

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ ABOU BAKR BELKAID - TLEMCEM



Faculté des sciences
Laboratoire de Chimie Organique Substances
Naturelles et Analyses - COSNA -

MEMOIRE DE MASTER

Discipline : Chimie Bio Organique Et Thérapeutique

Présentée par :

Mourad MESMOUDI



**SYNTHÈSE DES ANALOGUES STRUCTURAUX DU PMS 1109
À DOUBLE ACTIVITÉ :
ANTI-HIV ET ANTI-PAF**

Soutenue le : 10 juin 2009 devant le jury composé de:

Dr. A. ATMANI	Président	Université AbouBakr Belkaid Tlemcen
Pr. B. TABTI	Examineur	Université AbouBakr Belkaid Tlemcen
Pr. S. GHALEM	Examineur	Université AbouBakr Belkaid Tlemcen
Pr. K. MULENGI	Examineur	Université AbouBakr Belkaid Tlemcen
Dr. H. ALLALI	Examineur	Université AbouBakr Belkaid Tlemcen
Dr. Z. ARRAR	Examineur	Université AbouBakr Belkaid Tlemcen
Pr. O. BENSALD	Encadreur	Université AbouBakr Belkaid Tlemcen



Inscrit Se
Date le 02/11/2009
Code: 3832

Il y a des personnes qui ne peuvent pas être oubliées, même s'ils ont dans l'autre monde et même si j'arrive à atteindre mes rêves, il n'y en a qu'une :

Kheira MESMOUDI

Dite : Hbibba



Cinq mois que tu nous as quitté, ces mois n'ont pas apaisé notre douleur ni effacé notre peine, bien au contraire, ils nous ont démontré à quel point la vie est dure sans ta présence, ta tendresse et ta générosité. Durant ces tristes mois sans toi, la vie nous a révélé à quel point tu étais notre soutien, notre espoir et notre courage. Cet immense vide que tu as laissé, nul ne peut le combler, seule notre foi en dieu nous aide à la surmonter. « HABIBA », nous pleurons et pleurerons toujours ta perte, tu resteras vivante à jamais dans nos cœurs. Ton frère Mourad t'offre ce mémoire. Repose en paix HABIBA, que ton repos soit aussi doux que le fut ton cœur.

Que Dieu le Tout-Puissants t'accueille en son vaste paradis.

Ton frère Mourad



Remerciements

Ce travail de recherche a été effectué dans le Laboratoire de Chimie organique, substances naturelles et analyses (COSNA).

Je remercie le Pr. Joseph KAJIMA MULENGI pour m'avoir accueilli dans son laboratoire. Ce travail n'aurait pas pu se faire sans son aide précieuse, sa patience, sa gentillesse, ses compétences en chimie et son professionnalisme. Ses encouragements, associés aux moyens matériels dont j'ai disposés, m'ont permis de mener à bien la recherche présentée dans ce rapport. C'est pourquoi je lui exprime ma plus grande gratitude.

Je remercie le Pr. Okkacha BENSALD qui a encadré ce travail de toutes ses connaissances précieuses en chimie et de toute sa gentillesse. Je le remercie d'avoir été patient à mon égard, d'avoir su me guider dans ce travail, d'avoir été présent chaque fois que j'en avais besoin. Sa grande culture en chimie des hétérocycles a été une source de solutions pour tous les problèmes qui se sont présentés durant ces quelques mois. Enfin, je le remercie pour avoir toujours été disponible, dans les bons comme dans les mauvais moments.

Je remercie le Dr Abdelkrim ATMANI d'avoir accepté de juger mon travail. Je suis très touché de sa participation et lui prie de recevoir le témoignage de ma respectueuse considération.

Je souhaite remercier Monsieur GHALEM Saïd Professeur à l'Université de AbouBakr Belkaid de Tlemcen et Monsieur Boufeldja TABTI Professeur à de l'honneur qu'ils me font en acceptant de juger ce travail et de participer à la commission d'examen, malgré leurs emplois du temps très chargés. Je les remercie vivement.

Je tiens également à témoigner de ma gratitude à Dr Z. ARRAR pour m'avoir fait l'honneur de participer à mon jury de mémoire et d'éclairer ce travail de leurs commentaires.

Je remercie également le Dr H ALLALI pour avoir accepté d'être membre de mon jury. C'est pour moi un honneur et un privilège de leur présenter mon travail de recherche. Je leur exprime ma plus grande gratitude et mon plus profond respect.

Je souhaiterais rendre hommage à Ridha HSSAINE, qui a su au quotidien dépasser mon pessimisme latent pour m'aider à faire progresser ce travail. Leur enthousiasme communicatif, leur curiosité, leurs critiques constructives ainsi que leur disponibilité ont permis que ce mémoire se déroule dans les meilleures conditions possibles.

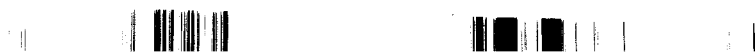
J'aimerais ensuite remercier Mr BENDIABABEDLLAH Djamel pour la réalisation des tests analyses infrarouge de nos molécules.

Je présente enfin mes amitiés à tous les étudiants qui ont travaillé dans ce laboratoire, durant cette période, et à tous les doctorants ou ex-doctorants de notre laboratoire, que j'ai eu le plaisir de rencontrer. Ils ont fait de ce mémoire un travail très intéressant et agréable et m'ont beaucoup apporté sur le plan humain.

REMERCIEMENTS	2
ABREVIATIONS.....	4
INTRODUCTION GENERALE.....	6
CHAPITRE 1 : SITUATION DU TRAVAIL	10
I. Le virus de l'immunodéficience humaine	12
I.1. Historique.....	8
I.2. Structure du VIH.....	9
I.3. Le cycle biologique du VIH.....	10
A. Phase pré-intégrative	10
A.1. Reconnaissance, fusion et entrée du virus dans la cellule hôte	10
A.2. La décapsidation.....	11
A.3. Rétrotranscription et intégration	11
B. La phase post-intégrative	12
B.1. Expression de l'ADN intégré	12
B.2. Assemblage-libération-maturation	13
I.4. Cellules cibles et physiopathologie.....	14
I.5. Médication actuelle et nouvelles perspectives.....	14
I.5.1 Les inhibiteurs de la transcriptase inverse	15
a. Les inhibiteurs nucléosidiques.....	15
b. Les inhibiteurs non nucléosidiques	16
c. Les inhibiteurs nucléotidiques	17
I.5.2 Les inhibiteurs de la protéase virale.....	17
I.5.3 Les inhibiteurs d'entrée.....	18
a. Les inhibiteurs de fusion.....	18
b. Les agonistes des corécepteurs.....	19
I.5.4 Les autres inhibiteurs en développement	19
I.5.5 Les approches vaccinales	20
I.6. Conclusion partielle.....	21



II.	Le facteur d'activation des plaquettes PAF.....	22
II.1.	Généralités.....	22
II.2.	Métabolisme	23
II.3.	Les effets du PAF	23
II.4.	Les antagonistes du récepteur du PAF	24
II.4.1.	Antagonistes analogues à la structure du PAF	24
II.4.2.	Antagonistes non analogues à la structure du PAF.....	25
II.5.	Conclusion partielle.....	25
III.	Implication du PAF dans l'infection par le VIH.....	26
III.1.	L'infection du système nerveux central SNC par le VIH	26
-	Caractéristiques.....	26
-	Causes et mécanismes.....	26
1.	Les médiateurs cellulaires	26
2.	<i>Les protéines virales</i>	26
III.2.	La neuropathogénèse induite par le PAF	28
IV.	Objectifs de travail	29
IV.1.	Problématique	29
IV.2.	Des études antérieures.....	29
IV.3.	Contribution	30
V.	Références bibliographiques	33
CHAPITRE 2 : SYNTHÈSE D'ANALOGUE DU PMS 1109.....		40
I.	Introduction	40
II.	Stratégies de synthèse.....	40
III.	Les étapes de la synthèse.....	42
III.1.	Cyclisation : <i>Synthèse de 1,4-dibenzyl-2-cyanopipérazine 1</i>	41
III.2.	Réduction :	
Préparation de la 1,4-dibenzyl-2-(aminométhyl) pipérazine 3.....		43
.....		



III.3. Préparation de l'acide aminé protégé :	
Synthèse de N-phtalimidoglycine <u>4</u>	44
III.4. Activation de l'acide aminé protégé :	
Synthèse de chlorure N-phtalimidoglycine <u>5</u>	45
III.5. Amidification :	
Synthèse de N-((1,4-dibenzylpipérazin-2-yl) méthyl)-2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)acétamide <u>6</u>	46
III.6. Débenzylation :	
Synthèse de -(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-N-(pipérazin-2-ylméthyl)acétamide <u>7</u>	47
III.7. Amidification :	
Synthèse de N-((1,4-bis(3,4,5-triméthoxybenzoyl) pipérazin-2-yl)méthyl)-2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)acétamide <u>8</u>	47
III.8. Déprotection de l'acide aminé :	
Synthèse de 2-amino-N-((1,4-bis(3,4,5-triméthoxybenzoyl) pipérazin-2-yl) méthyl) acétamide <u>9</u>	48
Partie expérimentale	50
Techniques expérimentales	50
Modes opératoires	51
IV. Références bibliographiques	57
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	59



ABRÉVIATIONS

Biologie

<i>AZT</i>	3'-AZido-2',3'-didésoxyThymidine
Gp	glycoprotéine
INNTI	Inhibiteur Non Nucléosidique de la Transcriptase Inverse
INTI	Inhibiteur Nucléosidique de la Transcriptase Inverse
INTI	Inhibiteur Nucléotidique de la Transcriptase Inverse
IP	Inhibiteur de la Protéase
MDM	Macrophage Dérivés de Monocytes
PAF	Facteur d'Activation des Plaquettes
PAF-AH	PAF-Acétyl Hydrolase
SIDA	Syndrome d'Immuno Déficience Acquise
SCN	Système Nerveux Central
Tat	« Transactivator of Transcription »
TI	Transcriptase Inverse
TNF	Facteur Nécrosant des Tumeurs
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
Nef	Negative early factor
Vpr	Protéine virale R
Vif	viral infectivity facto
Vpu	viral protein U
ARN	Acide Ribo Nucléique
ADN	Acide Désoxyribo Nucléique
BHE	Barrière Hémato Encéphalique
CXCR	Récepteurs des α -chimiokines.
<i>PNAs</i>	<i>Phosphonates nucléosidiques acycliques.</i>

Molécules Chimiques

TEA *Triéthylamine*

Groupements Chimiques

Bzl *Benzyle*
Cbz *Benzyloxycarbonyle*
Ar *Aromatique ou Aryle*
Boc *tert-butoxycarbonyle*
Me *Méthyle*
Ac *Acétyle*

Divers

IR *Infrarouge*
CCM *Chromatographie sur Couche Mince*
Pd/C *Palladium sur charbon*
Pf *Point de fusion*
Rdt *rendement*
Cat. *Catalytique*

CHAPITRE I :

SITUATION DU TRAVAIL

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Dans cette partie d'introduction, nous présenterons différentes notions nécessaires à la compréhension du sujet. Ainsi, nous définirons quelques éléments incontournables de biologie et de chimie pour justifier le sujet de recherche abordé dans ce travail. Ces généralités traiteront, dans un premier temps, le virus de l'immunodéficience humaine, dans le but d'introduire le concept de biologie virale. Nous traiterons ensuite le facteur d'activation plaquettaire PAF, ainsi leurs antagonistes et les études de relation structure/activité qui ont été démontrées sur leurs récepteurs.

Notre laboratoire s'intéresse depuis de nombreuses années à l'utilisation de composés hétérocycliques à base de l'azote dans le cadre de la recherche des nouvelles approches thérapeutiques. En effet, leur potentiel cytotoxique ou inhibiteur, peut être bénéfique dans la lutte contre de nombreuses maladies. Le laboratoire s'inscrit précisément dans le domaine de la chimie bio-organique utilisée à des fins thérapeutiques. Son objectif est de synthétiser des analogues de molécules d'intérêt biologique comportant un groupe cytotoxique tel que les aziridines, ou de pipérazine trisubstituée. Ces molécules seraient susceptibles de traiter plusieurs formes de cancers, SIDA, l'inflammation... etc.

Dans le cas du SIDA, de nombreux travaux ont été effectués et publiés dans la littérature. Par exemple, le PMS 601, PMS 1109 et leurs analogues ⁽¹⁾, ont été découverts. Ce sont des ligands possédant un effet anti VIH et même anti PAF. Partant de cette découverte, le laboratoire s'est intéressé à la synthèse de dérivés pipéraziniques de ces molécules. En effet, leur utilisation en chimie bio-organique permet d'envisager des molécules plus actives, le pipérazine trisubstitué entrant via des mécanismes encore mal connus, menant à la destruction de virus du SIDA.

De nombreux travaux ont été réalisés au laboratoire pour exalter cette propriété. En effet, différentes molécules organiques ont récemment été développées (Figure 1). Ce sont des analogues très actifs. Ils ont montré, sur des cellules *in vitro*, des résultats prometteurs contre le VIH et l'inflammation.

Ce rapport présente la synthèse de l'un des analogues. Nous avons développé une synthèse d'analogues PMS 1109.

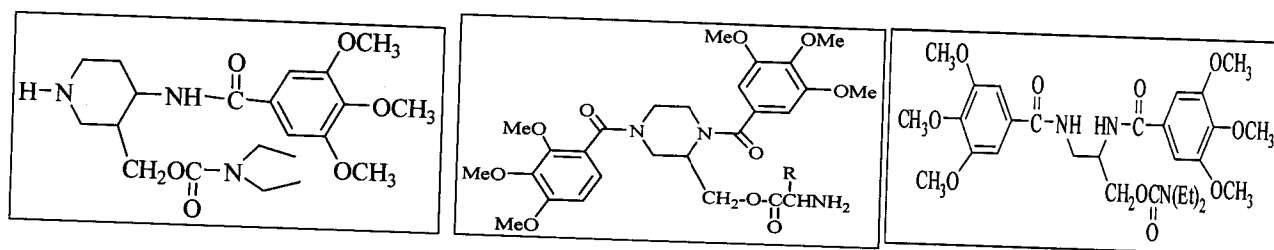


Figure 1 : Exemples d'analogues du PMS 601 et PMS 1109 développés au laboratoire

CHAPITRE 1 : SITUATION DU TRAVAIL

I. Le virus de l'immunodéficience humaine :

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est un micro-organisme qui infecte les cellules saines et fabrique des copies de lui-même pour se propager. Ce qui distingue le VIH des autres virus, c'est qu'il s'attaque au système immunitaire en prenant le contrôle des cellules CD4. Ces dernières ont pour rôle de coordonner la réponse immunitaire lorsqu'un virus se présente, afin qu'il soit neutralisé. Lorsque le VIH utilise les cellules CD4 pour se propager, il les endommage et les détruit. Ce faisant, il mine de l'intérieur le système immunitaire qui a pour rôle de le combattre. L'infection au VIH persiste toute la vie.

1.1. Historique :

La découverte de l'HIV-1, sous le nom de LAV en 1983, revient à Françoise BARRÉ-SINOSSI, Jean-Claude CHERMANN et à leurs Collègues Cliniciens, Virologistes et Immunologistes œuvrant autour de Luc MONTAGNIER de l'Institut Pasteur. Le virus «découvert» l'année suivante par Robert GALLO n'était autre que cette même souche, reçue de L. MONTAGNIER ⁽²⁾. En 1986, le VIH-2 est découvert ⁽³⁾.

Le premier médicament antirétroviral agissant sur le VIH, l'AZT, est découvert en 1985 ⁽⁴⁾ et commercialisé aux USA dès 1987. Le premier traitement destiné à réduire les risques de transmission mère-enfant est développé en 1994. A partir de 1996, l'introduction de nouvelles classes de médicaments mène à l'abandon des traitements classiques au profit des multithérapies (Highly Active AntiRetroviral Therapy, ou HAART) ⁽⁵⁾, qui combinent plusieurs types de molécules actives contre le VIH. Ces avancées ont un impact majeur sur l'espérance de vie et la qualité de vie des patients, sans pour autant permettre leur guérison. A ce jour, dix inhibiteurs de la rétrotranscriptase sont approuvés par la FDA, trois de type non nucléosidiques (NNRTI) : Névirapine, Délavirdine, Efavirenz et sept inhibiteurs nucléosidiques ou nucléotidiques (NRTI) : Zidovudine (AZT), Didanosine (ddI), Zalcitabine (ddC), Lamivudine (3TC), Stavudine (d4T), Abacavir Succinate (ABC) et Viread (Tenofovir). Six anti-protéases sont également disponibles : Saquinavir, Indinavir, Ritonavir, Nelfinavir, Amprenavir, Lopinavir. Une dernière génération d'inhibiteurs est utilisée : les inhibiteurs de fusion (T20).

I.2. Structure du VIH :

Il comporte, de l'extérieur vers l'intérieur, une enveloppe membranaire dont la bicouche lipidique provient de la membrane cytoplasmique et se trouve hérissée de spicules glycoprotéiques. Celles-ci comportent une partie interne, la gp41 ou glycoprotéine transmembranaire et une partie externe, la gp120. La face interne de l'enveloppe est tapissée d'une matrice protéique faite de la p17. La capside virale en forme de cône tronqué est faite de p24. À l'intérieur se trouve l'ARN, entouré de la protéine de nucléocapside.

La transcriptase inverse (TI) ou RT pour rétro-transcriptase (ou en anglais reverse transcriptase), qui intervient en début de cycle, est à l'intérieur de la capside, associée à une intégrase (IN, enzyme nécessaire à l'intégration de l'ADN proviral dans l'ADN cellulaire) et à une protéase (PR). Ces 3 enzymes sont des cibles potentielles pour la chimiothérapie antirétrovirale ⁽⁶⁾.

L'ARN viral se trouve en deux exemplaires, sans qu'on sache la raison de cette diploïdie. Le génome viral comporte en plus des gènes classiques de structure qui sont les gènes gag, pol et env, des gènes de régulation qui ont un rôle essentiel dans le pouvoir pathogène du virus : parmi ces derniers tat, rev et nef ont été les premiers étudiés ⁽⁷⁾.

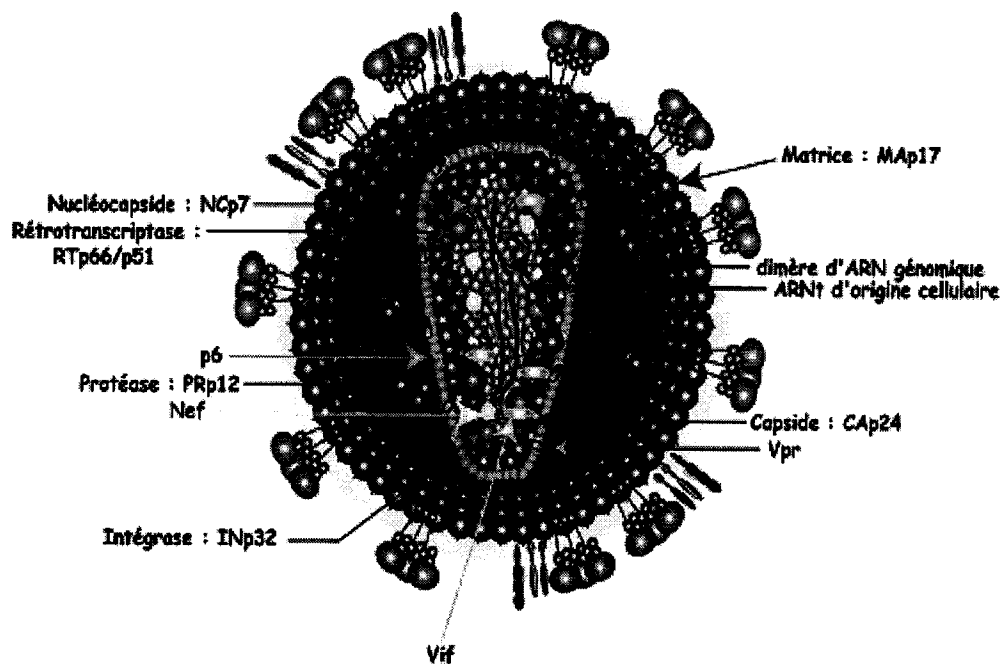


Figure 2 : Structure de la particule virale infectieuse du VIH-1.
Représentation schématique indiquant les constituants d'une particule virale mature.

I.3 Le cycle biologique du VIH :

Le cycle répliatif du VIH-1 peut se décomposer en deux phases :

-Une première phase, **pré-intégrative**, qui correspond aux étapes de fixation et d'entrée du virus dans la cellule hôte, à sa décapsulation suivie de la rétrotranscription de l'ARN viral en un ADN proviral qui sera transporté dans le noyau afin d'être intégré dans le génome de la cellule hôte.

-Une phase **post-intégrative**, comprenant la transcription du provirus intégré, la traduction des protéines virales, l'assemblage, le bourgeonnement et la maturation des virions (8,9).

Trois caractéristiques sont à mettre en avant :

1. l'HIV a une affinité obligatoire pour les cellules portant la molécule CD4, qui vont répliquer le virus, mais il lui faut aussi trouver une deuxième molécule cellulaire, le corécepteur (CXCR4 ou CCR5). Il existe trois types de cellules cibles : les lymphocytes CD4+, les monocytes-macrophages et les cellules dendritiques.
2. un taux très élevé de mutations survient pendant la rétrotranscription.
3. le progénome ou ADN proviral, au-delà de son intégration dans le génome cellulaire par l'intégrase virale, est transcrit par l'appareil de transcription de l'hôte, comme le seraient d'autres gènes cellulaires. Cependant cette expression du progénome viral est sous le contrôle de facteurs cellulaires (le NF-kappa B par exemple) et viraux, ces derniers étant les protéines de régulation de l'HIV.

A. Phase pré-intégrative (Figure 4) :

A.1. Reconnaissance, fusion et entrée du virus dans la cellule hôte :

L'interaction de la gp120 avec le corécepteur va permettre de démasquer la gp41 qui va s'insérer dans la membrane cellulaire et fusionner avec elle. Cette fusion crée un passage permettant à la nucléocapside virale de se retrouver à l'intérieur du cytoplasme cellulaire⁽¹⁰⁾.

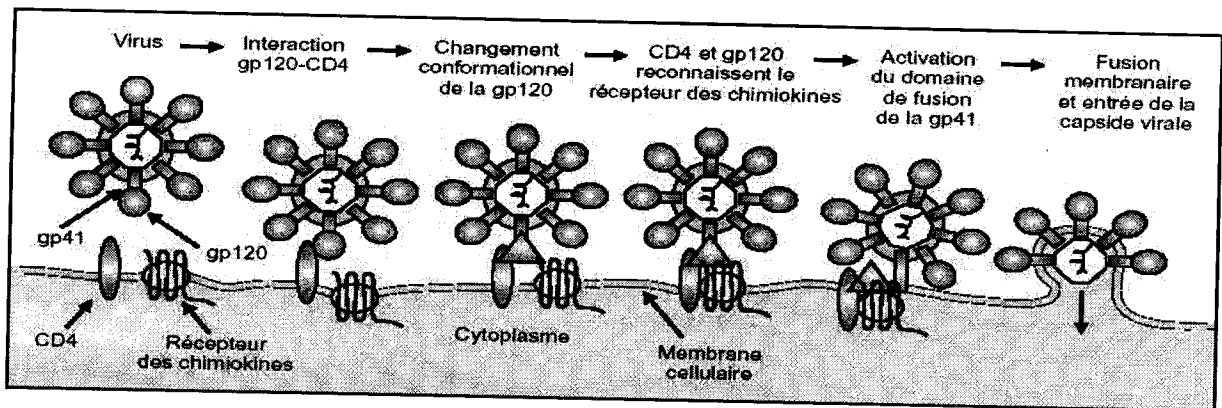


Figure 3: Mécanisme d'entrée du VIH dans sa cellule cible.

A.2. La décapsidation :

Le processus de déstructuration de la capside virale permet la libération du complexe de rétrotranscription composé de l'ARNv génomique ⁽¹¹⁾.

A.3. Rétrotranscription et intégration :

La transcriptase inverse virale va permettre la synthèse, à partir de l'ARN viral parental, d'un ADN bicaténaire. Cet ADN proviral (le génome viral étant de type ARN) se circularise et migre vers le noyau en même temps que l'intégrase virale. Cette enzyme va couper les deux brins de l'ADN cellulaire et y introduire l'ADN proviral ⁽¹²⁾. Celui-ci pourra rester intègre pendant longtemps, réalisant une infection chronique de la cellule, comme il pourra s'exprimer et donner le génome et les autres constituants des nouveaux virus, ce qui est plus fréquent. L'ARN viral parental est hydrolysé dans le cytoplasme cellulaire ⁽¹³⁾.

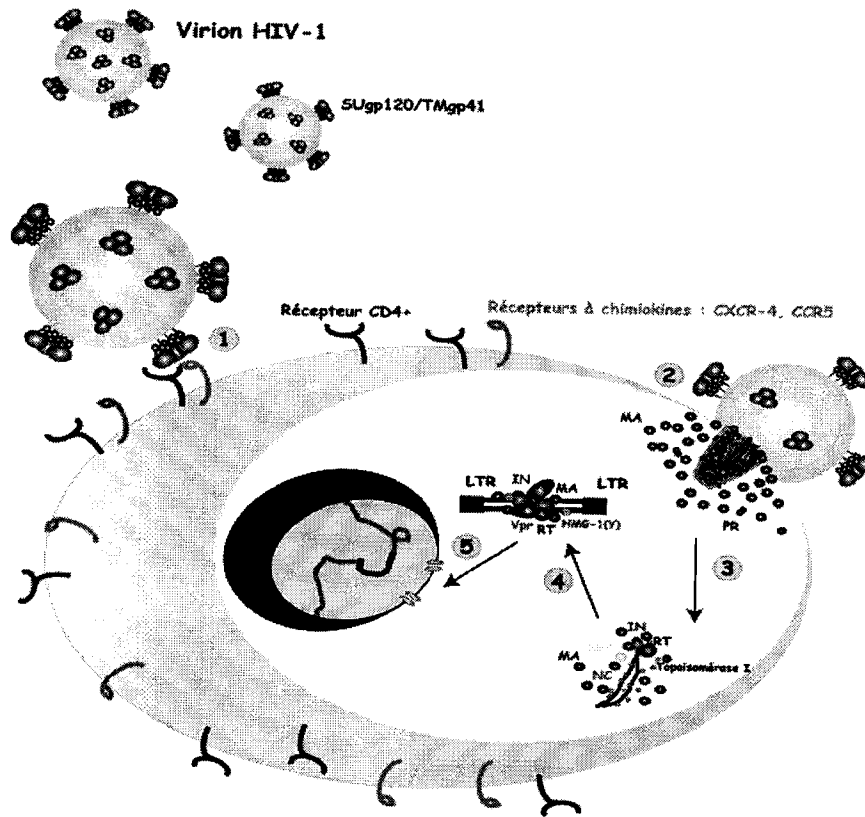


Figure 4 : La phase pré-intégrative du cycle réplcatif.

1 : Fixation SUgp120/CD4⁺-récepteur à chimiokines ; 2 : Fusion des deux enveloppes, entrée du virus dans la cellule et désassemblage ; 3 : Rétrotranscription de l'ARN viral en ADN proviral double brin ; 4 : Formation du complexe de pré-intégration, PIC ; 5 :Intégration de l'ADN proviral dans le génome de la cellule hôte.

B. La phase post-intégrative :

B.1. Expression de l'ADN intégré :

L'ARN polymérase cellulaire transcrit l'ADN proviral en ARN-messager et en ARN-génomique viral. Ce premier transcrit-ARN va jouer à la fois le rôle de messenger lu par les ribosomes de la cellule, et celui d'ARN génomique exprimant l'information virale. Les six petits gènes viraux dits supplémentaires s'expriment en premier; ils codent pour des protéines régulatrices de l'expression des gènes en coopération avec des facteurs cellulaires. Cela va orienter l'activité de l'ARN polymérase cellulaire vers la transcription des gènes codant les protéines de structure et les enzymes viraux (gag, pol, env.) Une polyprotéine gag et une polyprotéine pol sont synthétisées; elles migrent vers la membrane cellulaire. Sous l'action de la protéase virale, elles seront découpées en protéines capsidales et en enzymes virales lors de la

phase de maturation. Une polyprotéine env est produite, elle sera glycosylée au niveau de l'appareil de golgi cellulaire pour donner la gp160, une glycoprotéine précurseur. Sous l'action d'une protéase cellulaire, ce précurseur est clivé en glycoprotéines gp120 et gp41 que l'on retrouvera sur la surface membranaire ⁽¹⁴⁾.

B.2. Assemblage-libération-maturation :

L'assemblage se fait sous la membrane cellulaire à un endroit remanié par la fixation à son extérieur des gp120 et gp41. Les protéines de structure s'assemblent autour de deux molécules d'ARN, ensuite la membrane cellulaire va bourgeonner autour de ces éléments jusqu'à les recouvrir et donner les nouveaux virions encore immatures. La protéase virale achève la maturation des précurseurs qui donnent alors les protéines définitives de la structure virale. Les nouveaux virus sont alors aptes à infecter d'autres cellules. Le cycle de multiplication du VIH est relativement rapide; une particule virale peut donner plus de 10 000 exemplaires par jour ^(15,16).

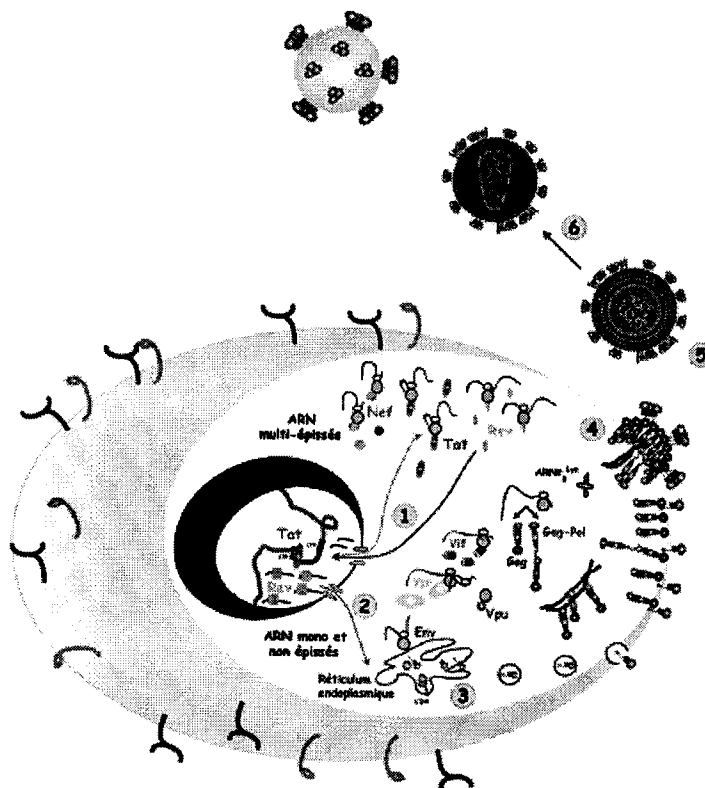


Figure 5 : La phase post-intégrative du cycle réplcatif du VIH-1.

1 : Expression/traduction des ARNm multi-épissés ; 2 : Expression/traduction des ARNm mono et non-épissés sous l'influence de Tat et Rev ; 3 : Synthèse des protéines Env dans le réticulum endoplasmique et inhibition de l'expression de CD4 ; 4 : Assemblage à proximité de la membrane ; 5 : Bourgeonnement d'une particule immature ; 6 : Maturation et obtention d'un virion infectieux.

I.4. Cellules cibles et physiopathologie :

La première cellule cible est le lymphocyte T CD4 (schéma 6) ; le virus va se fixer sur le récepteur CD4 puis infecter le lymphocyte. Avec le temps, on assiste à une diminution inexorable des lymphocytes T CD4 alors qu'une minorité d'entre eux est infectée et exprime le virus. La déplétion lymphocytaire est probablement la conséquence de plusieurs phénomènes :

- Un lymphocyte infecté, recouvert de gp120, peut provoquer la fixation, la fusion puis l'involution de lymphocytes non infectés.
- Des lymphocytes CD8 cytotoxiques pourraient éliminer des cellules TCD4 recouvertes de gp120.
- Des signaux (cytokines) pourraient précipiter l'apoptose (mort programmée de la cellule avec lyse de l'ADN génomique cellulaire).

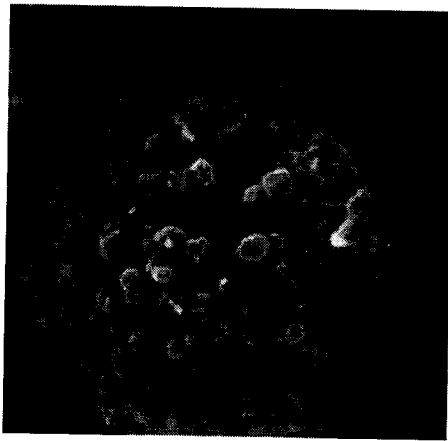


Figure 6 : Lymphocyte T infecté par le VIH-1, vu en microscopie électronique à balayage.

Les monocytes-macrophages sont également infectés par le VIH-1 et ceci est particulièrement important car le virus va pouvoir ainsi pénétrer dans le SNC ⁽¹⁷⁾.

1.5. Médication actuelle et nouvelles perspectives :

Dans les années 1990, face à l'augmentation croissante du nombre de patients infectés par le virus d'immunodéficience humaine (VIH), la mise en place de stratégies médicamenteuses a dû être réalisée rapidement, ceci afin de tenter d'endiguer la pandémie ⁽¹⁸⁾.

Le développement des différentes classes de médicaments antirétroviraux (ARV) a été facilité par la découverte du cycle répliatif du virus présenté dans la Figure 7. Les différentes classes d'antirétroviraux développées pour traiter l'infection par le VIH inhibent ainsi spécifiquement différentes étapes du cycle viral ⁽¹⁹⁾. Ils sont quasi systématiquement utilisés en

association afin d'obtenir une efficacité antivirale optimum, en inhibant simultanément le cycle à plusieurs niveaux : très précoce (fusion), précoce (génique) et tardif (protéique).

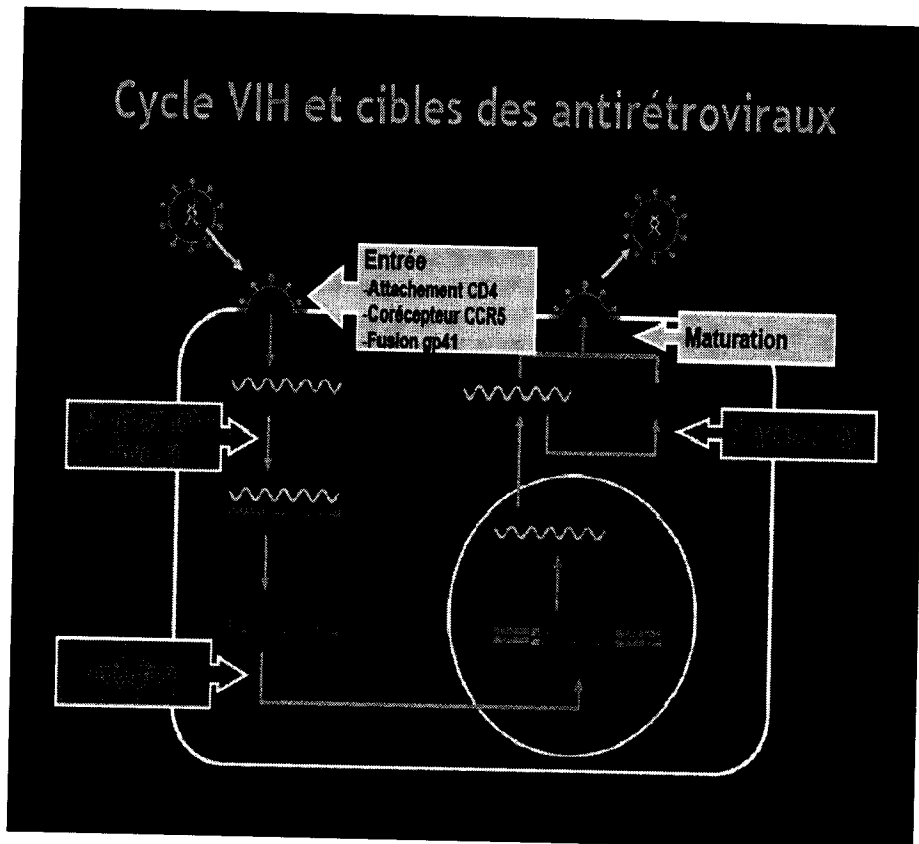


Figure 7 : Action au sein du cycle réplcatif du VIH des molécules antirétrovirales commercialisées.

I.5.1 les inhibiteurs de la transcriptase inverse :

La transcriptase inverse du VIH est une des cibles virales les plus étudiées dans le cadre du développement de nouveaux traitements. Trois classes d'inhibiteurs de la transcriptase inverse ont pour l'instant été découvertes :

a) les inhibiteurs nucléosidiques :

Les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) constituent l'une des plus importantes classes d'agents antiviraux destinés à combattre le VIH. Ils sont aussi, d'un point de vue historique, parmi les premiers composés à avoir démontré une capacité à enrayer la réplication du virus ⁽¹⁹⁾. Ceci explique pourquoi l'AZT (azidothymidine), qui constitue le

prototype de cette famille, fut commercialisé dès 1987, soit deux ans à peine après sa découverte. Les molécules disponibles sont présentées dans la figure 8.

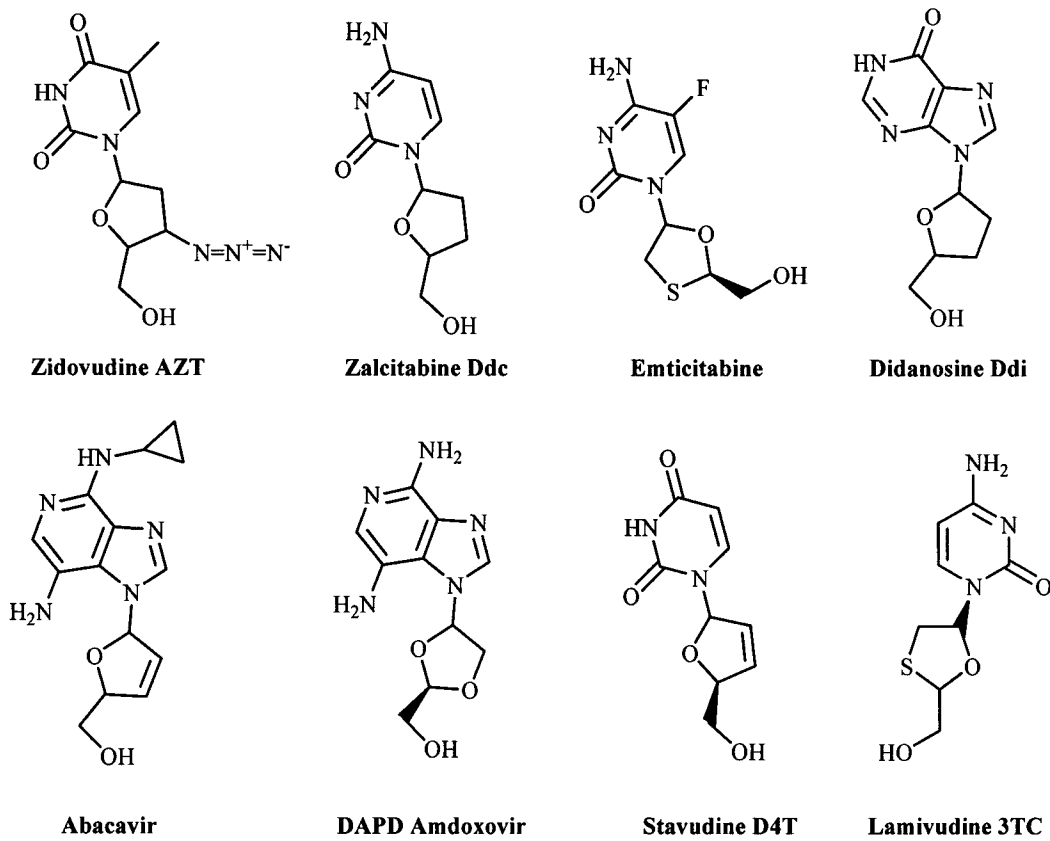


Figure 8 : Inhibiteurs nucléosidiques de transcriptase inverse (INTI).

b) les inhibiteurs non nucléosidiques :

Les INNTI sont des composés hautement actifs sur la TI du VIH-1. Ils ont une structure chimique très variable d'une molécule à l'autre (figure 9). À la différence des INTI, ils ne sont pas incorporés dans le brin d'ADN viral en cours de synthèse, mais viennent directement inhiber l'enzyme en s'y liant de façon réversible et non compétitive ⁽²⁰⁾.

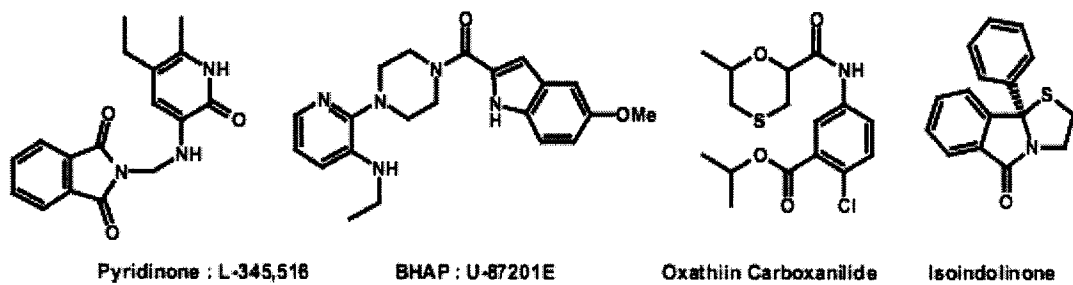


Figure 9 : Exemples d'INNTI de première génération.

c) les inhibiteurs nucléotidiques :

Les phosphonates nucléosidiques acycliques (PNAs) sont des nucléosides dans lesquels le sucre est remplacé par une chaîne acyclique et la liaison phosphodiester par un phosphonométhyl éther. Les PNAs ont besoin d'être diphosphorylés pour être actifs. Ils entrent ainsi en compétition avec les désoxynucléosides triphosphates. L'incorporation des PNAs lors de la transcription conduit à l'arrêt de l'élongation. En effet, les PNAs ne possèdent pas de fonction hydroxyle libre, essentielle à l'élongation de la chaîne d'ADN. Les PNAs sont efficaces et utilisés dans la thérapie de l'infection virale.

Les molécules disponibles sont présentées dans la figure 10.

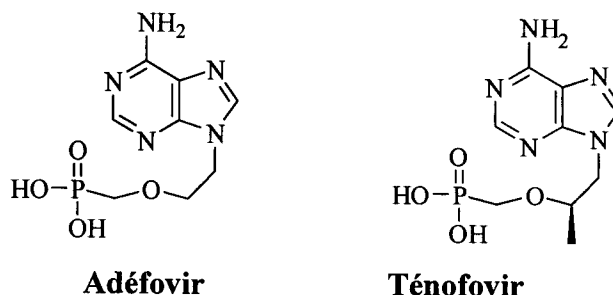


Figure 10 : Structure de deux inhibiteurs nucléotidiques.

I.6.2 les inhibiteurs de la protéase virale :

Une autre famille d'anti-HIV a pour cible la protéase, donc une cible située, non pas au début du cycle virus comme pour les IN ou les INN, mais en fin du cycle, tardivement, lors de la maturation de la particule virale. Il en résulte la production de particules virales non infectieuses. Huit anti-protéases sont actuellement disponibles : le saquinavir, le ritonavir, l'indinavir, le nelfinavir, l'amprénavir, le lopinavir, l'atazanavir, et le tipranavir (figure 10). Ces molécules ont toutes été synthétisées, non par criblage (screening), mais par modelage moléculaire sur le site actif de la protéase. Ainsi, étroitement adaptées à leur cible, elles agissent elles aussi à doses nanomolaires. Elles ont heureusement une barrière génétique haute à la résistance : celle-ci n'apparaît généralement qu'après accumulation d'un nombre élevé de mutations de résistance⁽²¹⁾.

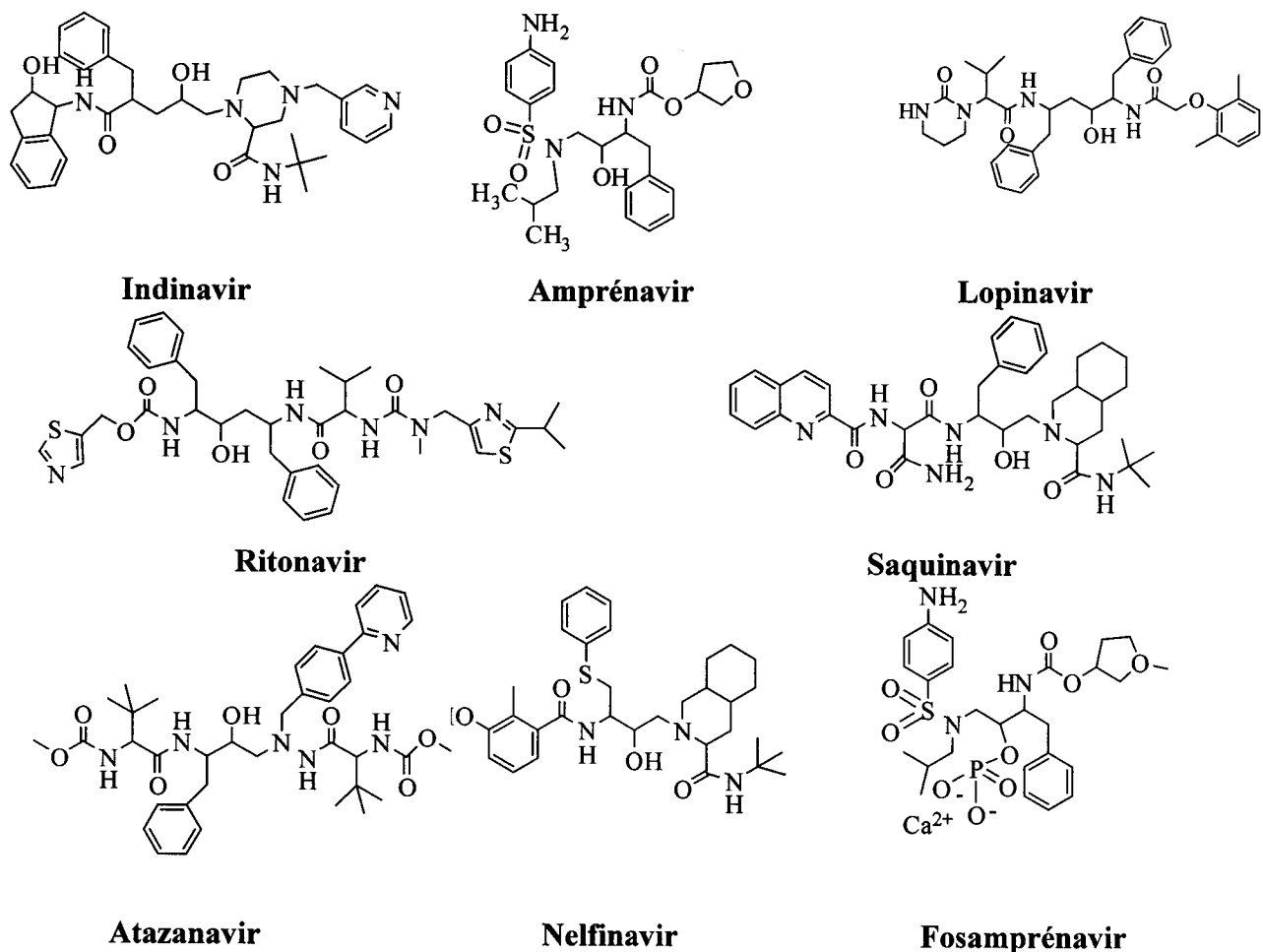


Figure 11: Structures chimiques de quelques anti-protéases.

I.6.3 les inhibiteurs d'entrée :

Une nouvelle voie de recherche pour guérir cette maladie serait d'empêcher le virus d'entrer au sein de l'organisme. Pour cela, trois voies sont possibles : inhiber l'interaction gp120-CD4, empêcher la fixation du complexe gp120-CD4 sur le corécepteur CCR5 ou CXCR4 ou inhiber la fusion membranaire par le gp41. Actuellement, la voie la plus prometteuse semble être l'inhibition de la liaison entre la glycoprotéine gp120 et son corécepteur de chimiokine.

a. les inhibiteurs de fusion :

En 1990, l'équipe de Wild a découvert des inhibiteurs de fusion du VIH-1 ; La fusion de la membrane cellulaire et de la membrane virale, qui permet l'entrée du cœur du virus au sein de la cellule est réalisée grâce à la glycoprotéine de surface gp41, qui projette plusieurs domaines lipophiles appelés peptides de fusion dans la membrane cellulaire ⁽²²⁾. Le T-20 ou enfuvirtide, un C-peptide, est actuellement disponible sur le marché. Il représente un nouvel

acteur disponible pour enrichir et améliorer les stratégies et l'efficacité des associations antirétrovirales⁽²³⁾.

b. les agonistes des corécepteurs :

L'infection d'une cellule cible par le VIH nécessite non seulement la reconnaissance spécifique du récepteur CD4 par SU-gp120, mais aussi l'interaction de SU avec l'un des corécepteurs du virus. Outre les chémokines, qui sont les ligands naturels de ces corécepteurs, plusieurs types de molécules sont en mesure de bloquer ce processus et constituent donc des agents antiviraux potentiels. ADS-J1 (figure 12) une des premières molécules non peptidiques à inhiber le processus de fusion de la membrane virale à des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g/ml}$ ⁽²⁴⁾.

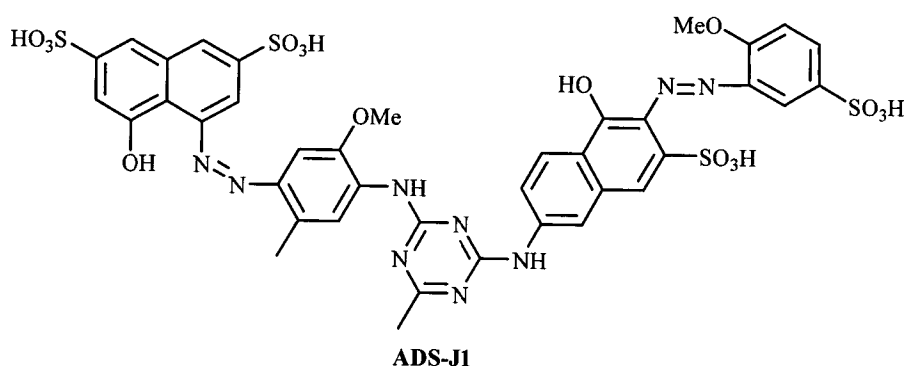


Figure 12 : Structure du composé ADS-J1, inhibiteur de fusion non peptidique.

1.6.4 Les autres inhibiteurs en développement :

↳ Les inhibiteurs de l'intégrase virale (figure 13) :

L'intégrase est l'une des trois enzymes clés du cycle rétroviral et la mise au point d'inhibiteurs de cette enzyme pourrait éviter l'infection chronique au VIH-1, liée à l'intégration de l'ADN proviral. De plus, en raison de l'absence d'enzyme homologue humaine connue, il serait plus aisé d'obtenir des molécules anti-intégrase de faible toxicité et de haute sélectivité⁽²⁵⁾.

- ↳ La protéine Tat et rev (gènes régulateurs de virus). Par exemple, la benzodiazépine, bloque spécifiquement la transactivation du génome du VIH par la protéine Tat.
- ↳ Les inhibiteurs, visant l'activité de la RNase H de la transcriptase inverse et qui interviennent lors de la dégradation de l'ARN en hybride.

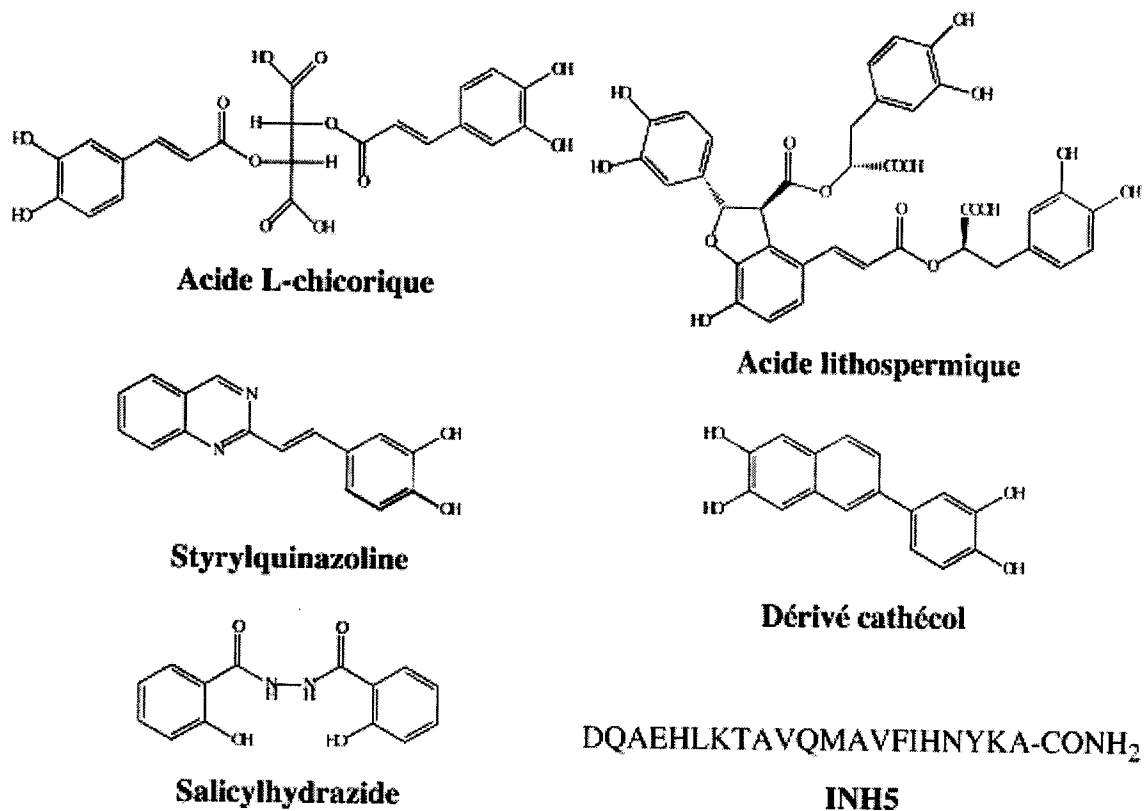


Figure 13 : Inhibiteurs de l'intégrase du VIH-1

1.6.5 Les approches vaccinales:

Malgré une soixantaine d'essais cliniques, aucun vaccin préventif ou thérapeutique n'a encore vu le jour. Les stratégies de mise au point de vaccin étant nombreuses, seules quelques pistes seront présentées. Le développement de tels vaccins, même si il a été rapidement envisagé, s'est cependant heurté à plusieurs obstacles majeurs ⁽²⁶⁾. La persistance du virus intégré dans les cellules infectées en phase de latence (et plus particulièrement au sein des lymphocytes T CD4+ au repos) ⁽²⁷⁾ rend très difficile l'éradication du VIH de l'organisme d'un patient. La grande variabilité du virus (il existe 11 sous-types du VIH-1 dans le monde) complique fortement la recherche d'un immunogène capable d'induire une réponse efficace face aux différentes variantes du VIH. Enfin, le taux d'erreur élevé de la transcriptase inverse provoque l'apparition de nombreuses souches virales mutantes, qui peuvent échapper au contrôle immunologique induit par un vaccin ⁽²⁸⁾.

1.6. Conclusion partielle :

- ✓ L'expérience acquise dans le domaine de la lutte contre le VIH a depuis plusieurs années démontré qu'un traitement antirétroviral optimal doit être basé non pas sur l'emploi d'un seul médicament, mais bien sur la combinaison de plusieurs substances actives contre le virus ^(29,30). Le succès de cette stratégie a mené à l'abandon des monothérapies, au profit des thérapies combinatoires, également appelées multithérapies ou highly active antiretroviral therapy (HAART). Outre leur efficacité accrue, les régimes HAART assurent également un meilleur suivi des effets secondaires rencontrés ou de la résistance du virus, en permettant de remplacer un des composés entrant dans leur composition, en fonction de l'état général du patient.

- ✓ En marge de tous les problèmes d'ordre scientifique ou médical associés aux thérapies actuelles s'ajoutent ceux rencontrés au niveau du patient. Pour qu'un traitement antirétroviral soit efficace, il est essentiel qu'il soit planifié de manière à maximiser la biodisponibilité et la concentration intracellulaire de ses composants. Ce programme doit alors être rigoureusement suivi. L'adhésion du patient au traitement qui lui est prescrit peut cependant poser problème, car les multithérapies sont coûteuses et parfois complexes. Elles obligent le patient à absorber quotidiennement et à heures fixes un nombre important de comprimés, qui contiennent plusieurs grammes de substances chimiques.

II. LE FACTEUR D'ACTIVATION DES PLAQUETTES PAF :

II.1. Généralités:

Les leucocytes activés synthétisent et sécrètent une substance de nature lipidique qui est un puissant médiateur lipidique de l'inflammation et qui possède la propriété d'activer les

inactivé par désacétylation sous l'influence d'une acétylhydrolase qui le transforme en lyso-PAF, lui-même transformé par une acyltransférase en précurseur inactif, le 1-O-alkyl-2-acyl-glycérophosphocoline. L'inhibition de l'acétylhydrolase augmente la concentration tissulaire de PAF.

L'inactivation du PAF est due à une PAF-acétylhydrolase (PAF-AH), enzyme présente dans les cellules et le plasma et qui produit aussi le lyso-PAF. Le taux de PAF est fortement régulé dans la cellule et dans le milieu extracellulaire par la PAF-AH, ce qui rend difficile sa quantification.

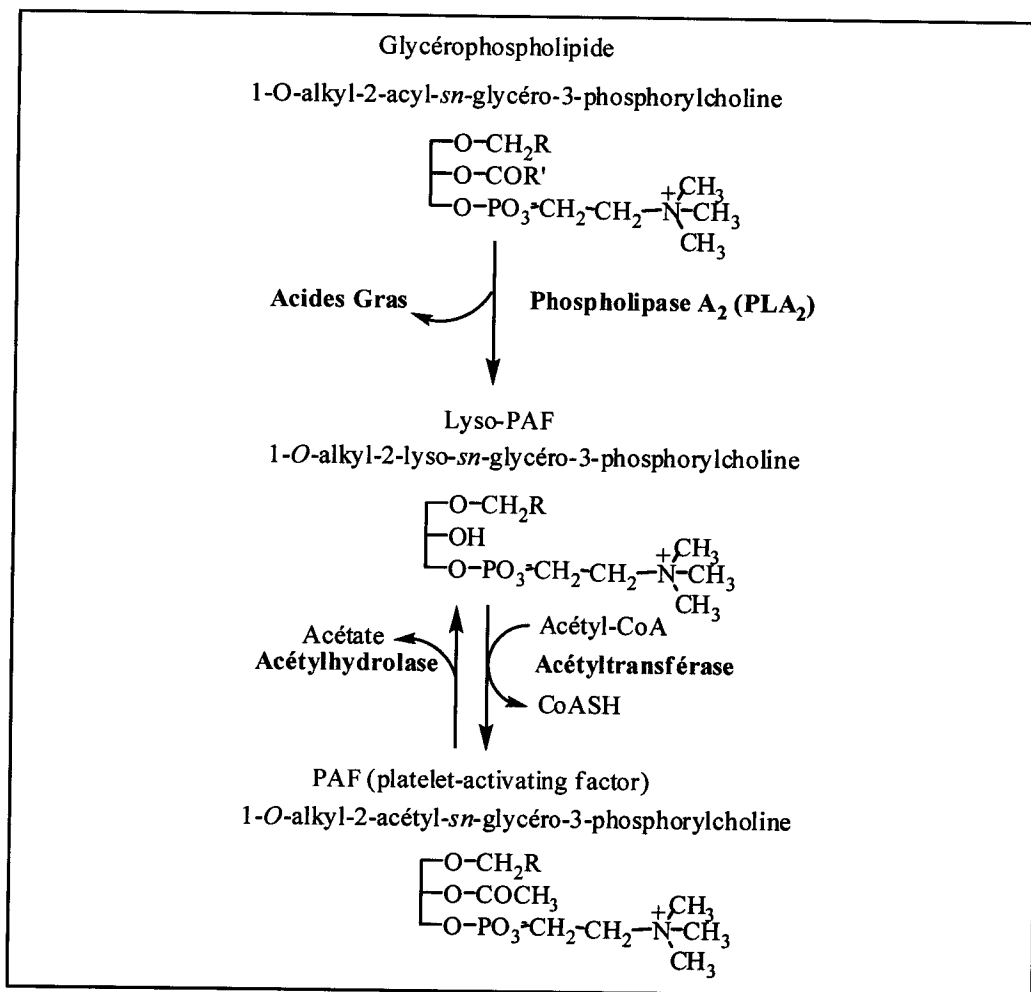
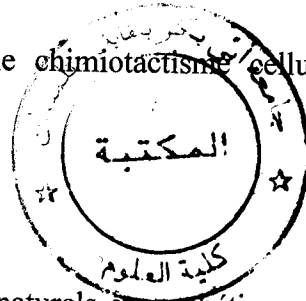


Figure 15 : Voie de biosynthèse du PAF.

II.3. Les effets du PAF :

- Il provoque une agrégation plaquettaire. Une injection intraveineuse chez l'animal provoque la formation d'un caillot plaquettaire, accompagné d'une thrombocytopénie.

- Il favorise également l'agrégation des leucocytes et intervient dans le chimiotactisme des éosinophiles, des neutrophiles et des monocytes.
- C'est un vasodilatateur puissant, susceptible d'entraîner des hypotensions artérielles importantes, il augmente la perméabilité vasculaire et les fuites liquidiennes extravasculaires.
- Il contracte directement, ou indirectement par libération d'autacoïdes, la plupart des fibres lisses, à l'exception des fibres vasculaires. Il contracte ainsi les fibres digestives, utérines, bronchiques. De plus il augmente la réactivité des bronches aux autres bronchoconstricteurs et cette hyperactivité peut se prolonger de une à quelques semaines. Le PAF favorise l'apparition d'ulcérations gastriques.
- Il diminue le débit sanguin rénal, la diurèse et l'excrétion sodée.
- Il intervient vraisemblablement dans l'ovulation : l'implantation de l'oeuf pourrait être inhibée par certains de ses antagonistes.
- Il favoriserait les contractions utérines lors de l'accouchement et les antagonistes du PAF pourraient le retarder.
- Il augmente la perméabilité vasculaire, l'oedème et le chimiotactisme cellulaire et participe aux réactions inflammatoires.



II.4. Les antagonistes du récepteur du PAF :

Une grande variété d'antagonistes spécifiques du PAF, naturels et synthétiques ont été identifiés et développés, on cite deux classes :

II.4.1. Antagonistes analogues à la structure du PAF :

Ils portent un squelette glycérol de nature phospholipidique ou non. Des modifications structurales du PAF ont permis de passer d'une activité agoniste à une activité antagoniste^(37, 38).

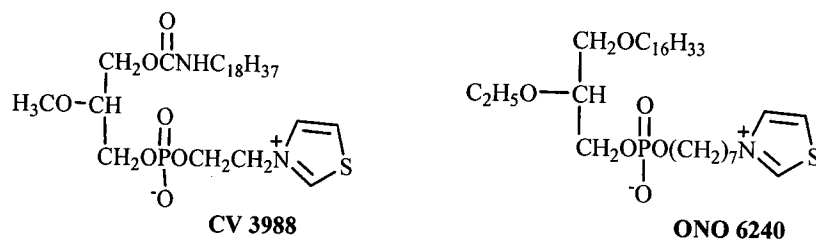


Figure 16 : Antagonistes analogues à la structure du PAF.

II.4.2. Antagonistes non analogues à la structure du PAF :

Certaines substances auraient des effets antagonistes du PAF : des terpènes, d'origine végétale, isolées de *Ginkgo biloba* comme le ginkgolide B et le ginseng⁽³⁹⁾. Un extrait de *Ginkgo biloba* est utilisé dans le traitement préventif et curatif des symptômes du déficit intellectuel pathologique et dans le traitement de la claudication intermittente des artériopathies chroniques des membres inférieurs.

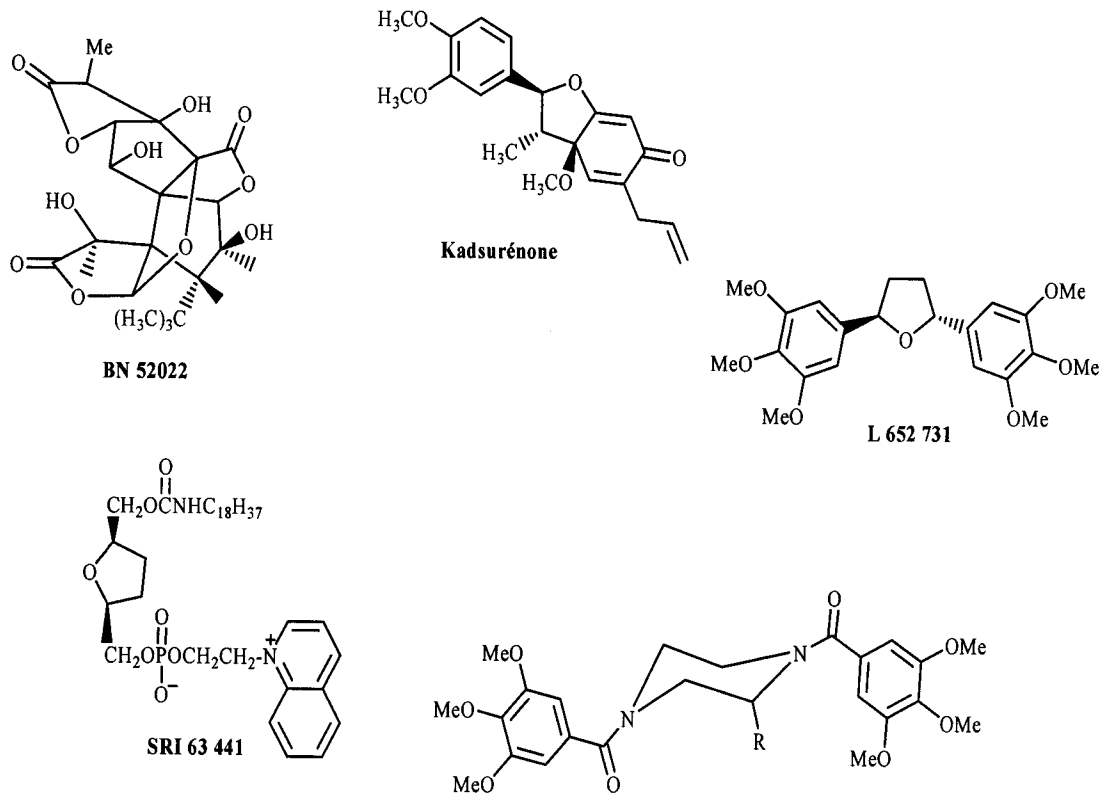


Figure 17 : Antagonistes non analogues à la structure du PAF

II.5. Conclusion partielle :

Sur le plan pharmacologique, la mise en évidence du rôle du PAF a peu de conséquences pratiques dans la mesure où il n'existe pas actuellement dans le commerce de médicament véritablement antagoniste du PAF. Par ailleurs, il faut noter que les réactions anaphylactiques graves comme le choc peuvent apparaître très brutalement et nécessitent une intervention immédiate.

III. Implication du PAF dans l'infection par le VIH :

III.1. L'infection du système nerveux central SNC par le VIH⁽⁴⁰⁾:

Dès les premiers stades de l'infection, le VIH est capable de pénétrer dans le cerveau⁽⁶⁰⁾. Son aptitude à maintenir une infection productive dans cet organe est un phénomène majeur.

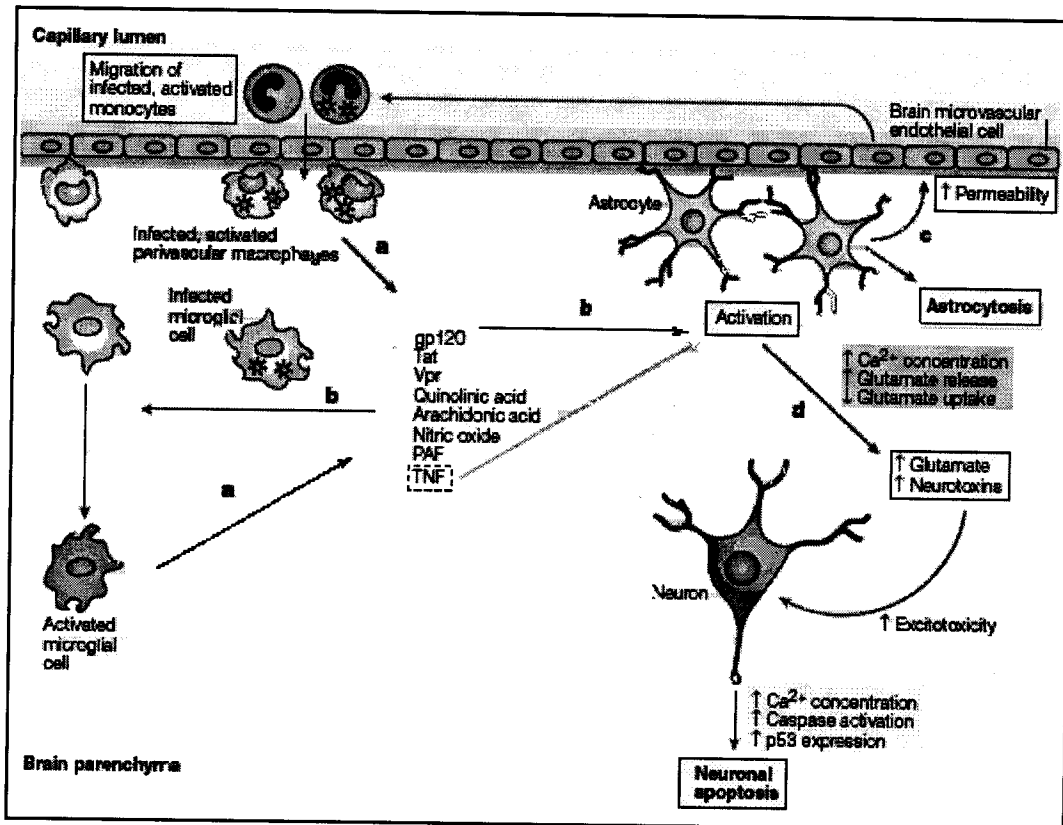
➤ **Caractéristiques :** L'infection du système nerveux central par le VIH se traduit par de sévères déficits cognitifs, moteurs et comportementaux, souvent accompagnés d'une immunosuppression induite par la progression de la réplication virale. La démence associée au SIDA est caractérisée par ces symptômes psychologiques et neurologiques^(41, 42, 43) et elles sont détectées après autopsie dans plus de 90% des personnes atteintes par le VIH-1. Au niveau histologique, la grande majorité des cerveaux examinés présente de nombreuses anomalies plus ou moins marquées du tissu cérébral. Ce phénomène de neuropathogénèse serait attribué aux conséquences de l'activation des macrophages/microglie et des astrocytes, via la production de facteurs neurotoxiques aussi bien cellulaires que viraux.

➤ **Causes et mécanismes :** il y a deux causes principales (figure 18) :

1. **Les médiateurs cellulaires :** La voie primordiale qui mène aux désordres neurologiques et à la mort neuronale est l'activation immune et la libération de facteurs neurotoxiques d'origine cellulaire. Plusieurs protéines virales telles que la gp120, la gp41, Tat, Vpr et Nef ont démontré des effets activateurs des cellules de la lignée macrophagique induisant ainsi la libération de composés neurotoxiques.^(44, 45, 46) Parmi eux, on distingue : l'acide arachidonique et ses métabolites,⁽⁴⁷⁾ le facteur d'activation plaquettaire (PAF),⁽⁴⁸⁾ les cytokines pro-inflammatoires telles que le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) et l'interleukine-1 β (IL-1 β),^[49] les immunomodulateurs tels que le monoxyde d'azote (NO),^(50, 51) les radicaux libres (NO \cdot et NO $_2\cdot$), le glutamate⁽⁵²⁾ et d'autres facteurs non encore identifiés mais qui pourraient jouer un rôle dans cette neurotoxicité.

2. **Les protéines virales :** Les macrophages et la microglie, ainsi que les astrocytes, une fois infectés, produisent des protéines virales telles que la gp120, les protéines Tat, Nef et Vpr. Ces protéines sécrétées sont responsables de désordres neurologiques soit par une action directe sur les cellules neuronales soit par l'activation des macrophages et de la microglie qui libèrent alors des facteurs neurotoxiques.

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont révélé que la glycoprotéine gp120 est fortement neurotoxique^(53,54) et induit des désordres neurologiques et des déficits cognitifs et moteurs chez le rat^(55,56). Plusieurs mécanismes moléculaires ont été proposés pour expliquer ces effets neurotoxiques dont l'induction de l'apoptose des neurones par interaction de la protéine virale avec le récepteur des chimiokines et l'augmentation de la concentration du calcium intracellulaire^(57,58).



a/ Les macrophages et microglia Perivascularaires infectés sont responsables à la production de VIH mais pourrait aussi libérer des protéines virales qui peuvent être nuisibles au système nerveux central. L'enveloppe du protéine gp120 du VIH (glycoprotéine gp120), Tat (transactivateur transcriptionnel) et Vpr (protéine virale R) tout ont été révélés d'être toxique *in vitro* sur les neurones et/ou astrocytes, bien que leur pertinence *in vivo* reste inconnu. Les Cellules infectées et activées produisent aussi d'autres facteurs – comme cytokines (y compris le facteur nécrosant du tumeur, TNF), l'acide quinolinique et arachidonique, le facteur d'activation des plaquettes (PAF) et l'oxyde nitrique tous sont connus par leur effets neurotoxiques. b/d'une manière importante, ils promeuvent la plus ample activation (et jusqu'à un certain point, la prolifération) de macrophages et/ou microglia, de même que la prolifération et l'activation d'astrocytes. c/Les astrocytes activés modifient la perméabilité de la barrière sang-cerveau et permettent la migration de plus de monocytes dans le cerveau. d/ En outre, par les augmentations de libération intracellulaires de Ca^{2+} et du glutamate et par les diminutions dans la consommation de glutamate, la concentration du glutamate dans le cerveau et d'autres neurotoxines augmente et conduit à la mort excitotoxique des neurones.

Figure 18 : Mécanismes de la neuropathogénèse.⁽⁵⁹⁾

III.2. La neuropathogénèse induite par le PAF⁽⁴⁰⁾ :

Le facteur d'activation des plaquettes (PAF) joue un rôle majeur dans la survenue des désordres neurologiques associés à l'infection par le VIH : en favorisant le syndrome inflammatoire ; en prenant part aux processus neurotoxiques ; et en augmentant la réplication virale, tout particulièrement dans les cellules de la lignée macrophagique.

Des travaux ont montré que les monocytes infectés par le VIH, une fois activés par un stimulus antigénique *in vitro*, ou en contact avec des cellules neuronales *in vivo*, libéraient des quantités importantes de TNF- α , cytokine proinflammatoire et de PAF, médiateur phospholipidique.⁽⁶⁰⁾ Le TNF- α augmente de façon significative la production virale dans les macrophages infectés par le VIH⁽⁶¹⁾ tandis que le PAF, à son tour, semble favoriser la synthèse de TNF- α dans ces mêmes cellules.⁽⁶²⁾ Le PAF est détecté en grande quantité dans le liquide céphalorachidien (LCR) des patients atteints de troubles neurologiques et d'immunodépression et sa quantité est corrélée au degré de désordres neurologiques.⁽⁶³⁾ Lorsqu'il est ajouté à des cultures de neurones humains ou de rats à des concentrations proches de celles détectées dans le LCR des patients infectés, il induit une neurotoxicité dose-dépendante. Cette dernière est inhibée par l'utilisation d'antagonistes du récepteur NMDA tels que le MK-801 ou la mémantine.⁽⁶⁴⁾ Le PAF agit en augmentant la concentration de calcium intracellulaire des neurones, conduisant ainsi à une libération plus importante de glutamate et à l'activation des récepteurs NMDA et par conséquent, à une excitotoxicité.⁽⁶³⁾

Par ailleurs, Perry et coll. ont montré, en 1998, que le TNF- α et le PAF induisaient une apoptose dose-dépendante à la fois dans des cultures de neurones primaires et dans des lignées de cellules neuronales différenciées^(65,66) et que cette mort neuronale était inhibée soit par la PAF-AH, la principale enzyme responsable du catabolisme du PAF, soit par un antagoniste de ce dernier, le WEB 2086.

Enfin, des travaux effectués par Bellizzi et coll. ont montré que le PAF peut augmenter l'excitation des transmissions synaptiques et conduire à l'excitotoxicité.⁽⁶⁷⁾ Ainsi, des taux élevés de PAF induisent une vulnérabilité neuronale et des dommages dendritiques.

L'ensemble de ces résultats suggère que le PAF est une neurotoxine induite par le VIH et qu'il joue un rôle majeur dans la pathogénèse associée à cette infection.

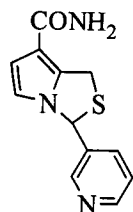
IV. Objectifs du travail:

IV.1. Problématique :

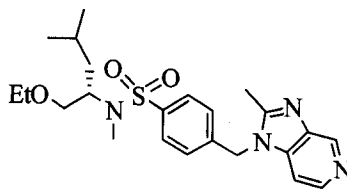
La recherche d'un traitement miracle des dysfonctions secondaires à l'induction d'une réponse inflammatoire de quelconque origine, a fait l'objet de nombreux essais thérapeutiques au cours des vingt dernières années. L'ambition actuelle est de découvrir un substitut aux agents anti-inflammatoires classiques stéroïdiens ou non, ces derniers ciblant principalement les cyclo-oxygénases et susceptibles d'effets secondaires non négligeables (problèmes gastriques et cardiovasculaires notamment, mais la difficulté majeure était de toucher sélectivement les PLA2s responsables de l'inflammation (groupes II, IV, V et X) sans inhiber celle qui intervient dans la digestion (groupe I). D'autre part, la plupart des drogues ne traversent que faiblement la barrière hémato-encéphalique (BHE) ⁽⁶⁷⁾ et sachant que les macrophages qui migrent vers le cerveau constituent des réservoirs de virus, et donc peuvent alimenter l'organisme de nouveau virus. Pour ces deux raisons certains chercheurs ont débuté à établir des approches en faisant porter à la même molécule une double activité : l'une vis à vis du PAF et une autre, dans des maladies où l'inflammation est fortement impliquée, c'est le cas du SIDA par exemple, et qu'elle soit capable de traverser la barrière hémato-encéphalique. En combinant deux effets, nous voulions d'une part, bloquer l'activité pro-inflammatoire propre au PAF et, d'autre part, viser une seconde cible, avec comme applications l'inhibition de la réplication du VIH-1, virus de l'immunodéficience humaine (SIDA).

IV.2. Des études antérieures :

Plusieurs composés ont été testés dans cette optique. Le **Lexipafant** (figure 19), un antagoniste du PAF, évalué dans le traitement des troubles neurologiques de patients infectés par le VIH, semble améliorer ces manifestations neuropathologiques. Un autre antagoniste, le **RP 55778** (figure 17) est non seulement capable de diminuer la synthèse du TNF- α mais présente également des effets anti-VIH vis-à-vis de cellules myéloïdes en lignée ou de macrophages dérivés de monocytes (MDM) infectés in vitro. Ce composé apparaissait intéressant à la fois pour le traitement de l'infection par le VIH et des troubles neurologiques résultant de cette infection. Cependant, sa forte toxicité chez l'animal et sa capacité à diminuer l'efficacité de l'**AZT** ont conduit à l'arrêt de son développement.



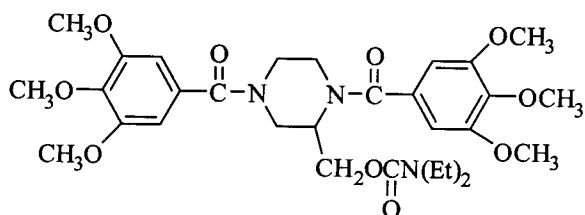
RP-55778



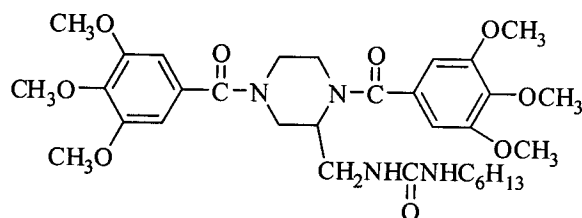
Lexipafant

Figure 19 : Structures du RP-55778 et du Lexipafant.

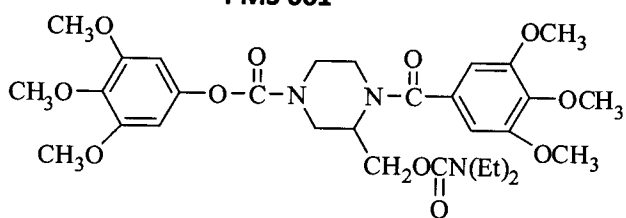
En plus, plusieurs composés pipéraziniques synthétisés au laboratoire de Pharmacochimie Moléculaire Paris VII ont démontré une activité anti-PAF couplée à une activité anti-VIH (Figure 20) ⁽⁶⁸⁾. Parmi eux, le composé possédant la double activité la plus intéressante est le PMS 601.



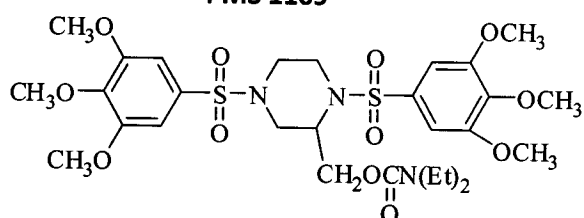
PMS 601



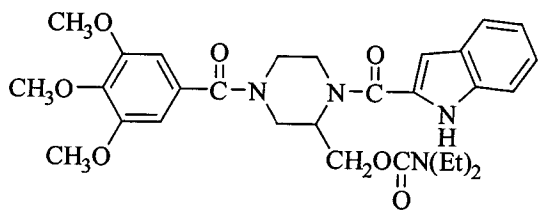
PMS 1109



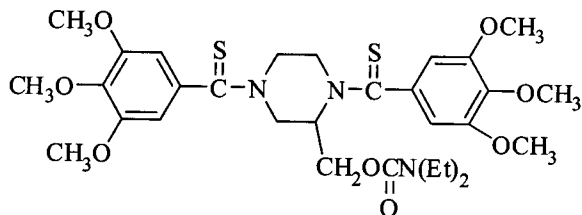
1



2



PMS 1257 (3)



4

Figure 20 : Molécules les plus actives sur le PAF ou le VIH.

Le PMS 601 n'inhibe ni la transcriptase inverse ni la protéase virale, principales cibles de la thérapie antirétrovirale actuelle. Il n'inhibe pas non plus l'intégrase, cible potentielle très étudiée. Il ne montre aucune cytotoxicité et possède de plus un effet additif avec l'AZT^(70,71). Par ailleurs, il est capable de traverser la barrière hématoencéphalique, peu perméable à la plupart des traitements antiviraux ce qui fait du cerveau un réservoir viral important.

Les travaux réalisés sur ce sujet au laboratoire COSNA ou de pharmacologie moléculaire Paris VII ont consisté à effectuer des modifications autour du **PMS 601** ou à séparer les diastéréoisomères, dans le but d'améliorer sa double activité. L'ensemble de ces variations a permis de montrer une absence de corrélation entre les activités anti-PAF et anti-VIH.⁽⁶⁹⁾

Les principales modifications sont résumées comme suite :

- modification du substituant en position 2 de la pipérazine : la fonction carbamate (OCON) est remplacée par le groupe uréate (NHCONH), la carbamate inversée (NCOO) et la thiocarbamate (OCSN).
- modification du carbonyle lié à l'azote de la pipérazine: la fonction carbonyle est remplacée par le groupe méthylène (CH₂), par la fonction thiocarbonyle (CS).
- introduction d'un hétérocycle à la place du groupe 3,4,5-triméthoxyphényle en position 1 et/ou 4 de la pipérazine.

IV.3. Contribution :

Ce travail est la suite logique des recherches effectuées autour du squelette de la pipérazine. L'objectif a été de synthétiser et de mettre en évidence un analogue structural du PMS 1109 afin de définir les liens entre la structure de ces molécules et la double activité anti-PAF et anti-VIH. Il est à noter que notre mémoire s'inscrit dans la contribution et la continuation des travaux effectués sur la pipérazine.

Dans le présent travail, nous essayerons d'introduire le substituant (-CH₂NHCOCHRNH₂) en position 2 de la pipérazine. Ces dérivés peuvent être obtenus par condensation de la 1,4-dibenzyl-2-(aminométhyl) pipérazine sur les acides aminés protégé et activé.

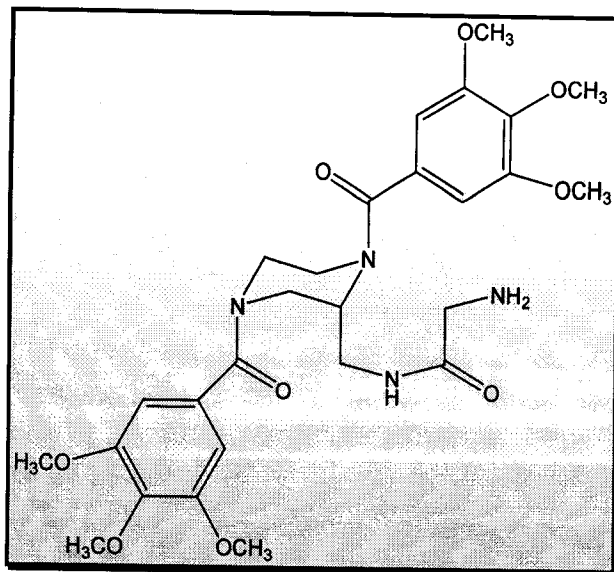


Figure 21 : la molécule à synthétiser.

Nous espérons d'atteindre nos objectifs désignés mais on est en traîne de faire le plus grand possible de modification et de synthèse en utilisant des méthodes simples, un nombre d'étapes relativement faible et des rendements satisfaisants et des activités biologiques intéressantes.

Références Bibliographiques

1. Serradji N., Bensaïd O., Martin M., Kan E., Dereuddre-Bosquet N., Redeuilh C., Huet J., Heymans F., Lamouri A., Clayette P., Dong C. Z., Dormont D. et Godfroid J. J. Structure-Activity Relationships in Platelet-Activating Factor (PAF). 10. From PAF-Antagonism to Inhibition of HIV-1 Replication. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2149-2154.
2. Barre-Sinoussi F., Chermann J. C., Rey F., Nugeyre M. T., Chamaret S., Gruest J., Dauguet C., Axler-Blin C., Vezinet-Brun F., Rouzioux C., Rozenbaum W., Montagnier L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* **1983**, *220*, 868-71.
3. Clavel F., Guyard M., Guétard M., S., Montagnier L and Alizon M. Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2. *Nature* **1986**, *324*. 691-695.
4. Di, L.; E.H. Kerns, Pharmaceutical profiling in drug discovery. *Drug Discovery Today*, **2003**. *8*(7): p. 316-323.
5. Lipinski, C.A.; F. Lombardo; B.W. Dominy; P.J. Feeney, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **1997**. *23*: p. 4-25.
6. Franke, E.K.; H.E. Yuan; J. Luban. Specific incorporation of cyclophilin A into HIV-1 virions. *Nature*. **1994**. *372*(6504): p. 359-62.
7. Ratner, R., HIV life cycle and genetic approaches. *Perspective in drug discovery and design*, **1993**. *1*: p. 3-22.
8. William A., O'Brien and Roger J.P. HIV infection and associated diseases in ciral pathogenesis. *Ed Neal Nathanson et al*, **1997**, pp 815-843.
9. Lodge R.E., Darlix J., et Cohen E. A. L'infection par le VIH : rôle des facteurs viraux. *m/s* **1998**, *14*, 148-154.
10. Mondor, I.; S. Ugolini; Q.J. Sattentau, Human immunodeficiency virus type 1 attachment to HeLa CD4 cells is CD4 independent and gp120 dependent and requires cell surface heparans. *Journal of Virology*, **1998**. *72*(5): p. 3623-34
11. Ventura, M.; L. Tarrago-Litvak; V. Dolle; C.H. Nguyen; M. Legraverend; H.J.A. Fleury; S. Litvak. Effect of nucleoside analogs and non-nucleoside inhibitors of HIV-1

- reverse transcriptase on cell-free virions. *Archives of Virology*, **1999**. 144(3): p. 513-523.
12. Roberts J.D., Bebenek k. and kunkel T.A. The accuracy of reverse transcriptase from HIV-1. *Science*, **1988**, 242, 1171-1173.
 13. McDonald, D.; M.A. Vodicka; G. Lucero; T.M. Svitkina; G.G. Borisy; M. Emerman; T.J. Hope, Visualization of the intracellular behavior of HIV in living cells. *J Cell Biol.*, **2002**. 159(3): p. 441-52.
 14. Adams, M.; L. Sharmeen; J. Kimpton; J.M. Romeo; J.V. Garcia; B.M. Peterlin; M. Groudine; M. Emerman, Cellular latency in human immunodeficiency virus-infected individuals with high CD4 levels can be detected by the presence of promoter-proximal transcripts. *Proc Natl Acad Sci, U.S.A.*, **1994**. 91(9): p. 3862-6.
 15. Garrus, J.E.; U.K. von Schwedler; O.W. Pornillos; S.G. Morham; K.H. Zavitz; H.E. Wang; D.A. Wettstein; K.M. Stray; M. Cote; R.L. Rich; D.G. Myszka; W.I. Sundquist, Tsg101 and the vacuolar protein sorting pathway are essential for HIV-1 budding. *Cell.*, **2001**. 107(1): p. 55-65.
 16. Ver Plank, L.; F. Bouamr; T.J. LaGrassa; B. Agresta; A. Kikonyogo; J. Leis; C.A. Carter, Tsg101; a homologue of ubiquitin-conjugating (E2) enzymes; binds the L domain in HIV type 1 Pr55(Gag). *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **2001**. 98(14): p. 7724-9.
 17. H.J.A. Fleury. Virologie humaine. *Masson* 4^o édition : paris.**2004** : 161-172.
 18. Beach (J.W.). Chemotherapeutic agents for human immunodeficiency virus infection: mechanism of action, pharmacokinetics, metabolism, and adverse reactions. - *Clin.Ther.*, **1998**, 20(1), 2-25.
 19. Mitsuya, H.; S. Broder, Inhibition of the in vitro infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III / lymphadenopathy-associated virus (HTLV III/LAV) by 2',3'-dideoxynucleosides. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, **1986**. 83: p. 1911-1915.
 20. Esnouf R., Ren J. S., Ross C., Jones Y., Stammers D., Stuart D. Mechanism of inhibition of HIV-1 reverse transcriptase by non-nucleoside inhibitors. *Nat. Struct. Biol.* **1995**, 2, 303.
 21. Freed E. O. et M. A. Martin. Domains of the human immunodeficiency virus type matrix and gp41 cytoplasmic tail required for envelope incorporation into virions. *J. Virol.* **1996**, 70(1), 341-51.

22. Wild C. T., Shugars D. C. et Greenwell T. K., McDanal C. B. et Matthews T. J. Peptides corresponding to a predictive alpha-helical domain of human immunodeficiency virus type 1 gp41 are potent inhibitors of virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, 91(21), 9770-9774.
23. Fung H. B., Guo Y. Enfuvirtide: a fusion inhibitor for the treatment of HIV infection. *Clin. Ther.* **2004**, 26(3), 352-378.
24. Esté, J.A., Virus entry as a target for anti-HIV infection. *Current Medicinal Chemistry*, **2003**. 10: p. 1617-1632.
25. Johnson, A. A., C. Marchand, and Y. Pommier. 2004. HIV-1 integrase inhibitors: a decade of research and two drugs in clinical trial. *Curr Top Med Chem* 4:1059-77.
26. McMichael, A.; T. Hanke, HIV vaccines 1983-2003. *Nature Medicine*, **2003**. 9(7): p. 874-880.
27. Iankson, J.N.; D. Persaud; R.F. Siliciano, The challenge of viral reservoirs in HIV-1 infection. *Annu Rev Med.*, **2002**. 53: p. 557-593.
28. McMichael, A., T-cell responses and viral escape. *Cell.*, **1998**. 93: p. 673-676.
29. Holodniy, M.; V. Miller, Human immunodeficiency virus, in Practical guidelines in antiviral therapy, C.A.B.B.G.J. Galasso, Editor. **2002**, Elsevier Science. p. 95-125.
30. Abu-Ata, O.; J. Slim; G. Perez; S.M. Smith, HIV Therapeutics: Past, present, and future. In HIV-1 : Molecular biology and pathogenesis. **2000**, Academic Press. p. 1-40.
31. Daryl K. Granner, Robert K. Murray, Peter A. Mayes, Victor W. Rodwell. Biochimie de Harper. *De Boeck Université*, **2003**. p.259-263.
32. Demopoulos CA, Pinckard RN, Hanahan DJ. Platelet-activating factor. Evidence for 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glyceryl-3-phosphorylcholine as the active component (a new class of lipid chemical mediators). *J. Biol. Chem.* **1979**, **9355-9358**.
33. Benveniste J., Tencé M., Varenne P., Boulet C. And Polnsky J. Semi-synthesis and proposed structure of platelet activating factor (PAF): PAF-acether and alkyl ether analog of lysophosphatidylcholine. *C. R. Acad Sci (Paris)* **1979**, 289, 1037-1040.
34. Godfroid J., Heymans F., Michel E., Redeuilh C., Steiner E and Benveniste J. Platelet activating factor (PAF-acether): total synthesis of 1-O-alkyl-2-O-acetyl-glycero-3-phosphorylcholine. *FEBS let.* **1980**, 116, 161-164.

35. Heymans F., Michel E., Borrel M-C., Wichrowski B et Godfroid J.-J. nouvelle synthèse totale du PAF-acéther et son énantiomère. *C.R. Acad. Sci. (Paris)* **1981**, 293, 49-52.
36. Heymans F., Michel E., Borrel M-C., Wichrowski B., Godfroid J.-J., Convert O., Coëffir E., Tencé M and Benveniste J. New total synthesis and high resolution ¹H NMR spectrum of platelet activating factor, its enantiomer and racemic mixture. *Biochem. Biophys. Acta* **1981**, 666,203-237.
37. Terashita. Z., Tsushima. S., Yoshioka. Y., Nomura. H., Inada. Y., Nishikawa. K. CV 3988, a specific antagonist of PAF. *Life Sci.* **1983**, 32, 1975-1982.
38. Miyamoto. T., Ohno. H., Yano. T., Okada. Hamanaka. N., Kawasaki. A. ONO-6240: A new potent antagonist of PAF. *In Advances in Prostaglandin, Thromboxane and Leukotriene Research.* Ed., *Hayaishi O. and Yamamoto S., Raven Press, New York.* **1985**, 15, 719-720.
39. Braquet. P. The Ginkgolides: Potent PAF antagonists isolated from *Gingko biloba* L. Chemistry, pharmacology and chemical applications. *Drugs of the Future.* **1987**, 12, 643-699.
40. H. Benmehdi. Synthèse des molécules a double activité anti-PAF et anti-VIH. Thèse de doctorat. Université de Tlemcen. Avril **2009**.
41. Ozdener H. Molecular mechanisms of HIV-1 associated neurodegeneration. *J. Biosci.* **2005**, 30(3), 391-405.
42. Gendelman H. E., Ghorpade A., Persidsky Y., Ghorpade A., Limoges, J., Stins, M., Fiala, M. et Morrisett, R. The Neuropathogenesis of HIV-1 Dementia. *AIDS* **1997**, 11, S35-45.
43. Navia B. A., Jordan B. D. et Price R. W. The AIDS dementia complex: I. Clinical features. *Ann. Neurol.* **1986**, 19, 517-524.
44. King J. E., Eugenin E. A., Buckner C. M. et Berman J. W. HIV tat and neurotoxicity. *Microbes Infect.* **2006**, 1-11.
45. Minagar A., Shapshak P., Fujimura R., Ownby R., Heyes M., Eisdorfer C. The role of macrophage/microglia and astrocytes in the pathogenesis of three neurologic disorders: HIV-associated dementia, Alzheimer disease and multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.* **2002**, 202, 12-23.
46. Verani A., Gras G. et Pancino G. Macrophages and HIV-1 : dangerous liaisons. *Mol. Immunol.* **2005**, 42, 195-212.

47. Nottet H., Jett M., Flanagan C., Zhai Q. H., Persidsky Y., Rizzino A., Bernton E., Genis P., Baldwin T., Schwartz J., Labenz C. et Gendelman H. E. A Regulatory Role for Astrocytes in HIV-1 Encephalitis: an Overexpression of Eicosanoids, Platelet-Activating Factor, and Tumor Necrosis Factor- α by Activated HIV-Infected Monocytes is Attenuated by Primary Human Astrocytes. *J. Immunol.* **1995**, *154*, 3567-3581.
48. Gelbard H. A., Nottet H. S. L. M., Swindells S., Jett M., Dzenko K. A., Genis P., White R., Wang L., Choi Y. B., Zhang D., Lipton S. A., Tourtelotte W. W., Epstein L. G. et Gendelman H. E. Platelet-Activating Factor: a candidate human immunodeficiency virus type-1-induced neurotoxin. *J. Virol.* **1994**, *68*, 4628-4635.
49. Nuovo G. J., Gallery F., MacConnel P. et Braun A. In Situ Detection of Polymerase Chain Reaction Amplified HIV-1 Nucleic Acid and Tumor Necrosis Factor Alpha in Central Nervous System. *Am. J. Pathol.* **1994**, *144*, 659-666.
50. Hewett S. J., Corbett J. A., McDaniel M. L. et Choi D. W. Cytokine-Induced Nitric Oxide Production by Astroglia Potentiates NMDA Neurotoxicity in Cortical Cell Cultures. *Brain Research* **1993**, *625*, 337-341.
51. Koutsilieri E., Scheller C., ter Meulen V., Riederer P. Monoamine oxidase inhibition and CNS immunodeficiency infection. *Neurotoxicology* **2004**, *25*, 267-270.
52. Koutsilieri E., Sopper S., Heinemann T., Scheller C., Lan J., Stahl-Hennig C. Involvement of microglia in cerebrospinal fluid glutamate increase in SIV-infected rhesus monkey (*maccaca mulatta*). *AIDS Res. Hum Retroviruses* **1999**, *15*, 471-477.
53. Barak O., Goshen I., Ben-Hur T., Weidenfeld J., Taylor A. N. et Yirmiya R. Involvement of brain cytokines in the neurobehavioral disturbances induced by HIV-1 glycoprotein 120. *Brain Res.* **2002**, *933*, 98-108.
54. Guzman K., Guevara-Martines M., Montes-Rodrigues C. J. et Prospero-Gracia O. MDC and SDF-1 α prevent the HIV gp120-induced food and water intake decrease in rats. *Neurosci. Lett.* **2006**, *396*, 50-3.
55. Galicia O., Sanchez-Alavez M., Diaz-Ruiz O., Sanchez Narvaez F., Elder J. H., Navarro L. et Prospero-Garcia O. HIV-derived protein gp120 suppresses P3 potential in rats: potential implications in HIV-associated dementia. *Neuroreport.* **2000**, *11*, 1351-1355.
56. Montes-Rodriguez C. J., Alavez S., Elder J. H., Haro R., Moran J. et Prospero-Gracia O. Prolonged waking reduces human immunodeficiency glycoprotein 120-or tumor

- necrosis factor alpha-induced apoptosis in the cerebral cortex of rats. *Neurosci. Lett.* **2004**, *360*, 133-136.
57. Martin-Gracia J., Kolson D. L. et Gonzales-Scarano F. Chemokine receptors in the brain: their role in HIV infection and pathogenesis. *AIDS* **2002**, *16*, 1709-30.
58. Meucci O., Fatalis A., Simen A. A., Bushell T. J., Gray P. W. et Miller R. J. Chemokines regulate hippocampal neuronal signalling and gp120 neurotoxicity. *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* **1998**, *95*, 14500-14505.
59. Gonzalez-Scarano F. et Martin-Garcia, J. The neuropathogenesis of AIDS. *Nat. Rev. Immunol.* **2005**, *5*, 69-81.
60. Genis P., Jett M., Bernton E. W., Boyle T., Gelbard H. A., Dzenko K., Keane R. W., Resnick L., Mizrachi Y. et Volsky D. J. Cytokines and arachidonic metabolites produced during human immunodeficiency virus (HIV)-infected macrophage-astroglia interactions: implications for the neuropathogenesis of HIV disease. *J. Exp. Med.* **1992**, *176*, 1703-1718.
61. Locardi C., Petrini P., Boccoli G., Testa U., Dieffenbach C., Butto S. et Belardelli F. Increased Human Immunodeficiency Virus (HIV) Expression in Chronically Infected U937 Cells Upon in Vitro Differentiation by Hydroxyvitamin D₃ : Roles of Interferon and Tumor Necrosis Factor in Regulation of HIV Production. *J. Virol.* **1990**, *64*, 5874-5882.
62. Weissman D., Poli G., Bousseau A. et Fauci A. S. A Platelet-Activating Factor Antagonist, RP 55778, Inhibits Cytokine-dependent Induction of Human Immunodeficiency Virus Expression in Chronically Infected Promonocytic Cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 2537-2541.
63. Gelbard H. A., Nottet H. S. L. M., Swindells S., Jett M., Dzenko K. A., Genis P., White R., Wang L., Choi Y. B., Zhang D., Lipton S. A., Tourtelotte W. W., Epstein L. G. et Gendelman H. E. Platelet-Activating Factor : a Candidate Human Immunodeficiency Virus Type 1-Induced Neurotoxin. *J. Virol.* **1994**, *68*, 4628-4635.
64. Chen H.-S. V., Pellegrini J. W., Aggarwal S. K., Lei S. Z., Warach, S., Jensen F. E. et Lipton S. A. Open-channel Block of NMDA Responses by Memantine : Therapeutic Advantage Against NMDA Receptor-mediated Neurotoxicity. *J. Neurosci.* **1992**, *12*, 4427-4436.
65. Dzenko K. A., Perry S. W., Epstein L. G. et Gelbard H. A. *Soc. Neurosc. Abstr.* **1995**, *21*, 561.

66. Bellizi M. J., Lu S. M., Masliah E. et Gelbard H. A. Synaptic activity becomes excitotoxic in neurons exposed to elevated levels of platelet-activating factor. *J. Clin. Invest.* **2005**, *115*, 3185-92.
67. Miller, D.W. Immunobiology of the blood-brain barrier. *J. Neurovirol.* **1999**, *5*, 570-8.
68. Serradji N., Bensaid O., Martin M., Kan E., Dereuddre-Bosquet N., Redeuilh C., Huet J., Heymans F., Lamouri A., Clayette P., Dong C. Z., Dormont D. et Godfroid J. J. Structure-Activity Relationships in Platelet-Activating Factor (PAF). 10. From PAF-Antagonism to Inhibition of HIV-1 Replication. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2149-2154.
69. Clifford D. B., McArthur J. C., Schifitto G., Kieburtz K., McDermott M. P., Letendre S., Coben B. A., Marder K., Ellis R. J. et Marra C. M. A randomized clinical trial of CPI 1189 for HIV-associated cognitive-motor impairment. *Neurology* **2002**, *59*, 1568-73.
70. Martin. M., Serradji. N., Dereuddre-Bosquet. N., Le pavec. G., Fichet. G., Lamouri. A., Heymans. F., Clayette. P., Dormont. D., Godfroid. J. PMS-601, a new Platelet-Activating Factor Receptor Antagonist that Inhibits Human Immunodeficiency Virus Replication and Potentiates Zidovudine Activity in Macrophages. *J. Antimicrobial Agents And Chemotherapy.* **2000**, *44*, 3150-3154.
71. Martin. M., Serradji. N., Deureuddre-Bosquet. N., Bensaid. O., Fichet. G., Lamouri. A., Heymans. F., Clayette. P., Godfroid. J.J., Dormont. D. Antiretroviral and Anti-inflammatory Properties of a Novel Platelet Activation Factor Antagonist, PMS-601. *Pathol. Biol. (Paris)* **2000**, *48* (5), 513-9.



CHAPITRE II :
SYNTHÈSE D'ANALOGUE
DU PMS 1109

CHAPITRE 2 : SYNTHÈSE D'ANALOGUE DU PMS 1109

I. Introduction :

Plusieurs pharmacophores possédant une grande double activité ; anti-VIH et anti-PAF, ont été identifiés durant le développement d'analogues du PMS 1109. Des modifications au niveau de la structure du R ont abouti à la découverte de plusieurs classes de composés pouvant être antagonistes du PAF ou inhibiteur du VIH.

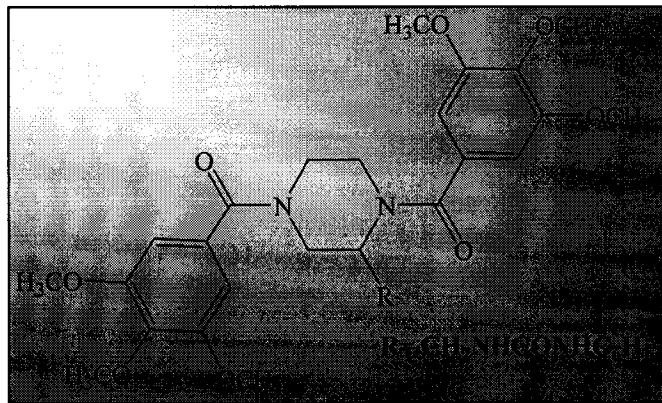


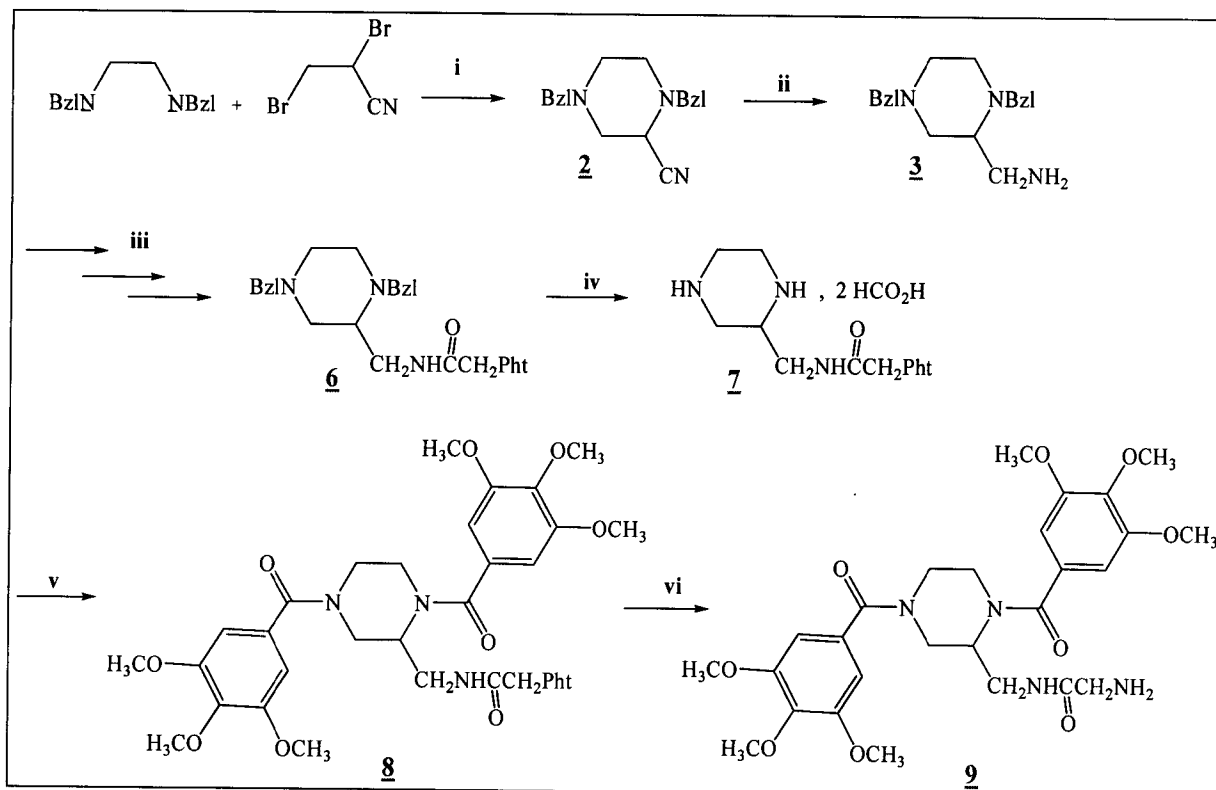
Schéma 1 : Structure de PMS 1109 ; pipérazine trisubstituées

Dans notre laboratoire, la synthèse de ces analogues est effectuée à partir pipérazine bi-substituées, en vue d'obtenir des analogues doublement fonctionnalisées qui, par la suite, peuvent être transformées en pipérazine tri-substituées. Cet objectif est justifié par tout ce que nous avons déjà cité de la littérature en ce qui concerne l'activation des propriétés biologiques des substances qui comportent un cycle de pipérazine.

Nous n'avons pas encore atteint nos objectifs désignés mais on est en traine de faire le plus grand possible de modification et de synthèse en utilisant des méthodes simples, un nombre d'étapes relativement faible et des rendements satisfaisants et des activités biologiques intéressantes.

II. Stratégies de synthèse :

Notre approche a consisté à synthétiser des molécules substituées en 2 du cycle par un aminométhyle porteur d'un aminoacide (glycine). Dans cette optique, une stratégie de synthèse décrite dans le schéma 2 a été mise au point :



i) Toluène/ Et_3N ii) LiAlH_4 /Ether iii) voir schéma 8 et 10 iv) H_2 / Pd/c, 3 h de reflux v) 3,4,5-(CH_3O) $_3\text{C}_6\text{H}_2\text{COCl}$ / NEt_3 / CH_2Cl_2 vi) NH_2NH_2 , H_2O / CH_2Cl_2 / MeOH (1 : 1).

Schéma 1 : stratégie de synthèse d'analogue structural du PMS 1109, composés **9**

Dans un premier temps nous avons procédé à la préparation des divers composés substitués sur la position 1,4 et 2 de cet hétérocycle selon la stratégie décrite dans la première étape de l'enchaînement. Une réaction réductive de la 1,4-dibenzyl-2-cyanopipérazine permet d'obtenir le produit **3**. Ce dernier subit une réaction de couplage avec un aminoacide protégé et activé pour donner le composé **6**. La débenzylation de l'intermédiaire **6** libère l'intermédiaire **7**. L'amidification de ce dernier par le chlorure de 3,4,5-triméthoxybenzoyle conduit au produit **8**. Enfin, une réaction de déprotection de l'acide aminé nous donne notre produit final souhaité **9**.

III. Les étapes de la synthèse :

III.1 Cyclisation :

Synthèse de la 1,4-dibenzyl-2-cyanopipérazine 1 :

Suivant le protocole de JUCKER et coll ⁽¹⁾, cette réaction s'effectue en une étape par action du 2,3-dibromopropionitrile sur la 1,4-dibenzyléthylène diamine dans le toluène en présence de la triéthylamine. La chlorhydratation du produit par HCl gazeux conduit à la formation du composé 1 (schéma 3).

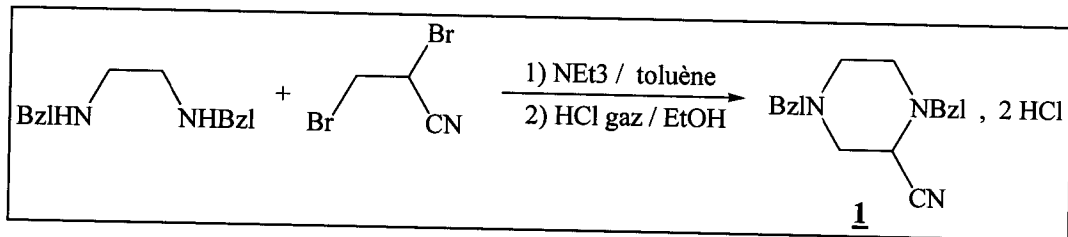


Schéma 3

Le bon rendement est dû au caractère attracteur du groupement CN de la 2,3-dibromopropionitrile ⁽²⁾. En effet, il est a été démontré que pour un groupement donneur tel que CH₂OH, alkyl ou aryl les rendements sont médiocres et mené a la formation de nombreux produits secondaires. On propose le mécanisme suivant (schéma 4) :

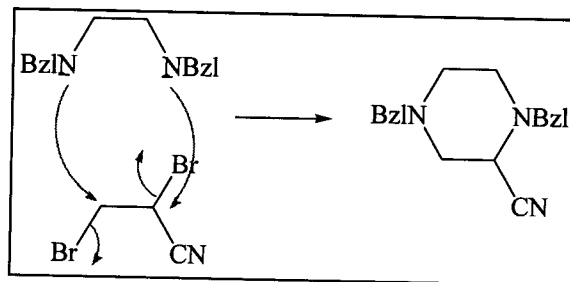


Schéma 4

Le sel ainsi obtenu subit une neutralisation avec le NaHCO₃, puis une extraction dans le dichlorométhane suivie d'une évaporation, fournit 1,4-dibenzyl-2-cyanopipérazine (schéma 5).

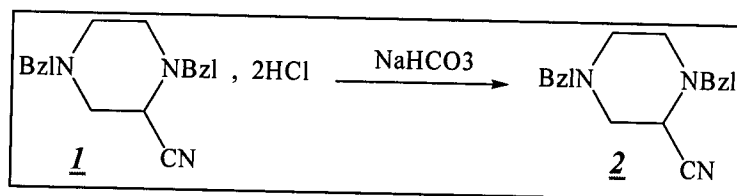


Schéma 5 : réaction de neutralisation du composé 1

Le spectre IR du composé 2 montre une bande moyenne à 2250 cm^{-1} , caractéristique du groupement nitrile.

III.2 Réduction :

Préparation de la 1,4-dibenzyl-2-(aminométhyl) pipérazine 3:

La réduction de la fonction nitrile en fonction amine est effectuée par action de LiAlH_4 sur le composé 2 ^(3,4).

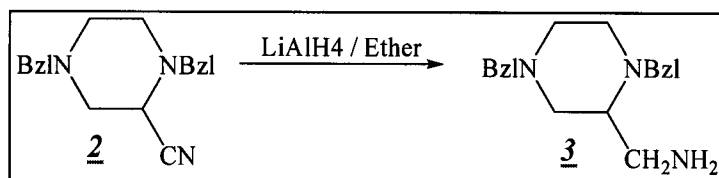
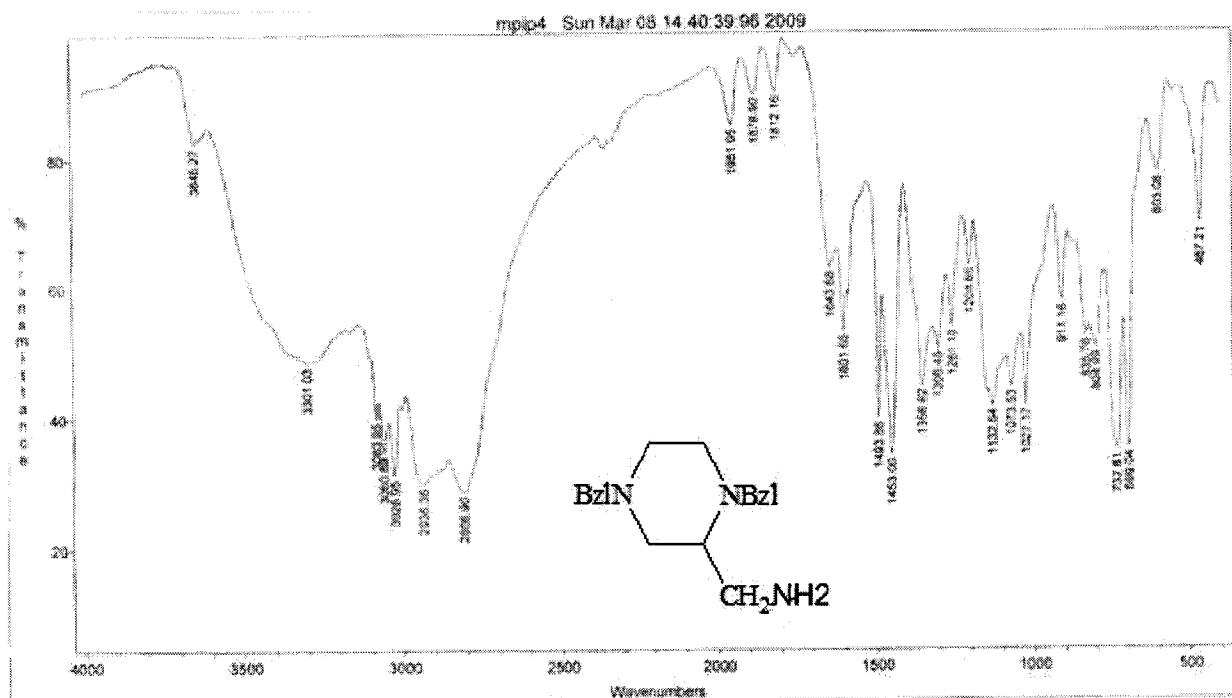


Schéma 6

Le spectre IR montre la disparition de la bande nitrile à 2250 cm^{-1} du composé 2 et l'apparition de deux bandes amine à 3646 et 3600 cm^{-1} .



III.3 Préparation de l'acide aminé protégé:

Synthèse du N-phtalimidoglycine 4 :

Pour effectuer des transformations chimiques satisfaisantes avec des acides aminés, il est souvent nécessaire de protéger une ou plusieurs fonctions réactives présentes sur la molécule (les groupes amino, hydroxy, thiol ou carboxylique). Chaque groupement protecteur présente une spécificité de stabilité, de fixation et d'élimination en fonction des conditions opératoires⁽⁵⁾. D'autre part la fonction amine doit être protégée par un groupe qui est stable vis-à-vis de la plupart des manipulations chimiques et qui peut être facilement enlevé dans des conditions douces. Les groupes tels que le t-butoxycarbone (**Boc**) et le benzyloxycarbone (**Cbz**) (schéma 7) satisfont à ce genre d'exigence et comptent parmi les groupes les plus utilisés.

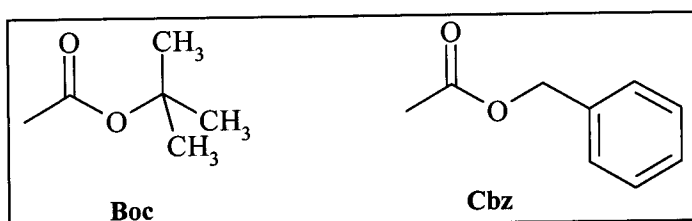


Schéma 7

Dans notre laboratoire, la protection de la fonction amino des acides aminés s'effectue avec l'anhydride phtalique⁽⁶⁾, le seul réactif dont nous disposons comme groupe protecteur (schéma 8). La condensation de l'acide aminé avec l'anhydride phtalique dans l'acide acétique glacial sous un reflux de deux heures fournit un phtalimidoacide qui est ensuite recristallisé dans un mélange éthanol-eau (1: 4)⁽⁷⁾.

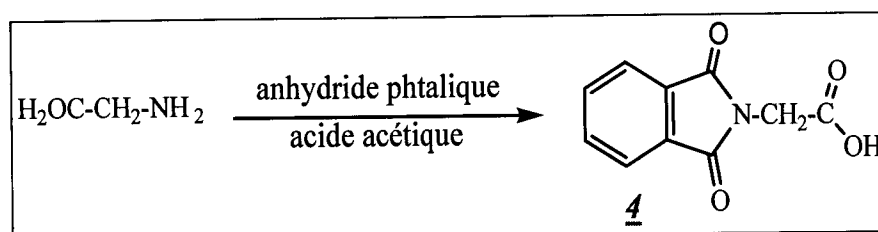


Schéma 8 :

III.4 Activation de l'acide aminé protégé 4:

Synthèse du chlorure N-phtalimidoglycine 5

L'activation de la fonction acide de l'acide aminé dont le but de rendre la fonction acide plus réactive et par conséquent la réaction d'amidification devient plus facile (schéma 9) :

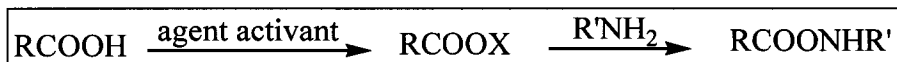


Schéma 9 : activation et aminolyse d'un acide

On trouve dans la littérature plusieurs agents activant tels que le chlorure de thionyle (SOCl_2); le chlorure d'oxalyle (COCl_2); le trichlorure de phosphore (PCl_3); l'oxychlorure de phosphore (POCl_3); le pentachlorure de phosphore (PCl_5). Le pentachlorure de phosphore est généralement utilisé pour les acides aromatiques ⁽⁷⁾. On a utilisé le chlorure de thionyl (SOCl_2) comme agent d'activation (schéma 10).

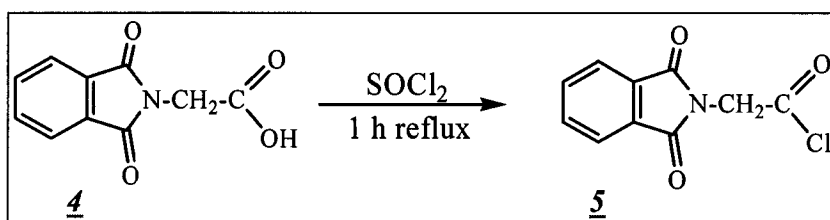


Schéma 10:

Le mécanisme réactionnel de la formation de chlorure d'acyle est illustré ci-dessous :

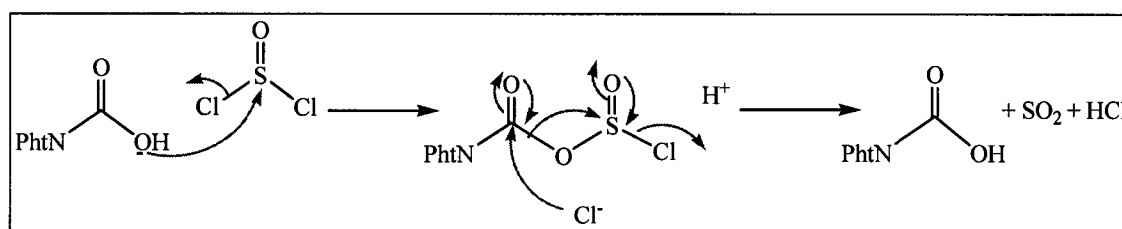


Schéma 11 : mécanisme de formation d'un chlorure d'acyle

III.5 Amidification :

Synthèse du *N*-((1,4-dibenzylpipérazin-2-yl)méthyl)-2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)acétamide 6 :

La condensation de l'acide aminé 3 sur le chlorure N-phthalimidoglycine 5, conduit au composé 6. La réaction se fait dans le CH₂Cl₂ en présence de triéthylamine (schéma 12).

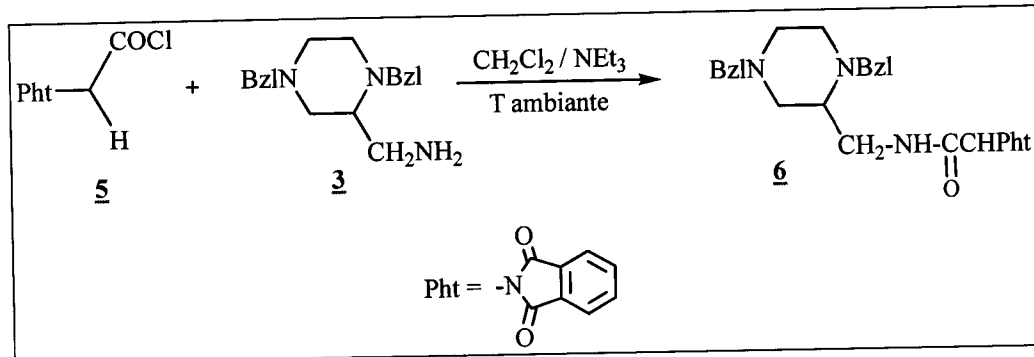
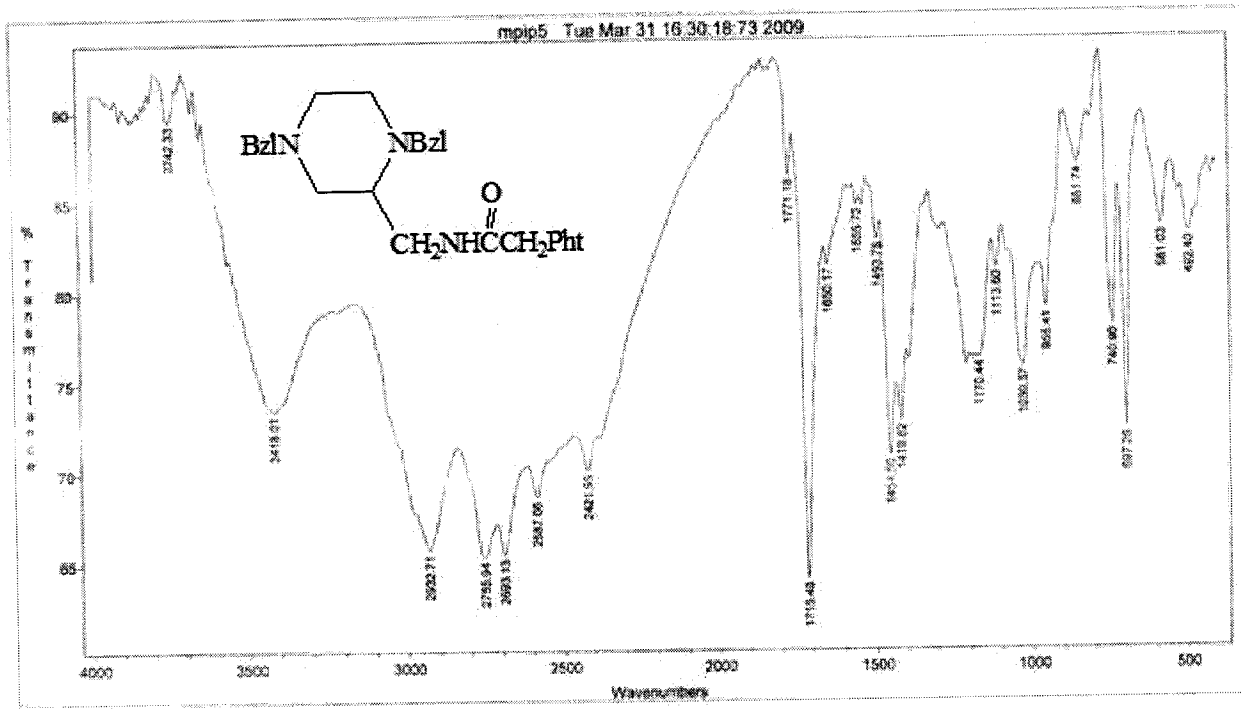


Schéma 12

L'étude du spectre IR de composé 6 montre l'existence de la bande C=O de l'amide à 1650 cm⁻¹ et la bande NH à 3418 cm⁻¹.



III.6 Débenzylation :

Synthèse du *-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-N-(pipérazin-2-yl)méthyl)acétamide 7* :

La débenzylation du composé **6** est réalisée à l'aide du formiate d'ammonium avec une catalyse par le charbon palladié selon le procédé décrit par Rowley (schéma 13) [8].

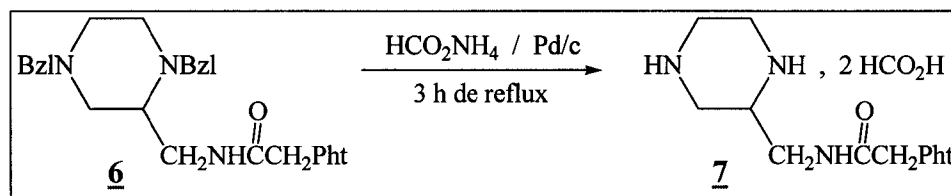
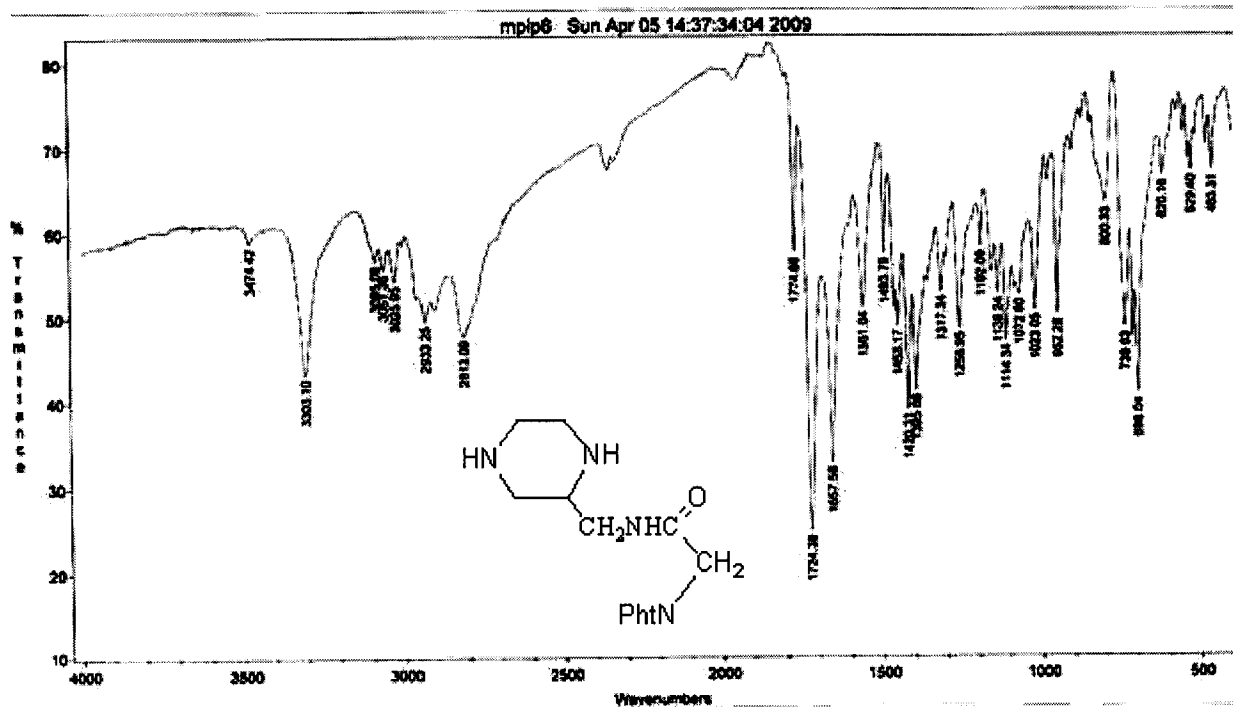


Schéma 13



L'étude de spectre IR montre l'existence de la bande (N-H pip) à 342 cm⁻¹ et NH de l'amide à 3250 cm⁻¹.

III.7 Amidification :

Synthèse du *N-((1,4-bis(3,4,5-triméthoxybenzoyl)pipérazin-2-yl)méthyl)-2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)acétamide 8* :

Le composé **8** est obtenu par réaction du sel de diamine **7** sur le chlorure de 3,4,5-triméthoxybenzoyle, en présence de la triéthylamine selon le procédé décrit dans la littérature ⁽⁹⁻¹⁰⁾ (schéma 14).

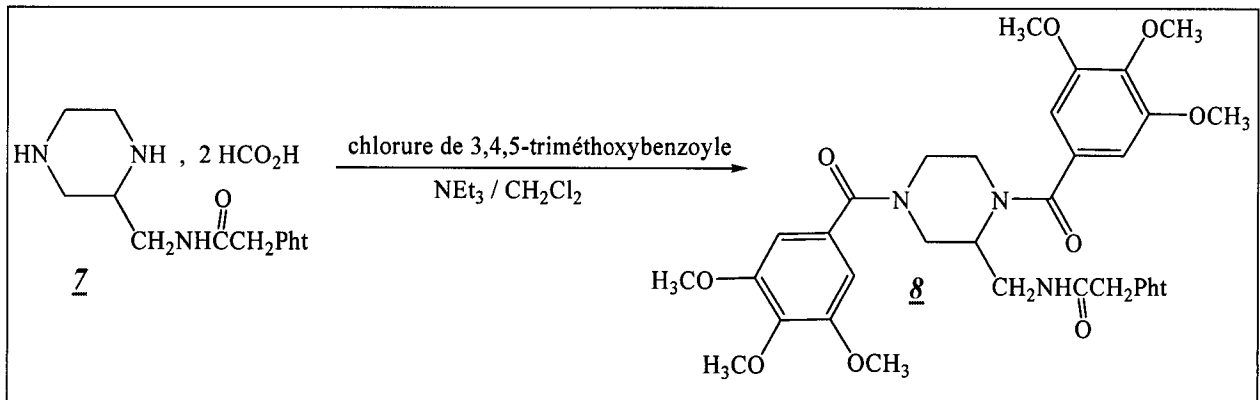


Schéma 14

Le composé **8** est caractérisé par la présence de la nouvelle bande C=O de l'amide à 1686cm^{-1} .

III.8 Déprotection de l'acide aminé :

Synthèse du 2-amino-N-((1,4-bis(3,4,5-triméthoxybenzoyl)pipérazin-2-yl)méthyl)acétamide **9** :

Finalement, une déprotection de la fonction amine de l'acide aminé a été réalisée. Elle consiste à cliver la liaison N-phtalimido en présence de l'hydrate d'hydrazine, phénylhydrazine et hydroxylamine, sous une agitation à température ambiante. Le solide formé (le tétra hydrophthalazine-1,4-dione) est éliminé par filtration ⁽¹¹⁻¹⁵⁾.

En effet la réaction du composé **8** avec l'hydrazine 5 % (2éq, dissous dans un mélange de dichlorométhane et de méthanol (1:1)) conduit au composé final **9** (schéma 15).

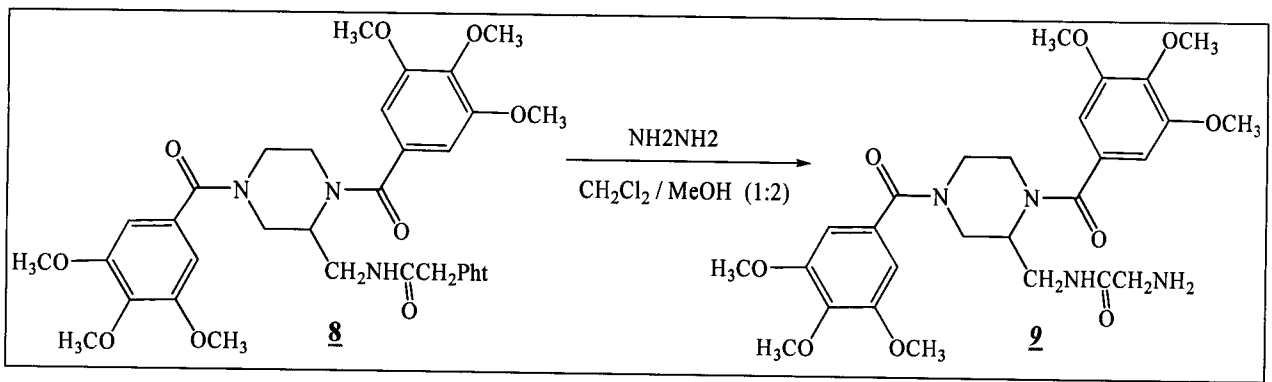
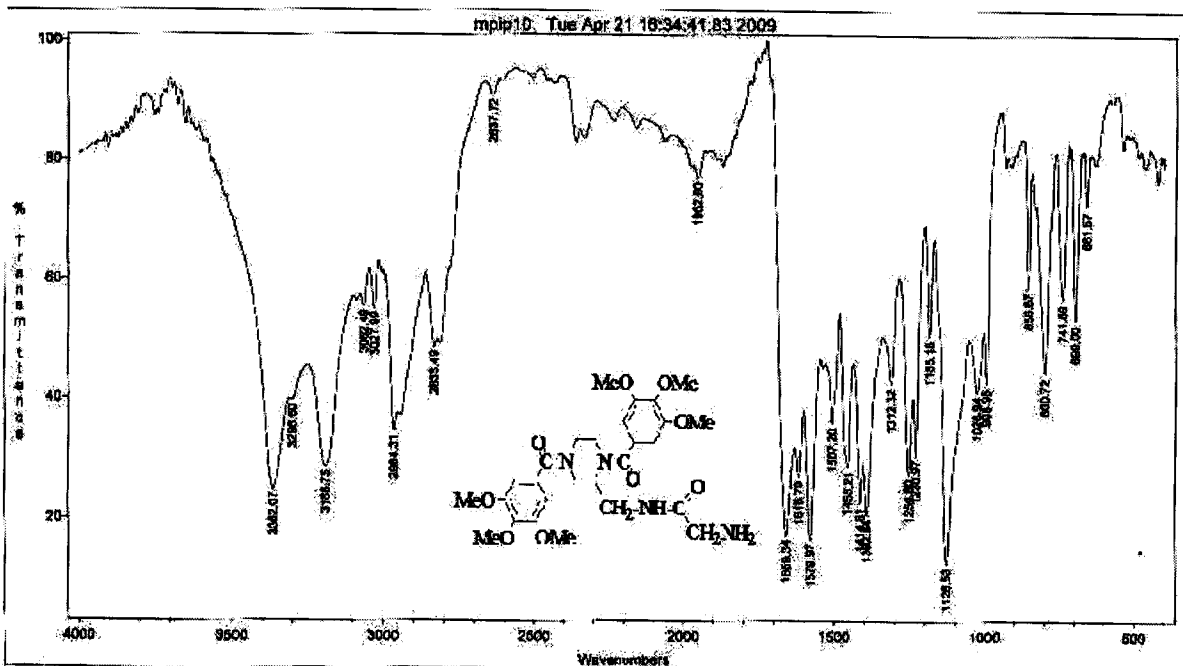


Schéma 15

Le composé **9** est caractérisé en spectroscopie IR, par disparition des bandes $\text{C}=\text{O}$ caractéristiques du groupe phtaloyle l'apparition de deux bandes caractéristiques du groupe amino vers 3362 et 3298 cm^{-1} .



MODES OPÉRATOIRES

PARTIE EXPERIMENTALE

Techniques expérimentales

***Chromatographie sur couche mince :**

La chromatographie analytique sur couche mince (CCM) est réalisée sur des feuilles plastiques recouvertes d'une couche de gel de silice 60F254 d'une épaisseur de 0,25 mm, prêtes à l'emploi, fournies par Merck. Les taches sont révélées avec une lampe UV ou avec la vapeur d'iode.

***Chromatographie sur colonne :**

Les chromatographies préparatrices sur colonne utilisent le gel de silice de granulométrie 0,063-0,200 mm, fourni par Merck.

***Température de fusion :**

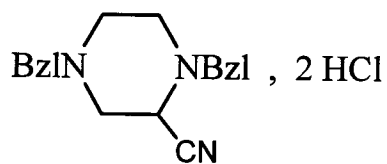
Les points de fusion (Pf) sont mesurés à l'aide d'un appareil à point de fusion digital.

***Infrarouge :**

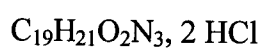
Les spectres d'absorption dans l'infrarouge (IR) sont enregistrés sur un appareil GENESIS SERIES FTIR (ATI-MATTSON, 4000-600 cm^{-1}).

Modes opératoires

Le composé 1 a été préparé selon le procédé décrit dans la littérature⁽¹⁶⁾.

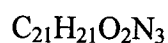
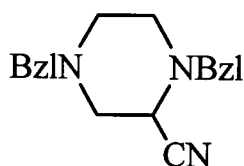


1



1. Neutralisation des chlorhydrates de 1,4-dibenzyl-2-cyanopipérazine 1 :

Dans un erlen sont introduits 12,17g (23.5mmoles) de ces chlorhydrates et une solution saturée de bicarbonate de sodium. Le mélange est agité pour solubiliser le solide et jusqu'à la cessation de l'effervescence. La phase aqueuse est extraite 3 fois avec 20 ml de dichlorométhane. La phase organique est combinée et lavée avec de l'eau distillée puis séchée sur $CaSO_4$, filtrée et évaporée sous vide. On obtient ainsi 8.26 g d'un liquide huileux ; composé 2. Rdt= 82 %.



2

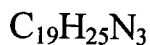
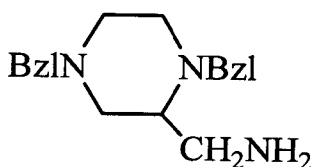
IR ν (KBr) (cm^{-1}): 3027 (C-H arom); 2810 (C-H aliph); 2250 (CN); 1602 (C=C arom)

Partie Expérimentale

2. Réduction :

Préparation de la 1,4-dibenzyl-2-(aminométhyl) pipérazine 3:

Dans un ballon surmonté d'une ampoule à addition, 1.72 g (0.045 moles) LiAlH_4 sont agités dans 40 ml d'éther diéthylique sec, et la suspension est maintenue à 0°C dans un bain de glace. Une solution de 8.20 g (0.022 moles) du composé 2 dans un 20 ml d'éther est ajoutée goutte à goutte. Après l'addition, le système est mit en agitation pendant une nuit à température ambiante. L'excès de LiAlH_4 est détruit par l'addition d'eau distillée goutte à goutte. Après filtration de l'hydroxyde d'aluminium formé, la phase organique est lavée avec une solution de NaHCO_3 puis à l'eau distillée, séchée par CaSO_4 et enfin évaporée. On obtient 3.29g du composé 3. Rdt = 71 %.



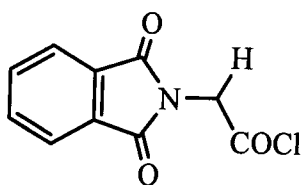
3

IR ν (cm^{-1}): (NH_2) ; 3026 (C-H arom) ; 2817 (C-H aliph);
1451, 1343 (C=C arom).

3. Activation de l'acide aminé protégé 4:

Synthèse du chlorure N-phthalimidoglycine 5:

Un ballon bicol muni d'un réfrigérant avec une garde de CaCl_2 , et une ampoule à addition qu'elle contient 0.70 ml (9.75 mmol) de SOCl_2 , l'addition de ce dernier au l'acide aminé Le N-phthalimidoglycine 4 préalablement préparé 1 g (4.87 mmol) s'effectue à 0°C , ensuite le système est mit à reflux de 1h.



5

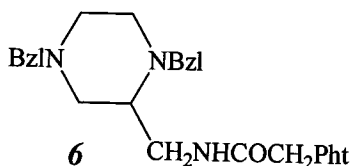


IR ν_{max} (cm^{-1}) (film): 1776 et 1757 (C=O Phtalimido), δ_{max} (cm^{-1}): 1800 (C=O acyle).

4. Amidification :

Synthèse du *N*-((1,4-dibenzylpipérazin-2-yl)méthyl)-2-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)acétamide 6 :

Dans un ballon de 250 mL surmonté d'une ampoule à addition et d'une garde à $CaCl_2$, on introduit 1,44 g (7.02 mmoles) de l'amine 3 dans 40 mL de dichlorométhane et 0.9 mL (6.74 mmoles) de triéthylamine ajoutée goutte à goutte à l'acide N-protégé et activé 5 déjà préparé. Le mélange est alors agité à température ambiante pendant 48h. La phase organique est lavée avec une solution de $NaHCO_3$, trois fois avec de l'eau saturée de $NaHCO_3$ et plusieurs fois à l'eau. Elle est ensuite séchée, filtrée et évaporée. On a obtenu 2,31g du composé 6 sous forme d'un liquide semi visqueux. Rdt= 65%



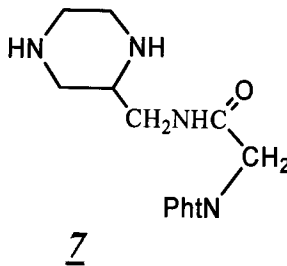
IR ν (cm^{-1}): 3027 (C-H arom); 2811 (C-H aliph); 1650 (N-H)
1723 et 1772 (C=Ophtalimido); 1650 (C=O amide)

Partie Expérimentale

5. Débenzylation :

Synthèse du *-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)-N-(pipérazin-2-ylméthyl)acétamide* 7 :

Cette réaction est réalisée à partir d'un mélange de 2,14 g (4.43 mmoles) de 6, 0,94 g de palladium sur charbon actif et 5,59 g (88 mmoles) de formiate d'ammonium dans 40 ml de méthanol. Après 3h d'agitation à reflux. Lorsque le système se refroidit, le composé est filtré (filtration simple du Pd/c) puis évaporé le méthanol, un composé 7 cristallin de couleur orange est obtenu, leur masse est de 1,2g. Rdt = 83%.

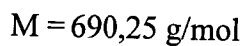
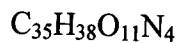
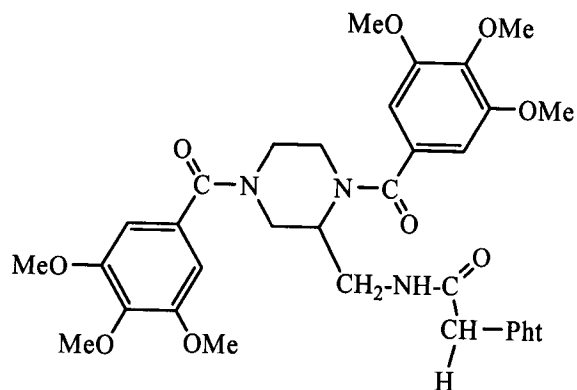


IR ν (cm^{-1}): 3742 (-NH pip); 3418 (-NH amide);
1771 (C=O phtalimido); 1650 (C=O amide).

6. Amidification :

Synthèse du *N-((1,4-bis(3,4,5-triméthoxybenzoyl)pipérazin-2-yl)méthyl)-2-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)acétamide* 8 :

Dans un ballon tricol de 250 ml équipé d'un réfrigérant et d'une ampoule à additionner, sont introduits 1.2 g (3.79mmoles) du sel 7 dans 40 mL de dichlorométhane et 2 ml (14.97 mmoles) de triéthylamine NEt_3 . Une solution de 4.63 g (20.07 mmoles) de chlorure de 3,4,5-triméthoxybenzoyle dans 20 ml de dichlorométhane est ajoutée goutte à goutte. Après 2 jours d'agitation à température ambiante, on lave la phase organique avec de l'eau, séchée, puis filtrée et évaporée. La masse obtenue de 8 est de 1.77g. Rdt= 68%.



8

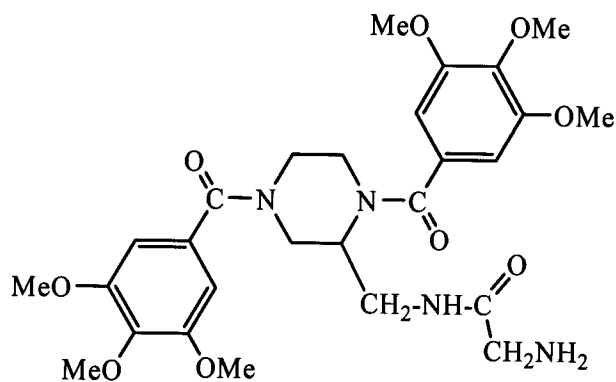
IR ν (cm^{-1}) : 3027 (C-H arom); 2811 (C-H aliph);
1723 et 1772 (C=O phtalimido); 1659 (C=O amide).

7. Déprotection de l'acide aminé :

Synthèse du 2-amino-N-((1,4-bis(3,4,5-triméthoxybenzoyl)pipérazin-2-yl)méthyl)acétamide 9 :

A une solution du composé à déprotéger 8 1.77g (2.57mmol), dissous dans un mélange de CH_2Cl_2 et de méthanol (1:1, 10 ml), on ajoute sous agitation de l'hydrate de l'hydrazine 0.07ml (1.38mmol) à température ambiante.

Après une nuit à la même température, il y a un solide qui se forme (phtaloyl hydrazine), qui est ensuite éliminé par filtration. On évapore le mélange sous pression réduite. Le solide résiduel est dissous dans l'eau distillée. On alcalinise à pH=11 et on extrait avec le CH_2Cl_2 ; on sèche et évapore le solvant. On obtient le produit final 9 sous forme d'un solide de couleur jaune et de masse de g1.32. Rdt= 75.4%.



$C_{27}H_{36}O_9N_4$

M= 560,25 g/mol

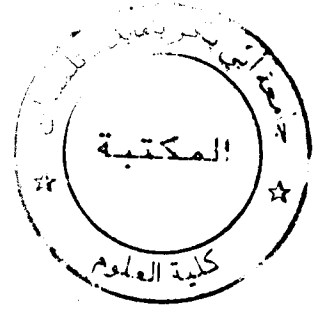
9

IR ν (cm^{-1}): 3362 et 3298 (-NH₂); 3027 (C-H arom); 2964 (C-H aliph);
1659 (C=O amide).

Références Bibliographiques

1. Jucker E. und Rissi E. Uber C-substituierte piperazinederivate. *Helvetica Chimica acta*. **1962**, 45 fasc.7, N° 272-273,2384-2402.
2. Lamouri A. antagonistes du PAF : dérivés de la pipérazine synthèse. Pharmacotoxicologie et structure activité. Doctorat. Université Paris VII. 12.10.1990.
3. Augustin R.L. Reduction Techniques and Applications in organic synthesis. Departement of University Seton hall university south orange, New Jersey. Marcel. Deckker, Inc, New York.1968,59-74.
4. Nystrom R.F. Reduction of organic compounds by mixed hydrides. III. 3-bromopropionic acid, 3-bromopropionyl chloride, methyl 3-bromopropionate and halides. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 610-613.
5. W.Drici. Réactivité des aminiacylinophosphanes avec les alcools. Mémoire du magister. Université de Tlemcen **2003**.
6. J. Mathieu, R. Panico. *Mécanismes Réactionnels en Chimie Organique* **1972**, Hermann Ed.n° 1357.
7. R.Chadli. Synthèse de dipeptides tête –a-queue de l'acide aminooxyacétique. Mémoire du magister. Université de Tlemcen **2006**.
8. Rowley M., Hallett D. J., Goodacre S., Moyes C., Crawford J., Sparey T. J., Smita P., Marwood R., Shil P., Steven T., Hitzel L., O'Connor D., Szeto N., Castro J. L., Hutson P. H., et MacLeod A. M. 3-(4-Fluoropiperidin-3-yl)-2-phenylindoles as High Affinity, Selective, and Orally Bioavailable h5-HT_{2A} Receptor Antagonists. *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 1603-1614.
9. Lamouri A., Heymans F., Tavet F., Dive G., Batt J. P., Blavet N., Braquet P., et Godfroid J. J. Design and modeling of new platelet-activating factor antagonists. 1. Synthesis and biological activity of 1,4-bis(3,4,5-trimethoxybenzoyl)-2-[[[(substituted carbonyl and carbamoyl)oxy] methyl] piperazines. *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 990-1000.
10. Bensaïd O., Boukli-Hacene F., Kajima Mulengi J., Serradji N., Heymans F. Dédoublément de la 1,4-dibenzyl-2-aminométhylpipérazine et de la 1,4-dibenzyl-hydroxyméthylpipérazine. *J. Soc. Alger. Chim.* **2007**, 1, 87-94.

11. J.C. Schzzhan and V.S. Frank, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**,71,1856.
12. W. Grassmann and E.Schulte-Uzbbing, *Chem. Soc.* **1950**, 83, 244.
13. J. Schumann and R.A. Boissonnas. *Nature.* 1952, 169, 154 ; *Hev. Chim. Acta.* **1952,35,2235.**
14. O. Neunhoefffer, G. Lehmann, D.Haberer, and G. Steinle, *ann,* **1968**,712,208.
15. J. Schumann and R.A. Boissonnas. *Hev. Chim. Acta.* **1952,35,2237.**
16. O.Bensaid. Antagonistes de l'agrégation plaquettaire induite par le PAF et inhibiteur de la replication du VIH : synthèse et relation structure activité. Thèse de doctorat. Université de tlemcen. Janvier 2001.



CONCLUSION GÉNÉRALE

ET

PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES :

L'ambition de ce travail contenait un double objectif :

- Pharmacochimique : découverte de nouveaux anti-inflammatoires et anti-HIV.
- Chimique : Développement de nouvelles voies de synthèse et de fonctionnalisation des pipérazines : Synthèse de nouveaux analogues structuraux du PMS 1109, substitués en position 2 de la pipérazine par un groupement $\text{CH}_2\text{NHCOCH}_2\text{NH}_2$ avec NH_2 terminal fonctionnalisable (composé **9**) et ceci avec de bons rendements.

L'objectif général que nous nous étions fixé a été atteint, à savoir la synthèse de nouvelles molécules susceptibles d'être inhibiteurs de la réplication du HIV et antagonistes du PAF. Les modifications structurales ont concernées le motif en position 2. Nous avons été amenés à suivre des nouvelles méthodes de fonctionnalisation de pipérazines. Par des réactions chimiques aussi diverses et variées que la substitution nucléophile et réduction, nous avons réussi à synthétiser différents dérivés hétérocycliques de PMS 1109.

Il existe maintenant des perspectives intéressantes en continuation de ces travaux :

- Introduire d'autres groupements aromatiques, hétéroaromatiques ou non aromatiques portés soit par un ester, soit par un amide.
- Poursuivre la synthèse des nouveaux analogues, en introduisant toute la gamme des acides aminés.
- Contrôler la stéréochimie.
- Sur le plan pharmacochimique, nous avons synthétisé une nouvelle famille de dérivés présentant probablement une activité anti-PAF ou/et anti-HIV intéressante (s), mais il faut aussi chercher d'autre activité qui n'est pas encor décrit.
- Toutefois, le travail d'optimisation structurale doit être en parallèle avec la synthèse organique. Certaines modifications annoncées par la modélisation moléculaire pourraient être une bonne alternative, afin d'obtenir des composés possédant au moins l'une des deux activités. De plus, la diversification des substituants permettrait peut-être de trouver de

nouvelles interactions avec de nouvelles cibles biologiques afin d'augmenter l'effet recherché.

- Sur le plan des testes biologiques, on voudrait bien tester les premières molécules obtenues afin d'étudier l'influence des ces nouveaux substituants sur la double activité (anti PAF et anti HIV).
- Enfin, les composés obtenus possèdent une fonction NH_2 sur le substituant en position 2 de la pipérazine. On peut alors greffer un autre acide aminé, ce qui nous ramène à des dérivés peptidiques.