



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Aboubekr Belkaid-Tlemcen



Faculté des Sciences
Département de Chimie

Laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses

- COSNA-



Thème

Synthèse des dipeptides d'intérêt biologique

Mémoire présenté par :

ATMANI Nadia

En vue de l'obtention du diplôme de

Master en Chimie

Spécialité : chimie Bio-Organique et Thérapeutique

Soutenue publiquement le 09 juin 2015 devant le jury composé de :

| | | |
|---------------------------|--------------|-------------|
| Mr. Bachir Mostefa Kara | Président | UAB-Tlemcen |
| Mr. Joseph Kajima Mulengi | Examinateur | UAB-Tlemcen |
| Melle. Latifa Negadi | Examinatrice | UAB-Tlemcen |
| Mr. Zoheir Arrar | Examinateur | UAB-Tlemcen |
| Mr. Djamel Bendiabdellah | Examinateur | UAB-Tlemcen |
| Mme. Wafaa Lemrini | Examinatrice | UAB-Tlemcen |
| Mr. Abdelmumin Mezraï | invité | UAB-Tlemcen |
| Mme. Assia Keniche | Invitée | UAB-Tlemcen |
| Mme. Wassila Drici | Promotrice | UAB-Tlemcen |

Année universitaire : 2014/2015

Je dédie ce travail



A mes très chers parents

*Pour ces longues années de soutien inconditionnel, leur confiance permanente et
ses encouragements incessants*

A mon frère jumeau

*pour ses encouragements, ses conseils et son soutien moral. Je te souhaite un
avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.*

A mes très chères sœurs

Soumia, salima et son marie Mohammed.

A toute ma famille, surtout ma grand-mère

A mes amis

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



Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses COSNA de l'université Aboubekr Belkaid Tlemcen, sous la direction de Monsieur le Professeur **J. Kajima Mulengi**.

Je tiens tout d'abord à remercier Mme W.Drici, ma directrice de mémoire, pour tout le soutien, l'aide, l'orientation, la guidance qu'elle m'a apportés lors de la réalisation de mon mémoire.

Je voudrais remercier le Professeur B. MostefaKarapour l'honneur qu'il me fait de présider le jury de ce mémoire. Je remercie également Mr J. Kajima Mulengi, Mr Z. Arrar, Mr D.Bendiabdellah, Mlle L. Negadi, Mme W. Lemrini, Mr A. Mezrai, Mme A. Kenich pour avoir accepté de juger ce travail.

Un merci tout particulier à MlleBenyoucef Fatima doctorante en Chimie pour son aide et sa disponibilité lors de mes différents séjours au sein du laboratoire. Je remercie également Amouri Amina, Benyamina Samia, BouazzouiiWafaa.

Je ne voudrais pas non plus oublier les collègues de la promotion : Chimie bio-organique et thérapeutique que j'ai côtoyés quotidiennement pendant de nombreuses années, NotammentChibiNadjet , Hadj KaddourDoniazed ,LazouniImene, MaltiIbtissem, MamiImene, MedjdoubKheira ,MeradNadjia, Sari Hadi, Si Said Mohamed El Amine , Taleb Bendiab MohamedAbdelkarim. J'ai aussi une pensée particulière à mes très chers amis BelkaidWassila, BoursaliNawel et GhaffourHafsa, je les remercie pour leurs innombrables conseils leur amitié et la bonne ambiance qu'ils ont su créer au sein du laboratoire.

Que vous direz, mes chers parents, vous étiez toujours là pour m'écouter, me soutenir, meréconforter et m'encourager dans les moments de doute....Tous les mots ne suffiraientpas...grâce à dieu et alors à vous, rien n'aurait été possible, merci pour votre soutien et votreamour.

Merci à mes proches notamment mes deux sœurs, montrés cher frère et mes amis particulièrement Amel, Fatima, hassiba etDjahida pour votre soutienet votre présence à mes côtés.

Liste des figures

Liste des schémas

Liste des abréviations

Introduction générale..... 01

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : peptides et dérivés

| | |
|---|----|
| 1. Généralité | 04 |
| 2. Utilisation pharmaceutique des peptides | 05 |
| 2.1. Avantages | 05 |
| 2.2. Inconvénients | 05 |
| 3. Peptides naturels | 06 |
| 4. Peptides synthétiques | 06 |
| 5. Dipeptides..... | 07 |
| 6. Les peptidomimétiques | 08 |
| 7. Méthodes de synthèse des peptides | 10 |
| 7.1. Synthèse en solution..... | 10 |
| 7.2. Synthèse peptidique sur support solide | 10 |

Chapitre II : Activités biologiques des peptides.

| | |
|--|----|
| 1. Introduction..... | 13 |
| 2. Peptides antioxydants | 14 |
| 3. Peptides antimicrobiens. | 14 |
| 4. Peptides anticancéreux..... | 15 |
| 4.1. Le cancer | 15 |
| 4.2. Traitement du cancer..... | 16 |
| 4.3. Mode d'action des produits anticancéreux..... | 16 |
| 4.4. Utilisation des peptides dans le traitement du cancer | 17 |

Partie II : Travail effectué commentaire et discussion

| | |
|---|-----------|
| 1. Généralité..... | 19 |
| 2. Protection de la fonction amine des acides aminés..... | 20 |
| 3. Principales méthodes de protection des acides | 24 |
| 4. Protection effectuées | 25 |
| 4.1. Protection de la fonction amine | 25 |
| 4.2. Estérification des aminoacides | 26 |
| 5. Méthodes de couplage peptidique..... | 28 |
| 6. Couplage effectués | 35 |
| Conclusion et perspective | 38 |
| Partie expérimentale | 39 |
| Références bibliographiques | |
| Annexe | |

Liste des figures

Figure 1: structures de quelques peptides d'intérêt biologique.

Figure 2: dipeptides envisagés.

Figure 3: la liaison peptidique.

Figure 4: structures secondaires des peptides.

Figure 5: structure d'un peptide naturel.

Figure 6: Structure de plinabuline NPI-2358.

Figure 7: dipeptide linéaire.

Figure 8: dipeptide cyclique.

Figure 9: exemples de peptidomimétiques.

Figure 10: Représentation simplifiée de la synthèse peptidique en phase solide.

Figure 12: structures chimiques des peptides antimicrobiens.

Figure 11: un antioxydant peptidique.

Figure 13: Les cibles des agents anticancéreux.

Figure 14: la structure de Bortezomib.

Figure 15: structures de Dolastatine 10 et dolastatine 15.

Figure 16: α et β - aminoacides.

Figure 17: Isomères optiques des acides aminés.

Figure 18: Autre groupements protecteurs

Figure 19 : structures de chloroformâtes (1) et de l'azidocarbonate (2)

Figure 20: structures de TFFH et de BTFFH

Figure 21: structures de BOP, TBTU et de HATU.

Figure 22: structures de DCC et EDC.

Liste des schémas

Schéma 1: exemple de synthèses en solution.

Schéma 2: mécanisme de protection par le BOC.

Schéma 3: clivage du BOC.

Schéma 4: mécanisme de protection par le Fmoc.

Schéma 5: mécanisme de déprotection du Fmoc.

Schéma 6: mécanisme de la protection par Cbz.

Schéma 7: les conditions de clivage du groupe Cbz.

Schéma 8: mécanisme de protection par l'anhydride phtalique (Ft).

Schéma 9: clivage du groupe Ft par l'hydrazine.

Schéma 10: protection de l'acide aspartique.

Schéma 11: acylation de la proline.

Schéma 12: estérification de la proline.

Schéma 13: estérification de la tyrosine.

Schéma 14: estérification de l'acide aspartique.

Schéma 15 : autre approche d'estérification de l'acide aspartique.

Schéma 16 : activation de la fonction acide

Schéma 17: Mécanisme de formation de chlorure d'acyle à l'aide de chlorure de thionyle.

Schéma 18 : Formation du fluorure d'acyle.

Schéma 19: préparation des Acylazides.

Schéma 20: préparation des Acylazides par DPPA.

Schéma 21: méthode de couplage par le BOP.

Schéma 22: méthode de couplage par ICF.

Schéma 23: le couplage par les carbodiimides.

Schéma 24: Utilisation d'HOBt pour minimiser la formation de N-acylurée.

Schéma 25 : synthèse du dipeptide asp-pro.

ABREVIATIONS:

| | |
|--------------------------|---|
| ACOH: | Acide acétique |
| ADN : | Acide désoxyribonucléique |
| Asp: | acide aspartique |
| Boc: | t-butyloxycarbonyle |
| BOP: | l'Hexafluorophosphate de benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)-phosphonium |
| CbZ: | Benzyloxycarbonyle |
| CCM: | chromatographies sur couche mince |
| CHCl₃: | chloroforme |
| Cys: | cystéine |
| DCC: | dicyclohexylcarbodiimide |
| DCM : | Dichlorométhane |
| DPPA : | L'azide de diphenylephosphonique |
| EDC : | 1-éthyl-3-(3' diméthylaminopropyl) carbodiimides |
| EPS : | Extraction en phase solide |
| ERO : | Les espèces réactives oxygénées |
| EtOH : | Éthanol |
| FDA : | Food and Drug administration |
| Fmoc : | 9- fluorenylméthoxycarbonyle |
| Ft : | L'anhydride phtalique |
| Glu : | L-glutamate |
| Gly : | L-glycine |
| HAUT : | 2-(1H-azabenzotriazol-1-yl)-1, 1, 3,3-tétraméthyluronium |
| HAUT: | le 2-(1H-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium |
| HBr : | Acide bromhydrique |
| HCl : | Acide chlorhydrique |
| His : | L-Histidine |
| HMPT : | L'hexaméthylphosphorotriamide |
| HOBt : | Le N-hydroxy- benzotriazole |
| HOBt: | hydroxy- benzotriazole |
| HPLC : | Chromatographie liquide à haute performance |
| ICF : | Chloroformiate d'iso-butyle |

| | |
|---------------|---|
| IRTF: | infrarouge transformé de Fourier |
| LAP : | Leucine aminopeptidase |
| MeOH : | Méthanol |
| NMM : | N-méthyl morpholine |
| PAM: | peptide antimicrobien |
| Phe : | L-phénylalanine |
| Pro : | L-proline |
| Rdt: | rendement |
| Rf: | rapport frontale |
| SPPS : | La synthèse peptidique en phase solide |
| TBTU : | 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1, 1, 3,3-teraméthyluronium |
| TBTU: | tétrafluoroborate de 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-teraméthyluronium |
| TEA: | triéthylamine |
| Téb: | température d'ébullition |
| TFA : | Trifluoroacétique |
| TFFH : | Hexafluorophosphate de N, N, N'', N''-tétraméthylformamidinium |
| THF : | Tétrahydrofurane |
| Trp : | L-tryptophane |
| Tyr: | tyrosine |
| β-ala: | beta alanine |

Introduction

Générale

Les peptides et les protéines représentent plus de la moitié du poids sec des cellules dans le monde vivant. Ils possèdent de nombreuses fonctions : ils rentrent dans les processus biologiques et physiologiques pour assurer les fonctions des cellules comme la structuration, la catalyse, la compaction de l'ADN et l'expression des gènes ^[1]. Les peptides et protéines sont formés à partir des aminoacides, unis les uns aux autres par une fonction amide, appelée liaison peptidique ^[2].

Au début du 19^{ème} siècle, la chimie des peptides a fait son apparition grâce au chercheur Hermann Emil Fischer, qui a réalisé la première synthèse peptidique : celle du dipeptide glycine-glycine en 1901 ^[3]. La Glutathionne (Glu-Cys-Gly) et la Carnosite (β -ala-His) ont été synthétisées en 1935 et la Gramicidine S en 1947 ^[4].

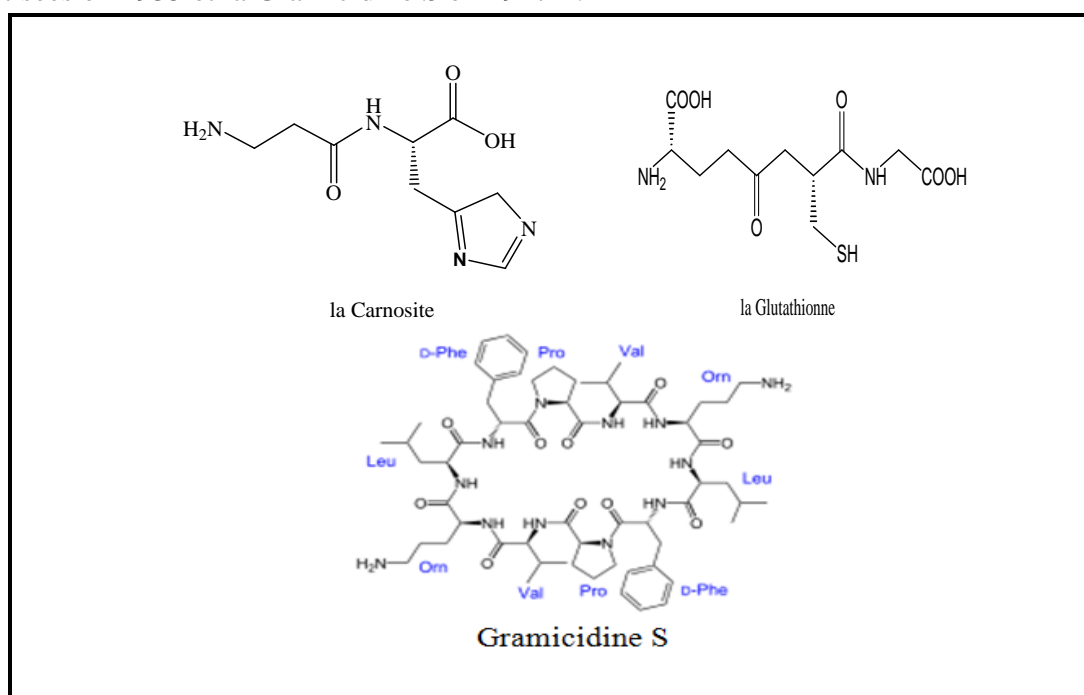


Figure 1:structures de quelques peptides d'intérêt biologique

Les processus vitaux des peptides sont devenus apparents au cours des années 1950 et 1960 grâce au développement des techniques d'analyses qui permettent leur isolation et leur purification.

Du Vigneaud en 1953 a contribué au développement majeur de la synthèse peptidique grâce à l'identification structurale et la synthèse totale de l'ocytocine. Cela lui a valu le Prix Nobel en 1955. Il a démontré que l'hormone naturelle et l'hormone synthétisée possédaient les mêmes activités ^[5].

Au cours des années soixante, la voie de chimie classique était très longue pour la synthèse peptidique et les rendements étaient très faibles. Cependant, en 1984 Merrifield a reçu le Prix Nobel grâce à la synthèse peptidique en phase solide (SPPS) qui a été à l'origine d'un développement sensible de la synthèse peptidique. L'amélioration et le développement des techniques de séparation et la purification par chromatographie liquide à haute performance (HPLC), sans oublier l'extraction en phase solide (EPS) ont permis d'augmenter le rendement et de mettre en valeur les peptides dans le domaine industriel. ^[6]

Depuis ces percées technologiques, le développement et la découverte d'un nombre croissant de peptides qui comportent des propriétés biologiques ont dirigés les chercheurs vers l'utilisation des peptides comme des molécules thérapeutiques d'avenir. En 2004, environ 20% des médicaments à base de peptides étaient vendus dans le monde, entre 600 et 700 peptides étaient en stade de développement et plus de 150 étaient à différents stades de phase clinique dans différents domaines pharmaceutiques tels que le traitement de certaines formes de cancers, du VIH, de l'ostéoporose, et des maladies neurodégénératives ^[7].

La synthèse des peptides bioactive reste toujours d'actualité grâce aux travaux et recherches développés dans les différents domaines : synthèse organique, biologique et thérapeutique.

L'objectif de ce travail consiste de synthétiser différents fragments peptidiques de type dipeptide afin de participer à la mise au point des précurseurs importants en synthèse peptidique. Il est à noter que notre mémoire s'inscrit dans la continuation des travaux qui sont en cours sur la synthèse des hétérocycloalcane de type indolizidinone à partir des acides aminés, comme produits de départ.

Nous avons choisi trois acides aminés pour réaliser ce travail : l'acide aspartique, la tyrosine et la proline, cette dernière représente la structure la plus importante dans la liste à cause de sa structure cyclique. L'acide aspartique : un acide aminé linéaire contient deux fonctions acides carboxyliques et la tyrosine comporte un noyau aromatique avec une fonction phénol.

Les dipeptides synthétisés ont été préparé selon les étapes suivantes (**Figure 2**):

- Estérification des aminoacides (proline, acide aspartique et tyrosine).
- Protection de la fonction amine des aminoacides (proline et acide aspartique).
- Couplage peptidique.

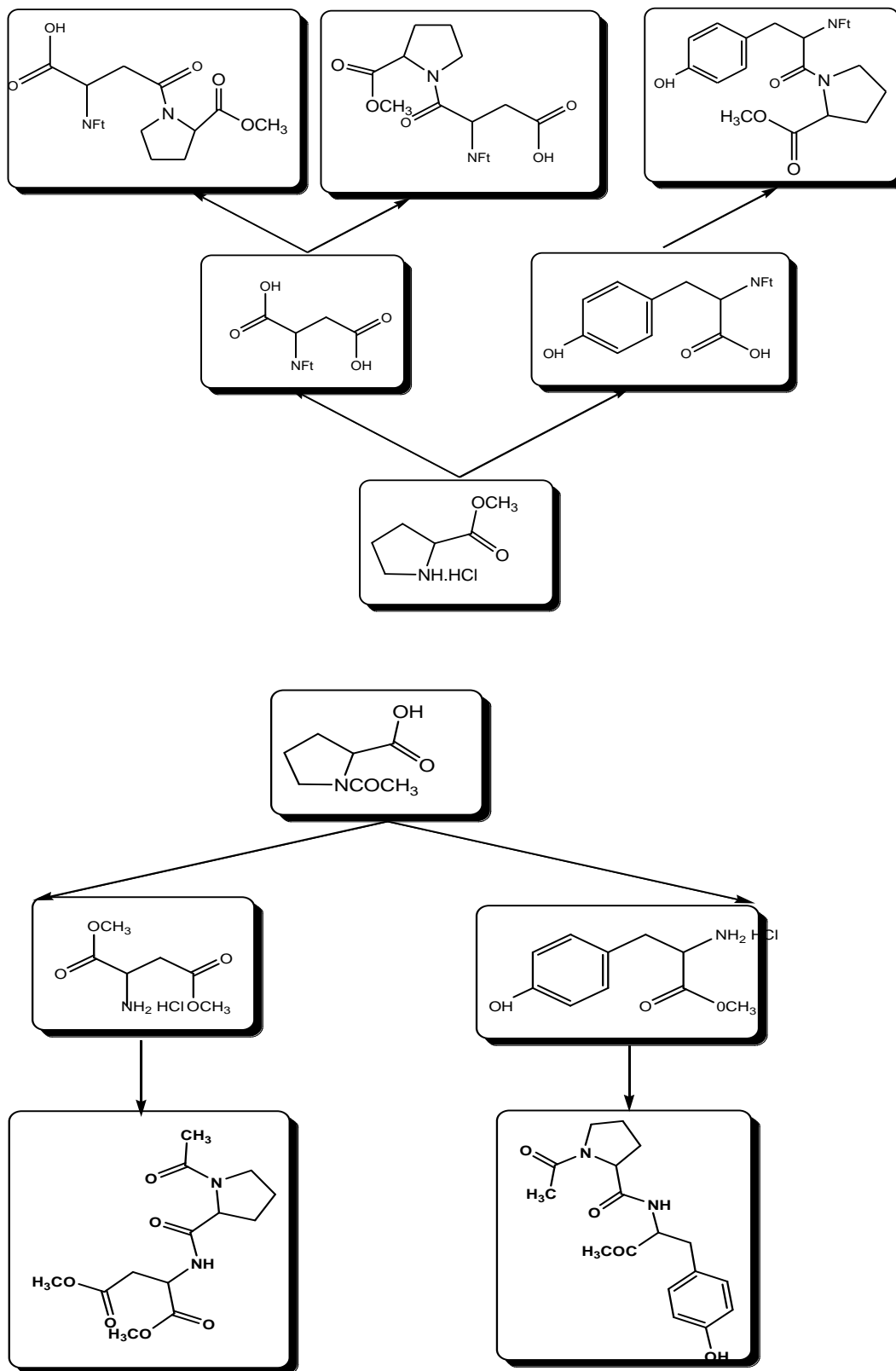


Figure 2 : dipeptides envisagés.

Partie I :

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1

Peptide et Dérivés

1. Généralité

Les peptides participent à la structure des membranes comme éléments de construction ; ils jouent également un rôle important dans les activités biologiques de divers systèmes vivants. Par définition, un peptide est un enchaînement d'un nombre d'acides aminés inférieur à 50. Pour différencier les différentes structures, on parle de polypeptide pour un nombre d'acides aminés supérieur à 10, d'oligopeptide pour un nombre inférieur à 10 et de dipeptides lorsque le squelette peptidique comporte seulement deux acides aminés.

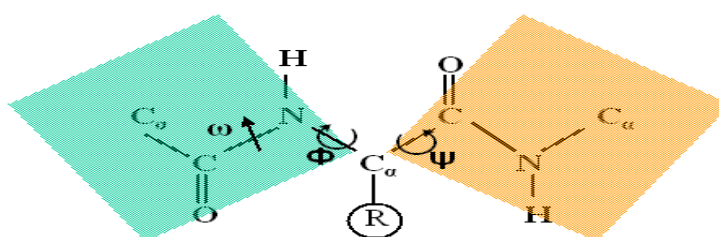


Figure 3: la liaison peptidique

Les peptides montrent une grande flexibilité due à la liberté rotationnelle de certaines liaisons. Cependant, on peut rencontrer au sein d'un peptide des contraintes spatiales dues à l'encombrement stérique des chaînes latérales. Dans certains cas, l'établissement de liaisons hydrogène intermoléculaires et surtout intramoléculaires induit au peptide une structure secondaire qui régule son activité biologique. Les molécules adaptent alors une conformation privilégiée en hélice, en feuillet ou en coude (figure 4). Ce sont des structures peptidiques secondaires responsables de la reconnaissance moléculaire par le biais de laquelle nos cellules véhiculent et échangent de l'information.

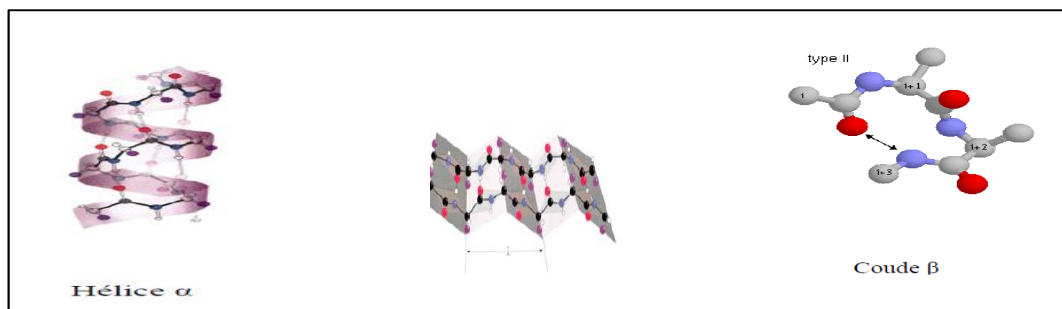


Figure 4: structures secondaires des peptides

2. Utilisation pharmaceutique des peptides

Le développement et la découverte d'un nombre croissant de peptides qui comportent des propriétés biologiques ont dirigés les chercheurs vers l'utilisation des peptides comme des molécules thérapeutiques. En 2010 de nombreux médicaments parmi les 200 meilleurs vendus sont des peptides, on peut par exemple citer entre autre Copaxone®, Lupron® et Zoladex®^[8].

2.1. Avantages :

Les peptides offrent plusieurs avantages par rapport aux petites molécules qui constituent les médicaments traditionnels :

- Ils représentent souvent la plus petite partie fonctionnelle d'une protéine, qui offre une efficacité, une sélectivité et une spécificité que les concepteurs de petites molécules utilisés comme médicaments^[9].
- les produits de dégradation des peptides sont des acides aminés, ce qui élimine fortement les risques de toxicité^[10].
- les peptides s'accumulent peu dans les tissus en raison de leur temps de demi-vie qui est très court, ceci constitue aussi un désavantage, quand il est question de durée d'action.

2.2. Inconvénients :

La conception des peptides à usage thérapeutique reste toutefois extrêmement compliquée et soulève un grand nombre de problèmes :

- les peptides n'obéissent pas aux règles de LIPINSKI^[11], ce qui les rendent difficile comme administrable par voie orale et de ce fait sont fréquemment injectés par voie intraveineuse, d'où un certain inconfort pour le patient^[12].
- la biodégradabilité des peptides due aux peptidases du système gastro-intestinal, il en résulte une durée de demi vie faible, variant de quelques minutes jusqu'à quelques heures au maximum^[13].
- les peptides présentent en générale une faible perméabilité membranaire à cause de leur caractère fortement hydrophile et polaire, ils sont ainsi incapable de traverser certaines barrières biologiques comme les parois intestinales ou la barrière hémato-encéphalique et sont facilement éliminés par excrétion rénale.

- la haute flexibilité conformationnelle, et en particulier celle des chaînes latérales, peut entraîner l'activation de d'autre récepteurs et donc des effets secondaires non désirés.

3. Peptides naturels

Le milieu naturel a toujours été une source très importante de molécules bioactives. Il est très riche en différentes classes des composés chimiques telle que : les alcaloïdes, les terpènes, les flavonoïdes et les peptides. Ces derniers représentent une source d'inspiration pour le développement de nouveau agents thérapeutiques.

A titre d'exemple un tripeptide de la famille des hemiassterlines, issues d'éponges, provoque l'inhibition de la polymérisation de la tubuline ainsi que la dépolymérisation des microtubules existants, l'inhibition de la mitose et donc de la prolifération cellulaire ^[14].

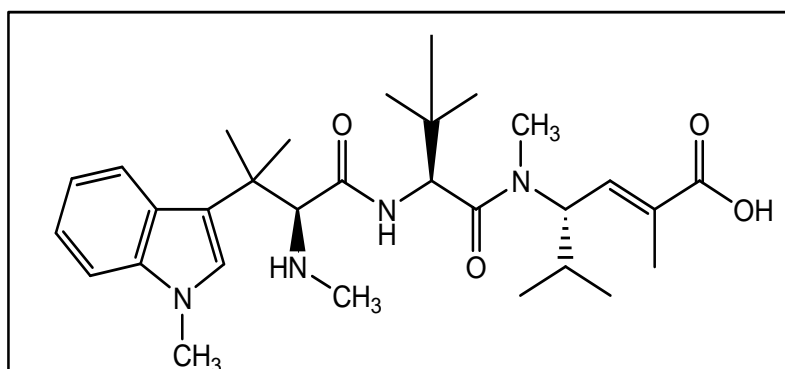


Figure 5: structure d'un peptide naturel

4. Peptides synthétiques

Les peptides isolés des plantes sont toujours en quantités limitées. En conséquence, les chercheurs ont essayé de synthétiser des peptides bioactifs pour étudier leurs propriétés et leurs applications dans divers domaines.

Parmi les composés qui sont obtenus par synthèse chimique on peut citer: Le plinabuline NPI-2358 : est un dérivé synthétique d'halimide issu d'Aspergillus. Présente une activité antinéoplasique, il induit également la dépolymérisation de la tubuline des cellules endothéliales vasculaires ainsi détruit sélectivement la vascularisation de la tumeur [15].

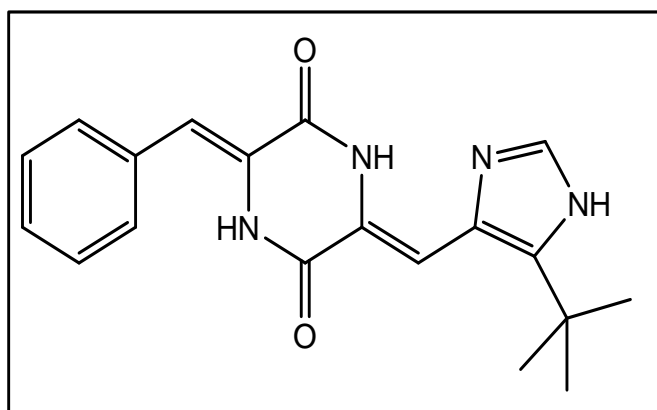


Figure 6: Structure de plinabuline NPI-2358

5. Dipeptides

On parle de dipeptides lorsque le squelette peptidique comporte seulement deux aminoacides, liés entre eux par une liaison peptidique. Ces derniers sont évidemment la séquence la plus courte de peptides qui représente les deux familles connues, linéaires et cycliques.

Dans la nature, les dipeptides linéaires se trouvent comme des molécules antitumorales, c'est notamment le cas du composé IM862, qui est un dipeptide naturel, formé de : L-Glu-L-Trp, également appelé glufanide. Il a été isolé pour la première fois par le Laboratoire PEPTOS, en Russie, qui s'intéressait aux peptides pharmacologiquement actifs. Initialement isolé du thymus de veau, il a été ensuite obtenu par synthèse [16].

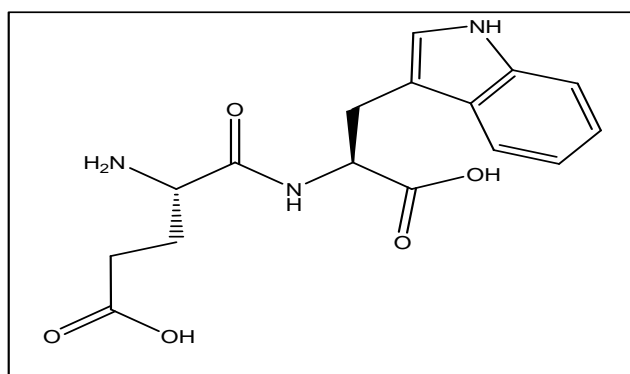


Figure 7: dipeptide linéaire.

Par ailleurs, les dipeptides cycliques sont très répandus dans la nature, ils sont d'ailleurs isolés à partir de produits naturels provenant du monde animal, végétal ainsi que des microorganismes.

Généralement, ces substances sont obtenues à partir des peptides et protéines par thermolyse et hydrolyse acide ou enzymatique. Comme exemple illustratif, le *cyclo-L-His-L-Pro*, qui a été identifié et isolé du sang humain^[17].

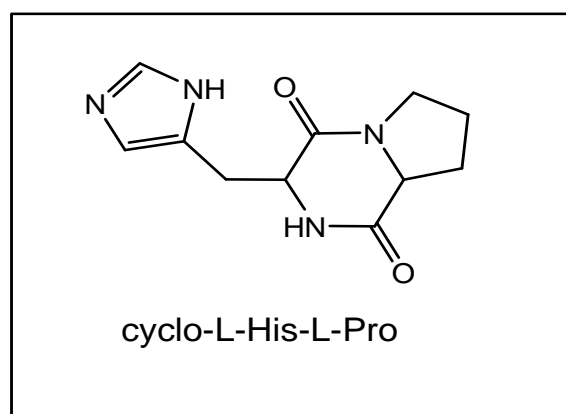


Figure 8: dipeptide cyclique

6. Les peptidomimétiques

La première définition d'un peptidomimétique a été donnée par Gant^[17] en 1994, il le définit comme une molécule présentant des analogies structurelles avec le peptide natif, nécessaire à l'interaction avec le récepteur adéquat.

En effet les peptidomimétiques présentent de nombreux avantages par rapport aux produits naturels. Ces avantages sont notamment :

- une stabilité métabolique et une affinité accrue.
- une forte absorption au niveau des membranes intestinales.
- une faible digestion par les enzymes protéolytiques, ainsi qu'une distribution homogène dans le système immunitaire.
- de bonnes affinités, spécificités et sélectivités avec les récepteurs biologiques.
- peu d'effets secondaires.

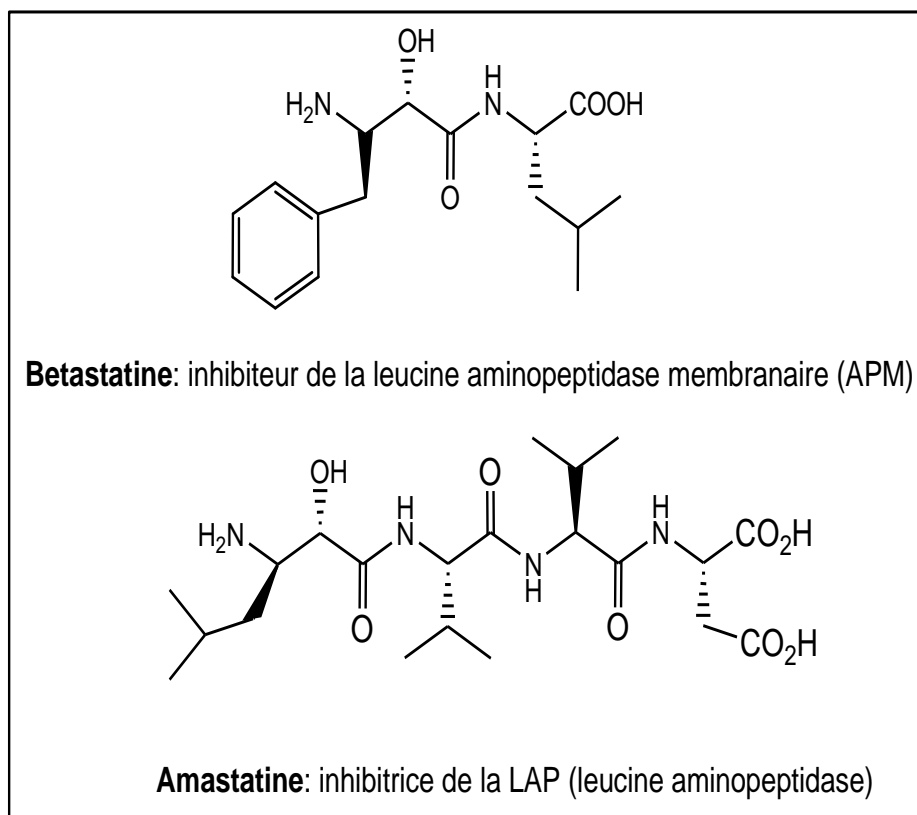


Figure 9:exemples de peptidomimétiques

Il existe plusieurs stratégies de synthèse qui permettent d'obtenir des substances peptidomimétiques avec une très bonne stéréosélectivité. Parmi ces dernières, on peut citer :

- la modification du squelette des aminoacides.
- l'introduction d'une fonction amino alcool.
- l'introduction d'un groupement cétone.
- la synthèse d'analogue de dipeptides.
- Une restriction globale de la conformation.

7. Les méthodes de synthèses des peptides :

7.1. Synthèse en solution :

La synthèse des peptides en solution consiste à mettre en contact les acides aminés avec un agent de couplage dans un solvant, généralement le dichlorométhane. L'agent de couplage permet d'activer chimiquement le brin que l'on veut condenser au niveau de l'extrémité C terminale. Il est donc nécessaire d'adopter des stratégies de protection et de déprotection afin de préparer les peptides désirés.

Diverses méthodes permettent l'activation de la fonction acide carboxylique lors du couplage en utilisant un halogène, un azide, un imidazole, un anhydride (symétrique ou mixte), ou un ester activé. L'exemple suivant illustre la synthèse d'un dipeptide en solution.

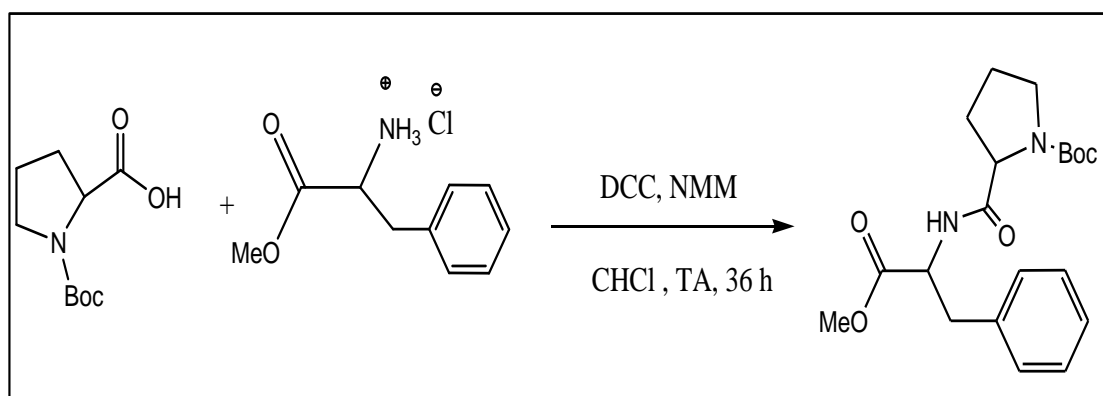


Schéma 1: exemple de synthèses en solution ^[18].

7.2. La synthèse peptidique sur support solide

La synthèse en phase solide (SPS) est une méthode dans laquelle les molécules sont liées de manière covalente à un support insoluble et réagissent avec un réactif en solution. En comparant avec la synthèse en solution, cette méthodologie permet de séparer plus facilement le produit supporté par la phase solide du réactif en excès ou des impuretés en solution. Elle a donc bénéficié d'un développement considérable depuis les premiers supports présentés par Merrifield en 1963^[19] et pour lesquels il a obtenu le prix Nobel en 1984.

7.2.1 Principe

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

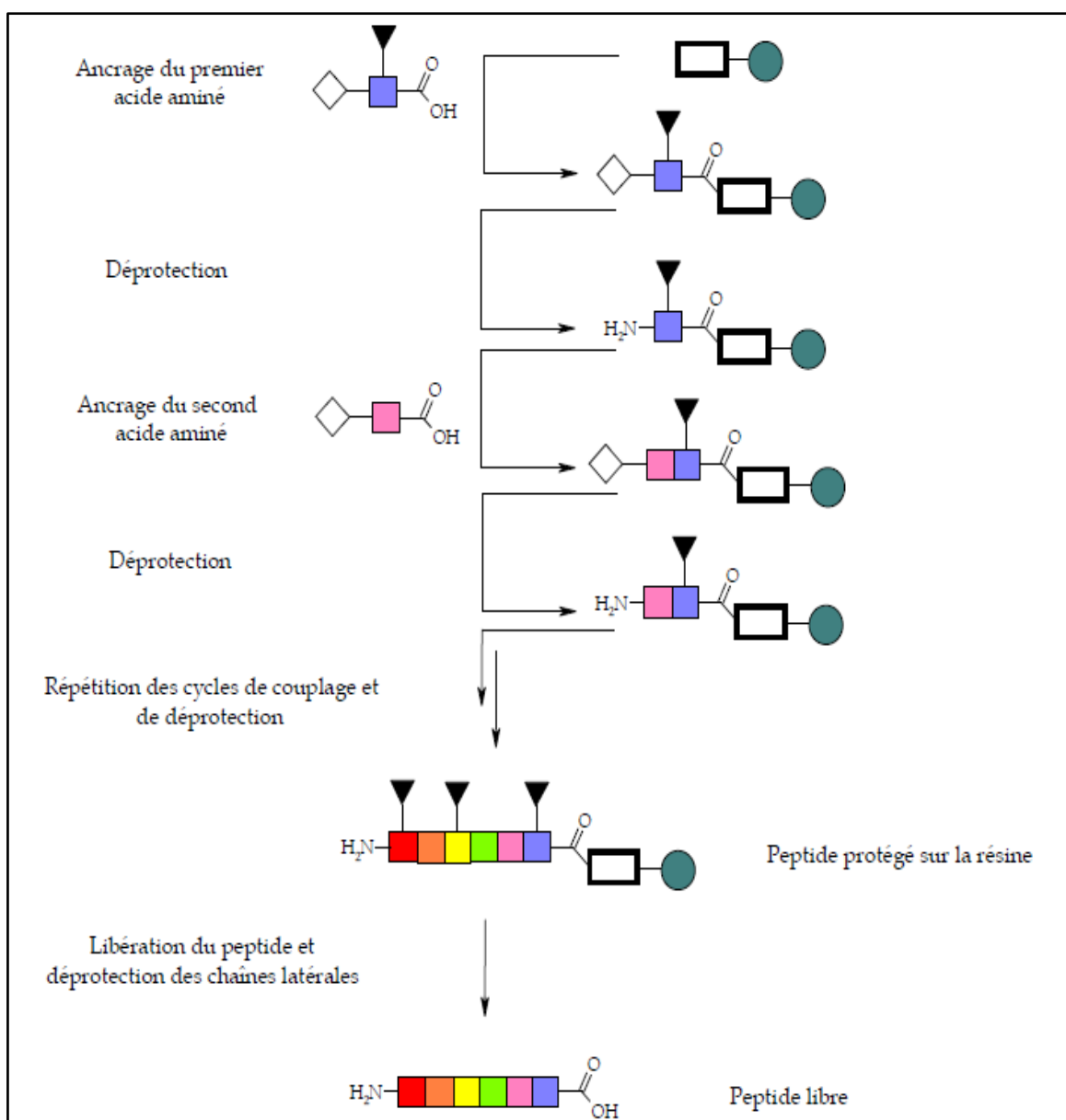


Figure 10 : Représentation simplifiée de la synthèse peptidique en phase solide ^[20]

7.2.2. Avantages et inconvénients de la SPS :

Ce type de synthèse présente de nombreux avantages ^[21] :

- La purification des produits est facilitée par une simple étape de filtration.
- Le groupement protecteur d'une fonction donnée peut être fourni par le support lui-même à travers le groupe d'ancrage.
- L'automatisation des synthèses supportées est possible.
- La réactivité d'un réactif ou d'un catalyseur instable peut être atténuée s'il est supporté.
- L'utilisation des composés toxiques peut devenir plus aisée.

Cependant, des inconvénients sont également à considérer lors de l'élaboration de synthèses sur support solide comme:

- Le coût et la durée supplémentaires pour la synthèse du support.
- De manière générale, la cinétique est très lente sur support.
- L'étape de clivage peut parfois être incomplète ou peut endommager le support.
- La stabilité thermique de la matrice constituant le support est limitée, de même que la capacité en sites actifs.
- La caractérisation des produits supportés peut être difficile, étant donné que les techniques classiques utilisées en synthèse dans les solutions ne sont pas applicables pour la plupart des cas.

Chapitre II

Activité biologique des peptides

1. Introduction

Les peptides trouvent de nombreux débouchés d'application dans le domaine biotechnologique, parmi lesquels des applications pharmaceutiques. La progression du nombre de nouvelles petites molécules déposées à la FDA comme substances médicamenteuses s'essouffle. Dans ce contexte, de grosses sociétés pharmaceutiques investissent dans la recherche peptidique pour ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques. Ces molécules sont intensivement utilisées à cause de leurs diverses activités biologiques. On pense notamment aux peptides antimicrobiens (AMPs) qui promise à un grand avenir, afin de contrer la perte d'efficacité des antibiotiques classiques ^[22]. Les peptides vecteurs (CPPs) constituent une autre possibilité d'utilisation thérapeutique. Ils sont capables de faire pénétrer des composés thérapeutiques aussi variés que des drogues, les peptides antioxydants et les peptides antitumoraux.....etc.

2. Peptides antioxydants

Les espèces réactives oxygénées (ERO) sont impliquées dans des processus physiologiques à des faibles quantités. Cependant, l'excès de la production des radicaux libre peut devenir toxique pour les composants majeurs de la cellule, les lipides, les protéines et les acides nucléiques ^[23], et donne lieu au stress oxydatif qui sera impliqué dans diverses pathologies à savoir les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson), le diabète, le cancer, les maladies inflammatoires, le vieillissement ^[24],..... Etc.

Pour contourner les dommages causés par les espèces réactives oxygénées, la cellule fait appel à des systèmes de défense appelés antioxydants. Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible ^[25]. Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif ^[26]. Sous certaines conditions, ces systèmes antioxydants ne peuvent pas fonctionner efficacement.

Cependant, la dysfonction antioxydant qui en résulte peut être manipulée par la supplémentation en antioxydants oxygènes, soit naturels ou de synthèse. Mis à part L'ascorbate (vitamine C), le α -tocophérol (vitamine E), le β -carotène, et Les flavonoïdes, les peptides présentent de bonnes performances pour supprimer l'activité des espèces réactives de l'oxygène.

Dans des études précédentes, il a été constaté que le dipeptide (CA-Pro-His-NH₂) a montré une forte activité anti-oxydante^[27].

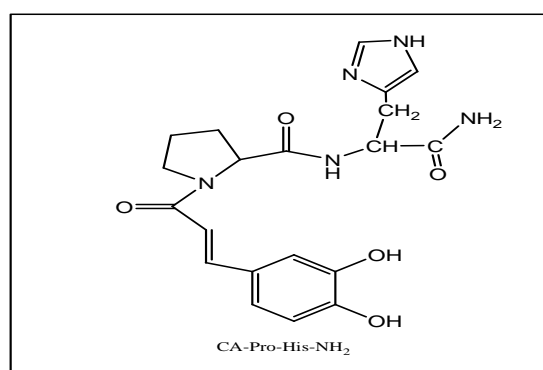


Figure 11: un antioxydant peptidique.

3. Peptides antimicrobiens

Les infections bactériennes sont causées par différents micro-organismes et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. De nombreux antibiotiques sont développés par les chercheurs pour traiter ces infections.

Le terme antimicrobien désigne les différents agents et substances qui tuent (Microbicides), ou arrêtent (Microbiostatiques) la croissance des microorganismes, telles que : les bactéries (activité antibactérienne), les mycètes ou les champignons (activité antimycosique ou antifongique), les virus (activité antivirale) et les parasites (activité antiparasitaire)^[28].

L'émergence de pathogènes multi-résistants ne cesse d'augmenter et présente un problème majeur dans le secteur alimentaire et de santé. La recherche d'une nouvelle classe d'agents antimicrobiens considérée comme solutions de rechange aux antibiotiques conventionnels est rendue quasi-obligatoire et d'une importance cruciale. Une des alternatives prometteuses est l'utilisation des peptides antimicrobiens (PAM).

Les PAM, ou encore AMP (Antimicrobial peptide), sont des peptides multifonctionnels jouant un rôle biologique fondamental, notamment dans l'élimination de micro-organismes pathogènes^[29].

La figure 12, montre la structure chimique de deux dérivés de dicétopipérazines qui sont : *cis*- cyclo (L-Phe, L-Pro) et *cis* cyclo (L-prolyl, L-valine). Ces peptides ont été purifiés et caractérisés chimiquement à partir de la souche de *Streptomyces*TN97 et possèdent des activitésantibactériennes et antifongiques^[30].

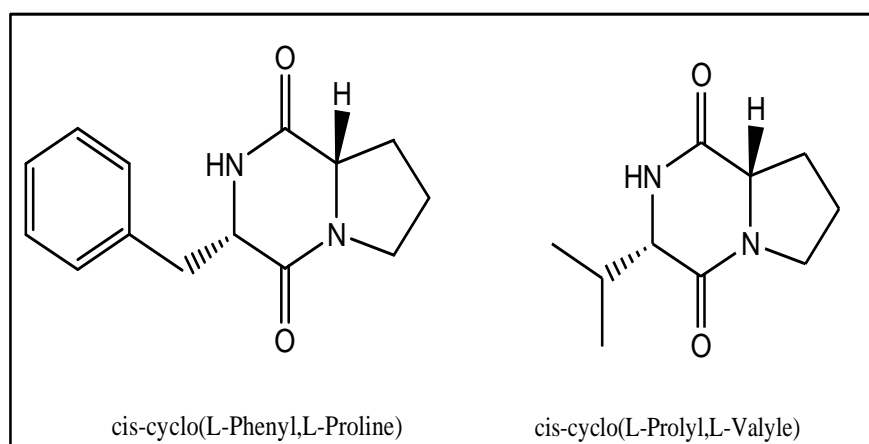


Figure 12:structures chimiques des peptides antimicrobiens.

4. Peptides anticancéreux

4.1.Le cancer

Le cancer regroupe un ensemble de maladies caractérisées par une prolifération illimitée des cellules capables d'échapper à une mort cellulaire programmée (appelée apoptose), ce qui entraîne la formation d'une population de cellules anormales pouvant se disperser dans l'ensemble de l'organisme^[31].

Ces maladies apparaissent dans les différentes parties du corps humain : tissus, organes ou cellules associées à ces tissus. Il existe donc différents types de cancers ayant des évolutions distinctes et diverses.

4.2. Traitements du cancer

Pour traiter le cancer, il existe deux grands types de traitements. Les traitements locorégionaux qui agissent directement sur la tumeur (la chirurgie, la radiothérapie, et la photothérapie dynamique des tumeurs), et les traitements systémiques qui ne sont pas ciblés (l'hormonothérapie, l'immunothérapie, et la chimiothérapie) [32].

4.3. Mode d'action des produits anticancéreux

Le but des agents anticancéreux utilisés par les différentes méthodes de traitement est d'atteindre les cellules tumorales afin de les détruire, par interaction avec une ou plusieurs cibles pharmacologiques [33]. La figure 13 résume les différentes cibles potentielles de la chimiothérapie.

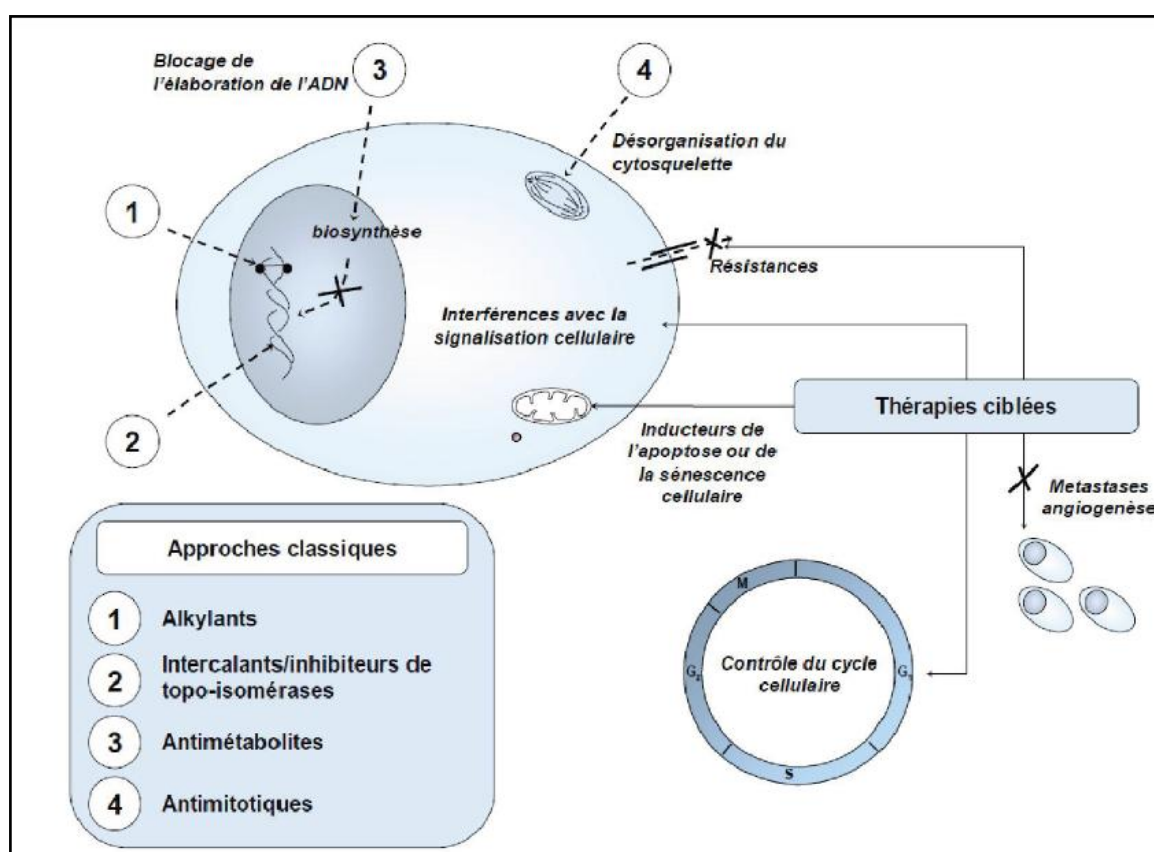


Figure 13: Les cibles des agents anticancéreux.

Une des principales cibles de traitements anticancéreux est l'ADN. Les molécules anticancéreuses peuvent interagir avec l'ADN de trois manières différentes:

- par établissement de liaison covalente avec l'ADN (agents alkylants).
- en interagissant avec les systèmes de réparation de l'ADN (agents intercalant, inhibiteurs de topo-isomérase)
- en bloquant la biosynthèse des constituants de l'ADN (anti métabolites).

Les autres anticancéreux sont les molécules qui perturbent le fuseau mitotique, et empêchent la division cellulaire. Enfin d'autres approches sont développées comme celles qui ^[33] :

- restaurent le phénomène de l'apoptose.
- restaurent les systèmes de contrôle du cycle cellulaire.
- inhibent l'angiogenèse.
- interviennent dans les voies de signalisation cellulaire.

4.4. Utilisation des peptides anticancéreux

Plusieurs peptides anticancéreux ont été identifiés dans plusieurs sources (micro-organismes, plantes, hydrolyse protéique des produits alimentaires...). Par exemple Le Bortezomib ou Velcade® est le premier inhibiteur de protéasome approuvé par la FDA pour le traitement de myélome multiple en 2003 et du lymphome du manteau en 2006 ^[34].

Un point fort du bortezomib est son action ciblée sur les cellules cancéreuses. L'apoptose provoquée par cette molécule est caractérisée par une augmentation de l'expression de NOXA (protéine pro-apoptotique de la famille BH-3) ^[35].

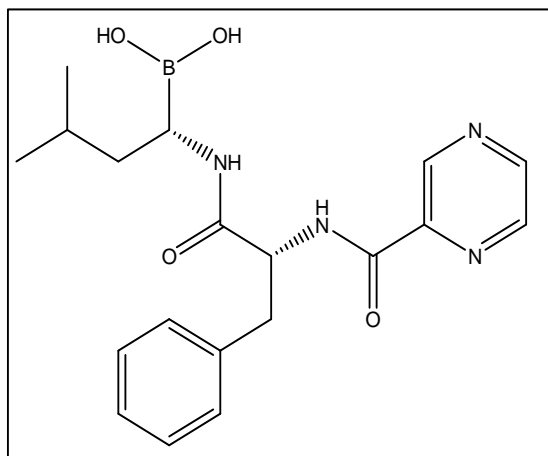


Figure 14: la structure de Bortezomib.

Les dolastatines sont des oligopeptides (de type pentapeptidique), contenant des acides aminés conventionnels (dolavaline, dolaisoleucine, dolaproline, dolaphinine). Les dolastatines 10 et 15 montrent une activité cytotoxique. La dolastatine 15 agit en se fixant au site de liaison des vinca-alcaloïdes de la tubuline et inhibent la polymérisation des microtubules ^[36], alors que la dolastatine 10 montre une activité pro-apoptotique sur les différentes lignées cellulaires cancéreuses : sein, poumon, leucémie et lymphome ^[37].

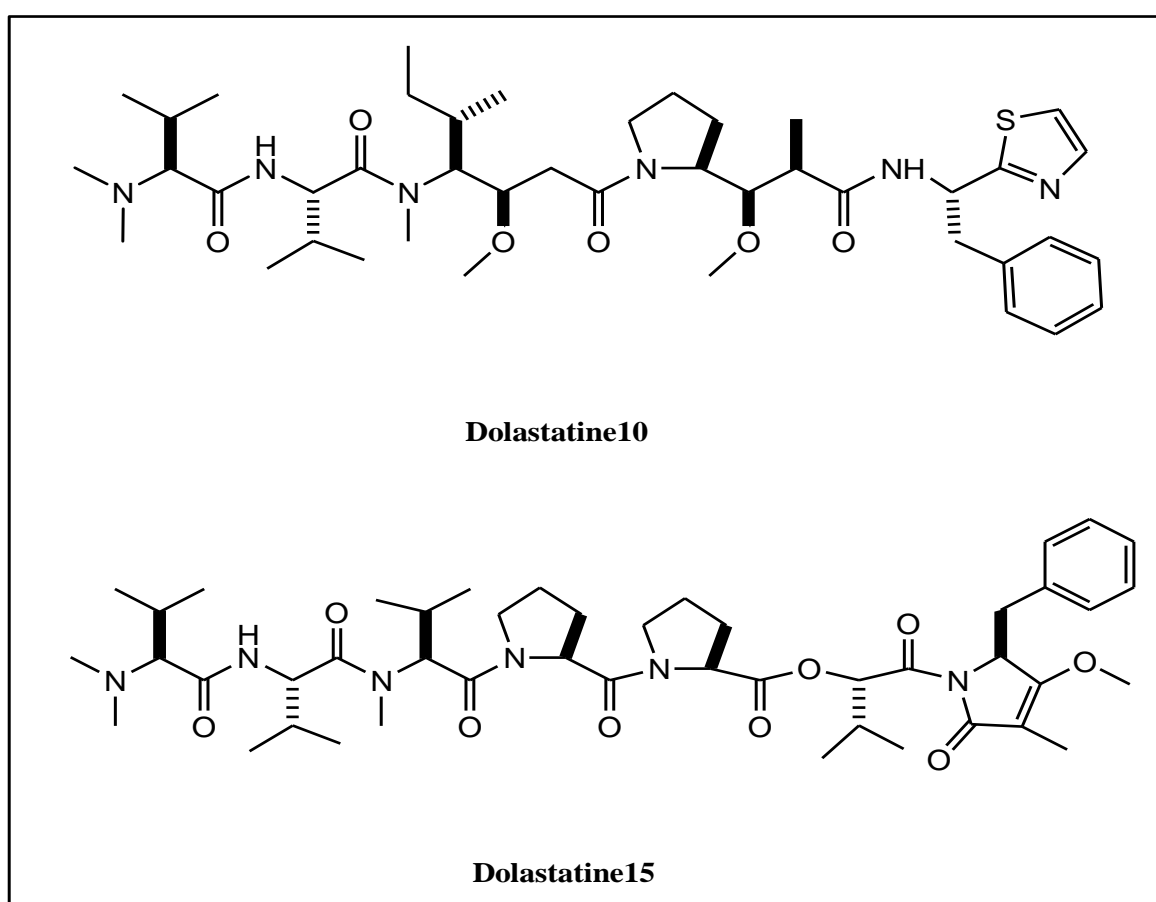


Figure 15:structures de Dolastatine 10 et Dolastatine15

Partie II

Travail effectué

Commentaire et discussion

1. Introduction

Un peptide est un enchaînement des acides aminés. Un acide aminé est une molécule comportant une fonction acide carboxylique, une fonction amine et un résidu R, portés par un carbone central. Il existe plusieurs familles d'acides aminés parmi les plus importantes : les α -aminoacides (les fonctions amines et acides carboxyliques sont portées par le même carbone) et les β -aminoacides (la fonction acide est en position β par rapport à la fonction amine).

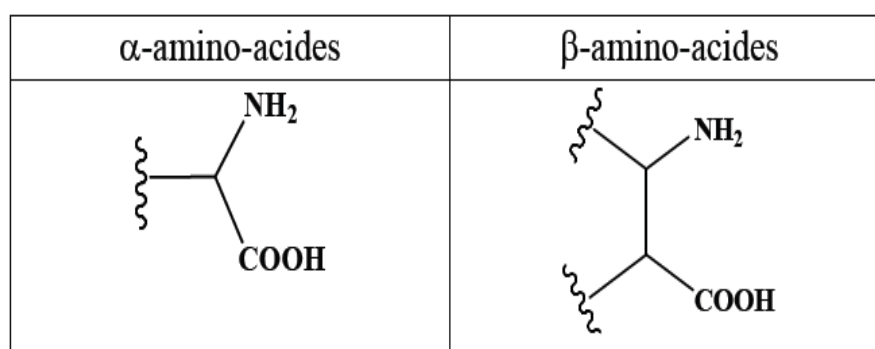


Figure16: α et β - aminoacides

Selon la configuration du carbone stéréogène, on distingue deux séries d'acides aminés, L et D, la série naturelle étant la série L.

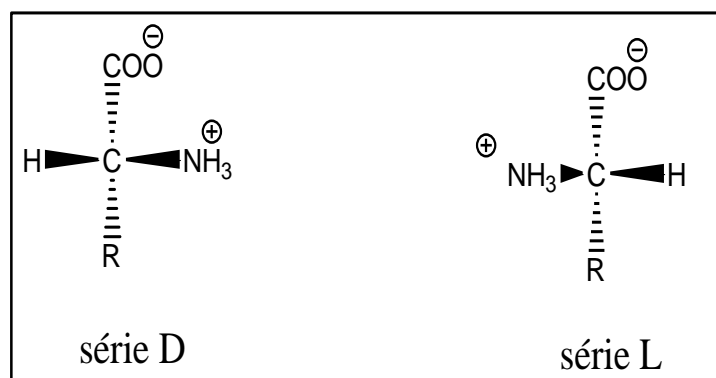


Figure17: Isomères optiques des acides aminés

Les acides aminés sont des composés qui possèdent une fonction amine et une autre acide carboxylique ; il est donc nécessaire de protéger l'une des deux fonctions pour pouvoir travailler sur la fonction restante

2. Protection de la fonction amine des acides aminés

Il existe plusieurs groupements protecteurs de la fonction amine parmi les plus utilisés en synthèse peptidique on cite:

2.1. Le *t*-butyloxycarbonyle (BOC) :

L'utilisation du motif tertibutyloxycarbonyle pour protéger les amines a été suggérée par Carpino en 1956^[38] et depuis, cette stratégie devient la plus utilisée en synthèse peptidique. En 1957, Anderson et Mac Gregor rapportent la synthèse de nombreux Boc-aminoacides^[39].

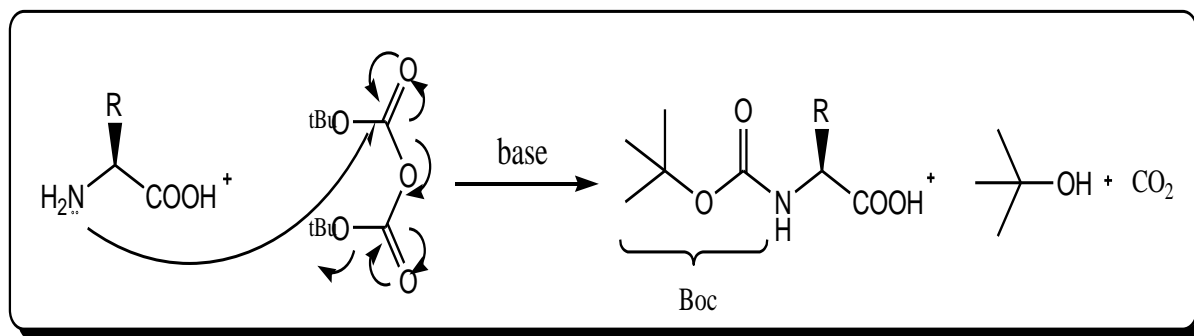


Schéma 2: mécanisme de protection par le BOC.

L'introduction du motif Boc peut être réalisée à partir du carbonate mixte de tertibutanol et de para-nitrophénol(A), de l'azidocarbonate de tertibutyle (B) ou du di-tertibutyldicarbonate(C)^[40].

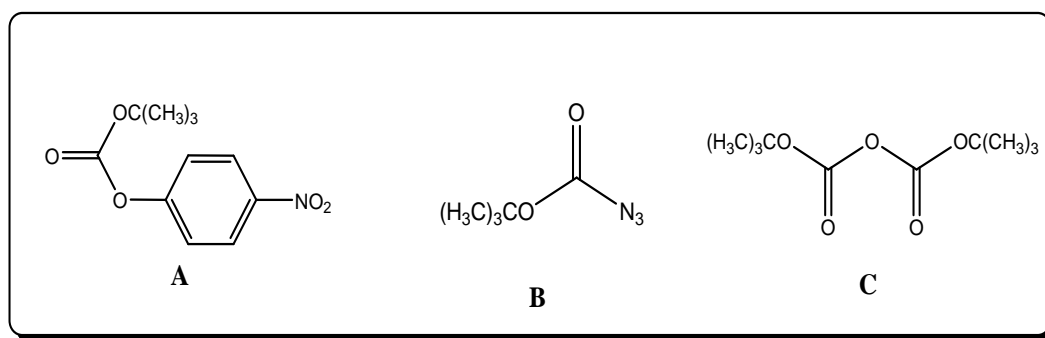


Figure 18: Autre groupements protecteurs

Le groupement Boc est stable dans le milieu basique, réducteur et nucléophile. Il est éliminé facilement en milieu acide par : HCl 1N/CH₃COOH, ou par HCl 4N/dioxane ou bien par le TFA pur ou dilué ^[41]. De plus, les sous-produits de la réaction sont des composés volatils permettant une Purification facile de l'amine libérée (**schéma 3**).

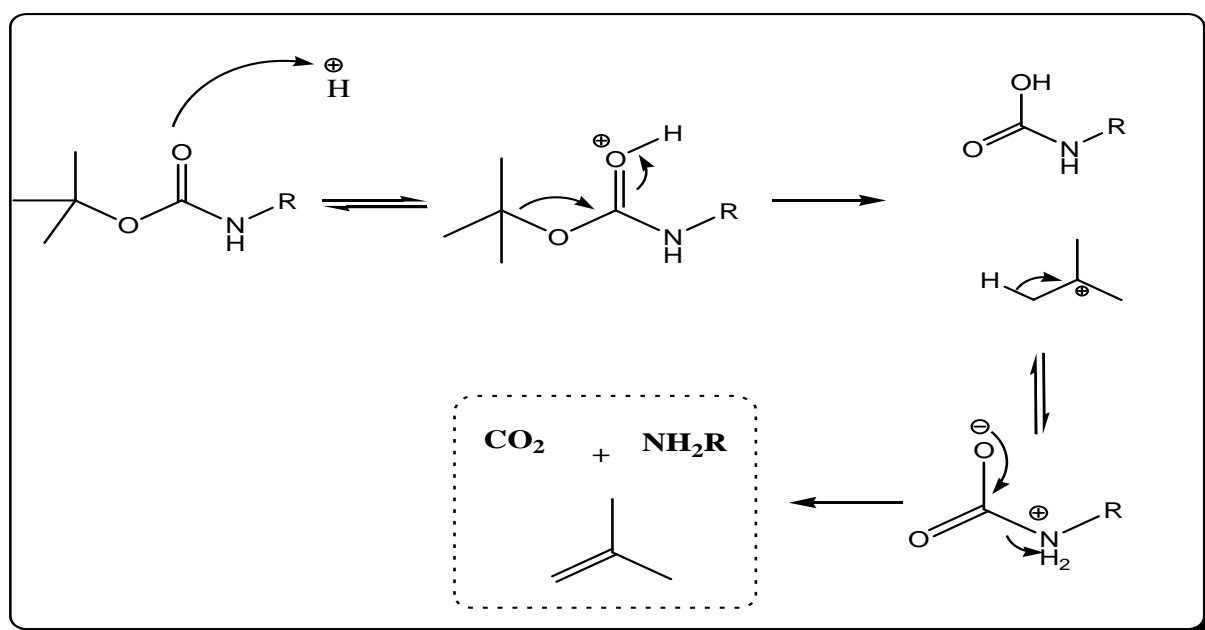


Schéma 3: clivage du BOC.

2.2. Le 9- fluorenylméthoxycarbone (Fmoc) : est largement répandu dans la chimie des peptides, même en phase solide. Il est décrit par Carpino en 1970 et introduit à partir du chloroformate (1) ou de l'azidocarbonate (2) correspondant ^[42].

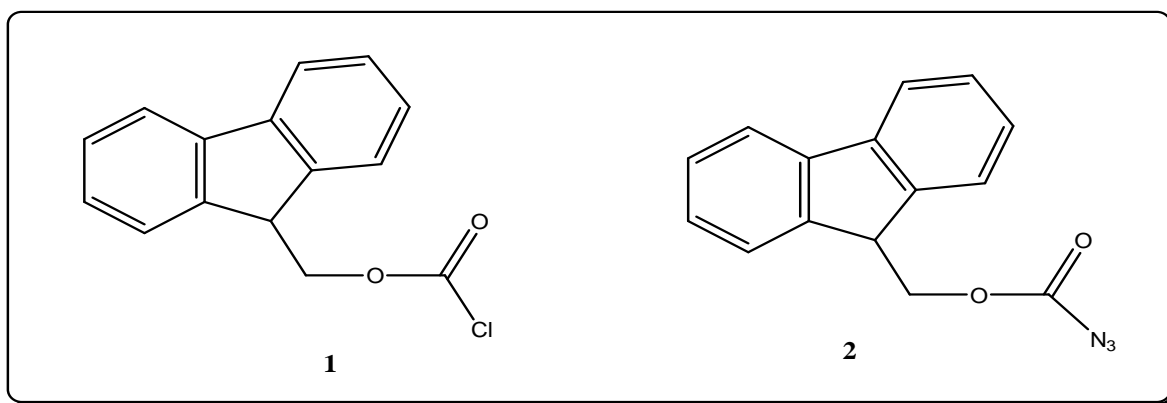


Figure 19 : structures de chloroformates (1) et de l'azidocarbonate (2).

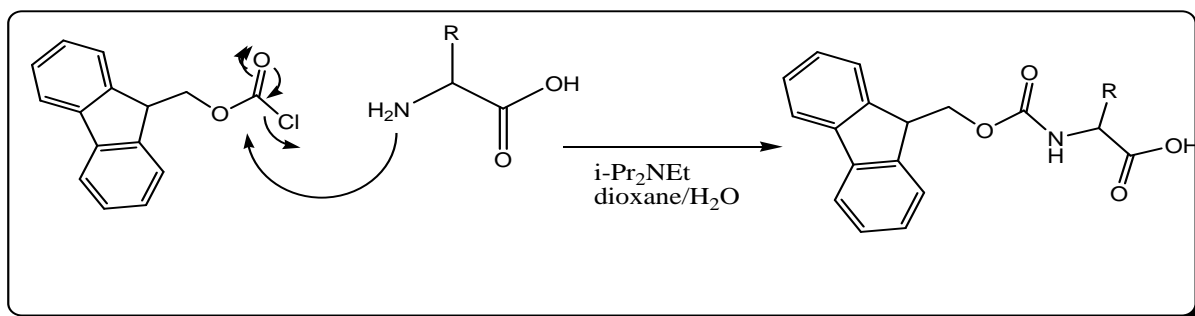


Schéma 4: mécanisme de protection par le Fmoc

Dans des conditions acides, le groupe (Fmoc) est stable et résiste à l'hydrogénation catalytique mais son clivage s'effectue dans des conditions basiques douces en présence d'une base comme la pyridine, la morpholine, l'ammoniac, l'éthanol amine ou de 4-(aminométhyl) pipéridine. Il peut être réalisé en présence d'un ester benzyle^[43].

La déprotection du groupe Fmoc avec une amine tertiaire se fait selon le schéma suivant :

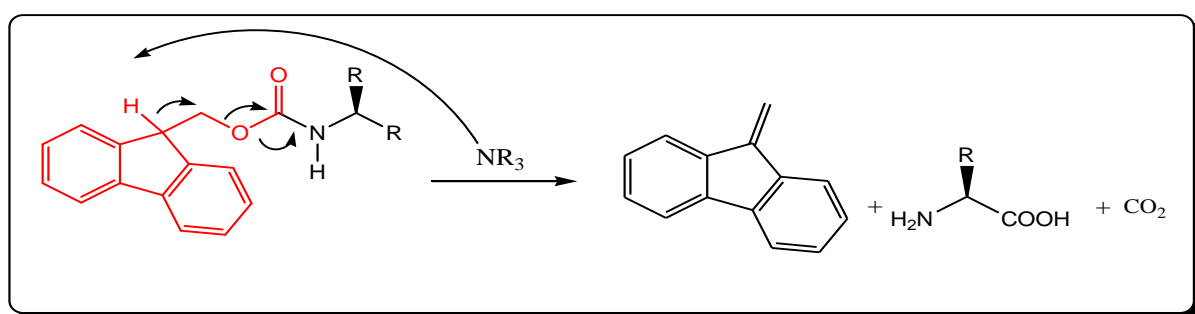


Schéma 5: mécanisme de déprotection du Fmoc.

2.3. Le Benzyloxycarbonyle (Cbz) ou Z:

Le Z est l'un des premiers groupements protecteurs utilisés en synthèse peptidique. Proposé par Zervas et Bergman en 1932, ^[44]. Son introduction sur un acide aminé ou un peptide est réalisée à partir du chloroformate de benzyle dans les conditions de Schotten-Bauman.

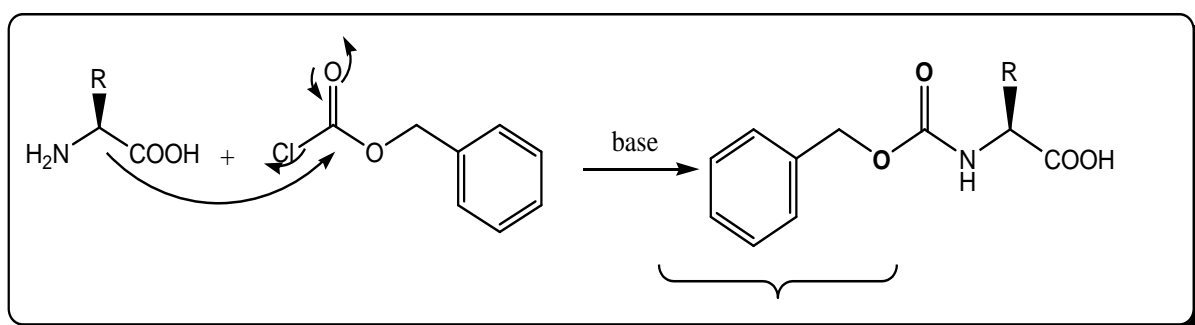


Schéma 6: mécanisme de la protection par Cbz.

Les Z-aminoacides sont stables en milieu basique, nucléophile et faiblement acide. Ils sont clivés par hydrogénation catalytique (voie A), par le sodium dans l'ammoniac liquide (voie B) ou par l'acide bromhydrique 6N dans l'acide acétique (voie C) (schéma 7).

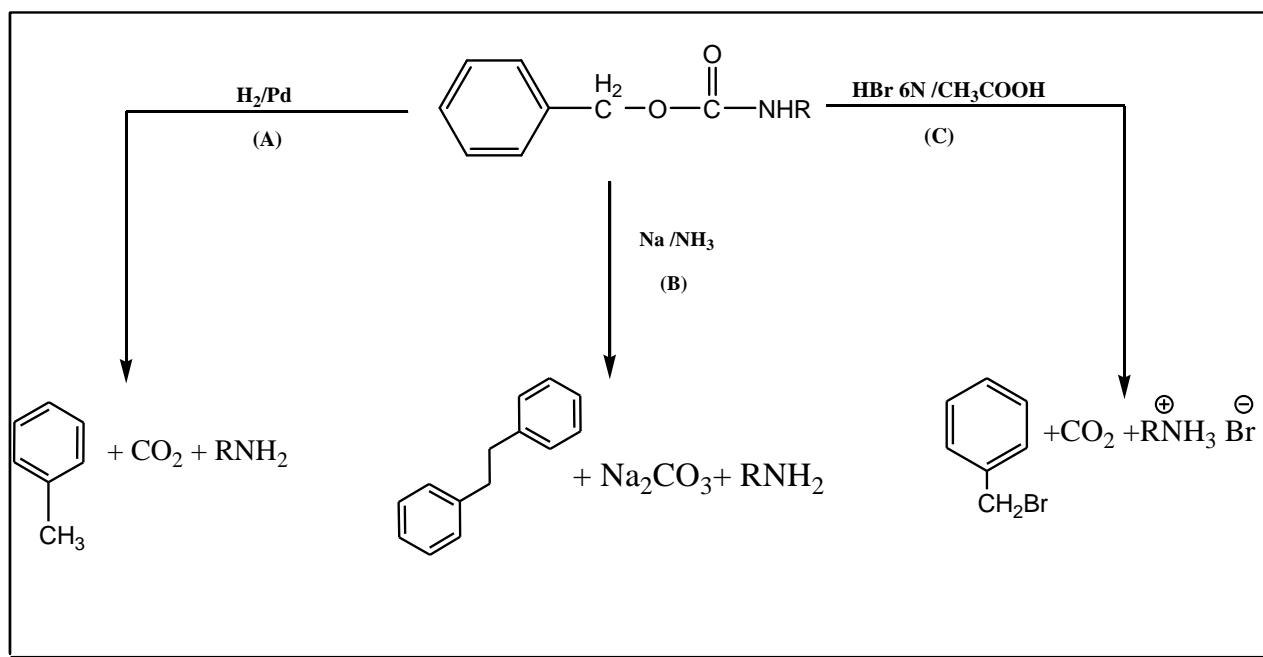


Schéma7:les conditions de clivage du groupe Cbz

La méthode (A) permet un clivage sélectif de Z et implique la formation de Sous-produits facilement éliminables.Elle est de ce fait très souvent utilisée.

2.4. L'anhydride phtalique (Ft):

L'anhydride phtalique a été utilisé pour la première fois dans la synthèse peptidique de Kidd et King en 1948^[45].

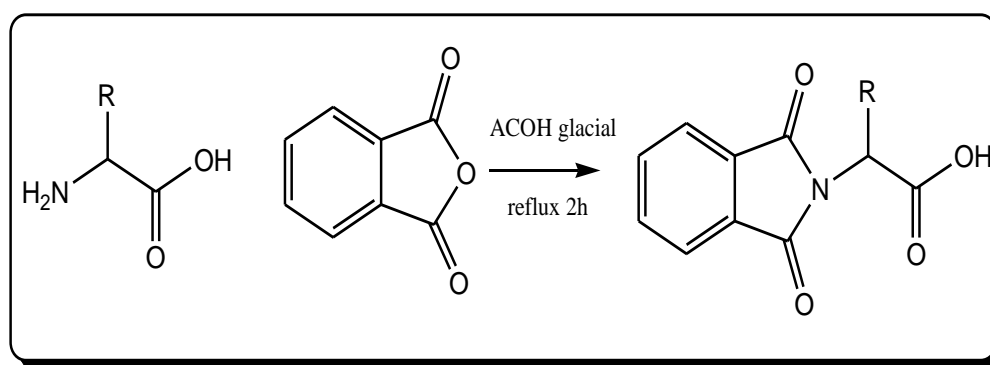


Schéma8:mécanisme de protection par l'anhydride phtalique (Ft).

Il est relativement stable dans les conditions acides et basiques, mais facilement éliminé avec les nucléophiles. Le clivage est souvent réalisé en utilisant l'hydrazine.

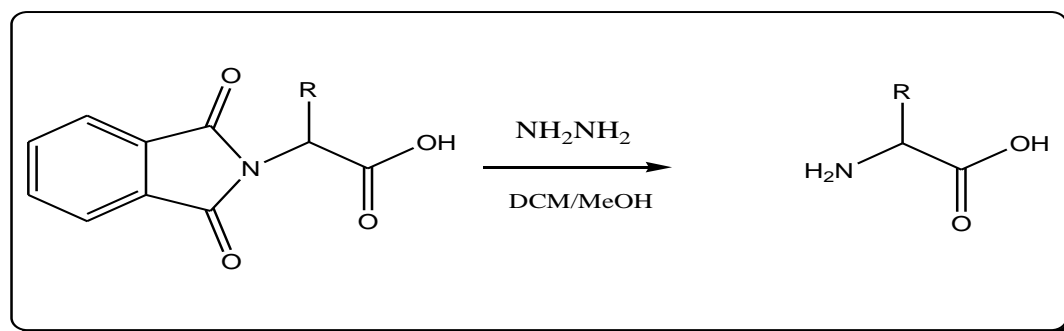


Schéma 9: clivage du groupe Ft par l'hydrazine.

3. Principales méthodes de protection des acides carboxyliques

De nombreuses méthodes existent pour protéger la fonction acide carboxylique. Il serait difficile de les citer toutes. Nous nous contenterons de rappeler les plus utilisées ainsi que celles directement liées à notre sujet^[46].

3.1. Esters de méthyle et d'éthyle :

Ce sont les plus utilisés en synthèse peptidique, leur préparation se fait en présence de chlorure de thionyle dans le méthanol ou l'éthanol à froid. Ils sont également préparés à chaud dans le MeOH ou EtOH en utilisant une catalyse acide. Ils sont stables en milieu acide et facilement saponifiés en milieu alcalin.

3.2. Esters de tertio- butyle :

Les esters de t-butyle sont obtenus à partir de l'iso-butène sous pression et en milieu acide, sont relativement stables en milieu basique. Ils sont clivés facilement en milieu acide.

3.3. Esters de benzyle (Bzl)

Ils sont, également très répandus en synthèse peptidique. Ils sont préparés directement à partir de l'alcool benzylique dans le benzène en présence d'un catalyseur acide. Leur déprotection se fait par hydrogénation catalytique.

4. Protections effectuées :

4.1. Protection de la fonction amine

Dans notre travail nous avons utilisé l'anhydride phtalique recristallisé afin de protéger la fonction amine des aminoacides utilisés.

4.1.1. Protection de la fonction amine de l'acide aspartique :

Cette réaction est une condensation entre l'acide aspartique et l'anhydride phtalique qui s'effectue dans l'acide acétique glacial sous un reflux de 9 heures. Le produit est obtenu avec un rendement de 88.32%, après une recristallisation dans un mélange eau /éthanol (4:1).

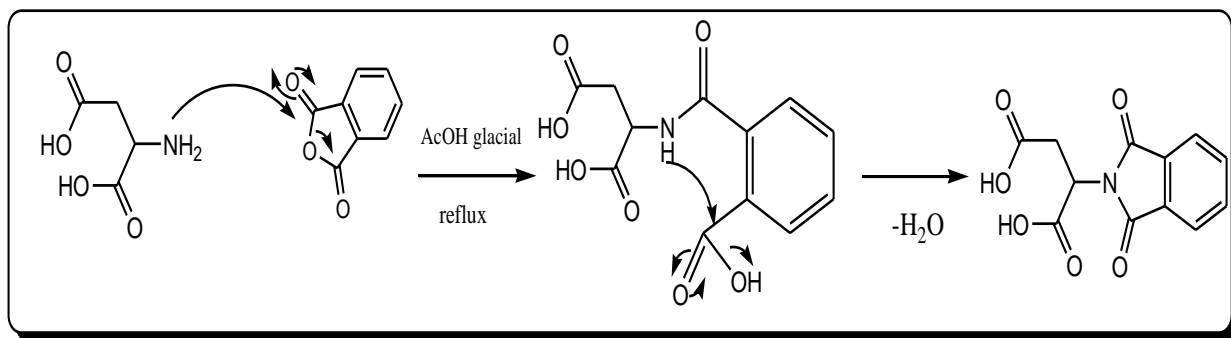


Schéma 10: protection de l'acide aspartique

4.1.2. Acylation de la proline

La L-proline est aussi engagée dans cette synthèse mais, à la différence des autres aminoacides, elle est la seule à avoir été protégée avec l'anhydride acétique et non pas l'anhydride phtalique en appliquant les mêmes conditions opératoire. Cela se justifie par la présence d'un seul hydrogène sur la fonction amine de cet acide α -aminé (Schéma11).

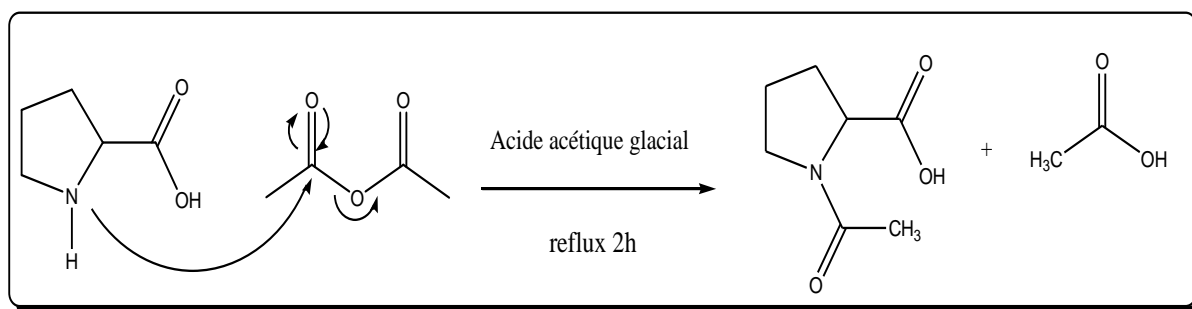


Schéma 11:acylation de la proline.

Cette méthode nous a permis d'obtenir 85% de rendement après une cristallisation du produit obtenu dans l'éther.

4.2. Estérification des aminoacides :

Notre objectif consiste aussi à protéger la fonction acide des aminoacides sous forme d'ester méthylique, afin de pouvoir travailler sur le reste de la molécule. Pour cela, nous avons appliqué la méthode classique d'estérification en utilisant le méthanol en présence du chlorure de thionyle ou chlorure d'acétyle sous reflux de 2h et dans un milieu anhydre (sous courant d'azote).

4.2.1. Estérification de la proline :

Dans cette étape nous avons utilisé la même méthode décrite précédemment, mais avec le chlorure de thionyle comme catalyseur. L'ester correspondant est obtenu avec un rendement quantitatif 98.83%. Le résidu est ensuite traité par l'éther pour enlever l'excès de diméthyle sulfite puis recristallisé dans un mélange méthanol /éther (50/50).

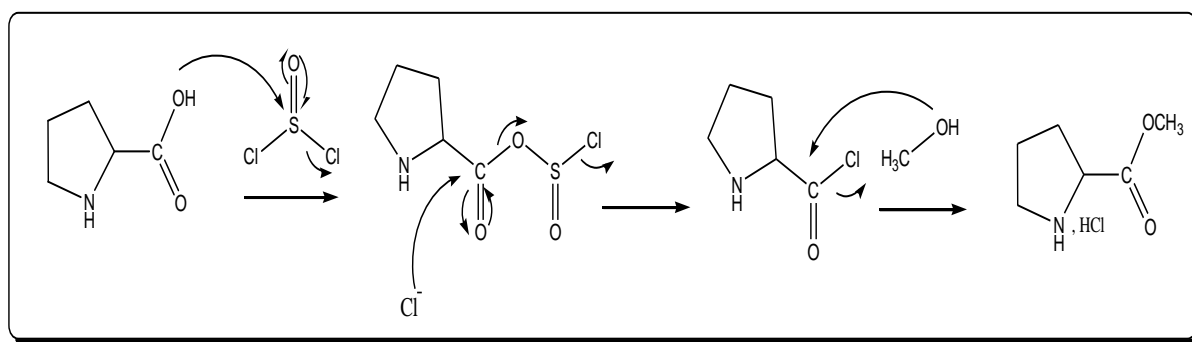


Schéma 12: estérification de la proline

4.2.2. Estérification de la tyrosine :

À propos de la protection de la fonction acide de la tyrosine, nous avons effectué la même méthode mais en utilisant cette fois-ci le chlorure d'acétyle et le méthanol sous reflux de 2h. La recristallisation de produit obtenu dans un mélange eau/ éthanol (1:4) nous a permis d'obtenir un solide blanc avec un rendement de 95.40%.

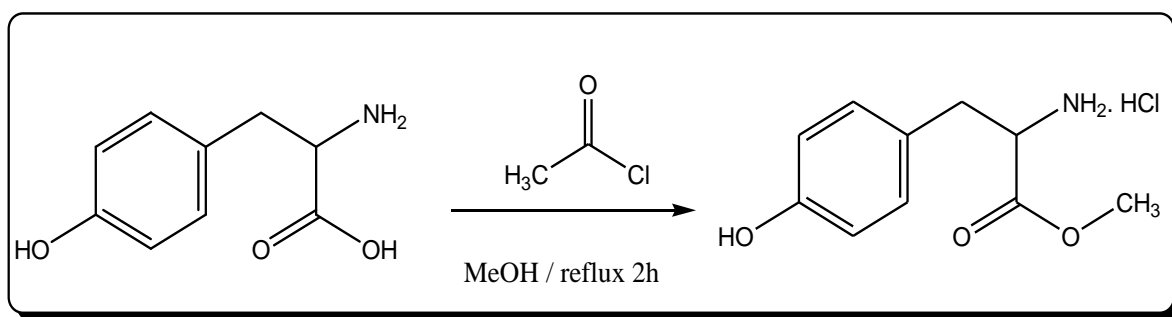


Schéma 13: estérification de la tyrosine.

4.2.3. Estérification de l'acide aspartique

A l'exception des autres aminoacides engagés dans ce travail, l'acide aspartique possède deux fonctions acides carboxyliques, ce qui nécessite l'utilisation d'un excès du réactif pour protéger les deux fonctions acide carboxylique. Dans cette approche, le réactif utilisé est le chlorure d'acétyl dans le méthanol anhydre, le mélange réactionnel est agité sous reflux pendant 4h. La cristallisation dans l'éther nous a permis d'obtenir un solide blanc avec un rendement de 40.54%.

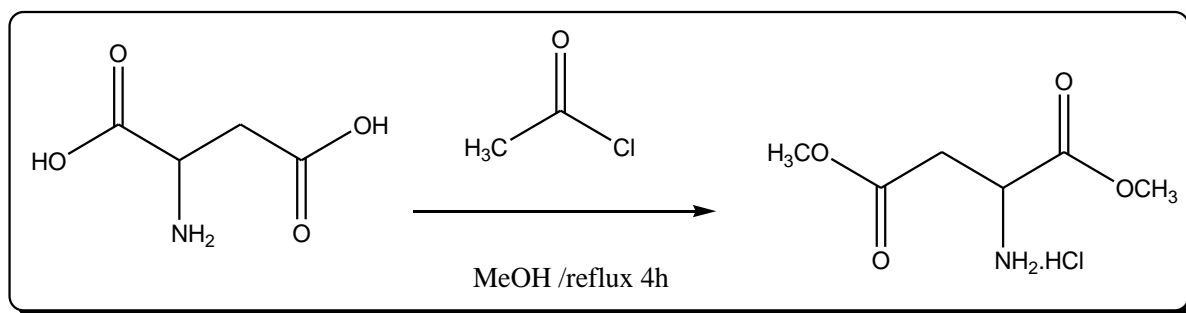


Schéma 14: estérification de l'acide aspartique

Une autre approche de protection des fonctions acides carboxyliques de l'acide aspartique, consiste à utiliser le chlorure de thionyle à la place du chlorure d'acétyl dans le méthanol sec et sous reflux de 2h. Un produit pâteux est obtenu avec un rendement de 91.23%.

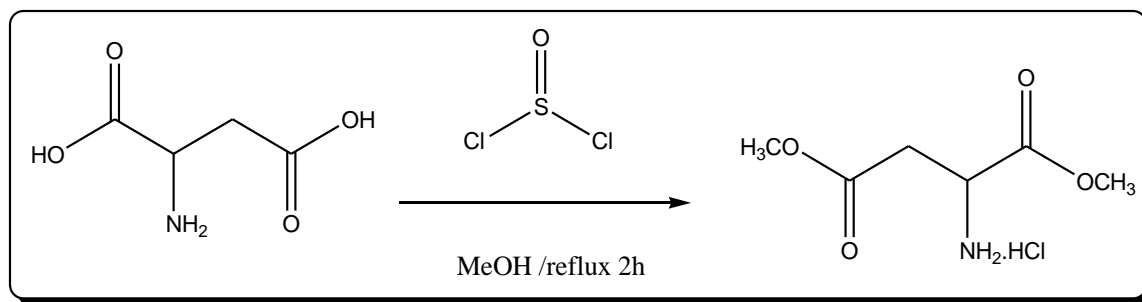


Schéma 15 : autre approche d'estérification de l'acide aspartique

Les résultats obtenus avec les deux approches sont répertoriés dans le tableau suivant :

| Approche | Conditions opératoires | résultats |
|----------|--|---|
| 1 | Chlorure d'acétyle /MeOH Reflux 4h | Aspect : solide blanc Rdt : 40.54% T _f : 116°C. litt: (115-117) °C |
| 2 | chlorure de thionyle/MeOH Reflux 2h | Aspect : pâte jaune Rdt : 91.23% |

D'après les données du tableau, l'approche 2 représente les meilleurs résultats avec le chlorure de thionyle. Cependant, le produit obtenu est une pâte qui nécessite une bonne période pour cristalliser et être utilisé dans le couplage peptidique.

5. Couplage peptidique :

Le couplage peptidique consiste à assembler des acides aminés entre eux en formant une fonction amide. Afin de procéder au couplage, la fonction acide carboxylique de l'acide aminé *N*-protégé peut être activé sous différentes formes en utilisant un agent de couplage.

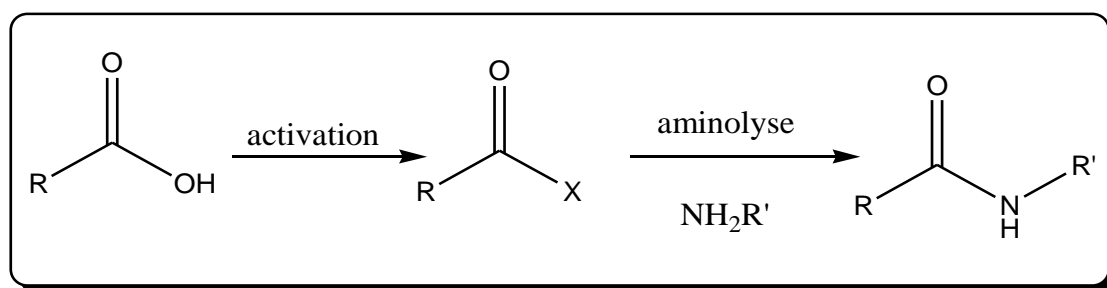


Schéma 16:activation de la fonction acide carboxylique.

Différentes procédures de couplage peptidique sont employées ; nous nous limitons aux méthodes les plus utilisées :

5.1. Avec les halogénures d'acides

➤ chlorures d'acides

Les chlorures d'acide, généralement obtenus par action du SOCl_2 [47], (COCl_2) [48], PCl_3 , POCl_3 , ou le PCl_5 [49], sont de bons réactifs de couplage. Cependant, ils sont relativement peu utilisés en synthèse peptidique sur phase solide du fait de leur instabilité à température ambiante.

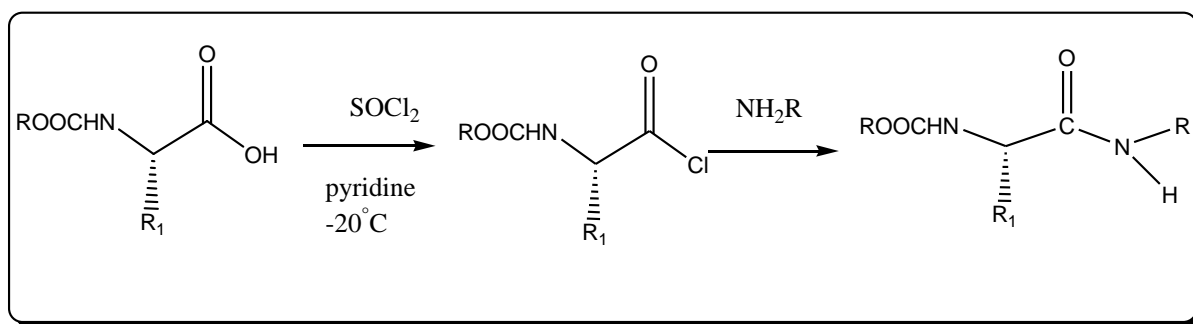


Schéma 17: Mécanisme de formation de chlorure d'acyle à l'aide de chlorure de thionyle.

L'un des inconvénients majeurs de cette méthode réside dans la production du HCl , qui favorise la déprotection de certains groupements protecteurs comme dans le cas des composés protégés par le Boc.

➤ Autres halogénures d'acyle

Les dérivés fluorés sont également utilisés pour l'activation de la fonction acide ; ils réagissent de la même manière que les chlorures d'acyle. Par contre, ils sont très réactifs vis-à-vis des amines et constituent des intermédiaires très importants dans la chimie des peptides [50].

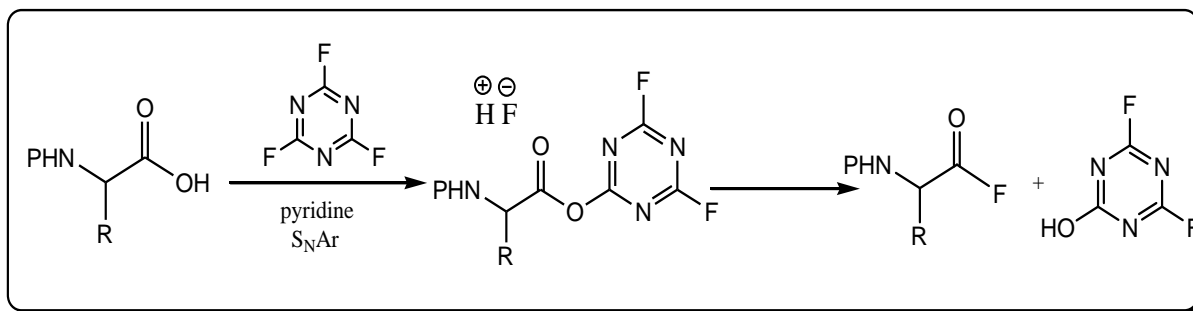


Schéma 18 : Formation du fluorure d'acyle.

Les fluorures d'acides peuvent être préparés par deux méthodes principales, soit en utilisant le fluorure cyanuryle comme agent fluorant ^[51] (**Schéma 18**), soit les sels d'hexafluorophosphate (Hexafluorophosphate de N, N, N'', N''-tétraméthylformamidinium [TFFH] ou hexafluorophosphate de bis (tétraméthylène) fluoroformamidinium [BTFFH]). ^[52]

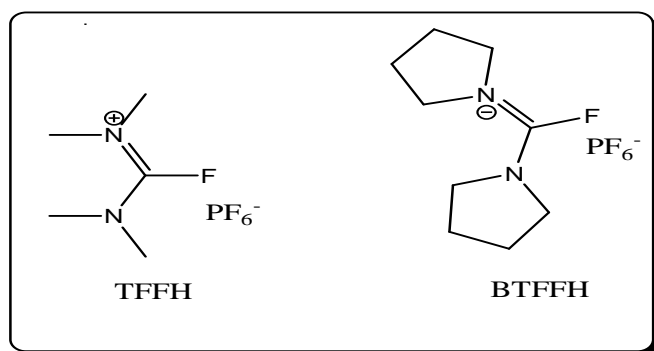


Figure 20: structures de TFFH et de BTFFH.

5.2. Les Acylazides

➤ Réaction de Curtius

La première réaction de couplage respectant la chiralité des acides aminés a été mise au point par Curtius (**Schéma 19**) ^[53]. Cette méthode n'est pas très importante car la réaction est lente et génère de nombreux produits secondaires.

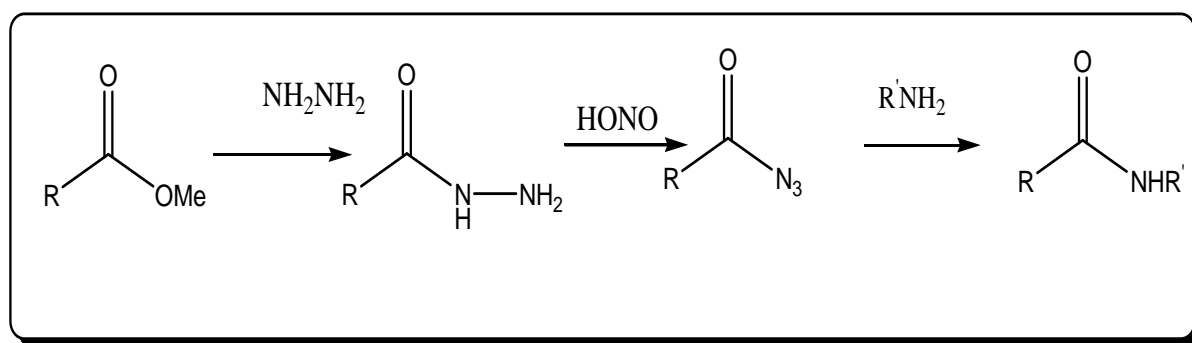


Schéma 19 : préparation des Acylazides.

On peut obtenir l'acylazides en une seule étape par l'utilisation de l'azide de diphénylephosphonique (DPPA) ^[54].

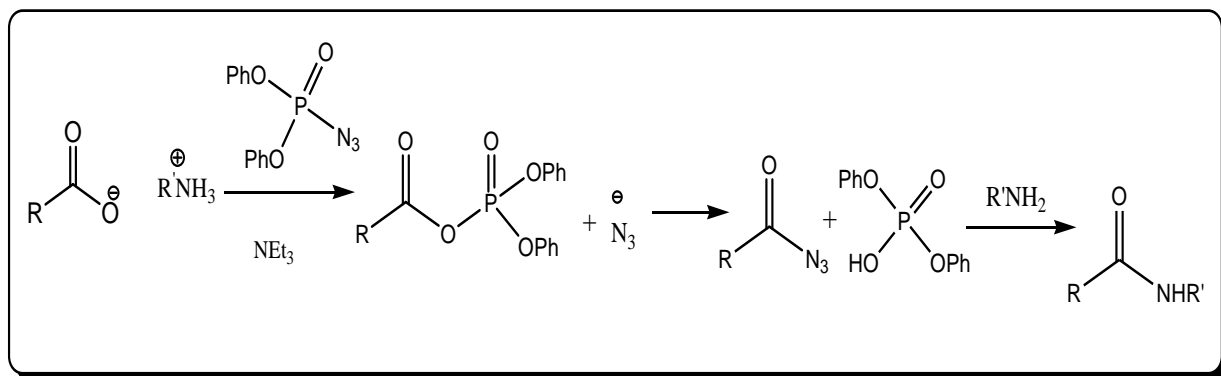


Schéma 20: préparation des Acylazides par DPPA

5.3. Les sels de phosphonium

Le plus connu est le réactif développé par Castro et collaborateurs, c'est l'hexafluorophosphate de benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)-phosphonium ou BOP ^[55]. Au cours du couplage, il y a libération de (HMPT), un produit potentiellement cancérigène. Par conséquent, l'utilisation du BOP est proscrite pour tout produit destiné à un usage thérapeutique.

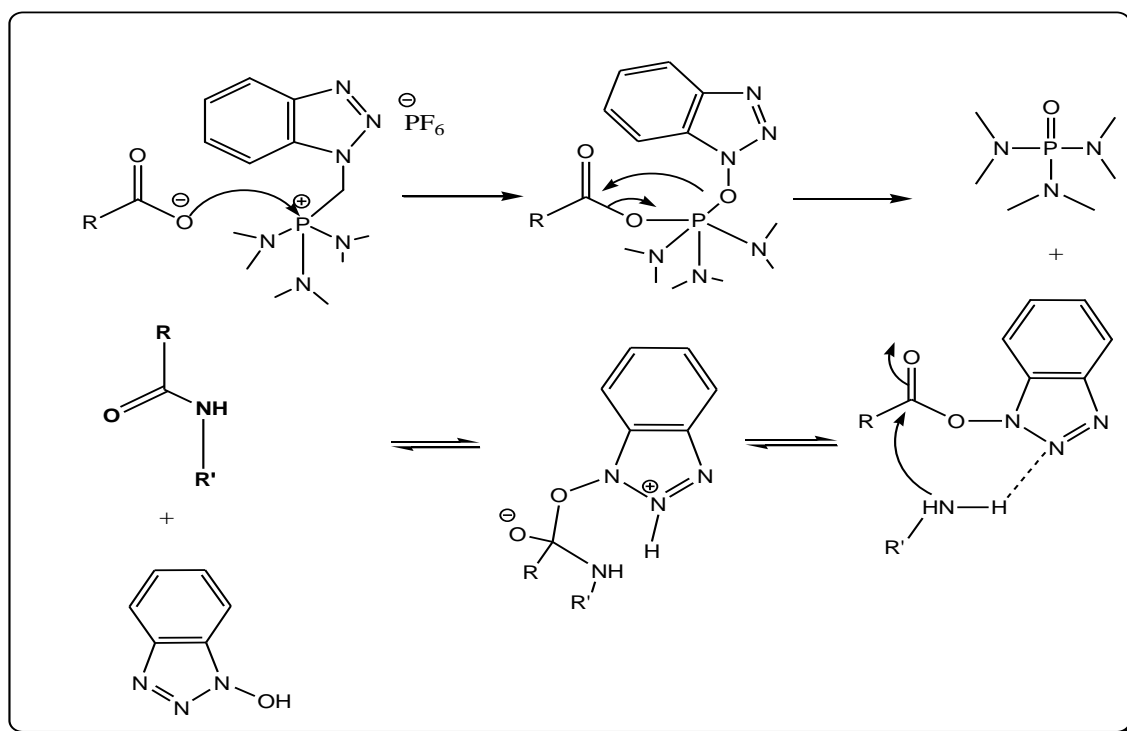


Schéma 21:méthode de couplage par le BOP.

Il peut être remplacé par plusieurs autres réactifs comme le tétrafluoroborate de 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium ou TBTU ^[56], le 2-(1H-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium (HATU)^[57] (**Figure 21**).

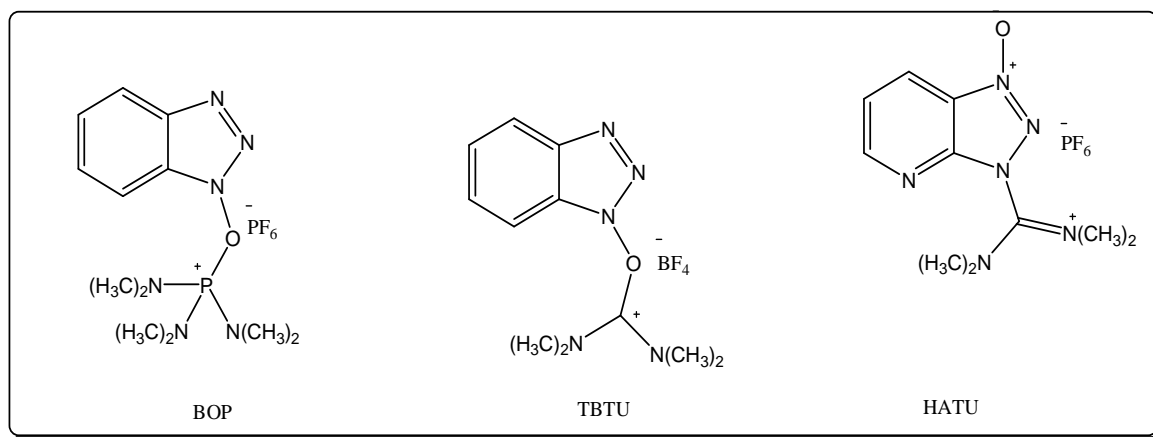


Figure 21:structures de BOP, TBTU et de HATU.

Les méthodes au TBTU et HATU sont très facilement mises en œuvre, ne demandent pas de précautions particulières et permettent d'atteindre des rendements satisfaisants avec des produits bruts relativement purs.

5.4. Les Anhydrides

Cette méthode utilise les anhydrides comme intermédiaires réactionnels, c'est la plus efficace et la plus propre pour réaliser des couplages peptidiques. Il existe deux types d'agents employés dans cette procédure : les anhydrides mixtes et les anhydrides symétriques.

5.4.1. Les anhydrides mixtes

➤ Les chloroformiates :

Le plus utilisé d'entre eux est le chloroformiate d'isobutyle (ICF). Ils conduisent en présence d'un acide carboxylique et d'une base comme la N-méthyl morpholine (NMM) à des anhydrides mixtes. Ces derniers ne sont pas isolés et réagissent in situ avec la fonction amine (**Schéma 22**)^[58].

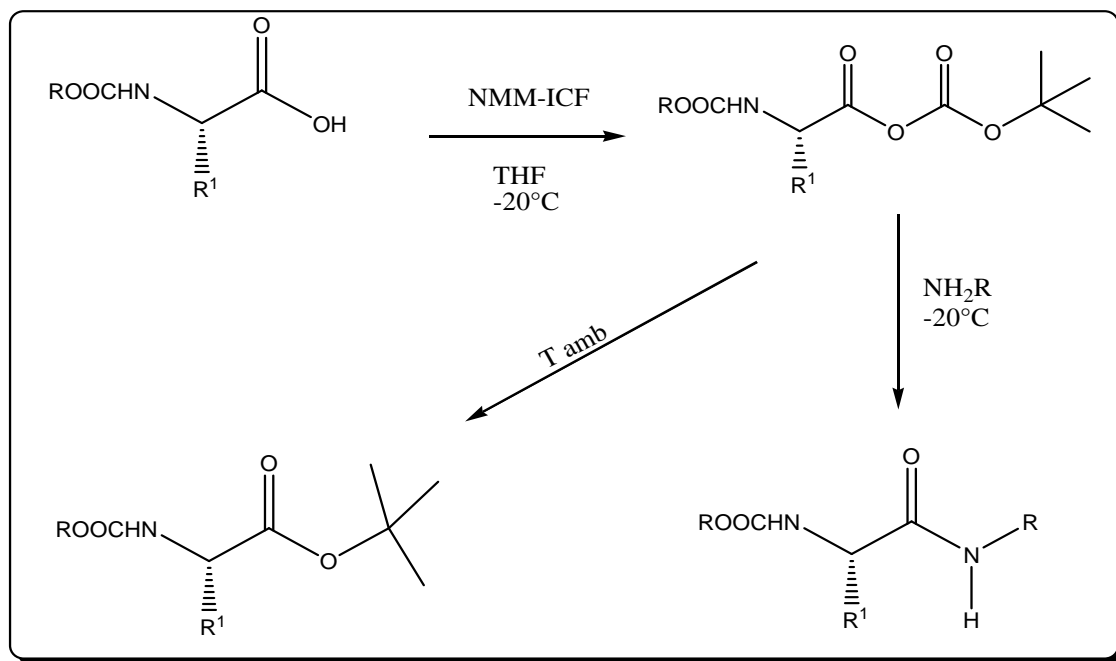


Schéma 22: méthode de couplage par ICF

C'est une méthode de couplage propre et efficace. Elle nécessite une basse température (-20°C) pour la stabilité des anhydrides. Pour des températures élevées on observe la formation irréversible d'esters.

5.4.2. Les anhydrides symétriques

➤ *Les carbodiimides :*

Les carbodiimides sont des agents de couplage très importants en synthèse peptidique. Le plus connue est le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (figure 13)^[59]. Ce dernier génère une urée insoluble dans l'eau. La DCC est alors parfois remplacée par le 1-éthyl-3-(3'-diméthylaminopropyl) carbodiimides [(EDC)^[60], dont l'urée formée est soluble dans l'eau et peut être éliminée par lavage.

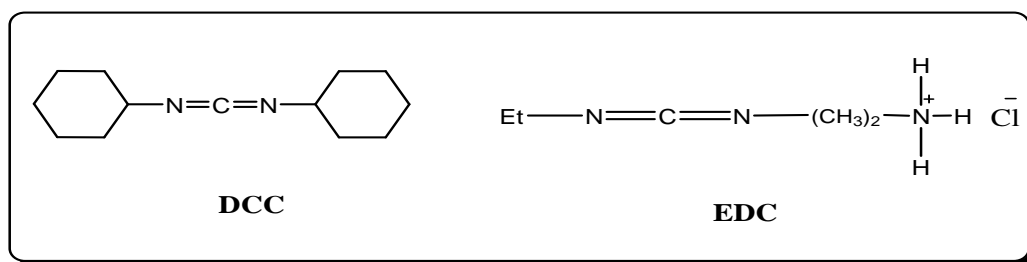


Figure 22: structures de DCC et EDC.

Les carbodiimides interviennent dans de nombreuses méthodes de couplage. Le DCC en présence de deux équivalents d'acide aminé N-protégé conduit aux anhydrides symétriques. Ces derniers constituent des intermédiaires très réactifs. Cette méthode est très efficace. Cependant, elle présente l'inconvénient d'engager deux équivalents d'acide aminé.

Un couplage peut être également réalisé par l'introduction simultanée des deux partenaires et le DCC. Cette dernière réagit alors sur l'acide aminé N-protégé ^[61]. La *O*-acylurée ainsi formée est attaquée par la fonction amine libre pour établir le lien amide. Une réaction parasite se produit parallèlement aboutissant à une *N*-acylurée ^[62] (**Schéma 23**).

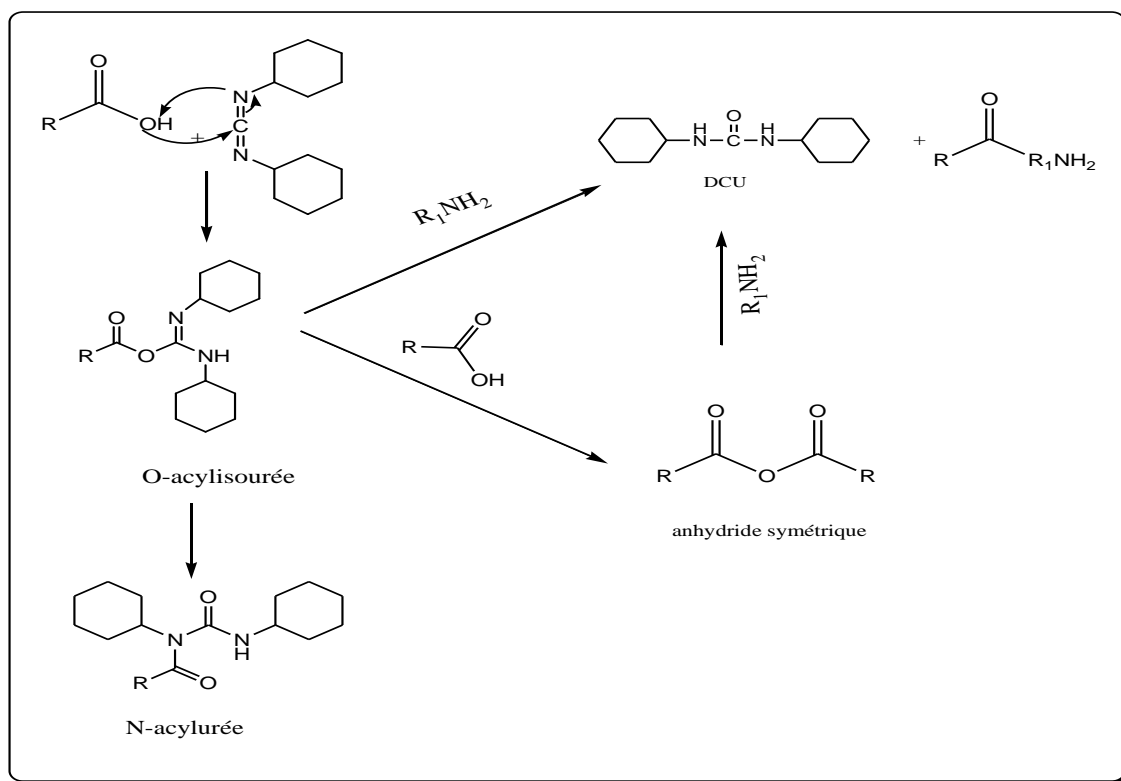


Schéma 23: couplage par DCC

En outre, l'ajout des composés, comme le *N*-hydroxy- benzotriazole (HOBt) supprime la réaction secondaire, car le HOBt va réagir avec l'*O*-acylurée dès sa formation pour donner naissance à des intermédiaires moins réactifs ^[63]. Ces derniers peuvent parfois être isolés et purifiés ; certains sont même commerciaux. On parle alors de la méthode aux esters activés.

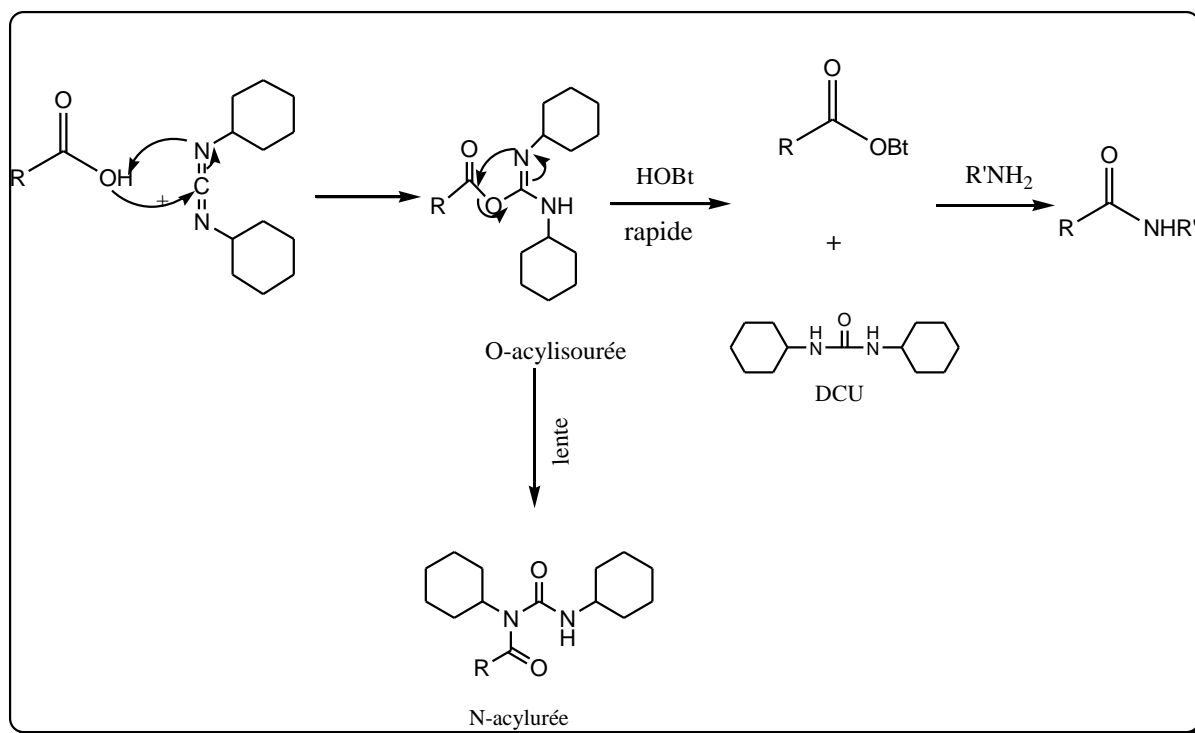


Schéma 24: Utilisation d'HOBt pour minimiser la formation de N-acylurée

6. Couplages effectués :

Dans cette synthèse, les dipeptides obtenus ont été préparés par un couplage entre deux acides aminés avec le DCC en présence de la triéthylamine, afin de neutraliser le chlorhydrate de l'acide aminé utilisé sous forme ester dans cette synthèse. À la fin le DCU formée est éliminée par filtration.

❖ Dipeptide Pro-ASP

Pour réaliser la synthèse du dipeptide pro-asp, nous avons suivi deux chemins différents :

Chemin 1 :

Dans cette stratégie, l'acide *N*-phthalimidoaspartique est couplé avec le chlorhydrate d'ester méthylique de la proline dans le dichlorométhane en utilisant le DCC comme agent de couplage et en présence de la TEA, pour neutraliser le chlorhydrate. La cristallisation du produit final nous a permis d'isoler 99.36% d'un solide blanc.

L'utilisation de l'acide aspartique dans ce couplage avec deux fonctions acide libres, peut engendrer deux produits, parce que les deux fonctions sont capables de réagir de la même manière dans ces conditions.

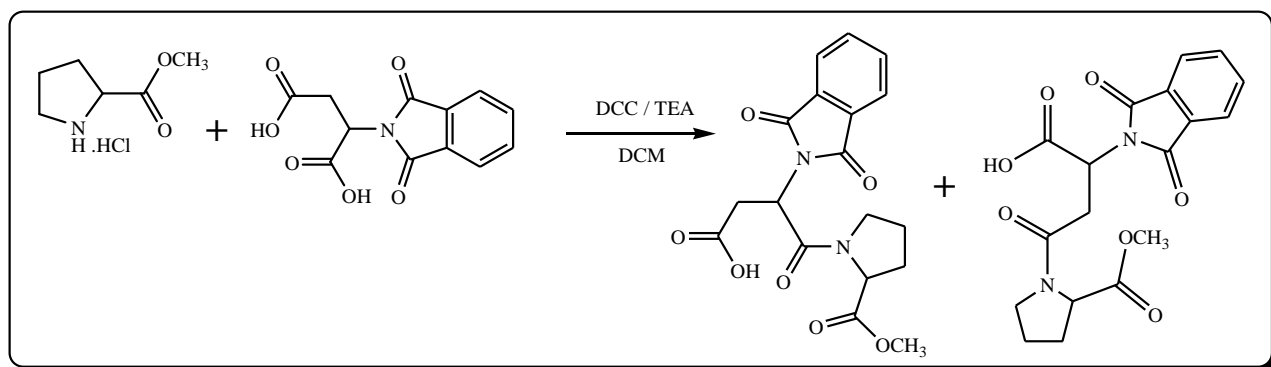


Schéma 25: synthèse du dipeptide asp-pro

L'analyse du produit obtenu par Chromatographie sur Couche Mince nous a montrée deux taches avec des R_f très proches (0.86 et 0.92), ce qui a confirmé l'obtention des deux produits peptidiques avec presque la même polarité.

Chemin 2 : Dans ce cas, nous avons effectué le couplage entre la *N*-acétylproline et le chlorhydrate de l'ester de diméthyle aspartique dans les mêmes conditions décrites auparavant. Avec cette procédure, un seul produit est obtenu avec un rendement de 82.31%

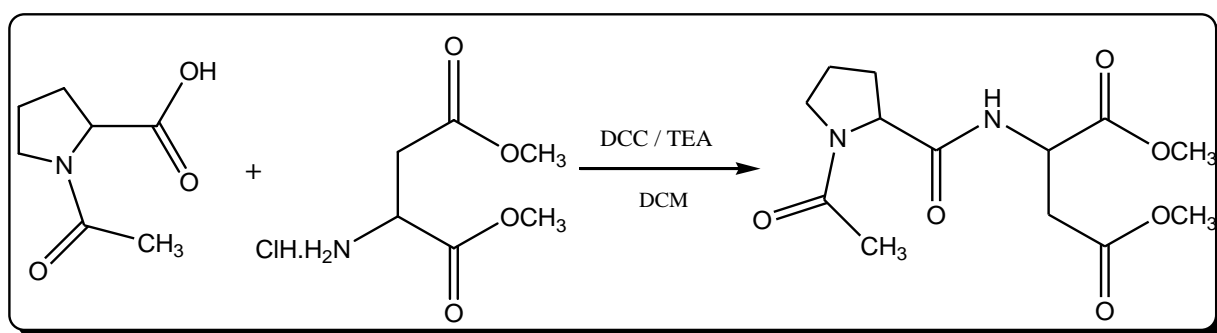


Schéma 26: synthèse du dipeptide asp-pro

L'analyse du produit obtenu est réalisé par chromatographie sur couche mince en utilisant un mélange de chloroforme, méthanol et l'acide acétique (17 : 1 : 0.6) comme éluant nous a montré une seule tache avec un R_f de 0.45.

❖ **Dipeptide pro-Tyr**

Le couplage de la *N*-acétylproline avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de la tyrosine dans le dichlorométhane avec la DCC et la triméthylamine (schéma 27), conduit au dipeptide souhaité avec un rendement de 74.28%.

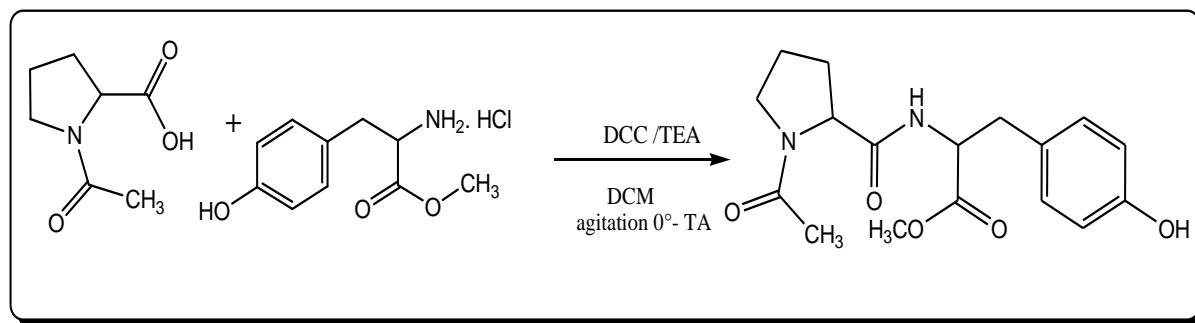


Schéma 27 : synthèse du dipeptide pro-Tyr

L'analyse du produit obtenu par chromatographie sur couche mince en utilisant un mélange de dichlorométhane et le méthanol (9 :1) comme éluant nous a montré une seule tache avec un R_f de 0.57.

*Conclusion et
perspectives*

Les protéines et les peptides sont des biomolécules très répandus dans la nature. Ils jouent un rôle important dans les systèmes de l'organisme vivant en contrôlant les communications inter et intracellulaires.

Un nombre important des peptides dont le squelette de base a été modifié, ou synthétisé ont conduits à des substances potentiellement bioactifs qui pourraient représenter un autre chemin dans le développement de nouveaux agents thérapeutiques, et qui sont efficaces dans le traitement d'un large éventail de troubles médicaux.

Notre recherche s'est attachée à la synthèse des dipeptides, qui peuvent être utilisés comme précurseurs dans la préparation de molécules biologiquement actives. La synthèse de ces composés consiste en une condensation entre deux aminoacides protégés dans le DCM et en présence de DCC comme agent de couplage. Les produits désirés ont été obtenus avec des rendements satisfaisants, sans demander des moyens exceptionnels pour leur mise en œuvre.

Comme perspective, notre travail s'oriente vers la synthèse des dipeptides cycliques en prenant comme point de départ des aminoacides ; tel que : la proline, l'acide aspartique et la tyrosine. La présence d'une fonction acide carboxylique, amine ou phénol sur la chaîne peptidique nous ouvre de nombreuses perspectives en matière de fonctionnalisation avec d'autres composés ou substances bioactives.

*Références
bibliographique*

Références bibliographique

- [1] E. Fischer, E. Ber. Fourneau. *GM.Them.* **1901**, 34: 2868.
- [2] C.R. Harington, H. Mead. *J. Biochem*, **1935**, 29:1602.
- [3] R.H.Siffert, V. J. Du Vigneaud, The synthesis of glycineglycine. *Biol.Chem*, **1935**, 108: 753.
- [4] R.Consden, A.H.Gordon, A. J. P. Martin. *J.Biochem*, **1947**, 41: 596.
- [5] C.W. Du Vigneaud, P. G. Katsoyannis, S. J. Am. Gordon. *Chem. Soc*, **1953**, 75: 4879.
- [6] B. Merrifield. *J. Am. Chem. Soc*, **1963**, 85: 2149.
- [7] P. McGee. *Drug Discovery Dev*, **2005**, 4.
- [8] P.Vlieghe, V. Lisowski, J.Martinez, M. Khrestchatisky. *Drug Discov Today*, **2010**, 15:40.
- [9] G. Hummel el, U. Reineke, U. Reimer. *Mol.Biosyst*, **2006**, 2:499
- [10] A .Loffet, Peptides as drugs: is there a market. *J. Peptide Sci*, **2002**, 8(1): 1.
- [11] C.A.Lipinski, et al. *Adv.Drug Delivery Rev*, **2001**, 46: 3.
- [12] C. Prego, et al. *J.controle Release*, **2005**, 101:151.
- [13] P.W. Lathan ,Therapeutic peptides revisited. *NatureBiotech.* **1999**.17:55
- [14] G. Kuznetsov, K. TenDyke, M.Towle, H. Cheng, J .Liu, J.P .Marsh, S.E.R .Schiller, M.R. Spyvee, H.Yang, B.M.Seletsky, C.J. Shaffer, V.Marceau, Y.Yao, E.M. Suh, S. Campagna, F.G. Fang, J.J. Kowalczyk, Littlefield. Tubulin-based antimetabolic mechanism of E7974, a novel analogue of the marine sponge natural product hemiasterlin. *Molecular Cancer Therapeutics*, **2009**, 8(10):2852.
- [15] T.L.Simmons, E.Andrianasolo, K.McPhail, P. Flatt, & W.H. Gerwick, Marine natural products as anticancer drugs. *Molecular Cancer Therapeutics*. **2005**. 4(2): 333.
- [16] A.M.S.Mayer, K.B.Glaser, C.Cuevas, R.S.Jacobs, W. Kem, R.D. Little, J.M.McIntosh, D.J.Newman, B.C. Potts & D.E. Shuster, The odyssey of marine pharmaceuticals: a current pipeline perspective. *Trends in Pharmacological Sciences*, **2010**, 31(6): 255.
- [17] J. Gant, *Angew.Chem.Ed.* **1994**, 33: 1699.
- [18] H.Verma, A. Rajpoot ,Synthesis and Biological screening of Proline rich Cyclic Heptapeptide . *Int.J.PharmTechRes*, **2012**, 4(1) :194.
- [19] R. B. Merrifield. *J. Am. Chem. Soc*, **1963**, 85: 2149.
- [20] a) P. Lloyd-Williams, F. Albericio, E. Giralt, Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins. *CRC Press LLC ed. Boca Raton New York*, **1997**; b) T. W. Greene, P. G. M. Wuts, Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis. A Practical Approach. *Oxford university press*, **2000**.
- [21] M.Delgado, K. D. Janda. *Curr. Org. Chem.* **2002**, 6:1031.

Références bibliographique

- [22] Y.J.Gordon , E.G. Romanowski , &A.M.McDermott , A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs. *Curr. Eye Res.***2005**,30(7): 505.
- [23] K.Apel, & H. Hirt. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress,and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology.***2004**, 55: 373.
- [24] G.Benzi, & A. Moretti, Are reactive oxygen species involved in alzheimer's disease?.*Neurobiologyof Aging*,**1995**,16(4): 661.
- [25] B.Halliwell ,J. M .C Gutteridge, Free Radicals in Biology and Medicine. *Oxford University Press*, Oxford. 4^{Ed}, **2007**.
- [26] S .Y. Tang, B.Halliwell, Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and Caenorhabditiselegans studies? .*Biochemical and Biophysical Research Communications*,**2010**, 394:1.
- [27] H. S. Seo, S. Y. Kwak, & Y. S .Lee,Antioxidative activities of histidine containing caffeic acid-dipeptides.*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*,**2010**.20(14): 4266.
- [28] L.Prescott, J.Harley, D.Klein. *Microbiologie. De boeck (Ed). Bruxelles.***2003**: 1135.
- [29] G. Diamond, N. Beckloff, *et al*, The roles of antimicrobial peptides in innate host defense. *Curr Pharm Des*,**2009**, 15(21): 2377.
- [30] R .Ben Ameer Mehdi,S .Sioud, L. Fourati Ben Fguira, S .Bejar, L.Mellouli, Purification and structure determination of four bioactive molecules from a newly isolated *Streptomyces* sp. TN97 strain. *Process.Biochem*,**2006**, 41: 1506.
- [31]R.Lacave, C.J. Larsen, J. Robert .*Cancérologie fondamentale.* ed. J. LibbeyEurotext, Montrouge, **2005**,15 : 437.
- [32] J. Robert, Pharmacologie des médicaments anticancéreux. *Cancérologie Fondamentale* ed. J. Libbey-Eurotext, Montrouge. **2005** : 403.
- [33] V. Bernades-Genisson, J.Bernadou, I. Berque-Bestel, J.D. Brion, J. Couquelet, M. Cussac, M. Debaert, O. Duval, S. Giorgi-Renault, J. Huet, R. Lacroix, J. Laronze, J.Y. Laronze, G. Le Baut, P. Loiseau, A. Nuhrich, M. Plat, J. Poisson, S. Robert- Piessard, C. Tournaire-Arellano, P. Uriac, M.Varache-Lembege. (Eds). *Traité de chimie thérapeutique - Médicaments antitumoraux et perspectives dans le traitement des cancers*Lavoisier. **2003**
- [34] J. Adams,M. Kauffman, Development of the proteasome inhibitor Velcade (Bortezomib). *Cancer Investigation*, **2004**, 22 (2): 304.

Références bibliographique

- [35] D. Chen, M. Frezza, S. Schmitt, J. Kanwar, and Q. P. Dou, Bortezomib as the first proteasome inhibitor anticancer drug: current status and future perspectives. *Current Cancer Drug Targets*, **2011**, *11* (3):239.
- [36] T.L.Simmons, E.Andrianasolo, K.McPhail , P.Flatt, &W.H.Gerwick, Marine natural products as anticancer drugs. *Molecular Cancer Therapeutics*, **2005**, *4*(2): 333.
- [37] G.P.Kalemkerian, X.Ou ,M.R.Adil, R.Rosati, M.M. Khouliani , S.K. Madan, & G.R, Pettit. Activity of dolastatin 10 against small-cell lung cancer in vitro and in vivo: Induction of apoptosis and bcl-2 modification. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, **1999**, *43*(6) : 507.
- [38]L.Carpino *J. Ame. Chem. Soc.*, **1957**, *79*: 98.
- [39]G.W.Anderson,A.McGregor. *J. Ame. Chem. Soc.*, **1957**, *79*: 6180.
- [40]R.Schwyzler,P.Sieber,H.Kappeler, *Helvetica Chimica Acta*, **1959**, *32*, 2622.1651.
- [41] R.B. MERRIFIELD. *Adv. Enzy .mol*, **1969**, *32*: 221.
- [42] L.A.Carpino,B.J.Cohen,KE.Stephens.*J.Org.Chem*, **1986**: 3734.
- [43] L.A.Carpino,M.Beyerman,M.Bienert,H.Niedrich.*J. Org.Chem*, **1990**, *55*:721.
- [44]M.Bergman,L.Zervas,C. *Berichte*, **1932**, *6* : 1192.
- [45]D. A. Kidd, F. E. King. *Nature*, **1948**, *62*:776.
- [46] T.W.Greene,Protective groups in organicsyntheses, *152*.
- [47] W. Chu, Z. Tu, E. McElveen, J. Xu, M.Taylor, R.R.Luedtke, R. H. Mach. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*:77.
- [48] I. Kuwajima, H.Urabe.OrganicSyntheses, *Wiley: NewYork*. **1993** *Collect. VIII*, 486.
- [49] J. Klosa .*Prakt. Chem*, **1962**, *19*: 45.
- [50] L. A.Carpino, D.Sadar-Aalae, H. G. Chao, R. H. DeSelms.*J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*: 9651.
- [51] L. A.Carpino, E.-S.M. E. Mansour, D.Sadat-Aalsee.*J. Org. Chem*, **1991**, *56*:2611.
- [52] L. A.Carpino, A. El-Faham. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*: 5401.
- [53] T.Curtius. *Chem. Ber.* **1902**, *35*: 3226.
- [54] T.Shioiri, K. Ninomiya. *Am. Chem.Soc.*, **1972**. *94*: 6203.
- [55] B.Castro, J.-R.Dormoy, G.Evin, C.Selve. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *14*: 1219.
- [56] R.Knorr, A.Trzeciak, W.Bannwarth, D. Gillessen.*Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*: 1927.
- [57] L. A. Carpino. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*: 4397.
- [58] G.Stavropoulos, K.Karagiannis, S.Anagnostides,I.Ministruski, Z.Selinger, M.Chorev, *Int. J. Protein Res.* **1995**, *45*: 508.
- [59] J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*: 1067.

Références bibliographique

- [60] T. Kimura, M. Takai, Y. Masui, T. Morikawa, S. Sakakibara, *Biopolymers* **1981**, 20:1823.
- [61] D. F. DeTar, R. Silverstein. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88: 1013.
- [62] J. C. Sheehan, M. Goodman, G. P. Hess, Comprehensive Organic Functional Group Transformations. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**: 367.
- [63] W. König, R. Geiger, A new method for synthesis of peptides: activation of the carboxyl group with dicyclohexylcarbodiimide using 1-hydroxybenzotriazoles as additives. *Chem. Ber.* **1970**, 103(3):788.

Partie
Expérimentale

Appareils utilisés

➤ Infrarouge :

Les spectres de l'infrarouge (FTIR) ont été obtenus lors de l'analyse sur l'appareil de type *Perkin Elmer* avec les conditions ci-contre: nombre de balayage 10, résolution de 4 cm^{-1} et avec un temps d'analyse de 0.25 min. Les échantillons étaient traités sous forme de pastilles de KBr. Les principales fréquences d'absorption sont données en nombre d'ondes (4000-400) cm^{-1} .

➤ Chromatographie sur couche mince :

Les chromatographies sur couche mince (CCM) sont réalisées sur des plaques de silice sur un support d'aluminium et l'éluion est réalisée avec différents mélanges en proportions variables selon le cas (DCM : MeOH) ; (CHCl_3 : MeOH : ACOH) ; (Butanol : ACOH : Eau).

La révélation est effectuée suivant deux méthodes différentes (qui peuvent être combinées) :

- observation en ultraviolet.
- révélation par pulvérisation d'une solution de ninhydrine (5%) dans l'acétone.

➤ Température de fusion

Les points de fusion sont déterminés soit sur un banc Köfler, ou grâce à un fusionomètre digital de la série IA9200 d'Electrothermal en utilisant des tubes capillaires.

➤ Purification des solvants

- **Le méthanol** : traité par Mg et I_2 puis distillé et gardé dans une bouteille sous tamis moléculaire (4 Å).
- **Le dichlorométhane** : distillé et conservé dans le pentoxyde de phosphore
- **L'anhydride acétique** : distillé à pression atmosphérique.

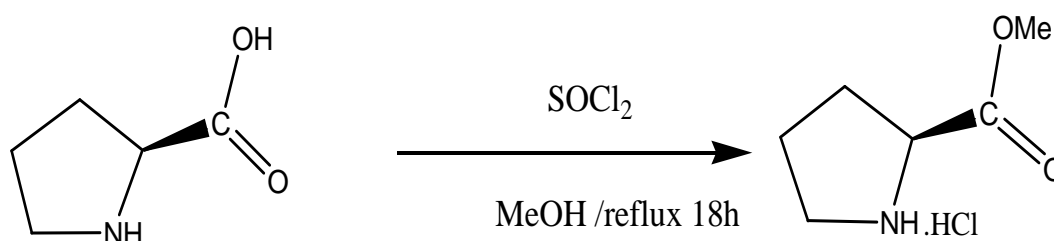
I. Recristallisation de l'anhydride phtalique:

L'anhydride phtalique est purifié par recristallisation dans l'anhydride acétique fraîchement distillé ($T_{\text{éb}}=134^{\circ}\text{C}$). Après cristallisation à froid, le solide blanc récupéré par filtration est lavé avec l'éther trois fois. Ensuite, le solvant est chassé sous pression réduite et le produit obtenu est laissé sécher à l'air.

II. Protection des acides aminés

1. Estérification de L-proline :

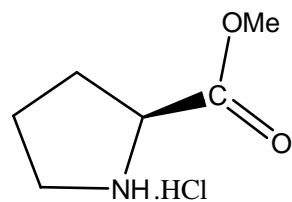
➤ Schéma réactionnel :



➤ Protocole :

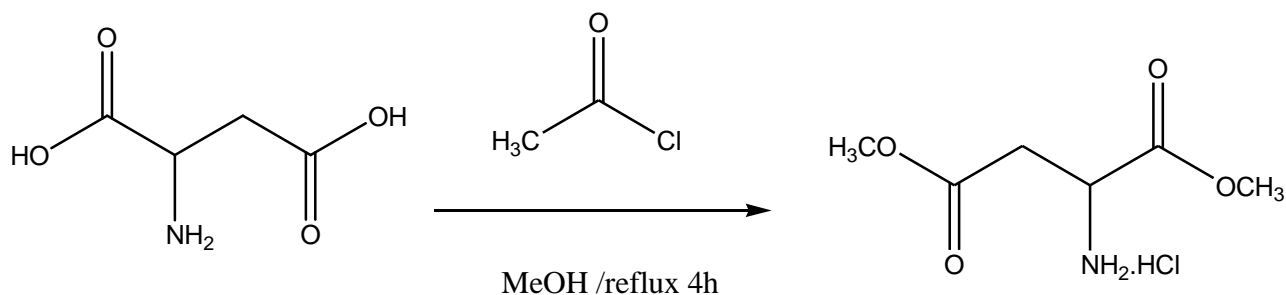
Dans un Bicol sec et sous courant d'azote, on introduit 50ml de méthanol ; et on refroidi le système à 0°C , pour ajouter le chlorure de thionyle (2.42ml, 0.033mol), goutte à goutte avec agitation pendant 5 min. Ensuite, la L-proline (3g, 0.026mol) est ajoutée. Le mélange est chauffé lentement sous reflux pendant 4h et agité 14h à température ambiante. Après évaporation du solvant, le résidu obtenu est traité avec l'éther diéthylique à 0°C . Le produit brut a été recristallisé dans un mélange méthanol /éther.

➤ Résultat :

| | |
|---|---|
|  | <p>Formule brute : $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{ClNO}_2$ Masse molaire : 165.06g/mol Aspect : solide blanc Rdt : 98.83%. Pf : 75°C. litt : (69-71) $^{\circ}\text{C}$</p> |
|---|---|

2. Estérification de l'acide aspartique :

➤ Schéma réactionnel :



➤ Protocole : nous avons suivi deux procédés

➤ Procédé 1 :

Dans un Bicol sec et sous courant d'azote, on introduit 50ml de méthanol ; on refroidit le système à 0°C, pour ajouter le chlorure d'acétyl (4.28ml, 0.060mol), goutte à goutte avec agitation pendant 5 min. Ensuite, l'acide L-aspartique (2g, 0.015mol) est ajouté. Le mélange est chauffé lentement sous reflux pendant 2h. On laisse refroidir à température ambiante, et le solvant est chassé sous pression réduite. Une cristallisation dans l'éther permet d'isoler 1.2g de produit.

➤ Résultat :

| | |
|---|--|
| <p>La structure chimique du produit est celle du diester méthylique de l'acide aspartique. Elle montre un squelette carboné central avec deux groupes méthoxycarbonyl (H₃CO-CO-) et un groupe ammonium (NH₂.HCl).</p> | <p>Formule brute : C₆H₁₂ClNO₄ Masse molaire : 197.05g/mol Aspect : solide blanc. Rdt : 40.54% Pf : 116°C. litt. :(115-117) °C</p> |
|---|--|

➤ Procédé 2 :

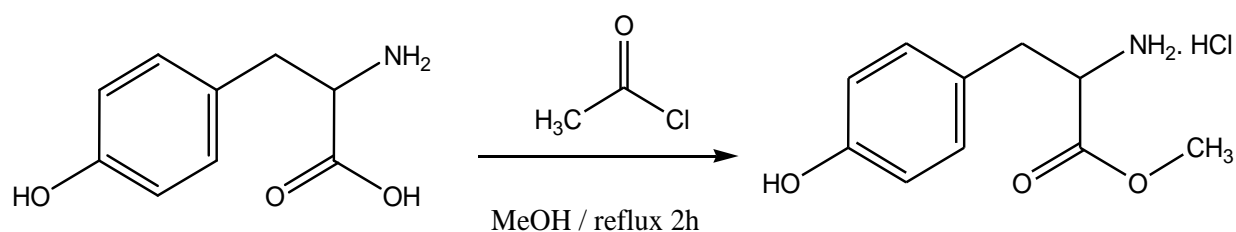
Nous avons utilisé le même protocole décrit précédemment, en remplaçant le chlorure d'acétyle par le chlorure de thionyle, sous reflux de 2h au lieu de 4h. Les proportions des réactifs utilisés sont :

L-aspartique : 3g ; méthanol : 40ml ; chlorure de thionyle : 3.21ml.

Après séchage et évaporation finale du solvant, on obtient un produit pâteux avec un très bon rendement, 91.23%.

3. Estérification de L-Tyrosine :

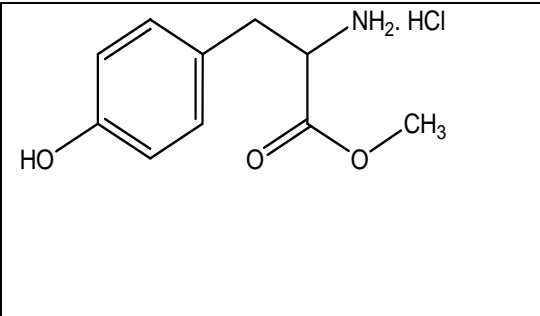
➤ Schéma réactionnel :



➤ Protocole :

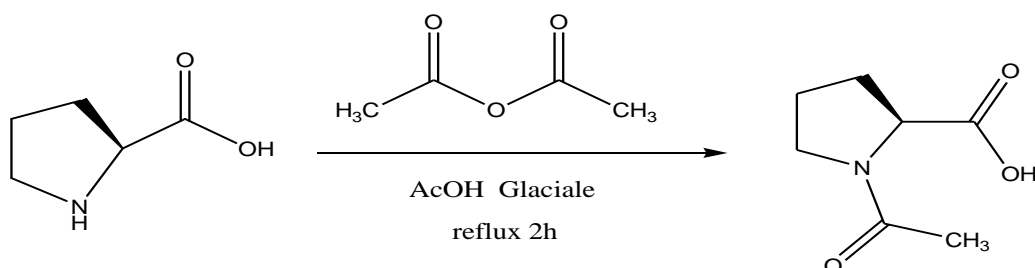
Dans un Bicol sec et sous courant d'azote, on introduit 50ml de méthanol ; on refroidit le système à 0°C , pour ajouter le chlorure d'acétyle (1.18ml, 0.0165mol) goutte à goutte avec agitation pendant 5 min. Ensuite la L-Tyrosine (3g, 0.0165mol) est ajoutée. Le mélange est chauffé lentement sous reflux pendant 2h. On laisse refroidir à température ambiante, et le solvant est chassé sous pression réduite

➤ Résultats :

| | |
|--|--|
|  <p>La structure chimique montre le L-Tyrosinate de méthyle sous forme de sel d'ammonium. Elle est constituée d'un noyau benzénique avec un groupe hydroxyle en position para, une chaîne latérale de deux carbones, un groupe amine protoné ($-\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$) et un groupe ester de méthyle ($-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{CH}_3$).</p> | <p>Formule brute : $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{ClNO}_3$ Masse molaire : 231.07g/mol Aspect : solide blanc Rdt : 95.40% Pf : 194°C. litt. (190-192) $^\circ\text{C}$.</p> |
|--|--|

4. Acylation de L-proline :

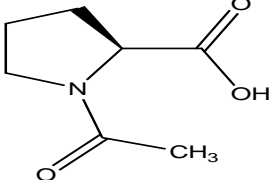
➤ Schéma réactionnel :



➤ Protocole :

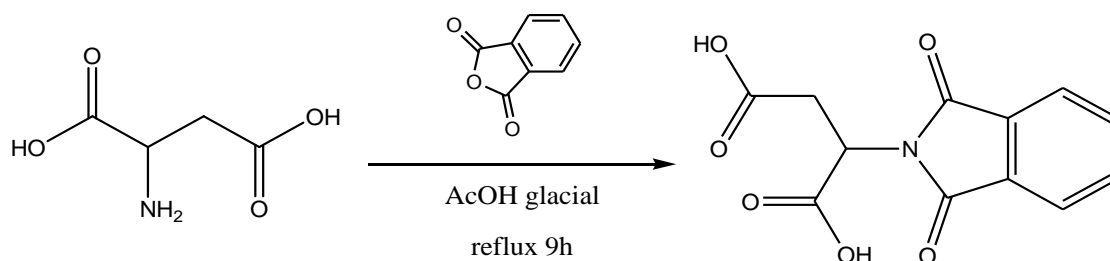
Dans un ballon muni d'un réfrigérant, on introduit la L-proline (2g, 17.3 mmol), l'anhydride acétique (6.2ml, 17.3mmol) dans l'acide acétique glacial (30 ml), et on porte à reflux pendant 2h. On chasse le solvant sous pression réduite avec un évaporateur rotatif. On obtient un produit huileux. Une cristallisation dans l'éther permet d'isoler 2.32g d'un solide blanc.

➤ Résultat :

| | |
|---|---|
|  | <p>Formule brute : $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_3$ Masse molaire : 157.07g/mol Aspect : solide blanc. Rdt : 84.98 % Pf : 114°C IR ν_{max} (KBr) cm^{-1}: 3472.35 (OH), 1722.65 (C=O), 1226.19(C-O).</p> |
|---|---|

5. Protection de la fonction amine de l'acide aspartique :

➤ Schéma réactionnel :



➤ Protocole :

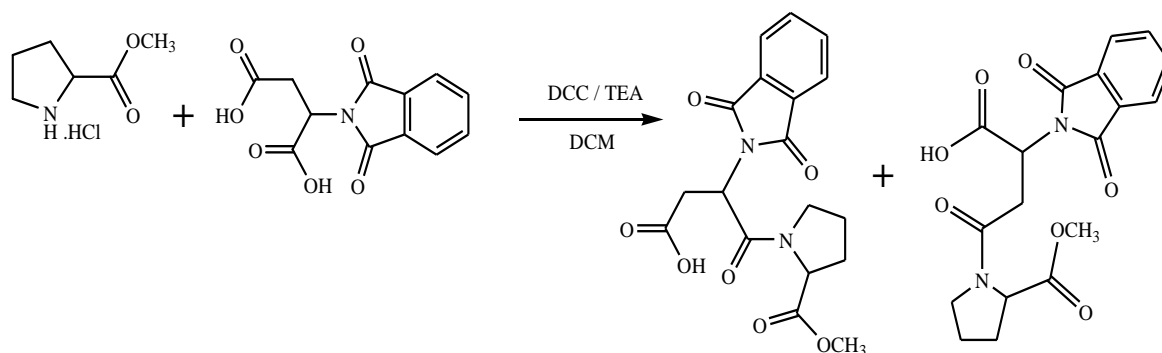
Dans un Bicol, on introduit (3g, 22.5mmol) d'acide aspartique, (3.33g, 22.5mmol) d'anhydride phtalique dans 100ml d'acide acétique glacial, et on porte à reflux pendant 9h. On laisse refroidir à température ambiante, puis on évapore le solvant mais pas complètement pour laisser le produit cristalliser dans un bain de glace, ensuite on filtre sous vide, le solide obtenu est ensuite lavé par l'éther pour entrainer le reste de l'acide acétique. Après séchage le solide est recristallisé dans un mélange eau/éthanol (4/1).

➤ Résultats :

| | |
|--|--|
| <p>The chemical structure shows a phthalimide ring system (a benzene ring fused to a five-membered imide ring) attached to a propyl chain. The propyl chain has hydroxyl groups at the 1 and 3 positions, and the nitrogen atom of the imide ring is bonded to the 2-position of the propyl chain.</p> | <p>Formule brute : C₁₂H₉NO₆ Masse molaire : 263.04g/mol Aspect : solide blanc. Rdt : 88.32% Pf : 225°C.litt ;(115-117)°C. IR v_{max}(KBr) cm⁻¹ :2500-3200(O-H) ; 1778.65 (C=O); 1726.93(C=O) ; 1466.27, 1424.76, 1393.28(C=C).</p> |
|--|--|

6. Couplage de la N-phtalimidoaspartique avec chlorhydrate de l'ester méthylique de la L-proline

➤ Schéma réactionnel :



➤ Protocole :

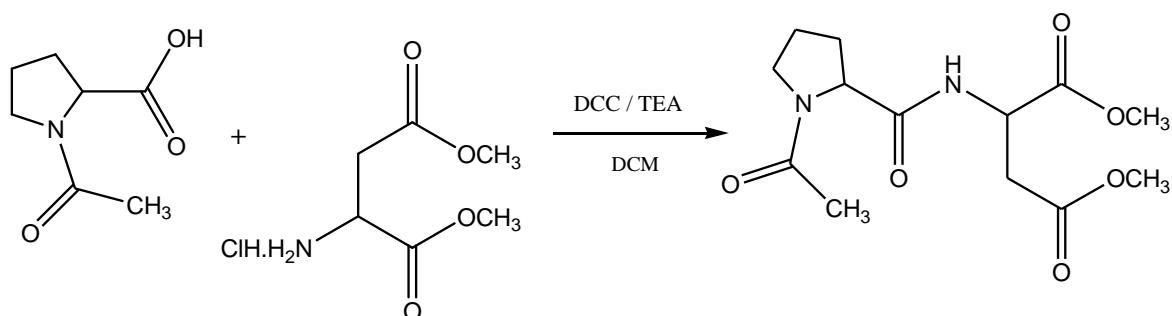
Dans un ballon on introduit le N-phtalimido L-aspartique (1.11g ; 3.8 mmol) avec l'ester méthylique de L-proline (0.7g; 0.62 mmol) dans 30ml de dichlorométhane à 0°C, on ajoute la triéthylamine (2.92ml; 19.01mmol ; 5éq) goutte à goutte avec une forte agitation. Une solution de DCC (0.86g; 3.8mmol) dans 10ml de dichlorométhane est additionnée goutte à goutte avec une forte agitation. Le mélange est agité de 0°C jusqu'à une température ambiante pendant 24h. À la fin, la dicyclohexylurée (DCU) formée est éliminée par filtration et le solvant est évaporé (DCM Téb=40°C). Le résidu obtenu est cristallisé dans l'éther.

➤ Résultats :

| | |
|--|--|
| | <p>Formule brute : $C_{18}H_{18}N_2O_7$</p> <p>Masse molaire : 374,11g/mol</p> <p>Aspect : solide blanc.</p> <p>Rdt : 99.36%</p> <p>R_f : 0.86 et 0.92 avec butanol /AcOH /H₂O (17: 3:4)</p> <p>IR v max(KBr) cm^{-1} : 3425.75 cm^{-1} (O-H) ; 1772.79 cm^{-1} C=O (phtalimido) ; 1711.20 cm^{-1} (C=O) ; 1626.18 cm^{-1} (C=O) ; 1171.78 cm^{-1} (C-O) ; 1448.91 cm^{-1} (C=C).</p> |
|--|--|

7. Couplage de l'acétylproline avec chlorhydrate de l'ester méthylique de la L-aspartique

➤ Schéma réactionnel :



➤ Protocole :

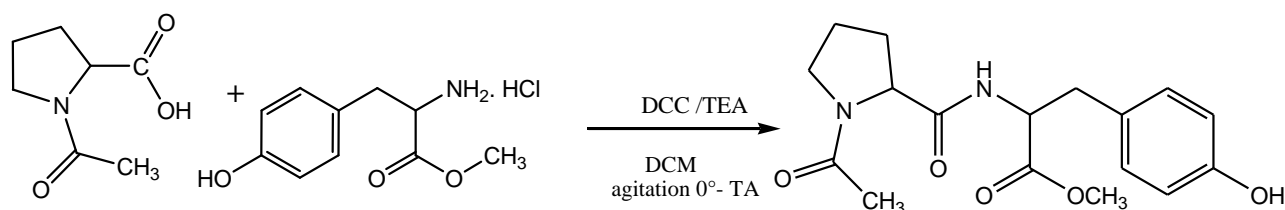
Dans un ballon on introduit la N-acétyl-L-proline (0.78g;4.9mmol) avec ASP-OCH₃.HCl (0.8g ; 4.9mmol) dans 30ml de dichlorométhane à 0°C, on ajoute l'triéthylamine (3.46ml ; 24,25mmol ; 5éq) goutte à goutte avec une forte agitation. Une solution de DCC (1.01g ; 4,61mmol) dans 10ml de dichlorométhane est additionnée goutte à goutte avec une forte agitation. Le mélange est agité de 0°C jusqu'à une température ambiante pendant 24h. À la fin, la dicyclohexylurée (DCU) formée est éliminée par filtration et le solvant est évaporé (DCM Téb=40°C). La réaction est terminée après 10 jours d'agitation.

➤ Résultat :

| | |
|--|---|
| | <p>Formule brute : C₁₃H₂₀N₂O₆ Masse molaire : 300.13g/mol Aspect : solide blanc. Rdt : 82.31%. Pf : 210°C R_f : 0.45 avec CHCl₃ / MeOH / H₂O (19: 1:0.6) IR ν_{max}(KBr) cm⁻¹ : 3326.91 cm⁻¹ (N-H) ; 1626.27 cm⁻¹ (C=O); 1576.87 cm⁻¹ (C=O); 1244.39 cm⁻¹ (C-O).</p> |
|--|---|

8. Couplage de l'acétylproline avec chlorhydrate de l'ester méthylique de la tyrosine

➤ Schéma réactionnel :



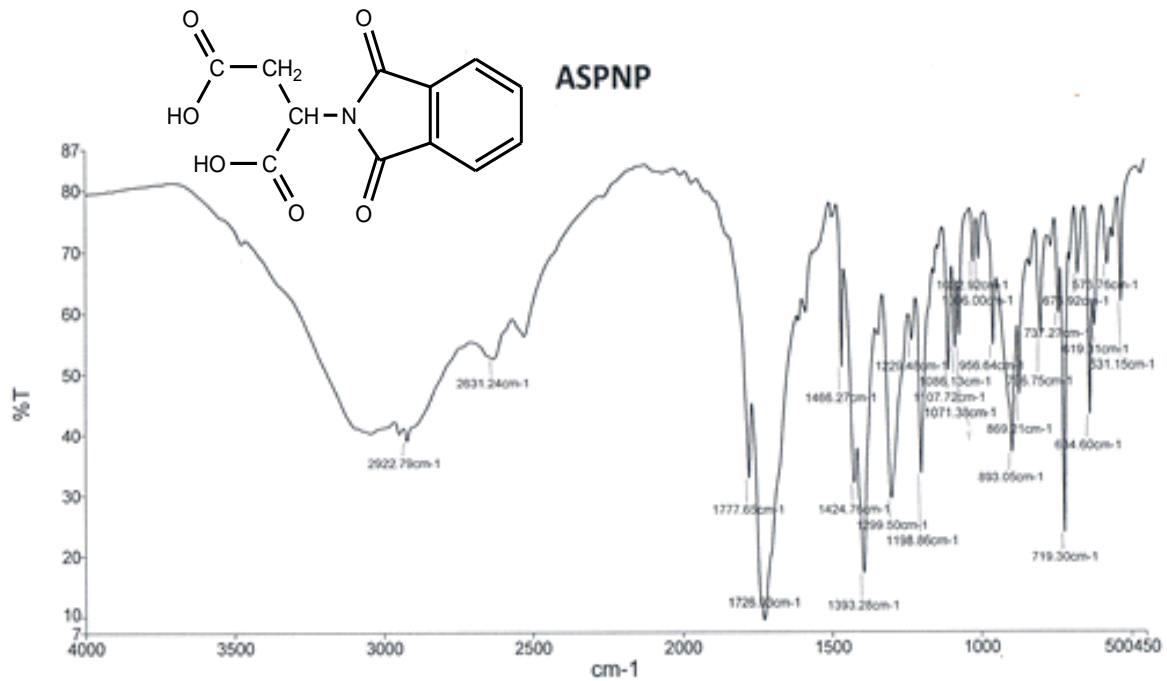
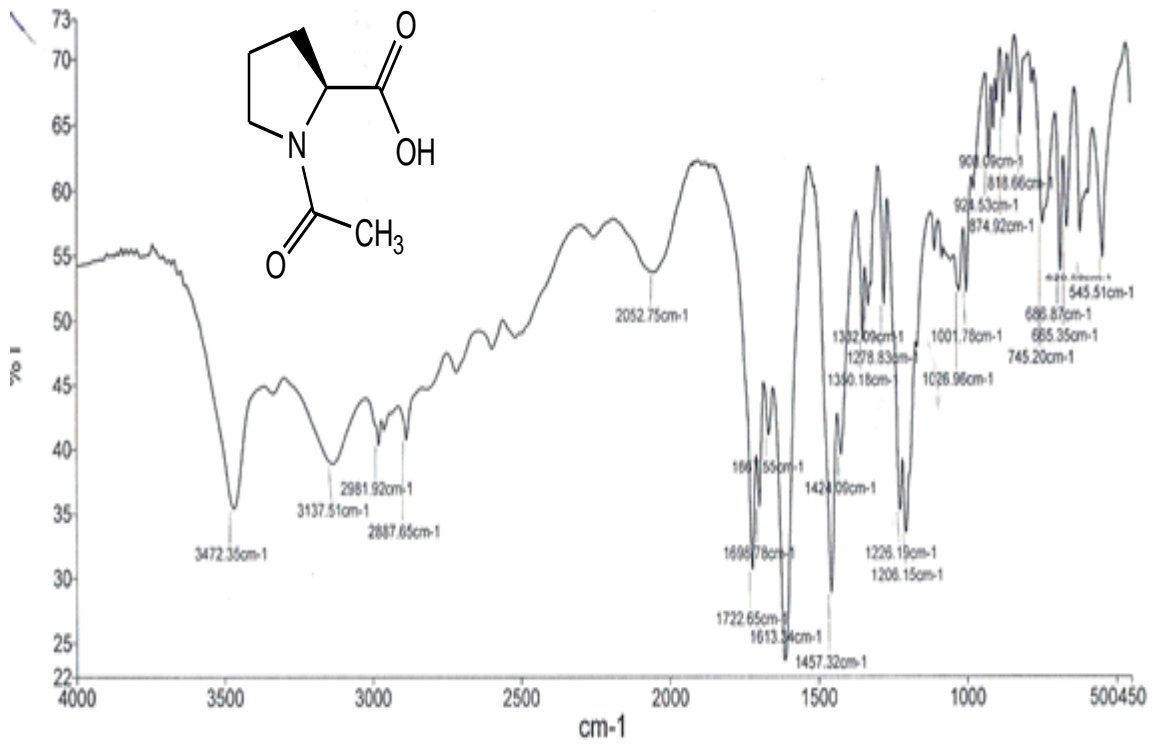
➤ Protocole :

Dans un ballon on introduit la N-acétyl-L-proline (1g;6.3mmol) avec Tyr-OCH₃.HCl (1.47g ; 6.3mmol) dans 30ml de dichlorométhane à 0°C, on ajoute la triméthylamine (4.39ml; 31.5mmol ; 5éq) goutte à goutte avec une forte agitation. Une solution de DCC (1.31g ; 6.3mmol) dans 10ml de dichlorométhane est additionnée goutte à goutte avec une forte agitation. Le mélange est agité de 0°C jusqu'à une température ambiante pendant 24h. À la fin, la dicyclohexylurée (DCU) formée est éliminée par filtration et le solvant est évaporé (DCM Téb=40°C). La réaction est terminée après 7 jours d'agitation.

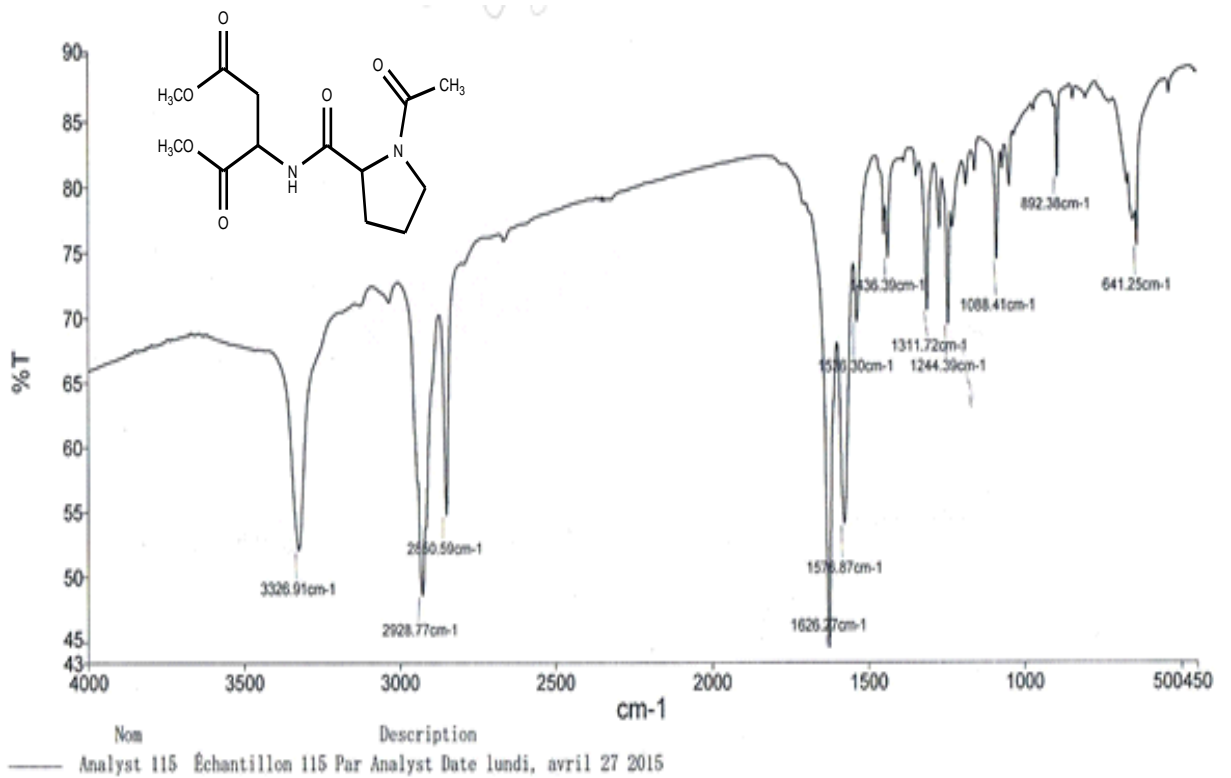
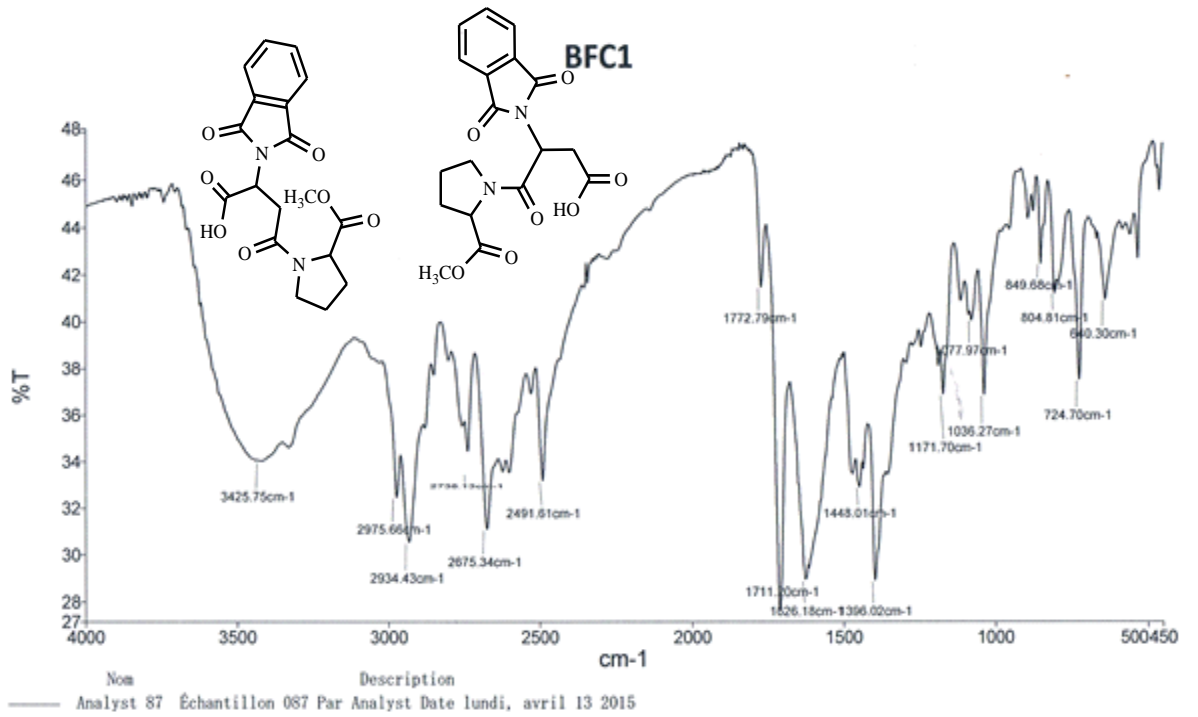
➤ Résultats :

| | |
|--|---|
| | <p>Formule brute : C₁₇H₂₂N₂O₅</p> <p>Masse molaire : 334,15g/mol</p> <p>Aspect: solidejaune.</p> <p>Rdt: 74.28%.</p> <p>T_f:104°C.</p> <p>R_f:0.57.avec DCM / MeOH (9:1)</p> <p>IR v max(KBr) cm⁻¹:O-H (phénol) 3425.75cm⁻¹ ;</p> <p>C=O (ester) 1772.79 cm⁻¹ ;1626.18 cm⁻¹ C=O (amide) ; 1450 cm⁻¹ C=C (arom)</p> |
|--|---|

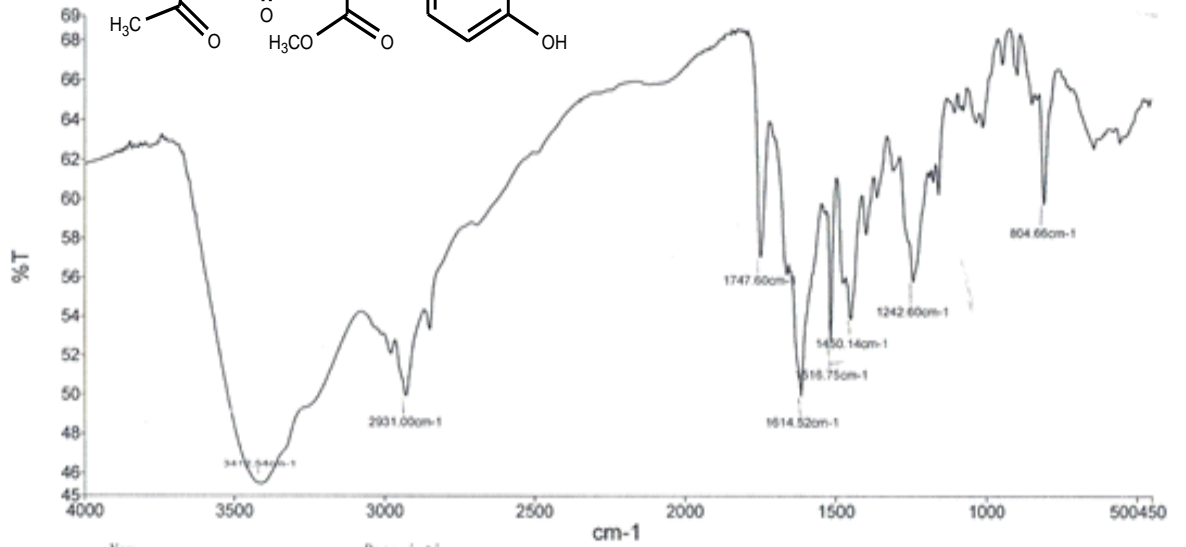
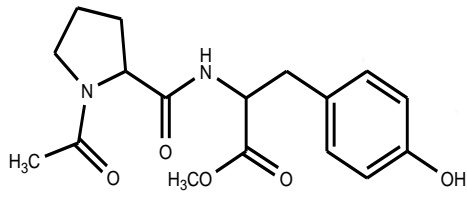
Annexe :



Nom: _____ Description: _____
 Analyst 93 Échantillon 093 Par Analyst Date lundi, avril 13 2015



ANC4



Nom Description
Analyst 117 Échantillon 117 Par Analyst Date lundi, avril 27 2015

Résumé :

Le sujet de ce mémoire est la synthèse des dipeptides à partir des aminoacides, avec comme objectif, l'élaboration de quelques précurseurs peptidiques qui peuvent être utilisés dans la préparation des molécules d'intérêt biologique. Trois acides α -aminés ont été utilisés dans cette synthèse, avec toutes les combinaisons possibles pour engendrer des dipeptides de différentes structures. Les couplages entre les acides aminés ont été réalisés avec la dicyclohexylcarbodiimide qui génère une urée insoluble dans l'eau. Cette méthode nous a permis d'aboutir à des dipeptides linéaire avec des rendements très intéressants.

Mots clés : peptides, dipeptides, acide aminés, couplage, proline, acide aspartique, tyrosine.

Abstract :

The subject of this thesis is the synthesis of dipeptides from amino acids, with the goal, developing several peptide precursors that can be used in the preparation of molecules of biological interest. Three α -amino acids were used in this synthesis, with all possible combinations to generate different structures of dipeptide. The couplings between amino acids were carried out with dicyclohexylcarbodiimide which generates a urea unsolvable in water. This method allows us to achieve linear dipeptide with very attractive returns.

Keywords: peptides, Dipeptides, amino acid, linkages, proline, aspartic acid, tyrosine.

ملخص :

موضوع هذه المذكرة، هو تجميع الأحماض الأمينية للحصول على ثنائي الببتيد و ذلك بهدف تطوير العديد من السلائف الببتيدية التي يمكن استخدامها في اعداد جزيئات ذات فائدة بيولوجية. استخدمت ثلاثة أحماض امينية في هذا التجميع بحيث مع كل مزيج يمكن توليد ثنائيات الببتيد بهياكل مختلفة. تجميع هذه الأحماض الأمينية يتحقق باستعمال مادة (dicyclohexylcarbodiimide) التي تولد une urée غير قابل للذوبان في الماء. تسمح لنا هذه الطريقة بإنتاج ثنائيات الببتيد ذات الهياكل الخطية مع مردود مجزي للغاية.

الكلمات المفتاحية: الببتيدات، ثنائية الببتيد، الأحماض الأمينية، التجميع، البرولين، حمض الاسبارتيك، التيروسين.