

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOUBAKR BELKAID, TLEMCCEN
Faculté des Sciences
Département de Chimie
Laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses



MEMOIRE DE MASTER

Présenté par

Mr Amine HADDOUCHE

En vue d'obtenir le diplôme de

MASTER EN CHIMIE

Discipline : Chimie Bio-Organique Et Thérapeutique

Thème

VERS LA SYNTHÈSE TOTALE D'UN NOUVEAU DÉRIVÉ DE SANSALVAMIDE

Soutenu le 14 Juin 2017, devant le jury composé de :

<i>Présidente</i>	<i>Pr Latifa NEGADI</i>	<i>UAB Tlemcen</i>
<i>Encadreur</i>	<i>Dr Abdelmoumin MEZRAI</i>	<i>ESG2E Oran</i>
<i>Examinatrice</i>	<i>Dr Wassila DRICI</i>	<i>UAB Tlemcen</i>

Année universitaire 2016-2017



Je dédie ce travail ...

A mes très chers parents

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

A mon frère et mes sœurs

A toute ma famille, surtout ma grand-mère

A mes amis

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

A mon encadreur Mrs Abdelmoumin Mezrai

Remerciements

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

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

Je remercie Pr Latifa NEGADI, pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury de ce mémoire. Je remercie également Mme Wassila DRICI pour avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie l'équipe de Laboratoire COSNA pour leur intérêt et leurs bons conseils, et Un merci tout particulier à Mme Assia KENICHE pour leur intérêt et ses aides.

De plus, je remercie, les doctorantes Imen LAZZOUNI, Nadjia MERED, et Imen MAMI pour tous les spectres IR.

Merci à toutes les personnes qui j'ai passé ces dernières années, mes meilleures amies Abdelbassat BOUZAR, Hichem BAGHDAD, Ali BENHADDOU, Abdelmajid BELKHODJA, Welid MANKOURI, les dames Wissem, Nawel, et les demoiselles Kadia, Katia, Nassima, et Ikram.

Un énorme MERCI à mes parents

Sommaire

Liste des figures.	
Liste des schémas.	
Liste des abréviations.	
Introduction générale.....	01
I. BIBLIOGRAPHIE.	
1. Biologie du cancer.....	02
2. Traitements du cancer.....	03
3. Les produits naturels utilisés dans les traitements du cancer.....	03
4. Les produits d'origine marine utilisés dans les traitements du cancer.....	04
a. Molécules cytotoxiques.....	04
b. Molécules inhibant l'angiogenèse.....	05
c. Molécules intervenant dans les voies de signalisation cellulaire et le cycle cellulaire.....	05
d. Inducteurs d'apoptose.....	06
e. Molécules anticancéreuses avec mode d'action inconnu.....	06
5. Sansalvamide.....	07
a. Définition.....	07
b. Synthèse en phase solide du sansalvamide (synthèse de Shoxin Liu).....	08
II. TRAVAIL EFFECTUE.	
1. Objectif du travail.....	09
2. Stratégies de synthèse.....	10
3. Généralités sur les acides aminés.....	11
3.1. Protection de la fonction amine des aminoacides.....	11
a. Protection par le t- butoxycarbonyle (Boc).....	12
b. Protection par 9-Fluorenylméthoxycarbonyle (Fmoc).....	13
c. Protection par le benzyloxycarbonyle (Cbz).....	13
d. Protection par l'anhydride phtalique (Ft) et l'anhydride acétique.....	14
3.2. Protection de la fonction acide carboxylique des aminoacides.....	15
a. Protection par l'ester tertio butylique.....	15
b. Protection par l'ester benzylique (Bzl).....	16
c. Protection par l'ester méthylique.....	17
4. Protections effectués.....	17
4.1. Protection de la fonction amine.....	17
4.2. Protection de la fonction acide carboxylique.....	18
5. Couplage peptidique.....	19
6. Synthèse des dipeptides.....	20
III. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	23
IV. PARTIE EXPERIMENTALE	25
V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	34

Liste des figures.

Figure 1 : le cycle cellulaire.

Figure 2 : structure chimique du belamide A (14), beselide A (15), blumiolide (16), N-carboxamido- staurasporine (17), clavularia diterpene (18, 19), aurilide B (20), aurilide C (21), et azumamide (22).

Figure 3 : synthèse en phase solide de sansalvamide (conditions et réactifs).

Liste des schémas.

Schéma 1 : structure chimique du paclitaxel (1), campotothécine (2), podophyllatoxine (3), Vindoline (4), et mitomycine C (5).

Schéma 2 : structures chimiques du trabectedine (6), halichondrine B (7), zalypsis (8), et dalastatine 10 (9).

Schéma 3 : structure chimique de la squalamine.

Schéma 4 : structure chimique du panobinostat (10), et bryostatine 1(11).

Schéma 5 : structure chimique du plitidepsine (12) et discodermolide (13).

Schéma 6 : structure chimique du sansalvamide.

Schéma 7 : analogues synthétisés et testés par Shouxin Liu et collaborateurs.

Schéma 8 : analogues de la Sansalvamide.

Schéma 9 : examen retrosynthétique de la première méthode.

Schéma 10 : examen retrosynthétique de la deuxième méthode.

Schéma 11 : structure des α (1) et β (2) aminoacides.

Schéma 12 : structure des isomères optiques des aminoacides.

Schéma 13 : protection de la fonction amine par le Boc.

Schéma 14 : mécanisme de la protection de l'amine par le Boc.

Schéma 15 : déprotection du groupement Boc.

Schéma 16 : protection de la fonction amine par Fmoc.

Schéma 17 : déprotection du groupement Fmoc.

Schéma 18 : protection de la fonction amine par le groupe Cbz.

Schéma 19 : déprotection du groupement Cbz.

Schéma 20 : protection de l'amine par l'anhydride phtalique.

Schéma 21 : protection de l'amine par l'anhydride acétique.

Schéma 22 : déprotection du groupement phtalimido.

Schéma 23 : protection de la fonction acide par le groupe tertiobutyl.

Schéma 24 : déprotection de groupement tertiobutyl.

- Schéma 25** : protection de la fonction acide par le groupe benzyl.
- Schéma 26** : déprotection du groupement benzyl.
- Schéma 27** : protection de fonction acide par le chlorure d'acétyle.
- Schéma 28** : l'hydrolyse du groupement ester méthylique.
- Schéma 29** : protection de l'amine de L- valine par l'anhydride acétique.
- Schéma 30** : protection de l'amine de L- leucine par l'anhydride acétique.
- Schéma 31** : protection de l'amine de L- tyrosine par l'anhydride acétique.
- Schéma 32** : estérification de L- leucine par chlorure d'acétyle.
- Schéma 33** : estérification de L- tyrosine par chlorure d'acétyle.
- Schéma 34** : couplage peptidique des deux aminoacides en utilisant le DCC.
- Schéma 35** : synthèse de dipeptide N-ac-leu-leu-OMe (1).
- Schéma 36** : synthèse de dipeptide N-ac-val-leu-OMe (2).
- Schéma 37** : synthèse de dipeptide N-ac-leu-tyr-OMe (3).
- Schéma 38** : synthèse de dipeptide Cbz-tyr-leu-OMe (4).
- Schéma 39** : hydrolyse de dipeptide N-ac-val-leu-OMe (2).
- Schéma 40** : hydrolyse de dipeptide Cbz-tyr-leu-OMe (4).
- Schéma 41** : synthèse de tripeptide N-ac-val-leu-tyr-OMe (5).
- Schéma 42** : synthèse de tripeptide Cbz-tyr-leu-leu-OMe (6).

Liste des abréviations.

AcOH : Acide acétique.

Boc : t-butoxycarbonyle.

BOP : l'Hexafluorophosphate de benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)-phosphonium

Bzl : l'ester benzylique.

Cbz : le benzyloxycarbonyle.

CH₃Cl : Chloroforme.

DCC : Dicyclohexylcarbodiimide.

DCM : Dichlorométhane.

DCU : Dicyclohexylurée.

DPPA : L'azide de diphénylphosphonique.

EDC : 1-éthyl-3-(3' diméthylaminopropyl) carbodiimides.

Eq : Equivalent

EtOH : Ethanol.

Fmoc : 9- fluorenylméthoxycarbonyle

Ft : l'anhydride phtalique.

HAUT : 2-(1H-azabenzotriazol-1-yl)-1, 1, 3,3-tétraméthyluronium.

HAUT : le 2-(1H-azabenzotriazol-1-yl)-1, 1, 3,3-tétraméthyluronium.

HBr : Acide bromhydrique.

HCl : Acide chlorhydrique.

HMPT : L'hexaméthylphosphorotriamide.

HOAt : Hydroxyazabenzotriazole.

HOBt : Hydroxybenzotriazole.

IR : Infrarouge.

Leu : Leucine.

LiOH : Hydroxyde de lithium.

MeOH : Méthanol.

N-acé- : N- acétyl.

NH₂-NH₂ : Hydrazine.

Pf : Point de fusion.

TEA : Triéthylamine.

TFA : Acide trifluoroacétique.

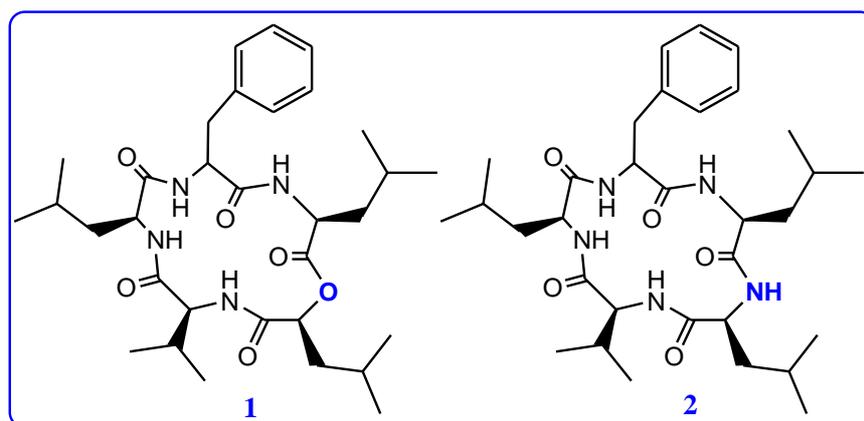
THF : Tétrahydrofurane.

Tyr : Tyrosine.

Val : Valine.

INTRODUCTION GENERALE

La lutte contre le cancer occupe une place importante dans la recherche thérapeutique mondiale. Parmi les nombreux champs d'investigation, figure l'extraction de molécules produites naturellement afin de les tester sur des cellules cancéreuses. Les Sansalvamides, figurant au schéma ci-dessous, constituent un motif chimique sujet à de nombreuses études depuis l'isolement de la Sansalvamide d'un champignon marin du genre *Fusarium* en 1999.



Une grande majorité des produits marins présentent une activité dans le domaine antitumoral. Les molécules issues d'organismes marins possèdent des structures chimiques peu courantes et sont donc de bons candidats pour être évaluées sur différents tests biologiques. Elles peuvent avoir, par exemple, une action sur différents systèmes enzymatiques impliqués dans la réplication cellulaire.

Depuis l'isolement des Sansalvamides, les espoirs étaient grands qu'un de ces produits naturels pourrait être converti en drogue anticancéreuse utile. Notre travail a pour objectif de synthétiser analogues de la Sansalvamide afin d'améliorer son activité.

BIBLIOGRAPHIE

1. BIOLOGIE DU CANCER

Le cancer est une maladie caractérisée par la croissance anarchique de cellules anormales. La majorité des cancers dérive d'une seule et unique cellule anormale. Une cellule normale subit initialement une mutation qui lui donne un avantage sélectif sur ces voisines, et ainsi de suite, jusqu' à la cellule tumorale maligne (devient cancéreuse). Plusieurs mutations successives sont donc nécessaires pour qu'une cellule devienne maligne ¹.

Les gènes mutés responsables de la transformation cellulaire maligne sont des gènes impliqués dans les processus fondamentaux de la vie cellulaire, particulièrement dans le cycle cellulaire¹. La division cellulaire est contrôlée par le cycle cellulaire. Ce dernier a pour fonction de reproduire des cellules filles identiques à la cellule mère ; celles dont l'ADN est altéré sont réparées ou détruites ^{1,2}. Le dérèglement des systèmes régissant et contrôlant l'avancement du cycle cellulaire est à l'origine de la prolifération incontrôlée des cellules cancéreuses.

Au cours du cycle cellulaire (figure 1), la cellule est capable de dédoubler son matériel génétique en vue de le transmettre à une cellule fille. La réplication du matériel génétique d'origine est un passage obligé pour la perpétuation de la vie mais c'est aussi un moment où d'éventuelles mutations peuvent avoir lieu ^{1,2}.

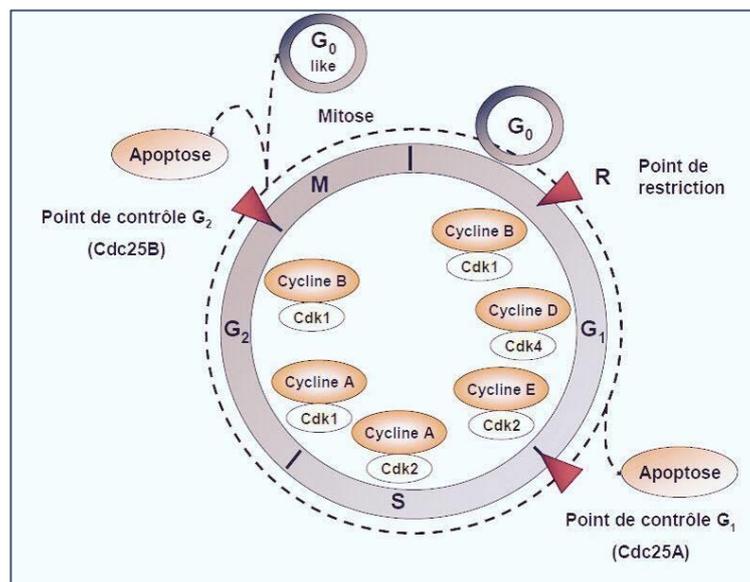


Figure 1 : Le cycle cellulaire².

Le cancer est une « maladie du gène » qui implique des proto-oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs. Les altérations moléculaires des tumeurs sont multiples, séquentielles et variées, touchant de très nombreux processus cellulaires et conduisant à l'acquisition de propriétés par les cellules tumorales ³.

La cellule cancéreuse va acquérir au cours de son développement une série de capacités que ne possèdent pas les cellules normales. Celui-ci est défini par plusieurs caractéristiques ⁴.

- potentiel de prolifération illimité : les cellules tumorales continuent de se diviser sans limite visible grâce à un facteur qui est active dans toutes les cellules cancéreuses, c'est l'activité de télomérase.
- échappement à la mort programmée : une cellule normale peut suicides en utilisant l'apoptose « la mort programmée ».
- échappement au système immunitaire et néo- angiogénèse : les cellules tumorales ont besoin de nutriments et d'oxygène pour survivre.
- perte de l'inhibition de contact : dans les tumeurs, les cellules n'ont plus besoin de signal (stimulus particuliers) pour se diviser.
- invasion tissulaire et développement de la métastase : les cellules tumorales sont capables de transporter dans un autre organe et de générer une seconde tumeur.
- prolifération incontrôlée.

2. TRAITEMENTS DES CANCERS

Parce qu'il n'existe pas un mais des cancers et parce que chaque malade est unique, différents types de traitements peuvent vous être proposés pour vous soigner. Ils sont prescrits seuls ou de manière associée. Le choix des traitements est adapté en fonction de chaque situation.

Les grands types de traitements contre le cancer sont ⁵ :

- Les traitements locorégionaux (la chirurgie ⁶, la radiothérapie⁷ et la thérapie photodynamique ^{8,9}), qui agissent directement sur la tumeur.
- Les traitements systémiques (l'hormonothérapie ¹⁰, l'immunothérapie¹¹ et la chimiothérapie ¹⁰), qui ne sont pas ciblés. En général, les différents traitements sont couplés.

Tous ces traitements visent à éliminer les cellules cancéreuses. Ils agissent soit localement, c'est-à-dire uniquement sur les cellules cancéreuses d'un organe atteint, soit par voie générale, c'est-à-dire sur l'ensemble des cellules cancéreuses présentes dans l'organisme. Les thérapies ciblées sont sélectives et s'attaquent à une cible précise dans la cellule cancéreuse.

3. LES PRODUITS NATURELS UTILISÉS DANS LE TRAITEMENT DU CANCER

Depuis des millénaires, l'homme profite des ressources de la nature pour se soigner, en particulier dans le domaine des maladies cancéreuses, où 60% de ces ressources naturelles sont utilisées comme des médicaments anticancéreux ¹². Des exemples comme le paclitaxel ¹³, la

campotothécine ¹², la podophyllatoxine ¹², le vindoline ¹², le mitomycine C ¹⁴ (schéma 1) ..., montrent l'importance de sources naturelles dans les traitements des cancers ¹⁵.

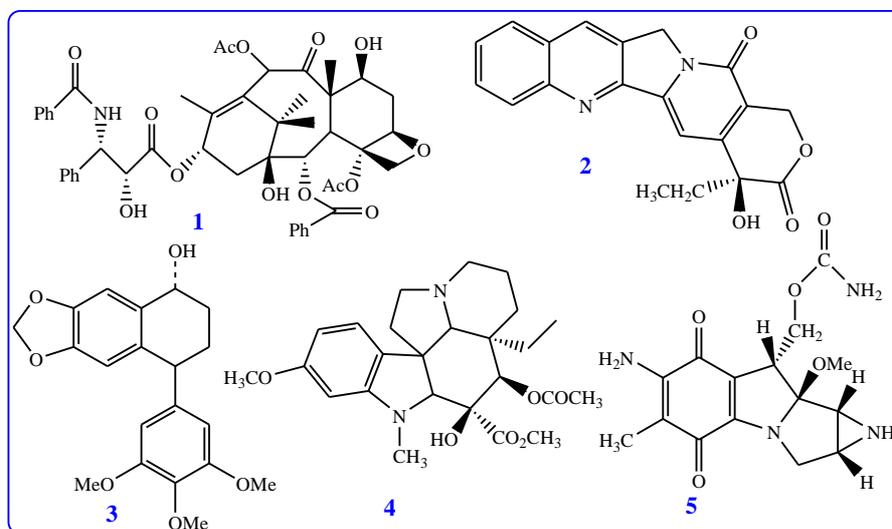


Schéma 1 : structure chimique du paclitaxel (1), campotothécine (2), podophyllatoxine (3), Vindoline (4), et mitomycine C (5).

4. LES PRODUITS D'ORIGINE MARINE UTILISÉS DANS LE TRAITEMENT DU CANCER

Les molécules marines isolées ont souvent des mécanismes d'action particuliers et peu retrouvés chez les autres molécules anticancéreuses ¹⁶. Les particularités des molécules marines du point de vue structural mais aussi au niveau de leur mécanisme d'action constituent un avantage dans la recherche de nouvelles molécules anticancéreuses.

Dans le paragraphe suivant sont référencées et présentées les principales molécules anti-tumorales d'origine marine ayant atteint les essais cliniques ou actuellement sur le marché.

a. Molécules cytotoxiques

Ci-dessous dans le schéma 2, sont représentées les structures chimiques des zalypsis ¹⁷, halichondrine B ¹⁸, trabectedine ¹⁹, et dalastatine ²⁰, qui sont des molécules cytotoxiques d'origine marine.

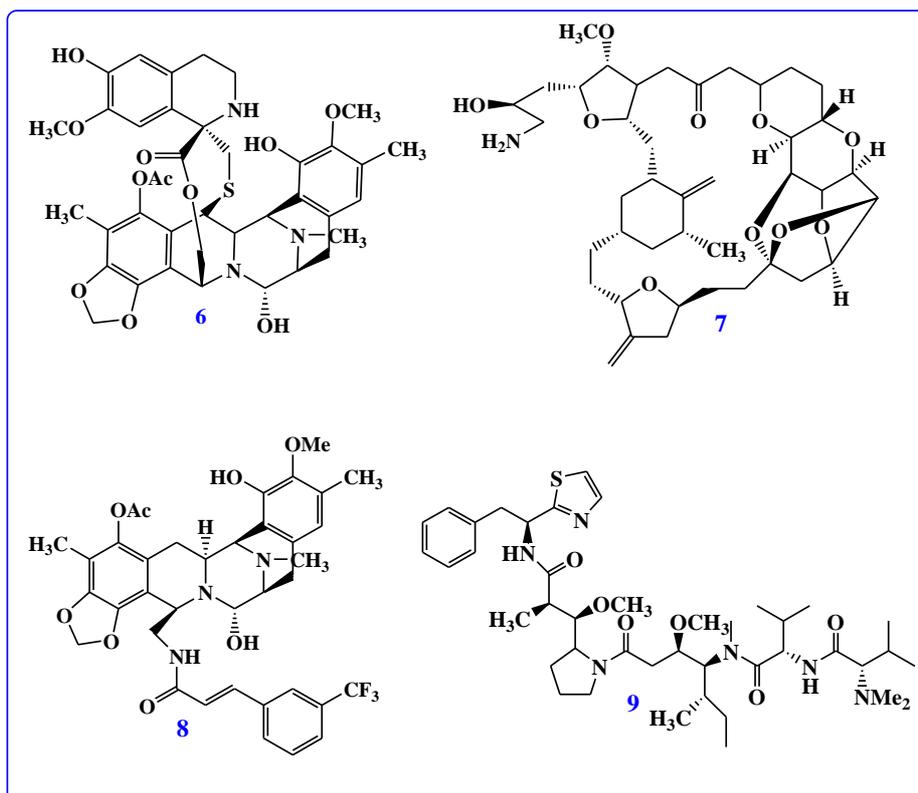


Schéma 2 : structures chimiques du trabectedine (6), halichondrine B (7), zalypsis (8), et dalastatine 10 (9).

b. Molécules inhibant l'angiogénèse

La squalamine ²¹ (schéma 3) est un bon exemple des molécules d'origine marine qui inhibent l'angiogénèse

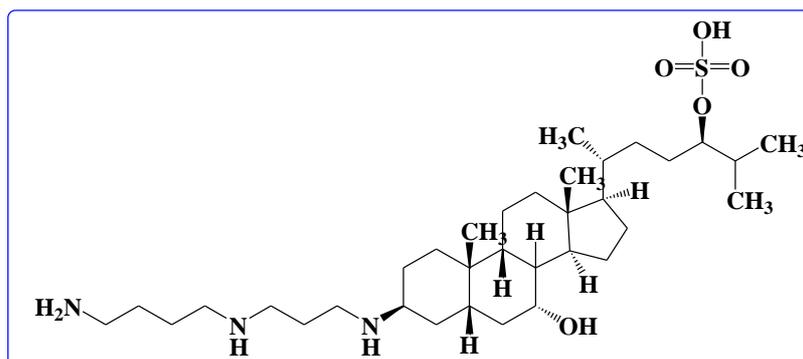


Schéma 3 : structure chimique de la squalamine.

c. Molécules intervenant dans les voies de signalisation cellulaire et le cycle cellulaire

Le panobinostat ²², et la bryostatine 1 ²³ (schéma 4) sont des exemples des molécules d'origine marine qui interviennent dans les voies de signalisation cellulaire et le cycle cellulaire.

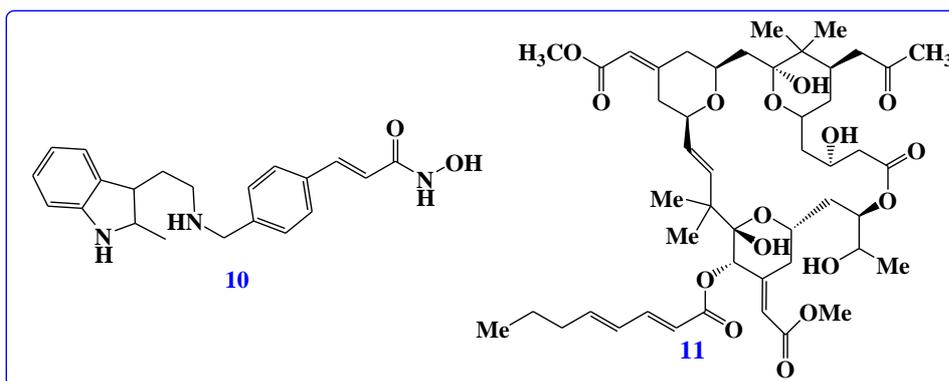


Schéma 4 : structure chimique du panobinostat (10), et bryostatine 1(11).

d. Inducteurs d'apoptose

La plitidepsine ²⁴, et le discodermolide ²⁵ (schéma 5) sont des molécules d'origine marine. Ce sont des inducteurs d'apoptose.

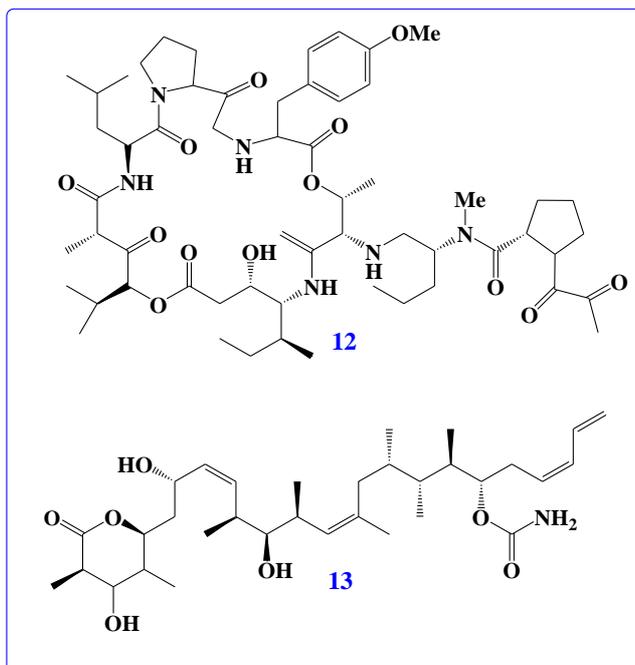


Schéma 5 : structure chimique du plitidepsine (12) et discodermolide (13).

e. Molécules anticancéreuses avec mode d'action inconnu

Il existe de nombreux exemples sur des molécules anticancéreuses d'origine marine que leurs mode d'action est indéterminé ²⁶ (figure 2).

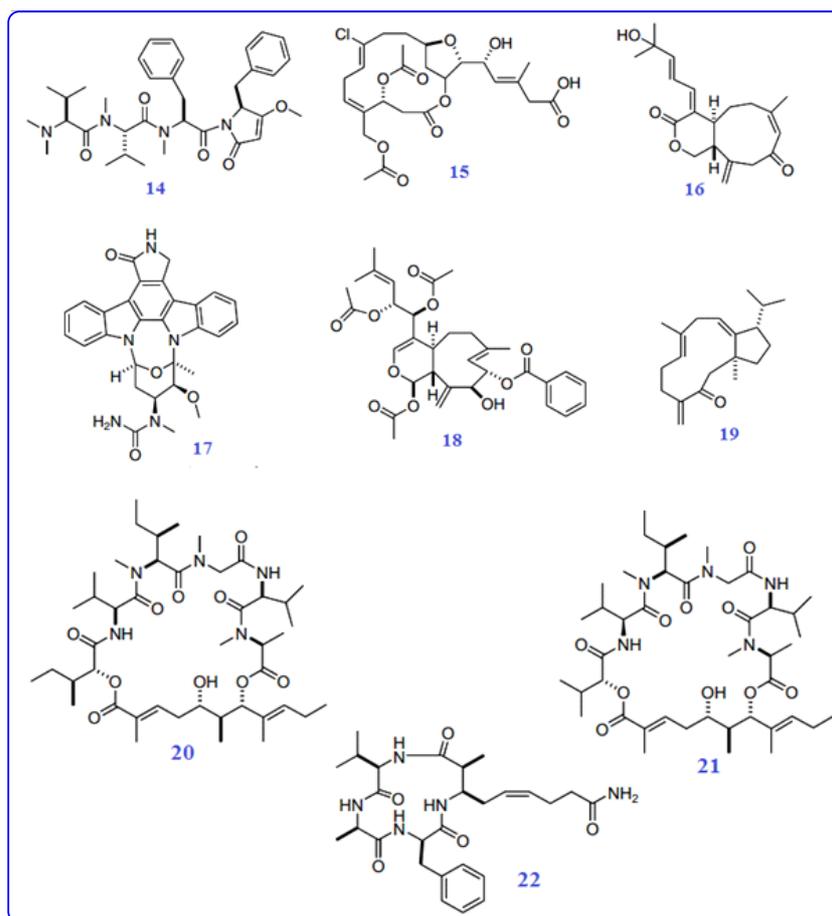


Figure 2 : structure chimique du belamide A (14), beselide A (15), blumiolide (16), N-carboxamido-staurasporine (17), clavularia diterpene (18, 19), aurilide B (20), aurilide C (21), et azumamide (22).

5. SANSALVAMIDE

a. Définition

Le Sansalvamide (schéma 6) produit naturel a été isolé en 1999 par Fenical et ses collègues d'un champignon marin, possède une activité antitumorale, est un depsipeptide.

Les dérivées du sansalvamide possèdent des activités contre le cancer du pancréas, cancer du sein, de la prostate, ceci indique clairement que ces dérivés possèdent un potentiel en tant que des nouveaux agents thérapeutiques pour le traitement de divers cancers ^{27,28}.

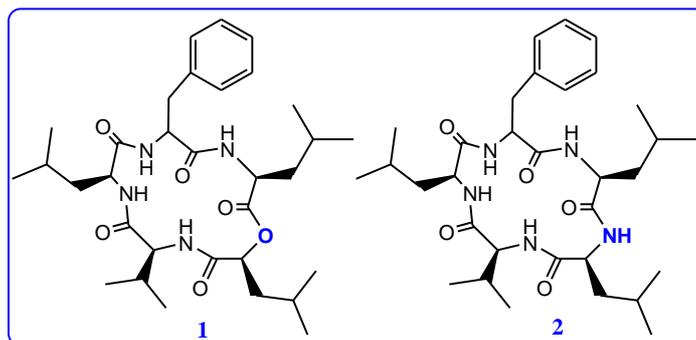


Schéma 6 : structure chimique du sansalvamide.

b. Synthèse en phase solide du sansalvamide (synthèse de Shouxin Liu)

Shouxin Liu et collaborateurs²⁹ ont effectué une synthèse en phase solide du sansalvamide, ci-dessous dans la figure 3 est indiqué le schéma réactionnel suivi par ce groupe.

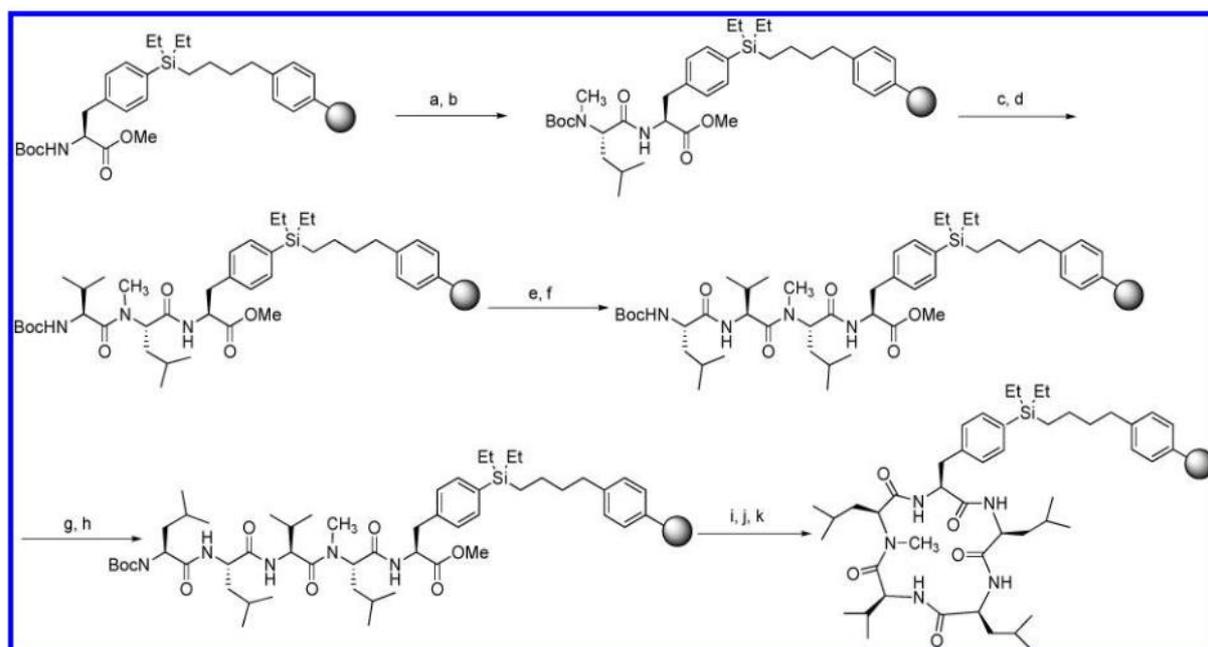


Figure 3 : conditions et réactifs : (a) 50% TFA/CH₂Cl₂, 15 min, (b) Boc-MeLeu-OH (5eq), HAUT (5eq), DIPEA (15eq), NMP, 6h, (c) 50% TFA/CH₂Cl₂, 15 min, (d) Boc-Val-OH (5eq), HAUT (5eq), DIPEA (15eq), NMP, 6h, (e) 50% TFA/CH₂Cl₂, 15 min, (f) Boc-Leu-OH (5eq), HAUT (5eq), DIPEA (15eq), NMP, 6h, (g) 50% TFA/CH₂Cl₂, 15 min, (h) Boc-Leu-OH (5eq), HAUT (5eq), DIPEA (15eq), NMP, 6h, (i) LiOH (5eq), THF/H₂O (7 : 1), (j) 50% TFA/CH₂Cl₂, 15 min, (k) PyBOP (5eq), DIPEA (15eq), NMP, 24h.

TRAVAIL EFFECTUE

1. OBJECTIF DE TRAVAIL

Shouxin Liu et collaborateurs ²⁹ ont synthétisé des analogues de la Sansalvamide possédant une bonne activité anticancéreuse en modifiant leur unité phénylalanine, Ci-dessous dans le schéma 7 est indiquée les structures des analogues synthétisés par ce groupe :

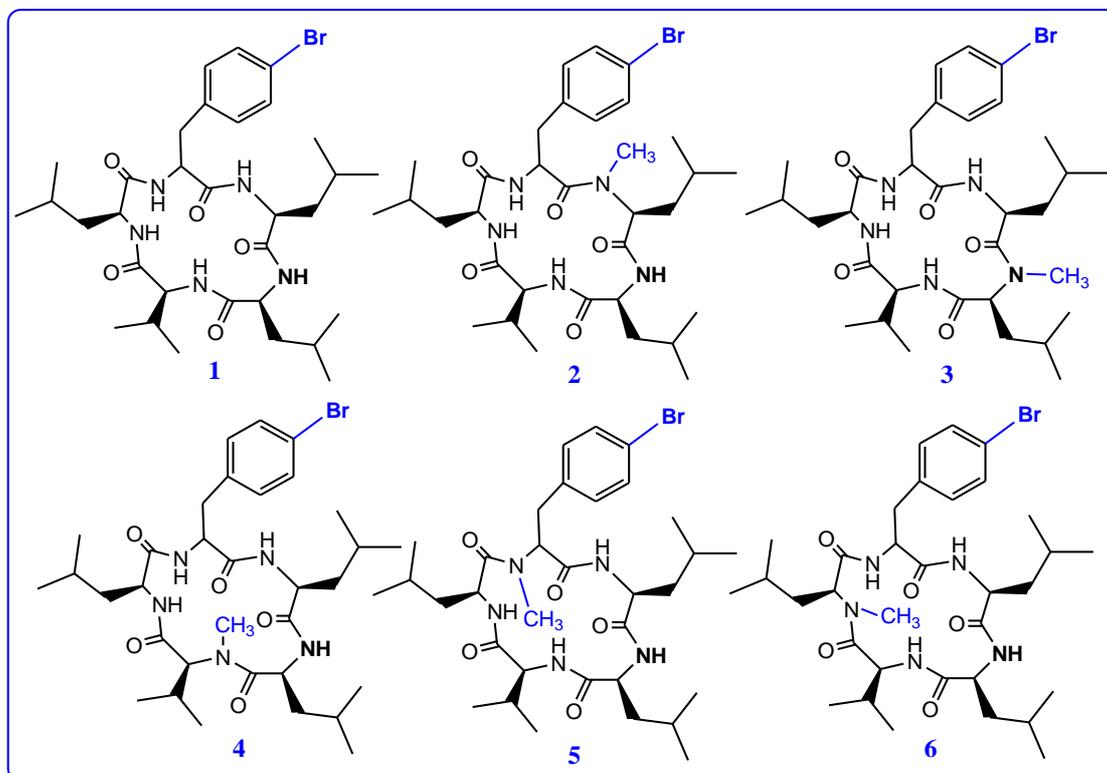


Schéma 7 : analogues synthétisés et testés par Shouxin Liu et collaborateurs ²⁹.

En nous basant sur le travail du groupe Shouxin Liu et d'autres travaux, nous nous sommes proposé de synthétiser un analogue de la Sansalvamide (schéma 8) en modifiant le fragment phénylalanine par la L-Tyrosine pour pouvoir griffer un sucre comme le montre le schéma 10.

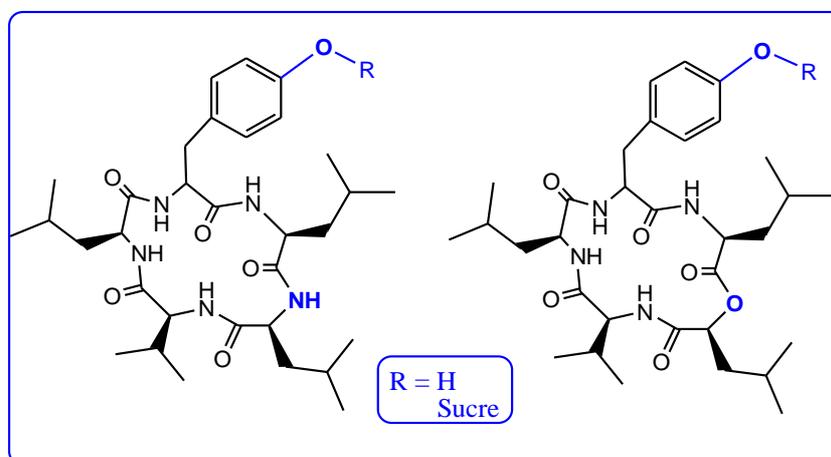


Schéma 8 : analogues de la Sansalvamide

2. STRATEGIES DE SYNTHÈSE

Pour effectuer cette synthèse nous avons suivi deux méthodes :

La première méthode insiste à préparer le tripeptide Tyrosine-leucine-leucine. Le reste de la molécule est le dipeptide valine-leucine, le schéma ci-dessous montre l'examen retrosynthétique :

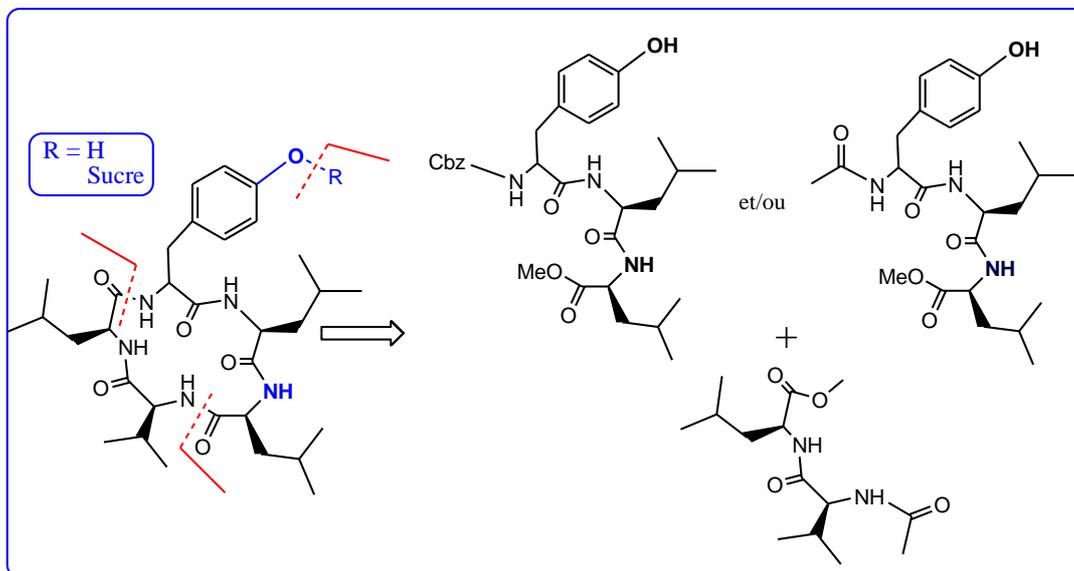


Schéma 9 : examen retrosynthétique de la première méthode.

Remarque : on a travaillé avec la série L des aminoacides.

La deuxième méthode insiste à préparer le tripeptide Valine- leucine-Tyrosine-. Le reste de la molécule est le dipeptide leucine-leucine, le schéma ci-dessous montre l'examen retrosynthétique :

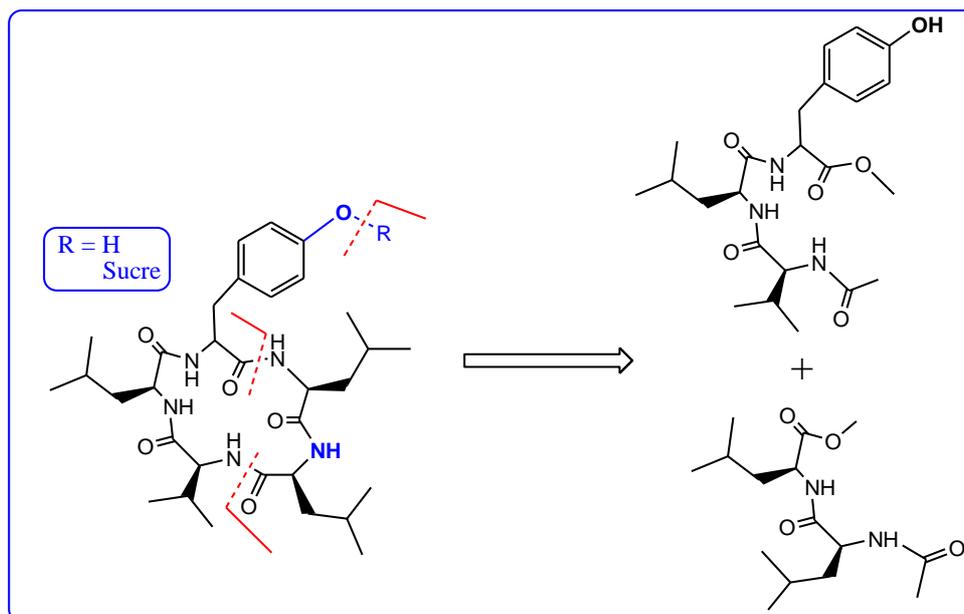


Schéma 10 : examen retrosynthétique de la deuxième méthode.

3. GENERALITES SUR LES ACIDES AMINES

Les acides aminés comme leur nom l'indique, ce sont des molécules comportant une fonction acide carboxylique (acide), une fonction amine (base), et un résidu R, portés par un carbone central. On note plusieurs familles d'acides aminés, parmi les plus importantes : les α -aminoacides (la fonction acide carboxylique et la fonction amine sont portées par le même carbone), et les β -aminoacides (la fonction acide se trouve en position β de la fonction amine). Il existe vingt acides aminés essentiels couramment rencontrés dans les protéines. Ce sont tous des acides α -aminés.

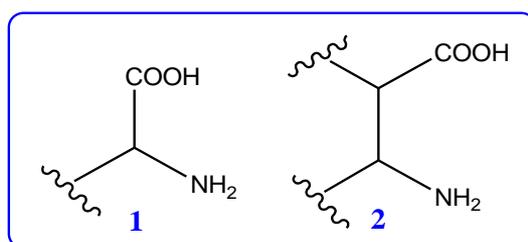


Schéma 11 : structure des α (1) et β (2) aminoacides.

Selon la configuration du carbone stéréogène, on distingue deux séries d'acides aminés, L et D (schéma 12) en représentation de Fisher ³⁰. La série naturelle étant la série L. dans ce travail nous avons utilisé la série L.

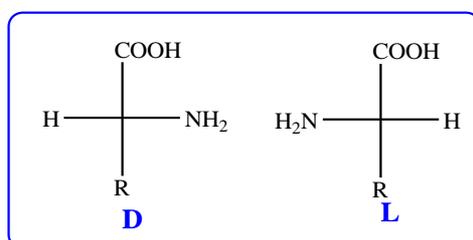


Schéma 12 : structure des isomères optiques des aminoacides.

Pour travailler sur les acides aminés, par exemple ; pour former un seul dipeptide, il faut éviter les réactions non désirées et bloquer certaines fonctions de manière réversible. Donc il est nécessaire de protéger l'une des deux fonctions pour pouvoir travailler sur la restante.

Le choix d'un groupe protecteur est une étape délicate. Il faut que le groupement choisi soit relativement stable et qui ne déprotège pas de façon inattendue, il doit être aussi disponible, peu toxique, et doit être facilement éliminer dans des conditions douces. ³¹

3.1. Protection de la fonction amine des aminoacides :

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

a. Protection par le t- butoxycarbonyle (Boc) :

Est le groupe le plus largement utilisé pour la protection des amines. La première utilisation de ce groupement en synthèse peptidique pour la protection des aminoacides, a été réalisée par M. Albertson et *col.* ³²

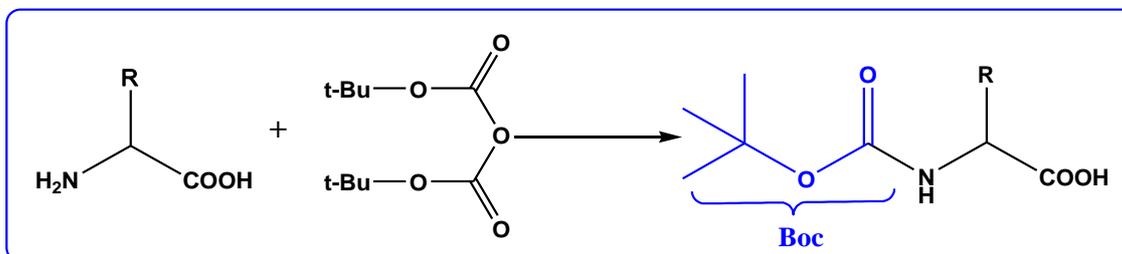


Schéma 13 : protection de la fonction amine par le Boc.

Le mécanisme de la protection de l'amine par le Boc :

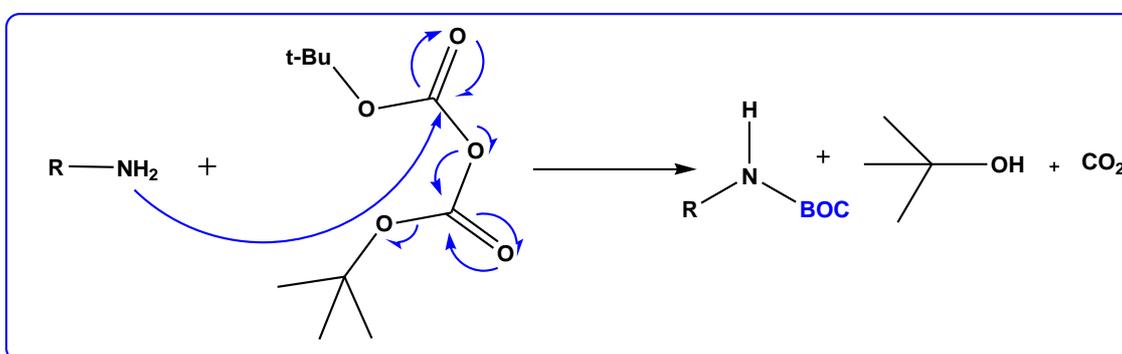


Schéma 14 : mécanisme de la protection de l'amine par le Boc.

- La déprotection de groupe Boc en milieu acide se fait dans les conditions opératoires suivantes selon le schéma suivant ^{33,34} :

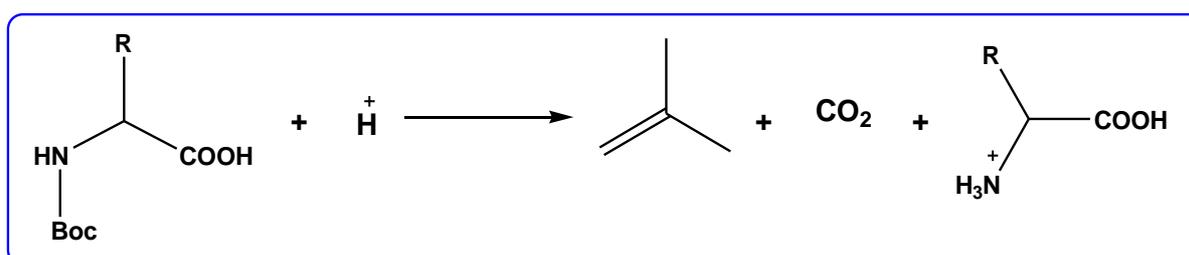


Schéma 15 : déprotection du groupement Boc.

- HCl dans l'acétate d'éthyle.
- HCl 1N dans l'acide acétique.
- L'acide trifluoroacétique (TFA)
- 50 % TFA dans CH₂Cl₂.
- Acide formique BF₃ éthérate dans l'acide acétique.
- CF₃ - SO₃H.

➤ HF liquide.

b. Protection par 9-Fluorenylméthoxycarbonyle (Fmoc) :

Le 9-Fluorenylméthoxycarbonyle (Fmoc) est largement répandu dans la chimie des peptides, même en phase solide. Il est très stable dans des conditions acides mais son clivage s'effectue dans des conditions basiques et douces. Il est décrit par Carpino et Y.Han en 1970. ^{35, 36}

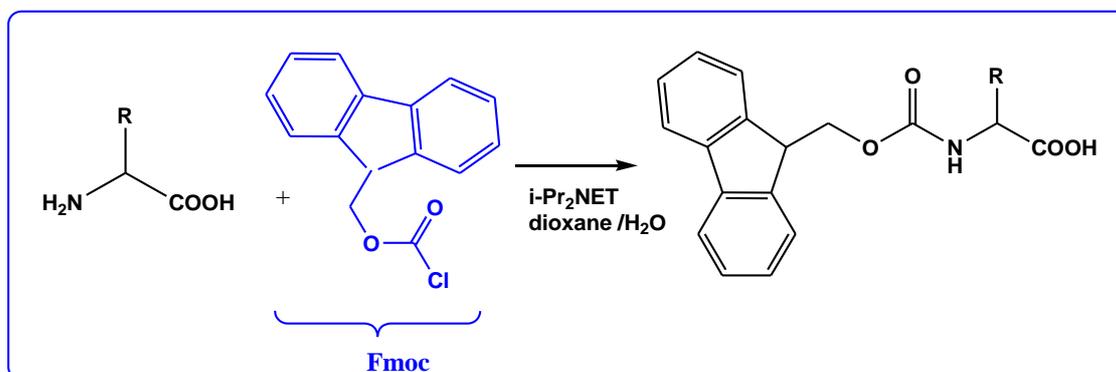


Schéma 16 : protection de la fonction amine par Fmoc.

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

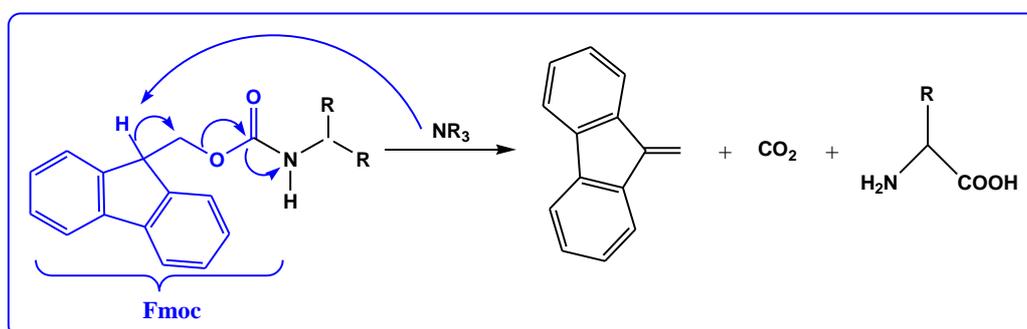


Schéma 17 : déprotection du groupement Fmoc.

c. Protection par le benzyloxycarbonyle (Cbz) :

Le Cbz est l'un des premiers groupements protecteurs utilisés en synthèse peptidique. Proposé par Zervas et Bergman en 1932 ³⁷, il est relativement très stable dans des conditions acides et bon groupement partant qui peut être éliminé par plusieurs méthodes.

Le processus de protection est réalisé par l'addition à l'amine d'un équivalent de chloroformate de benzyle et d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium 2N, suivie d'un reflux. ³⁸

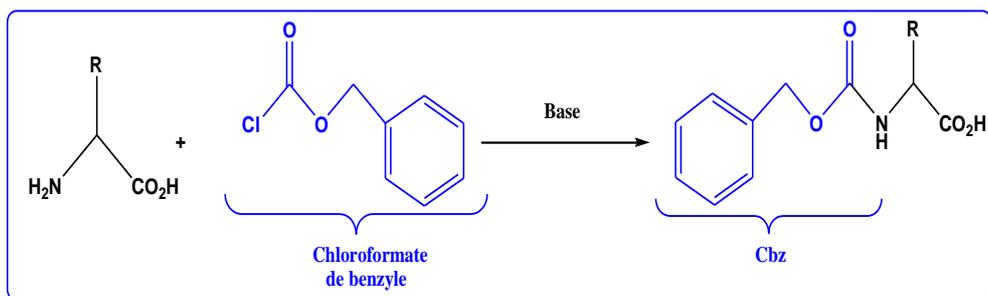


Schéma 18 : protection de la fonction amine par le groupe Cbz.

- La déprotection de groupe Cbz se fait dans les conditions opératoires suivantes selon le schéma suivant :

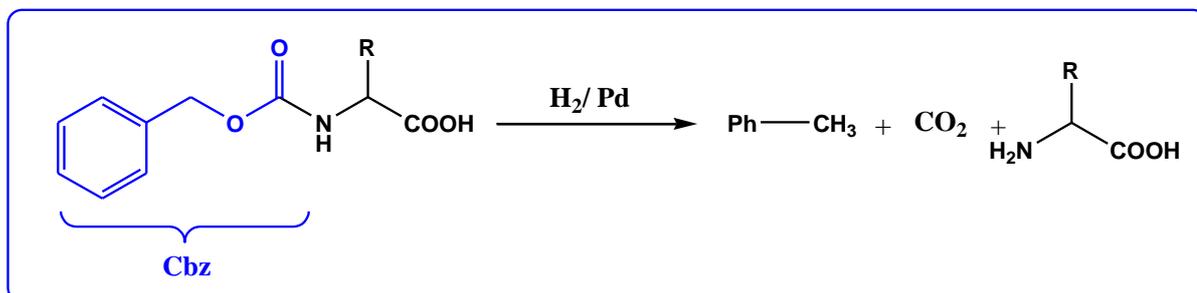


Schéma 19 : déprotection du groupement Cbz.

- Hydrogénation catalytique.
- Réaction avec le sodium dans l'ammoniac liquide.
- HCl anhydre dans l'éthanol ou CH₃Cl.
- Iodure de phosphonium dans l'acide acétique.
- HCl, HBr et HI dans l'acide acétique.
- L'acide trifluoroacétique chaud.

d. Protection par l'anhydride phtalique (Ft) et l'anhydride acétique :

Les acides phtaliques ont été utilisés pour la première fois dans la synthèse peptidique par Kidd et *col*, en 1948.³⁹ Il est relativement stable dans des conditions acides et basiques, mais il est facile à éliminer avec les nucléophiles.

Le processus de protection est réalisé par l'addition à l'amine d'un équivalent de l'anhydride phtalique en solution dans l'acide acétique glacial,⁴⁰ et par l'anhydride acétique dans les mêmes conditions opératoires, suivie d'un reflux.

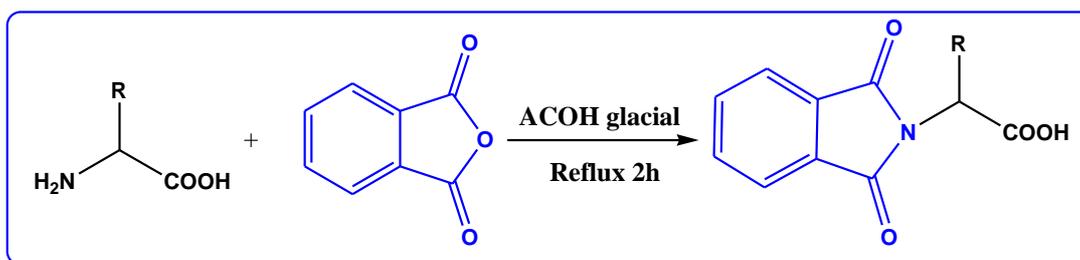


Schéma 20 : protection de l'amine par l'anhydride phtalique.

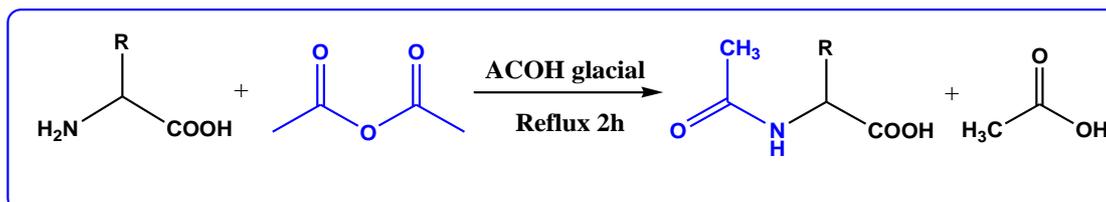


Schéma 21 : protection de l'amine par l'anhydride acétique.

- La déprotection du groupement phtalimido se fait selon le schéma suivant en utilisant l'hydrazine.³⁹

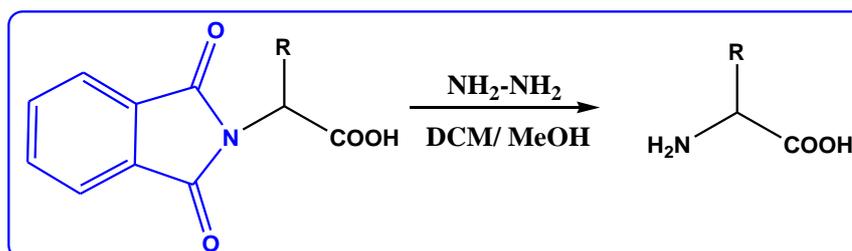


Schéma 22 : déprotection du groupement phtalimido.

3.2. Protection de la fonction acide carboxylique des aminoacides :

Lorsqu'on souhaite effectuer des transformations ou des synthèses à partir du groupe amino, il est nécessaire de protéger la fonction acide carboxylique de l'acide aminé.

Généralement, on trouve la protection des acides sous forme d'ester, mais il existe plusieurs types d'esters et les plus utilisés sont :

a. Protection par l'ester tertio butylique :

C'est l'un des esters les plus utilisés dans la chimie des peptides. On utilise souvent l'ester tertio butylique qui est relativement stable en milieu basique et qui peut être facilement éliminé avec l'acide trifluoroacétique (TFA).⁴¹

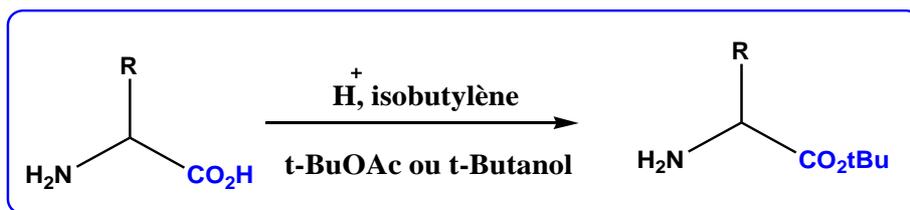


Schéma 23 : protection de la fonction acide par le groupe tertibutyl.

- La déprotection de groupement tertibutyl se fait facilement avec TFA selon le schéma suivant :

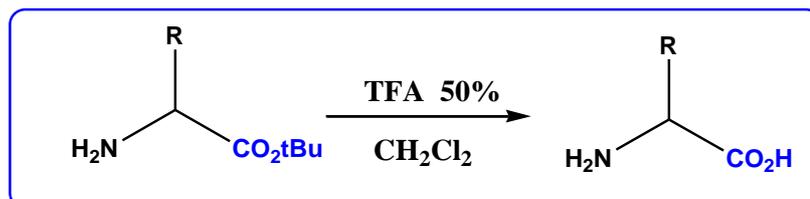


Schéma 24 : déprotection de groupement tertibutyl.

b. Protection par l'ester benzylique (Bzl) :

Il est très répandu en synthèse peptidique. Il est préparé directement à partir de l'alcool benzylique dans le benzène en présence d'un catalyseur acide.⁴²

La protection de la fonction acide carboxylique par le groupe benzyl se fait selon le schéma suivant :

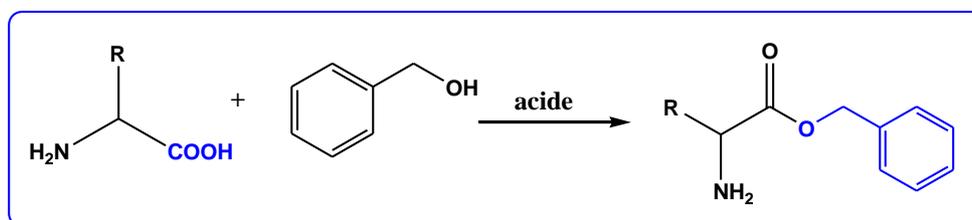


Schéma 25 : protection de la fonction acide par le groupe benzyle.

- La déprotection se fait facilement par hydrogénation catalytique selon le schéma suivant, libérant l'acide aminé et le toluène.

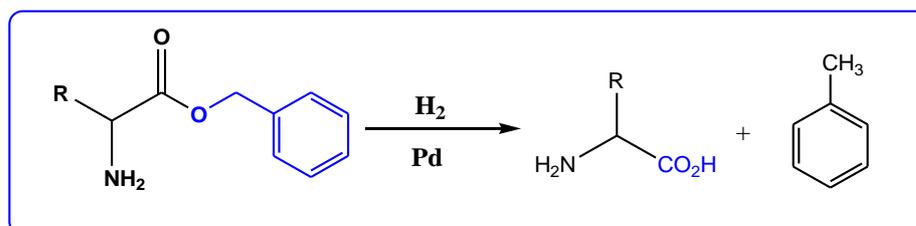


Schéma 26 : déprotection du groupement benzyle.

c. Protection par l'ester méthylique :

C'est une méthode très utilisée et plus douce, consiste à traiter l'acide aminé avec le chlorure d'acétyl en présence d'un alcool.⁴³

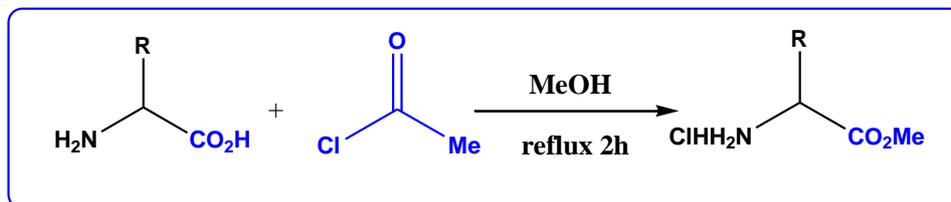


Schéma 27 : protection de fonction acide par le chlorure d'acétyl.

- La déprotection de la fonction ester méthylique se fait par une réaction d'hydrolyse dans les conditions suivants selon le schéma suivant : ⁴⁴

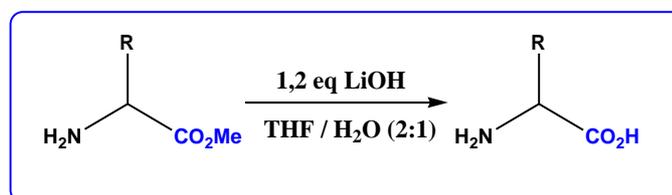


Schéma 28 : l'hydrolyse du groupement ester méthylique.

4. PROTECTIONS EFFECTUES

Dans ce travail on protège toujours une des deux fonctions (acide ou amine), pour pouvoir travailler sur la restante.

4.1. Protection de la fonction amine :

Dans notre laboratoire, on favorise la protection de la fonction amine des aminoacides par l'anhydride acétique fraîchement distillé dans l'acide acétique glacial, ou par l'anhydride phtalique dans les mêmes conditions, suivi d'un reflux de 2 à 3 heures fournit un *N*-acétyl-acide qui purifié par la suite.⁴⁰ Le choix des deux réactifs se fait dans cette protection pour deux raisons :

- ❖ Ils présentent une bonne stabilité dans les conditions opératoires utilisées dans ce travail.
- ❖ Ils sont disponibles dans notre laboratoire.

a. Protection de la fonction amine de l'acide aminé L-valine. (Schéma 29)

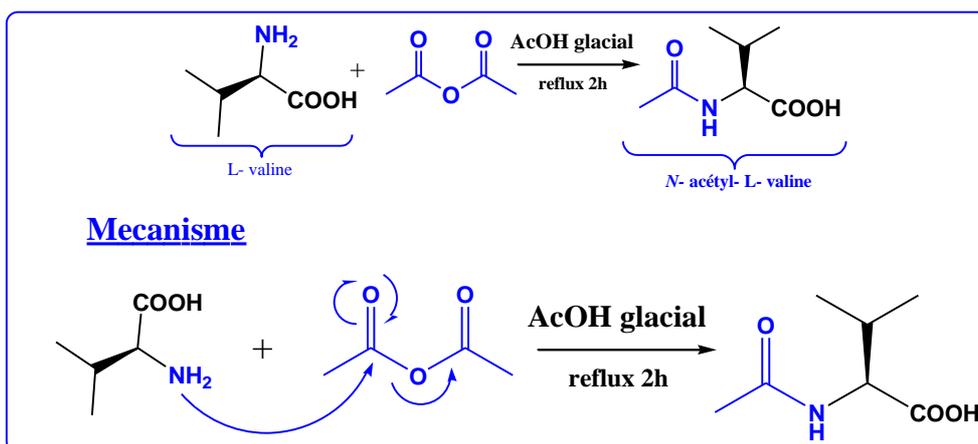


Schéma 29 : protection de l'amine de L- valine par l'anhydride acétique.

b. Protection de la fonction amine de l'acide aminé L-leucine. (Schéma 30)

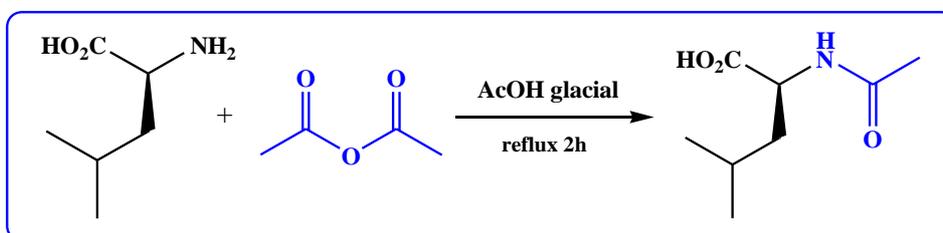


Schéma 30 : protection de l'amine de L- leucine par l'anhydride acétique.

c. protection de la fonction amine de l'acide aminé L-tyrosine. (Schéma 31)

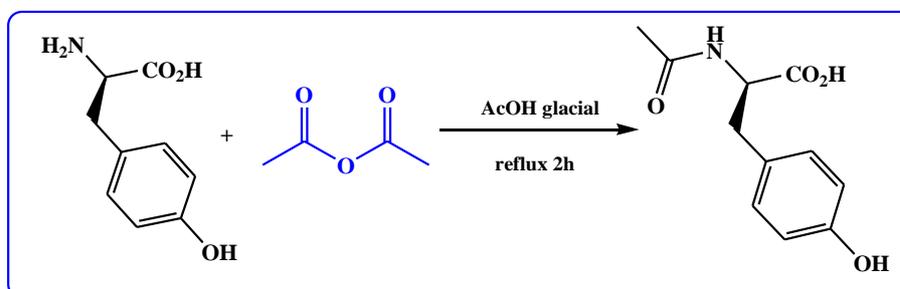


Schéma 31 : protection de l'amine de L- tyrosine par l'anhydride acétique.

4.2. Protection de la fonction acide carboxylique :

Notre objectif consiste aussi à protéger la fonction acide des aminoacides sous forme d'ester méthylique, afin de pouvoir travailler sur la fonction amine.

Dans notre laboratoire, on protège l'acide de l'acide aminé en appliquant la méthode classique d'estérification en utilisant le méthanol en présence de chlorure d'acétyle sous courant d'azote (milieu anhydre), suivi par un reflux de 2 heures fournit un ester méthylique. ⁴⁵

a. estérification de l'acide aminé L- leucine. (Schéma 32)

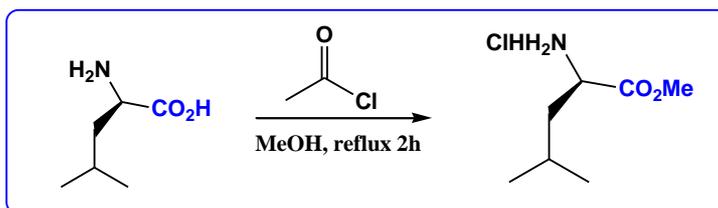


Schéma 32 : estérification de L- leucine par chlorure d'acétyl.

b. estérification de l'acide aminé L- tyrosine. (Schéma 33)

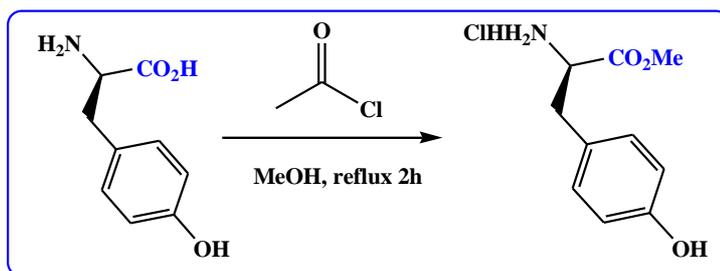


Schéma 33 : estérification de L- tyrosine par chlorure d'acétyl.

L'hydrolyse de l'ester méthylique se fait par 1.2eq d'une solution de LiOH (0.2N), dans un mélange de THF /eau (4 :1).

5. COUPLAGE PEPTIDIQUE

Le couplage peptidique consiste à assembler des acides aminés entre eux en formant une fonction amide après la protection de l'amine de premier acide aminé et l'acide de second acide aminé, mais la formation de la liaison peptidique peut souvent présenter des difficultés telles que les faibles rendements, la dégradation, la purification difficile. Pour faire face à ces difficultés, de nombreux agents (réactifs) de couplage ont été développés.

a. Quelques exemples sur les agents de couplage : ⁴⁶

Agents de couplage	Exemples
Carbodiimides	DCC, EDC, BEC,...
Additifs	HOBt, HOAt,...
Sels de phosphonium	BOP, PyBOP, BrOP,...
Sels d'uronium	HBTU, HDTU, HATU,...
Sels de thionium	HOTT, HMPT,...
Sels d'immonium	BOMI, BDMP,...
Imidazolium	CDI, BMTB, CBMIT,...
Organophosphores	DPPA, NDPP,...

Agents halogenants	BTC, CDMT,...
Chloroformate, pyridinium, autres....	et DPTF, DMTMM, BMPI,...

Tableau : des exemples sur des agents de couplage.

6. SYNTHÈSE DES DIPEPTIDES

Dans cette synthèse, les dipeptides obtenus ont été préparés par un couplage entre deux acides aminés : l'un a la fonction acide protégée et la fonction amine est libre, et le deuxième aminoacide a la fonction amine protégée et la fonction acide libre. Le couplage se fait en présence de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) comme agent activant dans le dichlorométhane (DCM) comme solvant en présence de la triéthylamine (TEA) afin de neutraliser le chlorhydrate de l'acide aminé utilisé sous forme ester dans cette synthèse ⁴⁷, sous une très forte agitation pendant 24 heures, et à la fin, la dicyclohexylurée (DCU) formée est éliminée par filtration.

Le couplage peptidique avec le DCC se fait selon le schéma suivant :

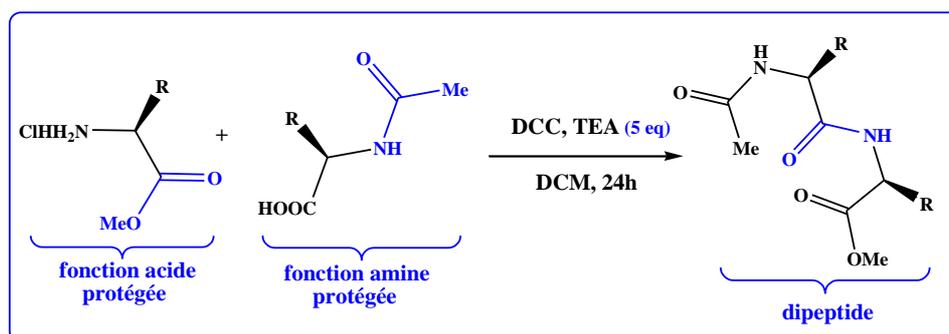


Schéma 34 : couplage peptidique des deux aminoacides en utilisant le DCC.

Voici dans les schémas suivants les différents dipeptides préparés :

a. N-acétyl-L- leucine-L- leucine-OMe (1)

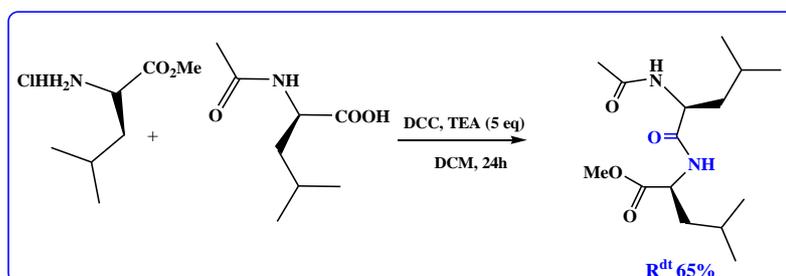


Schéma 35 : synthèse de dipeptide N-ac-leu-leu-OMe (1).

b. *N*-acétyl-L- valine-L- leucine-OMe (2)

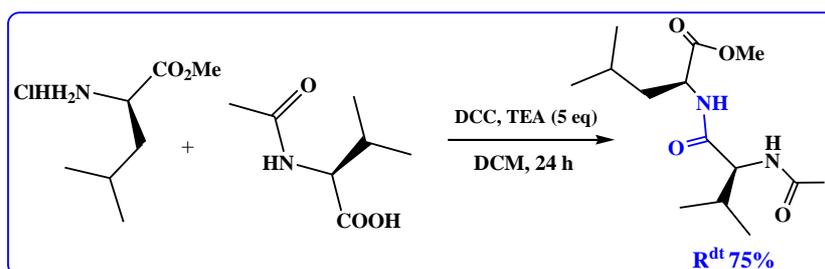


Schéma 36 : synthèse de dipeptide *N*-ac-val-leu-OMe (2).

c. *N*-acétyl-L-leucine-L- tyrosine-OMe (3)

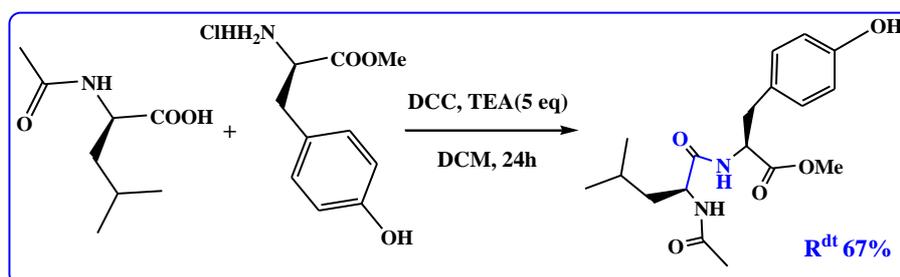


Schéma 37 : synthèse de dipeptide *N*-ac-leu-tyr-OMe (3).

d. Cbz-L-tyrosine-L-leucine-OMe (4)

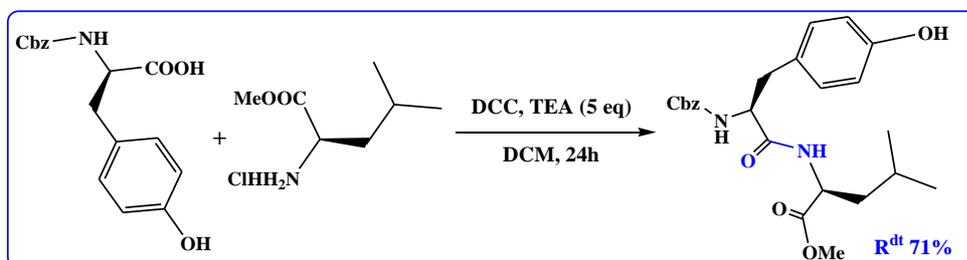


Schéma 38 : synthèse de dipeptide Cbz-tyr-leu-OMe (4).

La déprotection de la fonction ester méthylique des fragments (2) et (4) se fait par une réaction d'hydrolyse dans les conditions suivants selon les schémas suivants :

a. Hydrolyse de fragment (2)

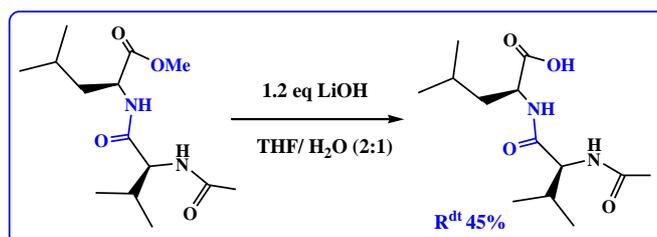


Schéma 39 : hydrolyse de dipeptide *N*-ac-val-leu-OMe (2).

b. Hydrolyse de fragment (4)

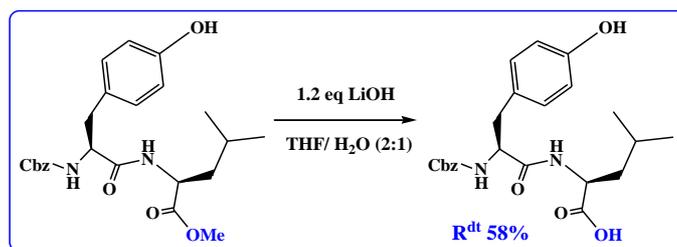


Schéma 40 : hydrolyse de dipeptide Cbz-tyr-leu-OMe (4).

Voici dans les schémas suivants les différents tripeptides préparés :

a. *N*-acé-L-val-leu-tyr-OMe (5)

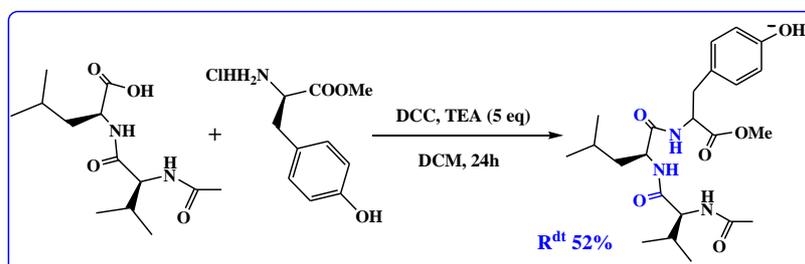


Schéma 41 : synthèse de tripeptide *N*-ac-val-leu-tyr-OMe (5).

b. Cbz-L-tyr-leu-leu-OMe (6)

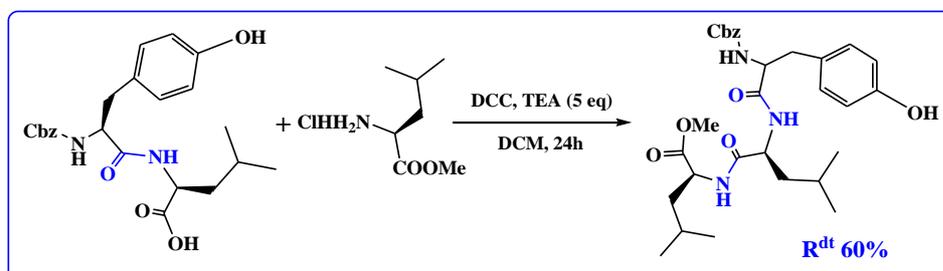


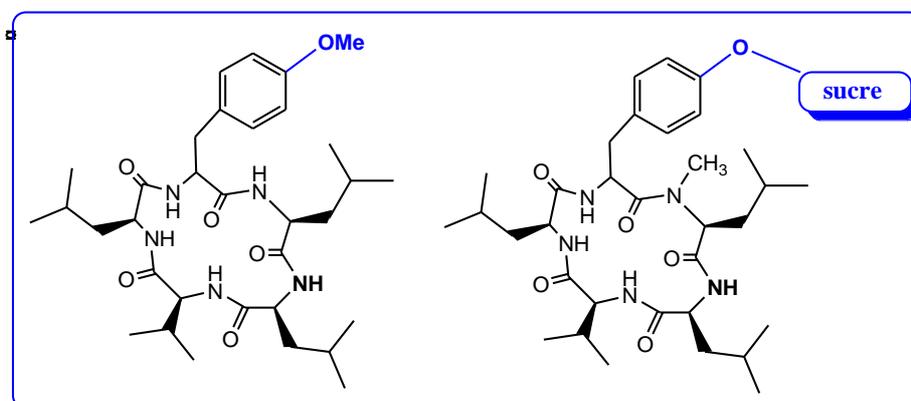
Schéma 42 : synthèse de tripeptide Cbz-tyr-leu-leu-OMe (6).

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

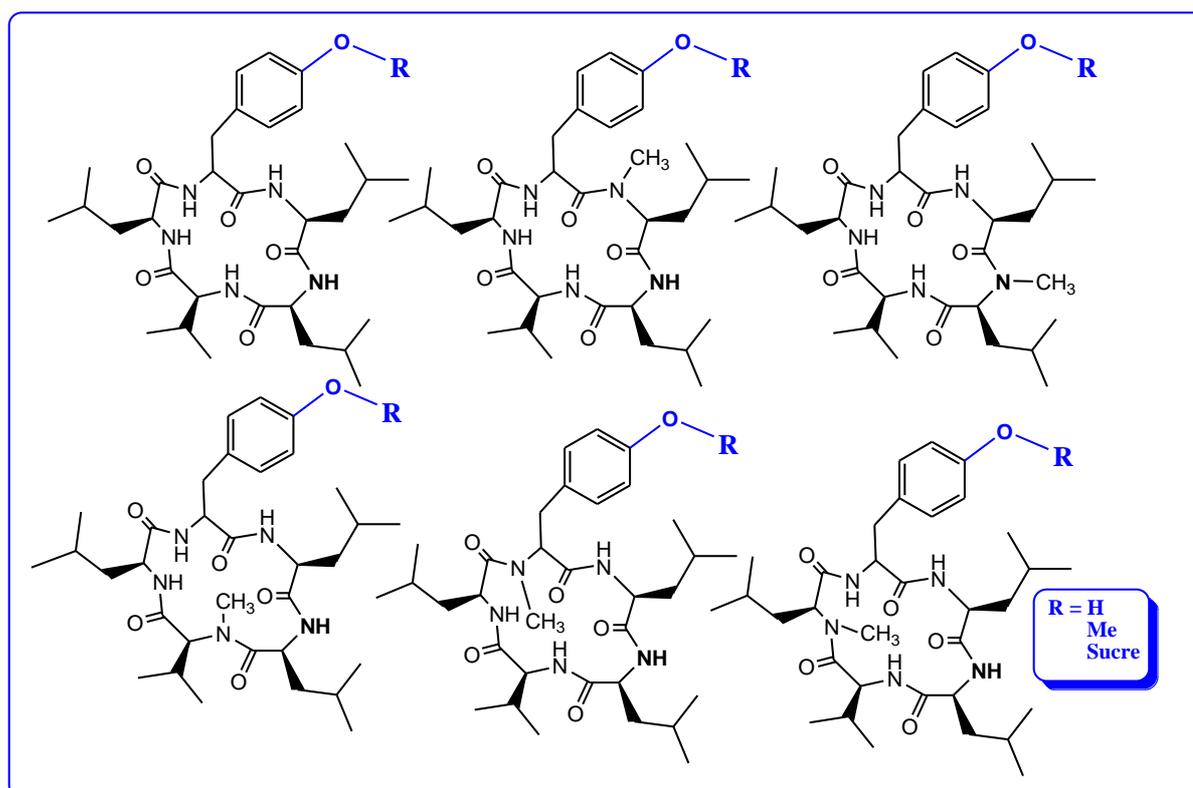
L'objectif majeur de notre travail est la synthèse d'un dérivé de la Sansalvamide.

Une fois cet analogue obtenu,

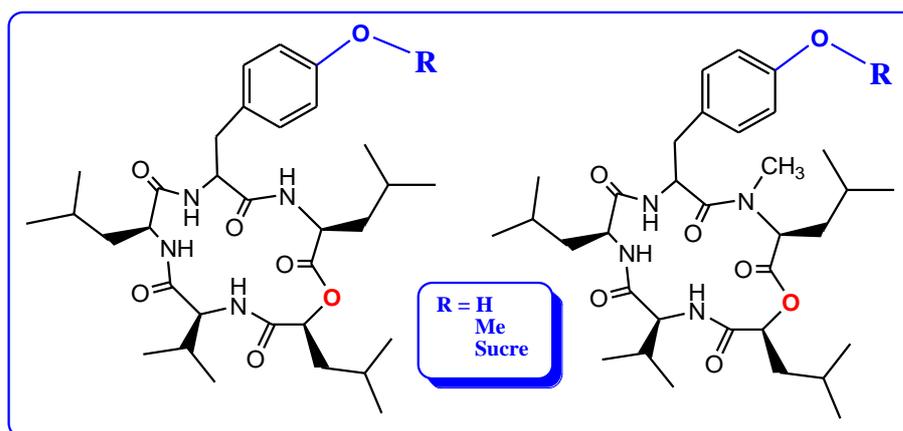
- on peut envisager en guise de perspectives, de lui greffer différents substrats pour obtenir d'autres analogues, afin d'améliorer l'activité biologique, et la biodisponibilité :



- Envisager des méthylations sur les liaisons amides afin de diminuer la toxicité et améliorer l'activité biologique :



- Synthétiser d'autres analogues (depsipeptide) avec une liaison ester entre les deux leucines, comme le montre le schéma suivant :



Une perspective intéressante serait la synthèse d'un analogue de Sansalvamide portant le motif sucre espérant d'améliorer l'activité du produit naturel.

Ce travail nous ouvre des perspectives très intéressantes en matière de recherche en chimie bio organique et thérapeutique, notamment dans le domaine de la découverte de nouveaux principes actifs.

PARTIE EXPERIMENTALE

1. INTRODUCTION

On a précédemment vu dans notre partie bibliographique, que l'isolement du des sansalvamide représente un très grand espoir dans la lutte contre le cancer après leur découverte en 1999. Au cours de notre partie expérimentale, nous verrons les différentes synthèses effectuées pour obtenir un ou plusieurs fragments du dérivés de sansalvamide, en passant par la protection et la déprotection des différents fonctions des acides aminés, afin de les coupler pour obtenir le fragment voulu, et nous discuterons ensemble les résultats obtenus après la purification et l'analyse.

2. MATERIEL UTILISES, ET METHODES

Il faut savoir qu'au cours de notre travail, les manipulations et analyses ont été réalisées dans le laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA), l'Université Aboubekr Belkaid-Tlemcen.

2.1. Infra Rouge :

Les analyses dans l'infrarouge (IR) ont été effectuées au centre de mesures du laboratoire *COSNA*. Les échantillons étaient traités soit en solution dans le chloroforme, ou sous forme de pastilles de KBr. Les principales fréquences d'absorption sont données en nombre d'onde (cm⁻¹).

2.2. Points de fusion :

Les points de fusion sont déterminés sur un fusionmètre digital de la série *IA9200* d'Electrothermie au laboratoire (*COSNA*).

3. PURIFICATION DES SOLVANTS

Les solvants anhydres sont préparés soit par distillation, soit par conservation après purification sur tamis moléculaire. Pour d'autres solvants, la distillation s'effectue sous atmosphère inerte.

L'anhydride acétique : distillé a pression atmosphérique.

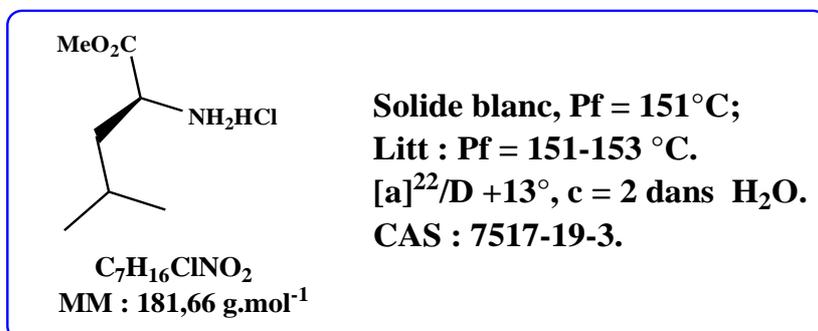
Le méthanol : distillé et gardé dans une bouteille contenant le tamis moléculaire.

Le dichlorométhane : distillé sur peroxyde de phosphore (P₂O₅).

4. MODE OPERATOIRE

4.1. Partie expérimentale relative à la protection des aminoacides :

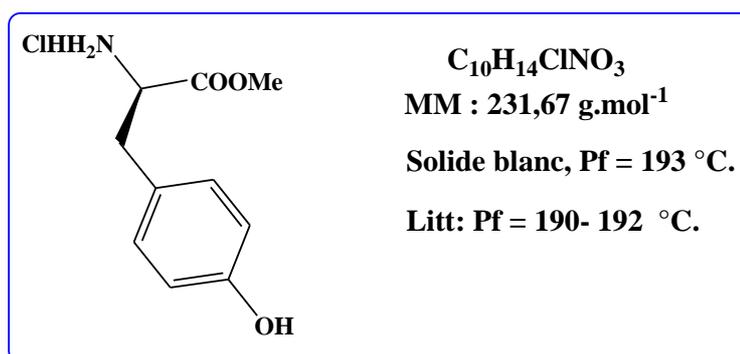
- **L-Leucine-OMe. HCl (1).**



Dans un ballon sec et sous courant d'azote, on introduit 50ml de MeOH ; la solution est refroidie à 0°C. On ajoute goutte à goutte 15 ml de chlorure d'acétyle dans la solution précédente. La solution est agitée 5 min. ensuite, 9 g de L-leucine (68,6 mmol) sont ajoutés dans une seule portion, puis le mélange est chauffé lentement sous reflux pendant 2h. On laisse refroidir à température ambiante, et le solvant est chassé sous pression réduite. 11,89 g (95%) du composé (1) sont obtenus après évaporation et séchage.

- **IR** ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 1738,26 (C=O de l'ester); 2872,52 ; 2923,49 ; 2958,13 ; 3466,37 (NH₂).

- **L-Tyrosine-OMe. HCl (2).**

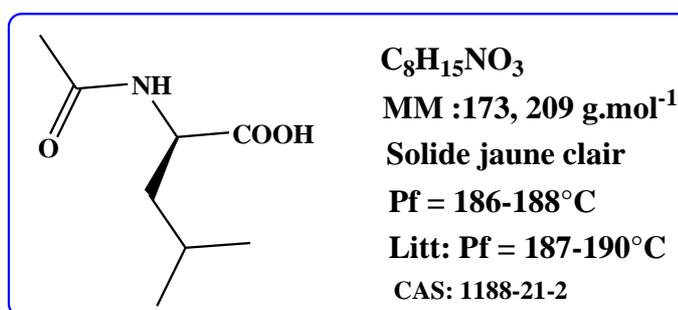


Dans un ballon sec et sous courant d'azote, on introduit 50ml de MeOH ; la solution est refroidie à 0°C. On ajoute goutte à goutte 5,10 ml de chlorure d'acétyle dans la solution précédente. La solution est agitée 5 min. ensuite, 3 g (16,56 mmol) de L-tyrosine sont ajoutés dans une seule portion, puis le mélange est chauffé lentement sous reflux pendant 2h. On laisse refroidir à

température ambiante, et le solvant est chassé sous pression réduite. 3,7g (96%) du composé (2) sont obtenus après évaporation et séchage.

- **IR** ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 1736,26 (C=O de l'ester); 1248,21 (O-Me) ; 3466,37 (NH₂); 3662,46 (OH de phénol).

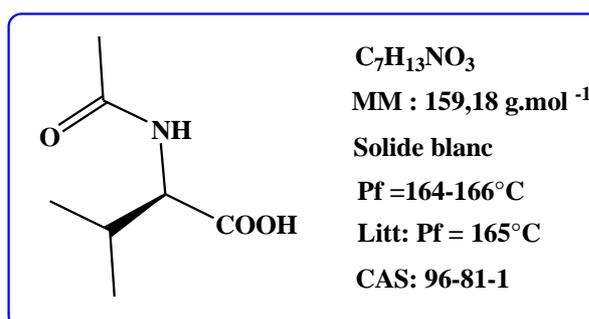
- **N-acétyl-L- leucine (3).**



Dans un bicol muni d'un réfrigérant, on introduit 3g de L-leucine (22,9 *mmol*) et 2,2 ml d'anhydride acétique fraîchement distillé (22,9 *mmol*) dans 50 ml d'acide acétique glacial, et on porte à un reflux pendant 3h. Ensuite, on laisse refroidir et le solvant est évaporé sous pression réduite. Une recristallisation de produit dans un mélange eau éthanol (3 : 1) permet d'isoler 3,45 g (87%) du composé (3).

- **IR** ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 1680,44 (C=O acétyl); 1733.11 (C=O carboxyle); 2500-3500 (O-H de l'acide).

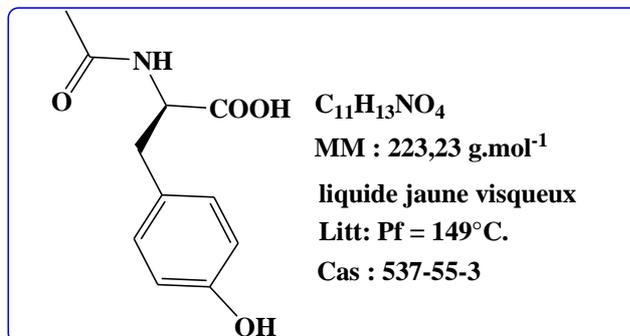
- **N-acétyl-L- valine (4).**



Dans un bicol muni d'un réfrigérant, on introduit 1,48g de L-valine (12,6 *mmol*) et 1,2 ml d'anhydride acétique fraîchement distillé (12,6 *mmol*) dans 50 ml d'acide acétique glacial, et on porte à un reflux pendant 3h. Ensuite, on laisse refroidir et le solvant est évaporé sous pression réduite. Une cristallisation de produit dans l'éther permet d'isoler 1,96 g (90%) du composé (4).

- **IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} :** 3500-2500 (O-H de l'acide), 1680 (C=O acétyl), 1730 (C=O carboxyle).

- ***N*-acétyl-L- tyrosine (5).**

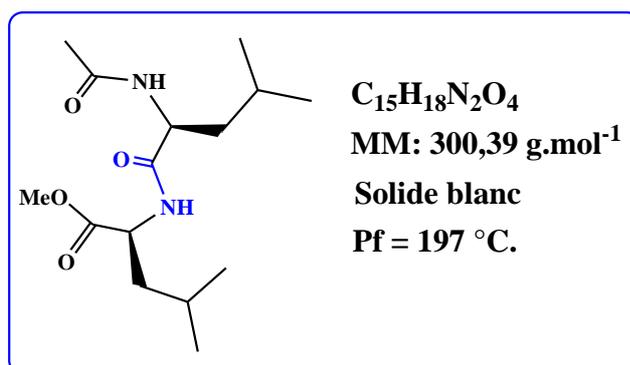


Dans un bicol muni d'un réfrigérant, on introduit 2 g de L-tyrosine (11,03 mmol) et 1,05 ml d'anhydride acétique fraîchement distillé (11,03 mmol) dans 50 ml d'acide acétique glacial, et on porte à un reflux pendant 24h. Ensuite, on laisse refroidir et le solvant est évaporé sous pression réduite. Obtention de 2,02 g (82%) du composé (5).

- **IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} :** 3500-2500 (O-H de l'acide), 1680 (C=O acétyl), 1730 (C=O carboxyle).

4.2. Partie expérimentale relative à la préparation des dipeptides :

- **Couplage de *N*-acétyl-L-leucine avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de L-leucine (6).**



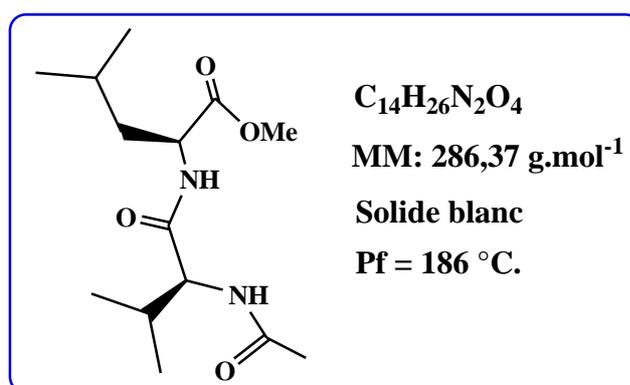
Dans un bicol, à 0°C on mélange 0,8 g de la *N*-acétyl-L-leucine (4,61 mmol) et 0,84 g du chlorhydrate de l'ester méthylique de L-leucine (4,61 mmol) dans 30ml de DCM (solvant) on ajoute 3,20 ml de TEA (5éq) goutte à goutte avec une forte agitation. Un mélange de DCC (0,96 g, 4.61 mmol) dans 20ml de DCM est additionné goutte à goutte avec une forte agitation.

Le mélange est agité de 0°C jusqu'à température ambiante pendant 24h. À la fin la DCU formée est éliminée par filtration et le solvant est évaporé. La réaction est terminée après 09 jours d'agitation.

Une cristallisation de produit obtenu dans l'éther permet d'isoler 0,9 g (65%) de dipeptide ciblé (6).

- **IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} :** 1634,15 (C=O amide); 1680 (C=O acétyl), 1735,11 (C=O ester); 3359,55 (N-H amide).

- **Couplage de *N*-acétyl-L-valine avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de L-leucine (7).**

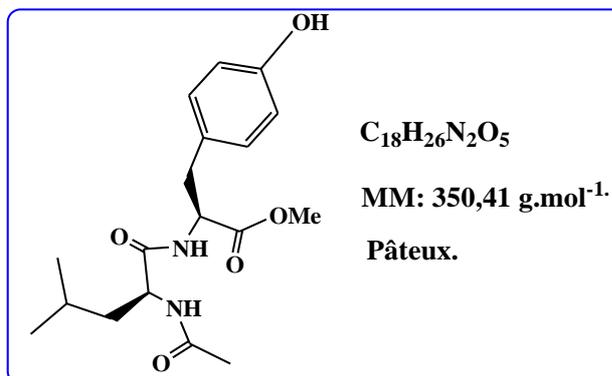


Dans un bicol, à 0°C on mélange 0,6 g de la *N*-acétyl-L-valine (3,76 mmol) et 0,69 g du chlorhydrate de l'ester méthylique de L-leucine (3,76 mmol) dans 30ml de DCM (solvant) on ajoute 2,60 ml de TEA (5éq) goutte à goutte avec une forte agitation. Un mélange de DCC (0,78 g, 3,76 mmol) dans 20ml de DCM est additionné goutte à goutte avec une forte agitation. Le mélange est agité de 0°C jusqu'à température ambiante pendant 24h. À la fin la DCU formée est éliminée par filtration et le solvant est évaporé. La réaction est terminée après 06 jours d'agitation.

Une cristallisation de produit obtenu dans l'éther permet d'isoler 0,8 g (75%) de dipeptide ciblé (7).

- **IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} :** 1626,15 (C=O amide); 1680 (C=O acétyl), 1775,11 (C=O ester); 3411,45 (N-H amide).

- **Couplage de *N*-acétyl-L-leucine avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de L-tyrosine (8).**

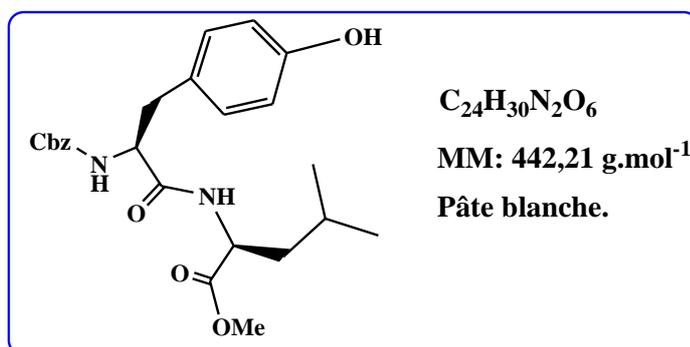


Dans un bicol, à 0°C on mélange 0,8 g de la *N*-acétyl-L-leucine (4,61 mmol) et 1,07 g du chlorhydrate de l'ester méthylique de L-tyrosine (4,61 mmol) dans 30ml de DCM (solvant) on ajoute 3,20 ml de TEA (5éq) goutte à goutte avec une forte agitation. Un mélange de DCC (0,96 g, 4,61 mmol) dans 20ml de DCM est additionné goutte à goutte avec une forte agitation. Le mélange est agité de 0°C jusqu'à température ambiante pendant 24h. À la fin la DCU formée est éliminée par filtration et le solvant est évaporé. La réaction est terminée après 06 jours d'agitation.

↳ Obtention de 1,07 g (67%) de dipeptide ciblé (8).

- **IR ν_{max} (KBr) cm⁻¹:** 1656,85 (C=O amide); 1680 (C=O acétyl), 1725,31 (C=O ester); 3419,41 (N-H amide); 3612,21 (O-H phénol).

- **Couplage de Cbz-L-tyrosine avec le chlorhydrate de l'ester méthylique de L-leucine (9).**



Dans un bicol, à 0°C on mélange 0,35 g de la Cbz-L-tyrosine (1,11 mmol) et 0,20 g du chlorhydrate de l'ester méthylique de L-leucine (1,11 mmol) dans 30ml de DCM (solvant) on ajoute 0,80 ml de TEA (5éq) goutte à goutte avec une forte agitation. Un mélange de DCC (0,23 g, 1,11 mmol) dans 20ml de DCM est additionné goutte à goutte avec une forte agitation.

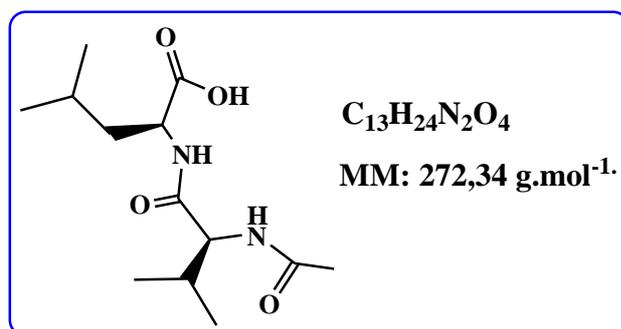
Le mélange est agité de 0°C jusqu'à température ambiante pendant 24h. À la fin la DCU formée est éliminée par filtration. La réaction est terminée après 06 jours d'agitation.

Après l'évaporation de solvant on obtient 0,34 g (71%) de dipeptide ciblé (9).

- **IR** ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 3487,97(N-H amide), 1657,20 (C=O amide), 1762,19 (C=O ester); 3662,41 (O-H phénol).

4.3. Partie expérimentale relative à l'hydrolyse des dipeptide :

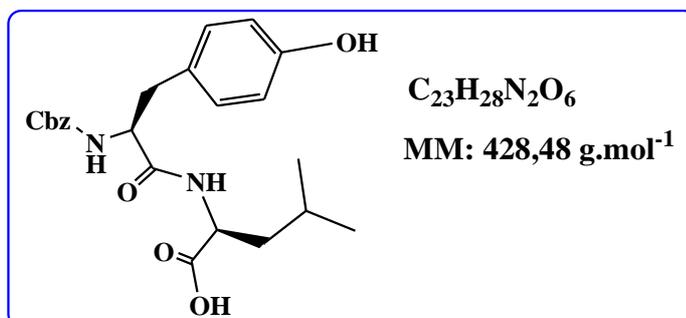
- **Hydrolyse de dipeptide *N*-acé-L-val-leu OMe (10).**



Dans un ballon, on introduit 0.7 g du fragment (7) (2,44 *mmol*) dans un mélange de THF/ eau (4 :1) refroidi à 0°C, puis on ajoute 14,66 ml (1,2eq, 2,93 *mmol*) d'une solution aqueuse de LiOH (0,2M), on laisse le mélange agiter à T ambiante pendant 24h. Après on ajoute 5 ml d'une solution aqueuse d'HCl (1N). La solution est alors extraite avec l'acétate d'éthyle (3 fois) puis la phase organique est séchée, filtrée, puis le solvant est évaporé.

- ↳ Obtention de 0,3 g (45%) de dipeptide déprotégé (10) sous forme d'un produit pâteux.
- **IR** ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 1652,15 (C=O amide); 1775,11 (C=O ester); 3411,45 (N-H amide); 3500-2500 (O-H de l'acide).

- **Hydrolyse de dipeptide Cbz-L-tyr-leu OMe (11).**

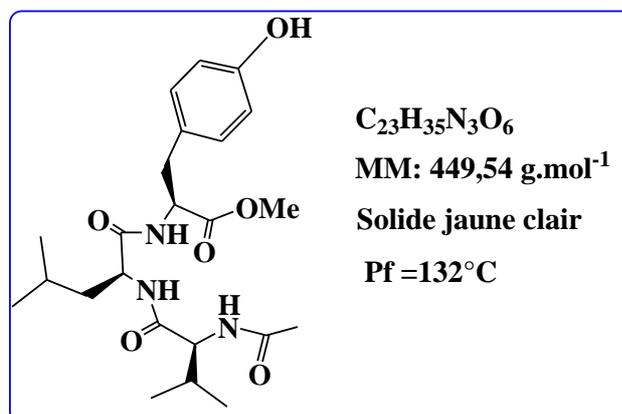


Dans un ballon, on introduit 0,3 g de fragment (9) (0,68 *mmol*) dans un mélange de THF/ eau (4 :1) refroidi à 0°C, puis on ajoute 4,16 ml (1,2eq, 0,82 *mmol*) d'une solution aqueuse de LiOH (0,2M), on laisse le mélange agiter à T ambiante pendant 24h. Après on ajoute 5 ml d'une solution aqueuse d'HCl (1N). La solution est alors extraite avec l'acétate d'éthyle (3 fois) puis la phase organique est séchée, filtrée, puis le solvant est évaporé. Une cristallisation du produit dans l'éther d'éthylque permet d'isoler 0,16g (58%) de dipeptide déprotégé (11) sous forme d'un produit pâteux.

- **IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} :** 1612,05 (C=O amide); 1765,13 (C=O ester); 3391,18 (N-H amide); 3500-2500 (O-H de l'acide).

4.4. Partie expérimentale relative à la préparation des tripeptides :

- **Couplage de *N*-acé-L-val-leu avec l'ester méthylique de L –tyrosine (12).**

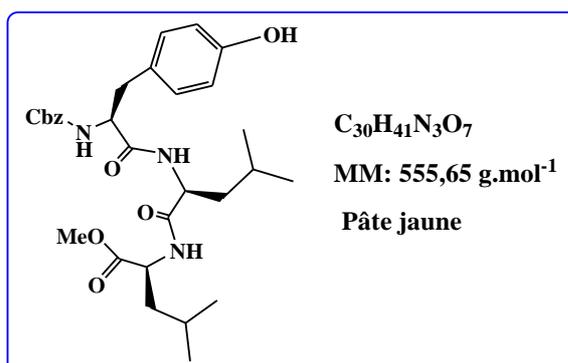


Dans un bicol, à 0°C on mélange 0,20 g de *N*- acé-L-val-leu (0,69 *mmol*) et 0,16 g du chlorhydrate de l'ester méthylique de L-tyrosine (0,69 *mmol*) dans 30ml de DCM (solvant) on ajoute 0,45 ml de TEA (5éq) goutte à goutte avec une forte agitation. Un mélange de DCC (0,144 g, 0,69 *mmol*) dans 20ml de DCM est additionné goutte à goutte avec une forte agitation. Le mélange est agité de 0°C jusqu'à température ambiante pendant 24h. À la fin la DCU formée est éliminée par filtration et le solvant est évaporé. La réaction est terminée après 05 jours d'agitation.

Une cristallisation de produit obtenu dans l'éther d'éthylque permet d'isoler 0,16 (52%) de tripeptide ciblé (12).

- **IR ν_{\max} (KBr) cm^{-1} :** 1627,18 (C=O amide); 1752,79 (C=O ester); 3421,5 (N-H amide); 3423,42 (OH phéno).

- Couplage de Cbz-L-tyr-leu avec l'ester méthylique de L-leucine (13).



Dans un bicol, à 0°C on mélange 0,14 g de Cbz-L-tyr-leu (0,33 *mmol*) et 0,06 g du chlorhydrate de l'ester méthylique de L-leucine (0,33 *mmol*) dans 30ml de DCM (solvant) on ajoute 0,22 ml de TEA (5éq) goutte à goutte avec une forte agitation. Un mélange de DCC (0,065 g, 0.33 *mmol*) dans 20ml de DCM est additionné goutte à goutte avec une forte agitation. Le mélange est agité de 0°C jusqu'à température ambiante pendant 24h. À la fin la DCU formée est éliminée par filtration et le solvant est évaporé. La réaction est terminée après 05 jours d'agitation.

↳ Obtention de 0,11 g (60%) de tripeptide ciblé (13).

- **IR** ν_{\max} (KBr) cm^{-1} : 1657,02 (C=O amide); 1712,99 (C=O ester); 3391,51 (N-H amide); 3413,45 (OH phénol).

Références bibliographique

1. C. Moussard, *Biologie moléculaire biochimie des communications cellulaires*, De Boeck, **2003**, 283, (ISBN-10 : 2-804-13488-1).
2. T. Mosmann, Rapid colorometric assay for cellular growth and survival- application to proliferation and cyto-toxicity assays. *J. Immunol. Methods*, **1983**, 65 (1-2), 55-63.
3. J-C. Soria, S. Vignot, C. Massard, O. Mir, *Cours de chimiothérapie et traitement médical du cancer*, XXVIIIe cours de Gustave-Moussy. 4^{ème} Edition, DE BOECK, **2014**, 285 (ISBN-10 : 2-742-01121-8).
4. D. Hanahan, R. A. Weinberg, The hallmarks of cancer. *Cell*, **2000**, 100(1), 558.
5. H. U. Permyer, *Methods of enzymatic analysis*. Academic press, **1974**, 4, 2066.
6. F. Morère, F. Mornex, D. Soulières, *Thérapeutique du cancer, principe de la chirurgie oncologique*, 2^{ème} édition, Springer, Paris, **2011**, 21, (ISBN : 9782817800202).
7. B. Chauvet, M-A. Mahé, P. Maingon, J-J. Mazon, F.Mornex, *Livre blanc de la radiothérapie en France, douze objectifs pour améliorer un des traitements majeurs du cancer*, Elsevier Masson, France, **2013**, 08.
8. V. Chaleix., *synthèse et caractérisation de nouvelles porphyrines glucosylés peptidiques à motif RGD en vue de leur application en photothérapie dynamique*, thèse de doctorat- Limoges : faculté de science et technologie, **2003**.
9. L. Gachard-Bouty., *l'utilisation de la métathèse des alcènes pour la synthèse de porphyrines O, et C-glucosylés éthyléniques : application à la photothérapie dynamique Vol*, thèse de doctorat- Limoges : faculté de science et technologie, **2003**.
10. J-B. Méric, L. Zelek, D. Khayat, *Guide pratique de cancérologie*, Masson, **2004**, 25, (ISBN 9782294013041).
11. Karp, *biologie cellulaire et moléculaire*, De Boeck université, **2010**.
12. X-T. Liang, W-S. Fang, *medicinal chemistry of bioactive naturel products*, John Weily and Sons, **2006**, 78, (ISBN 0-471-66007-8).
13. F. Guéritte, T. Sévenet, *Les substances naturelles en chimiothérapie anticancéreuse*, Biofutur 276, **Avril 2007**, 35.
14. B. Gignat, C.G. Ravelli, R.B.G. Roussi, F. Steimmetz, M.O. Curmi, P.A. Sobel, A. Knossow, *Structural basic for the regulation of tubilin by vinblastin*. *Natur* **2005**, 435(7045), 519.
15. C. Bailly, *Biochem. Pharmacol.* **2009**, 77(9), 1447.
16. S. Nobili, D. Lippi, E. Witort, M. Donnini., L. Bausi, E. Mini, S. Capaccioli, *Naturel compounds for cancer treatment and prevention*, *Pharmacological Research* 59(6), **2009**, 365-378.
17. J.D. Scott & R.M. Williams, *Chemistry and biology of the tetrahydroisoquinoline antitumor antibiotics*. *Chemical Reviews* 102(5), 2002, 1669-1730.
18. K.L. Jackson, J.A. Henderson, & A.J. Phillips, *The halichondrins and E7389*. *Chemical Reviews* 109(7), **2009**, 3044-3079.
19. C. Cuevas, & A. Francesch, *Development of Yondelis® (trabectedin, ET-743). A semisynthetic process solves the supply problem*. *Natural Product Reports* 26(3), **2009**, 322- 337.
20. S. Banerjee, Z. Wang, M. Mohammad, F.H. Sarkar & R.M. Mohammad, *Efficacy of Selected Natural Products as Therapeutic Agents against Cancer*. *Journal of Natural Products* 71(3), **2008**, 492-496.
21. K.S. Moore, S. Wehrli, H. Roder, M. Rogers, J.N. Forrest, D. McCrimmon, & M. Zasloff, *and Squalamine: an aminosterol antibiotic from the shark*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90(4), **1993**, 1354- 1358.

22. K.V. Sashidhara, K.N. White, & P. Crews, *A Selective Account of Effective Paradigms and Significant Outcomes in the Discovery of Inspirational Marine Natural Products*, Journal of Natural Products 72(3), **2009**, 588-603.
23. G.R. Pettit, Y. Fujii, J.A. Hasler, & J.M. Schmidt, *Isolation and Characterization of Palystatins A-D*, Journal of Natural Products 45(3), **1982**, 272-276.
24. A. Cuadrado, L.F. García-Fernández, L. González, Y. Suárez, A. Losada, V. Alcaide, T. Martínez, J. Maa Fernández-Sousa, J.M. Sánchez-Puelles, & A. Muñoz, *Aplidin™ induces apoptosis in human cancer cells via glutathione depletion and sustained activation of the epidermal growth factor receptor, Src, JNK, and p38 MAPK*, Journal of Biological Chemistry 278(1), **2003**, 241-250.
25. M.V. De Souza, (+)-discodermolide: a marine natural product against cancer. The Scientific World Journal [electronic resource] 4, **2004**, 415-436.
26. M. S. Mayer, K.R. Gustafson, *marine pharmacology in 2005-2006: antitumor and cytotoxic compounds*, European journal of cancer 44, **2008**, 2357-2387.
27. G.N. Belofsky, P.R. Jensen, W. Fenical, and Sansalvamide: a new cytotoxic cyclic depsipeptide produced by marine fungus of the genus *Fusarium*, center of marine biotechnology and biomedicine, **1999**, 2913-2916.
28. W.H. Hartung, Simonoff, Org.React 7, **1953**, 263.
29. Sh. Liu, W. GU, D. Lo, X-Z. Ding, M. Ujiki, T.E. Adrian, G.A. Soff, and R.B. Silverman, *N-methyl sansalvamide A analogues. Potent new antitumor agents*, J-Med-Chem 48, **2005**, 3630-3638.
30. J. Jackli, C. Limberakis, *modern organic synthesis in the laboratory*, Oxford univ, USA, **2007**.
31. N.Rabasso, *Chimie Organique : Hétéroéléments, stratégies de synthèse et chimie organométallique* ; 2nd Ed, De Boeck, **2009**.
32. F.C. McKay, N.F. Albertson, J. Am, Chem, Soc, **1957**, 79, 6186.
33. N. F. Alberston, G. W.Anderson, J. Am. Chem. Soc, **1957**, 79, 6180.
34. E. Kaiser, F.Picart, T. Kubilaï, J. P.Tam, R. B. Merrifield, J. Org. Chem, **1993**, 58, 5167.
35. S. Tchertchian, O. Hartley, P.J. Botti, Org. Chem, **2004**, 69, 9208.
36. E. Kaiser, R. L. Colescott, C. D. Bossinger, P. I. Cook *Anal. Biochem.***1970**, 34, 595.
37. R. H. Sifferd, Duvigneaud, J.Biol, Chem, **1935**, 108, 753.
38. M. Bergman, L. Zervas, C. Berichte, **1932**, 6, 1192.
39. D. A. Kidd, F. E. King, Nature, **1948**, 62, 776
40. J. Mathieu, R. Panico *Mécanismes réactionnels en Chimie Organique.* **1972**, Hermann, Ed 1357.
41. D.B. Bryan, R.F.Hall, K.G. Holden, W.F. Huff man, Chem. Soc, **1977**, 99, 2353.
42. W. Hartung, H. Simonoff, Org.React, **1953**, 7, 263.
43. S. Danishefsky, M. Hirama, K. Gombatz, T. Harayama, E. Berman, P.J. Schuda, *Chem. Soc*, **1978**, 100, 6536.
44. E.J. Corey, I. Szekely, C. S. Shiner, *Tetrahedron Lett*, **1977**, 3529
45. S-Y. Han, and Y-A. Kim, recent development of peptide coupling reagents in organic synthesis, *Tetrahedron*, **2004**, 60, 2447- 2467.
46. K. Otrubuva, G. Lushington. D. Vander Velde, K.L. McGuire, and Sh.R. McAlpine, *comrehensive study of sansalvamide a derivatives and their structure- activity relationships against drug- resistant colon cancer cell lines*, J. Med. Chem, **2008**, 51, 530-544.

Résumé :

La survie des patients atteints de cancer du pancréas reste médiocre en raison des options thérapeutiques inadéquates. La Sansalvamide produit naturel a été isolé en 1999 par Fenical et ses collègues d'un champignon marin, possède une activité antitumorale, est un depsipeptide. Les dérivées du sansalvamide possèdent des activités contre le cancer du pancréas, cancer du sein, de la prostate ceci indiquent clairement que ces dérivés possèdent un potentiel en tant que des nouveaux agents thérapeutiques pour le traitement de diverses cancers. Depuis l'isolement des Sansalvamide, les espoirs étaient grands qu'un de ces produits naturels pourrait être converti en médicament anticancéreuse utile. Notre travail a pour objectif de synthétiser analogues de la Sansalvamide afin d'améliorer son activité.

Abstract :

The survival of patients with pancreatic cancer remains mediocre due to inadequate chemotherapeutic options. The Sansalvamide natural product was isolated in 1999 by Fenical and colleagues of a marine fungus, possesses antitumor activity, and is a depsipeptide. The derivatives of Sansalvamide possess activities against pancreatic cancer, breast cancer, prostate this clearly indicate that these derivatives possess potential as novel therapeutic agents for the treatment of various cancers. Since the isolation of Sansalvamide, hopes were high that one of these natural products could be converted into a useful anticancer drug. Our work aims to synthesize analogues of Sansalvamide in order to improve its activity.

ملخص :

لا تزال فرصة البقاء على قيد الحياة لمرضى سرطان البنكرياس ضئيلة بسبب عدم كفاية خيارات العلاج الكيميائي. من المنتجات الطبيعية التي تم عزلها من الفطريات البحرية في عام 1999 من قبل العالم ورقفائه له نشاط مضاد للأورام السرطانية هو عبارة عن تمتلك النشاط ضد سرطان البنكرياس سرطان الثدي وسرطان البروستاتة وهذا يشير بوضوح إلى احتمال أن تصبح هذه المركبات عوامل علاجية جديدة لعلاج مختلف أنواع السرطان. منذ عزل، كانت آمال كبيرة في أن إمكانية تحويل واحد من هذه المنتجات الطبيعية إلى عقار مضاد للسرطان. ويهدف عملنا على تجميع نظير بهدف تحسين نشاطها.