



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université ABOU BAKR BELKAÏD- TLEMCEM

Faculté des sciences

Département de chimie

Laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses



# Synthèse de quelques hybrides antioxydants-peptidomimétiques

Mémoire présenté par

**GHAFFOUR Hafsa**

En vue de l'obtention du diplôme de

**Master en chimie**

**Spécialité : chimie bio-organique et thérapeutique**

Soutenu le 09 Juin 2015 devant le jury composé de :

M <sup>elle</sup> . NEGADI. L	Présidente	UAB-Tlemcen
M <sup>r</sup> . B. MOUSTEFA KARA	Examineur	UAB-Tlemcen
M <sup>r</sup> . Z. ARRAR	Examineur	UAB-Tlemcen
M <sup>me</sup> . DRICI. W	Examinatrice	UAB-Tlemcen
M <sup>r</sup> . A. MEZRAI	Examineur invité	UAB-Tlemcen
M <sup>r</sup> . J. BENDIABDELLAH	Examineur	UAB-Tlemcen
M <sup>me</sup> . SEBAALEMRINI.W	Examinatrice	UAB-Tlemcen
M <sup>r</sup> . J. KAJIMA MULENGI	Directeur de mémoire	UAB-Tlemcen

# *Dédicaces*

*Au bon dieu,*

*A mes parents,*

*A mes sœurs Ammaria et Sarah,*

*A mon frère Zakaria Walid,*

*A mes nièces Inesse et Firdaous,*

*A toute ma famille,*

*A mes amis,*

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

# *Remerciements*

*Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses COSNA de l'université AboubekrBelkaid Tlemcen, sous la direction de Monsieur le Professeur Joseph KajimaMulengi.*

*Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur le Professeur Joseph KajimaMulengi, directeur de mon sujet, pour m'avoir permis de réaliser ce travail dans son laboratoire (COSNA). Je le remercie pour son soutien, sa confiance, ses conseils judicieux, pour la qualité de son encadrement, sa rigueur, sa méthodologie et sa disponibilité malgré ses obligations liées aux Laboratoire et l'université.*

*Je remercie la Direction Générale de la Recherche Scientifique et du Développement Technique (DGRSDT) pour leur financement intemporel.*

*Je tiens à exprimer ma gratitude à Mademoiselle leProfesseur NEGADI Latifa, pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury de ce mémoire. Je remercie également Mme Drici W, Mr B. Mostafa Kara, Mme SebaaLemrini.W, Mme SlimaniKeniche. A, Mr A.Mezrai, Mr Z. Arrar, Mr D. Bendiabdellah pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Je remercie encore le Laboratoire de Substances Naturelles BIOactives (LASNABIO) pour leur aide en spectroscopie infrarouge.*

*Un merci tout particulier à M<sup>lle</sup> Amouri Amina doctorante en Chimie pour son aide et sa disponibilité lors de mes différents séjours au sein du laboratoire. Je tiens aussi à remercier Mr MEZRAI Abdelmoumen pour son soutien, conseil et aide.*

*Je remercie vivement mes collègues de promotion de master : BOURSALI Nawel, ATMANI Nadia, BELKAID Wassila, MALTI Ibtissem, HADJ KADDOUR Douniazed, MAMI ImeneRihabe, LAZOUNI Imene, MERAD Nadjia, MEDJDOUB Kheira, CHIBI Nadjet, SARI Hadi, SI SAID Mohammed El Amine, TALEB BENDIAB Mohammed Abdelkarim.*

*Finalement, j'adresse mes vifs remerciement à tous ceux qui m'ont soutenus : mes parent, ma sœur Sarah, mon ami Mohammed... pour leurs encouragements depuis de nombreuse années et surtout ma mère de m'avoir accompagnée tout au long de mon chemin.*

*MERCI DU FOND DU CŒUR...*

# **SOMMAIRE**

Liste des abréviations

Liste des schémas

Liste des figures

Introduction générale .....	1
Objectif de travail .....	2

## ***Etude bibliographique***

I. Le rôle de l'oxydation .....	3
1) Physiologie de l'oxydation .....	3
2) Physiopathologie de l'oxydation .....	3
II. Les radicaux libres et le stress oxydatif .....	3
a. Définition et production des radicaux libres .....	4
b. Définition du stress oxydatif et son implication pathologiques .....	5
III. Les antioxydants .....	6
a) Mode d'action des antioxydants .....	6
b) Les systèmes antioxydants .....	7
i) Enzymatiques .....	7
ii) Non enzymatiques .....	7
c) La relation antioxydant-anti âge .....	12

## ***Travail effectué***

I. Méthode de protection du carboxyle des aminoacides .....	13
II. Méthode de protection du groupement hydroxyphénolique .....	15
III. Amination réductrice avec différents réducteurs .....	15
IV. Protection de la fonction thiol de la cystéine .....	16
V. Protections effectuées .....	17
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>20</b>
<b>Partie expérimentale .....</b>	<b>21</b>
<b>Références bibliographiques</b>	

## Liste des Abréviations

ROS	reactiveoxygenspecies
van	Vanilline
gly	glycine
cys	cystéine
AcOH	l'acide acétique
TFA	l'acide trifluoroacétique
HCl	l'acide chlorhydrique
ET <sub>3</sub> N	la triéthylamine
SOCl <sub>2</sub>	chlorure de thionyle
BnCl	chlorure de benzyle
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	carbonate de potassium
THF	tétrahydrofurane
DCM	dichlorométhane
DCE	dichloroéthane
Na	sosdium
KOH	l'hydroxyde de potassium
Me <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	diméthylsulfate
MeOH	méthanol
EtOH	éthanol
CH <sub>3</sub> COCl	chlorure d'acétyle
H <sub>2</sub>	hydrogénation

## Liste des schémas

- Schéma 1 : Benzylation du carboxyle d'un aminoacide.
- Schéma 2 : Déprotection du groupement benzyloxy d'un aminoacide.
- Schéma 3 : Protection du carboxyle d'un aminoacide par l'ester tertiobutylique.
- Schéma 4 : Déprotection de l'estérification tertiobutylique.
- Schéma 5 : Estérification d'un aminoacide.
- Schéma 6 : Déprotection de groupement ester méthylique d'un aminoacide.
- Schéma 7 : Méthoxylation de la vanilline.
- Schéma 8 : Allylation de la vanilline.
- Schéma 9 : Amination réductrice par le triacétoxyborohydrure de sodium.
- Schéma 10 : Amination réductrice par le tétraborohydrure de sodium.
- Schéma 11 : Amination réductrice par le cyanotriborohydrure de sodium.
- Schéma 12 : Benzylation de la L-cystéine.
- Schéma 13 : Estérification de la glycine.
- Schéma 14 : Mécanisme de l'estérification de la glycine.
- Schéma 15 : Allylation de la vanilline.
- Schéma 16 : Synthèse de Williamson.
- Schéma 17 : Mécanisme réactionnel d'une amination réductrice.
- Schéma 18 : Mécanisme de la réaction de benzylation de la L-cystéine.
- Schéma 19 : Mécanisme réactionnel de la synthèse d'une imine.

## Liste des figures

- Figure 01: Structure chimique du glutathion.
- Figure 02: Structure chimique de l'acide urique.
- Figure 03: Structure chimique de l' $\alpha$ -tocophérol.
- Figure 04: Structure chimique de l'acide ascorbique.
- Figure 05: Structure chimique de deux composés de la famille des flavonoïdes.
- Figure 06: Structure chimique de la  $\beta$ -carotène.
- Figure 07: Structure chimique de deux composés phénoliques.
- Figure 08: Structure chimique de l'oméga-3 et l'oméga-6.

# **Introduction générale**



## Introduction générale

---

La réaction d'auto-oxydation, à laquelle sont soumis divers produits gras (agroalimentaires, cosmétiques, pharmaceutiques, lubrifiants, etc.), nuis aux qualités de ces derniers. Sous l'effet de l'oxygène atmosphérique, ces produits s'oxydent en devenant notamment rances, visqueux, de couleur foncée et donc inadaptés à leurs usages habituels. La préservation des corps gras contre l'oxydation repose habituellement sur l'usage d'additifs antioxydants synthétiques ou naturels, lesquels limitent et/ou retardent la détérioration. <sup>(1,2)</sup>

De nos jours, il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Cela n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire. <sup>(3)</sup>

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les espèces réactives oxygénés (ReactiveOxygenSpecies ROS) à l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques des ROS. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres, intracellulaire par la chaîne respiratoire mitochondriale et le système des oxydases à fonction mixte, ou extracellulaire d'origine surtout phagocytaire. Contre cette production potentiellement toxique, l'organisme dispose de systèmes complexes protecteurs antioxydants tels que les superoxydesdismutases (SOD), la catalase (CAT), le système des enzymes du glutathion (GPx), la séquestration d'ions métalliques, des enzymes dégradant des protéines lésées par les radicaux libres, métabolisant les hydroperoxydes et réparant l'ADN et des vitamines E, C, P, et beta-carotène. On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule, l'une est enzymatique et l'autre est non enzymatique, cette dernière se décompose en deux catégories : endogène et exogène. <sup>(4)</sup>

Prenons l'exemple de glutathion qui est considéré comme un antioxydant endogène non enzymatique. C'est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants. <sup>(5)</sup>Le glutathion est naturellement présent dans les cellules de notre organisme où il joue un rôle important dans la défense des cellules en favorisant l'élimination des radicaux libres et des toxines et en stimulant le système immunitaire. Le glutathion contribue ainsi à protéger

## Introduction générale

---

efficacement l'organisme contre le développement de maladies et aide à préserver les cellules du vieillissement.

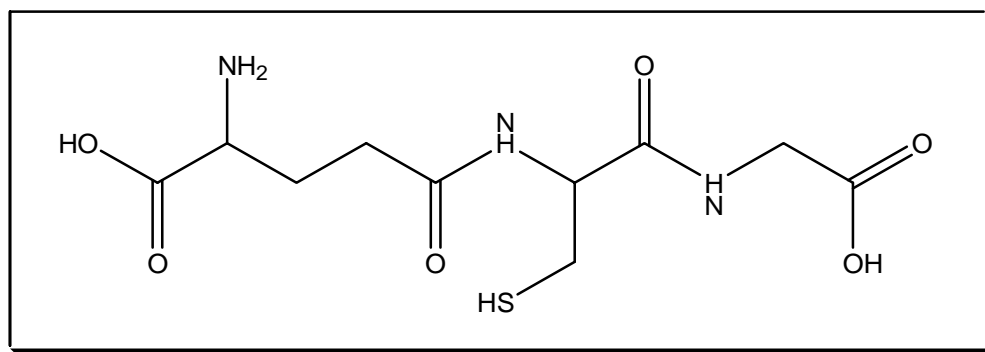


Figure 01: Structure chimique du glutathion

Un peptide est une molécule constituée des aminoacides reliés les uns aux autres par un lien peptidique (amide). Le glutathion est un tripeptide (constitué de trois acides aminés): cystéine, glycine et l'acide glutamique. Pour concevoir un nouveau médicament à la fois actif, sélectif et métaboliquement stable, les peptidomimétiques à conformation rigide ou limitée sont souvent recherchés comme cibles.

Un peptidomimétique est un composé qui imite et possède les caractéristiques d'un peptide. Il a été démontré que dans la plupart des cas, seuls quatre à huit chaînes latérales des acides aminés du peptide sont responsables de la reconnaissance du ligand par le récepteur.

### **Objectif de travail :**

Ce travail a comme objectifs de réunir dans un seul composé (composé D ou D') les propriétés bénéfiques de chaque fragment. Donc notre étude est subdivisée en six étapes :

- Estérification de la glycine.
- Alkylation de la vanilline.
- Amination réductrice.
- Benzoylation de la cystéine.
- Estérification de *S*-benzyl-*L*-cystéine.
- Réaction de condensation (synthèse de l'imine).

# ***Etude bibliographique***

### **1. Rôle de l'oxydation**

#### **2-1. Physiologie de l'oxydation**

En condition physiologique, l'oxygène moléculaire est un élément crucial pour la vie des organismes aérobiques, toutefois il peut former des espèces partiellement réduites et fortement toxiques appelées les radicaux libres ou encore les espèces réactives oxygénées (ROS) <sup>(3)</sup>. Aux doses faibles, les ROS sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans divers mécanismes physiologiques tel que la transduction du signal, l'entretien et le fonctionnement de l'organisme ainsi que dans le processus de la fécondation, de la maturation et du mouvement cellulaires <sup>(1)</sup>.

Ils interviennent aussi dans la production de médiateurs cellulaires, l'élimination des produits toxiques et la défense contre l'invasion des microbes et des virus, de même que contre les cellules tumorales <sup>(3)</sup>. Ces espèces réactives participent dans de nombreuses fonctions biologiques et physiologiques telles que la protection cardiaque, la régulation de la pression artérielle. <sup>(6)</sup>

#### **2.2. Physiopathologie de l'oxydation**

Les ROS deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme à des doses excessives. Cette surproduction des ROS au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies allant de l'artériosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, les ischémies et le processus du vieillissement. <sup>(7)</sup>

### **2. Radicaux libres et stress oxydatif :**

#### **3.1. Radicaux libres**

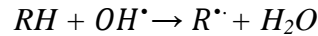
Les radicaux libres sont des espèces chimiques possédant un électron célibataire sur leur couche périphérique, ce qui les rend extrêmement réactifs <sup>(7)</sup>. Ils ont une durée de vie très courte (environ  $10^{-4}$  s). Leur réactivité réside dans le fait qu'ils recherchent un électron pour appairer leur électron célibataire, entraînant la propagation du phénomène par création d'un nouveau radical libre. Il se produit ainsi des réactions en chaîne qui peuvent aboutir à des dénaturations ou destructions au niveau cellulaire. <sup>(8)</sup>

## Etude bibliographique

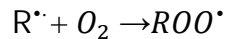
---

Les mécanismes d'oxydation des composés insaturés biologiques (acides gras, caroténoïdes, polyphénols...) sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire et présentent trois phases principales : <sup>(9)</sup>

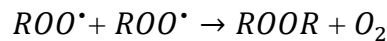
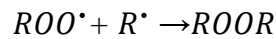
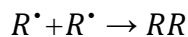
- ✓ Une phase d'initiation



- ✓ Une phase de propagation



- ✓ Une phase de terminaison

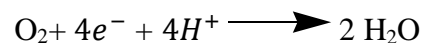


Les radicaux libres peuvent être produits par notre propre organisme au cours de réactions particulières, il s'agit de la voie endogène de production de radicaux libres. Les radicaux libres peuvent également avoir une origine exogène liée à notre environnement.

Ils sont susceptibles de dégrader par oxydation les molécules biologiques (les lipides, les protéines, les acides nucléiques, ou les hydrates de carbone), et seraient impliqués dans le vieillissement cellulaire et divers états pathologiques : inflammation, athérosclérose, cancer...etc. <sup>(3)</sup>

### 3.1.1 Production endogène

L'oxygène que l'on respire est nécessaire aux réactions chimiques nous permettant de produire notre énergie. C'est au cours de ce métabolisme normal de l'oxygène (réduction de l'oxygène moléculaire en eau) dans les mitochondries que la plupart des radicaux libres se forment. Le passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons:



Cependant, et jusqu'à 5 % des cas, on peut assister à une réduction incomplète de l'oxygène en eau. Cette réduction incomplète aboutit à la production de l'oxygène singulet ( $1 O_2$ ) mais surtout de l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ). La dismutation de ( $O_2^{\bullet-}$ ) va donner naissance au peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) puis indirectement au radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ). L'expression « Espèces Réactives de l'Oxygène » (ERO) désigne ces radicaux libres issus de l'oxygène, et

## Etude bibliographique

---

les molécules non radicalaires ( $H_2O_2$ , HOCl, oxygène singulet) pouvant engendrer des radicaux libres.

Il s'établit à l'état normal un équilibre physiologique entre la production d'oxydants et leur neutralisation par les antioxydants. Les lésions oxydatives résultent d'un déséquilibre oxydant-antioxydant. Les métabolites dérivés de l'oxygène agissent sur les lipides polyinsaturés des membranes cellulaires, entraînent des altérations génétiques, et oxydent les groupements sulfhydriles de protéines modifiant ainsi leurs fonctions.

### 3.1.2. Production exogène

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents extérieurs capables de donner naissance à des espèces oxygénées réactives<sup>(3)</sup> : le tabac, les radiations ionisantes, la pollution diverse rayonnement UV, produits chimiques & médicaments, ozone....etc.

Il a été montré que l'ingestion d'alcool pouvait être à l'origine de la production de radicaux libres. Ils sont produits au cours de l'oxydation de l'acétaldéhyde, principal métabolite de l'éthanol.

Enfin, certains médicaments anticancéreux comme les anthracyclines peuvent aussi générer des radicaux libres.

Tableau 1 : Principaux radicaux libres et leur structure chimique.<sup>(9)</sup>

Radicaux libre (nomenclature)	Structure chimique
Radical hydroxyle	$OH^\bullet$
Radical hydroperoxyde	$HOO^\bullet$
Radical peroxyde	$ROO^\bullet$
Radical alkoxy	$RO^\bullet$
Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$
Le peroxydinitrite	$ONOO^\bullet$
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$

## 3.2 .Stress oxydatif

### ➤ Définition

Le stress oxydatif est défini comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des ROS, suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue de ROS, soit à

une diminution de la capacité de défenses antioxydantes<sup>(10)</sup>. La pollution, le tabagisme, l'alcoolisme, la prise des contraceptifs, l'exposition prolongée au soleil ou à des radiations, la pratique du sport de haut niveau et l'inflammation chronique sont des sources de production des ROS. Une alimentation pauvre en fruits et légumes où se trouve la majeure partie des antioxydants exogènes nécessaires (vitamines C et E, caroténoïdes, polyphénols) favorise une baisse de la capacité antioxydante. Le stress oxydant peut être de courte durée ou limité grâce aux systèmes antioxydants, avec un retour rapide à un état redox physiologique.

Un déséquilibre redox prolongé a des conséquences en pathologie et dans le vieillissement des tissus.

### ➤ Implications pathologiques du stress oxydatif

En raison de leur réactivité élevée, les espèces réactives interagissent avec toute une série de substrats biologiques. Le dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène et de ses métabolites est à l'origine de phénomènes du stress oxydatif. Ce dispositif intervient de manière significative dans de nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé. Comme nous l'avons déjà souligné, le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines.<sup>(11)</sup>

## **4. Les antioxydants**

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation<sup>(12)</sup>. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive.<sup>(13)</sup>

### **4.1. Mode d'action des antioxydants**

Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent agir à deux niveaux: en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés ou en épurant les radicaux libres oxygénés. En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire<sup>(8)</sup>.

### 4.2. Les systèmes antioxydants

#### 4.2.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques

Les défenses antioxydantes de l'organisme peuvent se diviser en systèmes antioxydants enzymatiques, ce système est composé d'enzymes et de substances antioxydantes :

- La superoxyde dismutase (SOD):diminue la durée de vie de l'anion superoxyde  $O_2^{\cdot-}$ .
- La catalase : transforme le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  en simple molécule d'eau.
- La glutathion peroxydase (GPx) : détruit le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques.

#### 4.2.2. Les systèmes antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants sont des agents redox qui réagissent avec les oxydants et soit stoppent, soit ralentissent les processus d'oxydation <sup>(14)</sup>. Comme évoqué précédemment, ces antioxydants se divisent en deux principales catégories, les endogènes (molécules issues de la biosynthèse), et les exogènes (vitamines, oligo-éléments, ou antioxydants de synthèse).

##### 4.2.2.1. Les antioxydants endogènes

a)- Glutathion : Le glutathion est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants. <sup>(15)</sup>

b)- l'acide urique.

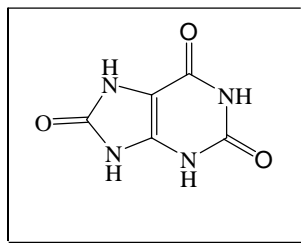


Figure 02:Structure chimique de l'acide urique

c)- les protéines de stockage des métaux de transition.

##### 4.2.2.2. Les antioxydants exogènes

La défense contre les radicaux libres nécessite un apport extérieur en composés que l'organisme est incapable de les fabriquer. Ces composés sont des antioxydants qui sont de nature variée.



### ❖ Les Vitamines

Les vitamines E ( $\alpha$ -tocophérol) :est le principal antioxydant de la famille des tocophérols. Ces derniers sont reconnus pour leur double action bénéfique. En effet ils ont tout d'abord intérêt d'être des vitamines (vitamine E) et ils ont également une forte activité antioxygène. <sup>(16)</sup>

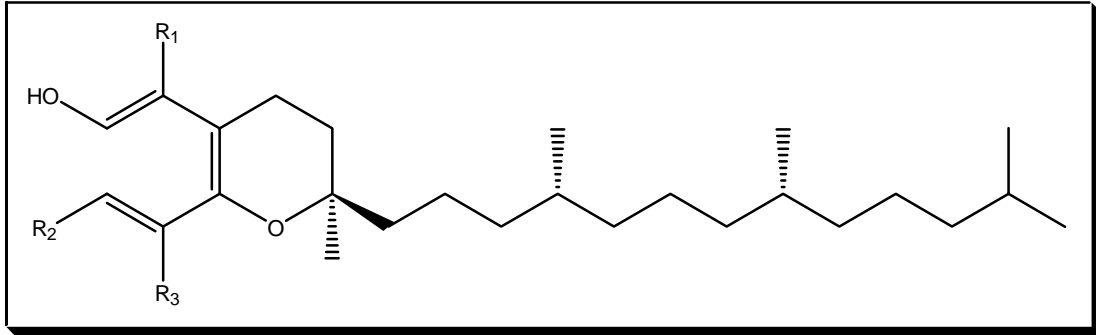


Figure 03: structure chimique de l' $\alpha$ -tocophérol

La vitamine C (acide ascorbique). On le trouve dans de nombreux fruits et légumes. L'acide ascorbique peut se comporter comme une substance pro-oxydante à forte concentration. Des antioxydants naturels comme le  $\beta$ -carotène et le lycopène de la tomate préviennent les lésions cellulaires. <sup>(17)</sup>

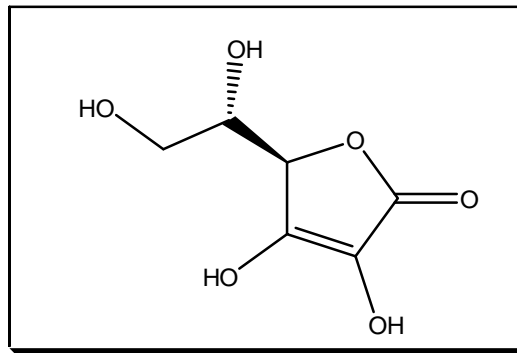


Figure 04: structure chimique de l'acide ascorbique

### ❖ Les Polyphénols

Les composés phénoliques:en effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures. Les composés phénoliques naturels les plus connus sont les flavonoïdes (catéchines, flavonols, antocyanidols, isoflavone), les caroténoïdes ( $\beta$ -carotène) et les tannins que l'on retrouve en grande quantité dans le vin. Le thé est également une source importante de composés phénoliques <sup>(8)</sup>.

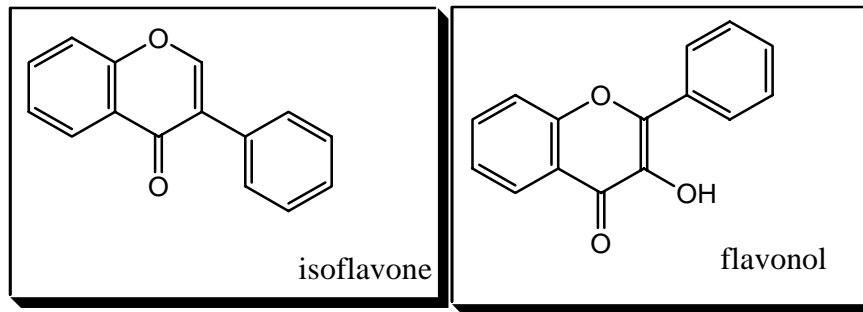


Figure 05: Structures chimiques de deux composés de la famille des flavonoïdes

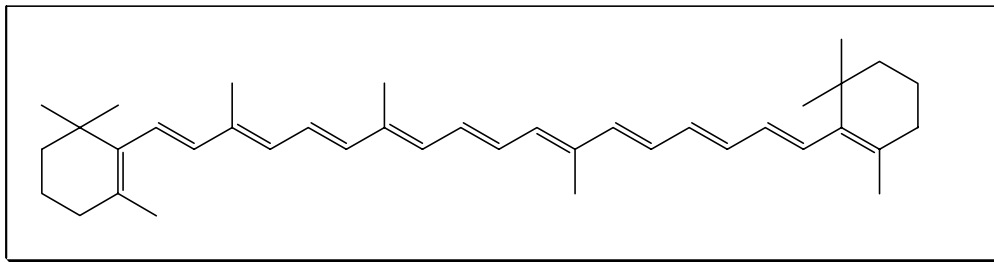


Figure 06: structure chimique de la  $\beta$ -carotène

Descomposés phénoliques d'origine pétrochimique comme le butylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole (BHA) ou encore les gallates, sont les plus rencontrés par rapport à leur faible coût pour retarder l'oxydation lipidique.<sup>(1,2)</sup>

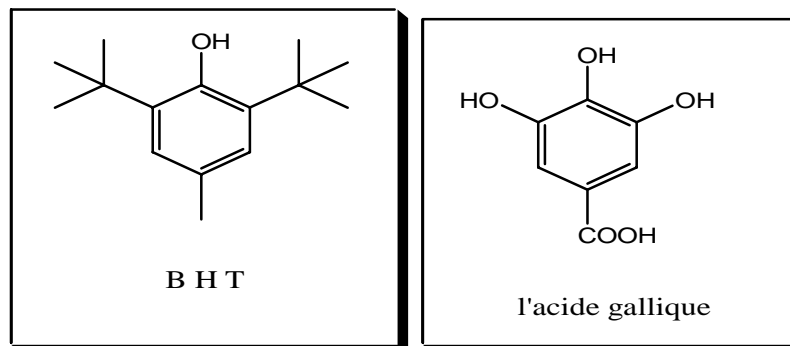


Figure 07; structures chimiques de deux composés phénoliques

Les oligoéléments comme le sélénium, le cuivre, le manganèse, ou encore le zinc ont une valeur hautement protectrice du fait de leur présence dans de nombreuses métallo-enzymes à action antiradicalaire.

❖ Les acides gras polyinsaturés(AGPI)<sup>(18)</sup>

Les acides gras appartiennent à la famille des lipides. Ces lipides contiennent une fraction principale dite saponifiable (phospholipides, triglycérides) et une fraction mineure insaponifiable (stérols, vitamines liposolubles, caroténoïdes). Les lipides sont caractérisés par leur insolubilité dans l'eau et la solubilité dans les solvants organiques.

## Etude bibliographique

---

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

Il existe deux familles d'acides gras polyinsaturés essentiels, nommés oméga-3 et oméga-6. Deux acides gras sont à l'origine de ces familles. L'acide  $\alpha$ -linoléique est le précurseur des oméga-3 et l'acide linoléique qui est le précurseur de la famille des oméga-6. Ces deux acides gras sont indispensables car ils ne sont pas synthétisables par l'organisme. Seule l'alimentation peut nous les fournir.

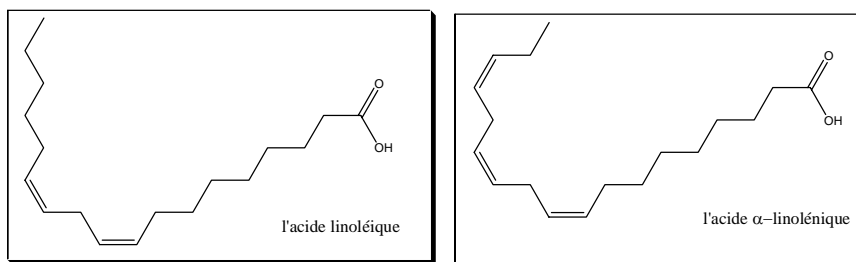


Figure 08: structure chimique de oméga-3 et de oméga-6

### Les AGPI : rôle et intérêt <sup>(18, 19, 20)</sup>

Les acides gras polyinsaturés participent à un grand nombre de fonctions biologiques:

- ✓ Source d'énergie.
  - ✓ Constituants fondamentaux des phospholipides des membranes cellulaires.
  - ✓ Régulation de l'expression de gènes impliqués dans leur propre transport et leur métabolisme.
- Les oméga-3 ont de plus des fonctions spécifiques dans le développement et la physiologie de la rétine, du cerveau et du système nerveux.

Tableau 2: Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées <sup>(3)</sup>.

Principaux nutriments Antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs, noix
β-carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés
Sélénium	Poisson, œufs viandes, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers

### Relation antioxydant-anti âge

Les cellules de notre peau (comme celles de notre corps) s'oxydent avec le temps, ce qui cause son vieillissement. L'oxydation produit des radicaux libres qui entraînent une réaction en chaîne auto-destructrice. Les antioxydants peuvent diminuer ou arrêter cette même réaction en chaîne en se réduisant avec les radicaux libres et en annulant leur action. Les radicaux-libres endommagent les fibres de collagène de la peau, ce qui crée des rides et ridules.

Les antioxydants sont probablement les meilleurs ingrédients pour la prévention du vieillissement. On en retrouve dans plusieurs éléments naturels : thé, petits fruits, tomates, certains agrumes, les raisins, etc.

Donc, si une crème contient des extraits de polyphénols de raisins, du thé vert, du lycopène de tomates, de la vitamine C ou autres antioxydants, c'est une bonne crème de prévention anti-âge!

***Travail effectué***

### Introduction :

Comme nous l'avons signalé précédemment, notre synthèse portant sur des hybrides antioxydants-peptidomimétiques a été réalisée en six étapes :

- ✓ Estérification de la glycine.
- ✓ Alkylation de la vanilline.
- ✓ Amination réductrice.
- ✓ Benzoylation du chlorhydrate de la L-cystéine.
- ✓ Estérification de S-benzyl-L-cystéine.
- ✓ Réaction de condensation.

### 1) Protection du carboxyle des aminoacides

Généralement, on protège les acides carboxyliques sous forme d'esters, mais il existe plusieurs types d'esters et les plus utilisés sont:

- L'ester benzylique: cette estérification est réalisée à l'aide d'un alcool benzylique.

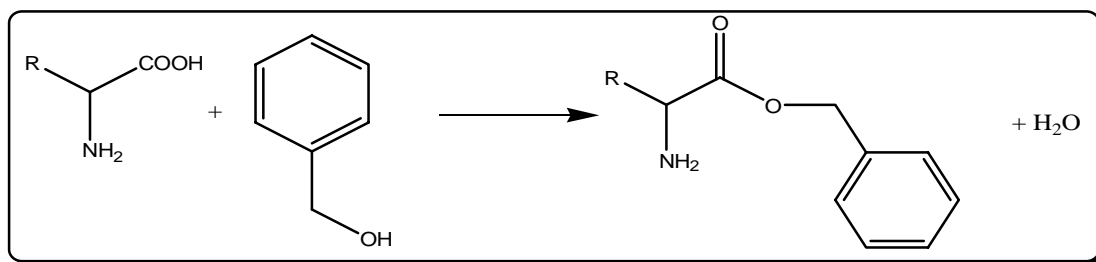


Schéma 1: benzoylation du carboxyle d'un aminoacide

Celui-ci est facilement clivé par hydrogénation catalytique pour obtenir l'acide aminoacide et le toluène. <sup>(21)</sup>

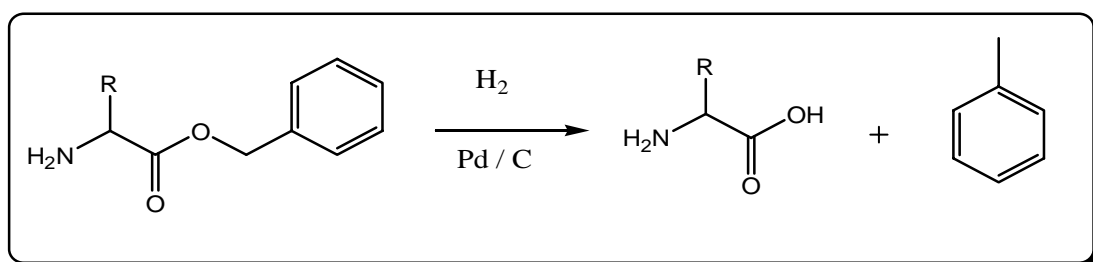


Schéma 2: Déprotection du groupement benzyloxy d'un aminoacide

- L'ester tertiobutylique:

Dans la chimie des aminoacides et des peptides, on utilise souvent l'ester tertiobutylique qui peut être facilement éliminé avec l'acide trifluoroacétique (TFA). <sup>(22,23)</sup>

## Travail effectué

Protection :

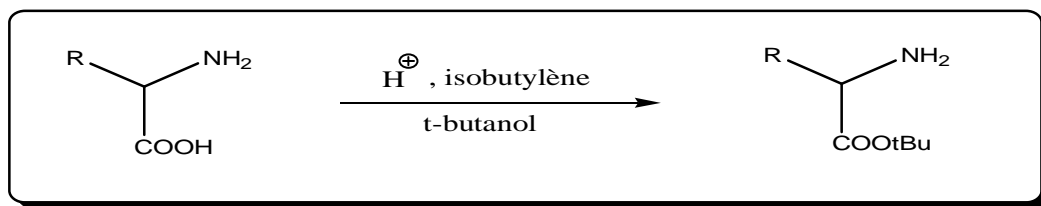


Schéma 3

Déprotection :

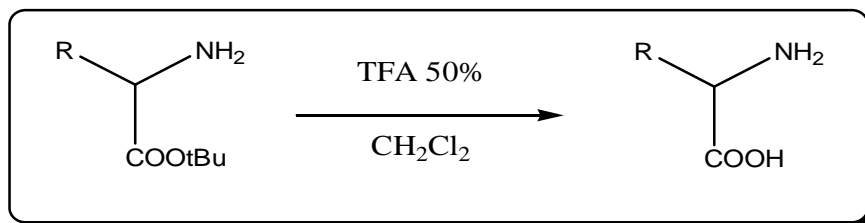


Schéma 4

• **Ester méthylique** : cette protection s'effectue en présence d'un chlorure d'acyle ou bien le chlorure de thionyle dans le méthanol, pour convertir la fonction acide en un ester méthylique.

Protection : <sup>(24)</sup>

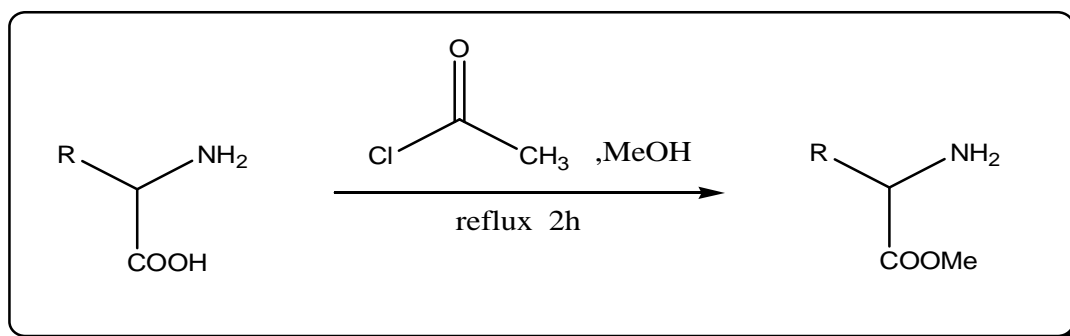


Schéma 5: estérification d'un acide aminé

Déprotection : <sup>(25)</sup>

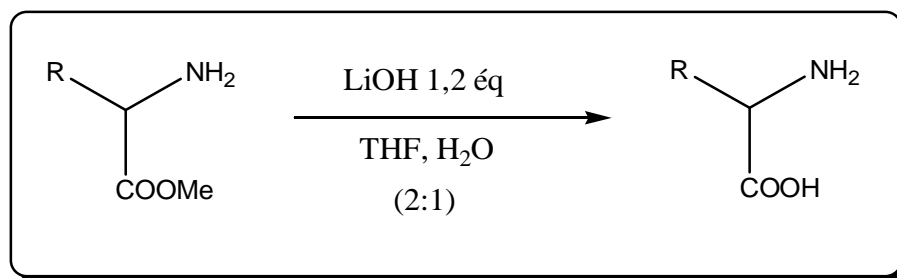


Schéma 6: Déprotection du groupement ester méthylique d'un acide aminé

## 2) Protection du groupement hydroxyphénolique

### ➤ Méthoxylation de la vanilline :

Ce procédé nécessite la protection du groupement hydroxyle de la vanilline par le diméthylsulfate afin de la convertir en groupe méthoxy.

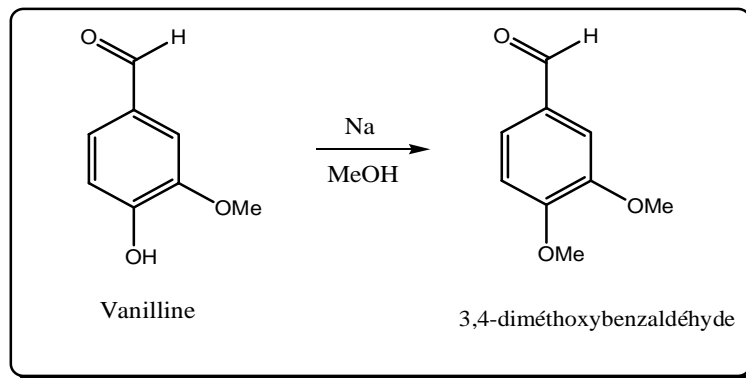


Schéma 7: Méthoxylation de la vanilline

### ➤ Allylation de la vanilline :

Elle est réalisée en utilisant le bromure d'allyle pour aboutir au dérivé allyloxy.

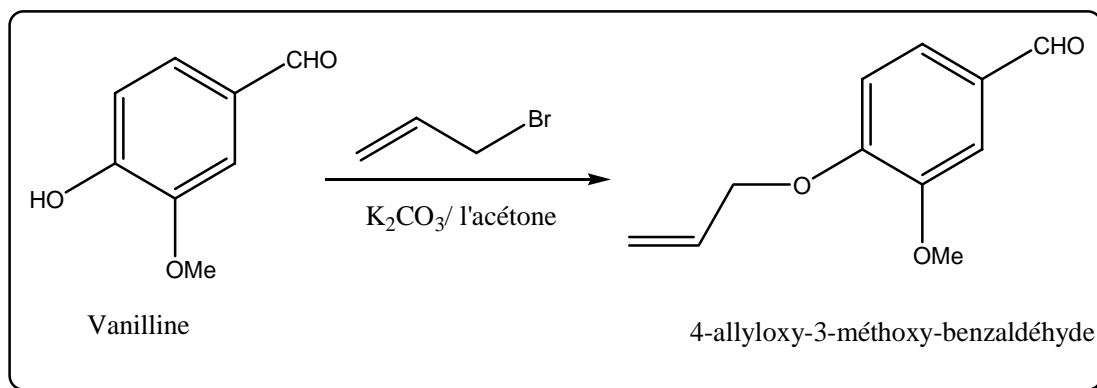


Schéma 8: Allylation de la vanilline

## 3) Amination réductrice

L'amination réductrice est une réaction entre un aldéhyde ou une cétone et une amine primaire ou secondaire. En présence d'un agent réducteur approprié, il se forme une imine intermédiaire qui est réduite in situ en amine alkylée. Par contre, une réaction par étape implique la préformation de l'imine qu'on isole, suivie d'une réduction dans une étape distincte.<sup>(26)</sup>



## Travail effectué

1<sup>e</sup> méthode : <sup>(26)</sup>

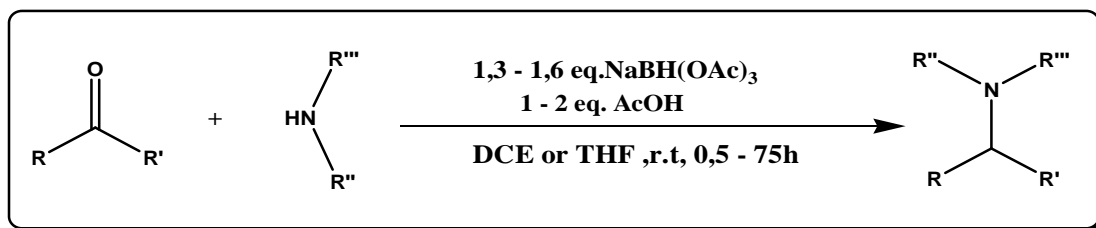


Schéma 9: Amination réductrice par le triacétoxyborohydrure de sodium

2<sup>e</sup> méthode : <sup>(26)</sup>

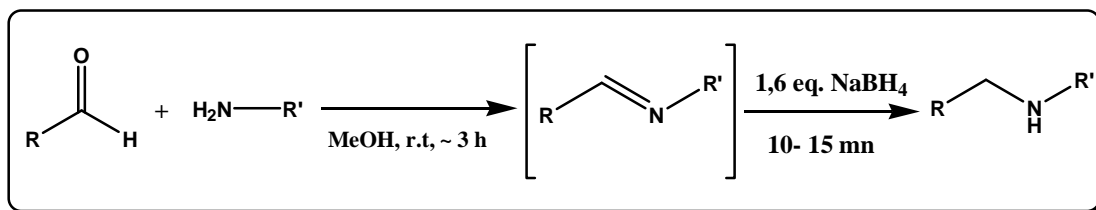


Schéma 10: Amination réductrice par tétrahydruoborate de sodium

3<sup>e</sup> méthode : <sup>(27)</sup>

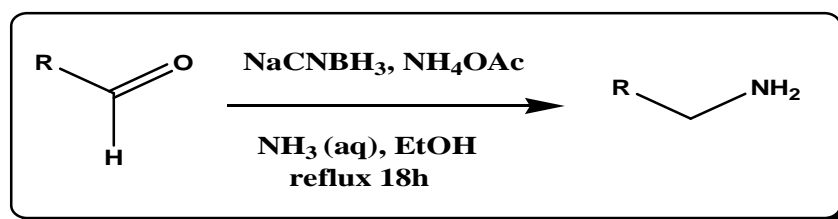


Schéma 11: Amination réductrice par le cyanoborohydrure de sodium

## 4) Protection de la fonction thiol du chlorhydrate de la L-Cystéine

❖ Benzylation de la cystéine :

Ce chemin explique la protection de la fonction thiol de la cystéine par le chlorure de benzyle. Cette méthode nécessite l'utilisation d'une solution aqueuse de NaOH, qui arrache le proton phénolique pour obtenir l'anion thiate susceptible d'attaquer le chlorure de benzyle.

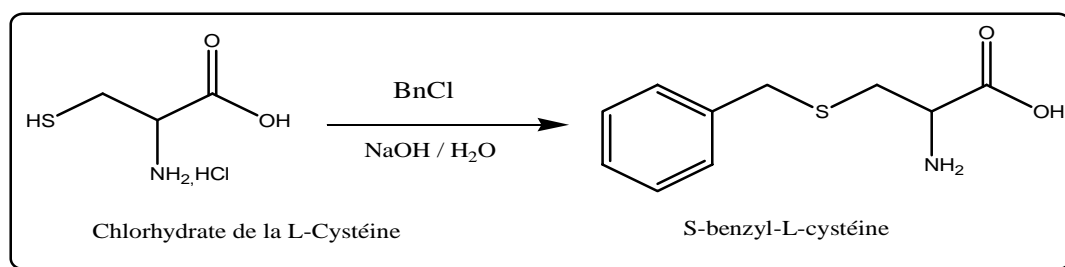


Schéma 12

### 5) Protections effectuées

#### ➤ Estérification de la glycine :

Cette réaction se fait dans le méthanol en présence de chlorure de thionyle comme agent activant. Elle se déroule sous reflux de 2h et conduit à un rendement de 99%.

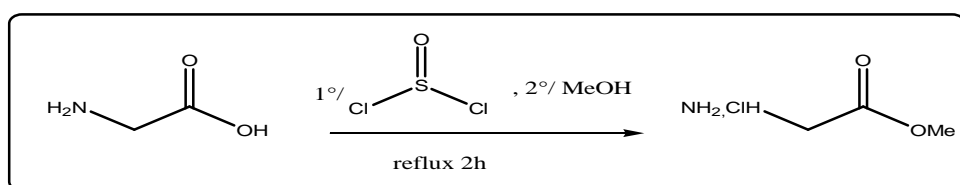
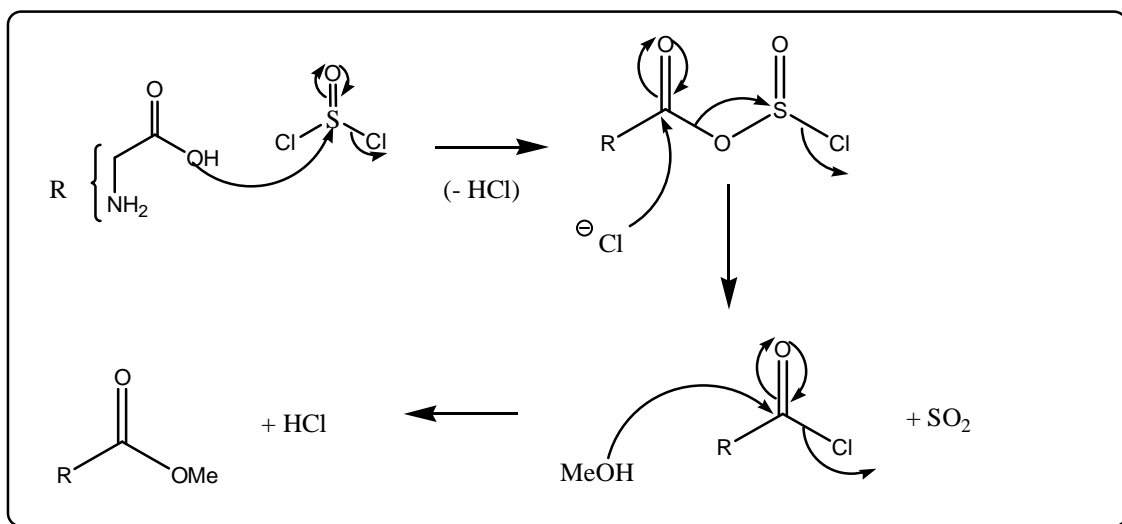


Schéma 13



#### ➤ Alkylation de la vanilline

Cette réaction nécessite l'utilisation de l'acétone comme solvant et du carbonate de potassium. Ce dernier arrache le proton phénolique pour obtenir l'anion phénate qui, à son tour, attaque le bromure d'allyle. Après filtration et évaporation le produit est obtenu avec un rendement de 81%.

Mécanisme :

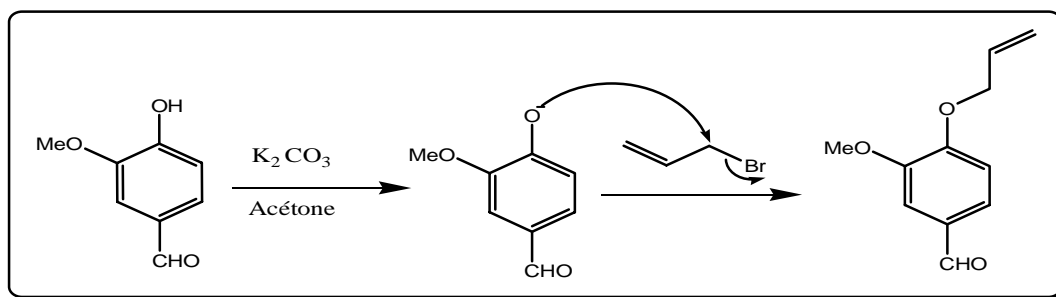


Schéma 16: Synthèse de Williamson

➤ **Amination réductrice :**

La réaction entre la fonction aldéhyde de la vanilline et la fonction amine de la glycine dissous dans le THF conduit à une imine. La réduction de cette dernière se fait par le triacétoxyborohydrure de sodium et l'acide acétique comme catalyseur. Le produit obtenu après extraction et évaporation des solvants a été isolé sous forme d'un gel jaune avec un rendement de 66%.

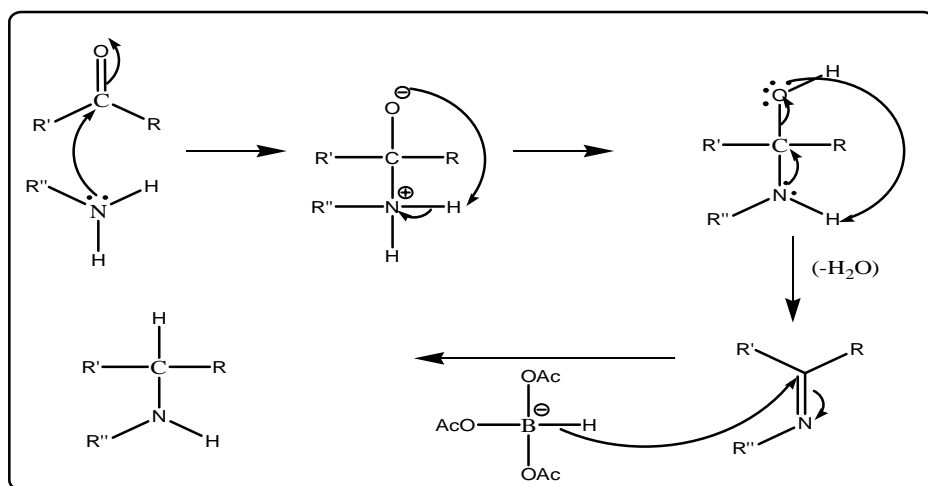


Schéma 17: mécanisme de l'amination réductrice

➤ **Protection du groupement thiol de la L-cystéine :**

Cette réaction est appelée benzilation de la fonction thiol de la cystéine.

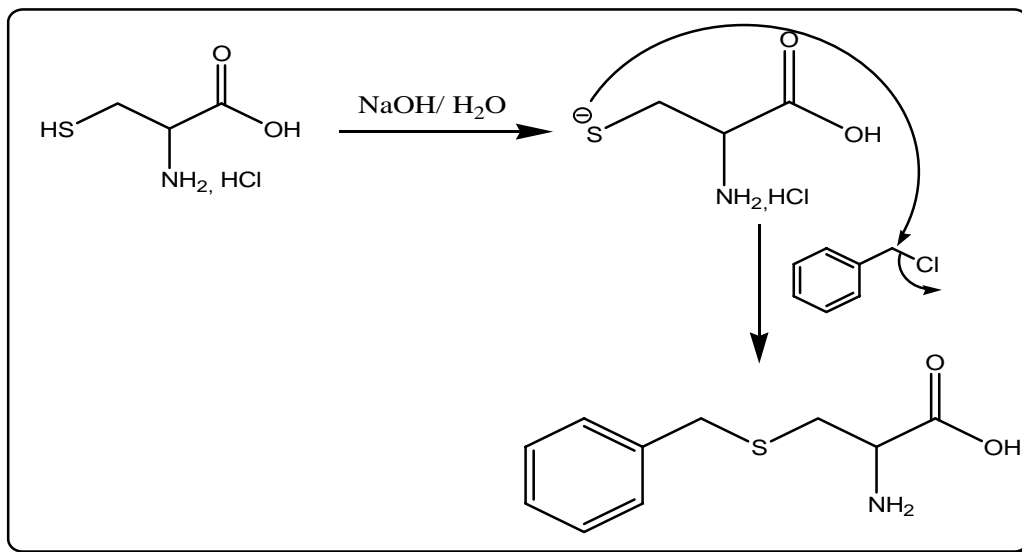
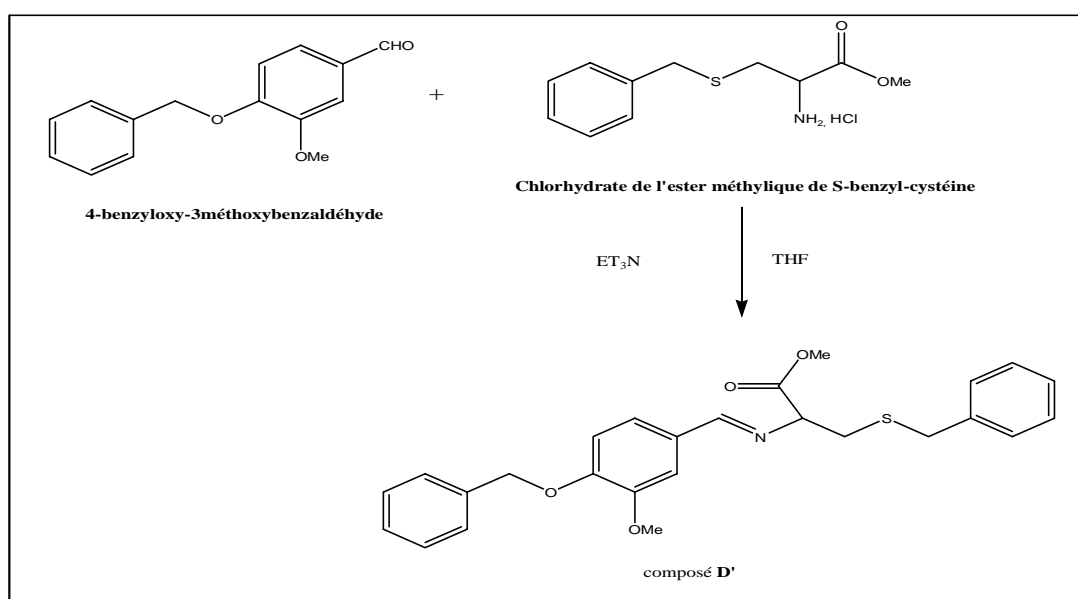


Schéma 18: benzilation de la L-cystéine

➤ **Estérification de la S- benzyl-L-cystéine :**

Cette réaction recourt à un chlorure d'acétyle dans le méthanol afin de former l'ester méthylique correspondant. Le mécanisme est identique à celui de l'estérification de la glycine par le chlorure de thionyle.

➤ **Réaction de condensation :Synthèse de l'imine : imine de la O-benzyl vanilline et l'ester méthylique de la S-benzyl-L-cystéine.**



Mécanisme :

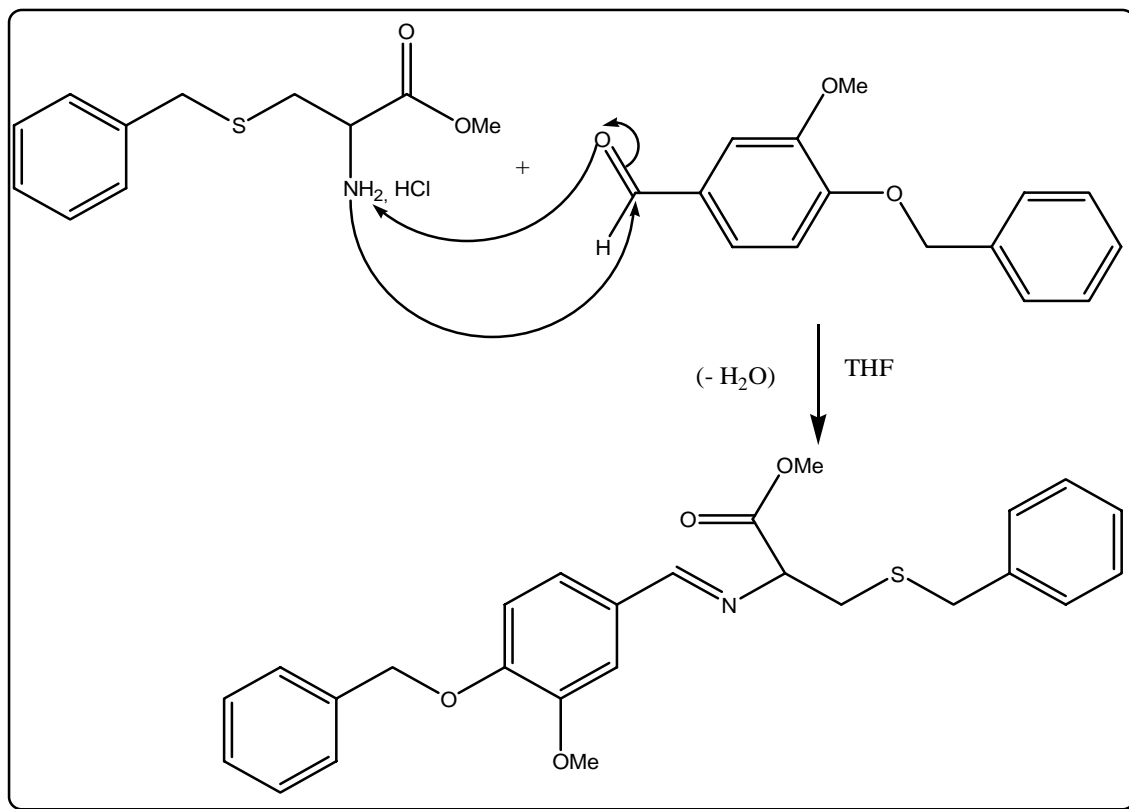


Schéma 19: mécanisme de la synthèse de l'imine

# ***Partie expérimentale***

### Généralités :

- **Purification des solvants :**

La plupart des réactions sont réalisées avec des réactifs et des solvants commerciaux. Un solvant comme le dichlorométhane (DCM) est distillé et conservé sur  $P_2O_5$ , alors que le méthanol est distillé avec un traitement avec Mg,  $I_2$  et conservé sur un tamis moléculaire (4Å).

- **Point de fusion :**

Les températures de fusion des solides recristallisés et des poudres cristallines sont mesurées sur un fusionomètre digital de la série IA9200 d'Electrothermal en utilisant des tubes capillaires.

- **Spectroscopie infrarouge (IR) :**

Les spectres d'absorption dans l'infrarouge (FTIR) ont tous été obtenus lors de l'analyse sur l'appareil de type Perkin Elmer avec les conditions suivante : nombre de balayage 10, résolution de  $4\text{ cm}^{-1}$  et avec un temps d'analyse de 0,25 mn. Tous les échantillons sont traités sous forme de pastilles de KBr. Les principales fréquences d'absorption sont données en nombre d'onde ( $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ ).

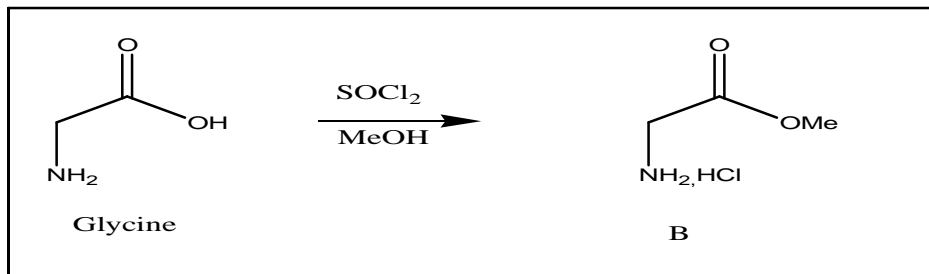
- **Chromatographie sur Couche Mince (ccm) :**

L'avancement des réactions a été suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) avec des plaques commerciales de silice (aluminium recouvert d'une couche de silice de 0,2 mm d'épaisseur et contenant un indicateur fluorescent sensible à une longueur d'onde UV de 254 nm. L'immersion des plaques dans un révélateur (ninhydrine dans l'acétone 5%), suivie d'un chauffage, provoque l'apparition de taches.

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

## I. Estérification de la glycine

### Schéma réactionnel



### Mode opératoire

La glycine commerciale (5g, 66,60mmol) est dissoute dans 40ml de méthanol sec dans un bicol surmonté d'un réfrigérant, d'une garde de  $\text{CaCl}_2$  et dans le 2<sup>e</sup>ballon, on place une ampoule à addition qui contient 7,3ml de chlorure de thionyle et on l'ajoute goutte à goutte puis on lance un reflux de 2h. Cette réaction se fait sous courant d'azote.

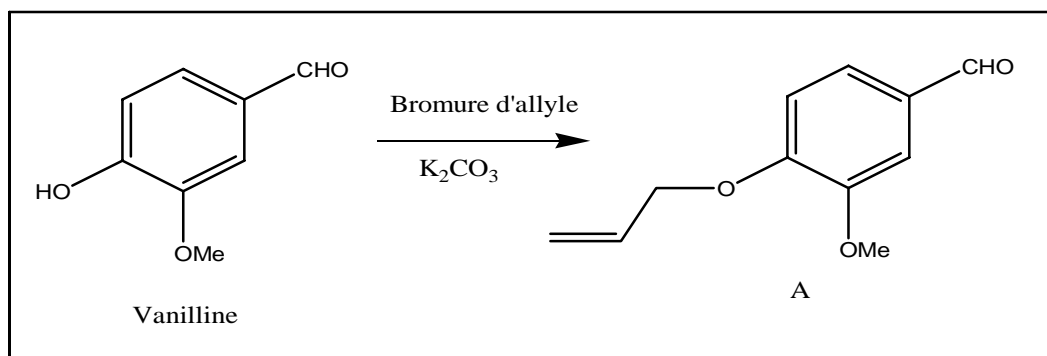
Pour vérifier la pureté du produit, on utilise la CCM avec comme éluant un mélange de butanol-acide acétique-eau [70 :18 :12].

Propriétés du produit obtenu :

Produit	Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	Aspect	T <sub>fus</sub> (°C)	R <sub>f</sub>
Chlorhydrate de l'ester méthylique de la glycine	125,5	99,88	Cristal jaune clair	166	0,3

## II. Allylation de la vanilline

### Schéma réactionnel





## Partie expérimentale

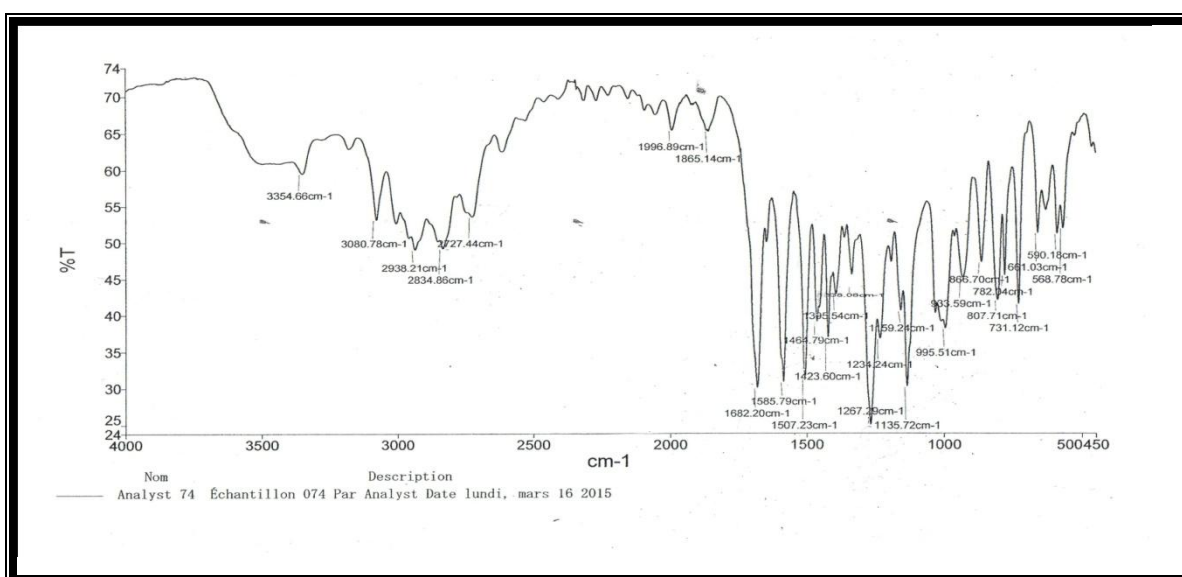
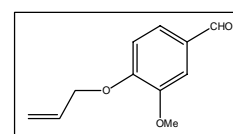
### Mode opératoire

La vanilline commerciale (4g, 26,29mmol) est dissoute dans 50 mL d'acétone dans un bicol surmonté d'un réfrigérant avec une garde de CaCl<sub>2</sub>. On ajoute ensuite 5,45g de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sous agitation de 30 mn, puis on ajoute lentement 3,41 mL de bromure d'allyle goutte à goutte. Après, le mélange est porté au reflux pendant 12h. Ensuite on lave deux fois la solution avec l'acétate d'éthyle, on filtre et on évapore à l'évaporateur rotatif.

La pureté du produit a été vérifiée par CCM, avec comme éluant un mélange éther-éther de pétrole (1 :1) et par analyse infrarouge.

### Données spectrales

IR (cm<sup>-1</sup>): 1682,20 cm<sup>-1</sup> (C=O) ; 1267,24 et 1234,24 cm<sup>-1</sup> (C-O-C)

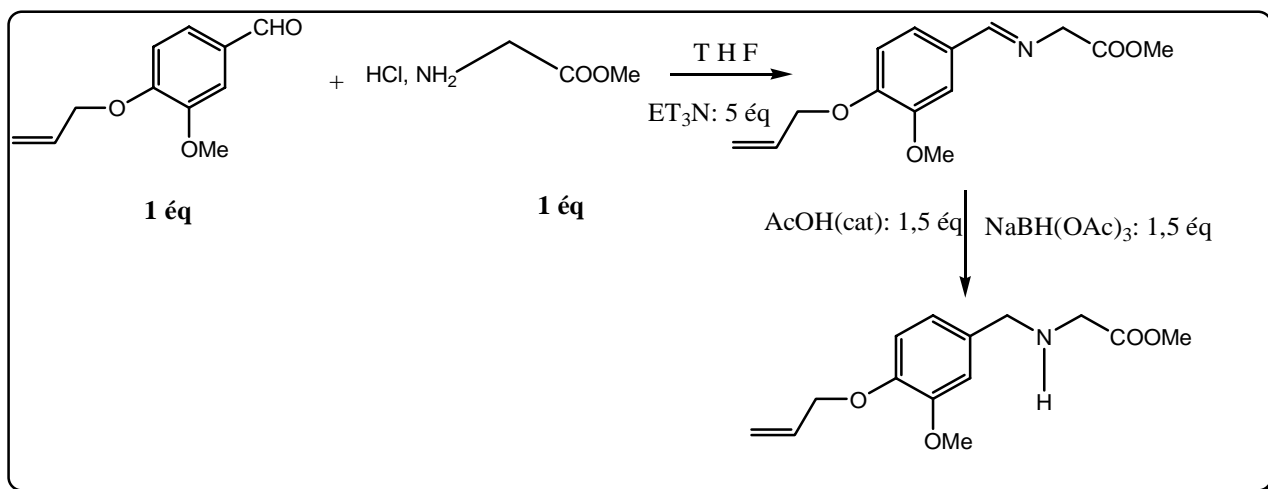


Propriétés du produit obtenu :

Produit	Masse molaire (g/mol)	Rendement(%)	Aspect	T <sub>f</sub> us (°C)	R <sub>f</sub>
4-allyloxy-3-méthoxy-benzaldéhyde	191	81	Cristal jaune	43	0,7

### III. Amination réductrice

#### Schéma réactionnel



#### Mode opératoire

On introduit dans un bicoll' *O*-allylvainilline (2 g, 0,01mol) et 1,31g de chlorhydrate de l'ester méthylique de la glycine avec le tétrahydrofurane, la triéthylamine (7mL ; 0,726g/cm<sup>3</sup>) et on ajoute le sulfate de calcium. On laisse la réaction se dérouler sous courant d'azote 24h et à température ambiante.

Après 24h, on filtre. Ensuite on ajoute au filtrat 3,17g de triacétoxyborohydrure de sodium (NaBH(OAc)<sub>3</sub>, et (0,85mL ; 1,049g/cm<sup>3</sup>) d'acide acétique. On laisse encore l'agitation sous courant d'azote 2 à 3 jours. Puis, on ajoute au mélange réactionnel une solution aqueuse de NaOH (1N : 2g NaOH → 50mL d'eau) dans le but d'obtenir un pH basique. Ensuite, on fait l'extraction 2 fois avec l'acétate d'éthyle et on lave 2 fois la phase organique avec une solution aqueusesaturée de NaCl. Enfin, on sèche avec le sulfate de calcium, on filtre et on évapore.

Propriétés du produit obtenu :

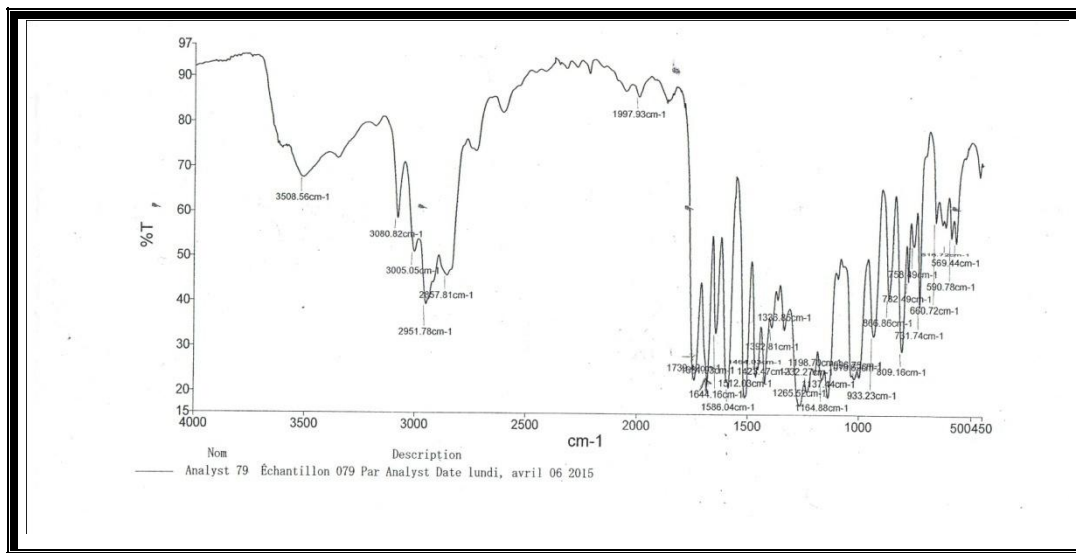
Produit	Masse molaire (g/mol)	Rendement(%)	Aspect	R <sub>f</sub>
4-allyloxy-3-méthoxy-benzylamine acétate de méthyle	264	66,28	huile jaune	0,5

## Partie expérimentale

Eluant utilisé pour la CCM : cyclohexane-éther (1 :1).

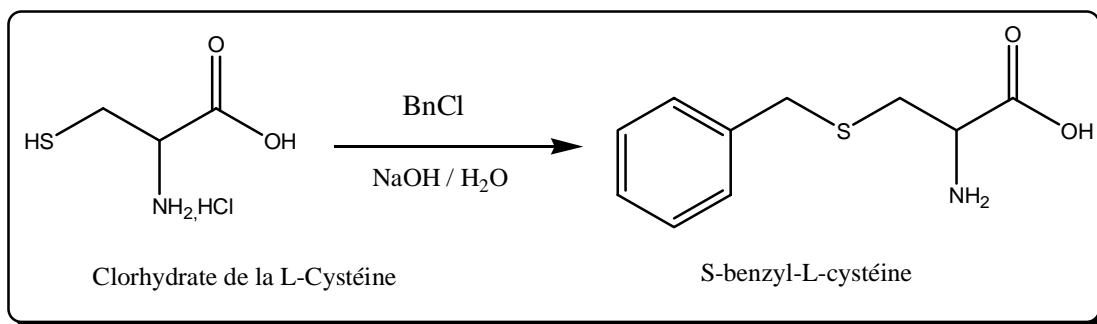
### Données spectrales

$IR (cm^{-1})$  : 1739 (C=O) ester ; 1644(C=C) ; 3508 (N-H) ; 1423 et 1464 (C=C) arm, 1265 (C-O et O-C) ester et éther



## IV. Protection de la fonction thiol de la cystéine

### Schéma réactionnel



### Mode opératoire

Le chlorhydrate de la cystéine (5g, 31,74mmol) est dissous dans une solution aqueuse de NaOH (25mL) dans un bicol. Ensuite, on ajoute goutte à goutte 4,3 mL de chlorure de benzyle. On laisse le mélange réactionnel sous agitation une heure à température ambiante, puis on lance le reflux pendant une heure.

## Partie expérimentale

Dans le but d'avoir un pH acide, on ajoute une solution d'HCl 37% (20mL), dans un bain d'eau glacée, après on chauffe jusqu'à dissolution du solide. Puis, on lave avec l'eau glacée, on filtre sous vide et on laisse le produit sécher à l'air libre. On a vérifié la benzoylation de la cystéine par analyse infrarouge et la pureté du produit par CCM avec comme éluant butanol-acide acétique-eau (70 :18 :12).

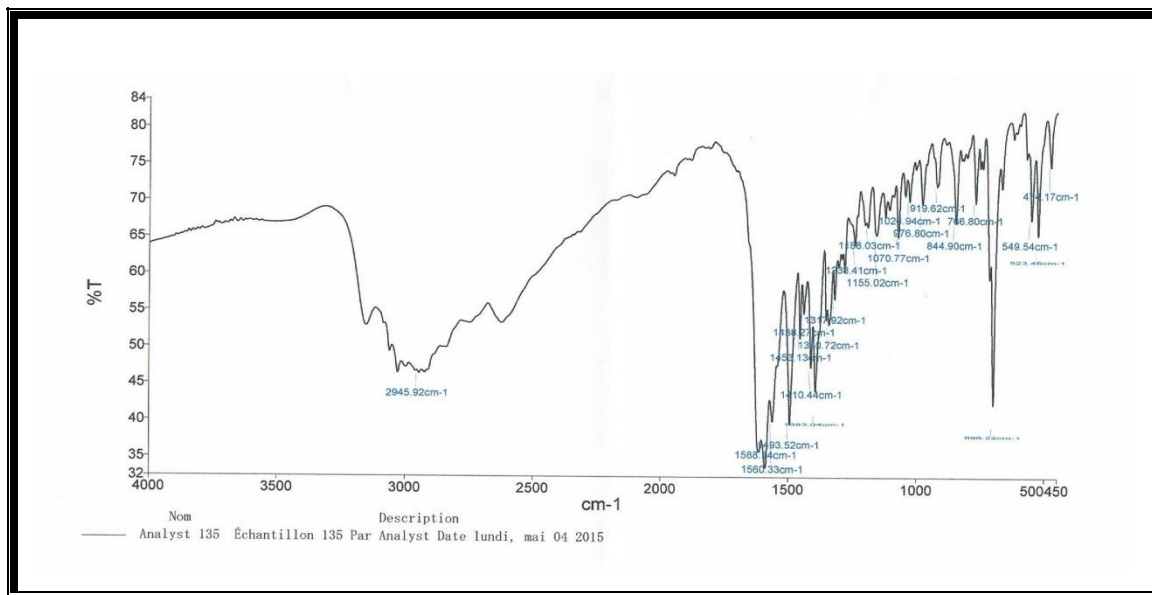
Propriétés du produit obtenu :

Produit	Masse molaire (g /mole)	Rendement(%)	Aspect	T <sub>fus</sub> (°C)	R <sub>f</sub>
S-benzyl-L-cystéine	211	67,35	Poudre jaune	186	0,77

Après recristallisation du produit avec le mélange eau-éthanol (1 :4) on obtient 4,4g de produit sous forme d'un solide jaune.

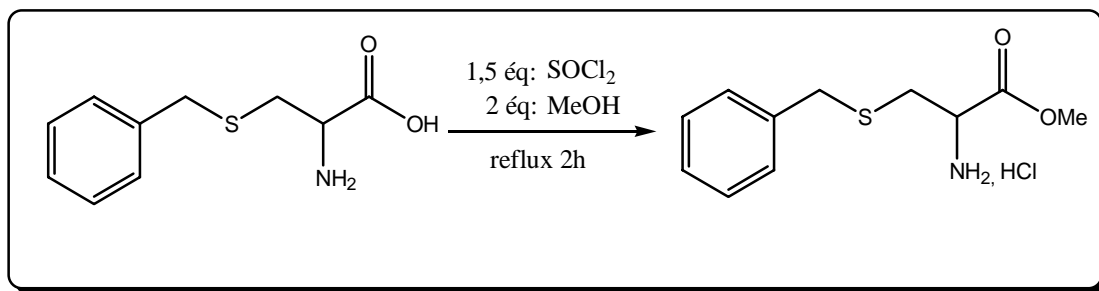
### Données spectrales :

IR (cm<sup>-1</sup>) : 1560.33, 1588.54, 2945.92.



### 3) Estérification de la cystéine

#### ❖ Procédé A



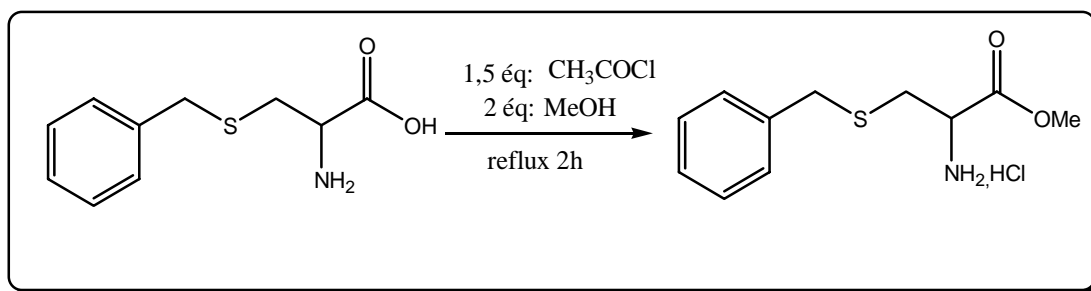
#### Mode opératoire

Dans un bicol, on introduit 40mL de méthanol avec (1,3mL ; 1,635 g/cm<sup>3</sup>) de chlorure de thionyle sous courant d'azote. L'ajout de ce dernier nécessite un bain d'eau glacée car la réaction est exothermique. Ensuite, on ajoute (2,5g ; 0,011mol) de S-benzyl-L-cystéine et on laisse la réaction se poursuivre à reflux pendant 2h. Puis on évapore.

Propriétés du produit obtenu :

Produit	Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	Aspect
chlorhydrate de l'ester méthylique de S-benzyl-L-cystéine	261,5	7,66	Huileux

#### ❖ Procédé B



#### Mode opératoire

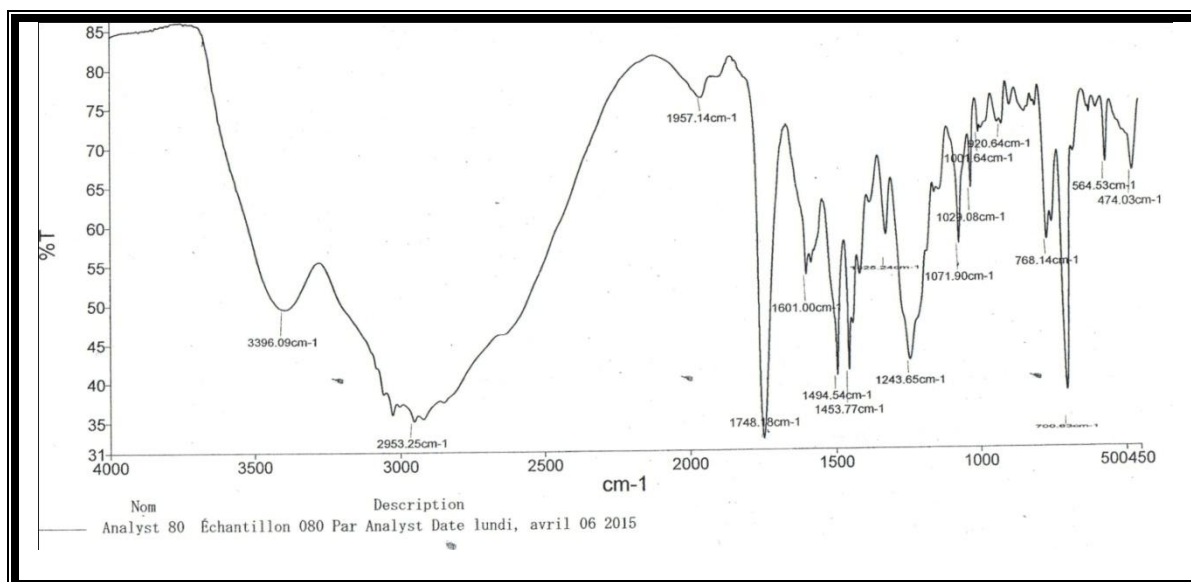
On introduit dans un bicol (1,5g ; 0,0071 mol) de S-benzyl-L-cystéine avec 40mL de méthanol et 1,3ml de chlorure d'acétyle. On porte le mélange réactionnel à reflux de 2h sous courant d'azote.

## Partie expérimentale

### Méthodes d'analyse :

CCM. Eluant : butanol-acide acétique-eau (70 :18 :12).

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 1748.18, 2953.25, 3396.09.

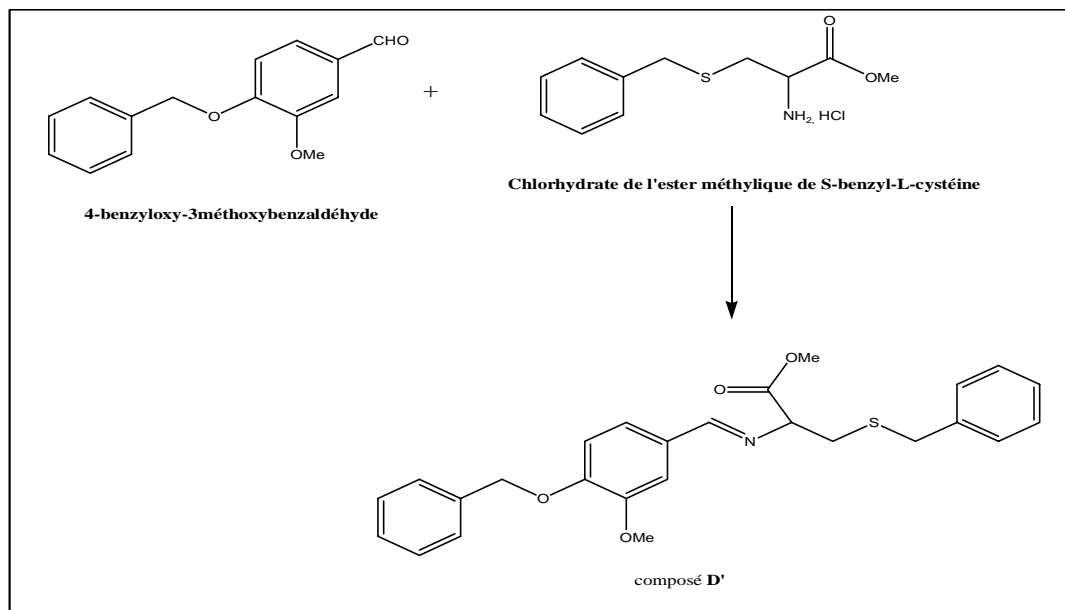


### Propriétés du produit obtenu :

Produit	Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	Aspect	R <sub>f</sub>
chlorhydrate de l'ester méthylique de S-benzyl-L-cystéine	261,5	57,09	Pâteux	0,83

## 6) Réaction de condensation

### Schéma réactionnel



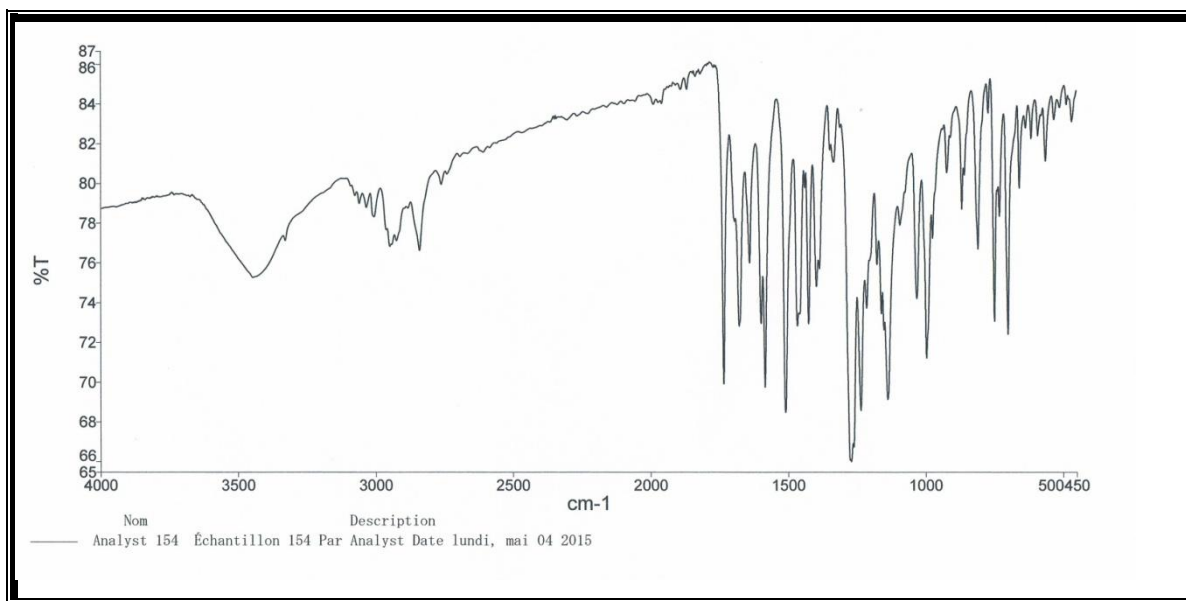
### Mode opératoire

On introduit dans un bicol (0,61g ; 40,53mmol) 3,4-diméthoxybenzaldéhyde avec 1,06g de chlorhydrate de l'ester méthylique de *S*-benzyl-L-cystéine, le sulfate de calcium, la triéthylamine pour éliminer le chlorhydrate dans le THF. On laisse la réaction en cours sous agitation et courant d'azote. Après 24h, on filtre le dépôt qui se forme et on ajoute une solution aqueuse de NaOH 1N pour avoir un pH basique. Ensuite, on fait une double extraction avec l'acétate d'éthyle et après on lave la phase organique récupérée avec une solution saturée de NaCl. Enfin, on sèche le produit, on filtre et on évapore.

### AnalyseIR :

**IR (cm<sup>-1</sup>) :** 1735 (C=O) de l'ester ; 1680 (C=N) de l'imine ; 1600 (C=C) arm ; 1230 (C-O et O-C) del'ester.

## Partie expérimentale



### Propriétés du produit obtenu :

Produit	Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	Aspect	T <sub>fus</sub> (°C)	R <sub>f</sub>
imine de la <i>O</i> -benzyl vanilline et l'ester méthylique de <i>s</i> -benzyl-L-cystéine.	385	34	poudre blanche	65	0,62



## ***Conclusion et Perspectives***

## Conclusion et perspectives

---

La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupements hydroxyphénoliques (notre exemple est la vanilline). Dans notre travail, nous avons pris la glycine et la L-cystéine (acide aminé soufré) dans le but de coupler chacun de ces derniers avec la vanilline.

Cette étude a comme objectifs de réunir dans un seul composé (composé D ou D') les propriétés bénéfiques de chaque fragment (A, B, et E). Le premier travail consiste à synthétiser le composé D (4-allyloxy-3-méthoxy-benzylamine acétate de méthyle) à partir de deux réactifs commerciaux disponibles au laboratoire, à savoir la vanilline et la glycine par une réaction d'amination réductrice. Cette voie nous a donné un résultat satisfaisant.

Notre deuxième objectif revient à synthétiser le composé D', par une réaction de condensation à partir de la vanilline et du chlorhydrate de la L-cystéine. Après l'application des techniques de purification, nos résultats sont acceptables.

L'imine aromatique obtenue possède une structure intéressante qui peut être douée d'une activité biologique. Il est fort possible, par référence au glutathion, que cette molécule puisse être explorée sur le plan d'une activité biologique potentielle.

## **Références bibliographiques**

### Références:

- [1] JOHNSON. D.R et Gu. L.C., **1988** , ZHANG et coll., **2004**, In Autoxidation and Antioxidants, John Wiley, New York, 433.
- [2]ZHANG. C X., Wu. H., and WENG. X C, Two novel synthetic antioxidant for deep frying oils. *Food Chemistry*, **2004**, *84*, 219.
- [3] GUINEBERT E., DURAND P., PROST M., GRINAND R ., BERNIGAULT R. Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole, **2005**, 554.
- [4] HALLIWELL. B, Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, **1994**, *52*: 253.
- [5] BAUDIN. B, Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *MT Cardio*, **2006**, *2(1)*:43.
- [6] FAVIER. A, Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, **2003**, 108.
- [7] KOEHLIN-RAMONATXO. C, Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, **2006**, *20*: 165.
- [8] PENNA. C., MANCARDI. D., RASTALDO. R., PAGLIARO. P, Cardio protection: A radical view Free radicals in pre and post conditioning. *Biochimica et Biophysica Acta*, **2009**, *1787*: 781.
- [9] HATON. C, Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale. *Thèse de doctorat de l'université de Paris VI*, France, **2005** : 43
- [10] GARDES-ALBERT. M., BONNEFONT-ROUSSELOT. D., ABEDINZADEH, Z., JORE, D. "Espèces réactives de l'oxygène : comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?" *L'actualité chimique*, novembre-décembre **2003**.
- [11] ROBERTS. C K., SINDHU. K K, Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*, **2009**, *84* :705.
- [12] PARK. J., JUNG .W. K., et al. "Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk." *Journal of the American oil Chemists Society*, **2001**, *78* (6): 651.
- [13] SHIMIZU .H, Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population : *the Hisayama study*, *Stroke*, **2004**, *35* (9) : 2072.
- [14] NAKAZAWA. H.C., GENKA, et al. "Pathological aspects of active oxygens / free radicals." *Japanese journal of physiology*, **1996**, *46* (1): 15.
- [15] SIES. H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med*, **1991**, *91*, 31.
- [16] BURTON. G. W., INGOLD. K. U. Vitamin E: Application of the principles of physical organic Chemistry to the exploration of its structure and function. *Accounts of Chemical Research*, **1986**, *19* : 194.
- [17] NORMAN. I., KRINSKY. "Carotenoids as antioxidants". *Nutrition Reviews*, **2001**, *17*.
- [18] Apports nutritionnels conseillés dans la population française, 3<sup>ème</sup> Edition, *CNERNA-CNRS*, **2001**.
- [19] VANCASSEL. S., GUESNET. P, AGPI et physiologie du système nerveux central.

## Références bibliographiques

---

- [20] Acides gras de la famille Oméga-3 et système cardiovasculaire: *intérêt nutritionnel et allégations, rapport AFSSA, 2003*
- [21] Hartung, W. H.; Simonoff, *Org. React.* **1953**, 7:263.
- [22] McCloskey, A.L. Fonken, G.S.; Klüber, R.W.; Johnson, W.S. *Org. Synth.* **1963**, 1:261.
- [23] Bryan, D. B. Hall, R.F. Holden, K.G. Huffman, W.F. *Chem. Soc.* **1977**, 99:2353.
- [24] Danishefsky, S. Harayama, T. Berman, E. *Chem. Soc.* **1978**, 100:6536.
- [25] Corey, E. J. Szekely, I. Shiner, C. S. *Tetrahedron Lett.* **1977**, 3529.
- [26] A. F. Abdel-Magid, K. G. Carson, B. D. Harris, C. A. Maryanoff, R. D. Shah, *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 3849.
- [27] E. M. Dangerfield, C. H. Plunkett, A. L. Win-Mason, B. L. Stocker, M. S. M. Timmer, *J. Org. Chem.*, **2010**, 75, 547