



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE ABOUBAKR BELKAID – TLEMCCEN



Faculté des sciences
Département de Chimie
Laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses



Mémoire présenté par

BOURSALI Nawel

En vue de l'obtention du diplôme de

Master en Chimie

Spécialité : Chimie Bio-Organique et Thérapeutique

Synthèse d'un analogue de fragment du Glutathion

Soutenue le : 09 juin 2015 devant le jury :

Mr	Z. ARRAR	Président	UAB- Tlemcen
Mr	B. MOSTEFA KARA	Examinateur	UAB- Tlemcen
Melle	NEGADI. L	Examinatrice	UAB- Tlemcen
Mr	A. MEZRAI	Examinateur Invité	UAB- Tlemcen
Mme	DRICI. W	Examinatrice	UAB- Tlemcen
Mr	D. BENDIABDELLAH	Examinateur	UAB- Tlemcen
Mme	SEBAA LEMERINI. W	Examinatrice	UAB- Tlemcen
Mr	J. KAJIMA MULENGI	Directeur de mémoire	UAB- Tlemcen

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 remercie tout d'abord le bon *DIEU ALLAH* le tout puissant de m'avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Je tiens à remercier mon promoteur, le professeur Joseph KAJIMA MULENGI, d'avoir accepté la charge d'être rapporteur de ce mémoire. Je le remercie infiniment pour sa disponibilité, ses pertinents conseils et pour les efforts qu'il a fournis durant la réalisation de ce mémoire.

Mes plus sincères remerciements au Mr Z. ARRAR, pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury de ce mémoire. Je remercie également Mr B. MOSTEFA KARA, Melle NEGADI. L, Mme Drici. W, Mr A. MEZRAI, Mr D. BENDIABDELLAH, Mme SLIMANI. A et Mme SEBAA. W d'avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie l'équipe de Laboratoire COSNA pour leur intérêt et leurs bons conseils.

Je souhaite remercier la direction générale de la recherche scientifique et du développement technique (DGRSDT) pour leur financement intemporel.

Je remercie aussi laboratoire de substances naturelles et bioactives (LASNABIO) pour tous les spectres infrarouges.

Un merci tout particulier à Melle AMOURI Amina doctorante en Chimie.BOT pour son aide et sa disponibilité lors de mes différents séjours au sein du laboratoire.

Je tiens à remercier vivement Mr le docteur MEZRAI Abdelmoumin pour ses efforts fournis et son engagement dans ce travail tout en lui exprimant ma reconnaissance pour le soutien permanent qu'il m'a apporté dans les moments les plus difficiles.

J'adresse, enfin et surtout, ma plus profonde gratitude et tout mon amour à mes très chers parents, sans oublier mes sœurs, mon frère, mes beaux frères et leurs enfants qui ont su me faire confiance et m'ont soutenu en toutes circonstances, ainsi qu'à tous mes proches amies: GHAFfour Hafsa, ATMANI Nadia, BELKAID Wassila, qui m'ont toujours encouragé en me donnant l'espoir de continuer à faire des progrès.

Merci

à ceux et celles qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, du près ou du loin dans mon travail. Je les remercie du fond du cœur.

Dédicaces

*A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,
j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :*

A mes très chers parents,

*Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos
encouragements.*

*Jamais il n'aurait eu le jour sans les conseils que vous avez consentis
pour mon éducation.*

*Que Dieu vous protège et vous donne une longue vie pleine de santé et
de bonheur.*

A mes sœurs et mes beaux frères,

A mon frère et sa femme,

A mes neveux et mes nièces,

A toutes ma famille,

A tous mes amis,

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

Sommaire

Introduction générale.....	1
Etude bibliographique	2
Généralités : Radicaux libres, stress oxydatif et antioxydants	2
1-Définition d'un radical libre.....	2
2- Le stress oxydatif	3
2.1-Définition	3
2.2 -un antioxydant.....	3
2.3-Exemples des antioxydants	3
2.3.1--Les acides gras polyinsaturés (AGPI)	3
2.3.2 –Les polyphénols.....	4
Propriétés des polyphénols.....	4
Antioxydants phénoliques naturels	5
Les flavonoïdes	5
Les acides phénoliques	5
Le resvératrol.....	5
Les tannins.....	5
Importance des polyphénols.....	6
2) Le glutathion	7
1-Définition	7
2-le glutathion et santé	8
2-1- Rôles du glutathion	8
a- Maître antioxydant	8
b- Nutriment du système immunitaire	9
c- Détoxifiant naturel	9
2.2-Le glutathion(GSH) et les autres antioxydants	9
3)-La glycation	11
1- Définition	11
2- Mécanismes de la réaction de Maillard.....	11
3- La condensation de Maillard.....	11
Travail effectué	13
PREMIERE PARTIE : ACIDES AMINES ET PEPTIDES	13
1. Acides aminés	13
1.1-Protection du carboxyle des aminoacides	15
• L'ester tertiobutylique.....	15
• Ester méthylique.....	15
Protection effectuée.....	16

Estérfication de la glycine par le chlorure de thionyle.....	16
1.2. Protection de la fonction thiol de la cystéine	17
• Bromure d'allyle.....	17
• Bromure de benzyle.....	18
Protection effectué.....	18
• Chlorure de benzyle.....	18
1.3- Protection de la fonction amine des aminoacides	19
1.3.1- Protection par le t-butoxycarbonate (Boc).....	19
1.3.2- Protection par le 9-Fluorenylméthoxycarbonate (Fmoc)	21
1.3.3- Protection par le benzyloxycarbonate (Cbz)	21
1.3.4 Protection effectué	22
Protection par l'anhydride phtalique et l'anhydride acétique	22
4- Les peptides	24
4-1- Détermination de la structure d'un peptide	24
4-2- Synthèse peptidique.....	25
a- Création de la liaison peptidique	25
b- Nécessité d'activer l'extrémité C-terminale.....	26
c- Méthodes de couplage	26
d- Stratégies de synthèse.....	28
Stratégies de protection/déprotection	29
Couplage effectué.....	30
DEUXIEME PARTIE: LES SUCRES.....	32
1) Structures cycliques des oses (hémiacétalique)	32
2) Configuration anomérique α ou β	32
a) Effet anomérique	33
b) Protections sélectives du glucose	34
c) Déprotection du carbone anomérique	34
d) Protection des alcools du glucose	35
Protection effectuée	37
Déprotection de la position anomérique du glucose protégé	37
Déprotection effectué.....	39
Partie expérimentale.....	41
Conclusion et perspectives.....	56

LISTE DES ABREVIATIONS

THF	Tétrahydrofurane
MeOH	Méthanol
EtOH	Ethanol
MgSO₄	Sulfate de magnésium
NaCl	Chlorure de sodium
DCM	Dichlorométhane
TEA	Triéthylamine
HBr	Acide bromique
HCl	Acide chlorhydrique
BF₃Et₂O	Trifluorure de bore complexé à l'éther diéthylique
Bu₃SnOMe	Méthoxide de tributylétain
Bn	Benzyle
BnCl	Chlorure de benzyle
Bz	Benzoyle
BzCl	Chlorure de benzoyle
CCM	Chromatographie sur couche mince
Ac	Acétate
Ac₂O	Anhydride acétique
AcOH	Acide acétique
Gly	Glycine
Cys	Cystéine
R_f	Rapport frontal
EtOAc	Acétate d'éthyle
Boc	Tert-butyloxycarbonyle
Cbz	Benzyloxycarbonyle
DCC	N, N'-dicycloxylcarbodiimide
DCU	Dicyclohexylurée
Ft	Anhydride phtalique
HOBt	Hydroxybenzotriazole
HOAt	Hydroxyazabenzotriazole
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
AGPI	Acides gras polyinsaturés

AGS	Acides gras saturés
AGM	Acides gras monoinsaturés
GSH	Glutathion
pHi	Point isoélectrique
NH₂CH₂CH₂NH₂	Ethylène diamine
TsCl	Chlorure de tosyle
I₂	Iode
AcONa	Acétate de sodium
Fmoc	9-Fluorenylméthoxycarbonyle
EDCI	1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide
Ph-N=C=S	Phénylthioisocyanate
NH₂NH₂	Hydrazine
SOCl₂	Chlorure de thionyle
TFA	Acide trifluoroacétique
O-tBu	O-tertiobutyle
OBn	O-benzyle
Ag₂CO₃	Carbonate d'argent
NaHCO₃	Bicarbonate de sodium
LiOH	Hydroxyde de lithium
Pf	Point de fusion
Eq	Equivalent
IR	Infrarouge

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principaux radicaux libres et leurs structures chimiques

Tableau 2 : Principaux polyphénols et leurs structures chimiques

Tableau 3 : Les groupements protecteurs couramment utilisés en synthèse peptidique

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Formation des radicaux libres

Figure 2: Structure de l'acide α -linoléique et l'acide linoléique

Figure 3: Structure du glutathion

Figure 4: Structure de la vitamine E : l' α - tocophérol

Figure 5: Structure de la vitamine C : l'acide ascorbique

Figure 6: Structures des α et β aminoacides

Figure 7: Formation des liaisons amides

Figure 8: Isomères optiques des acides aminés

Figure 9: Formes ioniques des acides aminés

Figure 10: Stéréochimie de la liaison peptidique

Figure 11: Agents de couplage peptidique

Figure 12: Groupements utilisés en synthèse peptidique et leurs conditions de clivage

Figure 13: Représentation des anomères α et β du D- glucose selon les projections de Fisher et d'Haworth

LISTE DES SCHEMAS

- Schéma 1: Conditions de protection de la fonction acide par tertibutyle
- Schéma 2: Conditions de déprotection de carboxyle des aminoacides
- Schéma 3: Conditions de protection de l'hydroxyle de l'aminoacide par le chlorure d'acétyle
- Schéma 4: Conditions de l'hydrolyse de la fonction ester méthylique des aminoacides
- Schéma 5: Protection de carboxyle de la glycine par le chlorure de thionyle
- Schéma 6: Mécanisme de protection de l'hydroxyle de la glycine par le chlorure de thionyle
- Schéma 7: Protection de la fonction thiol de la cystéine par le bromure d'allyle
- Schéma 8: Protection de la fonction thiol par le bromure de benzyle
- Schéma 9: Protection de la fonction thiol par le chlorure de benzyle
- Schéma 10: Mécanisme de protection de la fonction thiol par le chlorure de benzyle
- Schéma 11: Protection de la fonction amine des aminoacides par le groupement Boc
- Schéma 12: Mécanisme de la protection par le Boc
- Schéma 13: Condition de déprotection du groupement Boc
- Schéma 14: Protection de la fonction amine des aminoacides par le groupe Fmoc
- Schéma 15: Mécanisme de la déprotection de groupe Fmoc
- Schéma 16: Protection de la fonction amine des acides aminés par Cbz
- Schéma 17: Déprotection de groupe Cbz
- Schéma 18: Conditions de protection de la fonction amine par l'anhydride phtalique et l'acide acétique
- Schéma 19: Mécanisme de protection de l'amine par l'anhydride phtalique
- Schéma 20: La déprotection de la fonction amine par l'hydrazine
- Schéma 21: Mécanisme de la déprotection de groupement phtalimido
- Schéma 22: Structure de peptide selon la dégradation d'Edman
- Schéma 23: Formation de la liaison peptidique
- Schéma 24: L'activation de l'extrémité C-terminale
- Schéma 25: Couplage peptidique et le risque d'épimérisation
- Schéma 26: Avantage de l'utilisation de HOBt ou HOAt dans un couplage peptidique
- Schéma 27: Conditions de couplage gly-cys
- Schéma 28: Elimination du chlorhydrate par la TEA
- Schéma 29: Mécanisme du couplage gly-cys
- Schéma 30: Réaction de formation d'un hémiacétal
- Schéma 31: Réaction générale de protection des hydroxyles de D-glucose par les groupements acétates
- Schéma 32: Protection du D-glucose par l'anhydride acétique dans l'acide acétique
- Schéma 33: Acétylation du D-glucose avec l'acétate de sodium dans l'anhydride acétique
- Schéma 34: Protection du D-glucose par les groupements benzoyles
- Schéma 35: Protection des hydroxyles du D-glucose par l'iode dans l'anhydride acétique
- Schéma 36: Réaction générale de la déprotection de la fonction anomérique du glucose protégé
- Schéma 37: Déprotection de la position anomérique par $\text{BF}_3\text{ET}_2\text{O}$
- Schéma 38: Déprotection de la position anomérique
- Schéma 39: Déprotection de la position anomérique par Bu_3SnOMe
- Schéma 40: Hydrolyse de la position anomérique du glucose par l'éthylènediamine
- Schéma 41: Tosylation de la position anomérique du glucose

Introduction générale

Durant ces dernières années une recrudescence d'intérêt est remarquée concernant les effets thérapeutiques des antioxydants naturels inclus dans la lutte contre le stress oxydatif impliqué dans le vieillissement et dans le déclenchement et la progression de plusieurs maladies telles que le cancer, les accidents cardiovasculaires (AVC), et les maladies inflammatoires...etc. De nombreuses recherches scientifiques faites sur les composés antioxydants notamment sur le glutathion qui agit contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (molécules prooxydantes très réactives causent des endommagements cellulaires graves).

L'objectif de notre mémoire est la synthèse d'un fragment de glutathion, le choix n'a pas été fait au hasard car il est un précurseur dans la synthèse d'un glycopeptide qui présente des activités thérapeutiques très importantes.

La première partie de notre travail consiste à synthétiser un dipeptide à partir de deux acides aminés : glycine et cystéine.

Dans la deuxième partie nous nous sommes intéressés à la synthèse d'acides aminés glycosylés obtenus par la réaction entre un dipeptide et un sucre.

Etude bibliographique

I. Généralités : Radicaux libres, stress oxydatif et antioxydants

Tout le monde a entendu parler des antioxydants et de leurs cibles préférées. Ce sont eux qui sont à l'origine des maladies chroniques, telles que le cancer, Parkinson, Alzheimer.

1-Définition d'un radical libre

Par définition, les radicaux libres sont des espèces qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe, cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique ainsi qu'une grande réactivité. Ils apparaissent soit au cours de la rupture d'une liaison covalente pendant laquelle chaque atome conserve son électron⁽¹⁾ (figure 1), soit au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'électron à partir d'un composé non radical. Un radical libre est le plus souvent instable, donc réactif et sa durée de vie est très courte (de l'ordre d'une micro à nano-seconde).

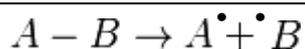


Figure 1: Formation des radicaux libres

Tableau 1: Principaux radicaux libres et leurs structures chimiques ⁽²⁷⁾.

Radicaux libres (nomenclature)	Structure chimique
Radical hydroxyle	HO^{\bullet}
Radical hydroperoxyde	HOO^{\bullet}
Radical peroxyde	ROO^{\bullet}
Radical alcoxyle	RO^{\bullet}
Peroxynitrite	$ONOO^{\bullet}$

2- Le stress oxydatif

2.1-Définition

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire⁽²⁾, il se produit dans la cellule quand la concentration des espèces réactives excède les capacités antioxydantes de cette cellule⁽²⁾. Ainsi, le stress oxydant est la conséquence d'une augmentation dans la génération des espèces réactives et /ou d'une défaillance dans les systèmes antioxydants⁽²⁾.

2.2 -un antioxydant

Les antioxydants sont des agents redox qui réagissent avec les oxydants et soit stoppent, soit ralentissent les processus d'oxydation⁽⁵⁾.

Un radical libre possède un e⁻ célibataire donc c'est un oxydant et parce qu'il est fortement réactif il peut céder facilement des e⁻. L'antioxydant peut capter celui la, il neutralise le radical tout en transformant lui-même au radical moins réactif donc peu stable.

2.3-Exemples des antioxydants

2.3.1--Les acides gras polyinsaturés(AGPI)¹⁹

Les acides gras entrent dans la composition des lipides. On distingue 3 classes d'acides gras, qui se différencient par leur degré d'insaturation : les acides gras saturés (AGS), mono insaturés (AGM) et polyinsaturés (AGPI).

Il existe deux familles d'acides gras polyinsaturés essentiels, nommées n-3 (ou oméga-3) et n-6 (ou oméga-6). Deux acides gras sont à l'origine de ces familles : l'acide α -linoléique est le précurseur des oméga-3 et l'acide linoléique est le précurseur de la famille des oméga-6. Ces deux acides gras sont indispensables car ils ne sont pas synthétisables par l'organisme. Seule l'alimentation peut nous les fournir.

Les AGPI à longue chaîne semblent également se comporter comme des agents protecteurs vis-à-vis de différents cancers. Ils seraient considérés comme inhibiteurs de la croissance tumorale⁽¹⁹⁾.

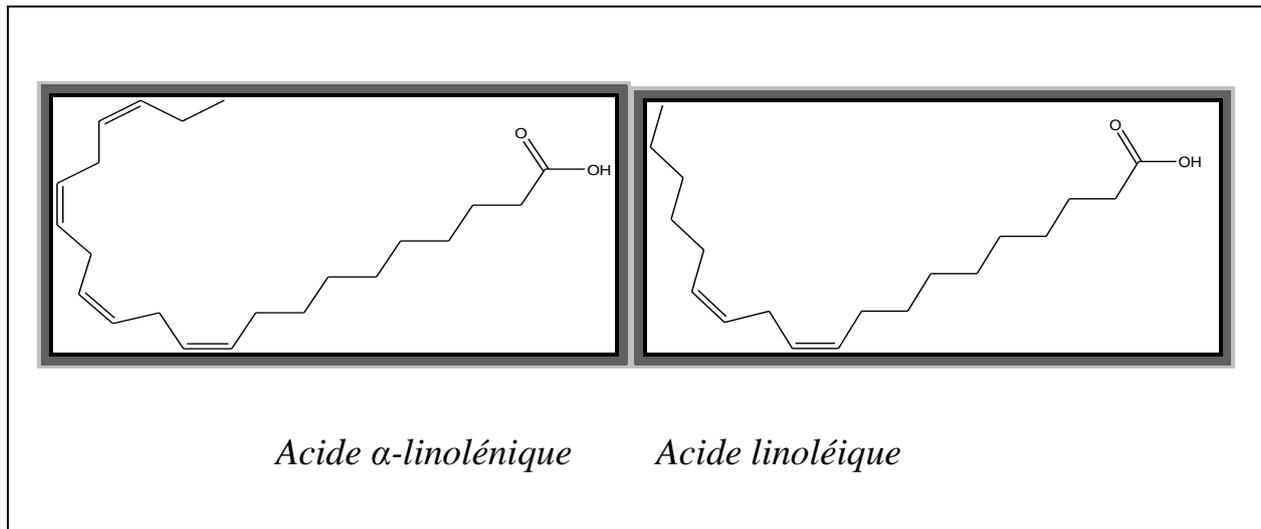


Figure 2: Structures de deux acides gras polyinsaturé

2.3.2–Les polyphénols⁽²⁰⁾

Les polyphénols sont des molécules organiques considérées comme quasi universelles (ubiquistes) des végétaux ; ils sont issus du métabolisme secondaire. Ils prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs nombreux effets bénéfiques sur la santé.

Ils sont caractérisés par la présence de plusieurs groupements phénoliques : 1 ou plusieurs cycles aromatiques (benzéniques) porteurs de 1 ou plusieurs OH. Ils constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes: racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits⁽²⁰⁾.

Propriétés des polyphénols

Les principales propriétés des polyphénols sont les suivantes: donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène (OH du phénol : acide); caractère antioxydant et piégeage des radicaux libres. Ils sont solubles dans les solvants polaires(selon leur structure), exemple: les flavonoïdes⁽²⁰⁾.

Antioxydants phénoliques naturels

Une grande partie de ces molécules est présente dans l'alimentation. Les plus connus sont les acides phénoliques (benzoïque ou cinnamique), les flavonoïdes, et les tanins. Les stilbènes et le lignan sont moins connus⁽²²⁾.

Les flavonoïdes²³

Le terme flavonoïde rassemble de nombreux composés naturels répartis en plusieurs familles dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les isoflavones et les anthocyanines. Ce sont des pigments naturels qui donnent leurs couleurs aux plantes⁽²⁴⁾.

Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont divisés en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque comme l'acide gallique ou vanillique et les dérivés de l'acide cinnamique comme l'acide caféique, coumarique, sinapique et férulique. Ces derniers ont une bonne activité antioxydante²⁵.

Le resvératrol⁽²⁶⁾

C'est un polyphénol naturel présent dans de nombreuses familles de plantes supérieures.

Les tannins

Les tannins sont des polyphénols de structure complexe, avec une activité antioxydante très puissante due au piégeage de $O_2^{\bullet-}$ grâce aux différents groupes phénoliques. Les deux familles les plus importantes sont les gallotanins et les ellagitanins⁽²⁴⁾.

Importance des polyphénols⁽²⁰⁾

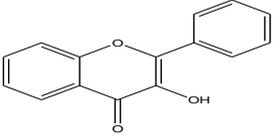
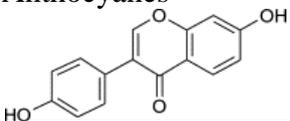
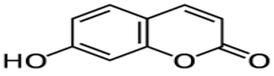
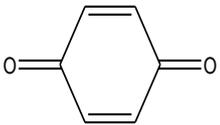
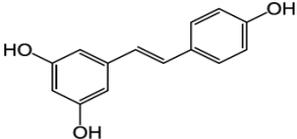
Polyphénols	Utilisations
<p>Flavonols</p> 	<p>Lutte contre la sénescence cérébrale, propriétés neurosédatives, antispasmodiques, antioxydants, anti-inflammatoires, diurétiques</p>
<p>Anthocyanes</p> 	<p>Utilisés dans les troubles de fragilité capillaire, antiseptiques urinaires, propriétés d'améliorer la vision nocturne, diurétiques.</p>
<p>Tanins</p>	<p>Pouvoir astringent, propriétés vasculo-protectrices, propriétés cicatrisantes, anti-diarrhéiques.</p>
<p>Acides phénoliques</p>	<p>Propriétés antipyrétiques, propriétés anti-inflammatoires</p>
<p>Coumarines</p> 	<p>Propriétés vasculo-protectrices, neurosédatives, diurétiques</p>
<p>Quinones</p> 	<p>Laxatifs stimulants</p>
<p>Stilbènes</p> 	<p>Lutte contre le cancer de la prostate</p>

Tableau 2 : Principaux polyphénols et leurs structures chimiques

II. Le glutathion

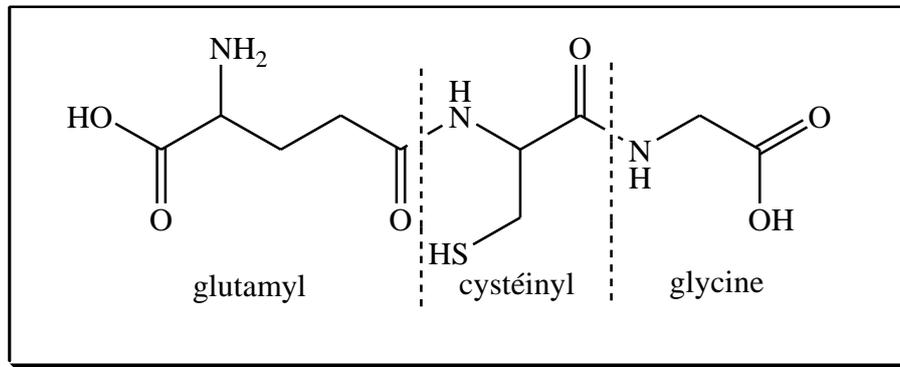


Figure 3: structure de glutathion

1-Définition

Le glutathion (γ -glutamylcystéinylglycine) est le tripeptide composé de cystéine, glutamate et glycine. Principal sulfhydryle de faible poids moléculaire de l'organisme, il présente deux caractéristiques structurales qui permettent sa participation à de nombreuses fonctions cellulaires : sa liaison γ -carboxyle entre les résidus glutamate et cystéine, qui le protège de l'hydrolyse, et son groupement sulfhydryle (ou thiol), porté par son résidu cystéine. Il joue un rôle particulièrement important dans les défenses antioxydantes⁽⁶⁾.

Le groupe sulfhydryle de la cystéine est responsable des propriétés chimiques de la molécule entière de glutathion (L-glutamyl-L-cystéine glycine)⁽¹⁷⁾. Comme systémique du glutathion oral est négligeable chez les humains⁽⁴⁾ et que rien ne prouve que le glutathion est transporté dans les cellules^(15,16), celui-ci doit être synthétisé au niveau intracellulaire. Même si l'afflux de la cystéine⁽¹⁸⁾, du glutamate et de la glycine (composantes du glutathion) se révèle plus ou moins limitant dans de certaines circonstances, il semblerait que la cystéine tend à être l'agent limitant de la synthèse du glutathion⁽⁵⁾.

2-Glutathion et santé

Le Glutathion est le principal agent responsable de la bonne santé du corps. Antioxydant, stimulant du système immunitaire et détoxifiant. Cette molécule, produite naturellement dans le corps, maintient ces trois fonctions protectrices vitales. Sans lui, les cellules se désagrègeraient par oxydation incontrôlée, le corps présenterait peu de résistance aux bactéries, virus et cancers, de plus, comme si ce n'était pas assez, le foie se désagrègerait et mourrait d'une éventuelle accumulation de toxines.

Chaque cellule du corps est responsable de générer son propre glutathion et doit donc avoir à sa disposition le matériel brut nécessaire à sa fabrication. Le glutathion est toujours en grande demande et est rapidement consommé lorsque nous subissons toutes sortes de pressions : maladie, stress, fatigue et même exercice. Les niveaux de glutathion diminuent aussi lorsque nous vieillissons et plusieurs maladies généralement associées au vieillissement sont reliées à une déficience en glutathion⁽²¹⁾.

2.1-Rôles du glutathion⁽²¹⁾

Les trois principaux rôles du glutathion dans le corps peuvent se résumer à ces trois lettres **AID** (**A**ntioxydant, **S**timulant **I**mmunitaire et **D**étoxifiant) trois fonctions critiques dans lesquelles le glutathion travaille activement.

a- Maître antioxydant

Aucours des trente dernières années, les chercheurs ont exploré la valeur des antioxydants dans le maintien d'une bonne santé, de même que dans le traitement et la prévention de maladies impliquant le phénomène d'oxydation (radicaux libres). De là est née une toute nouvelle ramification de la médecine : la biologie des radicaux libres. Les radicaux libres sont impliqués dans des centaines de maladies, incluant les problèmes cardiaques, le cancer, le diabète et le vieillissement lui-même.

Bien connus et largement utilisés, des antioxydants comme la vitamine C, la vitamine E et le sélénium neutralisent les radicaux libres. Ils existent déjà dans la nature, mais pas dans le corps où ils doivent être assimilés grâce à une alimentation équilibrée. Il n'est pas surprenant que le corps manufacture ses propres antioxydants. Le plus important de ceux-ci est le

glutathion. Parce que tous les autres antioxydants dépendent de la présence du glutathion afin de fonctionner de façon appropriée, les scientifiques le surnomment « le maître antioxydant ».

b- Nutriments du système immunitaire

Le système immunitaire reconnaît et attaque les germes et autres envahisseurs, incluant les cellules cancéreuses. Un corps bien approvisionné en glutathion combat ces agresseurs en prévenant leur intrusion. Des taux de glutathion élevés permettent au corps de produire plus de globules blancs, la ligne de défense la plus importante du système immunitaire.

Le glutathion joue un rôle primordial dans le fonctionnement de ces cellules immunitaires. G. Bounous, un expert en matière de glutathion dit: « Le facteur déterminant dans l'activité appropriée de nos lymphocytes (globules blancs) est la disponibilité du glutathion ». En d'autres mots, la saine croissance et l'activité du système immunitaire dépendent de la disponibilité du glutathion. Le glutathion est la « nourriture » du système immunitaire.

c- Détoxifiant naturel

Quand le corps est en bonne santé et reçoit les nutriments qui lui sont nécessaires, il travaille sans relâche à éliminer les toxines et à se protéger lui-même. Mais l'élévation du niveau de pollution environnementale diminue ses réserves de glutathion de plus en plus rapidement. Notre principal organe de désintoxication est le foie, le plus volumineux organe du corps et aussi le réservoir de la plus grande concentration de glutathion dans le corps. Des études montrent qu'un taux insuffisant de glutathion mène à une diminution de l'action du foie, amenant de plus en plus de toxines à circuler dans le corps et provoquant des dommages aux cellules et aux organes.

2.2- Le glutathion (GSH) et les autres antioxydants

Comment le GSH se compare-t-il aux autres antioxydants sur le marché ? Ils ont tous des avantages et des inconvénients. On ne doit jamais cesser de prendre des suppléments réputés comme les vitamines C et E. Ces substances agissent en synergie.

La vitamine E ou l' α -tocophérol est un important antioxydant liposoluble présent dans les huiles végétales (huile de tournesol, de soja, de maïs...etc), les noix, les graines, le lait, et les œufs⁽¹⁾. Il est capable de réagir avec plusieurs radicaux libres⁽⁷⁾ et agit particulièrement en inhibant la peroxydation lipidique⁽²²⁾.

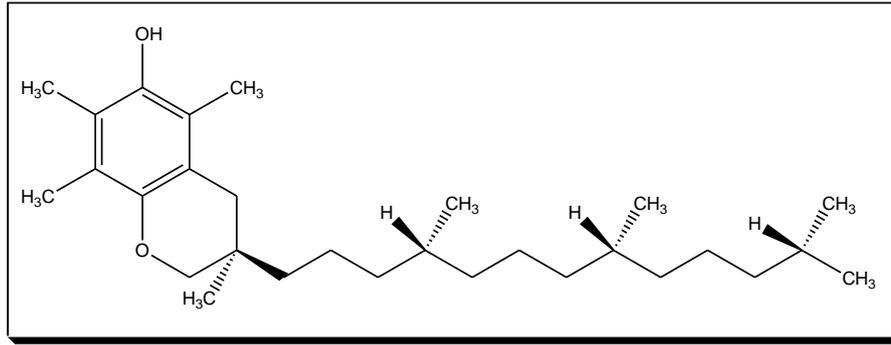


Figure 4 :Structure de la vitamine E, α - tocophérol-

La vitamine C ou l'acide ascorbique est un puissant antioxydant hydrosoluble ⁽⁸⁾ présent dans les agrumes, les légumes...etc ⁽¹⁾. A côté de son rôle dans la régénération de vitamine E, la vitamine C est capable de réduire d'autres biomolécules oxydées et d'agir comme un piège direct de radicaux libres⁽⁹⁾.

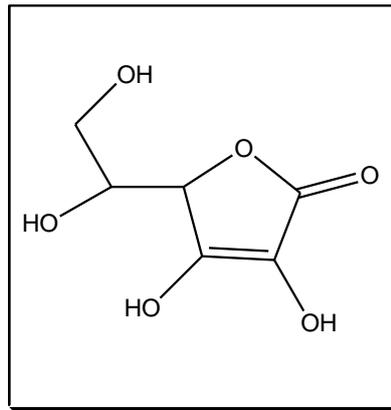


Figure 5: Vitamine C ou l'acide ascorbique

Le GSH est considéré comme le principal antioxydant cellulaire parce qu'il complète l'action d'un grand nombre d'autres antioxydants. Par exemple, les vitamines C et E ne peuvent fonctionner adéquatement sans GSH. Lorsqu'elles captent un oxyradical, elles doivent le remettre au système GSH afin de pouvoir retourner en chercher d'autres. C'est le GSH, et non pas la vitamine, qui le neutralise.

Le sélénium est un autre antioxydant important. Les études scientifiques sur le sélénium ont indiqué des similitudes cliniques avec le GSH. Il est en fait un composant

intégral de l'important enzyme peroxydasique GSH. Pour cette raison, le sélénium pourrait être considéré comme un amplificateur de GSH.

Il est important de se rappeler qu'aucun de ces importants et non moindres antioxydants se trouvent naturellement dans les cellules. Ils doivent provenir d'aliments ou de suppléments. D'un autre côté, le GSH est un composant cellulaire vital et naturel. Il est fabriqué dans les cellules à partir de précurseurs de GSH.

III. Glycation ⁽³²⁾ :

1- Définition :

La **glycation** est une réaction chimique appelée réaction de Maillard consistant à lier de façon covalente un glucide à une chaîne peptidique, une protéine, un lipide ou d'autres molécules. Cette réaction se déroule sans participation enzymatique et forme un produit appelé base de Schiff.

2- Mécanismes de la réaction de Maillard

La réaction de Maillard fait encore l'objet d'études et n'a pas livré tous ses mystères. On se propose donc d'expliquer les mécanismes principaux et bien connus de la réaction : le groupement carbonyle du sucre réagit avec le groupe amine de l'acide aminé, produisant des glycosylamines N-substituées et de l'eau.

3- La condensation de Maillard

L'atome de carbone **C** du groupement carbonyle du sucre étant électrophile, et l'atome d'azote **N** de l'acide aminé au contraire nucléophile, ils vont avoir tendance à s'attirer. Pour que **N** et **C** puissent se lier, l'atome d'oxygène **O** du carbonyle transforme une de ses liaisons avec le carbone en doublet non liant, car **O** est plus électronégatif (tendance à attirer les électrons) que **C** : il devient alors chargé négativement car il est en excès d'électron.

Le **N** de l'acide aminé va alors transformer son doublet non liant pour se lier au carbone qui ne peut rester avec seulement 3 électrons en couche externe. Le **N** est alors en défaut d'électrons (il doit récupérer son doublet non liant) et est chargé positivement. Il va alors, étant plus électronégatif que l'hydrogène, transformer une des liaisons avec ses hydrogènes en doublet non liant, l'hydrogène libéré allant se lier à l'oxygène qui avait créé un doublet non liant pour permettre à l'acide aminé de se condenser avec le sucre. Ce processus réversible est appelé prototropie.

La molécule va alors se stabiliser, la fonction alcool située en début de chaîne va alors se détacher, le **O** transformant sa liaison avec le reste de la molécule en doublet non liant. Cela va libérer une possibilité de liaisons pour le **C**, et il va utiliser l'électron libéré pour former une deuxième liaison avec l'azote de l'acide aminé qui lui, pour pouvoir apporter un électron va casser une liaison avec un de ses deux **H**. L'ion **OH⁻** et l'ion hydrogène vont alors se lier, créant une molécule d'eau. La molécule restante est appelée base de Schiff mais est encore instable⁽³²⁾.

travail effectués

PREMIERE PARTIE : ACIDES AMINES ET PEPTIDES

1. Acides aminés ⁽³³⁾

Les acides aminés, comme leur nom l'indique, sont des composés contenant à la fois une fonction amine(basique) et fonction acide carboxylique(acide). On note plusieurs familles d'acides aminés. Les α - aminoacides (les fonctions amines et acides carboxyliques sont portés par le même carbone), les β - amino acides (la fonction acide est en β de la fonction amine). Ce sont les éléments constitutifs des peptides et des protéines.

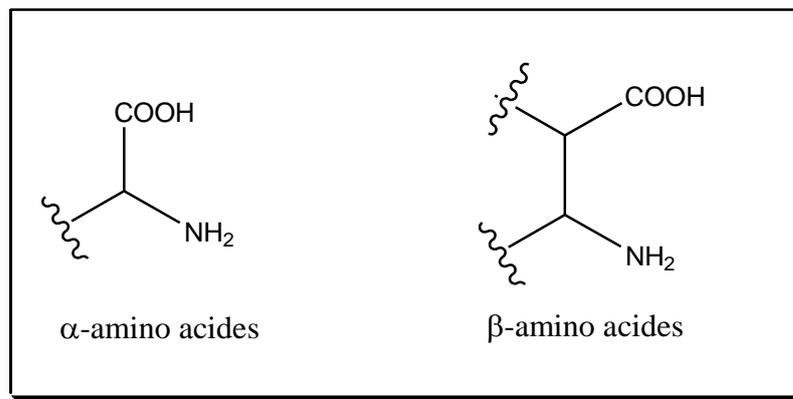


Figure 6: Structures des α et β aminoacides

Lorsque plusieurs acides aminés se lient entre eux, ils forment des liaisons amides entre la fonction amine d'un acide aminé et la fonction acide carboxylique d'un autre.

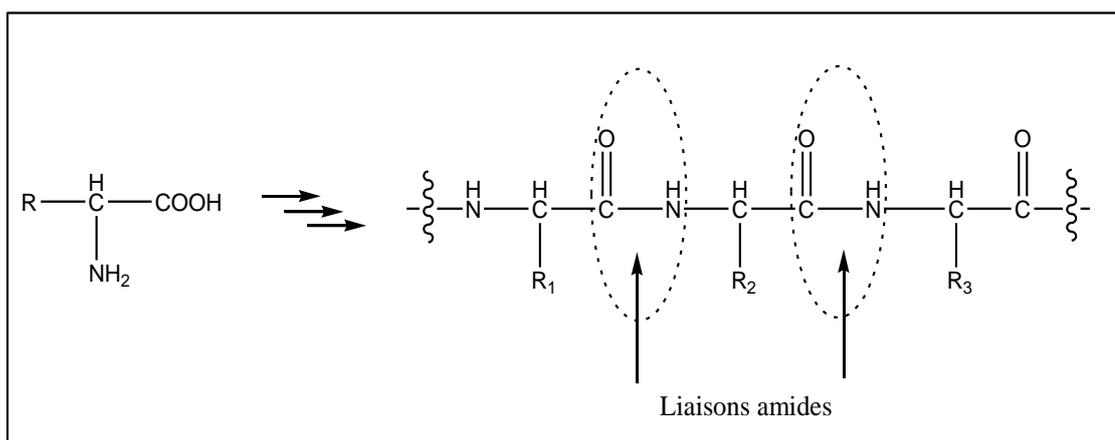
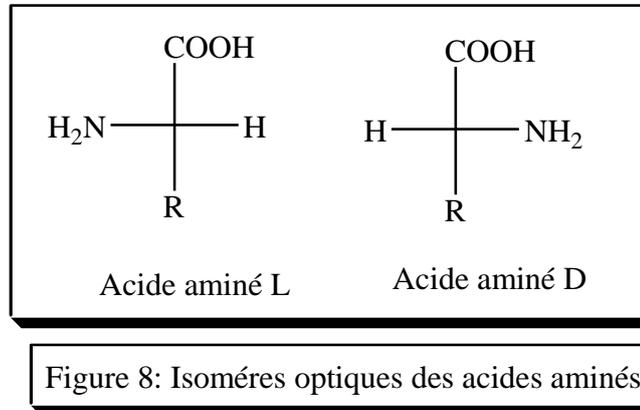


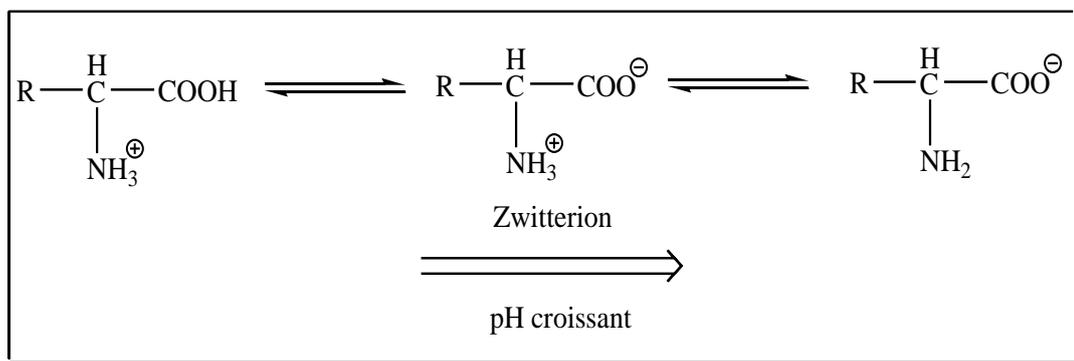
Figure 7 : Formation des liaisons amides

Travail Effectué

Il existe vingt acides aminés essentiels couramment rencontrés dans les protéines. Ce sont tous des acides α -aminés. On distingue deux séries d'acides aminés, L et D (Figure 8), la série naturelle étant la série L.



Tous les acides aminés, à l'exception de la glycine, ont un atome de carbone asymétrique⁽³³⁾. Comme les acides aminés comportent à la fois une fonction acide (-COOH) et une fonction basique (-NH₂), en solution, ils ne se trouvent pas sous forme neutre, mais sous une forme ionique dipolaire appelée **zwitterion**. Selon le **pH** de la solution à laquelle il se trouve, un acide aminé peut être sous forme cationique, de zwitterion globalement neutre ou anionique (Figure 9) :



Le **pH** correspondant à la forme zwitterion est appelé point isoélectrique **pH_i** de l'acide aminé. Dans le cas des acides aminés à chaîne latérale R neutre, cette valeur est la moyenne des **pK_a** des fonctions acide carboxylique et amine. Pour les acides aminés à chaîne latérale acide, le point isoélectrique est la moyenne des deux valeurs les plus faibles

de pK_a . Pour ceux à chaîne R basique, il s'agit de la moyenne des deux valeurs les plus élevées⁽³¹⁾.

1.1-Protection du carboxyle des aminoacides

A cause de la présence simultanée des fonctions acide et amine sur les aminoacides, 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. Généralement, on trouve la protection des acides sous forme d'ester, mais il existe plusieurs types d'esters et les plus utilisés sont:

- *L'ester tertiobutylique* :

Dans la chimie des aminoacides et des peptides, on utilise souvent l'ester tertiobutylique qui peut être facilement éliminé avec l'acide trifluoroacétique (TFA) (schéma 1 et 2)^(34,35).

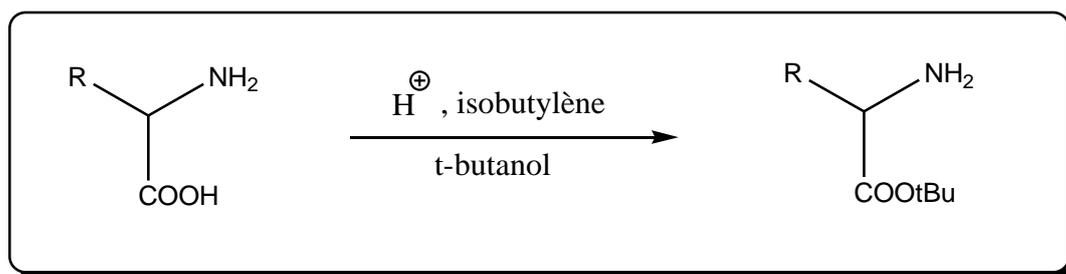


Schéma 1: Conditions de protection de la fonction acide par tertiobutyle

La déprotection se fait selon le schéma suivant (schéma 2):

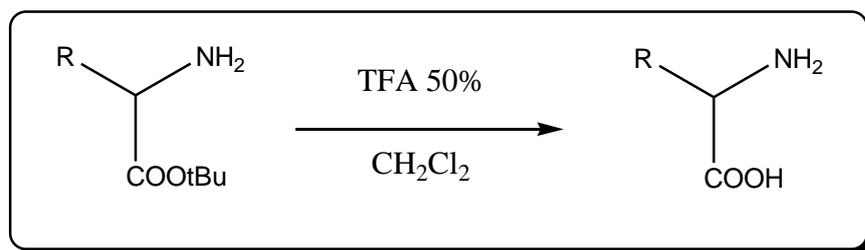


Schéma 2: Conditions de déprotection de carboxyle des aminoacides

- *Ester méthylique*

Une méthode plus douce et très utilisée, consiste à traiter l'acide avec le chlorure d'acétyle en présence de l'alcool (schéma 3)⁽³⁶⁾.

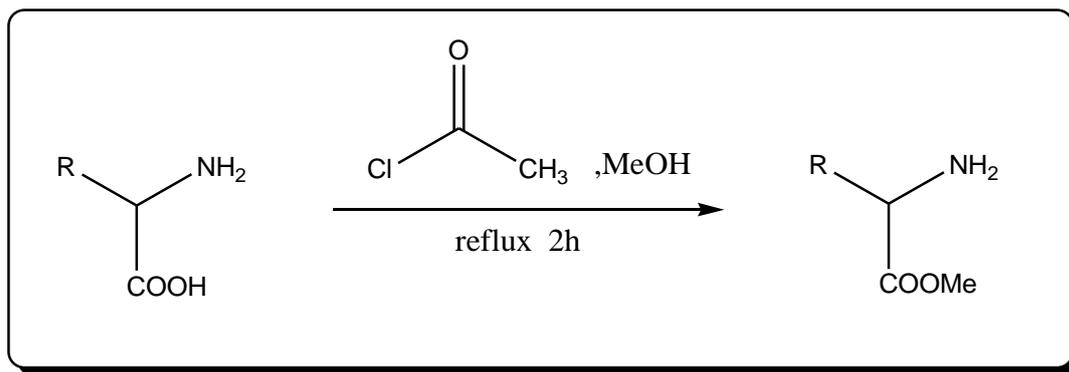


Schéma 3: Conditions de protection de l'hydroxyle d'acide par le chlorure d'acétyle

L'hydrolyse de la fonction ester méthylique se fait selon le schéma suivant (schéma 4) :

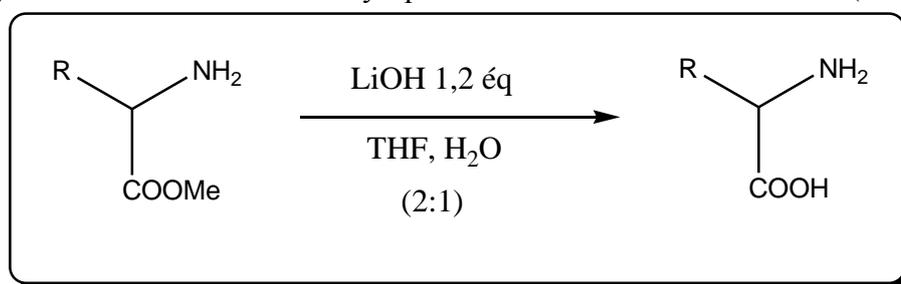


Schéma 4: Conditions de l'hydrolyse de la fonction ester méthylique des aminoacides

- *Protection effectuée*

Estérification de la glycine par le chlorure de thionyle:

Une des méthodes d'obtention des esters à partir 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. Si on utilise le chlorure d'acétyle, on peut arriver à une racémisation du produit de réaction. Pour éviter ou réduire la racémisation, on peut traiter le mélange d'acide et d'alcool par le chlorure de thionyle (schéma 5).

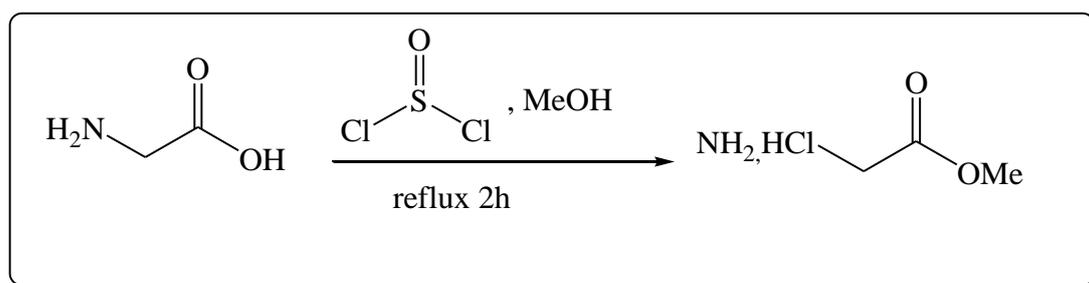


Schéma 5: Protection de carboxyle de la glycine par le chlorure de thionyle

Le mécanisme d'application dans ce cas est le suivant (schéma 6) :

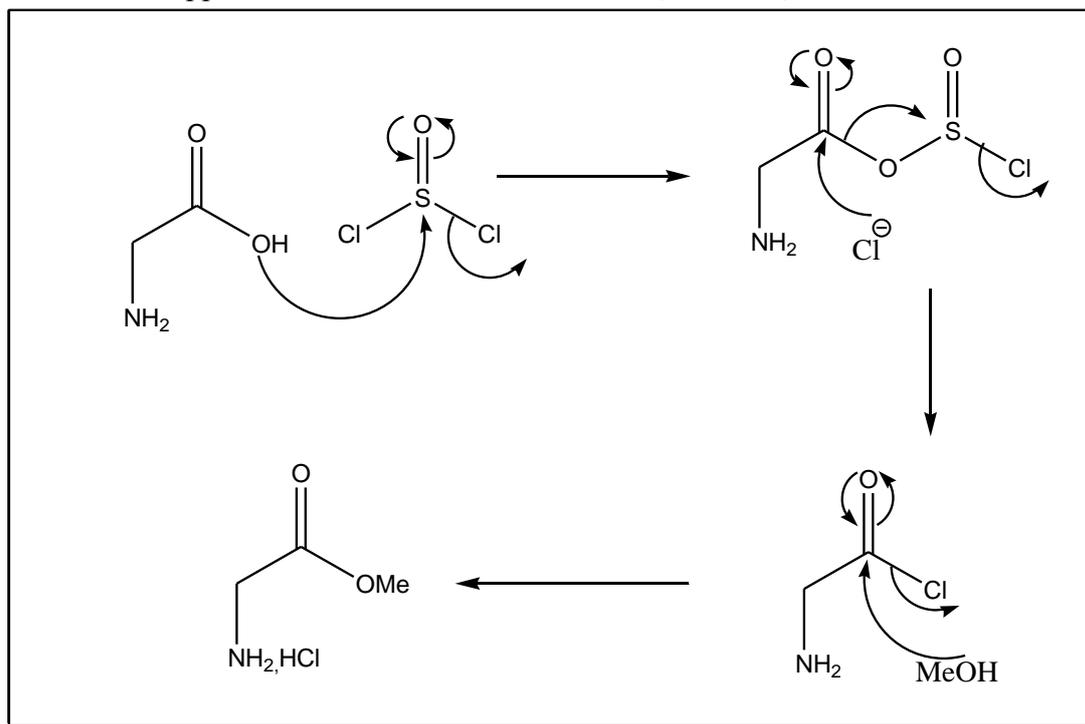


Schéma 6: Mécanisme de la protection de l'hydroxyle de la glycine par le chlorure de thionyle

1.2. Protection de la fonction thiol de la cystéine :

- *Bromure d'allyle*

Sous l'action de bromure d'allyle sur la cystéine on peut protéger la fonction thiol selon le schéma ci-dessous :

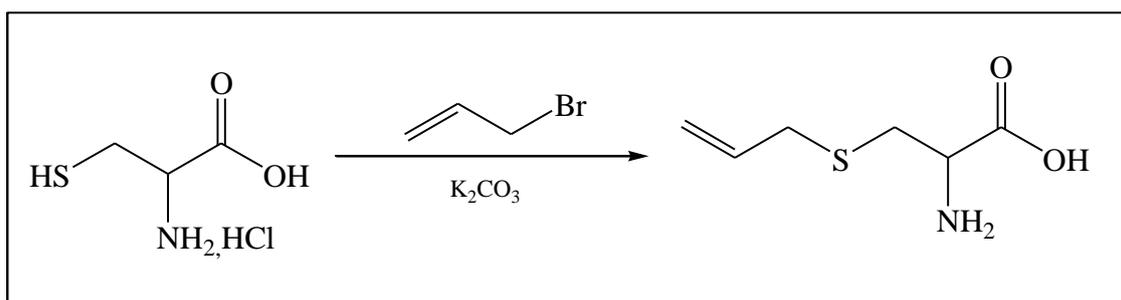


Schéma 7: Protection de la fonction thiol de la cystéine par le bromure d'allyle

Pour effectuer une protection de la fonction thiol de la cystéine, on peut utiliser K_2CO_3 comme base pour arracher le H de thiol et donner le thiolate qui attaque le bromure d'allyle.

- *Bromure de benzyle*

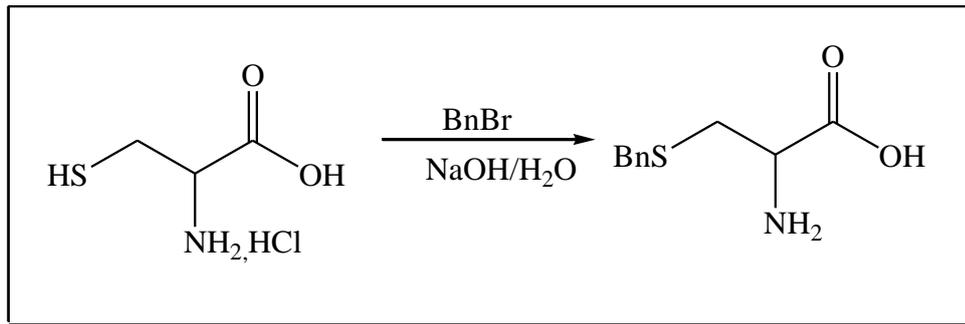


Schéma 8: Protection de la fonction thiol par le bromure de benzyle

Protection effectuée

- *Chlorure de benzyle*

Sous l'action du chlorure de benzyle sur la cystéine, on peut aussi protéger la fonction thiol selon le schéma suivant:

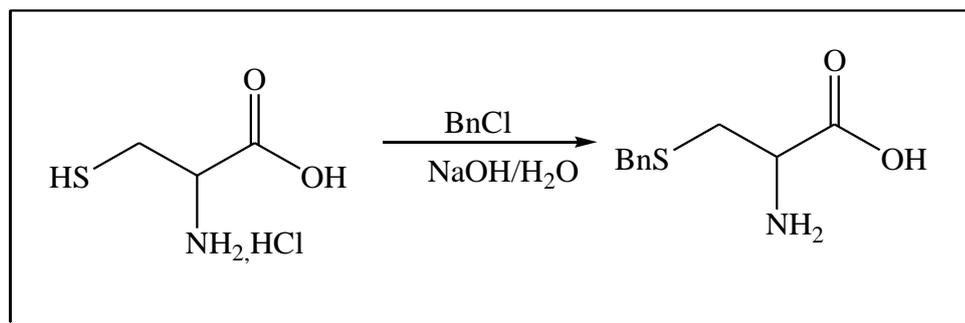


Schéma 9: Protection de la fonction thiol par le chlorure de benzyle

Le mécanisme de la protection par le chlorure de benzyle est le suivant :

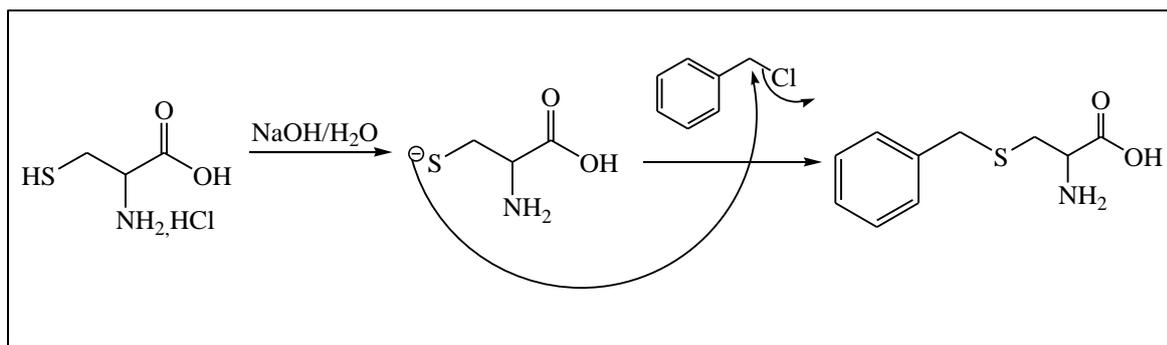


Schéma 10: Mécanisme de protection de thiol par le chlorure de benzyle

1.3-Protection de la fonction amine des aminoacides :

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

1.3.1-Protection par le t-butoxycarbonyl (Boc)

Ce groupe se prête bien à la protection du groupe amino comme le montre le schéma suivant :

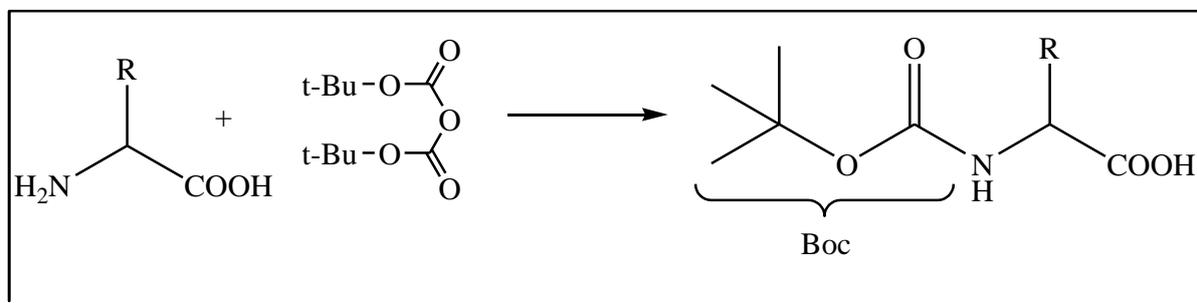


Schéma 11: Protection de la fonction amine des aminoacides par le groupement Boc

Travail Effectué

Le mécanisme de la protection par le Boc est le suivant:

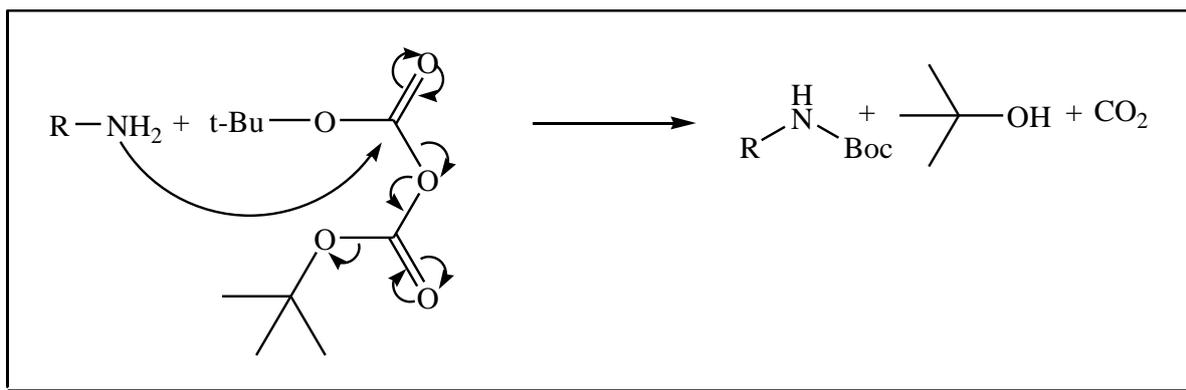


Schéma 12: Mécanisme de la protection par le Boc

Le groupe Boc est stable vis-à-vis d'une hydrogénation catalytique, du sodium dans l'ammoniac liquide, des bases et de l'hydrazine⁽³⁷⁾. Cependant, son clivage s'effectue facilement dans des conditions acides douces et à ce titre, l'acide trifluoroacétique convient parfaitement.

Condition de déprotection de groupe Boc par les acides:

La déprotection de groupe Boc se fait selon le schéma suivant :

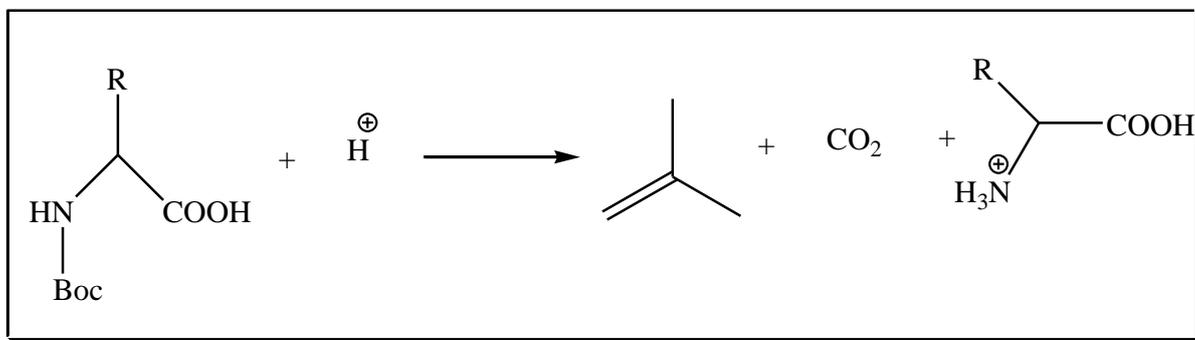


Schéma 13: Condition de déprotection de groupe Boc

- H_3O^+ , TFA (acide trifluoroacétique)
- CH_2Cl_2 , HBr

1.3.2-Protection par le 9-Fluorenylméthoxycarbonyle (Fmoc) :

Le 9-Fluorenylméthoxycarbonyle (Fmoc) est largement répandu dans la chimie des peptides. Il est très stable dans des conditions acides, mais son clivage s'effectue dans des conditions basiques et douces en présence d'une base comme la pyridine ou la morpholine à température ambiante^(38,39).

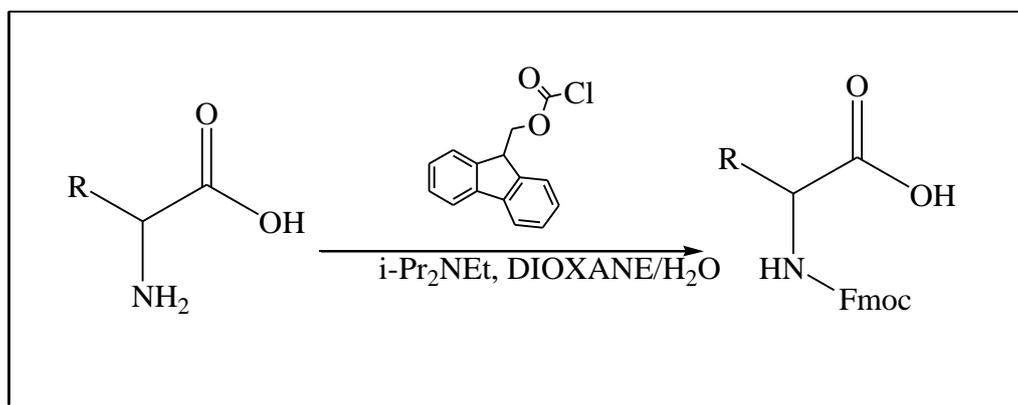


Schéma 14: Protection de la fonction amine des aminoacides par le groupe Fmoc

La déprotection de groupe Fmoc se fait selon le schéma suivant :

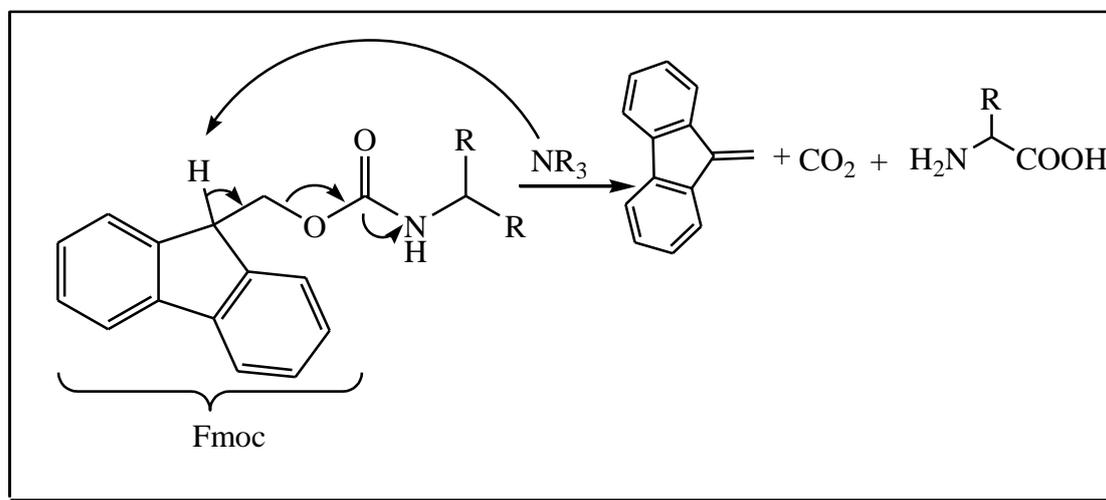


Schéma 15: Mécanisme de la déprotection de groupe Fmoc

1.3.3-Protection par le benzyloxycarbonyle (Cbz)

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, suivie d'un reflux⁽³⁸⁾.

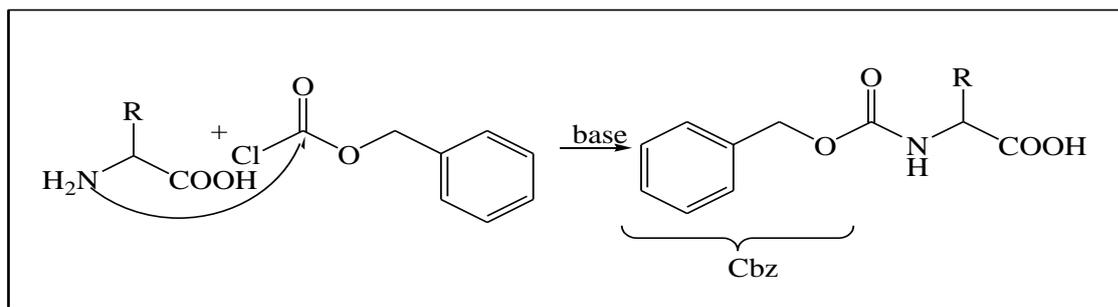


Schéma 16: Protection de la fonction amine des acides aminés par Cbz

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 suivantes: hydrogénolyse, HBr, CH₃CO₂H.

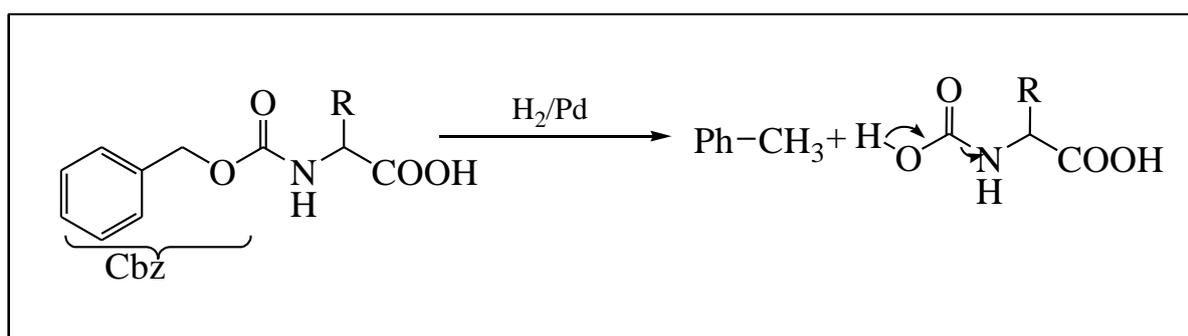


Schéma 17: Déprotection de groupe Cbz

1.3.4 Protection effectuée:

Protection par l'anhydride phtalique et l'anhydride acétique

Dans notre laboratoire, les aminoacides sont protégés par l'anhydride phtalique en solution dans l'acide acétique glacial, et par l'anhydride acétique dans les mêmes conditions opératoires (schéma 18). Il présente une bonne stabilité dans les conditions opératoires utilisées dans ce travail, mais il est facile à éliminer avec les nucléophiles.

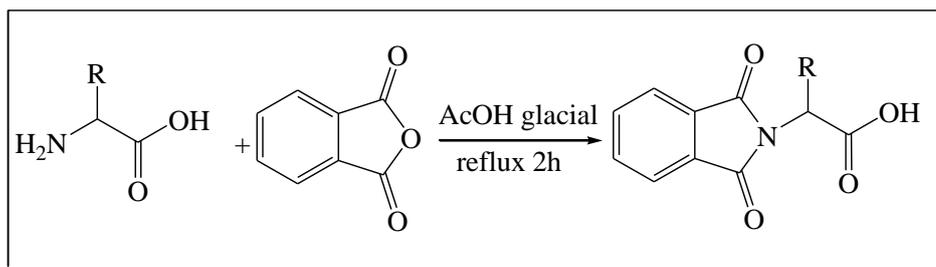


Schéma 18: Conditions de protection de la fonction amine par l'anhydride phtalique et l'acide acétique

Le mécanisme de la protection est le suivant:

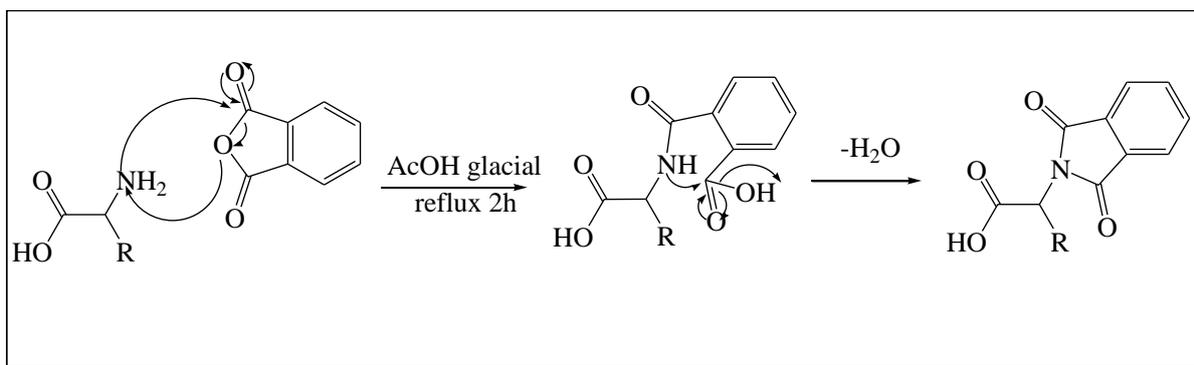


Schéma 19: Mécanisme de protection de l'amine par l'anhydride phtalique

Le clivage du groupement phtalimido est souvent réalisé en utilisant l'hydrazine⁽⁴¹⁾.

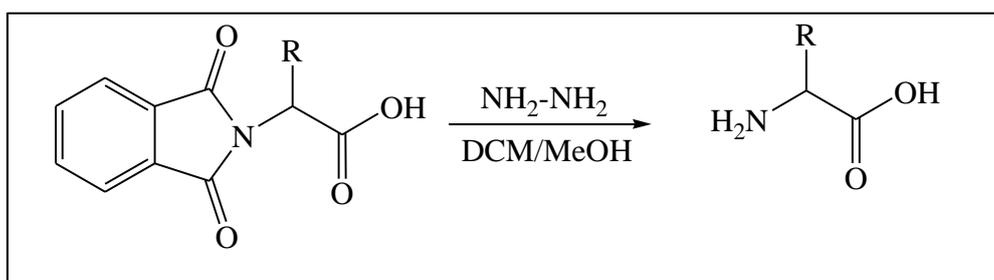


Schéma 20: La déprotection de la fonction amine par l'hydrazine

Mécanisme de la déprotection du groupement phtalimido :

Sous l'action de l'hydrazine (NH_2NH_2) le phtalimide est éliminé en libérant l'amine selon le mécanisme ci-dessous (schéma 21) :

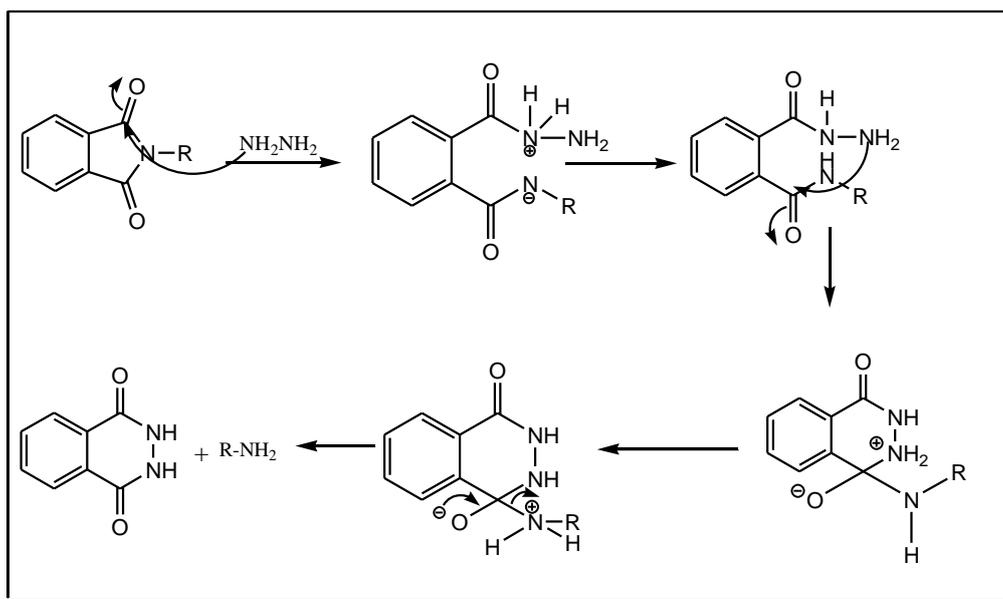


Schéma 21: Mécanisme de la déprotection de groupe phthalimido

4. Les peptides

4.1. Détermination de la structure d'un peptide⁴²

Les peptides s'écrivent selon la convention en partant de l'**acide aminé N-terminal** (celui qui comporte une fonction amine libre) et en terminant avec l'**acide aminé C-terminal** (celui qui comporte une fonction acide carboxylique libre).

Afin de déterminer la structure d'un peptide, il faut effectuer un séquençage pour déterminer l'ordre des acides aminés. Ceci est réalisé par la méthode dite la **dégradation d'Edman**. Le peptide est traité avec le phénylthioisocyanate (Ph-N=C=S) qui réagit avec la fonction amine de l'acide aminé N-terminal du peptide. Par la suite, une hydrolyse acide décroche cet acide aminé du reste du peptide sous forme d'une phénylthiohydantoïne :

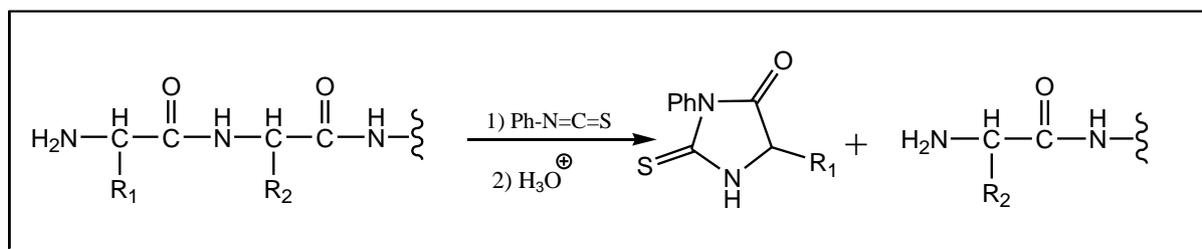


Schéma 22: Structure de peptide selon la dégradation d'Edman

La phénylthiohydantoïne est identifiée et le peptide raccourci d'un acide aminé est soumis à une nouvelle dégradation d'Edman. Ainsi, pas à pas, on peut reconstituer la séquence d'un peptide⁽⁴³⁾.

4.2. Synthèse peptidique

La synthèse d'un dipeptide se fait par condensation de deux acides aminés avec perted'une molécule d'eau (Schéma 23).

a- Création de la liaison peptidique

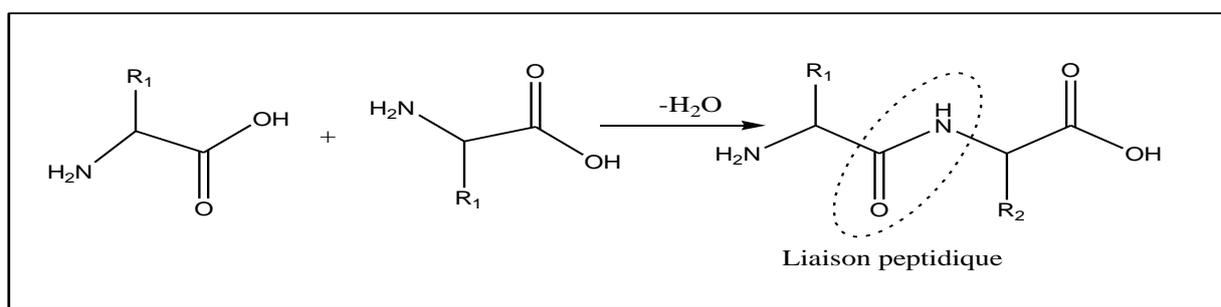


Schéma 23: Formation de la liaison peptidique

La liaison amide formée s'appelle liaison peptidique. Cette liaison C-N présente un fort caractère de double liaison de par la délocalisation du doublet de l'azote, ce qui rigidifie la structure (Schéma 23). La liaison peptidique est dite *cis* si l'hydrogène porté par l'azote est du même côté que l'oxygène du carbonyle et *trans* si l'hydrogène est en opposition avec l'oxygène.

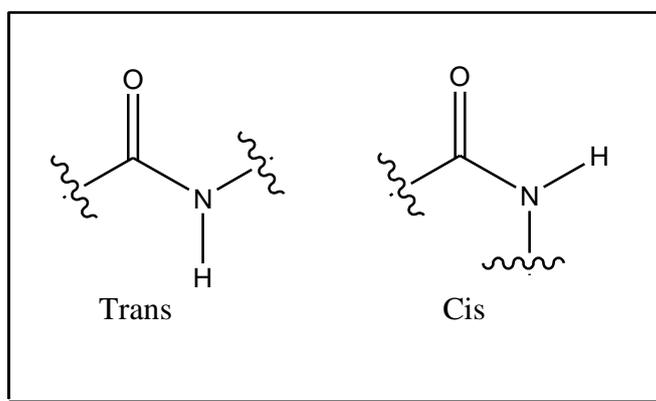


Figure 10: La stéréochimie de la liaison peptidique

Travail Effectué

Lors de la synthèse d'un peptide donné, il faut arriver à faire réagir uniquement les groupes NH_2 et COOH désirés sans affecter les autres. Pour cela, il faut effectuer une protection des groupes fonctionnels ne devant pas réagir.

b- Nécessité d'activer l'extrémité C-terminale

En mettant deux acides aminés ensemble sans activation, l'amine de l'un peut se protoner en présence de l'acide de l'autre, mettant un terme à la condensation (Schéma 24). Ainsi, pour coupler deux fragments peptidiques entre eux, il faut activer l'extrémité C-terminale de l'un et permettre ainsi à l'extrémité N-terminale du deuxième de faire une attaque nucléophile (Schéma 24)⁽⁴³⁾.

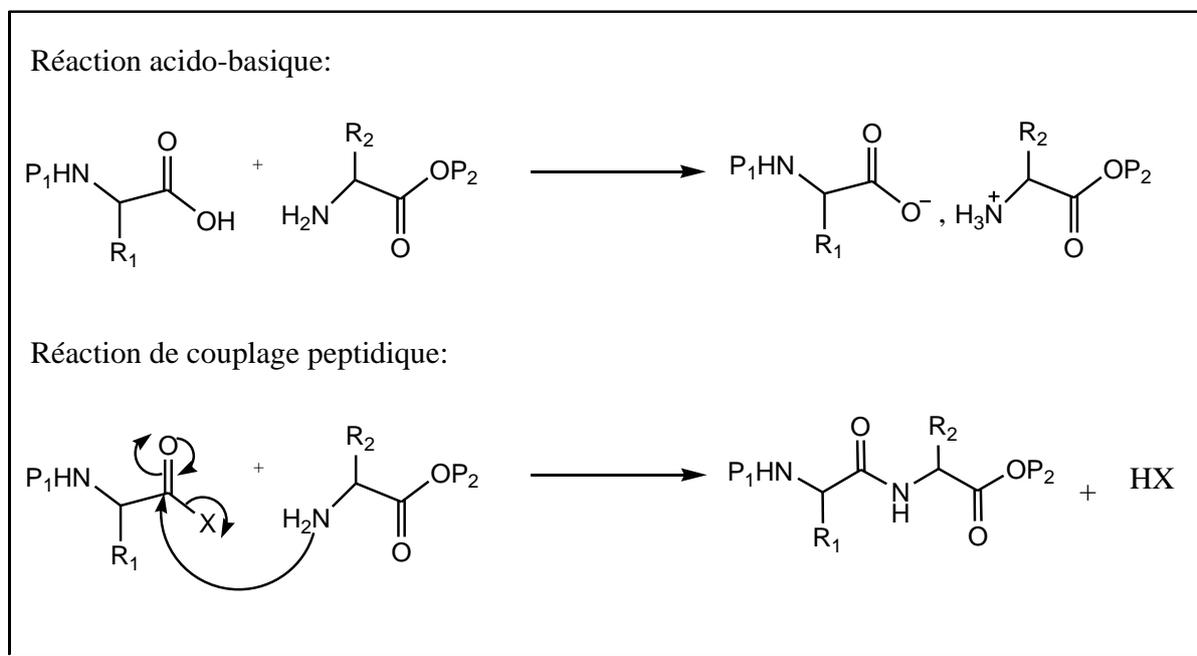


Schéma 24: L'activation de l'extrémité C-terminale

c- Méthodes de couplage :

Historiquement, l'extrémité C terminale était activée par formation d'un chlorure d'acyle ou d'un anhydride mixte. L'utilisation de dérivés de type carbodiimide comme agents de couplage a permis de diversifier les techniques d'obtention de peptides. Les carbodiimides sont des activateurs d'acides carboxyliques plus doux que les activateurs utilisés classiquement en chimie organique (chlorure d'acyle, par exemple) et ont permis de diminuer

le taux d'épimérisation. Par ailleurs, les agents de couplage qui donnent des urées finales hydrosolubles, comme l'EDCI (Figure 11), rendent les purifications plus simples⁽³⁷⁾.

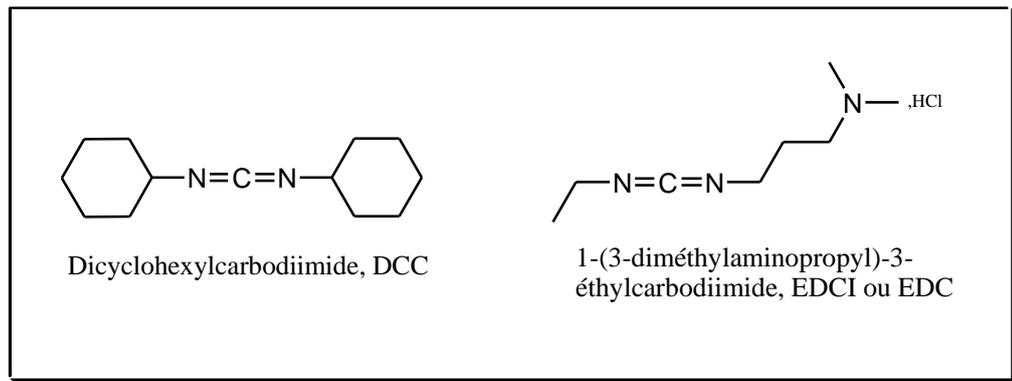


Figure 11: Agents de couplage peptidique

Il existe néanmoins des problèmes liés à l'utilisation de tels agents : des réactions secondaires peuvent avoir lieu. Par exemple, la formation de *N*-acétylurées peut entraîner la chute des rendements, ou encore le passage par la forme anhydride peut provoquer une épimérisation des peptides synthétisés (Schéma 25)⁽⁴⁴⁾.

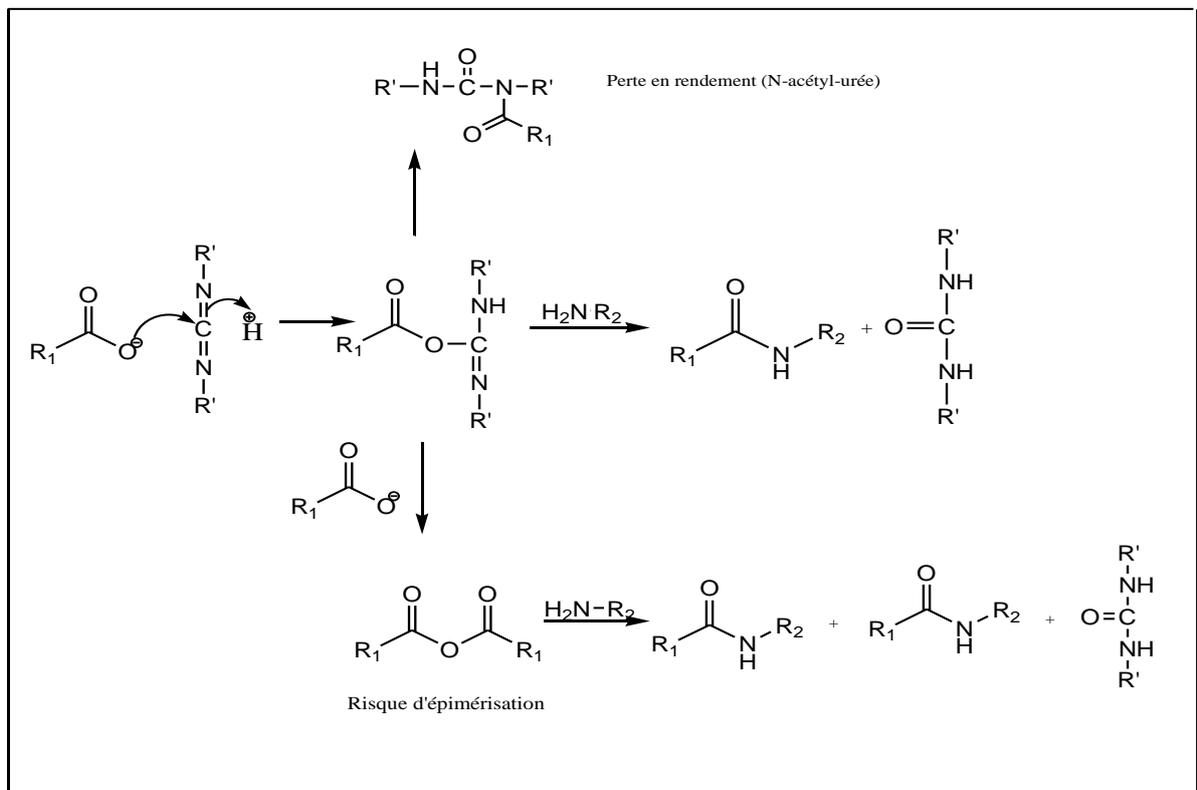


Schéma 25: Couplage peptidique et le risque d'épimérisation

Le fait de rajouter dans le milieu réactionnel des dérivés de type benzotriazole ⁽³⁸⁾ et azabenzotriazole ⁽³⁹⁾ tels que HOBt ou HOAt (Schéma 26), minimise les réactions secondaires et augmente ainsi l'efficacité du couplage peptidique. L'utilisation des couples DCC/HOBt ou EDCI/HOBt s'est largement répandue en synthèse peptidique ^(45,46).

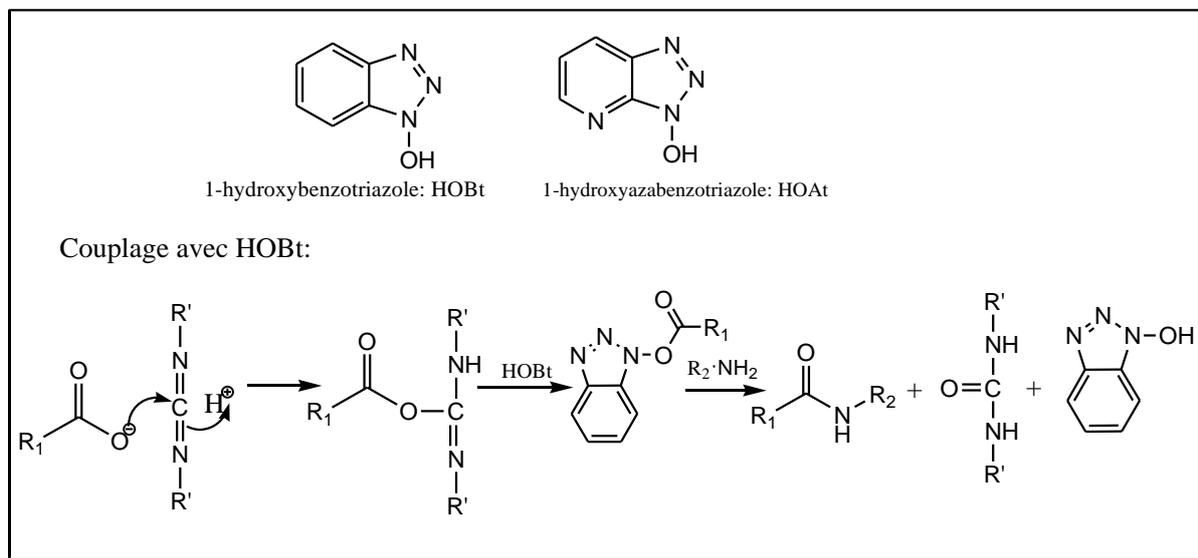


Schéma 26: L'avantage de l'utilisation de HOBt ou HOAt dans un couplage peptidique

d- Stratégies de synthèse

Pour synthétiser un peptide, deux stratégies peuvent être envisagées : une élongation « pas à pas » ou un couplage de fragments. L'élongation pas à pas consiste à condenser chaque acide aminé successivement sur la chaîne peptidique de l'extrémité C terminale vers l'extrémité N terminale. L'utilisation d'acides aminés dont les atomes d'azote sont protégés par des groupements uréthanes (Boc ou Fmoc) permet alors de diminuer le taux d'épimérisation.

Le couplage de fragments consiste à synthétiser deux fragments séparément, puis à les coupler l'un avec l'autre. Toutefois, avec cette stratégie, le risque d'épimérisation augmente car il ne peut pas y avoir d'uréthane sur la première liaison peptidique en partant de l'acide activé terminal, ce qui facilite la formation de l'oxazolone. Il faut donc utiliser les conditions de couplage potentiellement les moins racémisantes.

Stratégies de protection/ déprotection

Quelle que soit la stratégie de synthèse retenue, une extrémité de chaque fragment peptidique doit rester protégée lors du couplage. Par ailleurs, ce dernier ne doit pas être affecté par la présence de fonctions sur les chaînes latérales des acides aminés. Ces fonctions sont donc protégées par des groupes dits permanents et libérés enfin de synthèse.

Les groupements protecteurs aux extrémités du squelette peptidique, au contraire, doivent être facilement clivés pour accéder aux amines ou acides carboxyliques terminaux. On parlera donc de groupes temporaires. La Figure 12 présente des groupements permanents ou temporaires utilisés en synthèse peptidique et leurs conditions de clivage ^(47, 49).

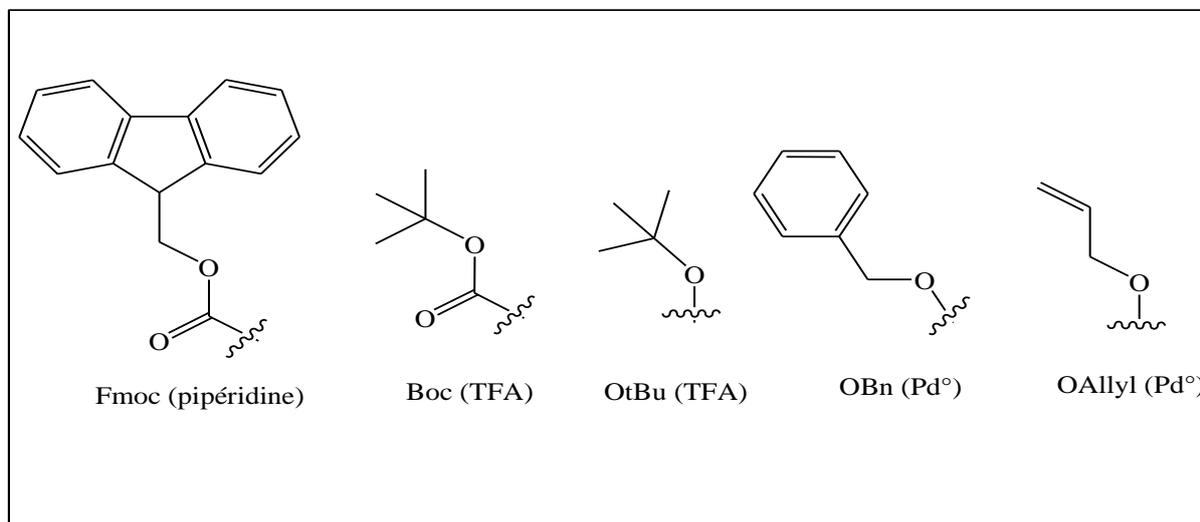


Figure 12: Groupements utilisés en synthèse peptidique avec leurs conditions de clivage

Les extrémités C et N terminales doivent être libérées indépendamment l'une de l'autre. Les stratégies de protection utilisent donc des groupements protecteurs dits orthogonaux : la déprotection d'une fonction ne porte pas atteinte à la stabilité d'une autre. Le Tableau 3 regroupe les groupements protecteurs couramment utilisés en synthèse peptidique et leur sensibilité à diverses conditions de déprotection. Ainsi, les groupes Boc et OtBu ne sont pas orthogonaux car ils sont tous les deux clivables en milieu acide⁽⁴⁹⁾.

Tableau 3: Les groupements protecteurs couramment utilisés en synthèse peptidique et leurs conditions de déprotection :

Extrémités	Groupe ment	Pipéridine	H ₂ , Pd/C	TFA
N-terminale	Fmoc	D	?	-
	Boc	-	-	D
C-terminale	OtBu	-	-	D
	OBn	-	D	-

D : Déprotection ? : Selon les cas - : pas de réaction
--

Les stratégies les plus souvent employées dans la protection recourent aux couples tels que Fmoc/OtBu et Boc/OBn, les fonctions des chaînes latérales étant alors protégées en conséquence. Par exemple, dans le cas d'une élongation pas à pas de C vers N en stratégie Fmoc /OtBu, les chaînes latérales doivent être protégées par des groupements stables en milieu basique. Il est à noter que le groupement Fmoc est décrit comme peu sensible aux conditions d'hydrogénolyse utilisées pour cliver un ester benzylique⁽⁵⁰⁾.

Couplage effectué:

Concernant mon travail, j'ai synthétisé un dipeptide entre deux aminoacides : l'un a une fonction acide protégée et la fonction amine est libre, et le deuxième aminoacide a les deux fonctions amine et thiol protégées et la fonction acide libre. J'ai fait ce couplage en présence de DCC comme agent activant. J'ai fait réagir les deux aminoacides dans le dichlorométhane (DCM) comme solvant, puis j'ai ajouté la triéthylamine (TEA) pour neutraliser le chlorhydrate. Ensuite j'ai ajouté une solution de DCC dans le DCM sous une très forte agitation pendant 16 jours et à la fin, la dicyclohexylurée (DCU) formée est éliminée par filtration (schéma 27 et 28).

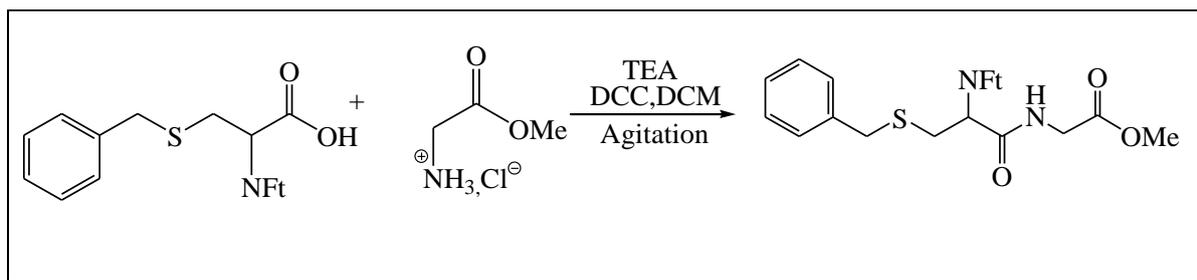


Schéma 27: Conditions de couplage gly-cys

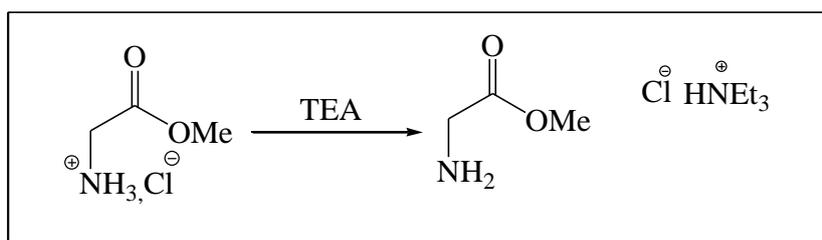


Schéma 28: Elimination de chlorhydrate par la TEA

Le mécanisme de couplage est le suivant:

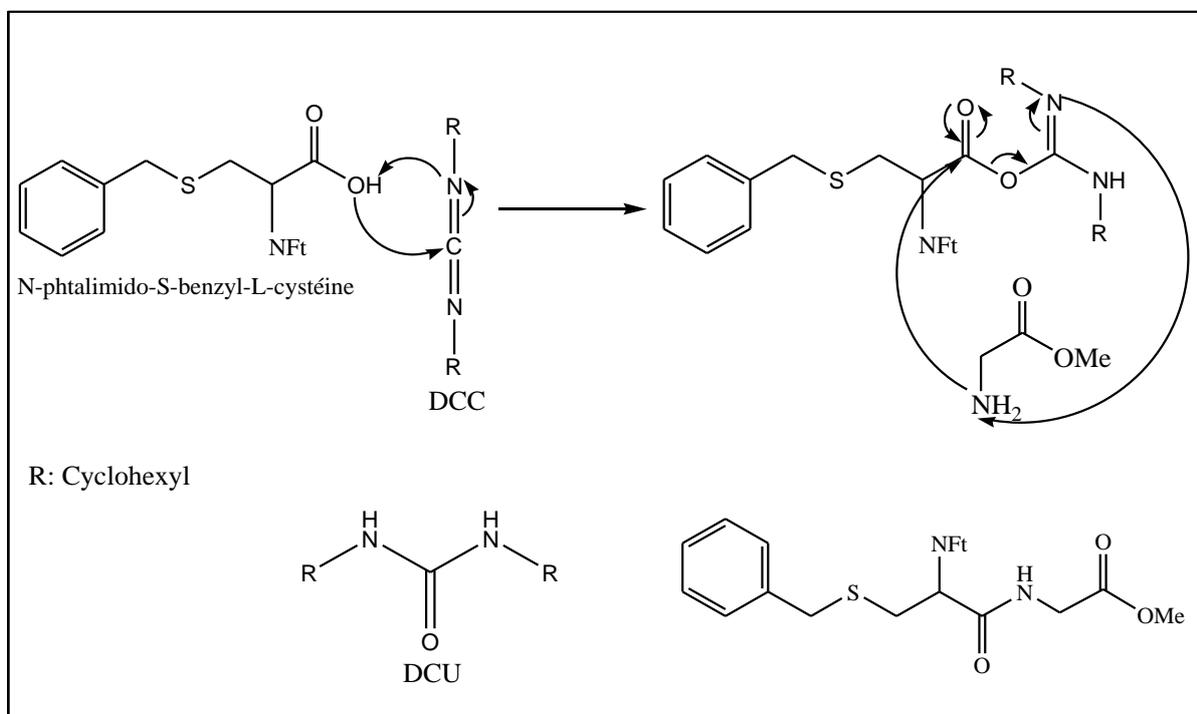


Schéma 29: Mécanisme de couplage gly-cys

LA DEUXIEME PARTIE: LES SUCRES

1) Structures cyclique des oses (hémiacétalique)

Les sucres à chaîne ouverte (forme aldéhydique ou cétonique) n'existent qu'en solution où ils constituent des formes de transition, en équilibre avec des formes cycliques. Ces formes cycliques sont les formes habituelles des glucides. Un hémiacétal résulte de l'addition d'une molécule d'un alcool sur une fonction aldéhyde ou une cétone (schéma 30).

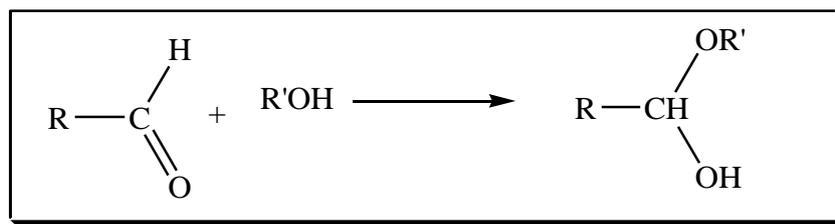


Schéma 30 : réaction de formation d'un hémiacétal

Si, comme dans le cas des oses, un groupe carbonyle et un groupe hydroxyle sont présentés sur la même molécule, la formation d'un hémiacétal conduit alors à une structure cyclique. La fermeture du cycle se produit lors de l'attaque d'un -OH secondaire (assimilé à un anion nucléophile) sur le carbone C=O déficient en électron. Cette attaque peut avoir lieu de chacun des cotés du CHO planaire de sorte que le groupe OH crée en C1 puisse être orienté dans 2 directions.

Par exemple, le glucose de structure linéaire n'existe qu'à l'état de trace. Il se présente préférentiellement sous forme cyclique suite à une hémiacétalisation entre la fonction alcool secondaire située sur le carbone 5 et la fonction aldéhydique. La cyclisation introduit un nouveau carbone asymétrique en position 1. Le carbone est dit **anomérique**. Il y a donc deux stéréoisomères de cette forme cyclique, différents uniquement par la configuration de ce carbone. On les désigne par α et β et on les appelle formes **anomères**.

2) Configuration anomérique α ou β :

Le glucose peut adopter deux formes qui sont des épimères (diastéréoisomères différents uniquement par la configuration d'un seul centre). La différence de configuration se situe au niveau du carbone 1, le carbone anomérique (figure 13). Les épimères, différents de par la configuration du carbone anomérique, sont également appelés anomères. Selon la nomenclature Cahn-Ingold-Prelog (convention R/S), la forme α est de configuration SRSSR

et la forme β de configuration RRSSR (figure 13). Cela implique que dans la conformation chaise la plus stable, le groupement hydroxyle de l'anomère α est en position axiale tandis que celui de l'anomère β est en position équatoriale (figure 13).

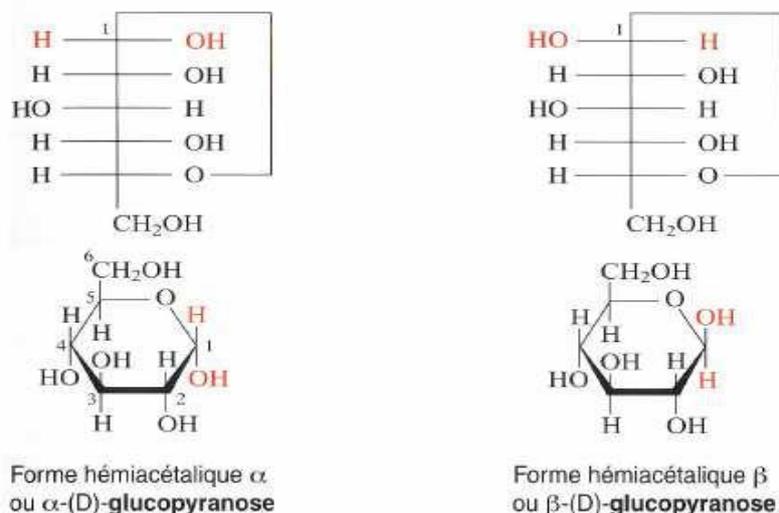


Figure 13: Représentation des anomères α et β du D- glucose selon les projections de Fisher et d'Haworth.

Le choix de la conformation anomérique (α ou β) du glycoside doit permettre d'obtenir une absorption maximale du composé par l'organisme. Des études effectuées sur les rats ont permis de démontrer que les glycosides dont la section sucre est sous forme β sont plus facilement assimilés que ceux en forme α .

a) Effet anomérique

Les sucres subissent un effet dont il est essentiel de tenir compte lors de l'élaboration d'une stratégie de synthèse. Cet effet se produit à cause de la présence de doublets d'électrons libres sur l'oxygène du cycle pyranne et sur le groupement lié à la section sucre en position 1. Ces groupements préfèrent adopter la position axiale plutôt que la position équatoriale en forme chaise; la position équatoriale étant habituellement la plus stable en raison de l'encombrement stérique moins important.

Dans les deux cas (formes α et β), un des doublets d'électrons libres de l'oxygène à la position anomérique est placé de façon antipériplanaire au lien C-O du cycle pyranne. Cependant, à cause de la présence d'électrons libres sur le groupement substituant en position 1, la position axiale est favorisée. Cela s'explique parce qu'une autre stabilisation est possible

en position axiale. À cause de son environnement chimique de celui des autres carbones du sucre, le carbone anomérique possède une réactivité différente de celle autre carbone.

b) Protections sélectives du glucose

La synthèse avec des sucres nécessite certaines précautions afin d'obtenir une bonne sélectivité. En effet, puisque les sucres contiennent cinq ou six fonctions alcools, celles-ci doivent être partiellement protégées afin d'éviter la formation de plusieurs produits pendant la réaction. Le glucose, par exemple, doit être protégé aux positions 2, 3, 4 et 6 afin de former le lien glycosidique à la position anomérique uniquement (position 1). Pour ce faire, toutes les fonctions hydroxyles doivent être protégées pour ensuite régénérer l'alcool en position 1.

Aussi, il faut utiliser des groupements protecteurs labiles afin de régénérer les fonctions alcools de la section sucre après la formation du lien glycosidique tout en conservant ce lien intact.

Les groupements protecteurs doivent permettre de libérer l'alcool en position 1 afin d'effectuer le couplage. Ceci est possible avec les acétates ($-C=O-CH_3$) et les benzoyles ($-C=O-Bz$). Ceux-ci sont relativement labiles et plusieurs méthodes de déprotection sélective de la position anomérique sont connues. Les groupements benzyle ($-CH_2-Bz$) peuvent aussi être utilisés. Ceux-ci ont une réactivité différente de celle des acétates et des benzoyles alors une stratégie différente est utilisée afin de régénérer l'alcool en position anomérique.

Les groupements acétates sont facilement générés par différentes méthodes avec des rendements élevés. La plupart des réactions impliquent l'utilisation d'anhydride acétique (Ac_2O) ou d'acétate de sodium ($AcONa$). Il est possible d'activer cette réaction en utilisant la chaleur conventionnelle.

Aussi, il est possible d'activer la réaction à l'aide de catalyseurs comme par exemple l'acide perchlorique. Les benzoyles sont générés par le chlorure de benzoyle et les benzyles par l'alcool benzylique en présence d'un activant.

c) Déprotection du carbone anomérique

La régénération du groupement hydroxyle du carbone anomérique est essentielle puisque la réaction de glycosylation doit s'effectuer à cet endroit uniquement. Cette déprotection peut être effectuée de façon sélective puisque le groupement hydroxyle du carbone anomérique est dans un environnement chimique différent des autres groupements hydroxyles du sucre.

Plusieurs réactions sont connues pour la régénération de la fonction hydroxyle du carbone anomérique lors de l'utilisation de groupements protecteurs acétate et benzoyle. Ces deux

groupements peuvent être déprotégés dans les mêmes conditions. La déprotection de la position anomérique peut se faire entre autres grâce aux acides de Lewis.

Par contre, ceux-ci ne permettent pas de déprotéger sélectivement la position 1 mais s'attaquent à celle-ci en premier avant de déprotéger les autres. L'obtention du produit voulu est possible uniquement avec des rendements moyens. La déprotection sélective est possible grâce aux dérivés d'étain tels le méthoxide de tributylétain (Bu_3SnOMe) ou l'oxyde de bis-tributylétain (Bu_3SnOMe), des composés hautement toxiques et difficiles à neutraliser.

Une autre approche de déprotection sélective à la position 1 consiste à introduire un brome en position 1 et, ensuite hydrolyser le dérivé bromé avec le carbonate d'argent afin de régénérer l'alcool. Cette approche permet d'obtenir des rendements élevés.

La régénération de l'alcool du carbone anomérique en utilisant les groupements protecteurs benzyles est plus complexe que lors de l'utilisation des acétates ou des benzoyles. La plupart des chercheurs utilisent comme sucre de départ le 1-méthylglucose. Ils protègent les fonctions alcools (2, 3, 4 et 6) avec des benzyles pour ensuite retirer le groupement méthyle sous certaines conditions telles que l'utilisation de tribromure de bore combiné à l'éther couronne ou l'utilisation de l'hydrogénation catalytique.

d) Protection des alcools du glucose ⁽⁵⁰⁾

1. Protection par les groupements acétates; formation du 1,2, 3, 4,6-penta-O-acétyl-glucopyranose

Le schéma suivant représente la réaction générale de protection du glucose par les groupements acétates :

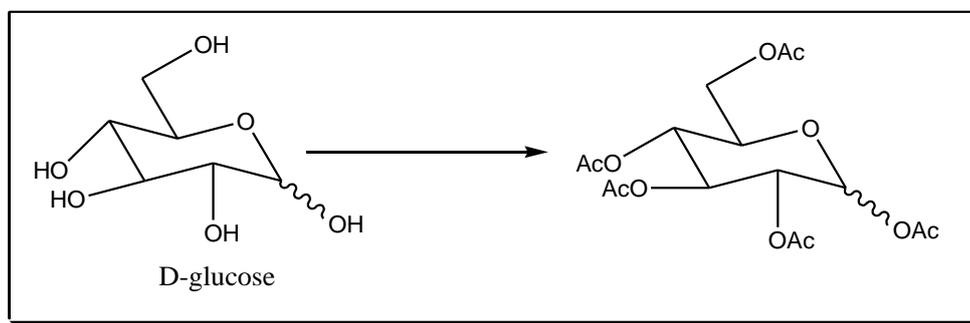


Schéma 31: Réaction générale de protection des alcools de D-glucose par les groupements acétates

1.1. Acétylation avec l'anhydride acétique / acide acétique

Le schéma suivant représente l'acétylation des sucres avec l'anhydride acétique dans l'acide acétique :

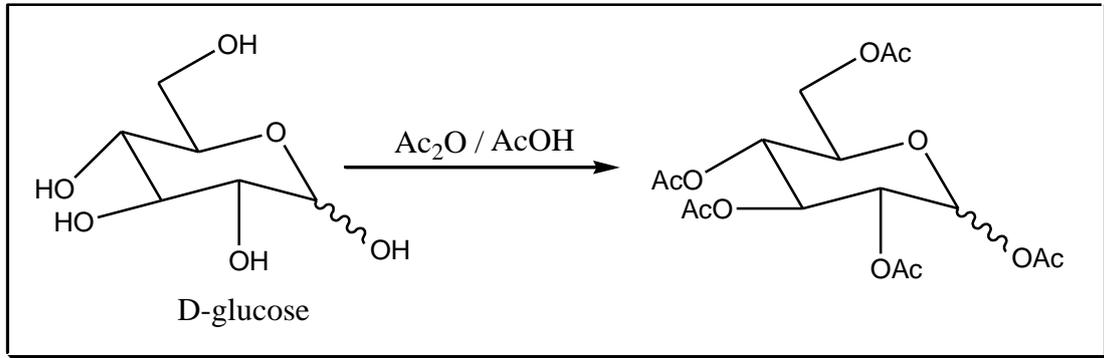


Schéma 32: Protection de D-glucose par l'anhydride acétique dans l'acide acétique

1.2 Acétylation avec l'acétate de sodium / anhydride acétique

Le schéma suivant représente l'acétylation des sucres avec l'acétate de sodium dans l'anhydride acétique :

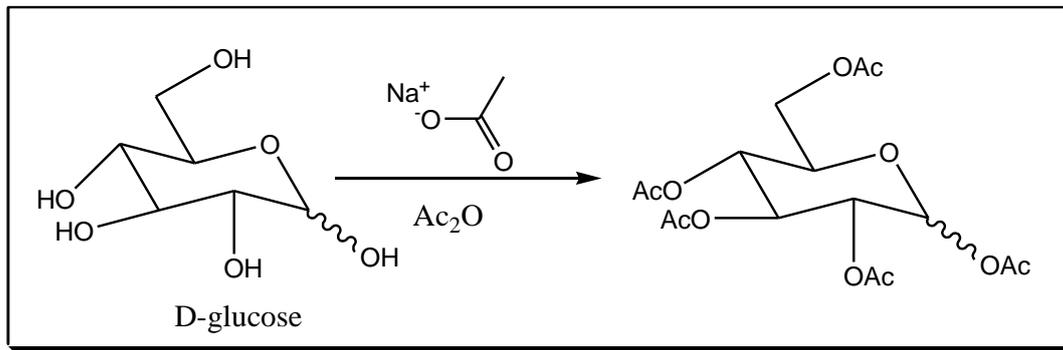


Schéma 33: Acétylation de D-glucose avec l'acétate de sodium dans l'anhydride acétique

1.3. Protection par les groupements benzoyles; formation du 1, 2, 3, 4, 6-penta-0-benzoyl-glucofuranose

Le schéma ci-dessous représente la réaction générale de protection du glucose par les groupements benzoyles.

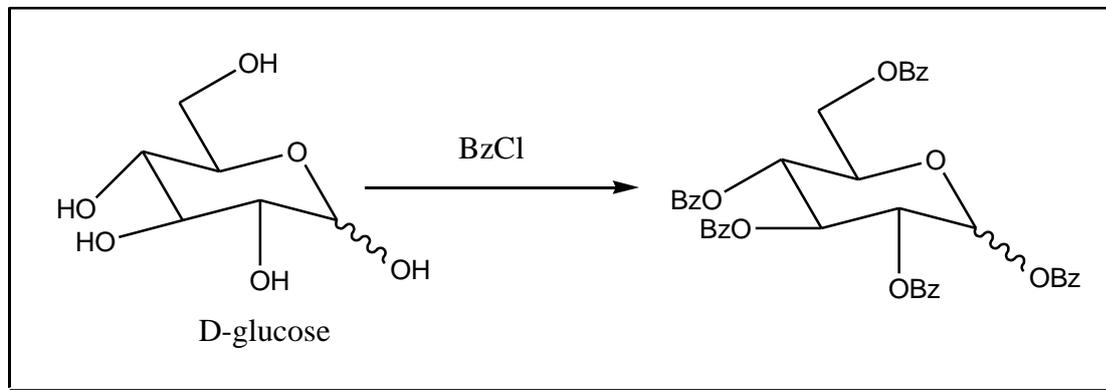


Schéma 34: Protection de D-glucose par les groupements benzoyles

4. Protection effectué :

La synthèse commence par une série de protections et déprotections afin d'obtenir le glucose déprotégé seulement dans la position anomérique. Le schéma suivant montre la protection effectuée :

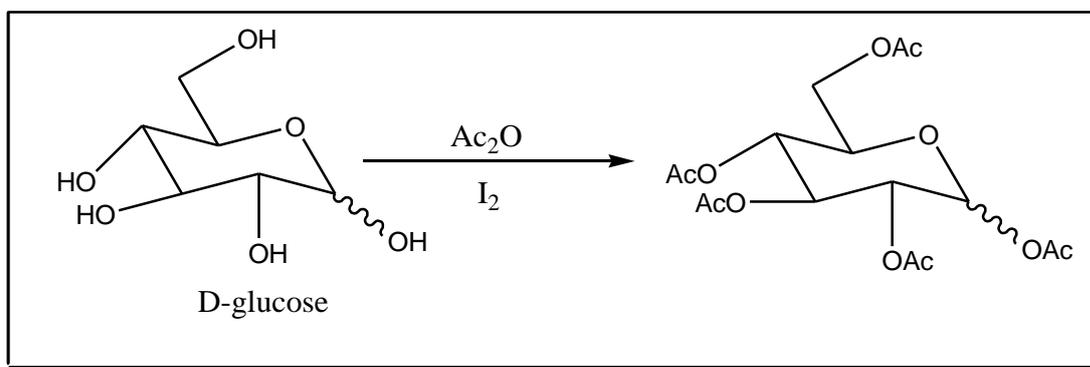


Schéma 35: Protection des alcools de D-glucose par l'iodine dans l'anhydride acétique

2. **Déprotection de la position anomérique du glucose protégé :** formation du 1-hydroxy-2,3,4,6-tétra-0-acétylglucofuranose ou du 1-hydroxy-2,3,4,6-tétra-0-benzoylglucofuranose.

Il existe plusieurs méthodes de déprotection de la fonction anomérique de glucose :

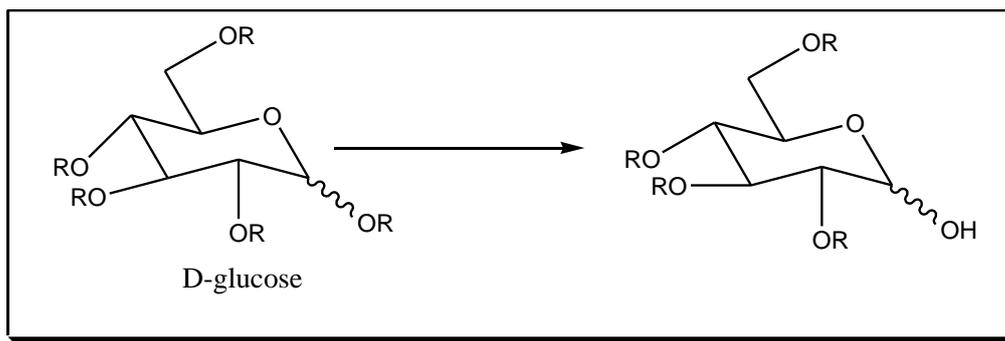


Schéma 36: Réaction générale de la déprotection de la fonction anomérique du glucose protégé

2.1. Déprotection de la position anomérique avec le $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$

Cette déprotection se fait selon le schéma 37 :

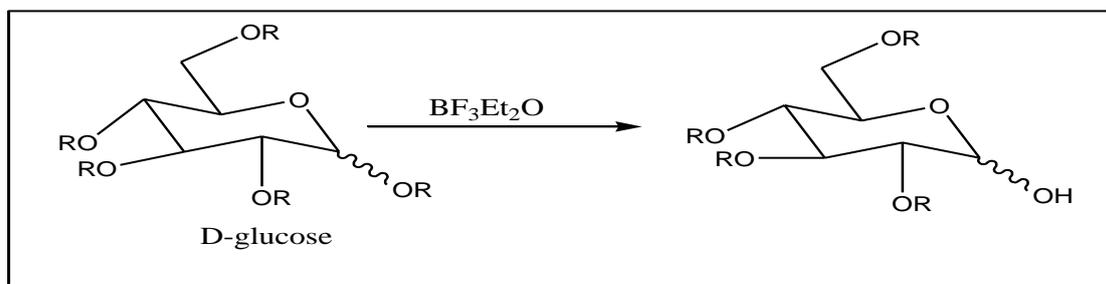


Schéma 37: La déprotection de la position anomérique par $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$

2.2. Déprotection de la position anomérique par la bromation avec HBr/HOAc suivie de l'hydrolyse avec Ag_2CO_3

Cette déprotection se fait selon le schéma 38:

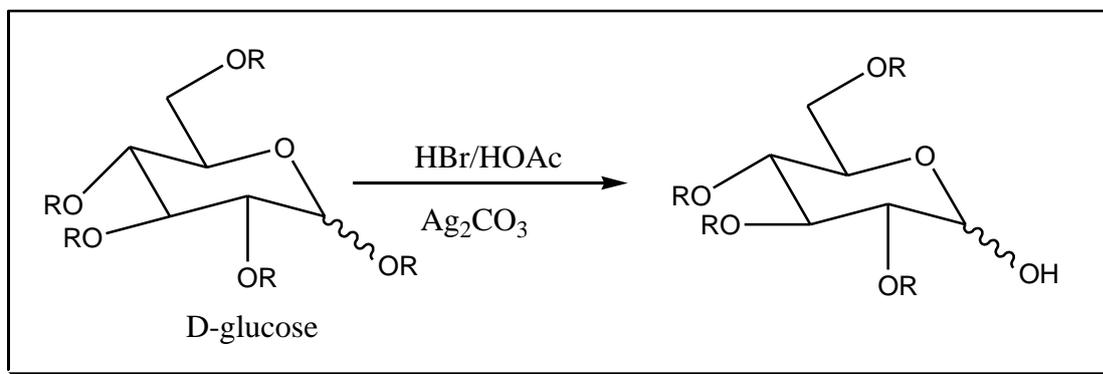


Schéma 38: Déprotection de la position anomérique

Travail Effectué

La réaction est conduite en prenant les précautions nécessaires afin d'obtenir un milieu réactionnel anhydre.

2.3. Déprotection de la position anomérique avec le Bu_3SnOMe

Cette déprotection se fait selon le schéma 39:

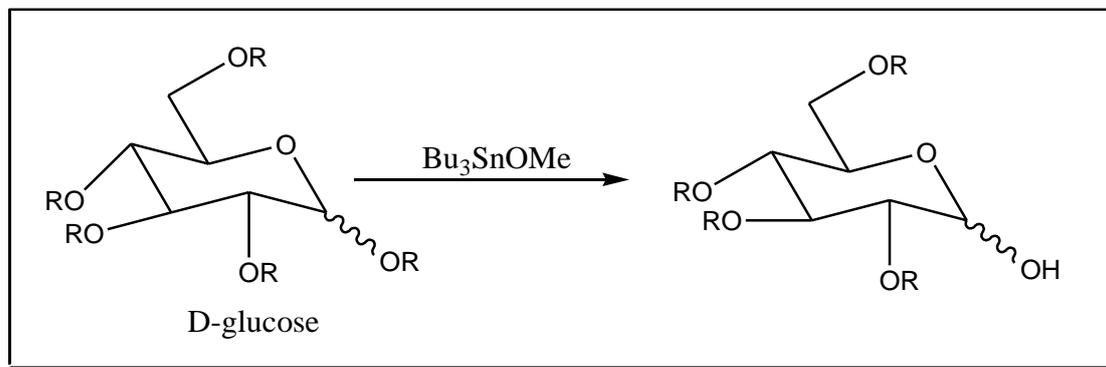


Schéma 39: Déprotection de la position anomérique par Bu_3SnOMe

2.4. Déprotection effectuée :

Hydrolyse :

Dans notre cas la déprotection a été faite selon le schéma suivant (schéma 40), suivie par une tosylation comme le montre dans le schéma 41:

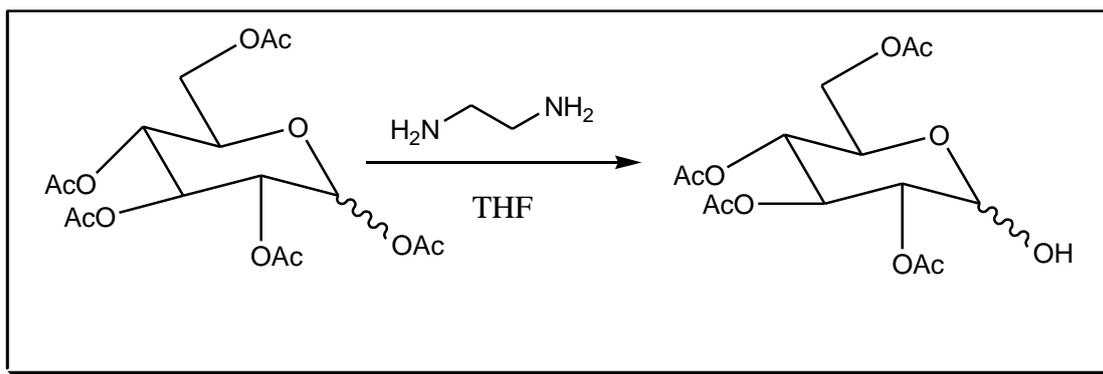


Schéma 40: Hydrolyse de la position anomérique de glucose par l'éthylènediamine

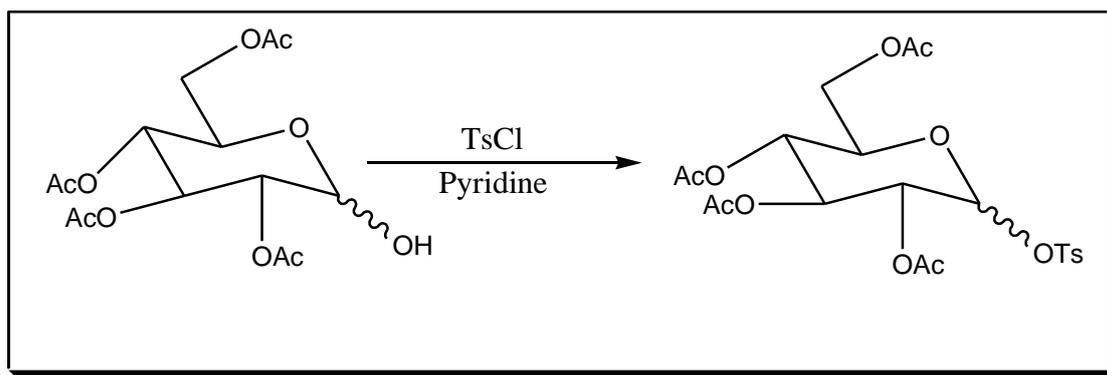


Schéma 41: Tosylation de la position anomérique de glucose

Partie expérimentale

Analyses effectuées :

L'analyse des ou du produit purifié se fait par spectroscopie infrarouge. Lorsque le produit est cristallin, la mesure du point de fusion permet d'estimer qualitativement sa pureté.

➤ Infrarouge :

Les spectres dans l'infrarouge ont été obtenus au Centre de mesures du laboratoire LASNABIO sur un appareil Perkin Elmer L16003000 Spectrum two 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 pastilles de KBr. Les principales fréquences d'absorption sont données en nombre d'onde ($4000\text{-}400$) 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 (Laboratoire COSNA).

➤Caractérisation qualitative par chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire, fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant. Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile.

$$Rf = \frac{\text{La distance parcourue par le composé (mesuré au centre de la tache)}}{\text{La distance parcourue par le front du solvant}}$$

Dans notre travail, les réactions sont suivies par plaques CCM sur gel de silice. Les plaques de CCM sont révélées sous lampe UV d'une longueur d'onde de 250 nm.

Le traitement d'une réaction

Lorsqu'une réaction est terminée, l'opération suivante consiste à récupérer le produit à partir de son milieu réactionnel. Après hydrolyse, on effectue, à l'aide d'une ampoule à décanter :

Des lavages : il s'agit d'éliminer des sels ou toute substance soluble dans une autre phase. Par exemple, à la fin de la réaction en milieu organique, des sels peuvent être éliminés en ajoutant de l'eau dans l'ampoule à décanter. Après décantation, la phase aqueuse (avec les sels) est éliminée.

Des extractions : il s'agit dans ce cas, de faire passer le produit d'une phase à une autre avec le moins possible d'impuretés.

Des neutralisations : il s'agit de laver des phases organiques par des phases aqueuses acides ou basiques pour atteindre un pH neutre selon les conditions réactionnelles. Généralement, le produit est récupéré à la fin de ces opérations, en solution organique. Celle-ci est séchée pour éliminer de traces d'eau et le desséchant est éliminé par filtration.

Enfin, le produit est concentré en évaporant le solvant organique à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le principe est le suivant : le produit en solution est placé dans un ballon que l'on adapte à l'évaporateur. Le tout est mis sous pression réduite afin de faciliter la distillation du solvant. Le produit est concentré et récupéré dans le ballon d'évaporation.

La purification

Différentes méthodes de purification peuvent être employées et doivent être adaptées en fonction des propriétés physico-chimiques du produit. Lorsque le produit est liquide, on utilise la distillation. C'est une technique qui consiste à chauffer un liquide pour qu'il passe à l'état gazeux (point d'ébullition) et de le condenser dans un autre récipient par abaissement de la température. Concrètement, les vapeurs montent dans la colonne de distillation (le thermomètre indique le point d'ébullition) et se condensent en passant par le réfrigérant. Ainsi, deux liquides ayant des points d'ébullition différents seront séparés. Il suffit de changer de ballon collecteur au changement de température. Pour des liquides ayant un point d'ébullition élevé, celui-ci est abaissé en opérant à pression réduite.

Partie expérimentale

Pour les composés cristallins, on utilise la recristallisation. Cela consiste à éliminer des impuretés insolubles dans une solution organique chauffée du produit. Ensuite, cette solution est refroidie lentement pour induire la cristallisation. Les cristaux sont filtrés et séchés.

Purification de solvants :

- L'anhydride acétique (Ac_2O)
- L'anhydride phtalique
- Le dichlorométhane (DCM)
- Le méthanol (MeOH)

➤ **Distillation de l'anhydride acétique :**

Dans un montage de distillation on introduit 150 ml de Ac_2O dans le ballon et on distille.

➤ **Recristallisation de l'anhydride phtalique:**

Dans un ballon contenant l' Ac_2O distillé, on ajoute 100 g d'anhydride phtalique et on porte le mélange à reflux jusqu'à la dissolution complète du solide. Ensuite on filtre le mélange à chaud. Après on laisse le filtrat à repos pendant 30 min (jusqu'à la cristallisation). Puis, on filtre le solide cristallisé avec l'éther diéthylique (Et_2O) et on laisse le produit sécher à l'air.

➤ **Purification du dichlorométhane :**

Dans un ballon de 2l, on introduit 1800 ml de CH_2Cl_2 avec quelques spatules de pentoxyde de phosphore (P_2O_5) et quelques pierres ponce ; on place le ballon sur un chauffe ballon, et on porte le mélange à reflux pendant 2h. Après, on place le montage de distillation dans les mêmes conditions opératoire et on distille. Après la distillation, on conserve le distillat dans une bouteille contenant un fond de P_2O_5 .

➤ **Distillation du méthanol :**

Traitement du méthanol avec l'iode et le magnésium :

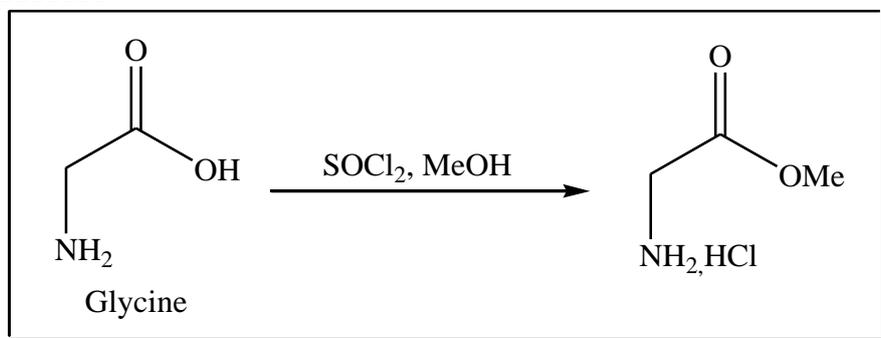
Dans un ballon de 500 ml, on verse 0,3g de I_2 , 1,4g de Mg et 30 ml de MeOH (99%) avec quelques morceaux de pierre ponce. On porte le mélange à reflux jusqu'à disparition de la couleur marron brun (environ 20 min). On refroidit légèrement et on ajoute à ce mélange les

Partie expérimentale

270 ml de MeOH restant, et le tout est distillé à nouveau dans des conditions anhydres pour recueillir le distillat sur un tamis moléculaire.

1. Estérification de la glycine :

Schéma réactionnel :



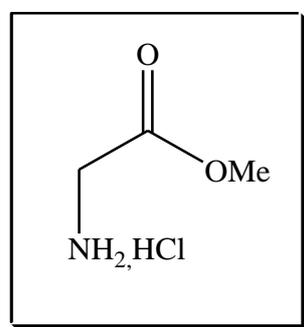
Mode opératoire :

a/Distillation du chlorure de thionyle:

Le chlorure de thionyle est préalablement distillé à pression atmosphérique sous courant d'azote en protégeant le montage de l'humidité atmosphérique.

b/Dans un bicol de 250 ml surmonté d'une ampoule à additionner et contenant 7,3 ml (1.5 éq) de chlorure de thionyle, on introduit 5g (1éq) de glycine dans 40 ml de méthanol sous agitation à 0°C. Ensuite, on ajoute le SOCl₂ goutte à goutte (pendant 20 min). La réaction se déroule sous courant d'azote et sous un reflux dans des conditions anhydres. Le reflux est maintenu 2h, suivi de l'évaporation de l'excès de solvant (MeOH). Après l'évaporation on a laissé le produit sécher.

- Résultats : Chlorhydrate de l'ester méthylique de la glycine.



Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	Pf (°C)	Aspect
125.5	99.86	166	Solide beige

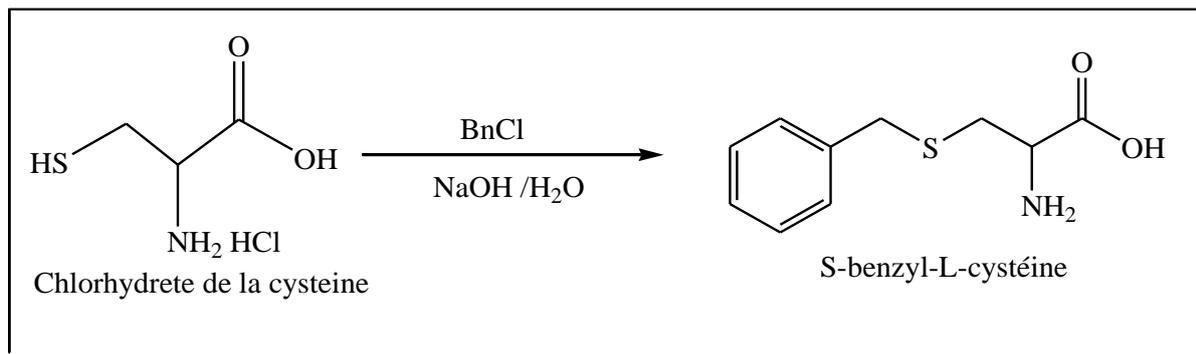
Partie expérimentale

Résultat d'analyse CCM :

Rf = 0.25 (L'éluant : butanol; acide acétique; eau) [70: 18 : 12]. La migration des produits est suivie par la lampe UV et les taches qui ne sont pas nettes sont visualisées avec une solution de ninhydrine dans l'acétone (5%) et séchées.

2. Benzyltion de la cystéine :

Schéma réactionnel :

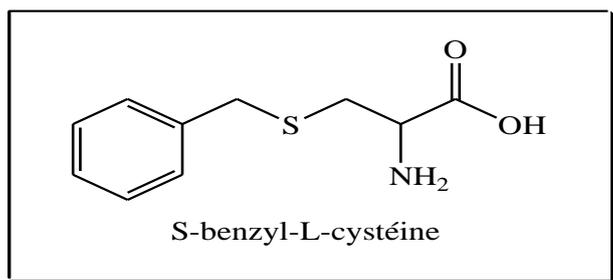


Mode opératoire

Dans un bicol de 250 ml muni d'une agitation magnétique forte, à froid, on introduit 5g (0.032 mol) de chlorure de cystéine avec 25 ml d'une solution aqueuse de 9,9g de NaOH dans 50 ml d'eau. 4,3 ml de BnCl sont ajoutés goutte à goutte (on remarque que la solution se colore en jaune) ; on laisse l'agitation jusqu'à l'éclaircissement de la solution et, après environ 1h d'agitation, la solution devient claire. A ce moment, on lance un reflux de 1h.

On ajoute du HCl concentré au mélange jusqu'à pH=2, suivi d'un reflux jusqu'à dissolution de la masse (environ 3h30min). Ensuite, on arrête le reflux et on laisse reposer le mélange réactionnel pour procéder à une filtration sous vide. Le solide est lavé avec l'eau glacée et on le laisse sécher à l'air libre.

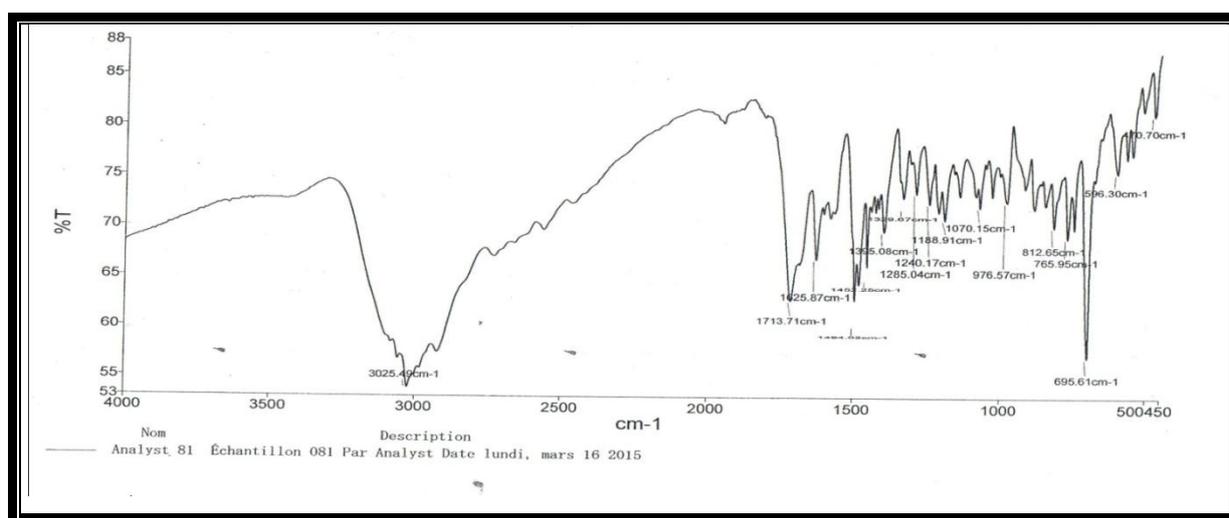
• Résultats :



Partie expérimentale

Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	Pf (°C)	Aspect+
211,28	89,6	185	Solide beige

Spectre IR :



Données spectrales:

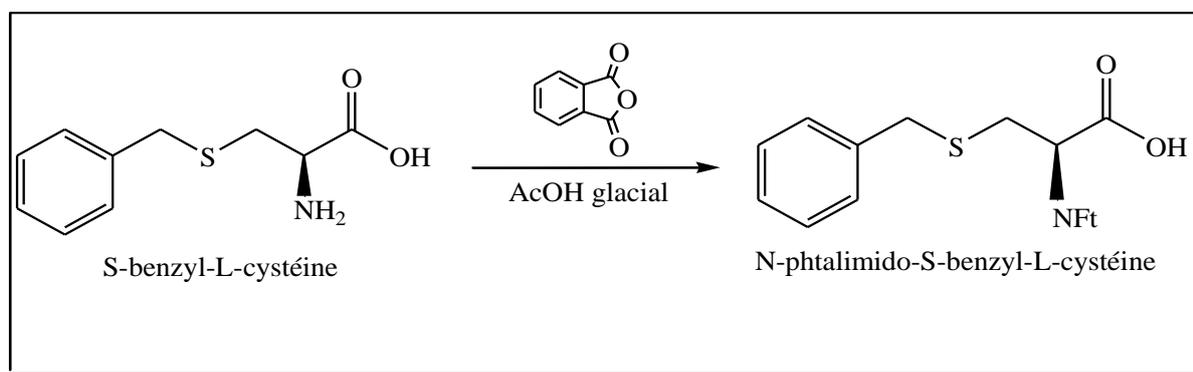
Bandes	C=O	O-H	C=C _{arm}	C-N
ν max(KBr) cm^{-1}	1713,7	3025,4	1500-1600	1188.9

Résultat CCM :

Rf = 0.5 (L'éluant : butanol ; acide acétique ; eau) [70 : 18: 12]

3. Protection de la fonction amine de S-benzyle-L-cystéine :

Schéma réactionnel :



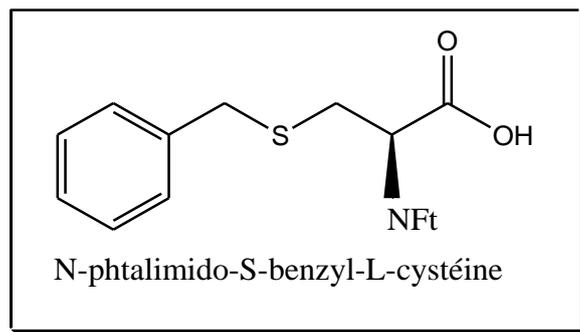
Partie expérimentale

Mode opératoire :

Dans un bicol de 250 ml, on introduit 4g (0.019 mol) de *S*-benzyl-*L*-cystéine dans 70 ml d'acide acétique ; ensuite on ajoute 2,8g (1éq) d'anhydride phtalique et on porte le mélange à reflux pendant 2h (le solide passe en solution).

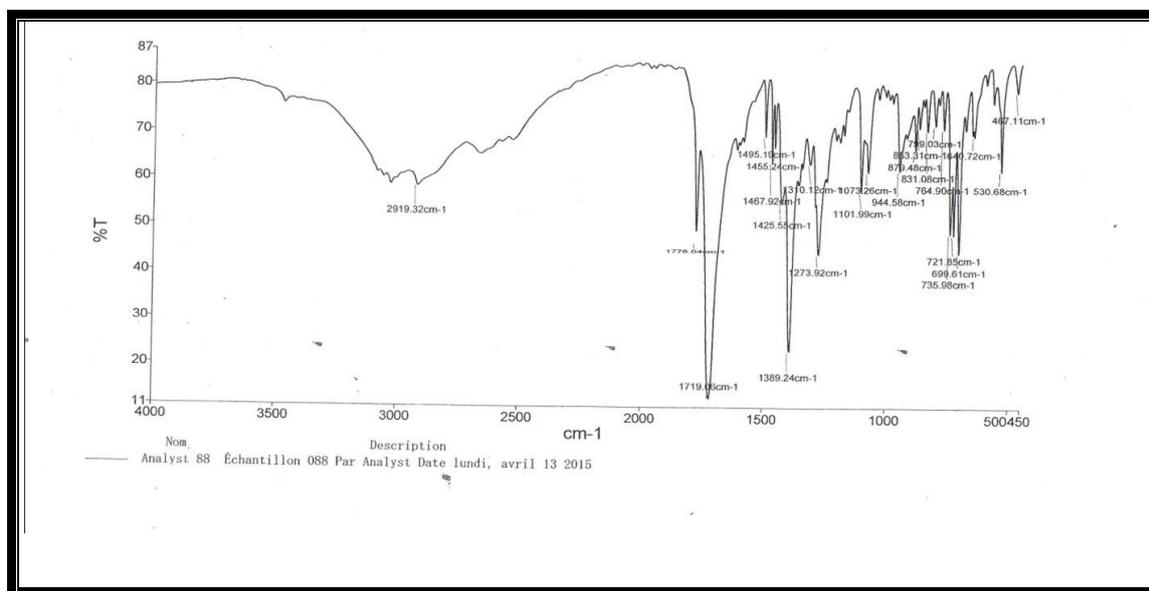
Après le reflux, on évapore le solvant et, pour éliminer l'excès de l'AcOH glacial, on effectue un reflux de 30 min (produit+éther) suivi d'une filtration sous vide.

- Résultats :



Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	Pf (°C)	Aspect
341,28	38,7	106	Beige

Spectre IR :



Partie expérimentale

Données spectrales :

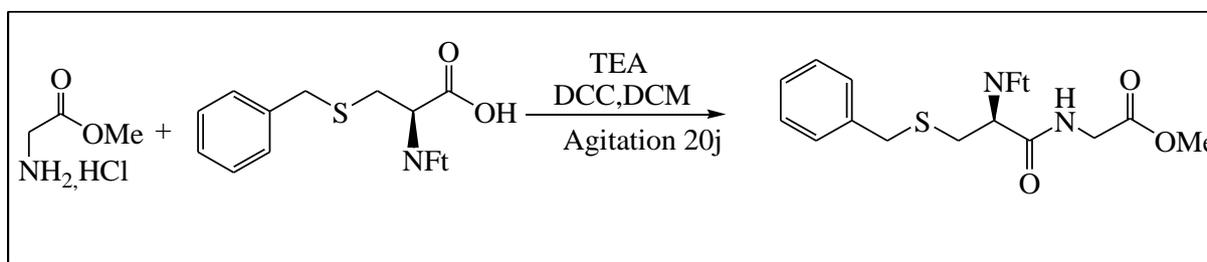
Bandes	C=O _{acide}	O-H _{acide}	C=O _{pht}	C=C _{arm}	C-N
v max(KBr) cm ⁻¹	1719.0	2919.3	1776.0	1495.1-1455.2	1273.9

Résultat CCM :

Rf = 0.56 (L'éluant : butanol; acide acétique; eau) [70: 18: 12]

3. Couplage de *N*-phthalimido-*S*-benzyl-*L*-cystéine avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de la glycine :

Schéma réactionnel :

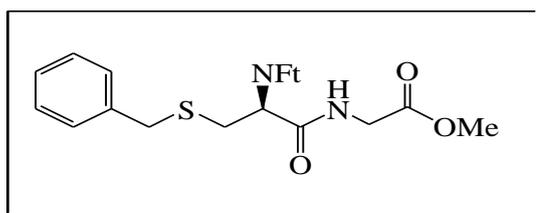


Mode opératoire :

Dans un bicol de 250 ml, on introduit 2g (0.0059 mol) de *N*-phthalimido-*S*-benzyl-*L*-cystéine avec 0.074g (0.0059 mol) de chlorhydrate d'ester méthylique de la glycine dans 39 ml de DCM à 0°C, et on ajoute 3.39 ml de triéthylamine (TEA) goutte à goutte sous une forte agitation.

Une solution de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (1.22g/0.0059 mol) dans 10 ml de DCM est additionnée goutte à goutte avec une forte agitation. Le mélange est agité de 0°C jusqu'à température ambiante pendant 20 jours. A la fin, la DCU formée est éliminée par filtration et le solvant est évaporé.

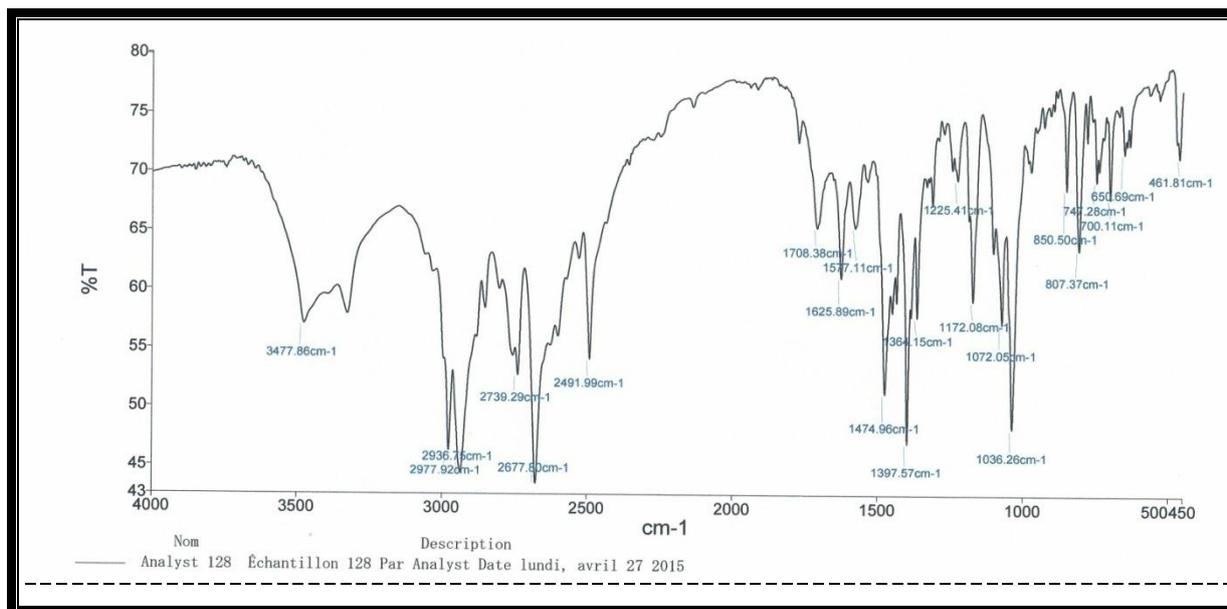
- Résultats : 2-(3-(*S*-benzyl)-2-(*N*-phthalimido) propanamido) acétate de méthyle



Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	Pf (°C)	Aspect
398	42,6	165	Solide blanc

Partie expérimentale

Spectre IR :



Données spectrales :

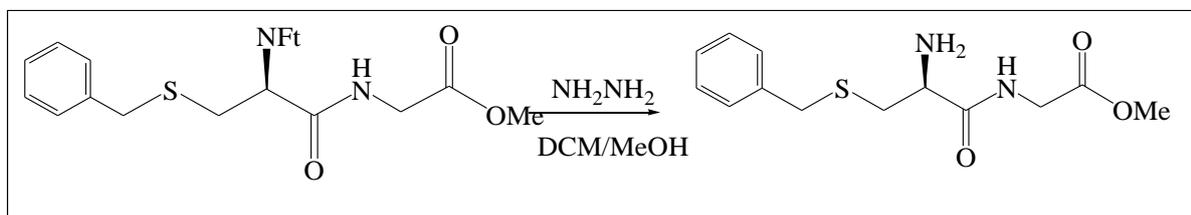
Bandes	N-H	C=O (amide)
$\nu_{\max}(\text{KBr}) \text{ cm}^{-1}$	3477.86	1625.8

Résultat CCM :

Rf = 0.63 (L'éluant : butanol; acide acétique; eau) [70: 18: 12]

5. La déprotection de :2-(3-(S-benzyl)-2-(N-phthalimido) propanamido) acétate de méthyle

Schéma réactionnel :



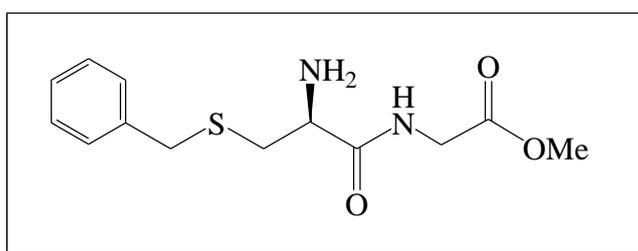
Partie expérimentale

Mode opératoire

Dans un bicol de 50 ml, on introduit 1g (0.0025mol) de (*S*)-méthyl-2-(3-(benzylthio)-2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl) propanamido) acétate dissous dans un mélange de DCM et de méthanol [1 :1] (5ml). Après on ajoute sous agitation 0.24ml (0.005mol) d'hydrate d'hydrazine à température ambiante.

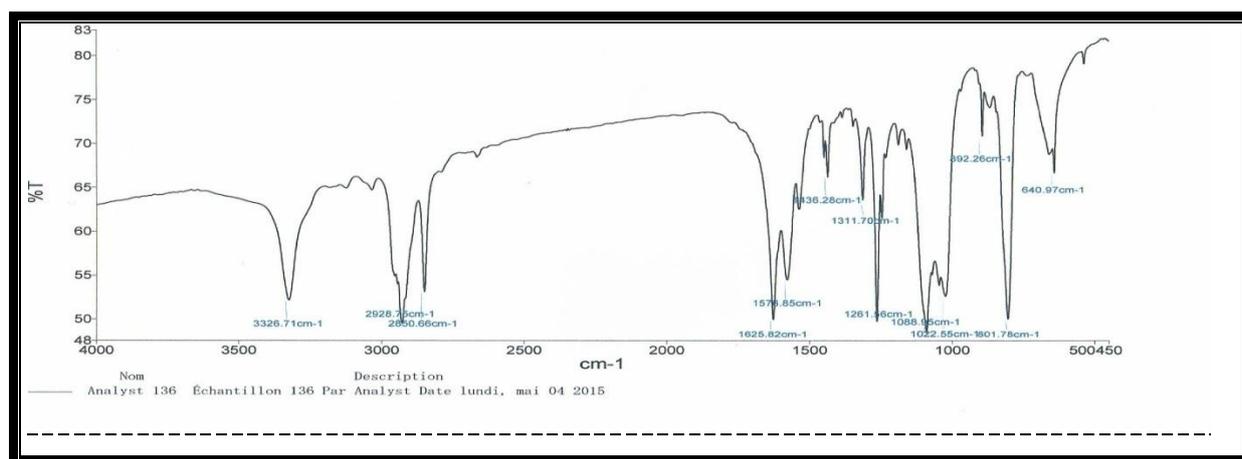
Après 20 h à la même température, un solide se forme, qui est ensuite éliminé par filtration et le mélange est évaporé sous pression réduite. Le solide résiduel est dissous dans l'eau distillée (2.4 ml), puis la solution est alcalinisée à pH=11. On extrait ensuite avec le DCM, on sèche et évapore le solvant.

- Résultats : ((*S*)-méthyl 2-(3-(benzylthio)-2-aminopropanamido) acétate



Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	Pf (°C)	Aspect
235,18	17	206	Solide blanc

Spectre IR :



Données spectrales :

Bandes	N-H	C=O (amide)
ν max(KBr) cm^{-1}	3326,71	1625.8

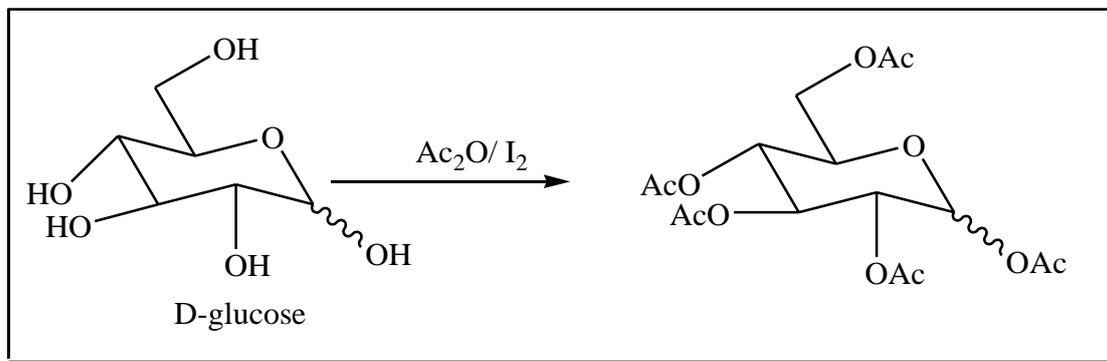
Partie expérimentale

Résultat CCM :

Rf = 0.88 (L'éluant : butanol; acide acétique; eau) [70: 18: 12]

6. Protection du glucose :

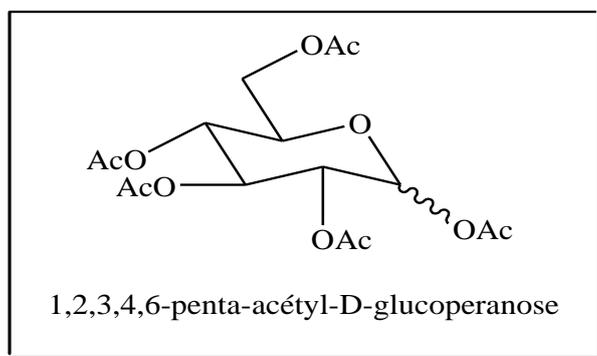
Schéma réactionnel :



Mode opératoire :

Dans un bicol de 250 ml, on introduit une solution I_2/Ac_2O (0.13g/50ml) ($0.5 \cdot 10^{-3}$ mol) et on place le bicol dans un bain d'eau à 18°C. Puis, on ajoute à la solution le D-glucose (10g par portion) (0.056 mol) et sous agitation. L'agitation est restée toute une nuit. Après la dissolution du sucre, le mélange est refroidi à T ambiante. Ensuite, on ajoute 100 ml de l'eau froide, puis une solution aqueuse à 10% de thiosulfate de sodium sous agitation ; le mélange devient jaune-clair, et on ajoute le bicarbonate de sodium jusqu'à cessation du dégagement de CO_2 . Le résidu est solubilisé dans le DCM (75 ml) et on extrait la phase aqueuse. Par la suite, on lave la phase organique avec l'eau (3 fois successivement), et on sèche le milieu organique avec le sulfate de calcium. A la fin, on filtre et on évapore sous vide. La recristallisation du glucose protégé est faite dans l'éthanol et le solide obtenu est séché à l'air.

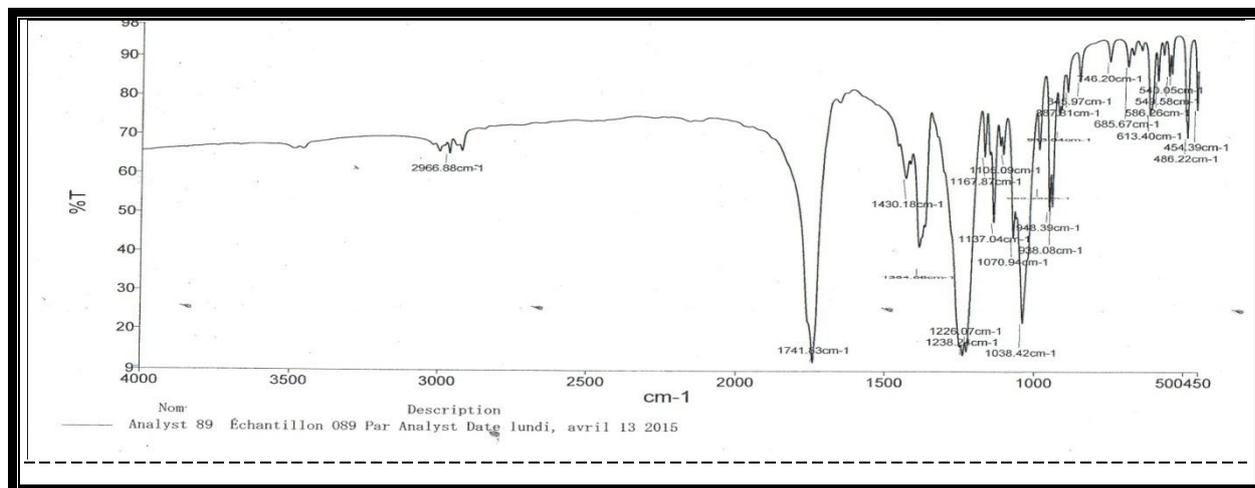
- Résultats :



Partie expérimentale

Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	Pf (°C)	Aspect
390.35	41.5	100	Solide blanc

Résultats IR :



Données spectrales :

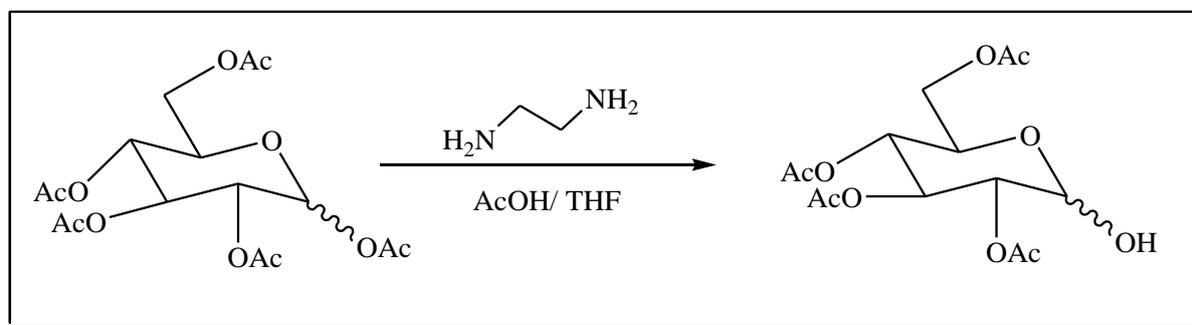
Bandes	C=O acétyle
ν max(KBr) cm^{-1}	1741.83

Résultat CCM :

Rf = 0.5 (L'éluant : cyclohexane-acétate d'éthyle) [1 : 1]

7. Hydrolyse du sucre protégé:

Schéma réactionnel :

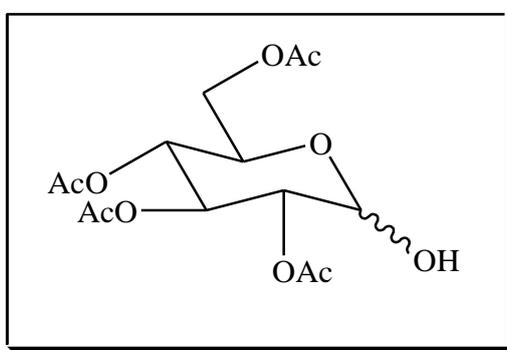


Partie expérimentale

Mode opératoire :

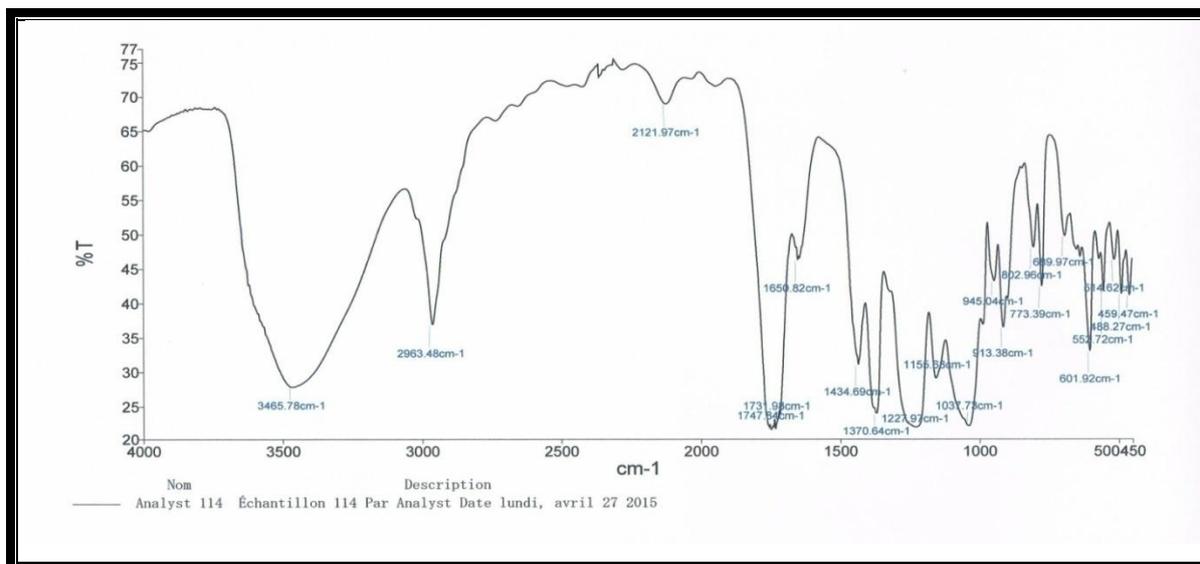
Dans un ballon de 100 ml, on introduit 0,4 ml d'éthylènediamine dans 60 ml de THF, puis on ajoute 0,4 ml de l'acide acétique glacial goutte à goutte. On remarque la formation d'un précipité, et on ajoute ensuite 2g (0.0051 mol) du glucose protégé ; on laisse le mélange agiter à T ambiante pendant 24h. Après on ajoute 10 ml de l'eau au mélange, puis on extrait avec le DCM (3 fois) ; on lave successivement les extraits organiques réunis avec une solution de 2N de l'HCl, une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium et une solution aqueuse saturée de NaCl. La phase organique est séchée (CaSO₄) puis le solvant est évaporé. A la fin de la réaction on obtient un gel qui cristallise dans l'éther de pétrole.

- Résultats : Hydroxy, tétra-O-acétyl-D-glucopyranose



Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	Aspect
348,38	79,8	Produit pâteux

Spectre IR :



Partie expérimentale

Données spectrales :

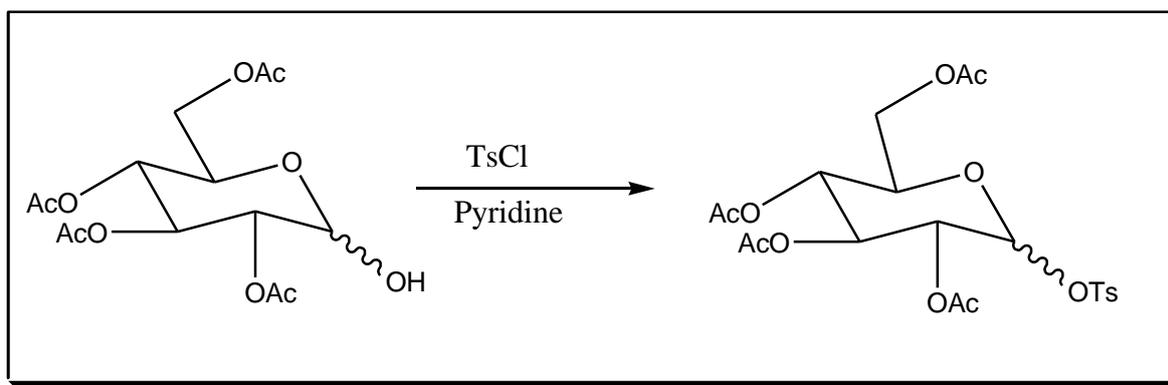
Bandes	O-H	C=O
ν max(KBr) cm^{-1}	3465,7	1731,9

Résultat CCM :

R_f = 0.35 (L'éluant : cyclohexane; acétate d'éthyle) [1 :1]

8. Tosylation du sucre protégé :

Schéma réactionnel :



Recristallisation de TsCl:

20g de TsCl sont dissout dans 50ml de chloroforme puis on ajoute 250ml de l'éther de pétrole. On filtre les impuretés précipitées et on laisse le filtrat cristallisé.

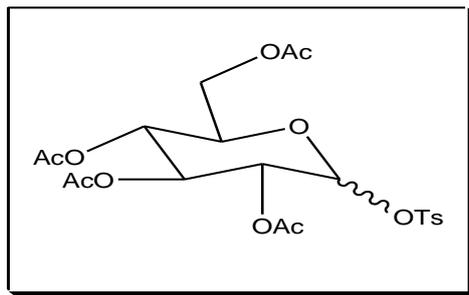
Mode opératoire :

Dans un ballon de 50ml, on introduit 1.2 g (1 éq) de hydroxy,tetra-O-acétyl-D-glucopyranose dans 5ml du pyridine, puis on ajoute le chlorure de tosylye 1.94 g (3 éq) et on laisse le mélange agiter à 0°C pendant 1h, ensuite on laisse la solution sous agitation à température ambiante pendant 2h. On dilue le mélange avec le DCM (50ml) puis on lave le deux fois par l'eau distillé, une solution de 2N de HCl, une solution saturé de bicarbonate de sodium et avec une solution saturé de NaCl. La phase organique est séchée puis évaporé sous pression réduite.

On fait la recristallisation avec l'éther de pétrole.

Partie expérimentale

- Résultats: 2, 3, 4, 6, tétra-O-acétyl, 1-O-tosyl-D-glucopyranose



Masse molaire (g/mol)	Aspect
502.52	Solide blanc (que des traces)

Résultat CCM :

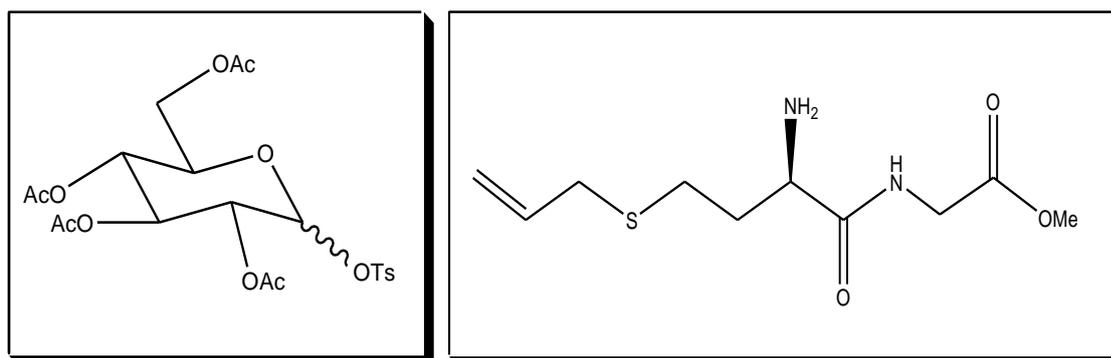
Rf = 0.9 (cyclohexane, acétate d'éthyle) [1 : 1]

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

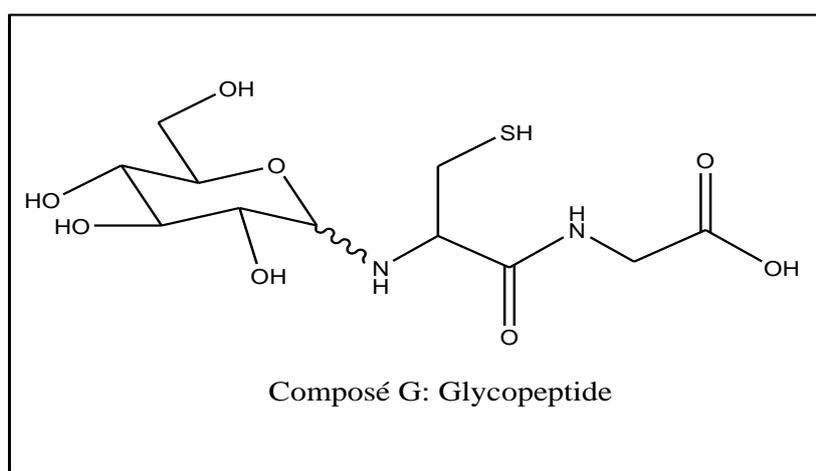
Conclusion et perspectives

Le glutathion est un tripeptide constitué de trois acides aminés : cystéine, glycine et acide glutamique, ce composé est un antioxydant naturel qui se trouve dans toutes les cellules humaines.

Dans ce travail nous avons remplacé l'acide glutamique du glutathion par le glucose. Les fragments ci-dessous ont été obtenus selon un schéma synthétique accessible avec des réactifs disponibles au laboratoire.



Notre objectif était la synthèse d'un dérivé glucidique d'un fragment de glutathion, une fois ce dérivé est obtenu on peut envisager en guise de perspective de lui griffer plusieurs substrats (amino-acides; sucres....), afin d'aboutir à des molécules dont l'activité thérapeutique sera modulé dans un sens que nous espérons positif.



REFERENCES

Références

- [1] C .Koechlin-Ramonatxo. Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, **2006,20**, 165.
- [2] R. Barouki. Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/Science*, **2006,22**, 266.
- [3] CK .Roberts, KK. Sindhu. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*, **2009**, *84*, 705.
- [4] A. Favier, Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension Des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, **2003**,108.
- [5] A. Meister, New aspects of glutathione biochemistry and transport selective alteration of Glutathione metabolism, **1984**, *42*,397.
- [6] A. Pastore, Federici. G, Bertini. E, Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *ClinChimActa*, **2003**,333, 19.
- [7] LJ. Machlin, Bendich. A. A free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients, **1987**,*1*,441.
- [8] SM. Djilas, M. Jasna. , C. Brunet, Cetkovic.GS. *Antioxidants in food. Chem*, **2002**,56,105.
- [9] LM.Sordillo, SL. Aitken, Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **2009**, *128*, 104.
- [10] D. Hanahan, R. A, Weinberg, The hallmarks of cancer *Cell*, **2000**, *100*, 57.
- [11] Carmeliet. P, Angiogenesis in life, disease and medicine *Nature*, **2005**, *438*, 932.
- [12] S.Gambhir, S. Molecular imaging of cancer with positron emission tomography. *Nat Rev Cancer*,**2002**,*29*, 683.
- [13] F. Kratz, I, Muller. A.; Ryppa, C.; Warnecke.A, Prodrug strategies in anticancer chemotherapy. *ChemMedChem*,**2008**, *31*,20.
- [14] T.Allen, Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy. *Nat Rev Cancer*, **2002**, *10*, 750.
- [15] A, Meister, Anderson. ME,Glutathione, **1983**,*52*: 711.
- [16] N, Kaplowitz, Aw.TY, Ookhtens. M, The regulation of hepatic glutathione, **1985**, *25*,715.
- [17] G. Bounous, Gold. P, The biological activity of undenatured dietary whey proteins: role of glutathione. *Clin Invest Med*,**1991**,*14*,296.

Références

- [18] W. Dröege, Eck. HP, Mihm. S, Galter. D, Abnormal redox regulation in HIV infection and other immunodeficiency diseases in: *Oxidative Stress, Cell Activation and Viral Infection*. C. Pasquieret al (Eds), **1994**, 285.
- [19] Apports nutritionnels conseillés dans la population française, 3ème édition, CNERNA-CNRS, **2001**.
- [20] D. DEHAK K. Université KASDI MerbahOuargla, **2013**.
- [21] Gutman&Schettini, Le Guide Ultime du Glutathion, *Health Books Inc. Montréal, Canada*, **2000**, 4.
- [22] J. Dai, and Mumper. RJ, Plant phenolics: Extraction, Analysis and their antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, **2010**, 15, 7313.
- [23] C. Alan, Indu B J, and Michael N C. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat. Prod. Rep.* **2009**, 26, 1001.
- [24] JW. Anderson, B M. Johnstone, and Cook-Newell .M E. Meta-Analysis of the Effects of Soy Protein Intake on Serum Lipids. *N. Engl. J. Med.* **1995**, 333, 276.
- [25] M V. Kochetov, E N. Semenistaya, O G Larionov, A. Revina. Determination of biologically active phenols and polyphenols in various objects by chromatographic techniques. *Russian Chemical Reviews* .**2007**, 76, 79.
- [26] C. Hsieh, Resveratrol: a cardioprotective substance. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **2011**, 1215, 16.
- [27] C. Haton, Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale. *Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France*, **2005**, 43.
- [28] M. Bergmann, L. Zervas, *Ber*, **1932**, 65, 1192.
- [29] A. Rougny, M. Daudon, *Chem. Soc.* **1976**, 5, 833.
- [30] M. SCHNEKENBURGER. Régulation de l'expression de la glutathion S-transférase P1-1 au cours de la différenciation de la lignée leucémique humaine K562, **2004**, 8.
- [31] S. Gambhir. Molecular imaging of cancer with positron emission tomography. *Nat Rev Cancer*, **2002**, 2, 683.
- [32] J.L. WAUTIER. Les produits de glycation avancée ou produits de Maillard. *La Revue du Praticien*, **1998**, 48
- [33] N. Lubin-Germain, chimie organique en 25 fiches. **2008**, 3, 125
- [34] A.L. McCloskey, G.S. Fonken, R.W. Kluiber, W.S. Johnson, *Org. Synth.* **1963**, 261
- [35] D.B. Bryan, R.F. Hall, K.G. Holden, W.F. Huffman, *Chem. Soc.* **1977**, 99, 2353.
- [36] S. Danishefsky, T. Harayama, E. Berman, *Chem. Soc.* **1978**, 100, 6536.

Références

- [37] M. Bodanszky, Y. S. Klausner, A. M. Ondentti, *Peptide synthesis*. Wiley, New York, **1976**, 26.
- [38] S.Tchertchian, O. Hartley, P.J. Botti, *Org. Chem.* **2004**, *69*, 9208.
- [39] E. At herton,Sheppard.R.C. in the Peptides, *Academic Press: New York*, **1987**, *9*, 1.
- [40] E. H. Carter, L. R. Franc, W. H. Johnston *Organic Synthesis*. **1955**, *3*, 167.
- [41] D. A. Kidd, F. E. King, *Nature*, **1948**.*62*, 776.
- [42] J. UZIEL, fiches 22. Acidesaminéset peptides,**2008**, *3*, 127
- [43] J.Jones, "Amino acid and peptide synthesis", second edition, Oxford Chemistry Primers, **2002**, P25.
- [44] J. Sheehan, J. Preston and P. Cruickshank. "A rapid synthesis of oligopeptide derivatives without isolation of intermediates" *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 2492-2493.
- [45] G. Windridge and E. Jorgensen."1-Hydroxybenzotriazole as a Racemization-Suppressing Reagent for theIncorporation of *im*-Benzyl *c*-histidine into Peptides" *J. Am. Chem. Soc.*,**1971**, *71*, 6318-6319.
- [46] L. A. Carpino. "1-Hydroxy-7-azabenzotriazole.An efficient Peptide Coupling Additive" *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 4397-4398.
- [47] B. Castro, J. R. Dormoy, G. Evinet C. Selve. "Réactifs de couplagepeptidique IV (1)-l'hexafluorophosphate de benzotriazolyl*N*-oxytrisdiméthylaminophosphonium (BOP)" *TetrahedronLett*, **1975**, *14*, 1219-1222.
- [48] M. Schelhaas and H. Waldmann. "Protecting groupsstrategies in organic synthesis" *Angew. Chem. Int. Ed.Engl.*, **1996**, *35*, 2056-2083.
- [49] T. W. Greene and P. G. M. Wuts. "Protective groups in organic synthesis" 3rd Ed., **1999**, Wiley Interscience, John Wiley & Sons, Inc., P729 and P737.
- [50] F.GAGNON,Formation de glycoside à partir de l'acide betulinique, **2004**, *11*, 66

Résumé :

De nombreuses recherches scientifiques faites sur les composés antioxydants notamment sur le glutathion qui agit contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (molécules prooxydantes très réactives causent des endommagements cellulaires graves).

Le glutathion est un tripeptide constitué de trois acides aminés : cystéine, glycine et acide glutamique, ce composé est un antioxydant naturel qui se trouve dans toutes les cellules humaines

L'objectif de notre mémoire est la synthèse d'un fragment de glutathion, le choix n'a pas été fait au hasard car il est un précurseur dans la synthèse d'un glycopeptide qui présente des activités thérapeutiques très importantes.

La première partie de notre travail consiste à synthétiser un dipeptide à partir de deux acides aminés : glycine et cystéine.

Dans la deuxième partie nous nous sommes intéressés à la synthèse d'acides aminés glycosylés obtenus par la réaction entre un dipeptide et un sucre.

Abstract :

Many scientific research done on antioxidant compounds including glutathione that acts against reactive oxygen species (ROS) (highly reactive molecules prooxidant cause severe cell damage).

Glutathione is a tripeptide consisting of three amino acids: cysteine, glycine and glutamic acid, this compound is a natural antioxidant that is found in all human cells.

The objective of our memory is the synthesis of a fragment of glutathione, the choice was not made at random because it is a precursor in the synthesis of a glycopeptide which has very important therapeutic activities.

The first part of our job is to synthesize a dipeptide from two amino acids: cysteine and glycine.

In the second part we are interested in the synthesis of glycosylated amino acids obtained by the reaction between a dipeptide and a sugar

ملخص:

في السنوات الأخيرة الماضية أقيمت العديد من البحوث العلمية على مركبات مضادة للأكسدة بما في ذلك الجلوتاثيون الجلوتاثيون هو ثلاثي الببتيد المتكون من ثلاثة أحماض أمينية: السيستين، الجليسين وحمض الجلوتاميك، وهذا المركب هو أحد مضادات الأكسدة الطبيعية التي توجد في جميع الخلايا البشرية.

الهدف من مذكرتنا هو تركيب جزء من الجلوتاثيون، الاختيار لم يتم عشوائيا لأنه يعتبر مقدمة في تركيب جليكوببتيد الذي لديه أنشطة علاجية مهمة جدا

الجزء الأول من عملنا هو تركيب ثنائي الببتيد انطلاقا من حمضين أميين: السيستين والجليسين في الجزء الثاني قمنا بتركيب ثنائي الببتيد الغليكوزيلاتي التي تم الحصول عليها عن طريق تفاعل بين ثنائي الببتيد والسكر