

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Université Abou Bakr Belkaid – Tlemcen  
Faculté des Sciences  
Département de Chimie  
Master Bio Organique et Thérapeutique

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

**-COSNA-**



*Thème*

---

## Préparation d'un $\gamma$ -lactame $\alpha, \beta$ -insaturé, intéressant intermédiaire en synthèse peptidomimétique

---

Mémoire présenté par :

**MANKOURI Welid**

En vue de l'obtention du diplôme de

**Master en Chimie**

**Spécialité : chimie Bio-Organique et Thérapeutique**

Soutenu publiquement le 14 juin 2017 devant le jury composé de :

Mr. Djamel Bendiabdellah	Président	UAB-Tlemcen
Mr. Abdelmoumin Mezrai	Examineur	ESG2E-Oran
Mme. Wassila Drici	Promotrice	UAB-Tlemcen

*Année universitaire : 2016 / 2017*

*Je dédie ce travail .....*



*A mes très chers parents*

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

*A mes frères*

*A mes très chères sœurs*

*A toute ma famille*

*A mes amis*

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

# Remerciements

---

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

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

Je voudrais remercier Monsieur D. Bendiabdellah pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury de ce mémoire. Je remercie vivement Monsieur A. Mezrai pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Un merci tout particulier à Mlle Lazouni Imene doctorante en Chimie pour son aide et sa disponibilité lors de mes différents séjours au sein du laboratoire. Je remercie également Mme lemrini Wafaa, Mr Benyacoubi Elarbi, Mr Salim, Mami Imene, Merad Nadjia et Mr Benabdellah Mohammed du laboratoire LCSCO.

Je ne voudrais pas non plus oublier les collègues de la promotion : Chimie bio-organique et thérapeutique que j'ai côtoyés quotidiennement pendant de nombreuses années, Ali, Majid, Hicham, Amine, Abdelbassat, katia, kadia, Ikram,

Merci à mes proches notamment mes amis particulièrement Bendjabbour amine, Chibani amine, Diab sanaa pour votre soutien et votre présence à mes côtés.

## Liste des abréviations

---

**Ar** : Aryl

**Ac**: Acétyl

**Acac** : Acétylacétonate

**A.L** : Acide de lewis

**Boc**: tert-butoxycarbone

**Coll.** : Collaborateurs

**Cys** : cystéine

**CCl<sub>4</sub>** : tétrachlorure de méthane

**CuBr** : bromure de cuivre

**DMF** : Diméthylformamide

**EtOH** : Éthanol

**Et<sub>3</sub>N** : Triéthylamine

**Glu** : L-glutamate

**Gly** : L-glycine

**HCl** : Acide chlorhydrique

**LDA** : di-iso-propylamide de lithium

**Me** : méthyle

**MeOH** : Méthanol

**MeCN** : Acétonitrile

**Ph**: Phényl

**TA ou rt** : Température ambiante

**Ts**: Tosyl

# SOMMAIRE

---

## Liste des figures

## Liste des schémas

## *Introduction générale* .....01

### *Chapitre I : $\gamma$ -lactames et synthèse peptidomimétique*

<b>I.</b>	<b>Généralité</b> .....	<b>03</b>
<b>II.</b>	<b>Peptides et peptidomimétique en synthèse</b> .....	<b>04</b>
<b>III.</b>	<b>Activité biologique des peptidomimétiques</b> .....	<b>04</b>
	a) Activité antioxydante .....	04
	b) Activité antimicrobienne .....	05
	c) Activité anticancéreuse .....	06
<b>IV.</b>	<b>Les <math>\gamma</math>-lactames :</b> .....	<b>06</b>
1.	$\gamma$ -lactames structure et synthèse .....	07
	a. Les $\gamma$ -lactames produits naturels et synthétiques.....	07
	b. Synthèse des $\gamma$ -lactames .....	08
2.	Les $\gamma$ -lactames $\alpha$ , $\beta$ -insaturés précurseurs de synthèse .....	09
	a) Réactions en position C <sub>3</sub> en présence d'un électrophile.....	09
	b) Réactions en position C <sub>4</sub> en présence d'un nucléophile.....	09
	c) Réactions en position C <sub>5</sub> .....	10

### *Chapitre 2 : Travail effectué*

<b>I.</b>	<b>Introduction</b> .....	<b>11</b>
<b>II.</b>	<b>Protection des acides aminés</b> .....	<b>12</b>
1.	Protection de la fonction amine.....	12
2.	Protection de la fonction acide carboxylique .....	12
3.	Protections effectuées .....	14
	a. Estérification de la L-valine .....	14
	b. Estérification de la L-leucine .....	15
	c. Estérification de l'acide aminocaproïque.....	15
	d. Estérification de L-phénylalanine .....	15
<b>III.</b>	<b>Synthèse des <math>\gamma</math>-lactames <math>\alpha</math>, <math>\beta</math>-insaturés</b> .....	<b>16</b>

## SOMMAIRE

---

1. Mécanisme de la condensation.....	17
2. Condensations effectuées .....	17
a. Avec l'ester de la L-valine .....	17
b. Avec l'ester de la L-leucine .....	18
c. Avec l'ester de l'aminocaproïque.....	18
d. Avec l'ester de la L-phénylalanine .....	19
3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des $\gamma$ -lactames obtenus.....	20
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>22</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>23</b>
<b>Partie expérimentale.....</b>	<b>25</b>
<b>Annexe</b>	

## Liste des figures

---

**Figure 1** : structures de quelques peptides

**Figure 2** : Exemples de peptidomimétiques

**Figure 3**: Le dipeptide CA-Pro-His-NH<sub>2</sub>

**Figure 4** : peptidomimétiques à très forte activité antimicrobienne

**Figure 5** : Dolastatine

**Figure 6** : Nomenclature des composés lactamiques

**Figure 7** : Exemples de  $\gamma$ -lactames naturels

**Figure 8** : Exemples de composés  $\gamma$ -lactamiques à visée thérapeutique

**Figure 9** : Sites réactifs des  $\gamma$ -lactames  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés.

**Figure 10** : Structures des  $\alpha$  et  $\beta$  aminoacides

**Figure 11** : ester de *p*-méthoxybenzyle

**Figure 12** : Esters de tétrahydropyranne (THP)

## Liste des schémas

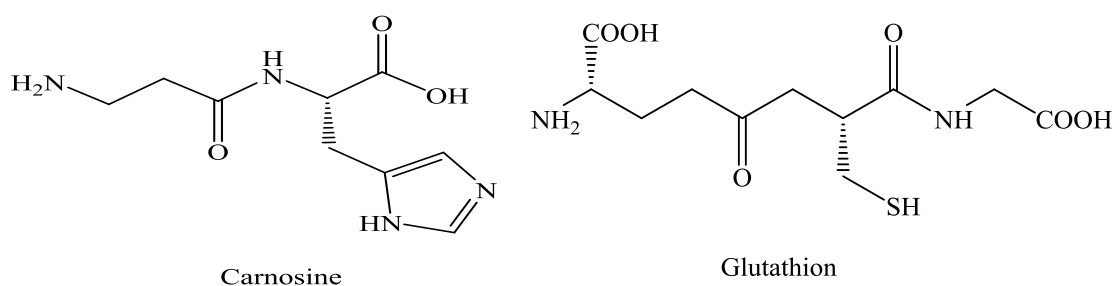
---

- Schéma 1** : synthèse de substances d'intérêt thérapeutique.
- Schéma 2** : synthèse de  $\gamma$ -lactames A partir des amino-esters
- Schéma 3** : synthèse de  $\gamma$ -lactames par cycloadditions
- Schéma 4** : Réactivité en C<sub>3</sub> vis-à-vis d'un électrophile
- Schéma 5** : Réactivité en C<sub>4</sub> vis-à-vis d'un nucléophile
- Schéma 6** : Réactivité en C<sub>5</sub> vis-à-vis d'un nucléophile
- Schéma 7** : Synthèse de la Pranamicine
- Schéma 8** : ester méthylique
- Schéma 9** : ester *de tertiobutyle*
- Schéma 10** : mécanisme de l'estérification
- Schéma 11** : Estérification de la L-valine
- Schéma 12** : Estérification de la L-leucine
- Schéma 13** : Estérification de l'acide aminocaproïque
- Schéma 14** : Estérification de L-phénylalanine
- Schéma 15** : préparation d'un  $\gamma$ -lactame  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturé en une seule étape.
- Schéma 16** : Mécanisme de la condensation
- Schéma 17** : Réaction avec l'ester de L-valine
- Schéma 18** : Réaction avec l'ester de la L-leucine
- Schéma 19** : Réaction avec l'ester de l'acide caproïque
- Schéma 20** : Réaction de l'ester de la L-phénylalanine

## Introduction générale

Les peptides et protéines sont les molécules les plus répandus dans la nature, ils représentent les unités essentielles dans les organismes vivants. Ils sont inclus dans de nombreuses transformations biologiques et physiologiques assurant la majorité de fonctions des cellules, comme dans leur structuration, dans la compaction de l'ADN ou encore l'expression des gènes. Les peptides sont formés à partir des aminoacides, unis les uns aux autres par une fonction amide, appelée liaison peptidique.

Au début du 19<sup>ème</sup> siècle, la chimie des peptides a fait son apparition grâce au chercheur Hermann Emil Fischer, qui a réalisé la première synthèse peptidique : d'un dipeptide glycine-glycine en 1901<sup>[1]</sup>. Le Glutathion (Glu-Cys-Gly) et la Carnosine ( $\beta$ -ala-His) ont été synthétisés en 1935 (**figure 1**).



**Figure 1** : Structures de quelques peptides

Les processus vitaux des peptides ont été étudiés au cours des années 1950 et 1960 grâce au développement des techniques d'analyse qui ont permis leur isolation et leur purification.

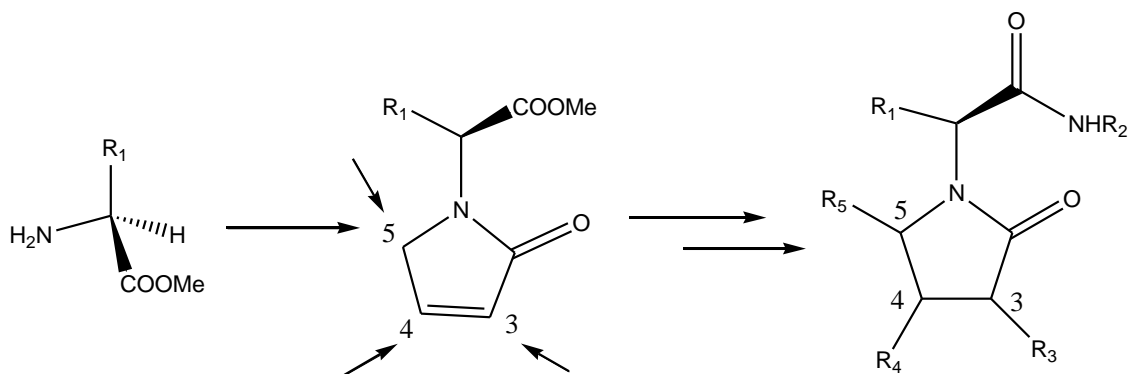
Certains peptides sont utilisés à des fins thérapeutiques, mais dans la majorité des cas, le peptide n'est pas utilisé directement comme agent thérapeutique mais comme un outil ou un modèle pour la conception de molécules thérapeutiques hybrides.

Le développement de molécules d'intérêt biologique, de nature peptidique est relativement limité. Ces dernières présentent une faible biodisponibilité par voie orale et une instabilité métabolique, face à l'hydrolyse par les peptidases, ce qui diminue fortement leur durée d'action dans l'organisme. Afin de répondre aux problèmes soulevés des peptides,

plusieurs analogues de type peptidomimétiques ont été élaborés. Ces composés présentent une meilleure stabilité métabolique, une forte biodisponibilité et donc une durée de vie plus longue en conservant leur propriété de reconnaissance avec le récepteur du peptide mimé. [2]  
[3]

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à la préparation d'un  $\gamma$ -lactame  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés à partir d'un aminoacide afin de préparer des composés rigides susceptibles d'être utilisés en synthèse peptidomimétique (**schéma 1**).

L'acide aminé permet d'introduire une chaîne R1 avec un site basique, acide ou hydrophobe et une chiralité. En plus, les produits de cette synthèse offrent des possibilités variées de fonctionnalisation et constituent d'intéressants intermédiaires avec diverses applications en synthèse totale de substances d'intérêt thérapeutique.



**Schéma 1** : synthèse de substances d'intérêt thérapeutique.

Pour atteindre cet objectif, quatre acides aminés ont été choisis pour réaliser ce travail. La L-valine, la L-leucine, la L-phénylalanine et l'acide aminé caproïque, les trois premiers sont des  $\alpha$ -aminoacides à chaîne hydrophobe, cependant le quatrième est un  $\epsilon$ -aminoacide, les deux fonctions acide et amine sont séparées par six atomes de carbone. L'acide aminé caproïque représente un exemple différent pour élaborer des peptidomimétiques de type isostères.

L'ensemble de ces travaux se présente comme suit :

Une première partie est consacrée à une étude bibliographique sur les peptidomimétiques et les  $\gamma$ -lactames en synthèse organique.

Dans la deuxième partie, nous présentons le travail effectué pour l'élaboration des  $\gamma$ -lactames précurseur en synthèse peptidomimétique.

Une partie expérimentale expose les différentes méthodes et techniques utilisées.

## Chapitre 1 : $\gamma$ -lactames et synthèse peptidomimétique

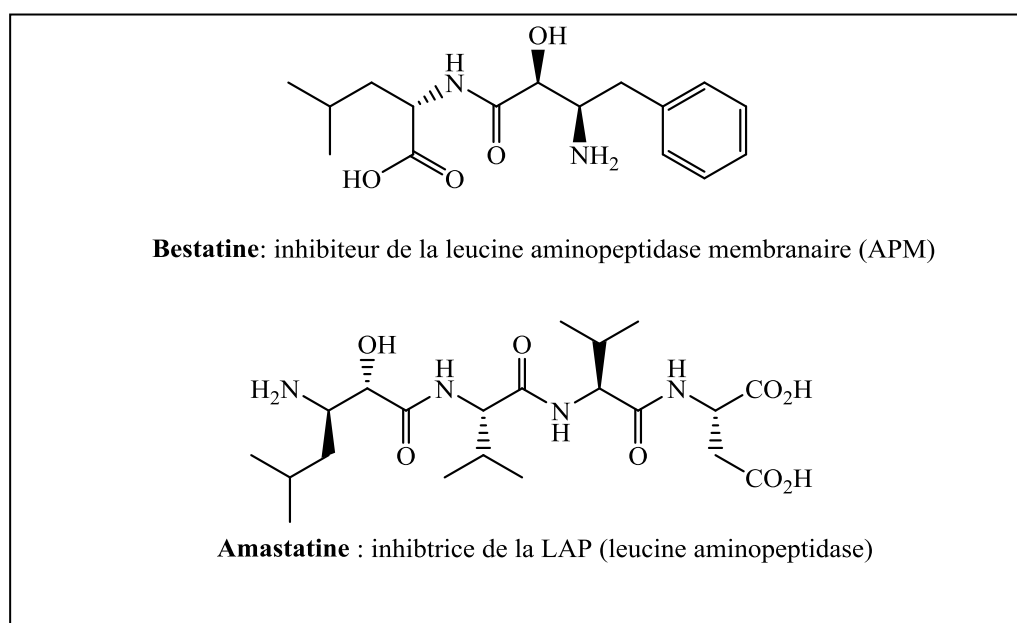
### I. Généralité

D'après, Gante le premier qui a défini les peptidomimétiques en 1994<sup>[4]</sup>, un peptidomimétique est une molécule présentant des caractéristiques structurales similaires au peptide original et capable de le substituer au contact d'une enzyme ou d'un récepteur.

Quelques années plus tard, cette définition a été modifiée par Rich<sup>[5]</sup> qui a distingué deux types de peptidomimétiques :

- ❖ Les molécules isostères de la liaison amide qui présentent une structure secondaire similaire au peptide natif.
- ❖ Les molécules non peptidiques possédant les groupements fonctionnels nécessaires pour réaliser les mêmes interactions que le peptide natif avec les récepteurs.

Les peptidomimétiques sont donc des molécules identifiables ou non aux peptides naturels et capables d'inhiber ou de reproduire l'effet biologique du peptide original. De nombreuses recherches se sont depuis intéressées à ce type de composés et ont ainsi développé divers peptidomimétiques à partir de peptides existants présentant une activité biologique intéressante.



**Figure 2:** Exemples de peptidomimétiques

## II. Peptides et peptidomimétiques en synthèse

Plusieurs stratégies ont été mises au point pour développer des molécules peptidomimétiques avec une très bonne stéréosélectivité. Parmi ces dernières, on peut citer :

- ❖ L'utilisation des acides aminés modifiés ou différents de ceux naturels (acides aminés D, acides aminés cycliques, C $\alpha$ -alkylés, C $\beta$ -alkylés, N-alkylés ou de type  $\beta$  ou  $\gamma$ ).
- ❖ La restriction conformationnelle de la chaîne peptidique (cyclisation, résidu rigide).<sup>[6]</sup>
- ❖ L'introduction d'une fonction amino alcool.
- ❖ L'introduction d'un groupement cétone.

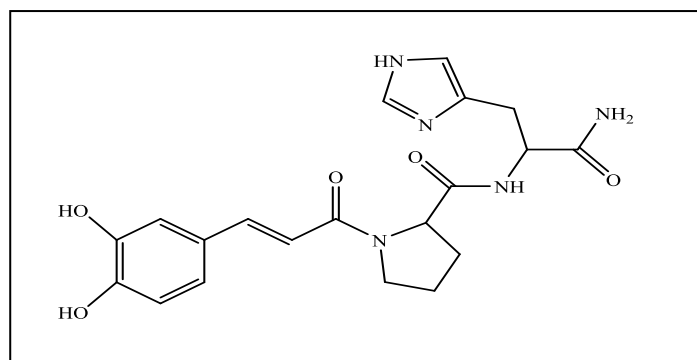
Le but ultime de ces stratégies est d' :

- ✓ Augmenter la stabilité en réduisant la reconnaissance moléculaire par les protéases.
- ✓ Améliorer la sélectivité via une restriction conformationnelle plus grande pour exposer les groupements fonctionnels essentiels de manière optimale.
- ✓ Avoir des bonnes affinités, spécificités et sélectivités avec les récepteurs biologiques.
- ✓ Une forte absorption au niveau des membranes intestinales.
- ✓ Peu d'effets secondaires.

## III. Activité biologique des peptidomimétiques

### a) *Activité antioxydante*

Pour éviter les dommages causés par les espèces réactives oxygénées, la cellule fait appel à des systèmes de défense appelés antioxydants. Un antioxydant est défini comme étant une substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible<sup>[7]</sup>. Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif<sup>[8]</sup>. Comme exemple de peptidomimétiques à activité antioxydante, le CA-Pro-His-NH<sub>2</sub>, c'est un dipeptide qui possède une activité très forte.<sup>[9]</sup>



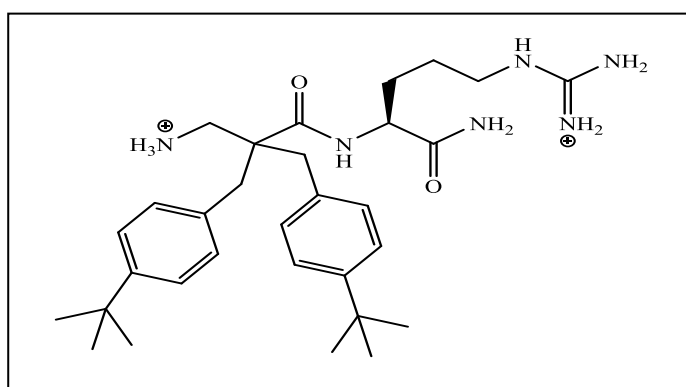
**Figure 3:** Le dipeptide CA-Pro-His-NH<sub>2</sub>

***b) Activité antimicrobienne***

Un antimicrobien représente les différents agents et substances qui tuent (Microbicides), ou arrêtent (Microbiostatiques) la croissance des microorganismes, telles que : les bactéries (activité antibactérienne), les mycètes ou les champignons (activité antimycosique ou antifongique), les virus (activité antivirale) et les parasites (activité antiparasitaire) <sup>[10]</sup>.

Avec l'augmentation de la résistance des pathogènes aux antibiotiques, les études effectuées récemment ont montré l'existence des peptides antimicrobiens (PAM), ou encore AMPs (Antimicrobial peptide), capables de déstabiliser la paroi bactérienne et défendre l'hôte face aux agressions des micro-organismes dangereux.

La figure 4 montre un peptidomimétique de synthèse qui possède une très forte activité antimicrobienne <sup>[11]</sup>.



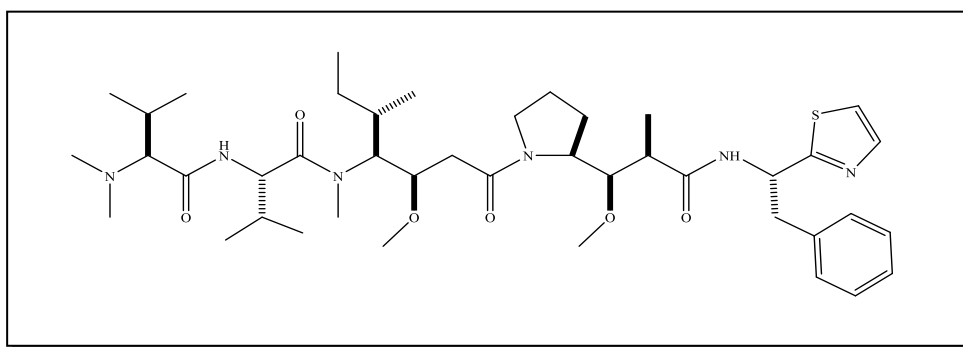
**Figure 4:** Peptidomimétique à très forte activité antimicrobienne

### c) *Activité anticancéreuse*

Le cancer est une maladie associée à des altérations chromosomiques (réarrangements, instabilité génétique, mutations ponctuelles,) qui offrent aux cellules endommagées de nouvelles potentialités de survie, d'adhérence ou de migration, capables d'échapper à une mort cellulaire programmée (appelée apoptose).

Le but des agents anticancéreux utilisés par les différentes méthodes de traitement est d'atteindre les cellules tumorales afin de les détruire, par interaction avec une ou plusieurs cibles pharmacologiques<sup>[12]</sup>.

Plusieurs peptides anticancéreux ont été identifiés dont on cite : les Dolastatines (**figure 5**) qui montrent une activité pro-apoptotique sur les différentes lignées cellulaires cancéreuses : sein, poumon, leucémie et lymphome<sup>[13]</sup>.

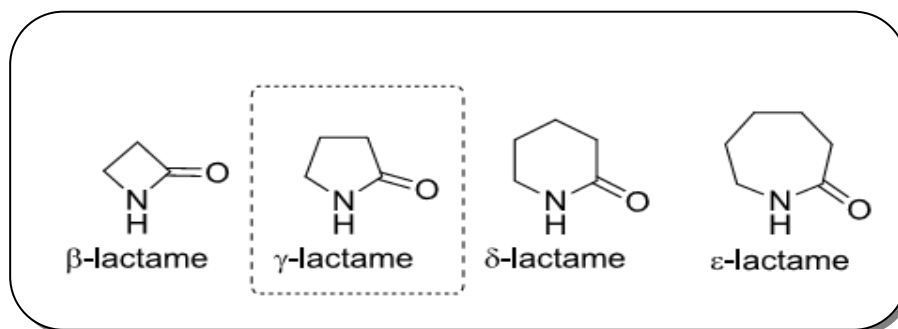


**Figure 5 :** Dolastatine

Donc les peptides jouent un rôle important dans tous les domaines, cependant leur utilisation en tant qu'agents thérapeutiques est relativement limitée. Les chercheurs sont donc intéressés à la conception de peptidomimétiques dérivés peptidiques qui représentent une approche très utile dans la lutte contre les différentes maladies. Ce sont des composés capables d'agir de la même façon que le peptide original, sur le récepteur impliqué sans effets secondaires.

#### **IV. Les $\gamma$ -lactames :**

Les lactames sont des composés hétérocycliques azotés que l'on retrouve dans un très grand nombre de molécules naturelles et synthétiques. En fonction de la taille du cycle, un préfixe leur est attribué : un cycle à quatre aura la dénomination  $\beta$ -lactame, un cycle à cinq  $\gamma$ -lactame, un cycle à six  $\delta$ -lactames,...etc. (**figure 6**). Dans notre travail, on s'intéresse aux hétérocycles à cinq chaînons, les  $\gamma$ -lactames qui sont abordés dans ce chapitre.

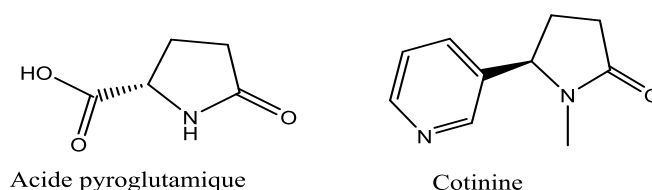


**Figure 6:** Nomenclature des composés lactamiques.

## 1. $\gamma$ -lactames structure et synthèse

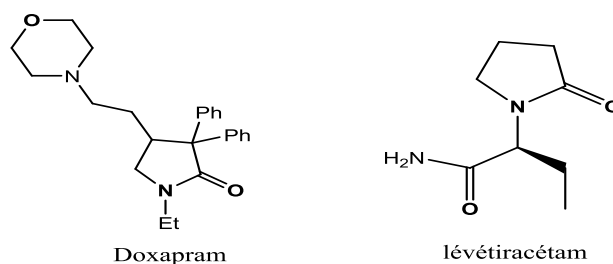
### a. Les $\gamma$ -lactames produits naturels et synthétiques

Parmi les exemples de  $\gamma$ -lactames naturels, deux sont présentés dans la (**figure 7**), L'acide pyrroglutamique (ou acide pidolique) qui est le dérivé cyclique de l'acide glutamique. La Cotinine, quant à elle, est un analogue lactamique de la Nicotine, elle est utilisée comme marqueur de l'exposition au tabac lors de l'analyse des urines.



**Figure 7 :** Exemples de  $\gamma$ -lactames naturels.

En ce qui concerne les  $\gamma$ -lactames synthétiques biologiquement actifs, on cite le Doxapram qui est un stimulant respiratoire commercialisé sous la forme de son sel chloré. Le Lévétiracétam, quant à lui, est un anti-convulsant utilisé dans le traitement de crises d'épilepsie.

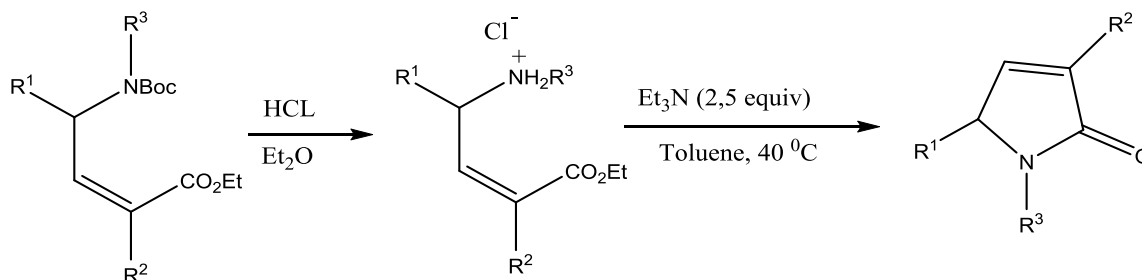


**Figure 8:** Exemples de composés  $\gamma$ -lactamiques à visée thérapeutique

### b. Synthèse des $\gamma$ -lactames

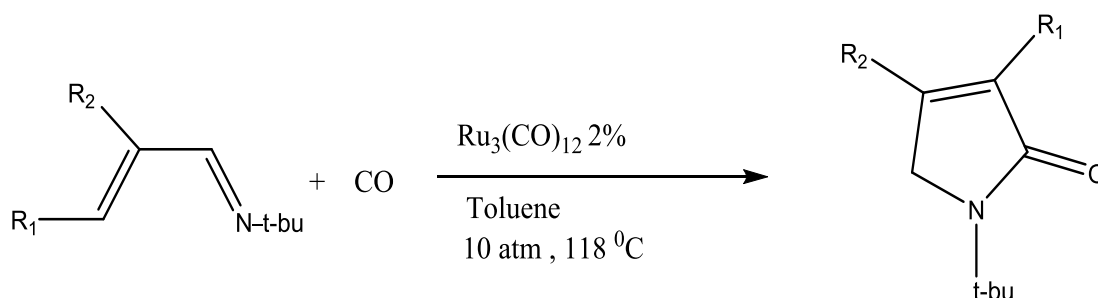
Dans la littérature, plusieurs méthodes de synthèse des  $\gamma$ -lactames  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés sont décrites selon des réactions simples ou complexes en utilisant des catalyseurs asymétriques. Le principe est le même, ces méthodes sont basées sur des réactions de cyclisation, généralement intramoléculaires en utilisant des amino-acides en milieu acide.

- *A partir des amino-esters :*



**Schéma 2 :** Synthèse de  $\gamma$ -lactames à partir des amino-esters.

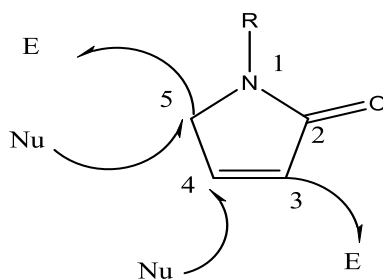
- *Réaction de cycloaddition catalysée par un métal de transition*



**Schéma 3 :** Synthèse de  $\gamma$ -lactames par cycloaddition.

### 2. Les $\gamma$ -lactames $\alpha$ , $\beta$ -insaturés précurseurs de synthèse

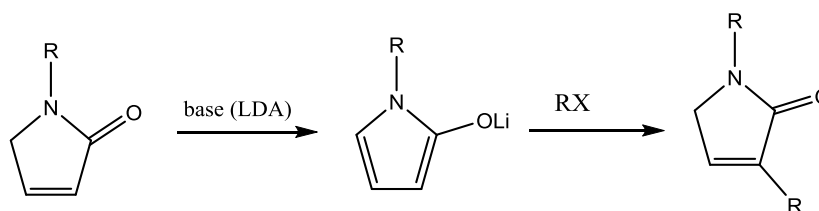
Les  $\gamma$ -lactames  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés représentent des structures très intéressantes en synthèse organique compte tenu des sites réactifs présents sur cette structure. En effet, ces composés donnent plusieurs possibilités de fonctionnalisation (**figure 9**) et constituent d'intéressants intermédiaires en synthèse totale des molécules biologiquement actives<sup>[14]</sup>



**Figure 9** : Sites réactifs des  $\gamma$ -lactames  $\alpha, \beta$ -insaturés.

a) Réactions en position  $C_3$  en présence d'un électrophile

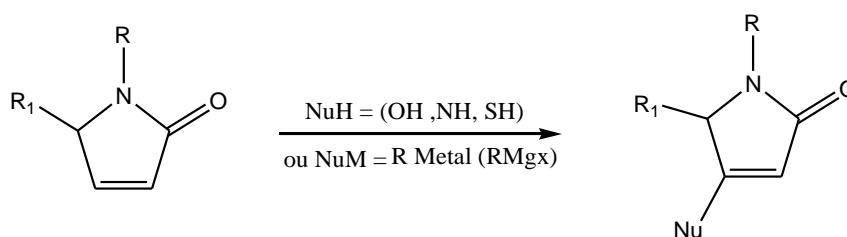
D'après les données bibliographiques, peu d'exemples ont été décrits sur la substitution en  $\alpha$  d'un  $\gamma$ -lactames  $\alpha, \beta$ -insaturés. En présence d'une base, un diénolate est formé, ce dernier peut être substitué en position  $\alpha$  ou en position  $\gamma$  de l'amide (**Schéma 4**).



**Schéma 4**: Réactivité en  $C_3$  en présence d'un électrophile.

b) Réactions en position  $C_4$  en présence d'un nucléophile

Les amides  $\alpha, \beta$ -insaturés sont moins réactifs que les composés carbonylés, néanmoins leur réactivité peut être améliorée par l'existence d'un groupement électro-attracteur  $R_1$  en position  $\alpha$  de l'azote.



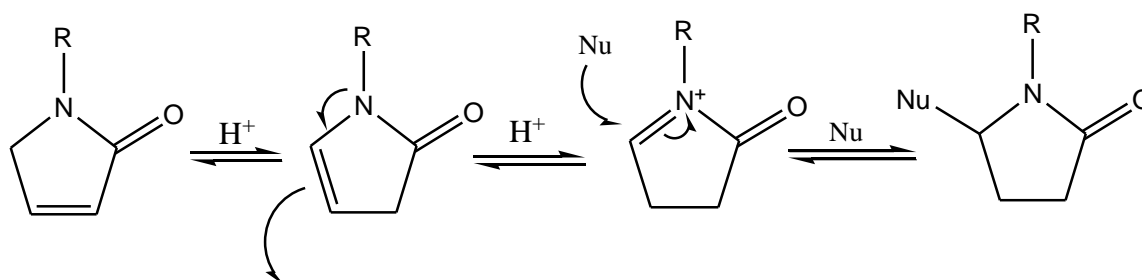
**Schéma 5**: Réactivité en  $C_4$  en présence d'un nucléophile.

c) Réactions en position  $C_5$

Le système  $\alpha, \beta$ -insaturés offre au carbone  $C_5$  des caractéristiques particulières, il est en position  $\gamma$  d'un amide et en position  $\alpha$  d'un azote. Ces deux positions lui donnent des réactivités distinctes. La position  $\gamma$  d'un amide  $\alpha, \beta$ -insaturés peut

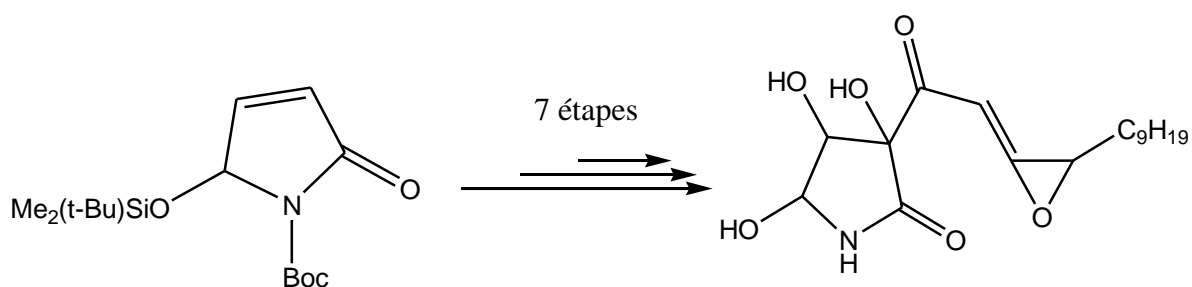
être activée en un diénolate pour une substitution avec un électrophile, ce qui donne lieu à des réactions d'aldolisation, d'alkylation ou d'addition de Michael.

La position en  $\alpha$  de l'azote acylé peut être attaquée par un nucléophile. En effet, en milieu acide, le  $\gamma$ -lactame  $\alpha, \beta$ -insaturé est en équilibre avec sa forme énamide (**Schéma 6**). Les énamides sont facilement protonables, générant des intermédiaires N-acyliminium.



**Schéma 6:** Réactivité en C<sub>5</sub> en présence d'un nucléophile.

En raison de leur caractère multifonctionnel, les  $\gamma$ -lactames  $\alpha, \beta$ -insaturés ont été les substrats de plusieurs transformations, telles que les additions, <sup>[15]</sup>les réactions decycloadditions, <sup>[16]</sup>la chimie d'ion acyliminium <sup>[17]</sup>et les substitutions allyliques. <sup>[18]</sup>Certains  $\gamma$ -lactames  $\alpha, \beta$ -insaturés sont considérés comme précurseurs de plusieurs composés biologiquement actifs, comme l'exemple de la Pramanicine un composé antifongique (**Schéma 7**). <sup>[19]</sup>



**Schéma 7 :** Synthèse de la Pramanicine

## Chapitre 2 : Travail effectué

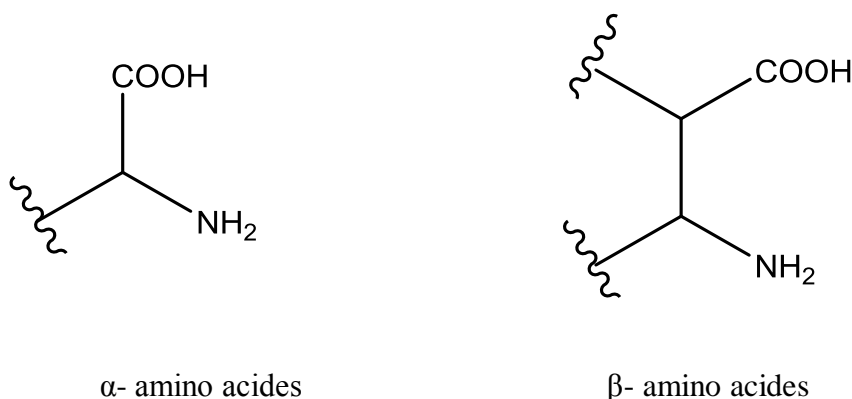
### I. Introduction

Dans le but de concevoir des composés susceptibles d'être utilisés en synthèse peptidomimétique, plusieurs structures ont été imaginées, parmi ces dernières les  $\gamma$ -lactames  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés qui offrent des fonctionnalisations variées. D'après les données bibliographiques, les  $\gamma$ -lactames  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés sont facilement accessibles à partir des amines.

Pour cela, notre travail s'est focalisé à la synthèse de ces hétérocycles lactamiques à partir des amino acides comme produits de départ afin d'arriver à des composés avec une fonction acide carboxylique, site intéressant en synthèse peptidique

Les aminoacides sont les principaux constituants d'un très grand nombre de substances biochimiques (enzymes, récepteurs, ligands, etc.). A ce titre, les chimistes sont toujours à la recherche de composés ayant une structure analogue et pouvant servir de mimes utiles comme régulateurs, modulateurs des processus biologiques. Ces analogues peuvent également être intégrés dans une molécule de plus grande taille et contribuer à son activité biologique.

Il existe plusieurs familles d'acides aminés, les plus importants sont les  $\alpha$ - aminoacides, les fonctions amines et acides carboxyliques sont portés par le même carbone, aussi les  $\beta$ - aminoacides, la fonction acide est en position  $\beta$  de la fonction amine. Ce sont les éléments constitutifs des peptides et protéines.



**Figure10** : Structures des  $\alpha$  et  $\beta$  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 sur la fonction amine, ou bien protéger la fonction amine si le travail nécessite la fonction acide carboxylique.

Dans notre travail c'est la fonction amine qui est visée dans les transformations chimiques, donc pour arriver à notre but nous avons bloqué la fonction acide carboxylique.

## II. Protection des acides aminés

Chaque groupement protecteur possède une spécificité dans la fixation et l'élimination, cela est en fonction des conditions réactionnelles. Il est souvent nécessaire de faire la protection d'une ou de plusieurs fonctions réactives présentes sur la molécule pour des transformations chimiques satisfaisantes.

### 1. Protection de la fonction amine

La fonction amine doit être protégée par un groupement stable vis-à-vis de la plupart des manipulations chimiques et qui peut être facilement enlevé dans des conditions douces. Les groupements protecteurs de la fonction amine des acides aminés les plus employés sont : le tert-butoxycarbonyle (BOC), le benzyloxycarbonyle (CBz), le 9-Fluorenylméthoxycarbonyle (Fmoc) et le phthalimido (Pht).

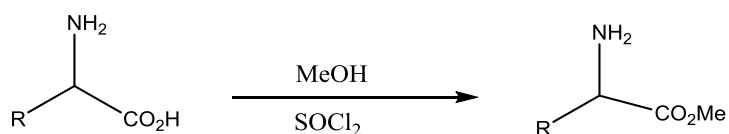
### 2. Protection de la fonction acide carboxylique :

Il existe de nombreuses méthodes de protection de la fonction acide carboxylique des aminoacides<sup>[20]</sup>, ces dernières reposent principalement sur des réactions d'estérifications<sup>[16]</sup>. Parmi les méthodes les plus utilisées, on cite celles qui impliquent les esters suivants :

#### ➤ Esters de méthyle et d'éthyle

La réaction de protection du groupement carboxyle, par conversion en ester méthylique ou éthylique correspondant, est réalisée par l'introduction du chlorure d'hydrogène sous forme de gaz sur une suspension d'acide aminé et de méthanol absolu<sup>[21]</sup>. Une autre méthode plus commode a été réalisée par Brenner et Huber<sup>[22]</sup> qui repose principalement sur l'utilisation du chlorure de thionyle pour former un chlorure d'acyle intermédiaire qui est ensuite traité avec l'alcool. La réaction se déroule à froid (**Schéma 8**).

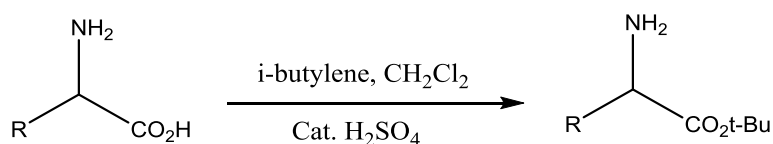
Une autre méthode peut être réalisée dans des conditions plus douces en utilisant le chlorure d'acétylène<sup>[23]</sup>.



**Schéma 8:** ester méthylique

➤ *Esters de tertio-butyle*

Les esters tert-butylés forment des entités importantes dans la synthèse de dérivés carboxyliques. L'ester tert-butylé est préparé sous catalyse acide en présence d'isobutylène, les rendements de cette méthode sont satisfaisants<sup>[24]</sup>.

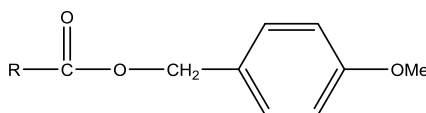


**Schéma 9:** ester de tertio-butyle

➤ *Esters de benzyle (Bzl)*

Les esters de benzyle sont très répandus en synthèse peptidique, ils peuvent être préparés directement à partir d'un alcool benzylique dans le benzène en présence d'un catalyseur acide.

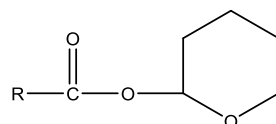
L'ester de *p*-méthoxybenzyle représente un autre exemple, qui est obtenu à partir d'un dérivé carboxylate de l'acide aminé et le bromure de *p*-méthoxybenzyle, ce groupement est très sensible en milieu acide. Il est éliminé par hydrogénation catalytique, par l'acide trifluoroacétique ou bien par l'acide formique<sup>[25]</sup>.



**Figure 11:** ester de *p*-méthoxybenzyle

➤ *Esters de tétrahydropyranne (THP)*

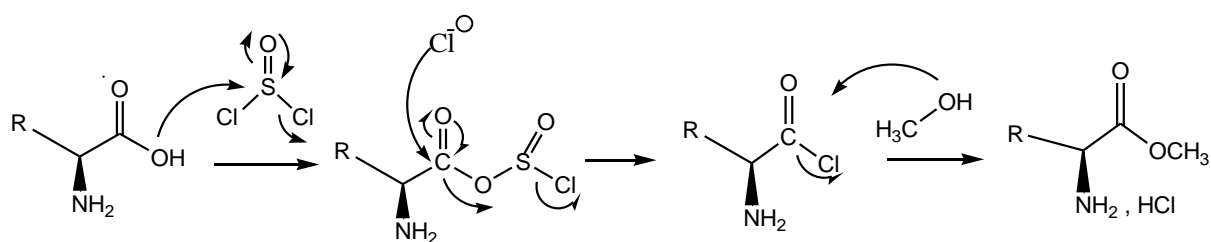
Ces dérivés sont préparés avec le dihydropyranne en présence de l'acide para toluène sulfonique dans le dichlorométhane. Le clivage de ce groupement s'effectue en utilisant un mélange d'acide acétique /tétrahydrofurane/ eau [26].



**Figure 12 :** Ester de tétrahydropyranne (THP)

### 3. Protections effectuées

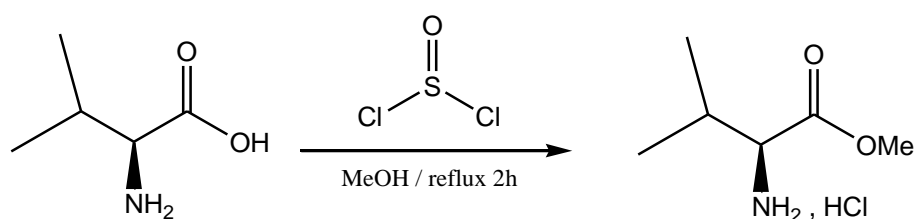
Pour atteindre notre but, nous avons commencé ce travail en bloquant la fonction acide carboxylique des aminoacides sous forme d'un ester afin de travailler sur la fonction amine. Pour cela, nous avons utilisé une méthode décrite dans la littérature basant sur une réaction d'estérification avec le méthanol et le chlorure de thionyle anhydre sous reflux de deux heures. Le mécanisme de cette réaction est décrit dans le schéma ci-dessous :



**Schéma 10 :** mécanisme de l'estérification

#### a. Estérification de la L-valine :

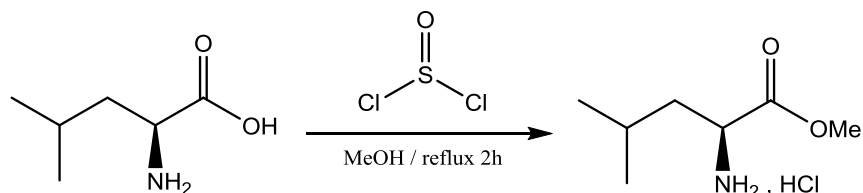
En utilisant la méthode décrite précédemment, l'ester de la L-valine obtenu sous forme chlorhydrate est obtenu avec un rendement quantitatif de 98.03 %. Le produit est un solide blanc qui a été caractérisé par son point de fusion et vérifié avec celui de la littérature. Les chlorhydrates sont des composés hygroscopiques, donc il est difficile de faire des analyses Infrarouge, disponible au laboratoire.



**Schéma 11 :** Estérification de la L-valine

**b. Estérification de la L-leucine :**

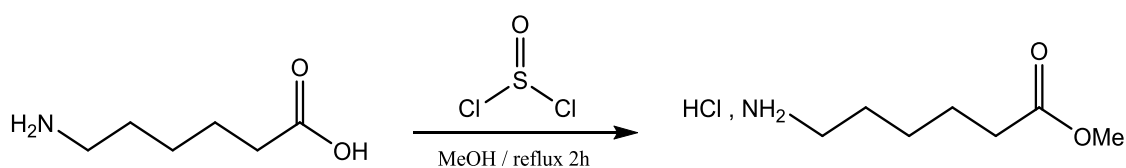
A propos de la protection de la fonction acide carboxylique de la leucine, nous avons effectué la même méthode en utilisant le chlorure de thionyle et le méthanol sous reflux de 2h, l'évaporation du solvant nous a permis d'obtenir un solide blanc avec un rendement de 80.90 %



**Schéma 12 :** Estérification de la L-leucine

**c. Estérification de l'acide aminocaproïque :**

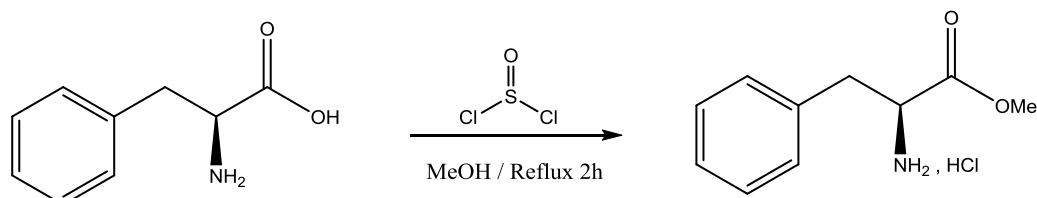
L'acide amino caproïque est aussi engagé dans cette protection de la fonction acide carboxylique. Cette réaction a été réalisée dans des conditions opératoires similaires aux précédentes. Le produit est obtenu avec un rendement 99.26 %.



**Schéma 13:** Estérification de l'acide amino caproïque

**d. Estérification de la L-phénylalanine :**

L'estérification de la L-phénylalanine a été réalisée en utilisant toujours les mêmes réactifs et dans les mêmes conditions opératoires et après l'évaporation du solvant on a obtenu un solide blanc avec un rendement de 98.47 %



**Schéma 14:** Estérification de L-phénylalanine

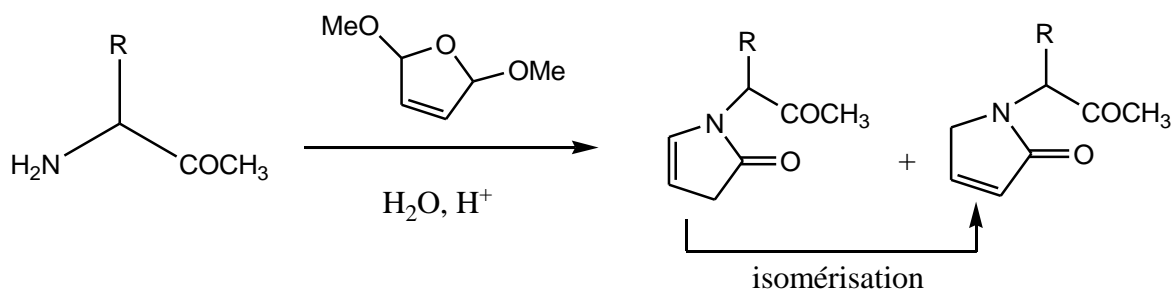
Les quatre produits obtenus dans cette étape sont des solides blancs, ces derniers ont été caractérisés par leurs températures de fusion et comparées avec celles décrites dans la littérature.

### III. Synthèse des $\gamma$ -lactames $\alpha$ , $\beta$ -insaturés

Les  $\gamma$ -lactames  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés sont connus depuis longtemps comme des véritables intermédiaires dans la synthèse des composés cycliques d'intérêt biologique. Comme c'était déjà signalé dans le chapitre précédent, l'utilisation de ces composés ouvre plusieurs perspectives en synthèse organique à cause de leurs réactivités en présence des espèces nucléophiles ainsi électrophiles.

Dans la littérature, plusieurs méthodes ont été décrites pour l'obtention des  $\gamma$ -lactames  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés, la majorité de ces approches sont basées sur des réactions de cyclisation inter ou intramoléculaire. Néanmoins, la méthode, la plus efficace et la plus rapide, est celle utilisant une réaction de condensation d'une amine primaire avec le diméthoxydihydrofurane.

Dans notre travail nous avons appliqué la méthode décrite ci-dessus pour élaborer nos  $\gamma$ -lactames  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés. La condensation a été réalisée entre un acide aminé sous forme ester méthylique et le diméthoxydihydrofurane, le choix de l'acide aminé est très important afin d'arriver à des précurseurs pour la synthèse peptidomimétique (**Schéma15**).



**Schéma 15** : préparation d'un  $\gamma$ -lactame  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturé en une seule étape.

Cette condensation est réalisée dans l'eau comme solvant en présence d'un acide et à température ambiante. Le premier produit formé est un  $\gamma$ -lactame  $\beta$ ,  $\gamma$ -insaturé qui s'isomérisse après un certain temps et selon la nature du groupement R, en un  $\gamma$ -lactame  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturé plus stable suite à une aromatisation ou un transfert d'hydrure.

## 1. Mécanisme de la condensation

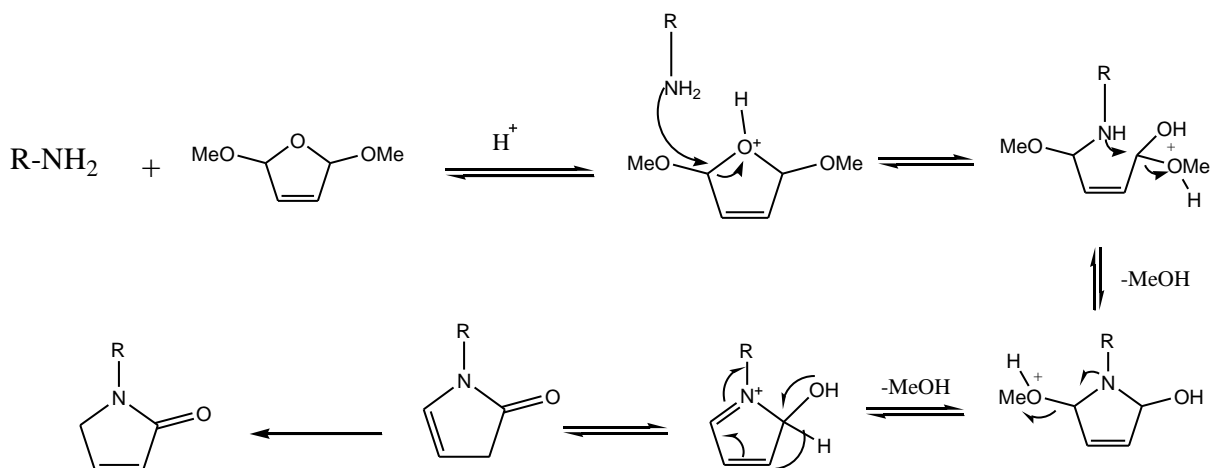


Schéma 16: Mécanisme de la condensation

## 2. Condensations effectuées

Dans cette synthèse, les  $\gamma$ -lactames  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés obtenus ont été préparés par une réaction de condensation entre les chlorures des ester méthyliques des acides aminés et le diméthoxydihydrofurane en milieu acide.

a. Avec l'ester de la L-valine :

Pour réaliser la synthèse du  $\gamma$ -lactame  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturé nous avons appliqué deux protocoles en changeant l'acide utilisé.

La première condensation a été réalisée entre le chlorure de l'ester méthylique de la L-valine avec le diméthoxydihydrofurane en présence de l'acide citrique. Nous avons obtenu un produit huileux de couleur rouge-marron avec un rendement de 52.45 %

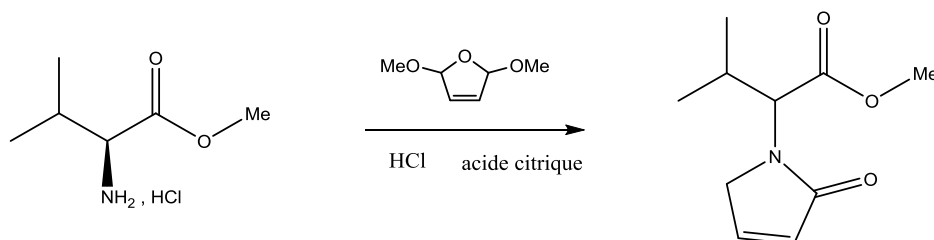
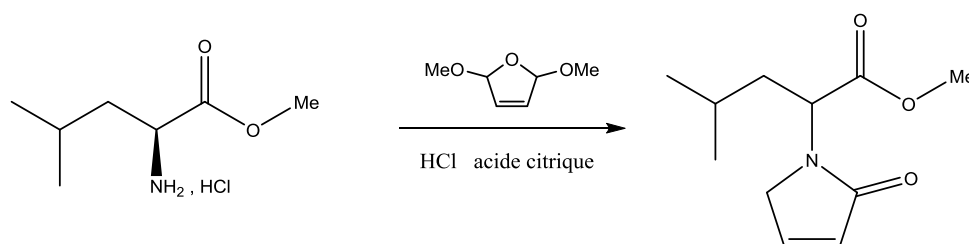


Schéma 17 : Réaction avec l'ester de L-valine

En ce qui concerne le deuxième protocole, nous avons effectué la même réaction de condensation entre le chlorhydrate de l'ester méthylique de la L-valine et diméthoxydihydrofurane mais cette fois-ci en présence de HCl. On a obtenu un produit de couleur rouge-marron avec un rendement de 62.68 %.

*b. Avec l'ester de la L-leucine :*

Le même protocole a été suivi en utilisant le chlorhydrate de l'ester méthylique de la L-leucine avec le diméthoxydihydrofurane en présence de l'acide citrique. Une huile rouge-marron a été obtenue avec un rendement de 52.15 %

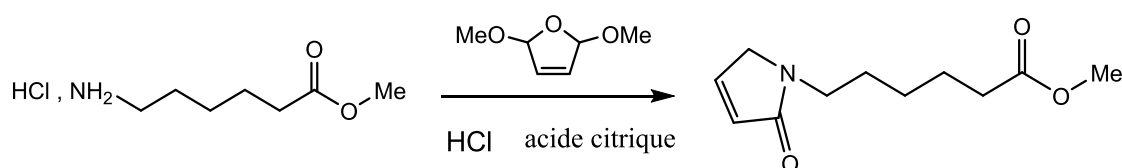


**Schéma 18 :** Réaction avec l'ester de la L-leucine

Avec le HCl le même produit est obtenu avec un rendement de 41.62 %.

*c. Avec l'ester de l'acide caproïque:*

La réaction de la condensation a été réalisée en faisant réagir le chlorhydrate de l'ester méthylique de l'acide caproïque avec le diméthoxydihydrofurane dans les mêmes conditions opératoires décrites auparavant. Le produit est obtenu avec un rendement de 57.70 %

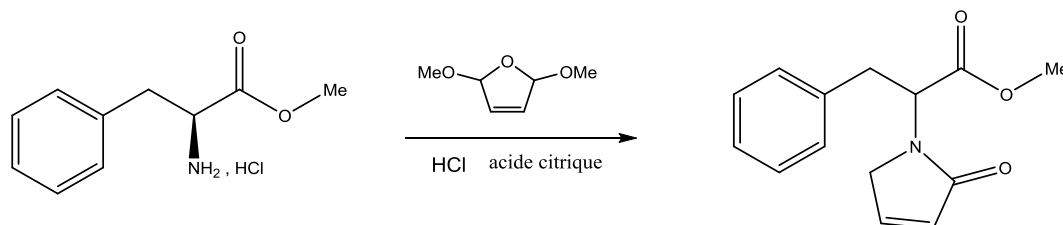


**Schéma 19 :** Réaction avec l'ester de l'acide caproïque

La condensation du chlorhydrate de l'ester de l'acide caproïque avec le diméthoxydihydrofurane en présence de HCl conduit au même produit avec un rendement de 42.26 %.

d. Avec l'ester de la L-phénylalanine :

Avec la phénylalanine comme acide aminé en présence de l'acide citrique on a obtenu un produit de couleur rouge-marron avec un rendement de 41.24 %



**Schéma 20** : Réaction de l'ester de la L-phénylalanine

La condensation en présence de HCl de l'ester de la phénylalanine a été réalisée dans les mêmes conditions opératoires. Le produit est obtenu avec 47.21 % de rendement.

Nous avons remarqué que les produits obtenus avec l'acide citrique sont plus propres que ceux obtenus avec du HCl, chose vérifiée avec chromatographie sur couche mince (CCM). Cela peut être dû aux propriétés antioxydantes de l'acide citrique qui limite la formation des produits secondaires, ces derniers sont généralement formés par l'oxydation des dérivés du diméthoxydihydrofurane.

Les rendements obtenus avec les quatre aminoacides sont peu élevés, compris entre 41 et 62 % après purification sur colonne chromatographique. Cependant, aucune amélioration n'est observée sur les rendements pour les deux protocoles utilisés, même si la réaction avec l'acide citrique semble plus propre.

En ce qui concerne l'analyse spectrale, nous avons utilisé l'infrarouge, seul appareil disponible dans notre laboratoire pour confirmer l'obtention des produits souhaités, malgré que cette dernière reste insuffisante en l'absence de la RMN. Avec l'analyse infrarouge nous avons vérifié la présence des deux bandes caractéristiques de la fonction ester et celle de la fonction amide du lactame.

### 3. *Evaluation de l'activité antimicrobienne des $\gamma$ -lactames obtenus*

La résistance croissante des pathogènes aux antibiotiques est un problème majeur de santé publique dans le monde entier. Une des solutions pour empêcher cette résistance est l'élaboration de nouveaux composés synthétiques qui ont une activité antimicrobienne. Les peptides antimicrobiens (AMPs) sont de petites molécules cationiques présentant un caractère amphiphile marqué. Ils agissent en détruisant la membrane bactérienne. Naturels ou synthétiques, ils représentent les précurseurs d'une nouvelle classe d'antibiotiques<sup>[27]</sup>

D'après la littérature, les peptides actifs sur les bactéries doivent comporter des sites hydrophobes et basiques<sup>[28]</sup>. C'est la raison pour laquelle, nous nous sommes intéressés à

Test l'activité antimicrobienne des  $\gamma$ -lactames  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés synthétisés à base des aminoacides. Afin de vérifier si ces molécules sont douées d'une activité à cause de la présence d'une fonction amide une chaîne R hydrophobe et des sites basiques.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de quatre échantillons a été réalisée sur six souches: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* selon les étapes suivantes :

- Conservation des souches
- Préparation des milieux de culture
- Antibiogramme
- Préparation de l'inoculum
- Ensemencement
- Incubation
- Lecture des résultats : cette étape a été réalisée par la mesure du diamètre, en mm, de la zone d'inhibition. Selon le diamètre mesuré, la bactérie est classée dans l'une des catégories suivantes : **Sensible**, **Intermédiaire**, ou **Résistante**.

Les résultats obtenus avec les quatre lactames synthétisés sont regroupés dans le tableau représenté ci-dessous.

	Vp (µl)				Lp (µl)				Cp (µl)				Pp (µl)			
	5	20	50	100	5	20	50	100	5	20	50	100	5	20	50	100
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S
<i>Micrococcus luteus</i>	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
<i>Bacillus cereus</i>	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Escherichia coli</i>	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	S
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S

**Tableau 1** : Résultats de l'activité antimicrobienne

**R** : Résistante      **S** : Sensible

D'après ce tableau, on peut observer que les quatre échantillons possèdent une activité antimicrobienne avec au moins deux souches de bactéries. Toutes les souches de bactéries sont sensibles avec l'échantillon 1 (Vp) et 3 (Cp) à partir de 50 µl.

L'échantillon 3(Cp) est le composé qui donne la meilleure activité, toutes les souches sont sensibles vis à vis de ce produit même à 5 µl. Par contre, le moins active c'est l'échantillon 2 (Lp), avec le quel uniquement deux souches qui sont sensibles à 50 µl.

Donc les  $\gamma$ -lactames préparés au cours de ce mémoire comme précurseurs de synthèse en chimie peptidomimétique ont révélé une activité importante sur six souches de bactéries.

En conclusion, tout ce qui a été décrit dans ce travail montre une véritable contribution à la recherche de nouveaux produits antimicrobiens de nature peptidique à partir des aminoacides.

## *Conclusion générale*

Le développement de molécules thérapeutiques de nature peptidique est relativement limité, leur faible biodisponibilité par voie orale ainsi que leur faible stabilité métabolique face à l'hydrolyse par les peptidases diminuent fortement leur durée d'action dans l'organisme. Afin de répondre aux problèmes de stabilité des peptides, le concept de peptidomimétiques est apparu.

Récemment, d'autres structures non peptidiques ont été envisagées afin d'améliorer leur stabilité métabolique et leur biodisponibilité. Ces peptidomimétiques possèdent un squelette rigide et deux prolongements présentant des fonctions acides carboxyliques et basiques. Par ailleurs, l'introduction des squelettes cycliques rigidifie le peptide et par conséquent stabiliser sa conformation sous la forme bioactive, chose importante dans la mise au point d'inhibiteurs peptidomimétiques.

Pour élaborer des précurseurs susceptibles d'être utilisés dans la synthèse des peptidomimétiques à structures cycliques, nous nous sommes intéressés à la préparation des  $\gamma$ -lactames  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturés à partir des aminoacides comme produits de départ.

Dans notre travail nous avons appliqué une méthode décrite dans la littérature sur les dérivés esters des aminoacides. Cette approche comporte une seule étape basée sur une réaction de condensation avec un réactif spécifique, le diméthoxydihydrofurane en présence d'un acide. Deux protocoles ont été utilisés sur quatre aminoacides, les produits ont été obtenus avec des rendements moyens après purification sur colonne.

Dans le but de vérifier si les produits synthétisés possèdent un intérêt biologique, nous avons essayé de tester l'activité antimicrobienne de ces derniers sur six souches de bactéries. Les résultats obtenus ont été satisfaisants avec la majorité des échantillons. Donc les  $\gamma$ -lactames préparés au cours de ce mémoire comme précurseurs de synthèse en chimie peptidomimétique ont révélé une activité importante. Cela ouvre plusieurs perspectives pour l'élaboration de nouveaux produits thérapeutiques.

## Références bibliographiques

---

- [1] R.H. Siffert ; V. J. Du Vigneaud, *Biol.Chem.* **1935**.108 : 753.
- [2] V. J. Hruby; F. Al-Obeidi; W. Kazmierski, *Biochem.***1990**, 268, 249.
- [3] Grauer, A. ; Koenig, B. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 5099.
- [4] Gante, J., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, 33, 1699.
- [5] R.A. Wiley; D.H. Rich, *Med. Res. Rev.* **1993**, 13, 327.
- [6] A.Guarna; A.Trabocchi, *Peptidomimetics in Organic and Medicinal Chemistry.* **2014**, 308.
- [7] T.P. Chellaram; S. Anand; D.Kumaran; G.Kesavan; J.Priya,*Chem. Pharm. Res.***2011**, 3(1), 154-159.
- [8] R.C. Milton; S.C. Milton; S.B. Kent. *Science*, **1992**, 256, 1445-1448
- [9] A.B. Mark. *Life Sciences*, **2006**, 78, 2343-2357.
- [10] L. Prescott; J. Harley; D. Klein. *Microbiologie. De boeck* (Ed). Bruxelles. **2003**, 1135p
- [11] T.Alst ; M. Havelkova ; M. B. Strom. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 595-606.
- [12] V. Bernades-Genisson;J.Bernadou; I. Berque-Bestel; J.D. Brion; J. Couquelet; M. Cussac; M. Debaert; O. Duval; S. Giorgi-Renault; J. Huet; R. Lacroix; J. Laronze; J.Y. Laronze; G. Le Baut; P. Loiseau; A. Nuhrich; M. Plat; J. Poisson; S. Robert- Piessard; C. Tournaire-Arellano; P. Uriac;M.Varache-Lembege. (Eds). *Traité de chimie thérapeutique - Médicaments antitumoraux et perspectives dans le traitement des cancers* Lavoisier. **2003**
- [13] G.P.Kalemkerian ;X.Ou , M.R.Adil ;R.Rosati ; M.M. Khouliani ; S.K. Madan, &G.R.Pettit. Activity of dolastatin 10 against small-cell lung cancer *in vitro* and *in vivo*: Induction of apoptosis and bcl-2 modification. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology.***1999**, 43(6), 507-515.
- [14] I. Baussanne; B. Dudot; J. Pérard-Virei; L.Planas ; J. Royer . *Arkivoc.***2006**, 57-66.
- [15] M. D. Jime´nez; R. Ortega; A. Tito; F. Farin. *Heterocycles.***1988**, 27, 173.
- [16] D. M. Cooper; R.Grigg; S. Hargreaves; P.Kennewell; J.Redpath. *Tetrahedron.***1995**, 51, 7791.
- [17] W.J. Koot; H.Hiemstra; W. N. Speckamp.*TetrahedronLett.***1992**, 33, 7969.
- [18] A. D.Cuiper; R. M. Kellogg; B. L. Feringa.*Chem. Commun.***1998**, 655.
- [19] A. G. M. Barrett; J. Head; M. L. Smith; N. S. Stock; A. J. P. White; D. J. J.Williams. *Org. Chem.* **1999**, 64, 6005.
- [20]. T.W. Greene, *Protective groups in organic syntheses*, 152.
- [21] T. Curtius; F. Goebel; J. Parket.*Chem.*, **1988**, 37(2), 150.

- [22] M. Brenner; W. Huber; *Helv.chim.Acta*, **1953**, 36,1109.
- [23] W.E. Hanby; S.G. Waley et J. Watson, *J.Chem.Soc*, **1950**, 3239.
- [24] G.S. Fonken; W.S. Johnson; *J.Am.Soc.*,**1959**, 74, 831.
- [25] G.c. Stelakatos; N. Argyropoulos, *Journal of the Chemical Society*,**1970**, 964.
- [26]. B.Loubinoux, S. Tabbache, P. Gérardin, J. Miazimbakana, *Tetrahedron*, **1988**,44, 6055.
- [27] V. Taum; J. Bolley; Lalatome. Y Barbey C Molt L. Le convy M. Royey j. Dupont N Perard-viret, *j. Eur. J, Med.Chem* **2015**, 93, 360-372
- [28] T. Hansen; T. Alst; Havelkova; M.B. Strom.*J. Med. Chem.* **2010**, 53, 595-606.

## *Partie expérimentale*

### ❖ Purification des solvants et réactifs utilisés

- a. **Méthanol** : pour aboutir au méthanol anhydre, ce dernier a été traité par Mg et I<sub>2</sub> puis distiller et conserver dans un flacon avec tamis moléculaire de 4°A
- b. **Chlorure de thionyle** : une simple distillation

### ❖ Détermination de la température de fusion :

Les points de fusion ont été déterminés à l'aide d'un banc Köfler.

### ❖ Chromatographie

#### a. Sur couche mince :

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur plaques en aluminium recouvertes de gel de silice (Merck 60 F254, épaisseur : 0.2 mm) et ont été révélées à l'aide d'une lampe UV et avec une solution de phosphomolybdane en utilisant acétate d'éthyle et Hexane comme éluant.

#### b. Sur colonne :

Les chromatographies sur colonne ont été effectuées sur du gel de silice Merck 60(0.063-0.200 mm)

### ❖ Spectrométrie Infrarouge :

Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Agilent technologies (cary 600 series FTIR spectrometere). Les composés sont greffés sur des pastilles en KBr, les fréquences d'absorption sont données en nombre d'ondes (4000-400) cm<sup>-1</sup>.

Avec un temps d'analyse de 0.25 min, résolution de 4 cm<sup>-1</sup> et un nombre de balayage 32

## 1. Purification du Méthanol 99% :

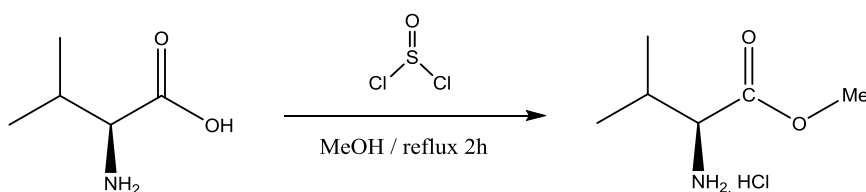
### Mode opératoire :

Dans un ballon de 1 L, on met 800 ml du méthanol (99%), on y ajoute 0.8 g d'iode et 5.6 g de Magnésium. On porte le tout à reflux jusqu'à la disparition de la couleur marron brun. Ensuite on procédera à la distillation et le distillât est recueilli sur un tamis moléculaire de 4°A.

## 2. Protection des acides aminés

### a. Estérification de L-valine :

#### ➤ Schéma réactionnel :



#### ➤ Protocole :

La L-valine (5g, 0.0426 mol) est dissoute dans 71 mL de méthanol anhydre (sec) dans un ballon tricol surmonté d'un réfrigérant muni d'une garde à CaCl<sub>2</sub> et sous courant d'azote. A 0°C le chlorure de thionyle (SOCl<sub>2</sub>) fraîchement distillé (1 éq, 3 mL) est ajouté goutte à goutte au mélange réactionnel à l'aide d'une seringue une fois l'addition terminée on laisse l'agitation environ 5 minutes ensuite le mélange est porté à reflux pendant 2 heures. Quand la réaction est terminée, on laisse le mélange refroidir et le solvant est évaporé sous vide en utilisant l'évaporateur rotatif.

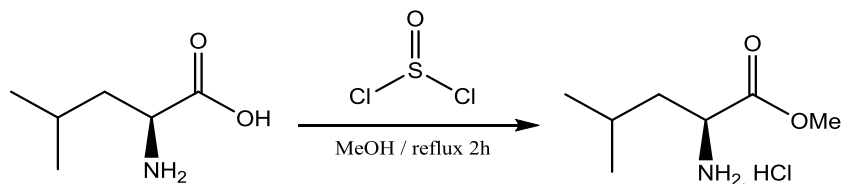
#### ➤ Résultat :

<p>La structure chimique montre le méthyle L-valinate hydrochlorure. Elle est identique à celle du produit final dans le schéma réactionnel, avec une chaîne carbonée ramifiée, un groupement amino (NH<sub>2</sub>, HCl) en configuration (S), et un groupement ester (C(=O)OMe).</p>	<p><i>Formule brute : C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>ClNO<sub>2</sub></i></p> <p><i>Masse molaire : 167.63 g /mol</i></p> <p><i>Aspect : solide blanc</i></p> <p><i>Rdt : 98.03 %</i></p> <p><i>Pf : 169 °C. litt : (171-173) °C</i></p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Le même mode opératoire est utilisé pour les autres aminoacides

b. Estérification de la leucine :

➤ Schéma réactionnel

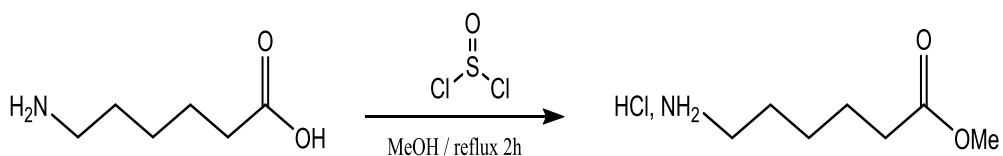


➤ Résultat :

<p><chem>CC(C)CC(N)C(=O)OC</chem></p>	<p>Formule brute : <math>C_7H_{16}ClNO_2</math></p> <p>Masse molaire : 181.66 g/mol</p> <p>Aspect : solide blanc</p> <p>Rdt : 80.90 %</p> <p>Pf : 152 °C. litt : (151-153) °C</p>
---------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

c. Estérification de l'acide aminocaproïque :

➤ Schéma réactionnel

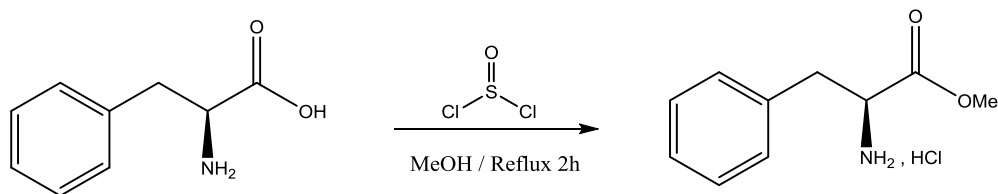


➤ Résultat :

<p><chem>NCCCCC(=O)OC</chem></p>	<p>Formule brute : <math>C_7H_{16}ClNO_2</math></p> <p>Masse molaire : 181.66g /mol</p> <p>Aspect : solide blanc</p> <p>Rdt : 99.26 %</p> <p>Pf : 122 °C. litt : (117-124) °C</p>
----------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

d. Estérification de L- phénylalanine :

➤ Schéma réactionnel



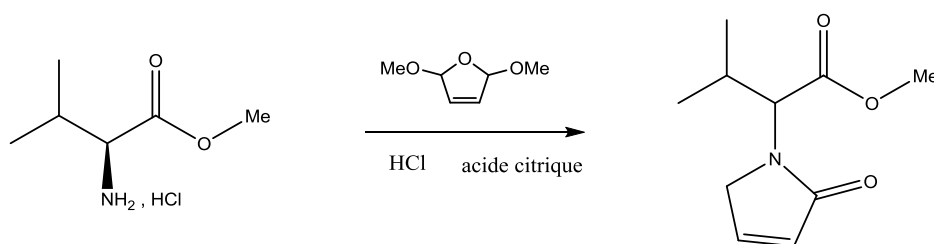
➤ Résultat :

	<p>Formule brute : <math>C_{10}H_{14}ClNO_2</math></p> <p>Masse molaire : 215.68 g/mol</p> <p>Aspect : solide blanc</p> <p>Rdt : 98.47 %</p> <p>Pf : 164 °C. litt : (158-162) °C</p>
--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### 3. Réaction de condensation

a. Réaction avec L-valine ester :

➤ Schéma réactionnel



➤ Protocole :

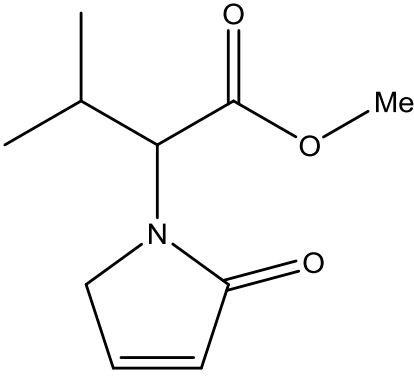
Mode opératoire : on a utilisé deux modes opératoires

➤ Procédé 1 :

Dans un ballon on dissout (2 g 0,0119 mol) de l'ester méthylique de la valine dans un volume d'eau distillée, on chauffe à 50 °C. On ajoute 1,2 g d'acide citrique et 1,4 ml de diméthoxydihydrofurane, on laisse la réaction sous agitation après on refroidit le mélange avec un bain de glace et on ajoute 3,2 g d'acétate de sodium. On laisse la réaction agiter

pendant 24h, après on passe à l'extraction avec  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , on sèche la phase organique par  $\text{MgSO}_4$ ; en fin le solvant est évaporé sous vide en utilisant l'évaporateur rotatif on obtient une huile.

➤ Résultat :

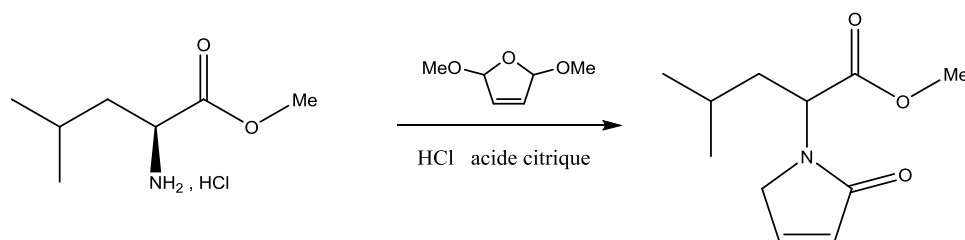
	<p>Formule brute : <math>\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}_3</math></p> <p>Masse molaire : 197.11 g/mol</p> <p>Aspect : huile rouge-marron</p> <p>Rdt : 52.45 %</p> <p>Rf : 0.38</p> <p>IR <math>\bar{\nu}</math> max(KBr) <math>\text{cm}^{-1}</math> :</p> <p>C=O (ester) <math>1740.89 \text{ cm}^{-1}</math>; C=O (amide) <math>1681.08 \text{ cm}^{-1}</math> ; <math>1243.68 \text{ cm}^{-1}</math> (C-O).</p>
-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

➤ Procédé 2 :

L'ester de L-valine (2g ; 0,0119 mol) est dissout dans 39,35 ml d'eau distillée. Le HCl1M (2,4 ml ; 2,4 mmole ; 0,2 éq.) puis le 2,4-diméthoxydihydrofurane (28 ml ; 11,92 mmole ; 1 éq.) sont ajoutés et l'agitation est maintenue pendant 24h à t.a. Le  $\text{NaHCO}_3$  est ajouté à  $0^\circ\text{C}$  au mélange sous agitation jusqu'à pH basique (5,68 g de  $\text{NaHCO}_3$ ) puis le mélange est extrait 3 fois au DCM. La phase organique est séchée sur  $\text{MgSO}_4$  anhydre et concentrée sous vide avec un rota vapeur. Une huile rouge est obtenue avec un rendement : 62,68 %.

b. Réaction avec L-leucine ester :

➤ Schéma réactionnel



➤ Protocole :

On a utilisé le même mode opératoire décrit précédemment.

➤ Procédé 1

L-leucine : 2g ; 0.0110 mol ; 22 ml d'eau distille ; 1,2 g d'acide citrique ; 1,3 ml de diméthoxydihydrofuranne et 3,2 g d'acétate de sodium

➤ Résultat :

<p>Chemical structure of the product: a cyclic amide derivative of L-leucine methyl ester.</p>	<p>Formule brute : C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub></p> <p>Masse molaire : 211.12 g/mol</p> <p>Aspect : huile rouge-marron</p> <p>Rdt : 34.56 %</p> <p>Rf : 0.45</p> <p>IR <math>\bar{\nu}</math> max(KBr) cm<sup>-1</sup> : C=O (ester) 1741.95 cm<sup>-1</sup> ; C=O (amide) 1687.07 cm<sup>-1</sup> ; 1242.19 cm<sup>-1</sup> (C-O).</p>
------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

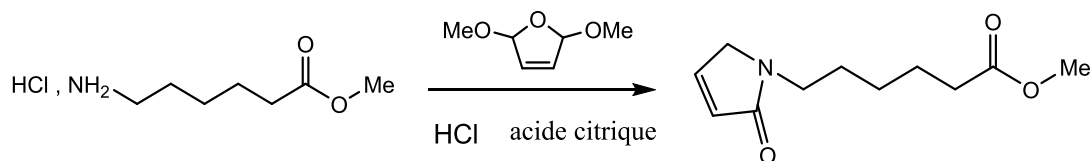
➤ Procédé 2 :

L-leucine : 2g ; 0.0110 mol ; 39 ml d'eau distille ; 2,2 ml de HCl ; 1,3 ml de diméthoxydihydrofuranne et 4.26 g de NaHCO<sub>3</sub>

Après purification par chromatographie sur colonne on obtient un rendement de 34.56%

c. Réaction avec l'acide aminocaproïque ester :

➤ Schéma réactionnel

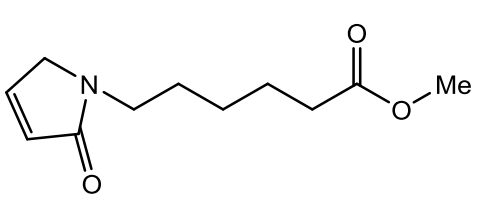


➤ Protocole :

➤ Procédé 1

L'acide aminocaproïque ester : 2g ; 0.0110 mol ; 22 ml d'eau distille ; 1,2 g d'acide citrique ; 1,3 ml de diméthoxydihydrofurane et 3,2 g d'acétate de sodium avec 24h d'agitation

➤ Résultat :

	<p>Formule brute : C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub></p> <p>Masse molaire : 211.12 g/mol</p> <p>Aspect : huile rouge-marron</p> <p>Rdt : 42.26 %</p> <p>Rf : 0.19</p> <p>IR <math>\bar{\nu}</math> max(KBr) cm<sup>-1</sup> : C=O (ester) 1735.42 cm<sup>-1</sup>; C=O (amide) 1664.96 cm<sup>-1</sup> ; 1246.84 cm<sup>-1</sup> (C-O).</p>
-------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

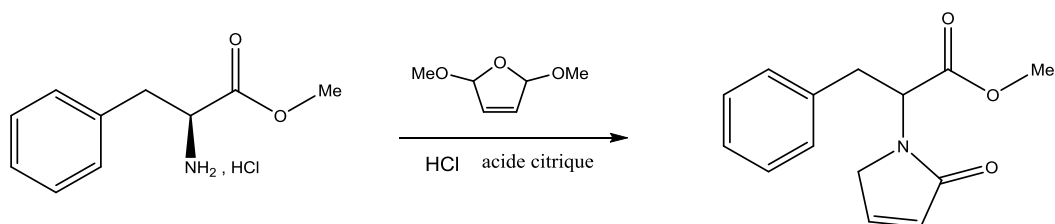
➤ Procédé 2 :

L'acide aminocaproïque ester : 2g ; 0.0110 mol ; 39 ml d'eau distille ; 2,2 ml de HCl ; 1,4 ml de diméthoxydihydrofurane et 2.77 g de NaHCO<sub>3</sub>.

Après évaporation du solvant une huile rouge-marron est obtenue. Et après purification sur colonne on obtient un rendement de 42.26 %.

d. Réaction avec L-phénylalanine ester :

➤ Schéma réactionnel



➤ Protocole :

Même mode opératoire décrit précédemment.

➤ Procédé 1 :

L-phénylalanine ester : 2g ; 0.0121 mol ; 22 ml d'eau distille ; 1,2 g d'acide citrique ; 1,5 ml de diméthoxydihydrofurane et 3,2 g d'acétate de sodium sous 24h d'agitation

➤ Résultat :

<p>Structure chimique du produit final : un dérivé de L-phénylalanine ester où le groupement amine a réagi avec le cycle du dihydrofurane pour former un cycle pyrrolidone.</p>	<p>Formule brute : <math>\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{NO}_3</math></p> <p>Masse molaire : 245.11 g/mol</p> <p>Aspect : huile rouge-marron</p> <p>Rdt : 41.24 %</p> <p>Rf : 0.34</p> <p>IR <math>\bar{\nu}</math> max (KBr) <math>\text{cm}^{-1}</math> : C=O (ester) 1741.60 <math>\text{cm}^{-1}</math>; C=O (amide) 1688.48 <math>\text{cm}^{-1}</math> ; 1242.17 <math>\text{cm}^{-1}</math> (C-O).</p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

➤ Procédé 2 :

L-phénylalanine ester : 2g ; 0.0121 mol ; 39 ml d'eau distille ; 2,4 ml de HCl ; 1,5 ml de diméthoxydihydrofurane et 2.40 g de  $\text{NaHCO}_3$ .

Après évaporation du solvant une huile rouge-marron est obtenue avec un rendement de 47.21%.

#### 4. **Activité antimicrobienne**

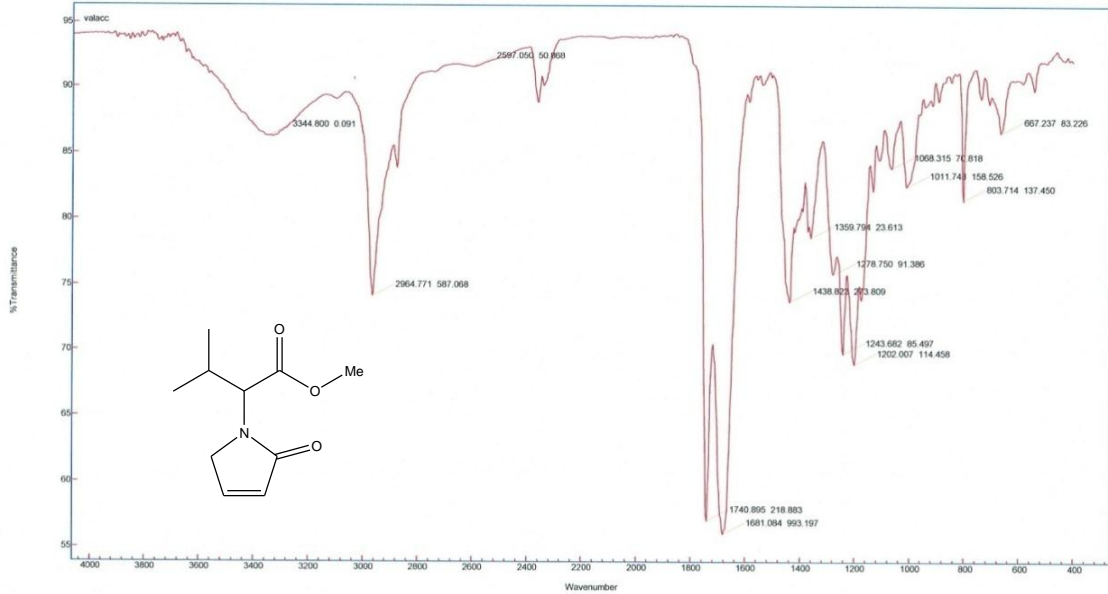
Dans des boîtes de Pétris stériles coulées par des milieux Müller Hinton (milieux de culture) pour les bactéries. On a utilisé six bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*

Les microorganismes sont conservés par ensemencement des souches isolées sur gélose nutritive en tubes à essais, les cultures pures sont conservées à + 4°C à l'obscurité, puis écouvillonnées sur la surface des géloses à l'aide d'un écouvillon contenant une charge de  $10^8$  UFC/ml préparé à l'aide d'un colorimètre.

La densité optique doit être de 0.08 à 0.1 mesurée à 625 nm afin d'avoir cette concentration, puis des disques de papier filtre stérile de 6 mm de diamètre, imprégnés de 5, 20, 50, 100 µl de différents échantillons ont été déposés stérilement sur la surface des milieux, préalablement ensemencée. Après incubation de 24 h à  $37 \text{ °C} \pm 1$ , la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre, en mm, de la zone d'inhibition. Selon ce diamètre, on classe la bactérie dans l'une des catégories : **Sensible**, **Intermédiaire**, ou **Résistante**.

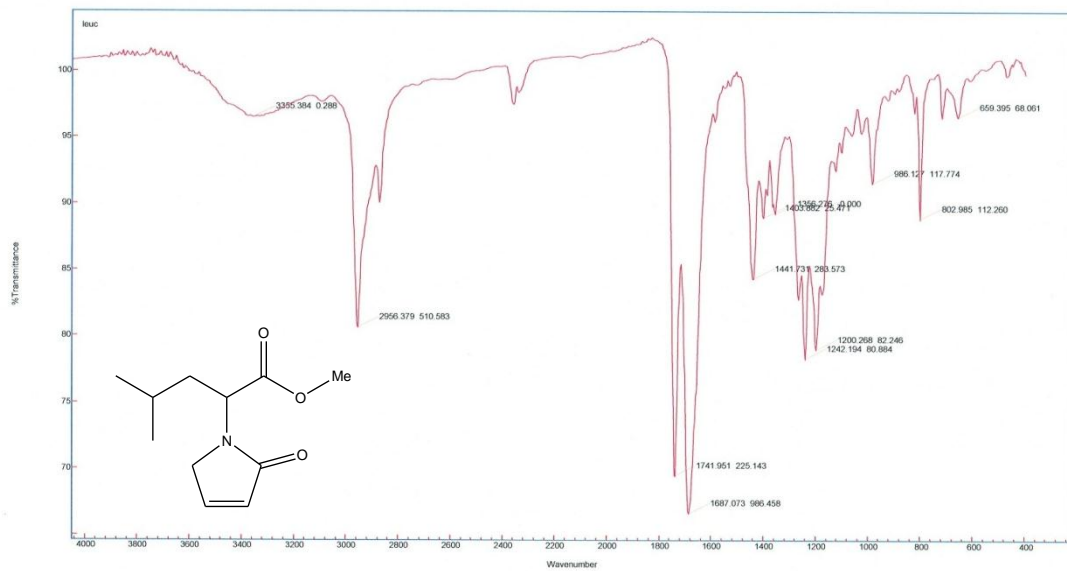
# Annexe

## Agilent Resolutions Pro



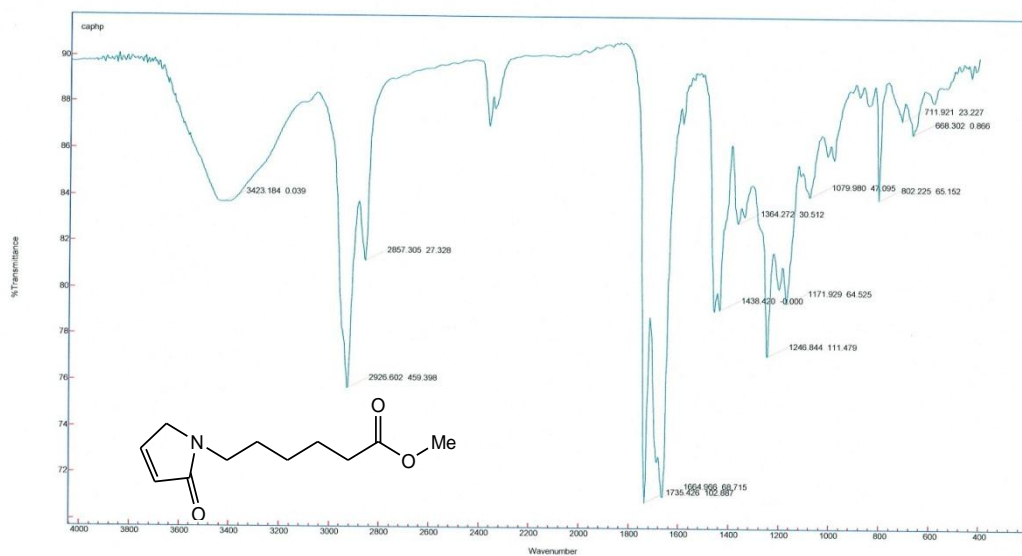
Name
valacc

## Agilent Resolutions Pro



Name
leuc

Agilent Resolutions Pro



Name	caphp
------	-------

Agilent Resolutions Pro



Name	Phe acc
------	---------

## Résumé :

Le sujet de ce mémoire porte sur la préparation d'un  $\gamma$ -lactame  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturé, intéressant intermédiaire en synthèse peptidomimétique à partir des aminoacides. Ces produits ont été obtenus en deux étapes : la première consiste en une protection de la fonction acide carboxylique de l'acide aminé sous forme d'un ester afin d'utiliser la fonction amine dans la suite réactionnelle. La deuxième étape concerne une condensation de l'ester obtenu avec le diméthoxydihydrofurane en présence d'un acide, des rendements moyens ont été observés. Les lactames obtenus élaborés dans ce travail comme précurseurs ont montré une activité antimicrobienne importante avec six souches de bactéries.

**Mots clés :** aminoacides, peptidomimétiques,  $\gamma$ -lactame  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturé, peptides antimicrobiens

## Abstract:

The subject of this thesis focuses on the preparation of a  $\gamma$ -lactam  $\alpha$ ,  $\beta$ -Unsaturated, interesting intermediary in peptidomimetic from the amino acids synthesis. These products were obtained in two steps: the first is protection of carboxylic acid of amino acids in the form of an ester function in order to use the function amine reactive later. The second step is a condensation of the ester obtained with the dimethoxydihydrofurane in the presence of an acid, average yields were observed. The obtained lactams developed in this work as precursors have shown an important antimicrobial activity with six strains of bacteria.

**Key words :** amino acids, peptidomimetics,  $\gamma$ -lactam  $\alpha$ ,  $\beta$ -Unsaturated, antimicrobial peptides

## ملخص:

موضوع هذه المذكرة هو إعداد  $\gamma$ -lactame  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturé وسيط مهم في إعداد peptidomimétique من الأحماض الأمينية وتم الحصول على هذه المواد في خطوتين: الأولى وهي حماية حمض الكربوكسيليك على شكل استر من أجل استعمال الأمين في التفاعلية اللاحقة والخطوة الثانية هي تكثيف الاستر مع (dimethoxydihydrofurane) بوجود حمض مع الحصول على مردود متوسط. Lactames المتحصل عليها في هذا العمل أظهرت نشاط بكتيري هام مع ستة سلالات من البكتيريا.

**الكلمات المفتاحية :** الأحماض الأمينية، بيبتيوميميتيكس، ببتيدات مضادات الميكروبات

