. Steimmetz, M.O. Curmi, P.A. Sobel, A. Knossow, Structural basic for the regulation of tubulin by vinblastin. *Natur* **2005**, 435(7045), 519.
- [24]-S. E. Wolkenberg, D. L. Boegr, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 2477.
- [25]-S. Nobili, D. Lippi, E. Witort, M. Donnini, L. Bausi, E .Mini, S. Capaccioli, *Pharmacol. Res.* **2009**, 59(6), 365.
- [26]-B. Gignat, C.G. Ravelli, R.B.G. Roussi, F. Steimmetz, M.O. Curmi, P.A. Sobel, A. Knossow, Structural basic for the regulation of tubulin by vinblastin. *Natur* **2005**, 435(7045), 522.
- [27]-J. Y. Mérour, La mer source de molécules bioactives, 3<sup>ème</sup> trimestre, **2004**.
- [28]-D. Li, J. I. Williams, R. J. Pietras *Oncogene*, **2002**, 21(18), 2805.
- [29]-K. Von Schwarzenberg, A.M. Vollmar, *Cancer Lett* **2010**.
- [30]-B. Banaigs, L. codomier, *Christian Francisco, Jean Test, les médicaments traités de la mer.* **1985**, 1, 363.
- [31]-M.M. Hann, T.I.Opera, pursuing the leadlikeness concept in pharmaceutical recherche. *Chem.Biol.* **2004**, 8(3), 255.
- [32]-M.G. Kris, R.B. Natale, R.S. Herbst, D. Prager, C.P. Belani, J.H. Schiller, K. Kelly, H. Spiridonidis, A Sandler, K.S. Albain, D. Cella, M.K. Wolf, S.D. Averbuch, A.C. Kay, Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: a randomized trial. *JAMA* **2003**, 290, 2149.
- [33]-J.P. Carlson, B.S. Singh, C.A. Zarate, C.W. Drevets, H.K. Maniji, Neural circuitry and neuroplasticity in mood Disorders: In Sights for novel therapeutic Targets. *Neuro RX* **2006**, 3(1), 22.
- [34]-S.P. Gunasekera, M. Gunasekered, R.E. Longley, G.K. Schulte, Discodermolide: new bioactive polyhydroxylated lactone from the marine sponge *Discodermia dissoluta*. *J.Org.chem*, **1990**, 55(16), 4912.
- [35]-J.J. Manfredi, S.B. Horwitz, Taxol: an antimitotic agent with a new mechanism of action. *Pharmacol Ther.* **1984**, 25 (1), 83.
- [36]-D. Papamichael, The use of thymidylate synthase inhibitors in the treatment of advanced colorectal cancer: current status. *Oncologist* **1999**, 4(6), 478.
- [37]- M.M.Fuster, J. D. Esko, The sweet and sour of cancer: glycans as novel therapeutic targets. *Nature Rev. Cancer*, **2005**, 5, 526.
- [38]- R. G. Spiro, Protein glycosylation: nature, distribution, enzymatic formation, and disease implications of glycopeptide bonds. *Glycobiology*, **2002**, 12, 43.
- [39]-M. Taylor, K. Drickamer, Introduction to Glycobiology. *Oxford University Press*, **2003**.
- [40]-G. CIOCI, thèse de doctorat. Université de Grenoble I – Joseph Fourier. **2006**.
- [41]-K. Ohtsubo, J. D. MarthCell. Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. **2006**, 126 (5), 855.
- [42]- A. Varki, *Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct.* *Glycobiology*, **1993**, 3, 97.
- [43]- H. Lis, N. Sharon, Protein glycosylation. Structural and functional aspects. *Eur. J. Biochem.* **1993**, 218 (1), 1.
- [44]-T. Notori, M. Morita, K. Akimoto, Y. Koezuka *Tetrahedron*, **1994**, 50 (9), 2771.

- [45]- T.L. Simmons, E. Andrianasolo, K. Mcphal, P. Flatt, W.H. Gerwick, *Mol. Cancer therapeutics*, **2005**, 4(2), 333
- [46]- M.A. Joradan, K. Kamath, T. Manna, T. Okouneva, H. P.Miller, C. Davis, B.A. Littlefield, L. Wilson, *Mol. Cancer therapeutics*, 2005, 4(7), 1086
- [47]- O. Seitz, *Chembiochem. Glycopeptide synthesis and the effects of glycosylation On protein structure and activity*. 2000, 1 (4), 214.
- [48]- N. Mitra, S. Sinha, T.N. Ramya, and A. Surolia, *Trends Biochem Sci. N- linked oligosaccharides as outfitters for glycoprotein folding, form and function*. **2006**, 31, (3), 156.
- [49]- A. Helenius M, Aebi, *Roles of N-linked glycans in the endoplasmic reticulum. Annu Rev Biochem.* **2004**, 73, 1019.
- [50]- A. Croisy, B. Lucas, P. Maillard, *Les macrocycles tétrapyrroliques glucoconjugués, Utilisation en photothérapie dynamique, Actualités de Chimie Thérapeutiques*, **2005**, 181.
- [51]- R. Bonnett, *Chemical aspects of photodynamic therapy*, Gordon and Breach Science Publishers, **2000**.
- [52]-Ouerfelli, O ; Warren, J. D. ; Wilson, R. M. ; Danishefsky, S. J. *Experts Rev. Vaccines* **2005**, 4, 677.
- [53]- K. M. Koeller, C. H. Wong, *Synthesis of Complex Carbohydrates and Glycoconjugates: Enzyme-Based and Programmable One-Pot Strategies Chem. Rev.*, **2000**, 100 (12), 4465.
- [54]- C. H. Wong, R. L. Halcomb, Y. Ichikawa, T. Kajimoto, *Enzymes in Organic Synthesis: Application to the Problems of Carbohydrate Recognition. Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1995**, 34 (4), 412.
- [55]-S. M. Hancock, M. D. Vaughan, S. G. Withers, *Engineering of glycosidases and glycosyltransferases. Chem Biol*, **2006**, 10 (5), 509.
- [56]- J. A. Joosten, B. J. Lazet, J. P. Kamerling, J. F. Vliegthart, *Chemo-enzymatic synthesis of tetra-, penta-, and hexasaccharide fragments of the capsular polysaccharide of Streptococcus pneumoniae type 14. Carbohydr Res*, **2003**, 338 (23), 2629.
- [57]- D. Michalik, J. F. G. Vliegthart, J. P. Kamerling, *Chemoenzymatic synthesis of oligosaccharide fragments of the capsular polysaccharide of Streptococcus pneumoniae type 14. J. Chem. Soc*, **2002**, 1973.
- [58]- F. Yan, W. W. Wakarchuk, M. Gilbert, J. C. Richards, D. M. Whitfield, *Polymer-supported and Chemoenzymatic synthesis of the Neisseria meningitidis pentasaccharide: a methodological comparison. Carbohydr Res*, **2000**, 328 (1), 3.
- [59]- A. Ruffing, R. Chen, *Metabolic engineering of microbes for oligosaccharide and polysaccharide synthesis. Microb Cell Fact*, **2006**, 5, 25.
- [60]- S.Koizumi, T. Endo, K.Tabata, A. Ozaki, *Large-scale production of UDP-galactos and globotriose by coupling metabolically engineered bacteria. Nat Biotechnol*, **1998**, 16 (9), 847.
- [61]-G.R. Petit, P.J. Clewlow, C. Defresne, D.L. Doubeck, R.L. Cerny, K. Rutzler, *Can. J. Chem.* **1990** 68, 708.
- [62]- M. Cebrat, Z. Wiczorek, I.Z. Siemion, *Peptides*, **1996**, 17, 191.
- [63]- P. Zubrzak, K. Kocioek, M. Smoluch, J. Silberring, M. L. Kowalski, B. Szkudlińska, J. Zabrocki. *Search for new synthetic immunosuppressants II. Tetrazole Analogues of Hymenistatin I*, **2001**.
- [64]- R.A. Rodríguez, P.S Pan, R. C. Vasko, C.M Pan, W. S. Disman, R. Shelli, *Structure-activity of Sansalvamide A Derivatives and their Apoptotic Activity in the Pancreatic Cancer Cell Line PL-45, J. Mex. Chem. Soc.* **2008**, 52(3), 201.
- [65]- M. J. Heiferman, M. R. Salabat, M. B. Ujiki, M. J. Strouch<sup>1</sup>, E. C. Cheon, R. B. Silverman, D. J. Bentrem, *Sansalvamide Induces Pancreatic Cancer Growth Arrest through Changes in the Cell Cycle, anticancer research*, **2010**, 30, 73.

- [66]- G. N Belofsky, P. R Jensen, W. Fenical, Sansalavamide: a new cytotoxic cyclic depsipeptide produced by marine fungus of the genus *Fusarium*, center of marine biotechnology and biomedicine, **1999**, 2913.
- [67]- W. H.Hartung, Simonoff, *Org.React*, **1953**, 7, 263.
- [68]- J. Vaughan, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 3547.
- [69]- J. C. Sheehan, M. Goodman, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 1367.
- [70]- W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.* **1970**, 103, 788.
- [71]- B. Castro, J. R. Dormoy, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1973**, 12, 3359.
- [72]-S. J. Danishefsky, M. T. Bilodeau. « Glycals in Organic Synthesis: the Evolution of Comprehensive Strategies for the Assembly of Oligosaccharides and Glycoconjugates of Biological Consequence. » *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 1380.
- [73]-P. Sears, C. H. Wong. « Toward Automated Synthesis of Oligosaccharides and Glycoproteins. » *Science* **2001**, 291, 2344.
- [74]-E. Juaristi, G. Cuevas, « The Anomeric Effect » CRC Press, Inc, **1995**.
- [75]- M. Bodanszky, Y. S. Klausner, A. M. Ondentti, *Peptide synthesis*. Wiley, New York, **1976**, 26.
- [76]- E. Schnabel *Liebigs Ann. Chem.* **1968**, 188, 702.
- [77]- A. Ali, F. Fahrenholz, B. Weinstein *Angew. Chem. Int.Ed.* **1972**, 11, 29.
- [78]- M. Itoh, D.Hgiwara, T. Kamiya *Tetrahedron Lett.* **1975**, 4393.
- [79]- M. Itoh, D. Hgiwara, T. Kamiya *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1977**, 50, 718.
- [80]- H. Yajima, H. Kawatani, Y. Kiso *Chem. Pharm. Bull.* **1970**, 1, 50.
- [81]- E. Kaiser, R. L. Colescott, C. D. Bossinger, P. I. Cook *Anal. Biochem.* **1970**, 34, 595.
- [82]- E. H. Carter, L. R. Franc, W. H. Johnston *Organic Synthesis.* **1955**, 3, 167.
- [83]- R. D. Hwang, P. Helquist, S. M. Shekhani *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 1264.
- [84]- H. C. Levenson, B. R. Meyer Jr. *J. Med. Chem.* **1984**, 27, 228.
- [85]- J. Mathieu, R. Panico *Mécanismes réactionnels en Chimie Organique.* **1972**, Hermann Ed. n° 1357.

# Résumé :

Le sujet de ce mémoire est la synthèse de dérivés glucidiques de fragments de trois molécules d'intérêt thérapeutique qui sont l'hymenistatine, Sansalvamide, et la dehydrodidemnine, avec comme objectif l'élaboration de quelques précurseurs glucidiques qui peuvent être utilisés dans la molécule cible, et la présence d'un fragment sucre dans une cible pourrait contribuer aux propriétés de reconnaissance moléculaire supplémentaires de ces produits. Trois acides  $\alpha$ -aminés ont été utilisés dans cette synthèse, avec deux couplages pour engendrer deux dipeptides cible, les couplages entre les acides aminés ont été réalisés avec la dicyclohexylcarbodiimide qui génère une urée insoluble dans l'eau, puis la synthèse de anhydride glucuronique et le couplage de ce dernier avec les deux dipeptides donne les fragments glucidiques cible.

**Mots clés :** reconnaissance moléculaire, précurseurs glucidiques, fragment sucre, les acides aminés, couplage, dicyclohexylcarbodiimide, anhydride glucuronique.

The subject of this thesis is the synthesis of carbohydrate derivatives of fragments of three molecules of therapeutic interest are the hymenistatine, Sansalvamide, and dehydrodidemnine, with the objective of developing some carbohydrate precursors that can be used in the target molecule, and the presence of a sugar moiety in a target could contribute to the additional molecular recognition properties of these products. Three  $\alpha$ -amino acids were used in this synthesis, with two couplings for generating two targets Dipeptide couplings between amino acids were carried out with dicyclohexylcarbodiimide generates a urea insoluble in water, and then the synthesis of glucuronic anhydride and the coupling of the latter with the two dipeptides gives the target carbohydrate moieties.

**Keywords:** molecular recognition, carbohydrate precursors, sugar moiety, amino acids, couplings, dicyclohexylcarbodiimide, glucuronic anhydride.