



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN

MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Par :

Mebarki Nor El Houda

Sur le thème

Essai de synthèse d'un hybride peptido-phénolique anti-oxydant

Soutenu publiquement le 25 juin 2019 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mr Choukchou Braham Noureddine	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Mr Atmani Abdelkrim Mme Keniche Assia	Professeur Maitre de Conférences B	Université de Tlemcen Centre universitaire de Maghnia	Examinateur Examinatrice
Mr Kajima Mulengi Joseph	Professeur	Université de Tlemcen	Encadrant

*Département de chimie-Faculté des Sciences
Université de Tlemcen*

D É D I C A C E

A mes parents,

A mes frères,

A ma famille,

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

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au sein dans le cadre de deux projets de recherche, un projet à impact socio-économique et un projet ATRSS, tous les deux dirigés par Monsieur le Professeur J. Kajima Mulengi, du Département de chimie de la Faculté des Sciences.

Je tiens à remercier le Professeur J. Kajima Mulengi directeur de ce mémoire, pour l'aide qu'il a fournie et les connaissances qu'il a su me transmettre. Je le remercie également pour sa disponibilité et la qualité de ses conseils.

Mes plus sincères remerciements au Professeur Mr Choukchou Braham Nouredine pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury de ce mémoire. Je remercie également Mr Atmani Abdelkrim et Mme Keniche Assia pour avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie Laboratoire de recherche des macromolécules pour les spectres infrarouges.

Un merci tout particulier à Mr. Khaldi et Mr. Mebitil ingénieurs de laboratoire au laboratoire de chimie organique du Département de chimie-Faculté des Sciences pour leur disponibilité.

Je remercie également Mme Amaria technicienne au laboratoire de chimie analytique-Faculté des Sciences pour son aide.

Un grand merci à ma mère et mon père, pour leur amour, leurs conseils ainsi que leur soutien inconditionnels, à la fois moral et économique, qui m'a permis de réaliser les études que je voulais et par conséquent ce mémoire.

Enfin, je remercie mon ami Mr. Hedeili Abdelhaq qui a toujours été là pour moi, son soutien inconditionnel et ses encouragements ont été d'une grande aide.

Sommaire

Liste des abréviations

Introduction 1

Rappels bibliographiques

1. Maladies chroniques	2
2. Hypertension artérielle	2
2.1- Définition.....	2
2.2- Radicaux libres et hypertension	2
2.3- Causes possibles de l'hypertension	4
2.4- Complications.....	4
3. Traitements et Impact économique	4
3.1- Approches pharmacologiques	4
3.2- Impact économique	5
4. Peptides Antioxydants	6
4.1- Généralités	6
4.1.1- Peptides antioxydants.....	6
4.2- Dipeptides	7

Travail effectué

1. Objectif et plan de travail.....	8
2. Protection des phénols.....	9
3. Condensation de Knoevenagel	12
4. Protection du méthyl-2-cyano-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl) acrylate	13
5. Hydrolyse de l'ester	14
6. Protection de la fonction thiol de la cystéine estérifiée.....	16

7. Couplages peptidiques et synthèse de l'hybride	17
7.1- Couplage de l'acide-2-cyano-3-(4-isopropoxy-3-méthoxyphenyl) acrylique avec le chlorhydrate de méthyl <i>S</i> -isopropyl-L- cystéine	17
7.2- Couplage de l'acide-2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxybenzyl) oxy) phényl) acrylique avec la méthyl <i>S</i> -(4-méthoxybenzyl)-L-cystéine	18
7.2.1- Hydrolyse de méthyl- <i>N</i> -(2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxy benzyl) oxy) phényl) acryloyl- <i>S</i> -(4-méthoxy benzyl) cystéine	19
Conclusion et perspectives	20
Partie expérimentale	21
Références bibliographiques	

Liste des abréviations

PA	Pression artérielle
RL	Radicaux libres
ERO	Espèces réactives oxygénées
AVC	Accident vasculaire cérébral
AA	Aminoacide
YYIVS	Tyrosine- tyrosine- isoleucine- valine– serine
VY/Val-Tyr	Valyl-tyrosine
CA-L-Pro-L-His-NH₂	Cafféoyl-prolyl-histidine amide
DMAP	4-diméthylaminopyridine
TBAI	Iodure de tétrabutylammonium
CTP	Catalyse par transfert de phase
DCU	Dicyclohexylurée

Rappels

Bibliographiques

Introduction

L'hypertension essentielle représente plus de 90% des cas d'hypertension¹. Elle augmente le risque de maladies cardiovasculaires pour des millions de personnes dans le monde². Malgré la grande disponibilité des médicaments appropriés et leur consommation régulière, seuls environ 25% des patients hypertendus parviennent à avoir leur tension artérielle contrôlée. Pour tout hypertendu, il est nécessaire de mesurer régulièrement sa pression artérielle soit en milieu hospitalier, soit à domicile. Néanmoins, on privilégie actuellement la prise de la pression à domicile et au calme, afin d'éviter le syndrome de la « peur de la blouse blanche »³.

Bien que plusieurs facteurs contribuent à la pathogenèse et au maintien de l'augmentation de la pression artérielle, les mécanismes rénaux jouent sans doute un rôle important, comme de nombreuses données expérimentales et cliniques renforcent l'hypothèse de Guyton¹. Ainsi par exemple, l'activité du système nerveux sympathique amplifie les effets hypertenseurs de la rétention d'eau et du sel dans les reins¹.

De nombreuses interactions existent entre différents mécanismes et facteurs déclenchant l'hypertension artérielle, ce qui impose d'explorer plusieurs approches thérapeutiques afin non seulement de comprendre les différents mécanismes impliqués, mais aussi et surtout pour cibler des thérapies à même de venir à bout de ce « tueur silencieux ». Parmi les antihypertenseurs possibles, nous nous sommes intéressés aux peptides.

Les peptides d'origine alimentaire avec des propriétés antihypertenseurs ont suscité un grand intérêt au cours des 30 dernières années⁴. Il existe des preuves solides de l'effet des différentes séquences de peptides dans les essais cliniques, mais leur utilisation dans les traitements préventifs ou curatifs n'est pas très répandue. La fragilité ainsi que la faible biodisponibilité des peptides thérapeutiques reste un problème toujours d'actualité⁴.

L'existence de peptides naturels et aussi alimentaires nous a poussés à nous intéresser à cette famille de produits chimiques pour explorer tant soit peu en profondeur un domaine où on ne trouve pas énormément de travaux qui retiennent l'intérêt de l'industrie et des acteurs du monde de la Santé⁴.

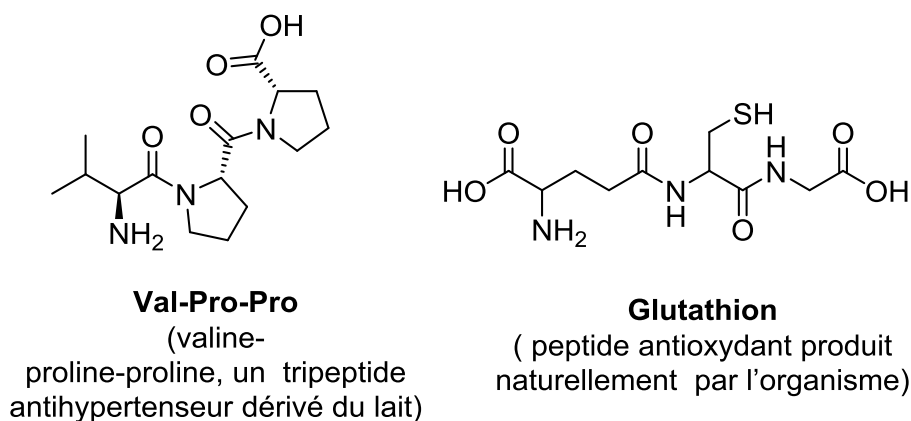


Figure 1 : Quelques peptides naturels

1. Maladies chroniques

Les maladies chroniques sont des maladies dont les symptômes durent au moins six mois et ont tendance à s'aggraver au cours du temps⁵. Ces maladies sont nombreuses et il peut s'agir de l'hypertension artérielle, du diabète sous ses différentes manifestations, de la maladie d'Alzheimer, du Parkinson, de la maladie de Crohn et d'autres.

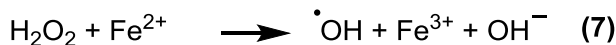
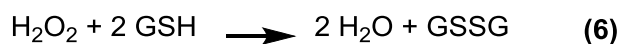
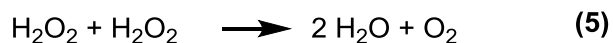
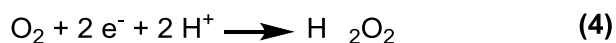
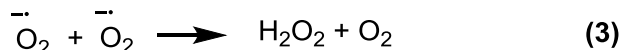
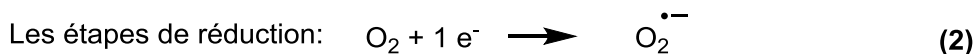
2. Hypertension artérielle

2.1- Définition

L'hypertension artérielle est une pathologie chronique⁶ du système cardiovasculaire⁷. Elle définit l'augmentation de la pression artérielle (PA) au niveau des parois des artères⁸. On parle d'un état d'hypertension lorsqu'on observe la pression artérielle systolique (supérieure à 140 mmHg au moment de la contraction du cœur), et en même temps, une pression artérielle diastolique (pression minimale lors du relâchement du cœur) supérieure ou égale à 90 mmHg au repos⁸.

2.2- Radicaux libres et hypertension

Les radicaux libres (RL) ou encore appelées « espèces réactives oxygénées » (ERO), sont des espèces chimiques qui portent un électron non apparié sur leur couche externe.⁹ Lors de la respiration cellulaire, l'oxygène subit une réduction tétravalente en eau, et se déroule en plusieurs étapes successives donnant lieu aux ERO.⁹ (Schéma 1)



(6) - thiol peptidique, symbolisé ici par GSH

Schéma 1: Origine des espèces réactives oxygénées.

Les ERO sont très importantes pour le fonctionnement de la cellule, cependant leur excès ou le déséquilibre entre les espèces réactives de l'oxygène et les agents antioxydants donnent naissance au stress oxydant.⁹ Ils sont aussi impliqués dans l'apparition de plusieurs maladies telles que l'athérosclérose⁹, les maladies cardiovasculaires¹⁰, et l'hypertension⁷.... etc. L'action de l'oxyde nitrique (NO) un vasodilatateur important qui régule la pression sanguine est inhibée par le superoxyde⁷. Il en résulte le peroxyde nitrique (Schéma 2) dont la formation entraîne une réduction de sa biodisponibilité et une augmentation de la pression.⁷

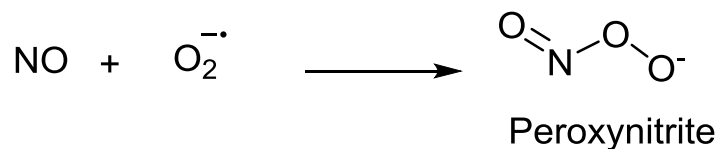


Schéma 2: Formation de peroxynitrite

Les radicaux libres attaquent le système cardiovasculaire et provoquent des lésions ; en réponse à ces lésions, la pression artérielle augmente.¹⁰ La genèse de radicaux libres provient également de l'auto-oxydation des acides gras polyinsaturés. Ces derniers peuvent intervenir dans le développement de l'athérosclérose^{11,12}. (Schéma 3)

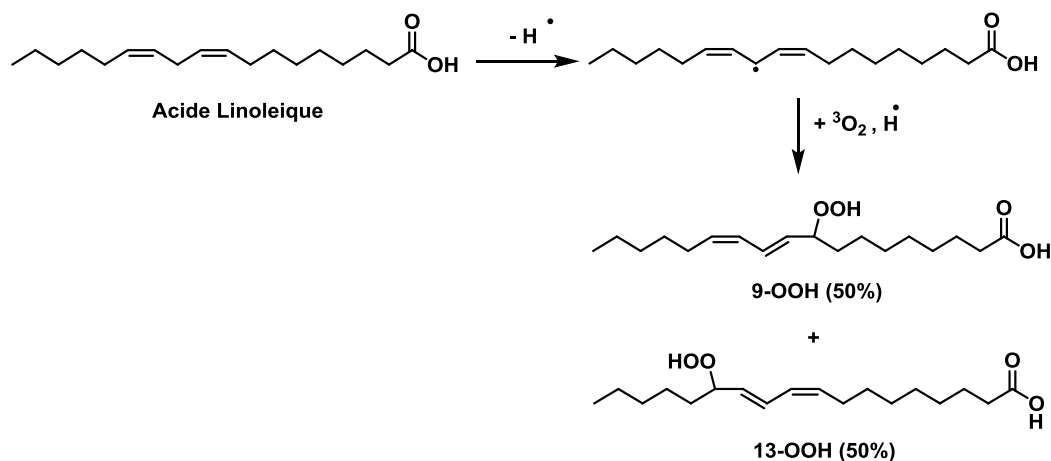
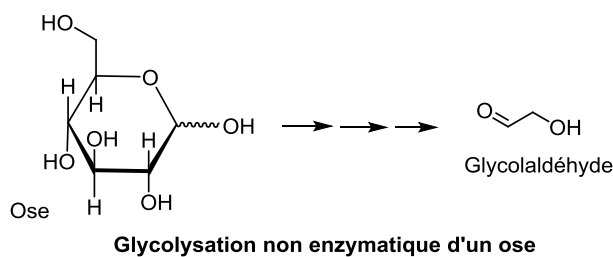


Schéma 3: Auto-oxydation de l'acide linoléique ¹¹

Au cours de la glycosylation non enzymatique, les oses se fragmentent et conduisent à plusieurs espèces telles que le glycolaldéhyde et glyceraldéhyde. Ces dernières sont extrêmement sensibles à l'oxydation et subissent aisément la réaction d'auto-oxydation, source supplémentaire du radical superoxyde.¹³ (Schéma 4).



Auto-oxydation de glycolaldéhyde

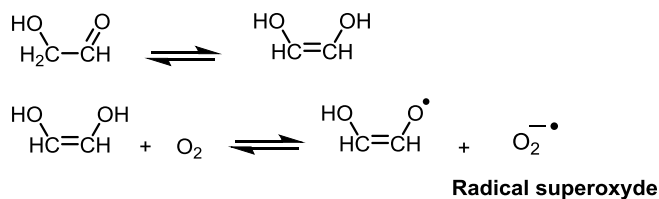


Schéma 4: Fragmentation des oses et auto-oxydation de glycolaldéhyde

2.3- Causes possibles de l'hypertension

L'hypertension est liée à plusieurs facteurs possibles et le stress oxydatif est l'un des mécanismes fondamentaux responsable. Il faut également citer d'autres facteurs comme le tabac, l'alcool et le manque d'activité physique¹⁴ comme causes impliquées dans la formation excessive des radicaux libres. La forte consommation de sel¹⁷ avec comme corollaire une rétention d'eau, provoque un accroissement de la pression sanguine¹⁵.

Par ailleurs, le rapport entre les taux de potassium et du sodium¹ est très important dans le maintien de la pression : le potassium stimule la production de NO et l'excrétion de sodium urinaire¹⁶. Une forte consommation de sucre¹⁵ rigidifie les vaisseaux sanguins en empêchant une dilatation normale pour compenser une augmentation de la pression artérielle. D'autres facteurs comme la résistance à l'insuline¹, l'obésité et le diabète contribuent également à une augmentation de l'hypertension.¹⁴ A ce niveau et à la lecture de ce qui précède, on est en droit de se poser la question suivante : **l'hypertension est-elle une maladie ou plutôt un symptôme ?**

2.4- Complications

L'hypertension ne doit pas être ignorée car elle peut provoquer des maladies graves, des handicaps et même le décès¹⁴. L'hypertension est un facteur de risque très important dans l'apparition de la déficience visuelle, l'accident vasculaire cérébral (AVC), les maladies cardiovasculaires (maladie coronarienne et d'insuffisance cardiaque) et les maladies rénales¹⁴.

3. Traitements et Impact économique

3.1- Approches pharmacologiques

Actuellement, le traitement médical classique de l'hypertension se fixe comme objectif de diminuer la pression artérielle chez les patients hypertendus : il repose sur l'utilisation des différentes classes des médicaments antihypertenseurs¹⁷ (**Tableau 1**). Par contre, ces médicaments ont un impact négatif sur la santé qui peut se traduire par plusieurs effets tels que la défaillance cardiaque, la dépression et l'hypoglycémie.¹⁸

D'autre part, l'emploi des diurétiques pour éliminer le sodium de l'organisme et réduire la rétention d'eau, rompt le rapport sodium/potassium. L'élimination du sodium et une diminution brutale de la pression font souvent passer le patient de l'hypertension à l'hypotension, dont le signe observable est le vertige.¹⁸

Antihypertenseur	Mécanisme d'action	Effets secondaires
Les diurétiques	Augmentation modérée de la natriurèse (quantité de sodium dans l'urine). Baisse modérée du débit cardiaque. Vasodilatation	hypokaliémie hyperglycémie hyper uricémie hypercholestérolémie
Les inhibiteurs calciques (ICA)	Blocage de l'entrée du calcium dans les cellules musculaires lisses artériolaires entraînant une vasodilatation	Œdème des membres inférieurs, hypotension, céphalées, tachycardie réflexe, bouffées vasomotrices et étourdissements
Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC)	Inhibition de la formation de l'angiotensine II circulante et tissulaire.	Hypotension Insuffisance rénale Hyperkaliémie Anémie Angio-œdème Neutropénie

Tableau 1 : Quelques classes des médicaments antihypertenseurs¹

3.2- Impact économique

Les patients souffrant de l'hypertension sont soumis à un traitement médical à vie, et le coût des médicaments est un facteur à prendre en compte car il influe sur les finances publiques et celles du patient. Un simple calcul pour un seul patient qui prend par exemple l'Aténolol avec un prix moyen de 0,5 € par jour pendant 1 mois, 1an, et durant ses 60 ans de vie nous fournit les résultats suivants : une somme de 15 € (≈2.115 DZD), 182,5 € (≈25.732 DZD), 10.950 € (≈1.543.950 DZD) respectivement¹⁹ (**Tableau 2**) avec 1€≈141 DZD (le 16/01/2019 à 13h).

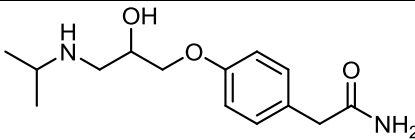
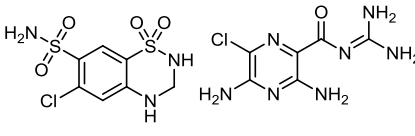
Classe (molécule active)	Coût/jour €	Exemple	Structure du principe actif
Bêtabloquants	0,20-0,70	Aténolol	 <p>Aténolol</p>
Associations de diurétiques	0,10-1,20	Hydrochlorotiazide- Amiloride	 <p>Hydrochlorothiazide-amiloride</p>

Tableau 2 : Structures des antihypertenseurs et leurs coûts

4. Peptides Antioxydants

4.1- Généralités

4.1.1- Peptide antioxydant

On appelle peptide une substance dont la structure chimique est composée d'un enchaînement d'acides aminés (AA) liés par une liaison peptidique. La masse molaire de la chaîne peptidique ne doit pas dépasser 6000 Da, car les molécules de masses supérieures sont considérées comme des protéines.²⁰ Aux deux extrémités d'une chaîne peptidique se trouvent deux groupements libres. La fonction amino libre commence la chaîne est nommée le *N*-terminal, tandis que la fonction carboxyle libre est appelé *C*-terminal.²¹ (Figure 2)

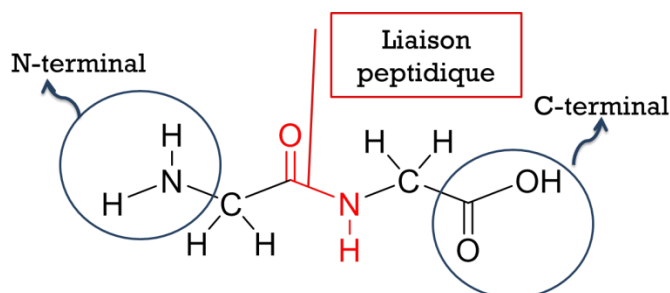


Figure 2 : Structure chimique d'un peptide

Les réactions d'oxydation sont importantes pour notre vie. Lorsqu'elles deviennent nocives, l'organisme utilise des agents appelés antioxydants soit pour les neutraliser, soit pour ralentir leur activité.²² Ces substances sont naturellement présentes dans l'organisme humain. Quelques-unes connues sont notamment le glutathion, un tripeptide formé par l'acide glutamique, la cystéine et la glycine. L'autre exemple est donné par le superoxyde dismutase²². Dans le règne végétal, on trouve également des antioxydants dans les aliments (fruits et légumes) sous forme d'acide ascorbique (vitamine C), le β -carotène, l'acide caféique et la quercétine (famille des polyphénols)¹² (figure 3). En dehors du monde vivant, les molécules synthétiques peuvent aussi contribuer à contrôler le stress oxydatif.

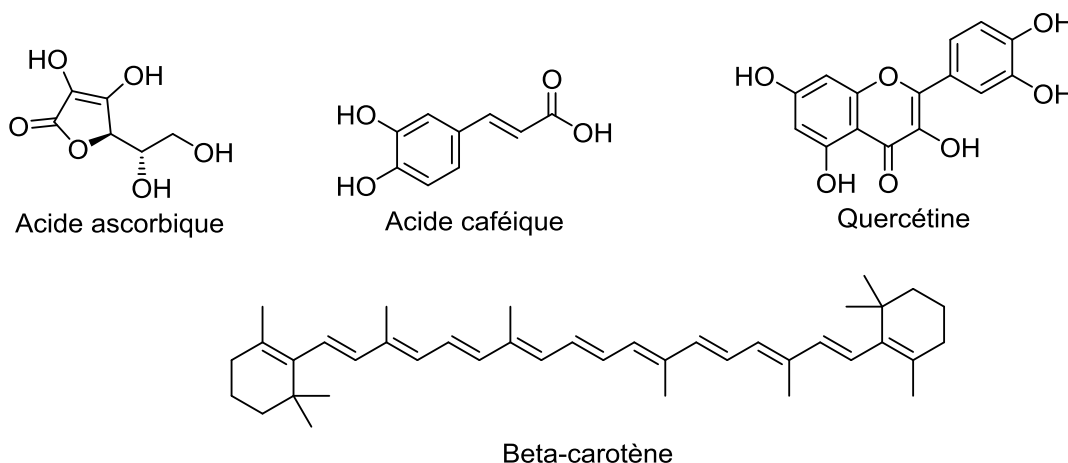


Figure 3: Antioxydants naturels

La capacité des peptides antioxydants à neutraliser les RL en fait des outils très recherchés dans le domaine pharmaceutique. A cet effet, plusieurs peptides ont été étudiés et leur activité antioxydante a été démontrée. C'est notamment les cas de la carnosine (β -alanine et L-histidine)²³ et le YYIVS un pentapeptide à base de tyrosine- tyrosine- isoleucine- valine- sérine isolée à partir de "patate douce".²⁴ (figure 4)

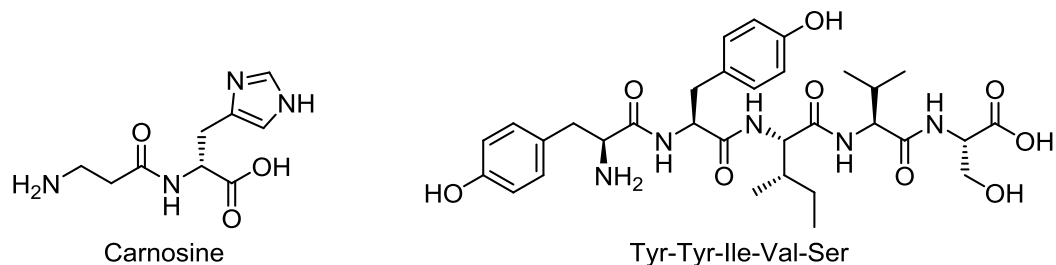


Figure 4: Peptides antioxydants naturels

4.2- Dipeptides

Le dipeptide est le squelette le plus court, simplement constitué de 2 AA liés entre eux par un groupe amide (liaison peptidique). Ces composés ont diverses propriétés pharmacologiques. Nous en citons quelques effets : l'effet antihypertenseur de valyl-tyrosine (VY/Val-Tyr)²⁵ et l'effet antioxydant de cafféoyl-prolyl-histidine amide (CA-L-Pro-L-His-NH₂ avec CA= acide caféique).²⁶ (Figure 5)

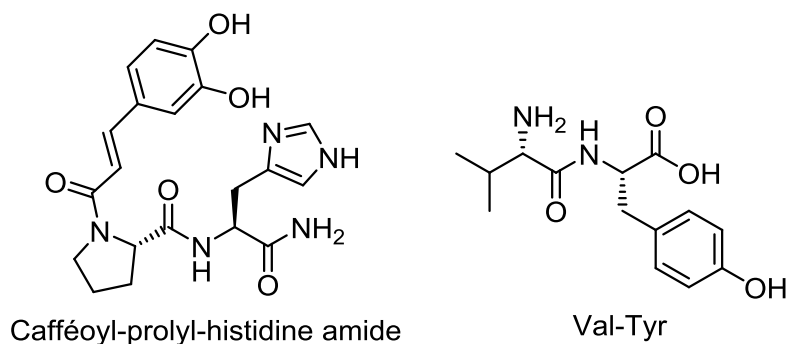


Figure 5: Structure d'un dipeptide

**Travail
Effectué**

1. Objectif et plan de travail

L'organisme dispose d'un système antioxydant performant et des peptides antioxydants mais leur biodisponibilité par ingestion est mauvaise. Le travail sur des analogues de peptides naturels qui soient antioxydants et résistent à la digestion, est un objectif valable pour traiter l'hypertension en minimisant l'impact des effets secondaires. La rétrosynthèse suivante nous a aidés à trouver les réactifs les plus simples à utiliser dans notre synthèse.

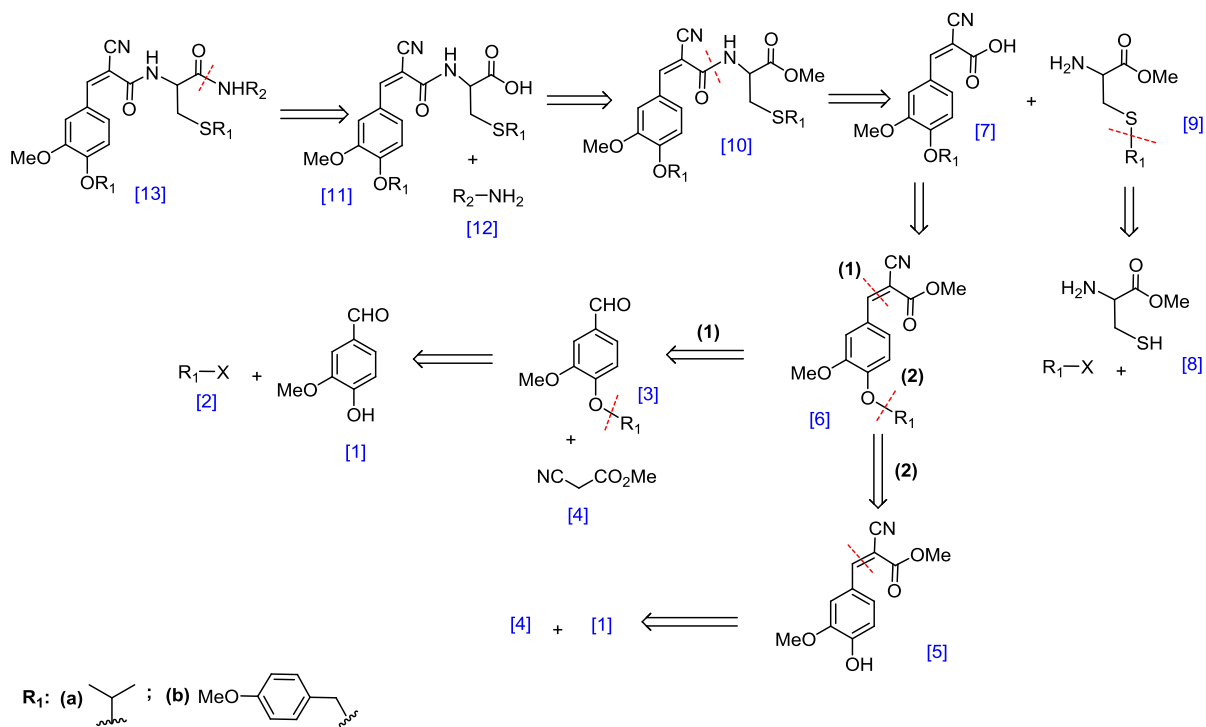


Schéma 5 : La rétrosynthèse de produit a synthétisé

Le squelette de notre cible montre la présence d'un motif cystéinyle, responsable de l'activité antioxydante du glutathion²⁷. La vanilline, dont les propriétés antioxydantes sont connues²⁸, son squelette entre dans la préparation de plusieurs substances thérapeutiques. C'est pour cela qu'elle nous a intéressés pour l'inclure dans le squelette d'un hybride à potentiel antioxydant, tout en nous inspirant de la littérature. Notre principal objectif est d'effectuer la synthèse de cet hybride dans la perspective de le soumettre à une batterie étendue de tests biologiques si le temps et les moyens le permettent.

Notre travail est subdivisé en plusieurs étapes :

- ✓ Isopropylation de la vanilline
- ✓ Condensation de Knoevenagel
- ✓ Hydrolyse de l'ester
- ✓ Protection de la fonction thiol de la cystéine estérifié
- ✓ Couplage peptidique et synthèse de l'hybride

2. Protection des phénols

Dans les composés phénoliques multifonctionnels, les groupes hydroxyle doivent être bloqués sélectivement afin de s'assurer la modification totale des produits désirés. Cette étape est très importante non seulement pour limiter la formation des produits secondaires, mais aussi pour améliorer le rendement de la réaction suivante. Cette protection peut se faire par différentes méthodes :

▪ 1^e méthode

Lors de la réaction d'un phénol avec des alkylboranes en présence d'une quantité catalytique d'acétate de cuivre (II) $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, et de peroxyde de ditertbutyle, une réaction de couplage croisé se produit et les éthers alkylaryliques correspondants sont obtenus.²⁹

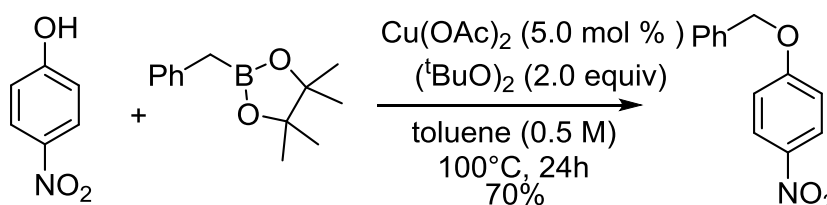


Schéma 6: O-alkylation de 4-nitrophénol²⁹

▪ 2^e méthode

L'utilisation de l'acide trifluorométhane sulfonique en tant qu'espèce catalytique facilite la formation d'éthers de tert-butyle à partir de divers phénols.³⁰

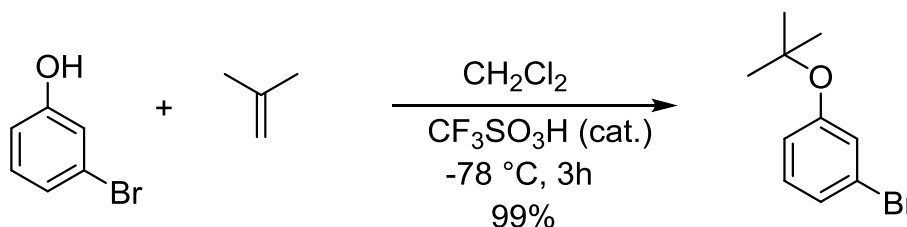


Schéma 7: Protection de 3-bromophénol³⁰

▪ 3^e méthode

Le disulfure de diacyle a été engagé de manière efficace dans la formation des esters, rendue possible par une catalyse par le DMAP. Ce protocole offre une plateforme synthétique prometteuse pour l'acylation des groupes hydroxyle phénoliques et aliphatiques primaires. L'importance du réactif a également été démontrée à cause de son excellente tolérance à l'humidité, et son rendement élevé.³¹

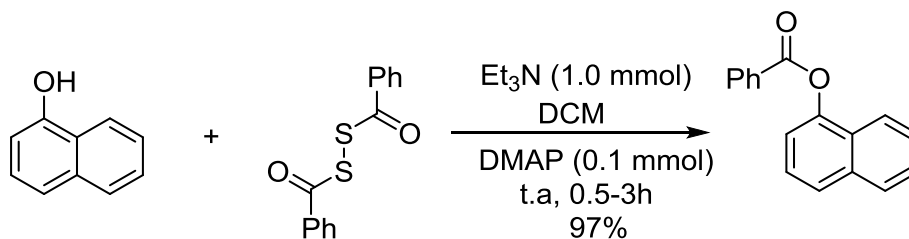


Schéma 8: Acylation de naphthol³¹

➤ Protection effectuée

1^{er} approche

La première approche repose sur la réaction entre la vanilline et le bromure d'isopropyle en présence de carbonate de sodium dans le DMF (Schéma 9), sous agitation à 55°C pendant 12h. Une coloration blanche apparaît lors de la réaction. Après les traitements et l'évaporation du solvant, la synthèse fournit un rendement de 36%. Le produit est identifié grâce à son spectre infrarouge qui nous a confirmé l'absence de la bande du OH phénolique.

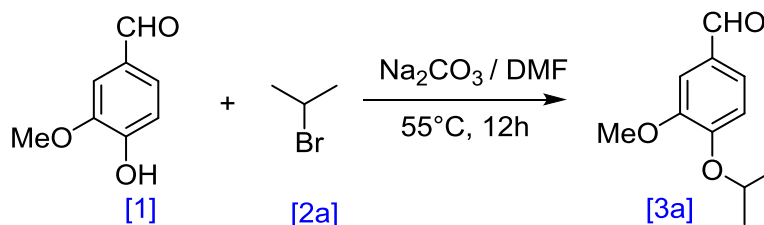


Schéma 9: Isopropylation de vanilline

La réaction se fait en deux étapes : la première consiste à arracher le proton de l'hydroxyle phénolique avec le carbonate de sodium afin de produire le phénoxyde, et ce dernier réagit avec le bromure d'isopropyle dans la deuxième étape pour donner le 4-isopropoxy-3-méthoxybenzaldéhyde. (Schéma 10)

Mécanisme:

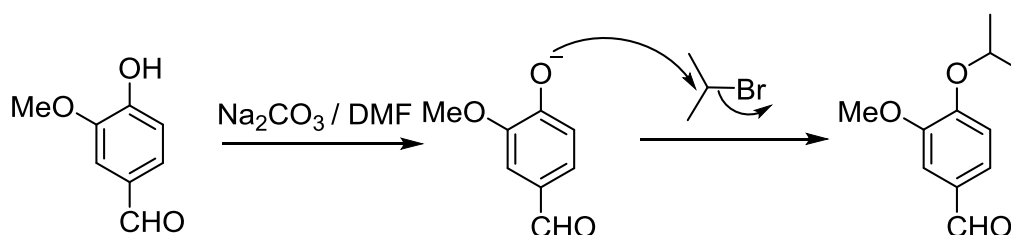


Schéma 10: Mécanisme d'isopropylation de vanilline

2^e approche

Une autre approche d'isopropylation consiste à faire réagir la vanilline commerciale avec le bromure d'isopropyle en présence d'une solution d'hydroxyde de sodium dans le dichlorométhane (DCM), suivie par une quantité catalytique d'iodure de tétrabutylammonium (TBAI). Deux phases se séparent à la fin de la réaction, une phase aqueuse de couleur marron et une phase organique crevette clair. L'extraction et l'évaporation de mélange donne un résidu qui est cristallisé dans l'éther de pétrole et le produit est identifié par son point de fusion

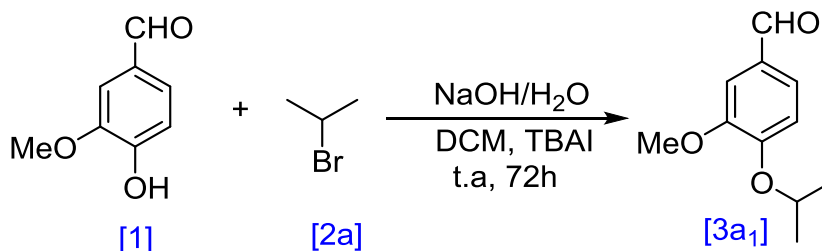


Schéma 11: Isopropylation de vanilline (2^{ème} approche)

Cette fois-ci, la réaction se déroule dans un système biphasique, connue sous le nom « catalyse par transfert de phase (CTP) ». Le principe de la CTP repose sur la capacité de certains agents à effectuer le transport d'un réactif d'une phase à une autre, généralement des amines quaternaires solubles dans les deux phases aqueuse et organique.

Le mécanisme de cette réaction a été proposé pour la première fois par *Charles Starks* en 1971 : il repose sur l'utilisation d'un halogénure d'ammonium quaternaire dissous dans la phase aqueuse. Cet ion subit un échange d'anions avec l'anion du réactif dissous dans la solution aqueuse en formant une paire ionique. Cette dernière traverse l'interface liquide-liquide en raison de son caractère lipophile et diffuse de l'interface à la phase organique. Cette étape constitue le « transfert de phase » ; dans la phase organique, l'anion de la paire d'ions étant assez nucléophile, subit une réaction de substitution nucléophile avec le réactif organique pour conduire au produit souhaité. Le catalyseur retourne ensuite dans la phase aqueuse et le cycle reprend.³² (**Schéma 12**)

Mécanisme :

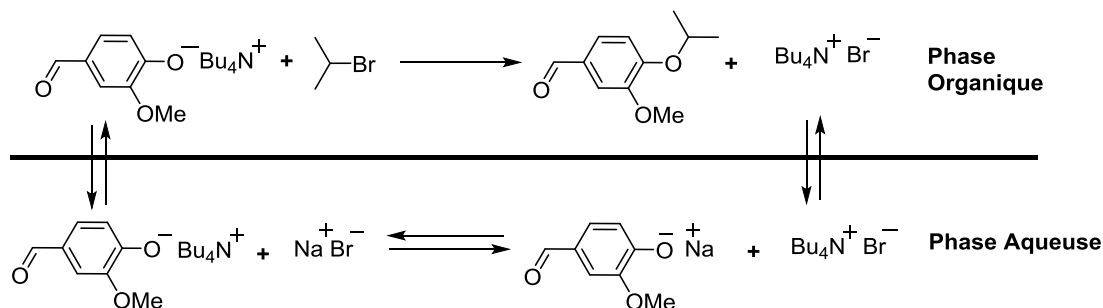


Schéma 12 : Mécanisme de la catalyse de transfert de phase

3. Condensation de Knoevenagel

La réaction de Knoevenagel est une méthode classique pour former les liaisons double carbone-carbone. Cette réaction se fait généralement entre un aldéhyde ou une cétone avec un méthylène actif. La réaction peut se dérouler dans des conditions homogènes ou hétérogènes. Les réactions homogènes de Knoevenagel sont effectuées en présence de bases faibles telles que l'éthylènediamine, la pipéridine, le fluorure de potassium et les acides aminés, tandis que les condensations hétérogènes sont favorisées par l'oxyde d'aluminium, le tétrachlorure de titane, les zéolites à échange de cations, les alcanes, la calcite et la fluorite³³

▪ Condensation homogène

C'est une réaction typique du composé carbonyle avec le méthylène actif, en présence d'une quantité catalytique de fluorure de potassium dans le benzène.³⁴ (Schéma 13)

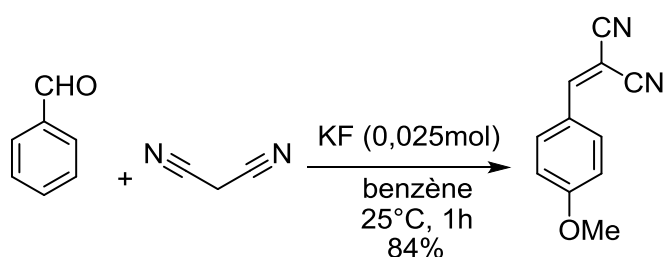


Schéma 13: Réaction de Knoevenagel catalysée par le fluorure de potassium

▪ Condensations hétérogènes

Le schéma réactionnel décrit l'application du système solide $\text{AlPO}_4\text{-Al}_2\text{O}_3$ en tant que catalyseur pour la condensation de Knoevenagel en phase hétérogène, à température ambiante et en absence de solvant³⁵. (Schéma 14) L'intérêt de la synthèse hétérogène est de fournir des produits propres, sans solvants qui les contaminent.

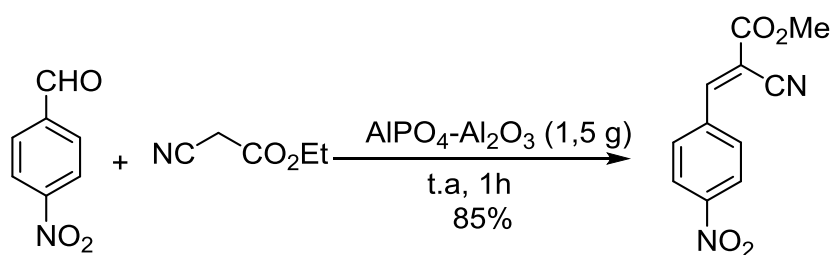


Schéma 14 : Condensation de Knoevenagel en phase hétérogène

➤ Condensation effectuée

Nous avons synthétisé le méthyl-2-cyano-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl) acrylate par la réaction de Knoevenagel. Pour cela, nous avons fait réagir la vanilline et le cyanoacétate de méthyle en présence de carbonate d'ammonium à une température de 100°C pendant 2h. A la fin de la réaction et après extraction, séchage et évaporation, on obtient un solide jaune, recristallisé par la suite dans un mélange eau-éthanol. (Schéma 15) Nous avons confirmé l'identité du produit par son point de fusion et le spectre infrarouge qui indique l'existence des bandes

caractéristiques du nitrile, hydroxyle phénolique, l'ester ... L'intérêt de synthétiser ce produit est que son activité antioxydante importante avait déjà été démontrée³⁶

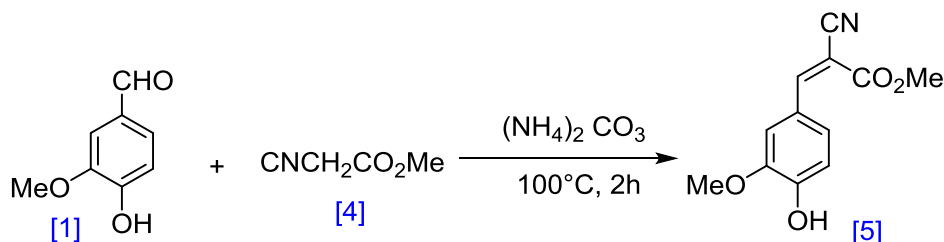


Schéma 15: Condensation de Knoevenagel

La première étape du mécanisme consiste à déprotoner le méthylcyanoacétate avec le carbonate d'ammonium. Ensuite, l'attaque du carbanion sur le carbonyle fournit un énolate qui, après protonation, ce produit subit d'une déshydratation pour fournir le méthyl-2-cyano-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl) acrylate (Schéma 16)

Mécanisme :

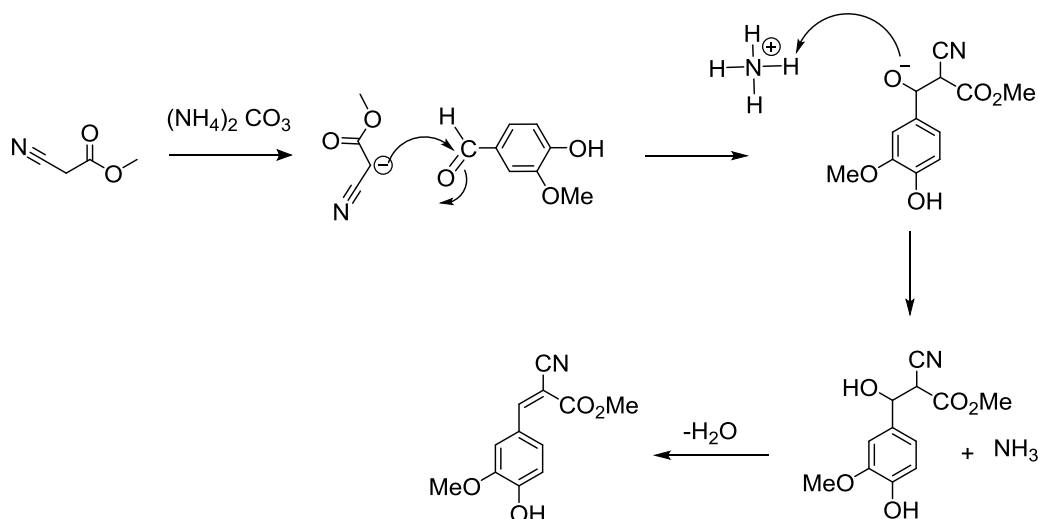


Schéma 16 : Mécanisme de la condensation de Knoevenagel

4. Protection du méthyl-2-cyano-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl) acrylate

▪ 1^e approche

Cette réaction été faite en utilisant le même processus de protection effectué précédemment, avec une modification du temps de la réaction à cause de la réactivité faible du bromure d'isopropyle (Schéma 17). Le produit obtenu est visqueux de couleur noire, identifié par infrarouge. La synthèse a donné un rendement de 85%, meilleur que la protection directe de la vanilline qui n'a donné que des traces.

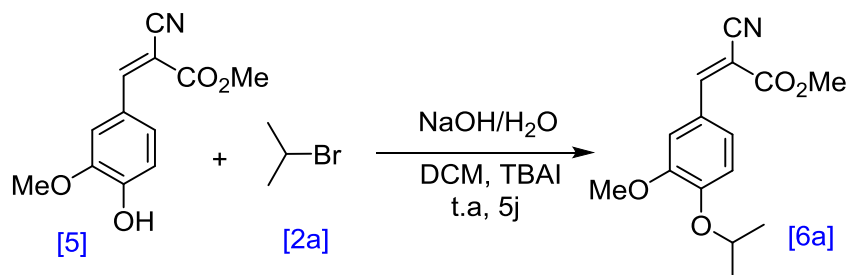


Schéma 17 : Protection du méthyl-2-cyano-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl) acrylate

Mécanisme : (Schéma 12)

▪ 2^e approche

Pour cette deuxième approche, nous avons utilisé des conditions opératoires similaires à celles de la réaction précédente. Cependant, nous avons choisi un autre groupe protecteur le 1-(Chlorométhyl)-4-méthoxybenzène (Schéma 18), non seulement pour renforcer la capacité antioxydante, mais aussi pour sa réactivité élevée par rapport au bromure d'isopropyle. La réaction a fourni après purification un produit visqueux de couleur brique avec un rendement de 98% en seulement 24h. Son identification est effectuée à l'aide de son spectre l'infrarouge

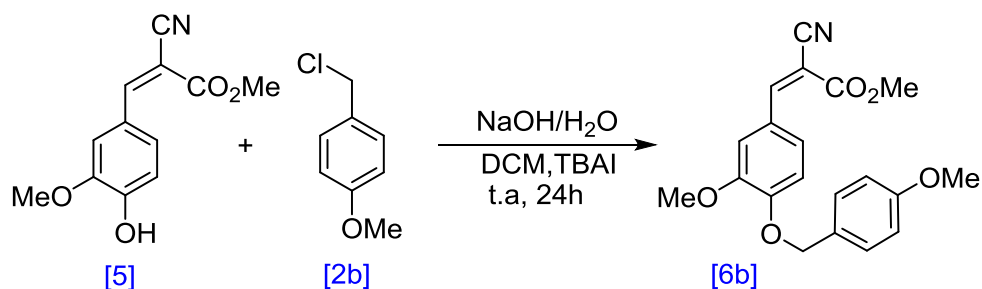


Schéma 18 : Protection avec le 1-(Chlorométhyl)-4-méthoxybenzène

Mécanisme : (Schéma 12)

5. Hydrolyse de l'ester

a. Hydrolyse de méthyl-2-cyano-3-(4-isopropoxy-3-méthoxyphényl) acrylate

Dans cette étape, nous avons réalisé une hydrolyse de l'ester pour pouvoir faire ensuite un couplage peptidique avec la cystéine protégée. L'hydrolyse consiste à faire réagir le méthyl-2-cyano-3-(4-isopropoxy-3-méthoxyphényl) acrylate avec l'hydroxyde de lithium monohydrate dans un milieu tétrahydrofurane/eau à température ambiante pendant 6h. Nous avons obtenu un produit visqueux de couleur marron avec un rendement de 99% qui a été identifié par infrarouge.

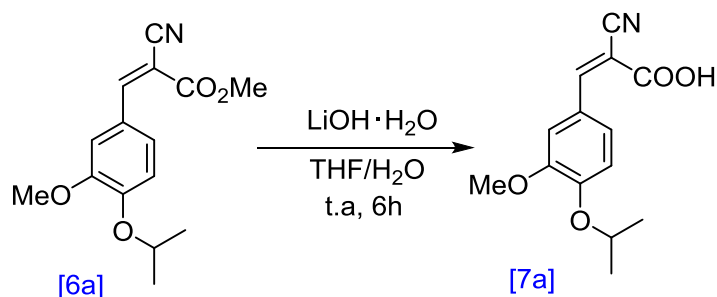


Schéma 19 : Hydrolyse du méthyl-2-cyano-3-(4-isopropoxy-3-méthoxyphényl) acrylate

Cette hydrolyse commence par une attaque du carbonyle de l'ester en formant un intermédiaire tétraédrique. Ensuite, la régénération du carbonyle s'effectue après élimination de l'alcoolate. La réaction s'achève par la libération d'un carboxylate et d'un alcool. Une hydrolyse finale permet d'obtenir l'acide carboxylique (**Schéma 20**)

Mécanisme :

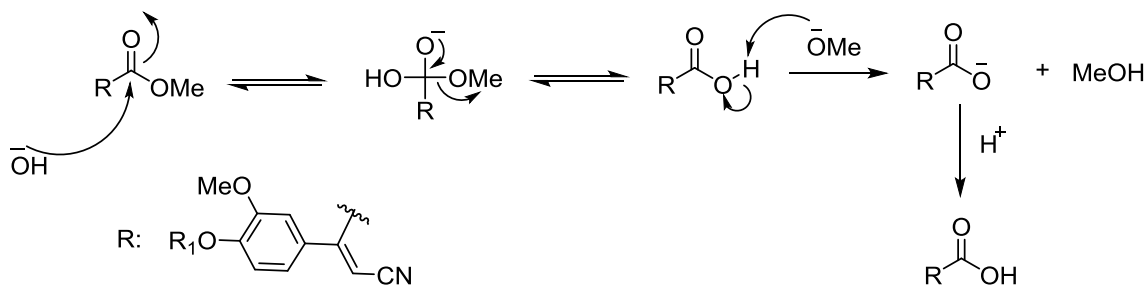


Schéma 20 : Mécanisme générale de l'hydrolyse

b. Hydrolyse du méthyl-2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxyphénoxy) phényl) acrylate

Pour cette synthèse nous avons employé la même méthode précédente et la réaction fournit un rendement de 92 %. Le produit obtenu est visqueux et de couleur miel dont l'identification a été confirmée avec la présence de la bande caractéristique de OH d'acide carboxylique dans le spectre infrarouge.

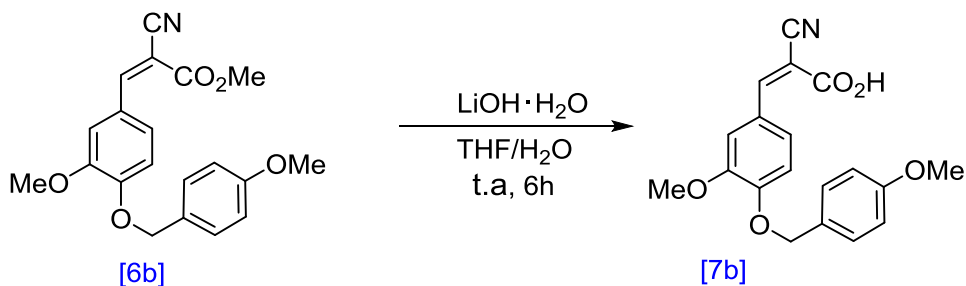


Schéma 21: Obtention de l'acide cyano-3-(3-méthoxy-4-(4-méthoxyphénoxy) phényl)acrylique.

Mécanisme : (**Schéma 20**)

6. Protection de la fonction thiol de la cystéine estérifiée

▪ 1^{er} approche

C'est la réaction entre la cystéine estérifiée et le bromure d'isopropyle dans une solution d'ammoniaque 2M à température ambiante pendant 2h30. Le produit est ensuite précipité par acidification pour obtenir après filtration un solide blanc avec un rendement de 40%, le spectre infrarouge du solide nous a confirmé l'absence de la bande caractéristique du SH

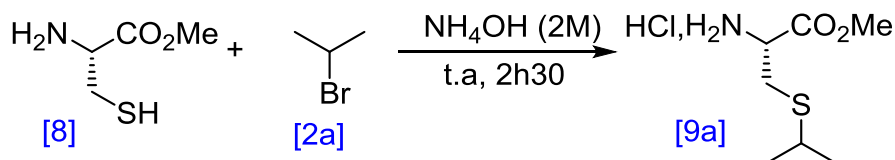


Schéma 22: Isopropylation de la cystéine estérifiée

La première étape du mécanisme c'est l'arrachement de proton du soufre avec l'ammoniaque ; le thiolate réagit avec le bromure d'isopropyle dans la deuxième étape pour donner le chlorhydrate de méthyl *S*-isopropyl-L-cystéine (**Schéma 23**)

Mécanisme :

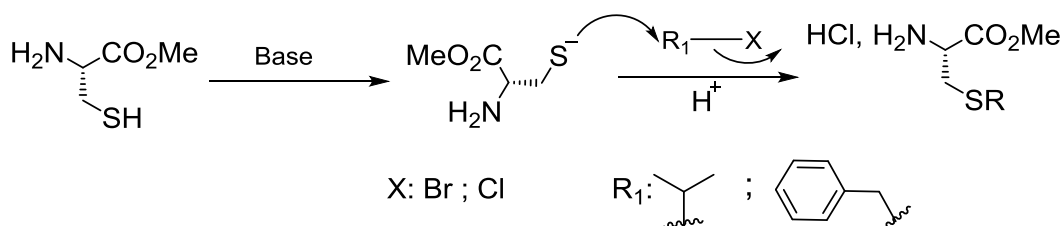


Schéma 23: Mécanisme général de la protection de la fonction thiol de la cystéine estérifiée

▪ 2^e approche

Dans ce cas, nous avons engagé la cystéine estérifiée avec le 1-(chlorométhyl)-4-méthoxybenzène dans une solution hydroxyde de sodium 2M dans les mêmes conditions opératoires précédentes. Cela nous a fourni un solide blanc qui a été caractérisé par infrarouge et son point de fusion. La réaction a donné un rendement de 68%

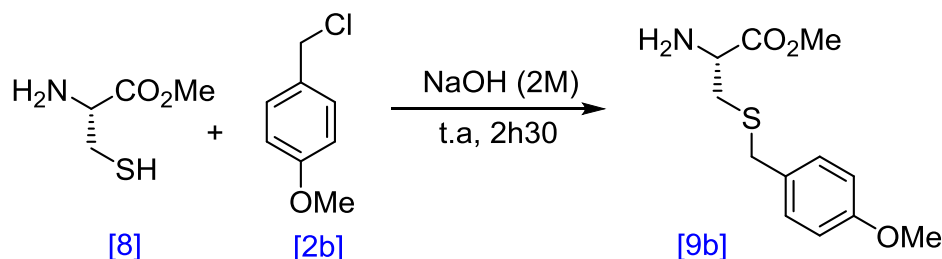


Schéma 24: Protection de la fonction thiol de la cystéine estérifiée

Le même mécanisme précédent est valable pour obtenir la méthyl *S*-(4-méthoxybenzyl)-L-cystéine sauf que le proton de la cystéine estérifiée est arraché avec l'hydroxyde de sodium

Mécanisme : (**Schéma 23**)

7. Couplages peptidiques et synthèse de l'hybride

La formation d'une liaison peptidique est une réaction de substitution nucléophile d'un groupe amino sur un groupe carboxyle au préalable activé soit sous forme d'halogénures d'acyle, d'azides d'acyle, d'acylimidazoles, d'anhydrides, esters... De plus, la réaction de couplage peptidique doit être effectuée dans des conditions douces, et de préférence à température ambiante.³⁷

7.1- Couplage de l'acide-2-cyano-3-(4-isopropoxy-3-méthoxyphenyl) acrylique avec le chlorhydrate de méthyl *S*-isopropyl-*L*-cystéine

L'acide-2-cyano-3-(4-isopropoxy-3-méthoxyphenyl) acrylique est couplé avec le chlorhydrate de méthyl *S*-isopropyl-*L*-cystéine dans le dichlorométhane. Ensuite, nous avons ajouté goutte à goutte une solution de DCC et HOBt dissous dans DCM à température ambiante pendant 24h. La dicyclohexylurée (DCU) se dépose à la fin de la réaction et cette dernière est filtrée ; la solution est séchée, puis le solvant évaporé. Le spectre infrarouge montre que le produit désiré ne s'est pas formé. En effet, la bande d'absorption de la fonction amide n'est pas observée.

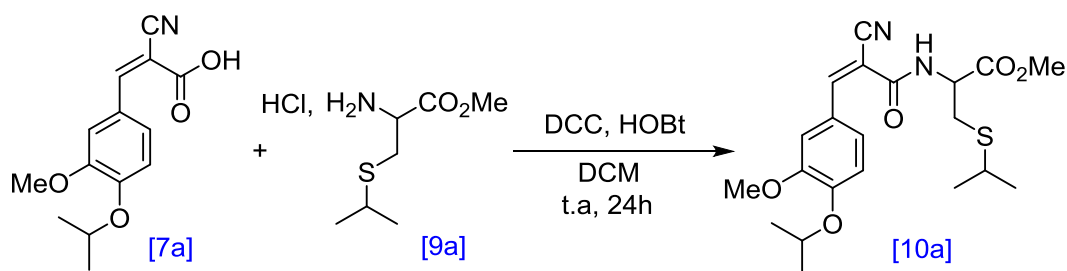


Schéma 25: Couplage d'un dérivé de l'acide acrylique avec une dérivée de la cystéine

Nous avons employé HOBt comme additif pour limiter non seulement les réactions de racémisation, mais aussi une autre réaction secondaire notamment la migration de la liaison O-N de la fonction carboxyle activée pour former la *N*-acylurée. (**Schéma 26**)

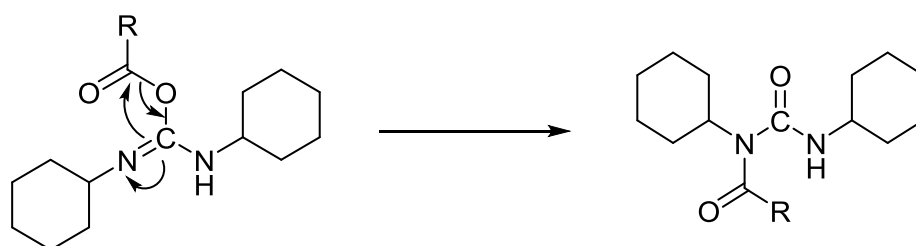


Schéma 26: Formation de la *N*-acylurée

On peut résumer le mécanisme en trois étapes: la formation de la *O*-acylurée instable sur laquelle HOBt réagit pour former un ester activé, puis le couplage se fait en présence d'un aminoacide dont le groupe NH₂ est libre

Mécanisme :

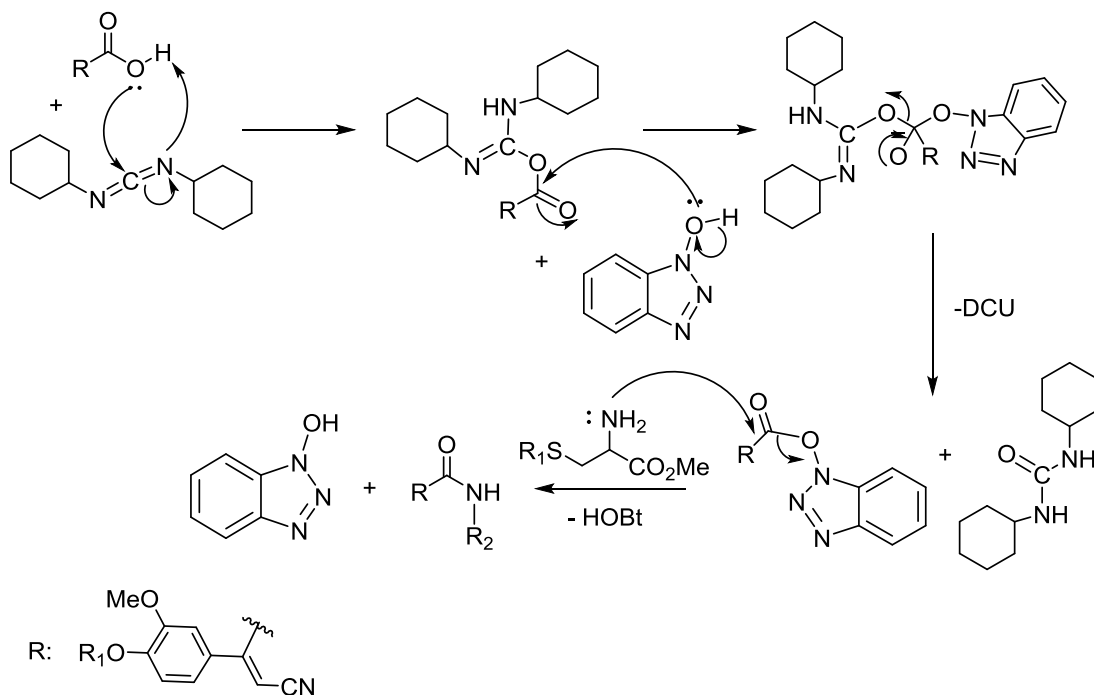


Schéma 27: Mécanisme générale du couplage

7.2- Couplage de l'acide-2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxybenzyl) oxy) phényl) acrylique avec la méthyl *S*-(4-méthoxybenzyl)-L-cystéine

Dans ce cas nous avons utilisé la même procédure précédente pour synthétiser le méthyl-*N*-(2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxy benzyl) oxy) phényl) acryloyl-*S*-(4-méthoxy benzyl) cystéinate. La réaction a donné un produit visqueux de couleur jaune avec un rendement de 85%, le produit est identifié par infrarouge

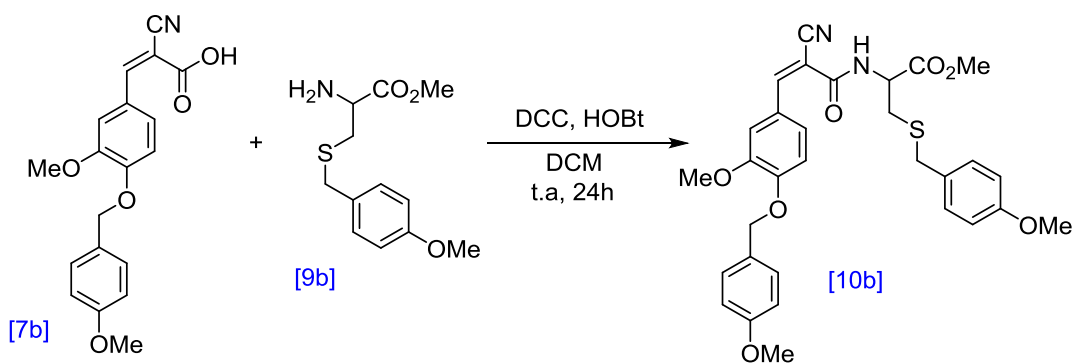


Schéma 28: Couplage d'un dérivé de l'acide acrylique avec une dérivée de la cystéine (2^{ème} approche)

Mécanisme : (Schéma 27)

7.2.1- Hydrolyse de méthyl-*N*-(2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxy benzyl) oxy) phényl) acryloyl-*S*-(4-méthoxy benzyl) cystéine

Dans cette stratégie, on a utilisé le même protocole d'hydrolyse précédent, le spectre infrarouge du brut ne permet pas de se prononcer sur l'identité du produit obtenu. Il est nécessaire de trouver un solvant ou mélange de solvants pour procéder à une recristallisation du

produit afin d'obtenir un produit pur à soumettre à une analyse par infrarouge. Malheureusement, le temps ne nous permet pas de poursuivre cette opération pour arriver à une cible comprenant un dipeptide. Cela sera possible dans un avenir plus ou moins proche.

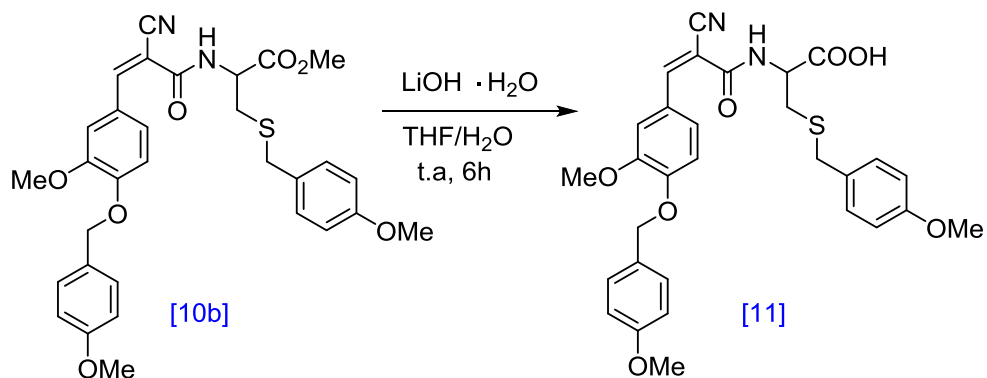


Schéma 29: Hydrolyse de l'ester de **10b**

Mécanisme : (**Schéma 20**)

Conclusion
Et
Perspectives

De nombreux dérivés de l'acide cinnamique sont des antioxydants bien connus et plusieurs d'entre eux ont démontré leurs bienfaits sur la santé humaine en raison de leurs puissantes propriétés anti-radicalaires. C'est le cas du 2-cyano-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl) acrylate de méthyle, nommé aussi acide alpha cyano-4-hydroxy-3-méthoxycinnamique. Par conséquent, nous avons tenté à synthétiser un hybride peptido-phénolique qui dérive de ce produit.

Par conséquent, notre travail porte sur la synthèse organique qui vise l'association de propriétés des fragments dans un hybride, avec l'espoir de les amplifier. Cet aspect est à développer dans le prolongement du travail.

Nous avons commencé par la partie bibliographie qui porte sur l'hypertension et sa relation avec le stress oxydatif. Nous donnons également un bref aperçu sur l'activité thérapeutique de quelques peptides.

La deuxième partie décrit les étapes de la synthèse de l'hybride. Nous avons réalisé cette synthèse par deux méthodes : la première utilise le bromure d'isopropyle comme agent alkylant pour obtenir le produit désiré. La 2^e méthode recourt à un autre groupement protecteur, le 1-(chlorométhyl)-4-méthoxybenzène dans l'espoir d'obtenir des dérivés solides, plus faciles à purifier que les liquides. Malheureusement, nous ne pouvons pas être sûrs de l'identité du produit obtenu. En effet, la cristallisation est trop lente si bien que nous avons besoin de plus de temps pour trouver un solvant optimal de recristallisation.

Partie

Expérimentale

Appareils utilisés

▪ Infra-rouge

Les spectres dans l'infrarouge ont été obtenus à l'aide d'un appareil Agilent Technologies Carry 600 séries FTIR spectrometer au Laboratoire de recherche des macromolécules que nous tenons à remercier pour leur aide. Pour certains spectres, il y a présence d'une bande de solvant (THF) dans la région de $2340\text{-}2400\text{ cm}^{-1}$ à cause du nettoyage de l'appareil.

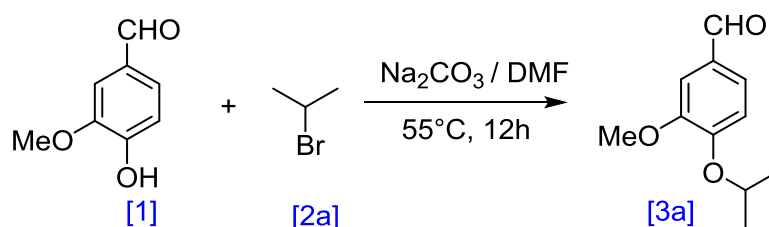
▪ Température de fusion :

Les points de fusion ont été déterminés sur un banc Kofler Wagner & Munz de type WME au laboratoire de chimie organique-Faculté des Sciences.

Synthèses et résultats

1. Protection des phénols

▪ 1^e approche



Mode opératoire

Dans un ballon bicol de 250mL couvert avec de laine de verre, on introduit la vanilline (5g ; 32,8 mmol) dissoute dans 50mL de DMF, puis le carbonate de sodium (15.6g ; 147,9mmol), suivie par le bromure d'isopropyle (12,3mL ; 131.2mmol) goutte à goutte sous agitation magnétique pendant 12h à 55°C .

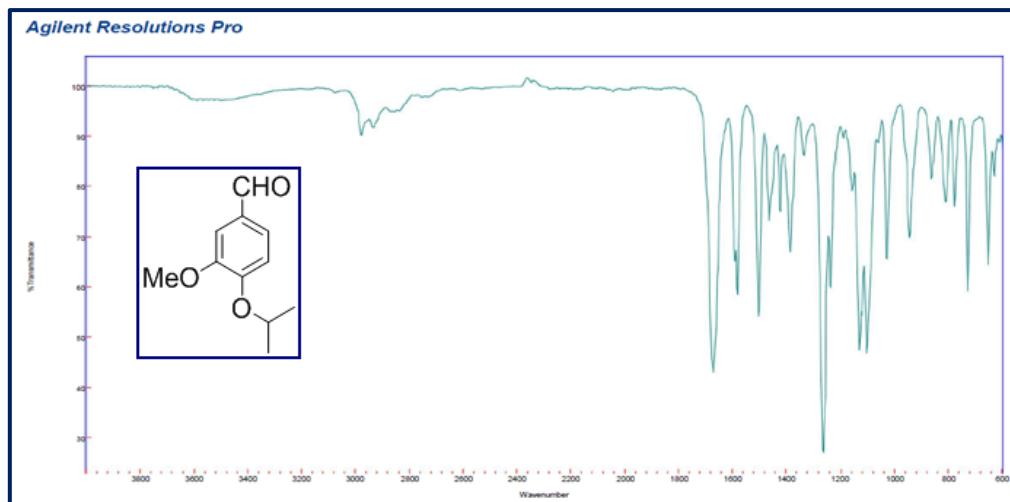
A la fin de la réaction, on ajoute 80mL d'eau distillée. Ensuite, le mélange est extrait avec le dichlorométhane (DCM) (3x20 mL) puis lavé successivement avec une solution HCl à 10%, une solution saturée de NaCl et de l'eau distillée. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de calcium, filtrée et le solvant évaporé à l'évaporateur rotatif pour obtenir un liquide de couleur rose.

Propriétés du produit obtenu

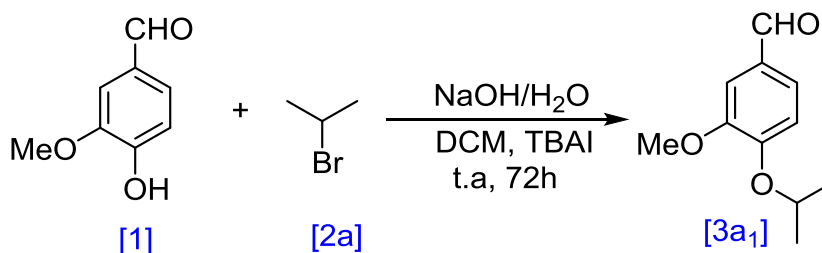
Produit	Masse molaire (g/mol)	Aspect	Couleur	Rendement (%)
4-isopropoxy-3-méthoxy benzaldéhyde	194,14	Liquide	Rose	36

Analyse infrarouge :

IR (cm^{-1}): 2720 cm^{-1} (C-H aldéhyde); 1671,8 cm^{-1} (C=O); 1504,06-1423,6 cm^{-1} (C=C aromatique); 1263,4 cm^{-1} (C-O éther).



▪ 2^e approche



Mode opératoire

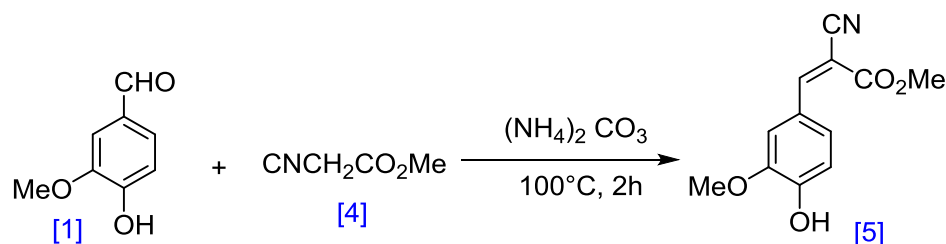
Dans un bicol équipé d'une agitation magnétique, on introduit l'hydroxyde de sodium (NaOH) (2g; 49,2 mmol) dans 80 mL d'eau puis on dissout la vanilline (5g; 32,8 mmol) dans la solution. Ensuite, on ajoute 80 mL de DCM, le bromure d'isopropyle (7,7mL; 82 mmol) et le TBAI (1,2g; 3,28 mmol). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 72h.

Le mélange est extrait avec le DCM (2x20 mL), et le solvant éliminé par évaporation. Le résidu résultant est mélangé avec de l'eau et le mélange extrait avec l'hexane (2x20 mL). L'extrait organique est lavé avec une solution de NaOH 2M et une solution saturée de NaCl. Après séchage sur CaSO_4 , le solvant est évaporé et le résidu cristallisé avec l'éther de pétrole ; on obtient des cristaux de couleur rose.

Propriétés du produit obtenu

Produit	Masse molaire (g/mol)	Aspect	Couleur	T _f (°C)	Rendement (%)
4-isopropoxy-3-méthoxy benzaldéhyde	194,15	Cristaux	Rose	96	7

2. Condensation de Knoevenagel



Mode opératoire

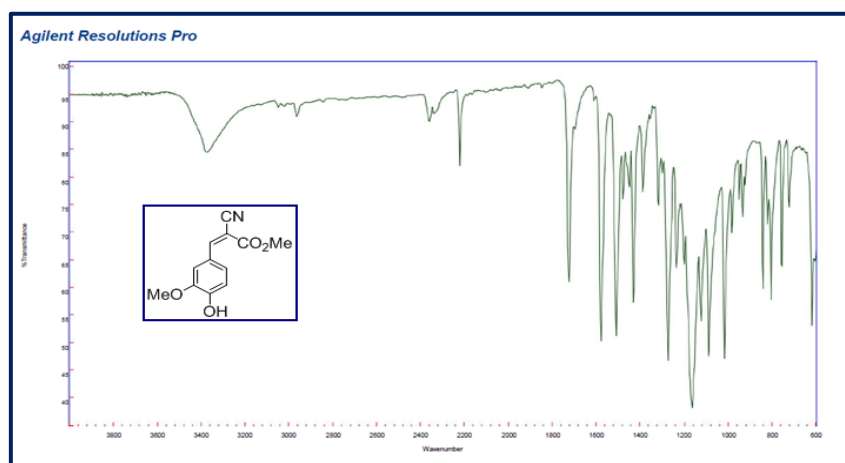
Dans un bécher de 250mL on introduit la vanilline (10g ; 65,72mmol) puis le carbonate d'ammonium (12,6g ; 131,44mmol), suivi par le cyanoacétate de méthyle (5,8mL ; 65,72 mmol) ; on agite le tout à 100°C. Quand le mélange se liquéfie, on maintient la réaction durant 2h. À la fin de la réaction, on ajoute de l'eau et une solution de HCl 5%. Le mélange est par la suite extrait avec le DCM (3x20 mL). Les phases organiques réunies sont alors lavées avec une solution saturée de NaCl et le solvant est évaporé pour obtenir un solide jaune. Le solide est ensuite recristallisé dans un mélange eau-éthanol (4:1)

Propriétés du produit obtenu

Produit	Masse molaire (g/mol)	Aspect	Couleur	T _f (°C)	Rendement (%)
2-cyano-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl) acrylate de méthyle	233,07	Poudre	jaune	160	61

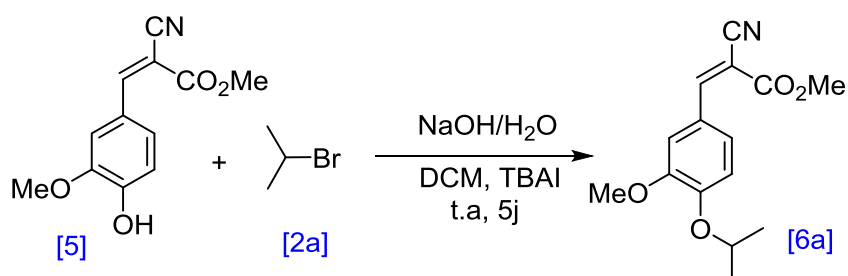
Analyse infrarouge

IR (cm⁻¹) : 3372,9 cm⁻¹ (OH phénolique) ; 2223,2cm⁻¹ (CN nitrile) ; 1725,5cm⁻¹ (C=O) ; 1508-1442 cm⁻¹ (C=C aromatique) ; 808 cm⁻¹ (=C-H alcène).



3. Protection du 2-cyano-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl) acrylate de méthyle

- 1^e approche



Mode opératoire

Dans un bicol équipé d'une agitation magnétique, on introduit une solution de NaOH (0,26g; 6,4 mmol) dans 22mL d'eau puis, on y dissout le méthyl-2-cyano-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl) acrylate (1g; 4,3mmol). Après, on ajoute 22 mL de DCM, le bromure d'isopropyle (1mL; 10 mmol) et le TBAI (0,16; 0,43 mmol). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 5 jours.

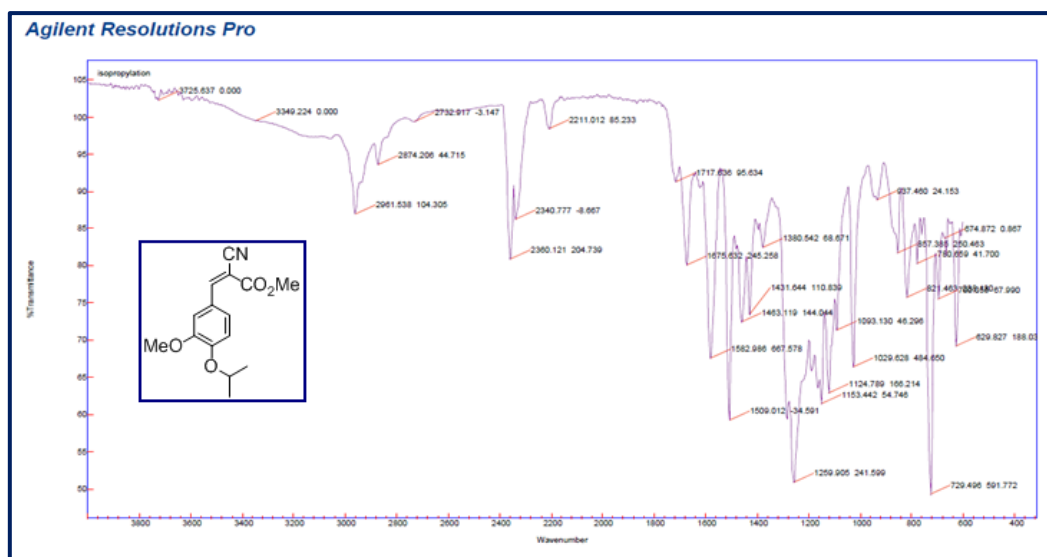
Le mélange est neutralisé avec du HCl à 10%, ensuite on extrait avec le DCM (2x20mL), puis la phase organique est lavée avec le thiosulfate de sodium (2x20 ml) et le solvant éliminé par évaporation après séchage et filtration. Enfin, on obtient un produit visqueux de couleur noire.

Propriétés du produit obtenu

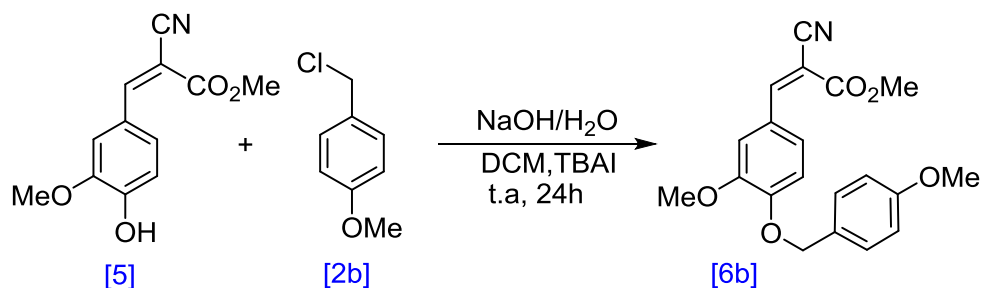
Produit	Masse molaire (g/mol)	Aspect	Couleur	Rendement (%)
2-cyano-3-(4-isopropoxy-3-méthoxyphényl) acrylate de méthyle	275,12	Visqueux	Noir	85

Analyse infrarouge

IR (cm^{-1}): 2211 cm^{-1} (CN nitrile); 1675,6 cm^{-1} (C=O); 1463,1-1431,6 cm^{-1} (C=C aromatique); 1029,6 cm^{-1} (C-O éther); 729,4 cm^{-1} (=C-H alcène).



- 2^e approche



Mode opératoire

Dans un bicol équipé d'une agitation magnétique, on introduit une solution de NaOH (0,52g; 12,9mmol) dans 44 mL d'eau, puis on y dissout le méthyl-2-cyano-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl) acrylate (2g; 8,6mmol). Après, on ajoute 45 mL de DCM, le 1-(chlorométhyl)-4-méthoxybenzène (2 mL; 21,5 mmol) et le TBAI (0,32g ; 0,86 mmol). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 24h.

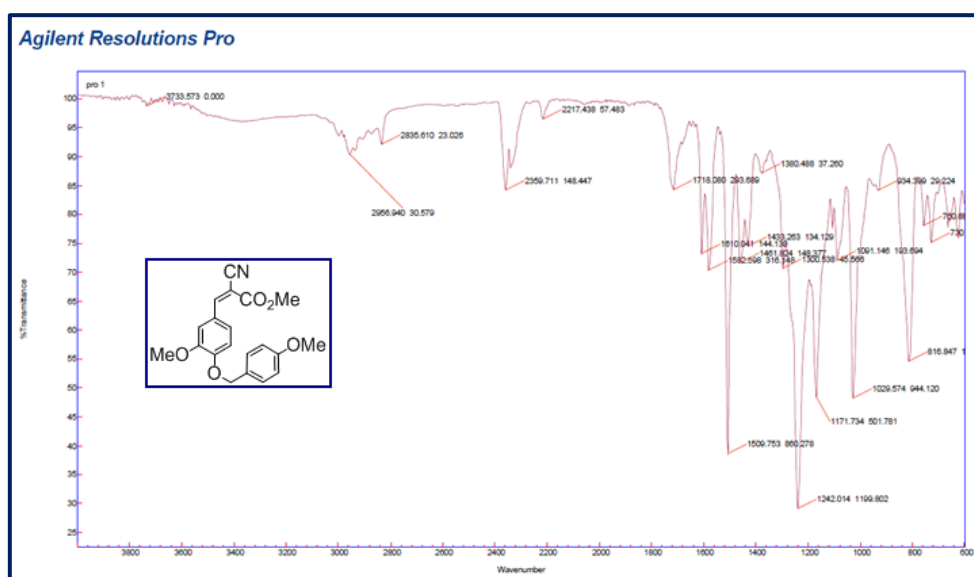
Le mélange est extrait avec le DCM (2x20mL), puis la phase organique est lavée avec une solution de NaOH à 5% (3x20 ml) et une solution aqueuse saturée de NaCl puis, le solvant est éliminé par évaporation. Après séchage et filtration, le résidu est purifié sous reflux dans l'hexane. Enfin, on obtient un produit visqueux de couleur rouge.

Propriétés du produit obtenu

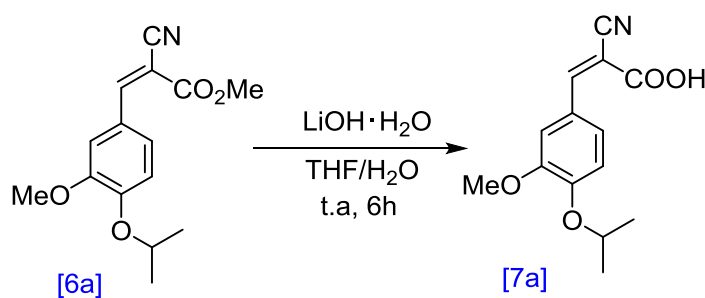
Produit	Masse molaire (g/mol)	Aspect	Couleur	Rendement (%)
2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxybenzyl)phénoxy) acrylate de méthyle	353,13	Visqueux	Rouge	98

Analyse infrarouge

IR (cm^{-1}): 2217,4 cm^{-1} (CN nitrile); 1718 cm^{-1} (C=O); 1461,82-1433,2 cm^{-1} (C=C aromatique); 1029,5 cm^{-1} (C-O éther).



4. Hydrolyse de l'ester du 2-cyano-3-(4-isopropoxy-3-méthoxyphényl) acrylate de méthyle



Mode opératoire

Dans un bicol de 100 mL on introduit le méthyl-2-cyano-3-(4-isopropoxy-3-méthoxyphényl) acrylate (1g ; 36,3 mmol), 30 mL de THF et 30 mL d'eau. Le mélange est refroidi à 0°C ; ensuite on ajoute le LiOH monohydrate (0,30g ; 72,6 mmol) et le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 6h.

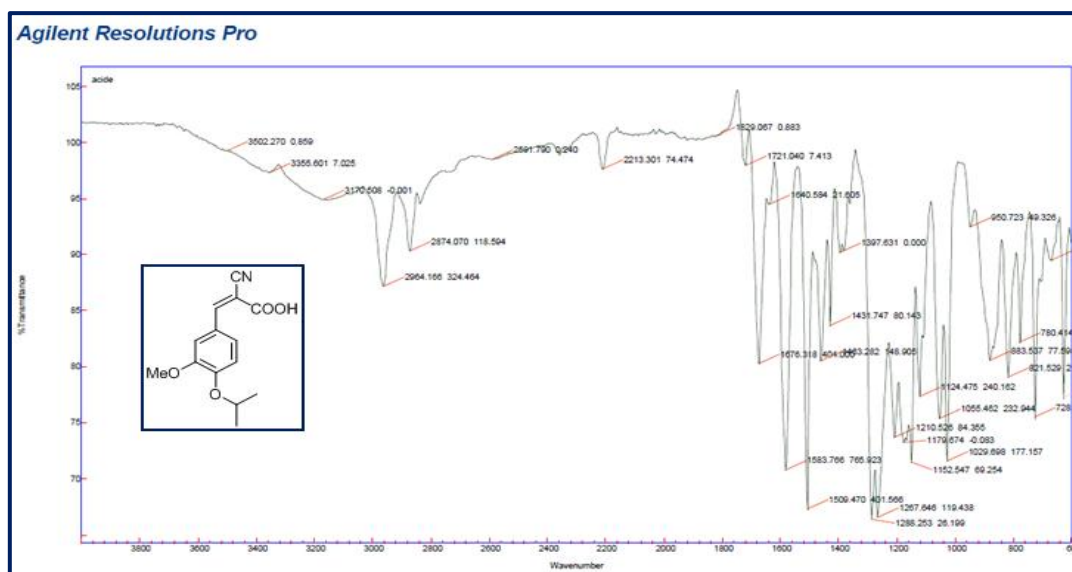
Après 6h, on acidifie avec une solution de HCl 1N ; ensuite le mélange est extrait avec le DCM (2x20 mL) ; la phase organique est séchée et le solvant évaporé. On obtient un produit visqueux de couleur marron.

Propriétés du produit obtenu

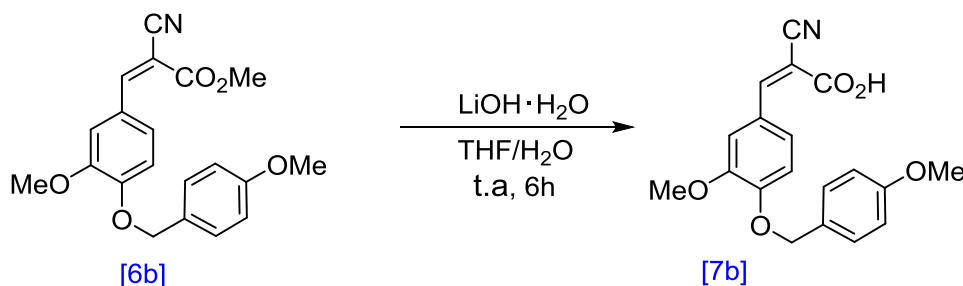
Produit	Masse molaire (g/mol)	Aspect	Couleur	Rendement (%)
Acide-2-cyano-3-(4-isopropoxy-3-méthoxyphényl) acrylique	261,10	Visqueux	marron	99

Analyse infrarouge

IR (cm⁻¹) : 3170,5 cm⁻¹ (O-H acide carboxylique) ; 2213,3 cm⁻¹ (CN nitrile) ; 1676,3 cm⁻¹ (C=O) ; 1509,4-1431,7 cm⁻¹ (C=C aromatique) ; 1029,6 cm⁻¹ (C-O éther) ; 728 cm⁻¹ (=C-H alcène).



Hydrolyse du 2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxybenzyl) phénoxy) acrylate de méthyle



Mode opératoire

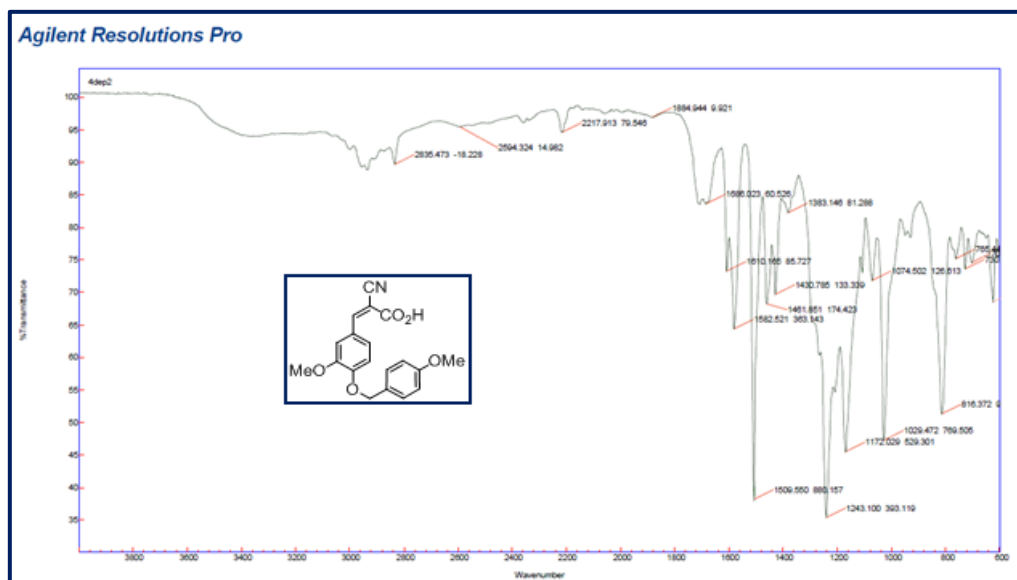
Dans un bicol de 100 mL on introduit le 2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxybenzyl)phénoxy) acrylate de méthyle (0,88g ; 24,9 mmol) avec 30 mL de THF et 30 mL d'eau ; le mélange est refroidi à 0°C et ensuite, on ajoute du LiOH monohydrate (0,21g ; 49,8 mmol). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 6h. Après 6h, on acidifie avec une solution de HCl 1N ; ensuite le mélange est extrait avec le DCM (2x20 mL), la phase organique séchée et le solvant évaporé. On obtient un produit visqueux de couleur miel.

Propriétés du produit obtenu

Produit	Masse molaire (g/mol)	Aspect	Couleur	Rendement (%)
Acide-2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxy benzyl) oxy) phényl) acrylique	339.11	Visqueux	Miel	92

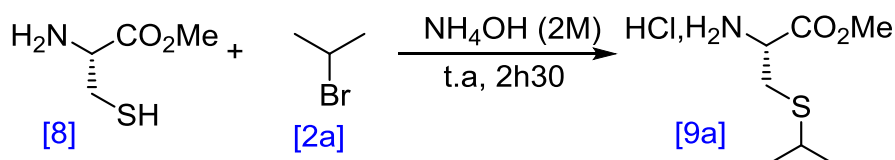
Analyse infrarouge

IR (cm⁻¹): 3400 cm⁻¹ (bande large O-H acide carboxylique) ; 2217,91 cm⁻¹ (CN nitrile) ; 1686,02 cm⁻¹ (C=O) ; 1461,85-1430,78cm⁻¹ (C=C aromatique); 1029,47 cm⁻¹ (C-O éther).



5. S-protection de la cystéine estérifiée

▪ 1^e approche



Mode opératoire

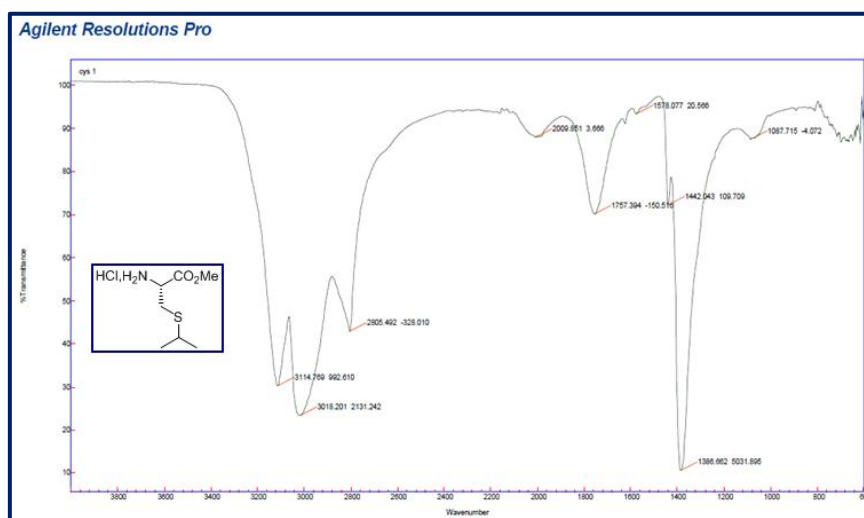
La méthyl *L*-cystéine (1,35 ; 10mmol) est dissoute dans 30 mL d'une solution d'ammoniaque 2M et pré-refroidie à 0°C, puis on ajoute le bromure d'isopropyle (1 mL ; 10mmol). Le mélange est agité à température ambiante pendant 2h30. Le produit est ensuite précipité par acidification avec l'acide chlorhydrique 38% et le mélange refroidi au réfrigérateur pendant une nuit. Le mélange ensuite filtré et le solide est lavé à l'eau froide, puis à l'éther et l'éthanol pour obtenir un solide de couleur blanche.

Propriétés du produit obtenu

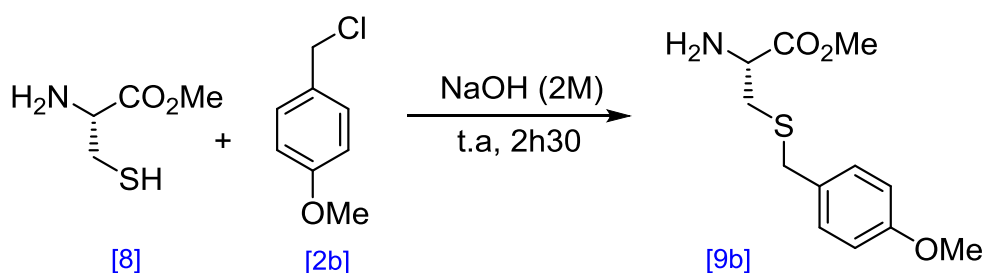
Produit	Masse molaire (g/mol)	Aspect	Couleur	Rendement (%)
Chlorhydrate de <i>S</i> -isopropyl- <i>L</i> -cystéinate de méthyle	213,58	Solide	Blanc	45

Analyse infrarouge

IR (cm⁻¹): 3018, 2-3114, 7 cm⁻¹ (NH₂); 1757, 3 cm⁻¹ (C=O)



2^e approche



Mode opératoire

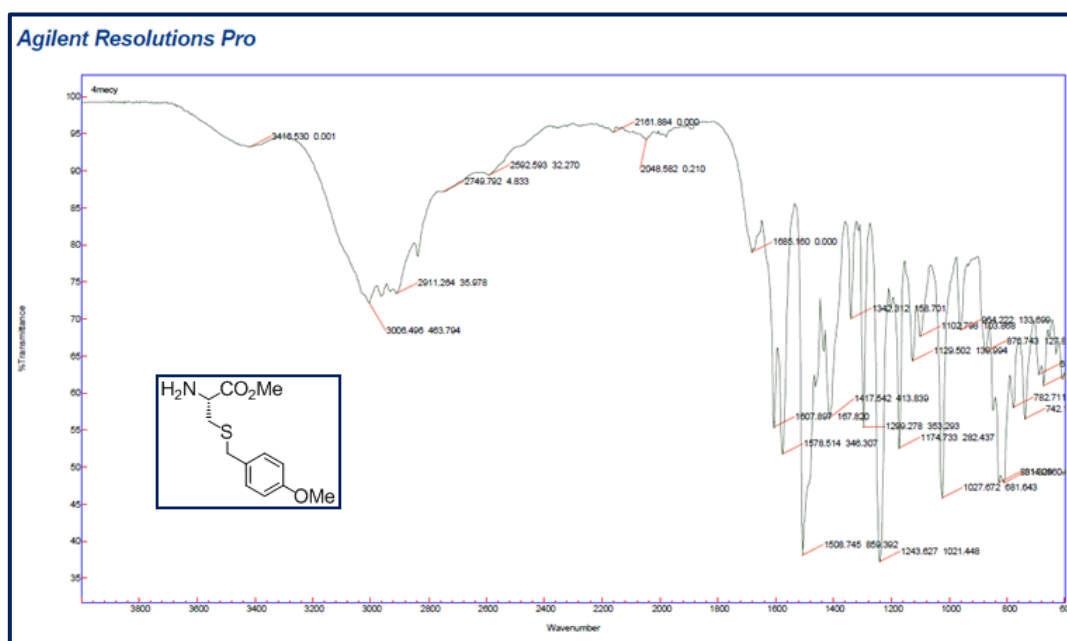
Le *L*-cystéinate de méthyle (1g ; 7,4mmol) est dissous dans 30 mL d'une solution de NaOH 2M et préalablement refroidie à 0°C. Ensuite, on ajoute le 1-(chlorométhyl)-4-méthoxybenzène (1 mL ; 7,4mmol). Le mélange est agité à température ambiante pendant 2h30. Le produit est ensuite précipité par acidification avec du HCl 38% et le mélange est refroidi au réfrigérateur pendant une nuit. Le mélange est filtré et le solide est lavé à l'eau froide et l'éther, on obtient un solide de couleur blanche.

Propriétés du produit obtenu

Produit	Masse molaire (g/mol)	Aspect	Couleur	T _f (°C)	Rendement (%)
<i>S</i> -(4-méthoxybenzyl)- <i>L</i> -cystéinate de méthyle	255,09	Solide	Blanc	240	68

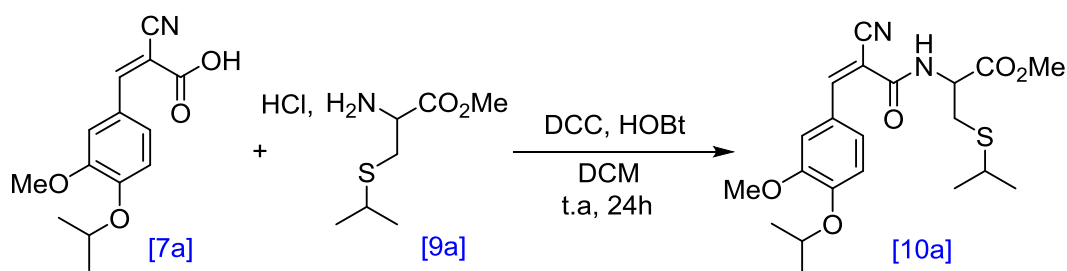
Analyse infrarouge

IR (cm⁻¹): 3416,5 cm⁻¹ (NH₂); 1685,1 cm⁻¹ (C=O)



6. Couplage peptidique

6.1. Couplage de l'acide-2-cyano-3-(4-isopropoxy-3-méthoxyphényl) acrylique avec le chlorhydrate de *S*-isopropyl-*L*-cystéinate de méthyle

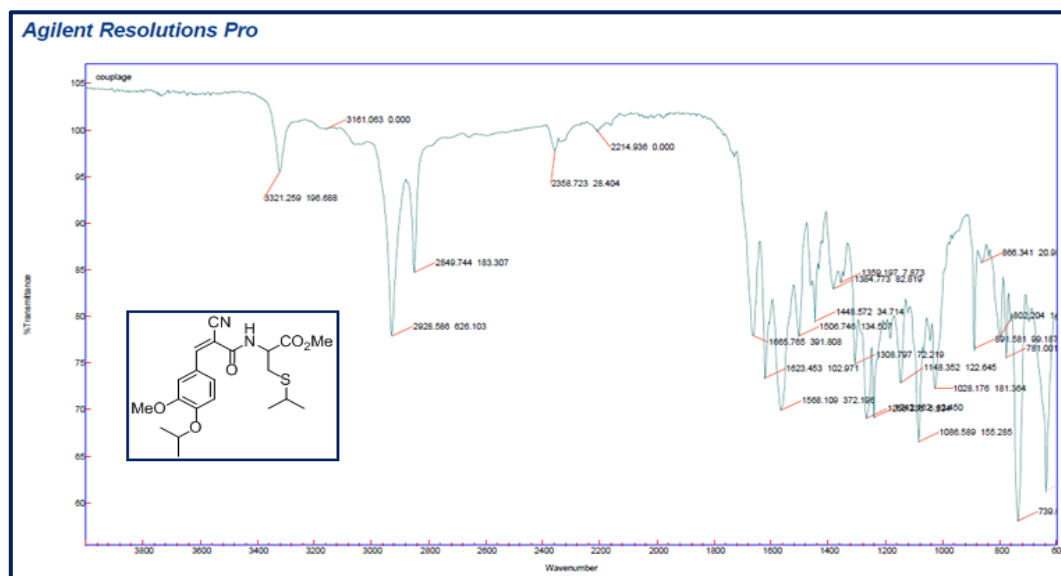


Mode opératoire

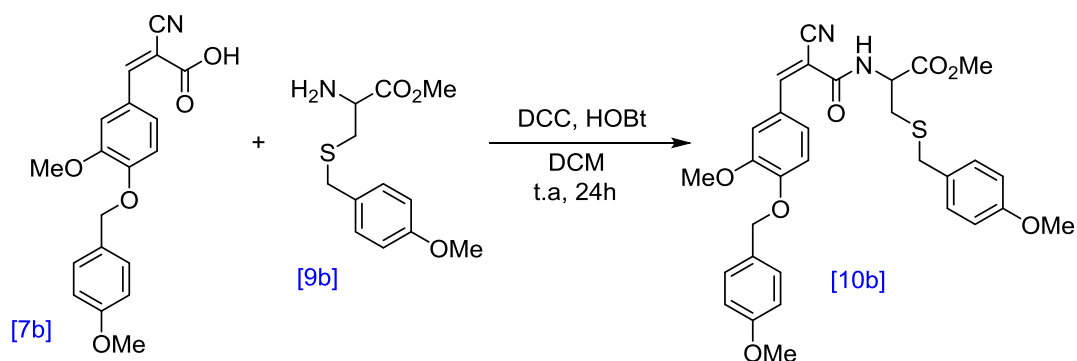
Dans un bicol, à 0°C, on introduit le chlorhydrate de *S*-isopropyl-*L*-cystéinate de méthyle (0,77g ; 3,6mmol) dans le DCM, suivi de l'acide-2-cyano-3-(4-isopropoxy-3-méthoxyphényl)acrylique (0,94g ; 3,6mmol). On ajoute goutte à goutte le *N,N*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (0,74g ; 3,6mmol) et l'hydroxybenzotriazole (HOBT) (0,49 ; 3,6mmol) dissous dans 20 mL de DCM et on laisse agiter pendant 24 h. On filtre le solide et on sèche la solution, puis le solvant est évaporé. On obtient un produit pâteux mais le spectre infrarouge montre la disparition du carbonyle de l'ester

Analyse infrarouge

IR (cm^{-1}) : 3321,2 cm^{-1} (-NH) ; 2214,9 cm^{-1} (CN nitrile) ; 1665,7 cm^{-1} (C=O Amide) ; 1448,5 cm^{-1} (C=C aromatique) ; 1086,5 cm^{-1} (C-O éther)



6.2. Couplage de l'acide-2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxybenzyl) phénoxy)acrylique avec le *S*-(4-méthoxybenzyl)-*L*-cystéinate de méthyle.



Mode opératoire

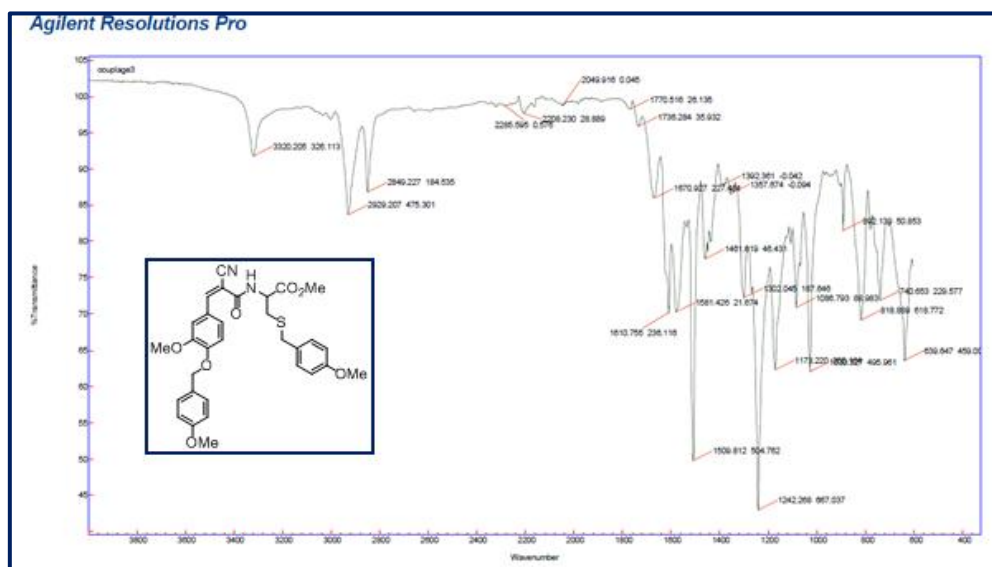
Dans un bicol refroidi à 0°C, on introduit le *S*-(4-méthoxybenzyl)-*L*-cystéinate de méthyle (0,6g ; 2,3mmol) dans le DCM, suivi de l'acide 2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxybenzyl)phénoxy) acrylique (0,78g ; 2,3mmol). On ajoute goutte à goutte le DCC (0,47g ; 32,3mmol) et HOBt (0,31 ; 2,3mmol) dissous dans 20 mL de DCM et on laisse agiter pendant 24 h. Puis on élimine le solide par filtration et on sèche la solution. Ensuite le solvant est évaporé. On obtient un produit visqueux de couleur jaune

Propriétés du produit obtenu

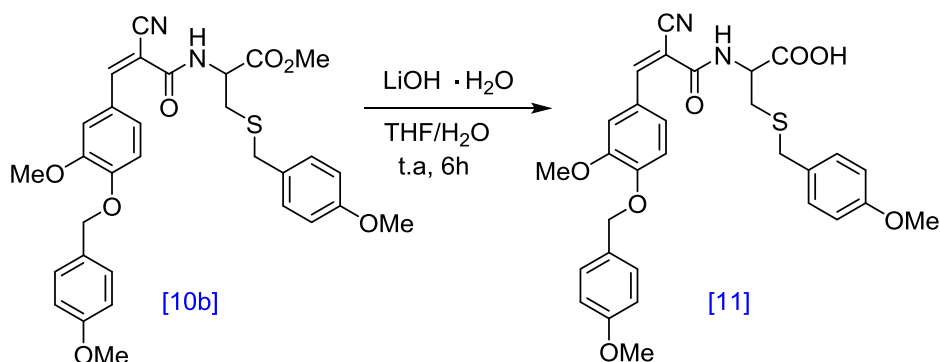
Produit	Masse molaire (g/mol)	Aspect	Couleur	Rendement (%)
<i>N</i> -(2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxy benzyl) phénoxy) acryloyl)- <i>S</i> -(4-méthoxybenzyl) cystéinate de méthyle	576,19	Visqueux	Jaune	85

Analyse infrarouge

IR (cm⁻¹) : 1665,7 cm⁻¹ (C=O) ; 3320,2 cm⁻¹ (-NH) ; 2208,2 cm⁻¹ (CN nitrile) ; 1461,6cm⁻¹ (C=C aromatique); 1086,5 cm⁻¹ (C-O éther)



6.2.1. Hydrolyse du *N*-(2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxybenzyl) phénoxy) acryloyl)-*S*-(4-méthoxy benzyl) cystéinate de méthyle.



Mode opératoire

Dans un bicol de 100 mL, on introduit le *N*-(2-cyano-3-(3-méthoxy-4-((4-méthoxybenzyl) phénoxy) acryloyl)-*S*-(4-méthoxy benzyl) cystéinate de méthyle (0,98g ; 1,7 mmol) avec 30 mL de THF et 30 mL d'eau. Le mélange est refroidi à 0°C ; ensuite on ajoute le LiOH monohydrate (0,14g ; 3,4 mmol). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 6h. Au bout de ce temps, on acidifie avec une solution de HCl 1N et le mélange est extrait avec le DCM (2x20 mL). La phase organique est séchée et le solvant évaporé. Tout indique que la réaction n'a pas marché. On aurait eu besoin de plus de temps pour vérifier tous les paramètres et aboutir à la cible désirée.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

- 1- S. Oparil, M. Amin Zaman, D. A. Calhoun, Pathogenesis of hypertension, *Ann. Intern. Med.* **2003**, *139*, 761-776
- 2- O. A. Carretero, S. Oparil, Essential hypertension. Part I: definition and etiology, *Circulation.* **2000**, 329-335
- 3- S. Bhagani, V. K. Lobo, Hypertension, *Medicine.* **2018**, 1-7
- 4- B. Miralles, L. Amigo, I. Recio, Critical review and perspectives on food-derived antihypertensive peptides, *J. Agric, Food Chem.* **2018**, *66*, 9384-9390
- 5- S. Diani, A new model for chronic diseases, *Medical Hypotheses.* **2018**, *113*, 30–39
- 6- L. Perrine, C. Lecoffre, J. Blacher, V. Olié, L'hypertension artérielle en France : prévalence, traitement et contrôle en 2015 et évolutions depuis 2006, **2018**, *10*, 169-186
- 7- Q. N. Dinh, G. R. Drummond, C. G. Sobey, S. Chrissobolis, Roles of inflammation, oxidative stress and vascular dysfunction in hypertension, **2014**, 2-11
- 8- M. Oufkir, « Le logiciel Hy-Result® : la e-santé appliquée à l'éducation thérapeutique du patient hypertendu ». Thèse pour le diplôme d'Etat de docteur en médecine Université Paris Descartes-Faculté de Médecine, **2017**
- 9- M. Gardès-Albert, D. Bonnefont-Rousselot, Z. Abedinzadeh, D. Jore, Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?, *l'actualité chimique.* **2003**, 91-96
- 10- S. Bhattacharya, K. K. Mueen, S. Chakraborty, Free radicals and cardiovascular diseases: an update, *Free Radicals and Antioxidants.* **2011**, *1*, 17-22
- 11- J. Cillard, P. Cillard, Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations, *OCL.* **2006**, *13*, 24-29
- 12- K. L. H. Carpenter, S. E. Taylor, J. A. Ballantine, B. Fussell, B. Halliwell, M. J. Mitchinson, Lipids and oxidised lipids in human atheroma and normal aorta, **1992**, 121-130
- 13- L. Benov, A. F. Beema, Superoxide-dependence of the short chain sugars-induced mutagenesis, *Free Radical Biology & Medicine.* **2003**, *34*, 429–433
- 14- G. Kisokanth, IMPS. Ilankoon, K. Arulanandem, CSE. Goonewardena, KT. Sundaresan, J. Joseph, Assessment of knowledge on the disease, its complications and management strategies among hypertensive patients attending medical clinics at Teaching Hospital, Batticaloa, Sri Lanka, *Journal of the Postgraduate Institute of Medicine.* **2016**, *3*, 1-11
- 15- F. J. He Feng, G. A. MacGregor, Invited review: Salt and sugar: their effects on blood pressure, *Pflugers Arch – Eur. J. Physiol.* **2014**, 577-586
- 16- M. Pruijm, G. Wuerzer, V. Forni, M. Bochud, A. Pechère-Bertschi, M. Burnier, Alimentation et hypertension artérielle : au-delà du sel de table, *Rev Med Suisse.* **2010**, *6*, 1715-1720
- 17- S. Zisimopoulou, Hypertension artérielle, *Service de médecine de premier recours DM CPRU – HUG.* **2017**, 1-16
- 18- R. E. Jackson, M. C. Bellamy, Antihypertensive drugs, *BJA Education.* **2015**, *15*, 280-285
- 19- Ph. Even, B. Debré, Guide des 4000 médicaments utiles, inutiles ou dangereux, **2017**

- 20- F. Guzmán, S. Barberis, A. Illanes, Peptide synthesis: chemical or enzymatic, *Electr. J. Biotechnol.* **2007**, *10*, 280-314
- 21- M. Bodanszky, Peptide chemistry a practical textbook, **1988**, 3-16
- 22- Yadav, R. Kumari, As. Yadav, J. P. Mishra, S. Srivatva, S. Prabha, Antioxidants and its functions in human body - A Review, *Res. Environ. Life Sci.* **2016**, *9*, 1328-1331
- 23- Boldyrev, S. L. Stvolinsky, T. N. Fedorova, Z. A. Suslina, Carnosine as a natural antioxidant and geroprotector: from molecular mechanisms to clinical trials, *Rejuvenation Res.* **2010**, *13*, 156-158
- 24- T. B. Zou, T. P. He, H. B. Li, H. W. Tang, E. Q. Xia, The Structure-activity relationship of the antioxidant peptides from natural proteins, *molecules.* **2016**, *21*, 1-14
- 25- T. Kawasaki, E. Seki, K. Osajima, M. Yoshida, K. Asada, T. Matsui, K. Osajima, Antihypertensive effect of valyl-tyrosine, a short chain peptide derived from sardine muscle hydrolyzate on mild hypertensive subjects, *J. Hum Hypertens.* **2000**, *14*, 519-23.
- 26- S. Y. Kwak, H. J. Lee, J. K. Yang, E. J. Lee, M. Seo, Y. S. Lee, Antioxidant activity of caffeoyl-prolyl-histidine amide and its effects on PDGF-induced proliferation of vascular smooth muscle cells, *Amino Acids.* **2014**, *46*, 2777–2785
- 27- H. J. Forman, H. Zhang, A. Rinna, Glutathione: Overview of its protective roles, measurement and biosynthesis, *Mol. Aspects Med.* **2009**, *30*,1 –12
- 28- Tai, T. Sawano, F. Yazama, H. Ito, Evaluation of antioxidant activity of vanillin by using multiple antioxidant assays, *Biochim. Biophys. Acta.* **2011**, *1810*, 170-177
- 29- S. Sueki, Y. Kuninobu, Copper-Catalyzed *N*- and *O*-alkylation of amines and phenols using alkylborane reagents, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 1544-1547
- 30- J. L. Holcombeg, T. Livinghouse, A new and specific method for the protection of phenols as the corresponding tert -butyl ethers, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 112-113
- 31- H. X. Liu, Y. Q. Dang, Y. F. Yuan, Z. F. Xu, S. X. Qiu, H. B. Tan, Diacyl Disulfide: A Reagent for Chemoselective Acylation of Phenols Enabled by 4-(*N,N*-Dimethylamino)pyridine Catalysis, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5584–5587
- 32- S. Senthamizh, Nanthini, Sukanyaa, The basic principle of phase-transfer catalysis, some mechanistic aspects and important applications, *Intern. J. Sci. Technol. Res.* **2012**, *1*, 61-63
- 33- S. V. Ryabukhin, A. S. Plaskon, D. M. Volochnyuk, S. E. Pipko, A. N. Shivanyuk, A. A. Tolmachev, Combinatorial Knoevenagel Reactions, *J. Comb. Chem.* **2007**, *9*, 1073–1078
- 34- L. Rand, J. V. Swisher, C. J. Cronin, Reactions catalyzed by potassium fluoride iii. the knoevenagel reaction, *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 3505-3507
- 35- J. A. Cabello, J. M. Campelo, A. Garcia, D. Luna, J. M. Marinas, Knoevenagel condensation in the heterogeneous phase using $AlPO_4-Al_2O_3$ as a new catalyst, *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 5195-519
- 36- L. Hamdan, Z. Arrar, Y. Al Muataz, L. Suleiman, C. Négrier, J. Kajima Mulengi, H. Boukerche, Alpha cyano-4-hydroxy-3-methoxycinnamic acid inhibits proliferation and induces apoptosis in human breast cancer cells, *Plosone.* **2013**, *8*, e72953
- 37- N. Khattab, A. El-Faham, Albericio, Peptide coupling reactions, *J. Mol. Pharm. Org. Process Res.* **2015**, *3*, 1-2