

# Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

---



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Université Abou Bakr Belkaid– Tlemcen  
Faculté des Sciences  
Département de chimie  
Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses  
-COSNA-  
Master de chimie  
Spécialité : «Chimie bio organique et thérapeutique»

MEMOIRE

Présenté et soutenu par :

Mme : BOUDALI née CHIBI Nadjet

Le 9/06/2015

---

Titre :

*Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique du glutathion*

---

JURY

*Pr. L. NEGADI*

*Présidente*

*Mme. W. DRICI*

*Examinatrice*

*Mr. Z. ARRAR*

*Examineur*

*Mr. D.BENDIABDELLAH*

*Examineur*

*Mr. A.MEZRAI*

*Examineur*

*Mme A. SLIMANI, KENICHE*

*Examinatrice*

*Mr. B. MOSTEFA KARA*

*Examineur*

*Mme W. SEBA , née LEMERINI*

*Examinatrice*

*Mr J. Kajima Mulengi*

*Directeur de mémoire*

# DEDICACES

*A mes très chers parents*

*Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte.*

*Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos encouragements.*

*Que dieu vous protège et vous donne une longue vie pleine de santé et de bonheur !*

*A mon mari : Ahmed*

*A mes frères et mes sœurs : Mustapha ; Abdelhafid ; Hafida ; Soumia ; et Djamel*

*A ma famille et toute mes amies.*

## Remerciements

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

*Je tiens à remercier Monsieur le Professeur J. Kajima Mulengi, directeur de mon sujet, pour m'avoir permis de réaliser ce travail dans son laboratoire (COSNA). Ainsi je remerci la DGRST. Mes plus sincères remerciements au Professeur Latifa NEGADI, pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury de ce mémoire. Je remercie également Mme Drici W, Mr Z. ARRAR, Mr D. BENDIABDELLAH, Mr B. M. KARA, Mme A. SLIMANI, KENICHE, Mr A. MEZRAI, Mme W. SEBA, née LEMERINI pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Je remercie l'équipe de Laboratoire COSNA pour leur intérêt et leurs bons conseils. Merci à toutes les personnes qui j'ai passé ces dernières années au sein de l'UABT.*

*Finalement, un grand merci à mon père qui a veillé sur moi et sur mon éducation et sur mon enseignement, sans oublier Djamila, je dédie ce mémoire pour tous ces sacrifices et leur soutien moral, avec toute mon affection et ma reconnaissance.*

*Je remercie du fond du cœur mon mari de m'avoir accompagner sur ces dernières années, sans oublier ses sœurs, ses frères, et ses parents, je tiens à adresser mes remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.*

# Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

## Sommaire

### *A.PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE*

I.	Introduction générale .....	7
1.	Propriétés oxydo-réductrices du glutathion .....	7
2.	Synthèse du glutathion .....	8
3.	Dégradation du glutathion.....	8
4.	Rôle du glutathion dans la détoxification.....	8
5.	Radicaux libres, stress oxydatif et athérosclérose.....	9
a.	Définition .....	9
b.	Production des radicaux libres .....	9
c.	Stress oxydatif.....	10
d.	Les systèmes antioxydants .....	10
e.	L'Athérosclérose.....	11
II.	Systèmes phénoliques antioxydants.....	13
1.	La réaction d'oxydoréduction .....	13
2.	Mécanismes antioxydants des systèmes phénoliques <sup>[14]</sup> .....	13
a.	Transfert d'atome d'hydrogène (HAT, hydrogen atom transfer).....	13
b.	Transfert mono-électronique d'électron (SET, single electron transfer) .....	14
c.	La chélation des métaux de transition.....	14
3.	Modélisation de l'activité antioxydante <sup>[15]; [16]</sup> .....	14
III.	Exemples de synthèse .....	16
1.	Analogues de GSH .....	16
2.	Analogues de L'acide Glutamique (Glu).....	17
3.	Amination réductrice.....	20

### *B.TRAVAIL EFFECTUE*

I.	Rappel des objectifs .....	22
1.	Schéma global du travail.....	22
1.	Estérification de l'acide glutamique : .....	22
3.	Neutralisation du chlorhydrate :.....	25
4.	Amination .....	25
5.	Réduction de la fonction imine : .....	27

# Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

---

6. Déprotection de la fonction ester : .....	29
II. Conclusion .....	30

## ***C.PARTIE EXPERIMENTALE***

I. Généralités .....	31
1. Purification des solvants .....	31
2. Spectroscopie infrarouge.....	31
3. Chromatographie.....	31
II. Synthèses.....	31
1. Esterification de l'acide glutamique.....	31
2. Neutralisation du chlorhydrate.....	32
3. Amination .....	34
4. Réduction .....	35
Références.....	39

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

<b>GSH</b>	le glutathion		
<b>Glu</b>	L'acide L-glutamique		
<b>Cys</b>	L'acide L-cystéine		
<b>GIY</b>	La glycine		
<b>GP</b>	glutathion peroxydase	<b>Cbz</b>	benzyloxycarbonate
<b>GSSG</b>	glutathion disulfure	<b>BOC</b>	<i>tert</i> -butyloxycarbonate
<b>GR</b>	GSSG réductase	<b>tBu</b>	<i>tert</i> -butylique
<b>GCS</b>	$\gamma$ -glutamylcystéine synthétase	<b>LDA</b>	Diisopropylamidure de Lithium
<b>GS</b>	glutathion synthétase	<b>LICA</b>	L'isopropylcyclohexylamidure de lithium
<b>GGT</b>	$\gamma$ -glutamyl transpeptidase	<b>TFA</b>	l'acide trifluoroacétique
<b>ROS</b>	espèces réactives de l'oxygène	<b>SNC</b>	système nerveux central
<b>OMS</b>	organisation mondiale de la santé	<b>DCM</b>	dichlorométhane
<b>AVC</b>	Accidents vasculaires cérébraux	<b>CCM</b>	chromatographies sur couche mince
<b>SET</b>	single electron transfer	<b>MeOH</b>	méthanol
<b>BDE</b>	Enthalpie de dissociation de la liaison OH	<b>Ta</b>	Température ambiante
<b>TEA</b>	triéthylamine	<b>THF</b>	Tétrahydrofurane
<b>DMF</b>	diméthylformamide		
<b>KHMDS</b>	Hexaméthyldisilylamidure de potassium		
<b>MCPBA</b>	L'acide métachloroperbenzoïque		
<b>LHMDS</b>	Hexaméthyldisilylamidure de lithium		
<b>Pf</b>	9-phénylfluorényle		

# I. Introduction générale

Depuis les bactéries jusqu'aux organismes les plus évolués, le glutathion (GSH) apparaît comme un composant caractéristique des cellules vivantes. Il fut isolé pour la première fois par De Rey-Pailhad en 1880 et c'est Hopkins qui, en 1929, mit en évidence les 3 résidus constitutifs de la molécule (Figure 1): l'acide L-glutamique (Glu, a), la L-cystéine (Cys, b) et la glycine (GIY, c).

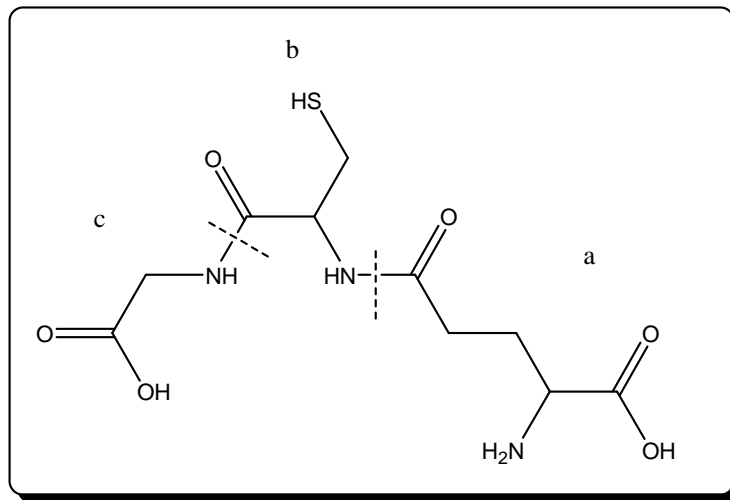


Figure 1: Le glutathion

## 1. Propriétés oxydo-réductrices du glutathion

Le **glutathion** SH (réduit) ou S-S (oxydé) forme un couple d'oxydoréduction très important car il permet les échanges d'électrons (donc énergie) à l'intérieur de la cellule.

Le GSH joue un rôle dans la défense contre le stress oxydatif en limitant l'oxydation des protéines et des membranes cellulaires réalisée par les peroxydes organiques, le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), et les radicaux oxygénés réactifs. Pour cela, les glutathion peroxydases (GP) catalysent simultanément l'oxydation du GSH en glutathion disulfure (GSSG) et la réduction du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en ( $H_2O$ ).

Les GSSG ainsi formés sont réduits en GSH par l'intermédiaire d'une GSSG réductase (GR). Cet équilibre, assuré en permanence par les activités GP et GR, traduit parfaitement l'importance fonctionnelle primordiale du groupement sulhydryle du glutathion.

# Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

---

## 2. Synthèse du glutathion

Le GSH est synthétisé à partir de la Cys, de la Gly et du Glu. Cette synthèse est catalysée successivement par la g-glutamylcystéine synthétase (GCS) et la glutathion synthétase (GS). Cette synthèse peptidique se produit dans chaque cellule du corps, mais principalement au niveau du foie. La première réaction catalysée par la (GCS) permet de former une liaison peptidique entre le groupement carboxyle porté par le carbone  $\alpha$  du Glu et le groupement amine de la Cys. La Cys est le substrat limitant de la réaction de synthèse du GSH <sup>[1]</sup>. Cette liaison peptidoïde confère au GSH une résistance aux peptidases intracellulaires. A l'issue de cette réaction, il se forme un dipeptide g-glutamylcystéine qui présente une forte affinité pour la glutathion synthétase (GS). Cette enzyme va former une liaison entre le résidu cystéine et un résidu glycine, ce qui conduit à la formation du GSH.

## 3. Dégradation du glutathion

En 1948, Binkley et Nakamura <sup>[2]</sup> mettent en évidence une enzyme initiant l'hydrolyse du GSH en clivant la liaison  $\gamma$ -glutamyle. Cette enzyme nommée  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase (GGT) est présente à la surface des cellules et son activité est assurée par le domaine extracellulaire. De plus, elle peut transférer le groupement  $\gamma$ -glutamyl du GSH sur un acide aminé accepteur, selon un processus appelé « transpeptidation » <sup>[3]</sup>.

Le GSH ne pouvant pas directement entrer dans la cellule, il doit être hydrolysé en acides aminés qui seront pris en charge par le système de transport des acides aminés situé dans la membrane cellulaire. Le groupement g-glutamyl confère au GSH une résistance aux protéases et la GGT est la seule enzyme capable de cliver le GSH <sup>[4]</sup>. Celle-ci élimine le groupement  $\gamma$ -glutamyl du GSH relarguant ainsi la cystéinylglycine. Ce dipeptide obtenue est un très bon substrat pour les dipeptidases extracellulaires qui hydrolysent le lien peptidique pour donner la Cys et la Gly.

## 4. Rôle du glutathion dans la détoxification

Une des fonctions principales du GSH est la détoxification des xénobiotiques ou de leurs métabolites. Il protège les cellules des espèces électrophiles en formant des espèces généralement moins réactives, plus hydrosolubles et par conséquent plus facilement éliminables. Cette réaction de conjugaison des espèces électrophiles au GSH se fait de manière spontanée ou catalysée par la famille des enzymes GST.

Le GSH forme également des complexes avec les métaux <sup>[5]</sup> dans des réactions non-enzymatiques. Le GSH est un des meilleurs ligands pour les métaux (mercure, argent, cadmium, arsenic, plomb, or, zinc et cuivre)



## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

et joue un rôle important dans leur transport, leur stockage et leur métabolisme. C'est le groupement sulhydryle du résidu Cys qui confère au GSH ces propriétés.

### 5. Radicaux libres, stress oxydatif et athérosclérose

Les radicaux libres interviennent dans un grand nombre de domaines en chimie, chimie des radioéléments, chimie organique, inorganique, photochimie... Généralement les réactions d'oxydoréduction font intervenir des intermédiaires radicalaires. Ces réactions sont omniprésentes dans le milieu vivant et gèrent des processus aussi importants que la reproduction des espèces, la mutagenèse, la défense contre les maladies. Ces réactions interviennent dans le vieillissement et dans certaines pathologies.

#### a. Définition

Par définition, un radical libre est une espèce possédant un électron célibataire. Dans une molécule, les doublets électroniques sont localisés dans des orbitales liantes, non liantes ou anti-liantes. L'orbitale d'un électron célibataire peut de même être liante, non liante ou anti-liante, et ceci a des conséquences sur les propriétés chimiques et structurales du radical libre. Un radical libre est le plus souvent instable, donc réactif et sa durée de vie est très courte (de l'ordre d'une micro à nanoseconde).

#### b. Production des radicaux libres

La principale voie de production des radicaux libres est la rupture homolytique d'une liaison covalente en deux entités possédant chacune un électron, les autres étant l'élimination ou l'addition d'un électron. Ces réactions sont endergoniques. Une fois produites, les radicaux sont souvent instables. Il faut donc des méthodes de détection adéquates. Les méthodes utilisées pour produire des radicaux libres sont notamment :

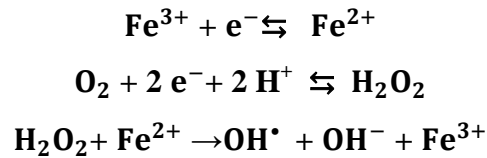
- **Méthodes physiques** : Thermolyse, photolyse, radiolyse et sonochimie.
- **Méthodes chimiques** : L'oxydoréduction : l'exemple le plus important est la réaction de Fenton. C'est une réaction qui permet la production du radical hydroxyle à partir du peroxyde d'hydrogène en présence d'un métal (Cu, Fe).



- **Méthodes électrochimiques** : La production du radical hydroxyle ( $\text{HO}^\bullet$ ) s'effectue par une réaction appelée Electro-Fenton. Elle consiste à réduire électrochimiquement via des électrodes de

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

mercure ou de graphite le fer ferrique en fer ferreux et l'oxygène en peroxyde d'hydrogène. Ce système permet de produire les deux espèces nécessaires à la réaction de Fenton.



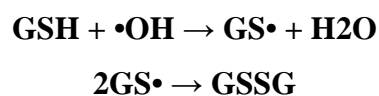
### c. Stress oxydatif

#### ➤ *Définition du stress oxydatif*

En 1991, Sies a défini la notion de stress oxydatif 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>[6]</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 oxydatif peut être de courte durée et, grâce aux systèmes antioxydants, limité, avec un retour rapide à un état redox physiologique. Un déséquilibre redox prolongé a des conséquences en pathologie et dans le vieillissement des tissus.

### d. Les systèmes antioxydants

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation ou la médication, et sont donc exogènes. Par exemple le glutathion est un antioxydant **non enzymatique, endogène**. Il est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants. Il est antioxydant par son caractère nucléophile et radicalaire <sup>[7]</sup>.



# Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

## e. L'Athérosclérose

L'athérosclérose est aujourd'hui une des causes majeures de mortalité au niveau mondial et est à l'origine de la plupart des maladies cardio-vasculaires. Le stress oxydant joue un rôle majeur dans l'athérogenèse et les maladies cardiovasculaires.

### ➤ Généralités

#### 1. Historique

En 1740, le médecin allemand Johann Friedrich KRELL observe des concrétions calciques au niveau de la paroi vasculaire, il les appelle « plaque osseuse »<sup>[8]</sup>. Une dizaine d'années plus tard, le terme « athérome » est proposé pour la première fois par Albrecht von HALLER. Il vient du grec *athara* qui signifie « bouillie de farine ou de gruau » qui caractérise un kyste blanchâtre graisseux<sup>[9]</sup>.

Le terme « Artériosclérose » est utilisé en 1833 à Strasbourg par Jean Frédéric Martin LOBSTEIN qui définit les altérations artérielles considérant qu'elles ne sont pas d'origine inflammatoire et conduisent à un durcissement et un épaissement de la paroi des artères.

En 1904, le terme "Athérosclérose" est proposé par Felix MARCHAND, ce qui reflète la dualité lésionnelle, athéromateuse et scléreuse, de la maladie. L'athérosclérose serait la forme la plus grave de l'artériosclérose. Aujourd'hui l'artériosclérose est associée au vieillissement vasculaire.

#### 2. Définition

L'athérosclérose est une des causes majeures de mortalité et de morbidité dans les pays industrialisés, et représente un enjeu important en santé publique. L'OMS définit l'athérosclérose comme une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyen calibres consistant en une accumulation focale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôts calcaires.

Les facteurs de risque de cette pathologie sont l'âge, les dyslipidémies familiales héréditaires, les phénomènes d'insulino-résistance, d'hyperhomocystéinémie<sup>[10]</sup> et les anomalies des facteurs hémostatiques, mais également des facteurs de risques environnementaux (la sédentarité, l'obésité, le tabagisme)<sup>[9]</sup>. Ces facteurs de risques sont à l'origine du stress oxydatif.

Il est à noter que l'alimentation joue un rôle majeur dans l'incidence de l'athérosclérose. Une alimentation riche en lipides, et pauvre en légumes et fruits favorise l'installation de la pathologie. Il existe un gradient Nord-Sud de l'athérosclérose qui montre une forte incidence des maladies cardiovasculaires dans les pays du Nord à cause de leur nourriture pauvre en fruits et légumes<sup>[11]</sup>. En France, le régime alimentaire est peu différent de celui des autres pays du nord de l'Europe. Cependant l'incidence des

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

---

maladies cardiovasculaires est plus faible. Ces résultats encore mal expliqués, pourraient résulter de la consommation du vin rouge et du jus de raisin <sup>[12]</sup>.

### 3. Manifestations cliniques

Les conséquences de l'athérosclérose dépendent de l'endroit où se forme la plaque d'athérome. Elles sont responsables d'affections aiguës, notamment des

- ✓ Coronaropathies de type ischémique dues à l'athérosclérose des artères coronaires.
- ✓ Accidents vasculaires cérébraux (AVC)
- ✓ Artérites dues, dans 90% des cas, à l'athérosclérose des membres inférieurs.
- ✓ Ischémie aiguë des membres.

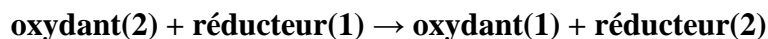
# II. Systèmes phénoliques antioxydants

Les phénols et polyphénols à activité antioxydante sont un véritable espoir pour la mise au point de nouvelles molécules antiathérogènes. Les progrès en chimie organique nous ouvrent de multiples voies afin de synthétiser et fonctionnaliser des systèmes phénoliques ou polyphénoliques.

## 1. La réaction d'oxydoréduction

Une réaction d'oxydo-réduction est une réaction chimique au cours de laquelle se produit un transfert d'électrons pouvant s'accompagner par un transfert de protons. L'espèce chimique qui capte les électrons est appelée « oxydant » ; celle qui les cède, « réducteur ».

Donc, le réducteur s'oxyde (réaction d'oxydation), l'oxydant se réduit (réaction de réduction). L'oxydo-réduction se compose donc de deux demi-réactions : une oxydation et une réduction. Un réducteur oxydé (=forme oxydée) est un oxydant, et un oxydant réduit (=forme réduite) est un réducteur. On définit ainsi le couple oxydant-réducteur (aussi appelé « couple redox ») qui se compose de l'oxydant et du réducteur conjugué (l'oxydant réduit). On le note sous la forme : *oxydant/réducteur*.



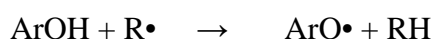
Ces notions sont d'une importance majeure, un antioxydant phénolique est un réducteur par définition, cela signifie que si sa forme oxydée n'est pas stabilisée, elle pourra engendrer une oxydation par la suite (pro oxydant) <sup>[13]</sup>.

## 2. Mécanismes antioxydants des systèmes phénoliques <sup>[14]</sup>

Les principaux oxydants dans les milieux biologiques sont les radicaux libres et les métaux de transition. Les polyphénols désactivent les radicaux libres *via* trois mécanismes :

### a. Transfert d'atome d'hydrogène (HAT, hydrogen atom transfer)

L'antioxydant phénolique agit avec le radical libre par transfert d'un atome d'hydrogène *via* la rupture homolytique de la liaison O-H.

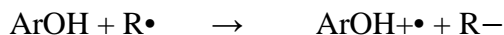


Les produits de cette réaction sont la forme réduite (RH) du radical néfaste, et le radical ArO• (forme oxydée de l'antioxydant). Bien que cette réaction donne naissance à un autre radical libre, celui-ci est moins réactif.

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

### **b. Transfert mono-électronique d'électron (SET, single electron transfer)**

Dans ce mécanisme, un électron est transféré au radical libre R•. L'anion R<sup>-</sup> et le cation radical ArOH<sup>+•</sup> ainsi formés sont généralement des entités stables.



Le potentiel d'ionisation est le facteur déterminant du pouvoir piègeur d'électrons. Un potentiel bas implique un arrachement facile d'électron et en conséquence une réaction avec le radical libre.

### **c. La chélation des métaux de transition**

C'est un mécanisme indirect. Il consiste à la chélation des métaux de transition tels que le fer ou le cuivre. Cette chélation sert à empêcher la réaction de Fenton dans les milieux biologiques.

## **3. Modélisation de l'activité antioxydante** <sup>[15]; [16]</sup>

Lors de la conception des antioxydants de synthèse, il est utile d'examiner quel type de structure moléculaire pourrait être potentiellement optimal. De manière générale, les composés contenant des liaisons C-H faibles qui peuvent conduire à des radicaux centrés sur le carbone R• sont indésirables, car ils sont généralement très réactifs avec l'oxygène moléculaire conduisant à des radicaux peroxydes ROO•<sup>[17]</sup>.

Les radicaux centrés sur l'atome de soufre sont d'intérêt et jouent un rôle important en biochimie, mais ils sont aussi capables de former des radicaux peroxydes RSOO• par réaction avec l'oxygène O<sub>2</sub><sup>[18]</sup>. Aussi, les radicaux peuvent être centrés sur un atome d'azote, qui peut être stable en présence d'oxygène.

Néanmoins les molécules les plus étudiées impliquent des radicaux centrés sur l'atome d'oxygène, les plus fréquentes étant les phénols (ArOH). L'avantage de ces structures radicalaires (ArO•) est qu'elles ne réagissent pas avec l'oxygène pour former des systèmes trioxyl ArOOO• puisque cette étape est endergonique d'environ 20 kcal / mol. Le deuxième point sur la conception de ces structures phénoliques réside en leur capacité à réagir rapidement avec les radicaux peroxydes ROO•.

La transformation (ROO• en ROOH) se fait avec une enthalpie de dissociation (BDE, *bond dissociation enthalpy*) d'environ 88 Kcal/mol. Ceci implique l'utilisation des systèmes phénoliques ayant une BDE inférieure à 88 kcal/mol. Cette propriété conduit à une réaction exergonique et rapide de piégeage de radical peroxy ROO•.

C'est ainsi que α-TocH est un bon antioxydant (BDE : 77 kcal/mol). Il faut également tenir compte de la génération du radical formé à partir de l'antioxydant α-TocH. Cette régénération se fait en général en milieu physiologique par l'anion ascorbate (BDE : 68.5 kcal/mol).

En conclusion, les valeurs de BDE qu'un bon antioxydant de synthèse doit posséder devraient être comprises entre 68.5-77 kcal/mol.

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

Wright et al <sup>[18]</sup> ont rapporté en 2001 la variation de l'enthalpie de dissociation de la liaison OH (BDE) en fonction de la nature des substituants sur le noyau phénolique dans la prédiction ou la détermination du potentiel antioxydant d'un phénol donné.

Une substitution par un groupe électro-donneur en position ortho ou para du OH phénolique conduit à une diminution de la BDE de la liaison O-H. En revanche une substitution par un groupement électro-attracteur augmente la valeur de la BDE <sup>[19]</sup>. Les effets de différents substituants du cycle aromatique sur la BDE sont montrés dans le **tableau 1**.

groupe	Position du substituant		
	Ortho	Meta	Para
NH <sub>2</sub>	- 11.5	-0.2	-9.4
OCH <sub>3</sub>	- 1.4	-0.6	-6.1
OH	-9.2	-0.4	-5.9
CHCH <sub>2</sub>	-4.0	-0.2	-4.7
CH <sub>3</sub>	-2.7	-0.6	-2.5
<i>Tert</i> -butyl	-2.0	-0.4	-2.5
Cl	+1.0	+1.2	-1.4
CN	+3.6	+2.7	+2.2
CHO	+8.0	+2.2	+2.4
COOH	+8.1	+2.5	+2.6
CF <sub>3</sub>	+4.0	+2.1	+3.2
NO <sub>2</sub>	+10.0	+3.4	+4.6

**Tableau1** : Effets du substituant en (ortho, méta ou para) sur la variation de l'enthalpie de dissociation de la liaison O-H (BDE).

Une valeur négative montre que le substituant diminue cette énergie et par conséquent l'efficacité antioxydante est augmentée. Comme remarque générale, un groupe électro-donneur tel qu'une amine (NH<sub>2</sub>) favorise l'activité antioxydante et vice versa avec un groupe électro-attracteur (comme un nitro NO<sub>2</sub>).

Le troisième point est que le radical *néo* formé devrait être relativement non réactif avec les lipides, les protéines ou d'autres substrats biologiques. Le quatrième point est que, les antioxydants ou leurs radicaux formés suite à une réaction de réduction ne devraient pas réagir avec l'oxygène moléculaire à un taux élevé pour produire l'anion superoxyde ou son acide conjugué ou le radical hydroperoxyde (autoxydation).

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

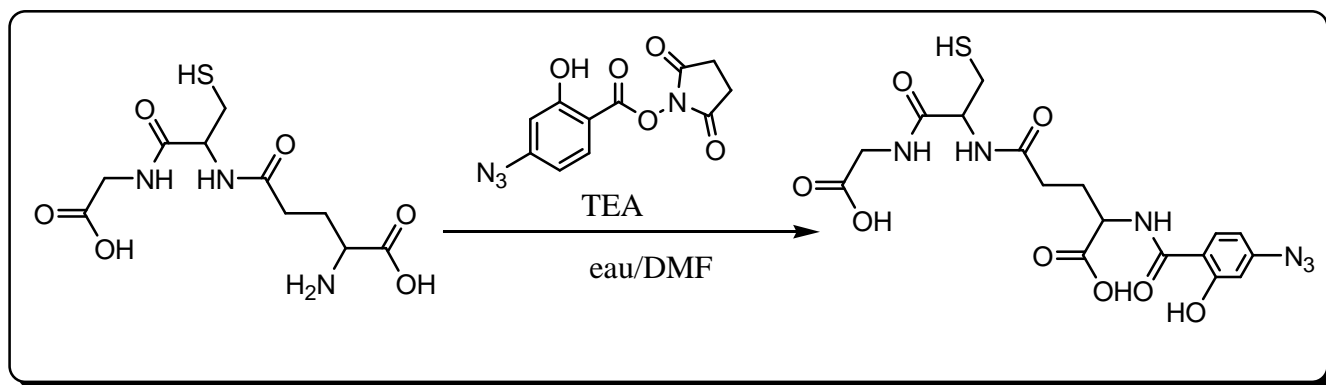
Enfin, en chimie médicinale, les règles de Lipinski<sup>[20]</sup> ont une importance majeure. Le respect de ces règles donnera plus de chance aux agents de devenir un candidat médicament. Ces règles sont :

- ❖ Nombre de donneurs de liaison hydrogène < 5 (groupements NH ou OH)
- ❖ Nombre d'accepteurs de liaison hydrogène < 10 (atomes N ou O)
- ❖ Masse moléculaire < 500
- ❖ C log P < 5

### III. Exemples de synthèse

#### 1. Analogue de GSH

De part son omniprésence dans les cellules, le GSH a attiré les chercheurs depuis de nombreuses décennies. En conséquence il y a un grand nombre d'exemples d'analogues du GSH dans la littérature<sup>[21, 22, 23, 24]</sup>. En 2003 Karwatsky et col<sup>[25]</sup> atteignent un dérivé du GSH N-modifié en travaillant directement avec le GSH sous sa forme réduite. (**Schéma 1**)



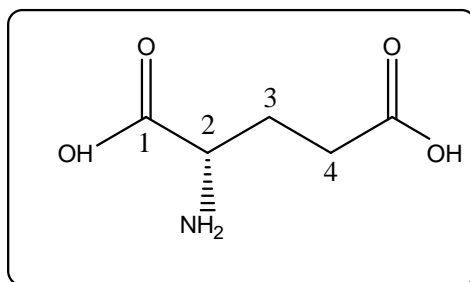
**schéma 1** : un analogue de GSH N-modifié

Ce protocole consiste à faire réagir le GSH avec un équivalent d'ester *N*-hydroxysuccinimide de l'acide 4-azidosalicylique dans un mélange eau/DMF en présence de triéthylamine.



# Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

## 2. Analogues de L'acide Glutamique (Glu)

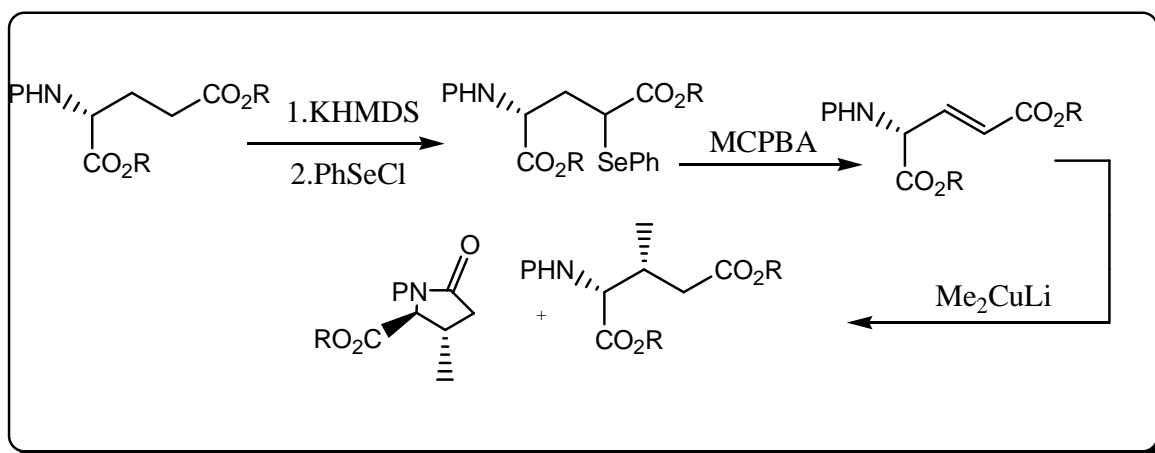


**Schéma 2 :** L'acide Glutamique (Glu)

L'acide Glutamique (Glu) joue un rôle très important dans le système nerveux central des vertébrés, tel qu'il est le principal neurotransmetteur excitateur.

Il existe des méthodes de synthèse permettant la préparation stéréosélective d'analogues du Glu substitués en position 3 et 4.

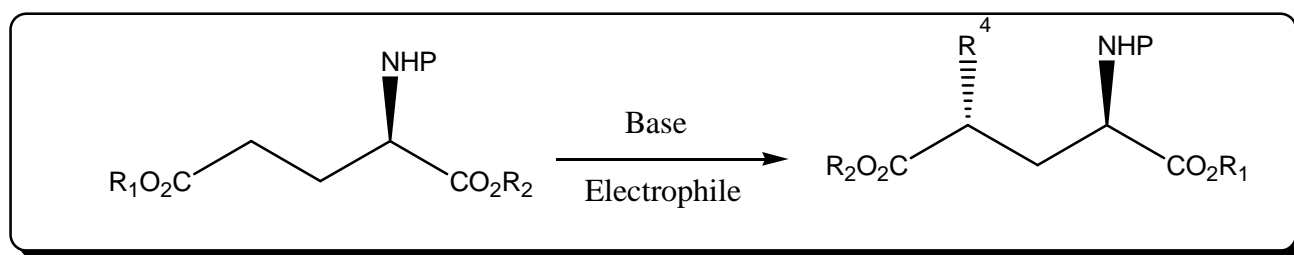
En 1993, Paz et al <sup>[26]</sup> ont effectué la synthèse du 3-méthylGlu en introduisant un groupement méthyle en position 3 par addition de Michael du diméthyl cuprate de lithium sur le dérivé (3,4)-didéshydro-Glu préparé au préalable à partir du Glu. Cette réaction n'est pas diastéréosélective mais offre l'avantage d'une séparation facile des deux diastéréoisomères car seul l'isomère *érythro* se cyclise (**schéma 3**).



**Schéma 3 :** synthèse du 3-méthyl-Glu à partir du Glu.

Les exemples d'alkylation directe sur la position 4 du Glu sont nombreux. Si la protection des deux groupements carboxylate et de l'amine est judicieuse, alors l'alkylation, est au même temps régiosélective, et stéréosélective. (**Schéma 4**), (**tableau 2**)

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion



**Schéma 4:** alkylation du Glu protégé.

P	R1	R2	Base	Electrophile	Rendement	Stéréosélectivité (syn/anti)
Pf	tBu	Me	KHMDS	BrCH <sub>2</sub> CN	43	7/17
p-nitrobenzoyl	Et Me	Et Me	LiHMDS	Halogénure d'alkyles et allyliques	49-65	0/100
Cbz BOC	Me	Me	LiHMDS	BnBr	77 75	1/99

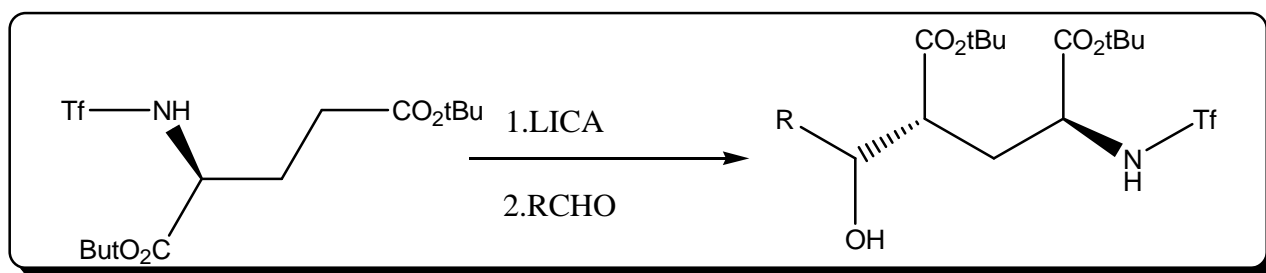
**Tableau 2 :** alkylation du Glu protégé.

Pour éviter une épimérisation du C2 en présence d'une base forte, l'amine doit être préférentiellement protégée par des groupements encombrants tels que le 9-phénylfluorényle (Pf), le *p*-nitrobenzoyl ou un carbamate comme Cbz qui augmente l'acidité du NH. De même, le groupement carboxylate  $\gamma$ -du Glu a été protégé par des groupements méthyliques, éthyliques ou *tert*-butyliques (tBu).

Le choix de la base est tout aussi important pour assurer la stéréosélectivité de l'alkylation. Une base non nucléophile, plus encombrée et moins forte que le LDA comme les bases conjuguées de l'héxaméthylsilazane KHMDS ou LiHMDS, semble préférable.

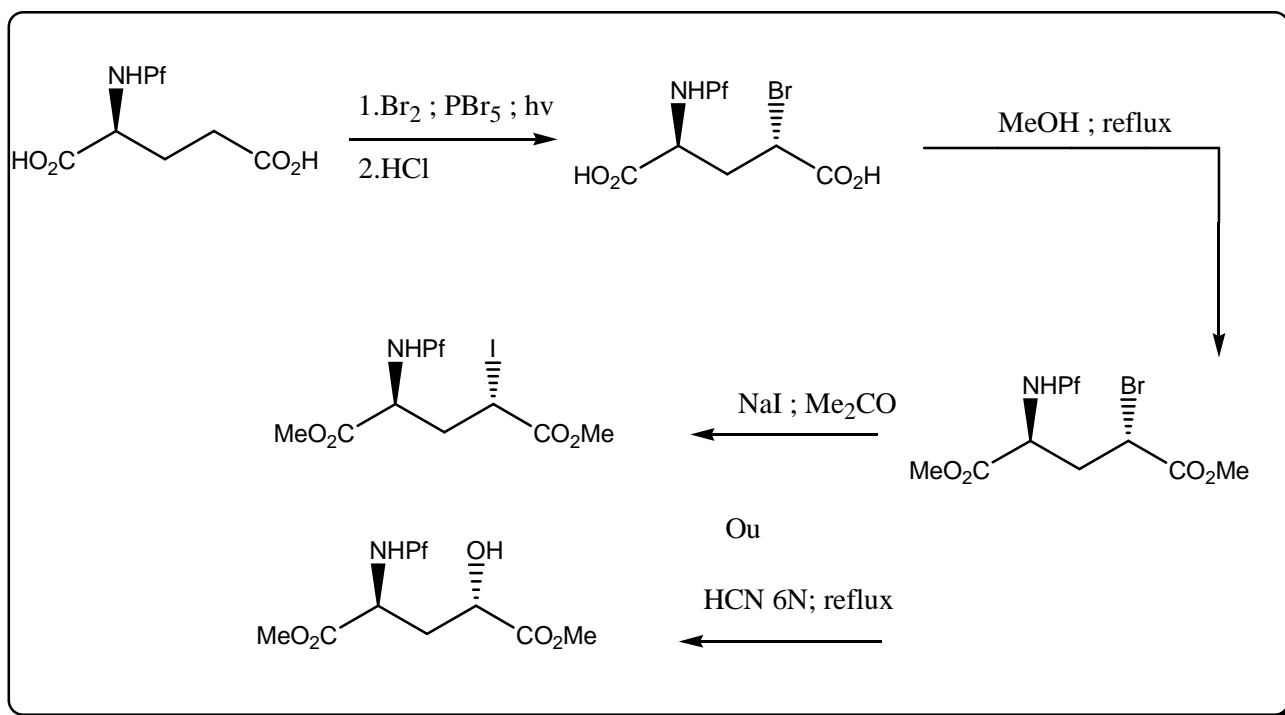
L'isopropylcyclohexylamidure de lithium (LICA) a également été utilisée dans des réactions d'aldolisation pour former des 4-hydroxyalkyl-Glu <sup>[27]</sup> (**Schéma 5**) Cependant la diastéréosélectivité de cette réaction est faible.

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion



**Schéma 5:** synthèse d'analogues des 4- hydroxyl-Glu.

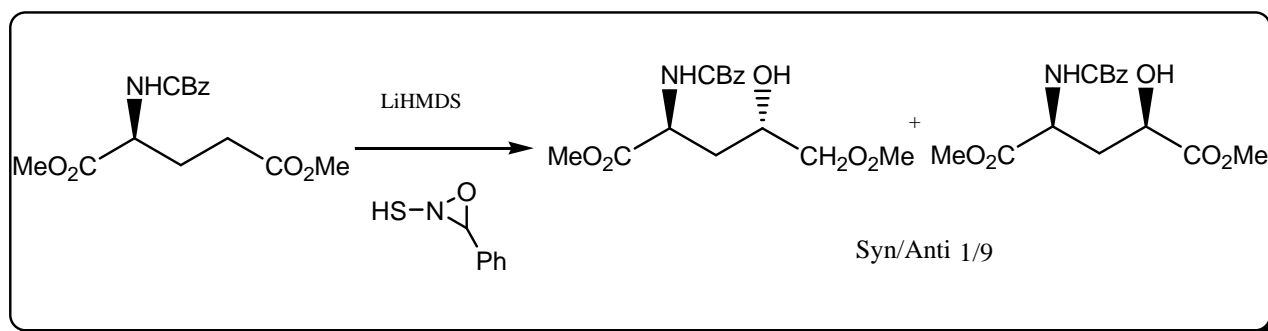
L'obtention directe d'analogues du Glu substitués en 4 par un groupement polaire tel qu'un hydroxyle ou un halogène, est plus rare. Krasnov et al. <sup>[28]</sup> ont synthétisé le 4-bromo-Glu directement à partir du Glu en présence de  $\text{Br}_2/\text{PBr}_5$  sous irradiation (**schéma 6**). Les dérivés 4-iodo et 4-hydroxy-Glu ont ensuite été synthétisés par substitution nucléophile à partir du 4-bromo-Glu protégé. La fragilité des dérivés halogénés qui s'épimérisent aisément dans les solvants utilisés, ne permet pas de déterminer précisément le rapport *syn/anti*. Cependant, il semble que l'isomère *anti* soit majoritaire.



**schéma 6 :** synthèse des 4-bromo, iodo et hydroxy-Glu.

Le (2*S*,4*R*)-4-hydroxy-Glu a également été obtenu majoritairement par oxydation du Glu protégé en utilisant le réactif de Davis (3-Phényl-N-phénylsulfonyloxaziridine)<sup>[29]</sup> comme le schéma ci-après le montre.

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

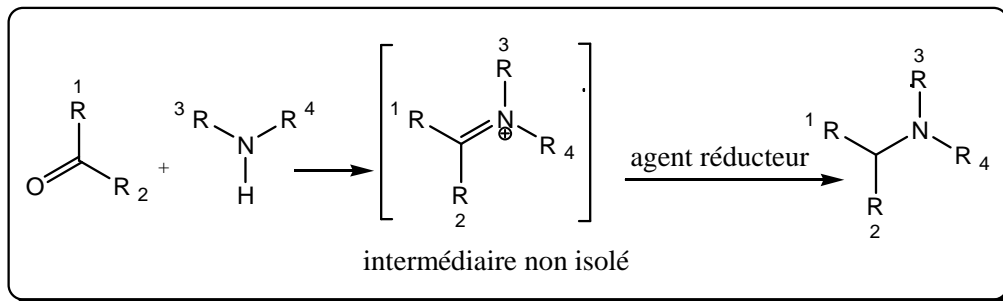


**Schéma 7** : synthèse du 4-hydroxy-Glu par oxydation du Glu protégé.

La diméthylation du Glu a été envisagée mais ne s'avère être possible qu'en enchainant les réactions d'alkylation une par une à partir de réactifs isolés et purifiés, et en protégeant le groupement carboxylate  $\gamma$  par un ester allylique <sup>[30]</sup>.

### 3. Amination réductrice

Il ya pas mal d'exemples sur l'amination réductrice, illustrons des résultats sur ce genre de réaction, en utilisant des borohydrures comme agents de réduction.



**Schéma 8** : Réaction d'amination réductrice en présence des borohydrures

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

Conditions	R1	R2	R3	R4	Temps (h)	Rdt (%)
<b>NaBH<sub>3</sub>CN, AcCN, 25°C</b>	CH <sub>3</sub>	H	Ph	H	2	92
<b>NaBH(OAc)<sub>3</sub>, DCE</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub>	H	Ph	H	24	95
<b>NaBH<sub>3</sub>CN-Ti(O<i>Pr</i>-i)<sub>4</sub>, NEt<sub>3</sub>, EtOH, 25°C</b>	Ph	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	20	95
<b>Zn(BH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>-ZnCl<sub>2</sub></b>	CH <sub>3</sub>	H	PhCH <sub>2</sub>	H	10	65
<b>Zn(BH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>-N-méthylpipéridine</b>	Ph	H	Ph	H	2	91
<b>Gel de silice-ZnBH<sub>4</sub></b>	PhCH=CH	H	Ph	H	1	84
<b>NiCl<sub>2</sub>-NaBH<sub>4</sub></b>	ph	H	Ph	H	5 min	75
<b>Ti(OiPr)<sub>4</sub> NaBH<sub>4</sub></b>	Ph	CH <sub>3</sub>	H	H	17	83
<b>Décaborane (B<sub>10</sub>H<sub>14</sub>)</b>	Ph	H	4-NO <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	H	0.5	96
<b>BH<sub>3</sub>-pyridine</b>	Ph	H	PhCH <sub>2</sub>	H	3	96

**Tableau 3** : Réaction d'amination réductrice en présence des borohydrures

Le borohydrure de nickel, préparé en in situ à partir de NiCl<sub>2</sub>-NaBH<sub>4</sub> <sup>[31]</sup> utilisé dans la réaction d'amination réductrice entre le benzaldéhyde et l'aniline, conduit à un rendement de 75% .

Le système Ti(OiPr)<sub>4</sub>-NaBH<sub>4</sub> <sup>[32]</sup> est appliqué dans la réaction de monoalkylation de l'ammoniac par une cétone.

Le décaborane (B<sub>10</sub>H<sub>14</sub>) est très réactif dans cette transformation et permet d'effectuer la réaction avec une quantité stœchiométrique d'aldéhyde par rapport à l'amine <sup>[33]</sup>.

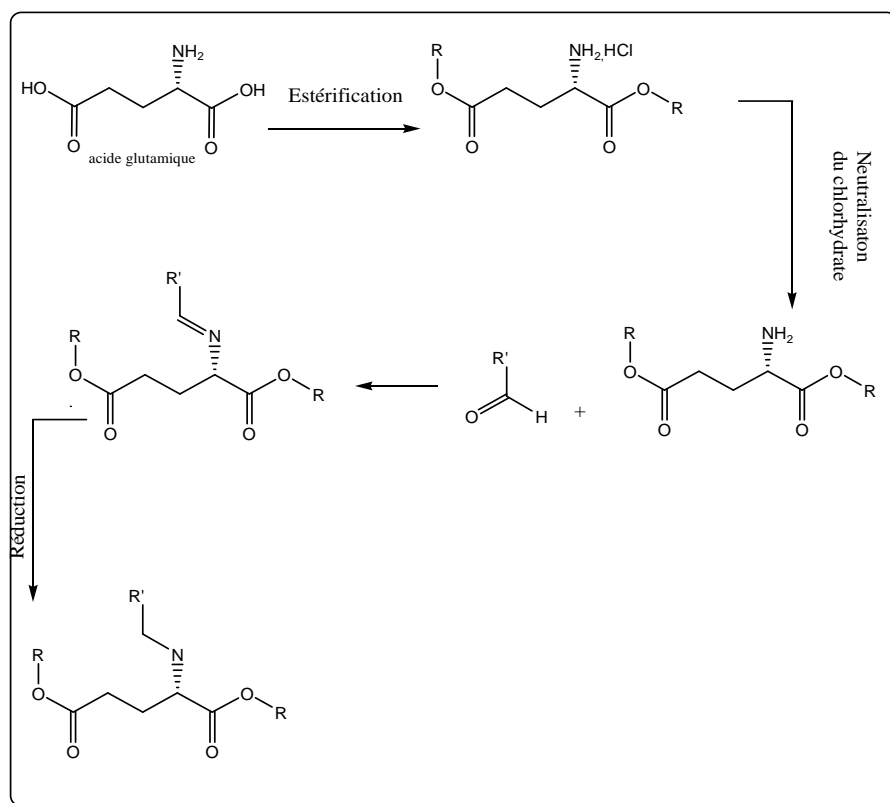
Il faut également noter que le complexe BH<sub>3</sub>-pyridine appliqué dans cette réaction, permet d'obtenir une amine avec un bon rendement par simple distillation.

# Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

## I. Rappel des objectifs

### 1. Schéma global du travail

Notre synthèse de l'analogue de l'acide glutamique de glutathion a été réalisée en quatre étapes en partant de l'acide glutamique et un benzaldéhyde. Les étapes suivies sont résumées dans le schéma suivant :



Pour effectuer le couplage, il est nécessaire de faire des transformations chimiques satisfaisantes ; ceci impose de bloquer une ou plusieurs fonctions réactives présentes dans les deux réactifs.

Chaque groupement protecteur possède une spécificité de stabilité, de fixation et d'élimination en fonction des conditions opératoires <sup>[35]</sup>.

### 1. Estérification de l'acide glutamique :

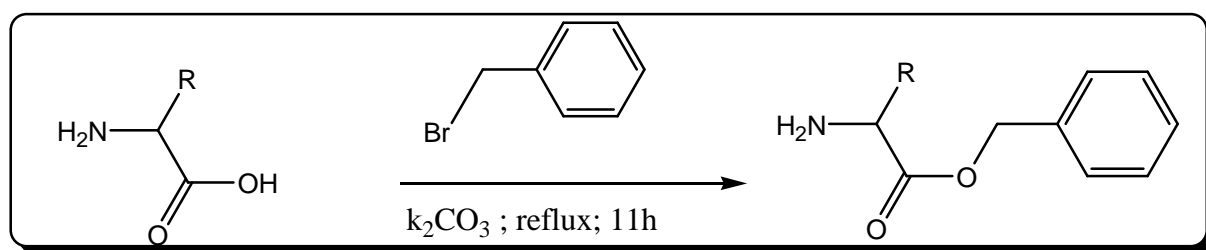
Le produit de départ de notre synthèse est l'acide glutamique, ce dernier possède deux fonctions acides carboxyliques qui sont généralement protégés sous forme d'ester.

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

La réaction des acides sur les alcools primaires et secondaires est une réaction d'estérification équilibrée. La réaction est menée à son terme en faisant l'avancer soit par élimination irréversible de l'eau en utilisant la distillation azéotropique<sup>[36]</sup> ou bien l'utilisation d'un excès d'alcool. Il existe plusieurs types d'esters, les plus utilisés sont:

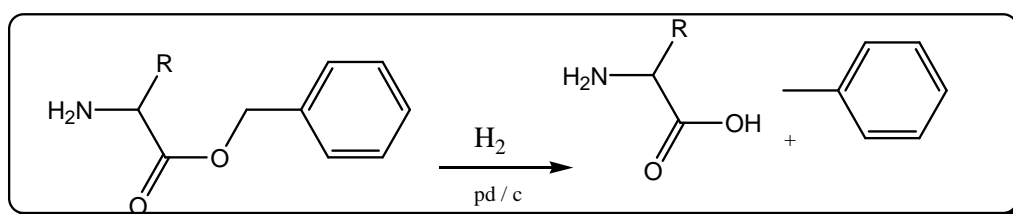
### ❖ L'ester benzylique:

#### ✓ Protection :



#### ✓ Déprotection :

Celui-ci est facilement clivé par hydrogénation catalytique pour obtenir l'acide aminé et le toluène<sup>[37]</sup>.

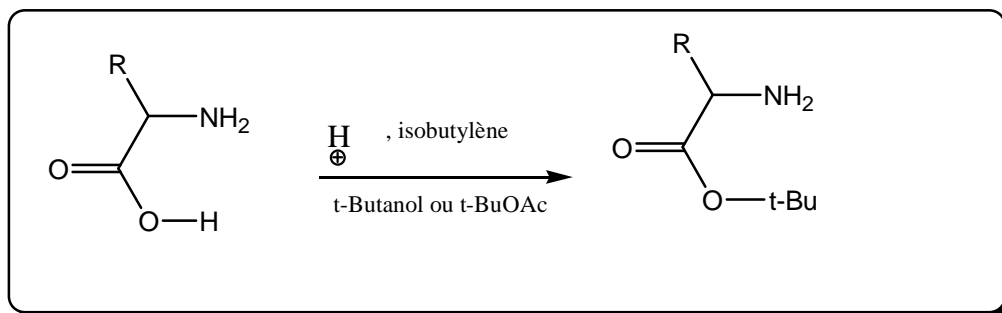


### ❖ L'ester tertiobutylique:

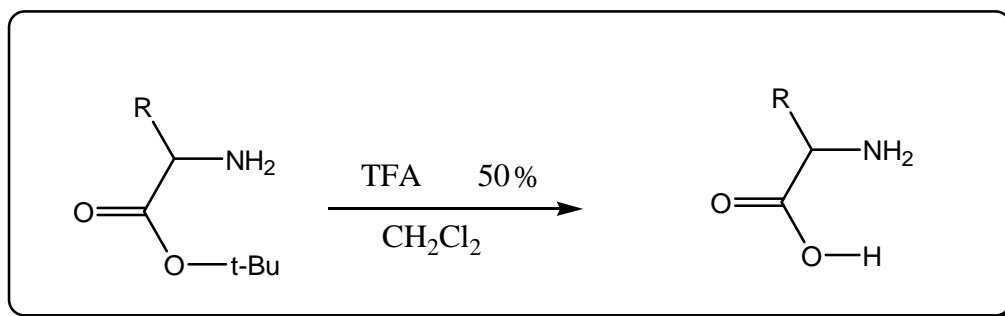
Dans la chimie des acides aminés et des peptides, on utilise souvent l'ester tertiobutylique qui peut être facilement éliminé avec l'acide trifluoroacétique (TFA)<sup>[38], [39]</sup>

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

### ✓ Protection :



### ✓ Déprotection :



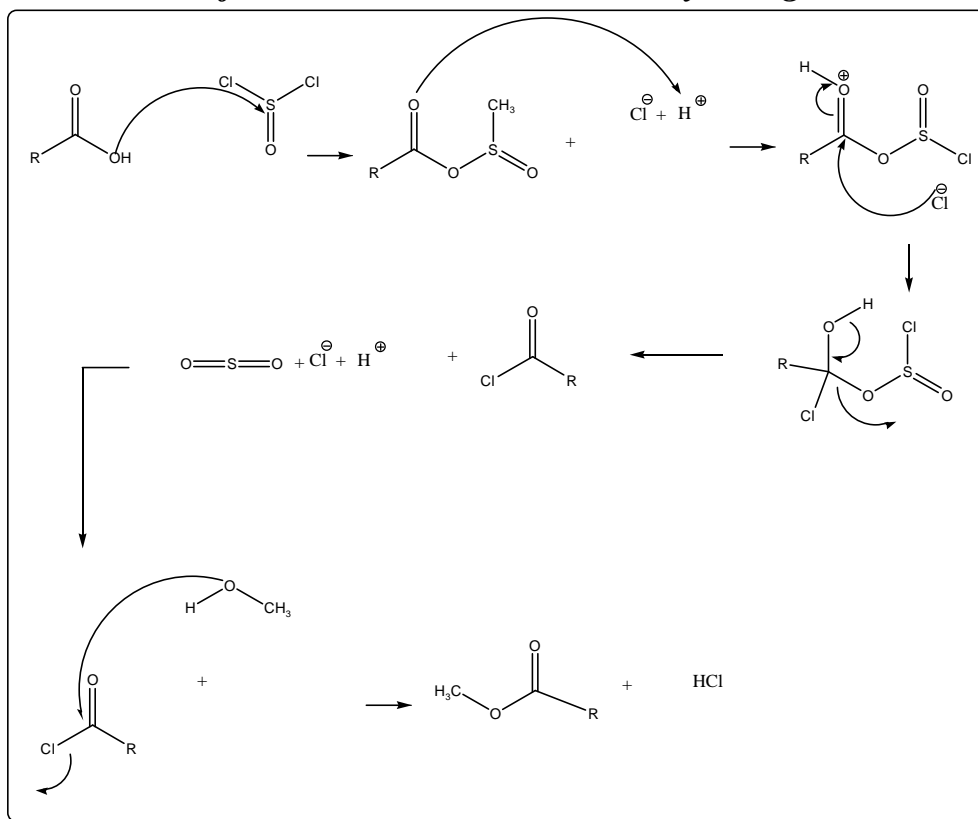
### ❖ Ester méthylique

Dans notre cas, nous avons protégé l'acide avec le méthanol (qui est relativement moins couteux), afin de le convertir en groupe ester méthylique. Le procédé consiste à préparer un chlorure d'acide, en utilisant le chlorure de thionyle additionné goutte à goutte sur un mélange de l'acide et de méthanol sec à froid, puis on laisse le mélange sous agitation à température ambiante pendant 2h.



## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

### ❖ Mécanisme de formation de l'ester de diméthyle de glutamate:



### 3. Neutralisation du chlorhydrate :

Les amines, composés basiques et "hydrogénables" forment facilement des chlorhydrates qui sont de fait des chlorures de l'acide conjugué (un chlorure d'ammonium pour les amines).

Pour neutraliser le chlorhydrate, on utilise La triéthylamine (TEA) ou *N,N*-diéthyléthanamine, un composé basique, qui peut se combiner avec l'acide chlorhydrique généré, il est ajouté au chlorhydrate (dissout dans le THF) goutte à goutte jusqu'à l'obtention d'un pH entre 8 et 9. Après agitation, on observe un dépôt blanc, le chlorhydrate de triéthylammonium, qu'on élimine par simple filtration.

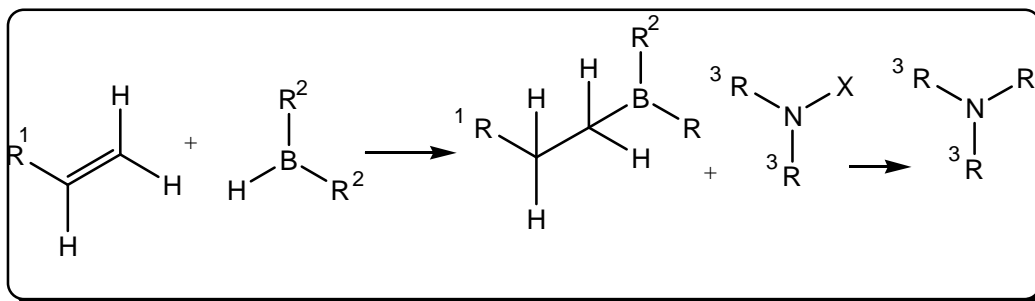
### 4. Amination

Les composés azotés occupent une place importante en chimie organique car ces derniers peuvent présenter des activités biologiques intéressantes. Dans la littérature, il existe plusieurs méthodes décrivant la formation d'amines hautement substituées, parmi celles-ci, on peut citer :

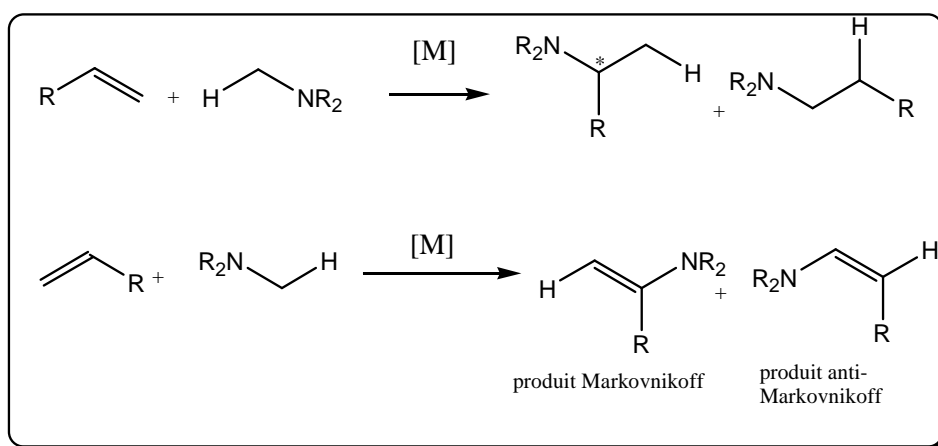
## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

### ❖ Amination électrophile d'alcènes.

Elle s'effectue, par exemple, *via* un composé organoborane <sup>[40]</sup>, et peut conduire à la formation d'amines primaires, secondaires et tertiaires



### ❖ Hydroamination

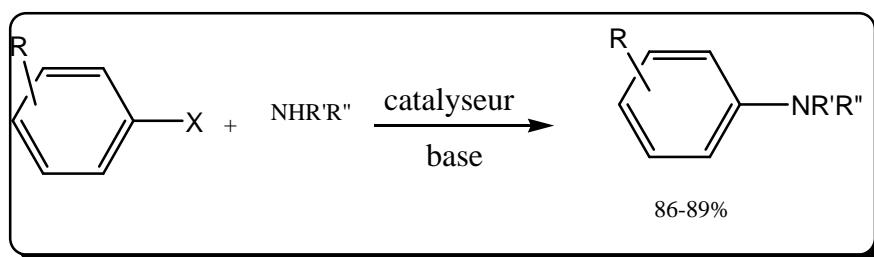


[M] = métal

Le métal utilisé dans cette réaction peut être le titane, le fer, le zirconium, le palladium, le mercure ou encore les lanthanides.

### ❖ Couplage organométallique entre une amine et un halogénure

Cette réaction est connue sous le nom de Buchwald-Hartwig. Les catalyseurs employés sont principalement des complexes du palladium comportant des ligands phosphorés ou carbéniques <sup>[41]</sup>



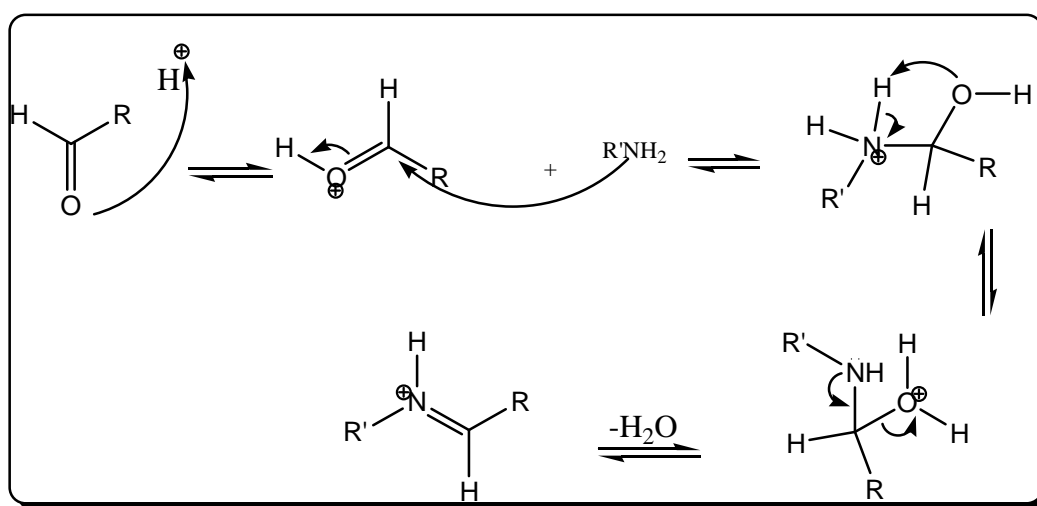
## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

### ❖ Amination réductrice

Parmi les méthodes de synthèse des amines, la plus connue d'entre elles et la plus utilisée est certainement la réaction d'amination réductrice qui porte également le nom d'alkylation réductrice. Il s'agit d'une réaction de condensation entre une amine et un composé carbonylés. Celle-ci peut être effectuée de façon directe (« one-pot »), c'est-à-dire en mélangeant les différents composés sans isoler l'imine intermédiaire (C'est le chemin que nous avons utilisé pour réaliser notre objectif. Elle peut également être effectuée de façon indirecte. Il s'agit alors de la pré-formation de l'imine intermédiaire suivie d'une réduction.

### ♣ Mécanisme

La première étape consiste en la formation d'un intermédiaire hémi-aminal. Ensuite, sous conditions légèrement acides ou neutres, ces hémi-aminaux sont déshydratés pour former les imines ou iminiums. Ces derniers sont ensuite réduits en amines alkylées.



### 5. Réduction de la fonction imine :

Il est primordial de choisir un agent réducteur réagissant chimiosélectivement avec les imines et non avec les carbonyles. Il existe plusieurs réducteurs tels que les réactifs d'hydrogénation, les borohydrures, les organosilanes, les dérivés de l'étain...

Dans notre cas, nous avons pensé à un borohydrure ( $\text{NaBH}_3\text{CN}$ ) en tant qu'agent réducteur, car les borohydrures présentent de nombreux avantages tels que leur stabilité en solution acide très forte ( $\sim\text{pH } 3$ ), leur solubilité dans les alcools, et leur sélectivité différente en fonction du pH. En effet, à pH 3-4, un

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

borohydrure réduit un aldéhyde et une cétone, mais la réduction devient plus lente à pH plus élevé. A pH 6-8, les imines sont protonnées sélectivement et réduites plus rapidement que les aldéhydes ou cétones.

Il ya des limitations de cette méthode car cette réaction nécessite l'utilisation d'un excès d'amine (jusqu'à 5 équivalents). De plus, la vitesse de réaction diminue dans le cas d'une cétone aromatique ou d'une amine faiblement basique, et il peut également y avoir contamination en résidus de type cyanure. En effet,  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  est très toxique et peut conduire à des sous produits comme HCN et NaCN.

Dans la littérature,  $\text{TiCl}_4\text{-NaBH}_3\text{CN}$  est utilisé comme un acide de Lewis, quand l'intermédiaire iminium est difficile à former. Un excès d'amine est ainsi toujours nécessaire et  $\text{TiCl}_4\text{-NaBH}_3\text{CN}$  n'est pas compatible avec des composés possédant une fonctionnalité sensible aux milieux acides. Afin de contourner ce problème,  $\text{TiCl}_4\text{-NaBH}_3\text{CN}$  a été remplacé par  $\text{Ti}(\text{O}i\text{-Pr})_4\text{-NaBH}_3\text{CN}$ .

Pour tout cela et afin d'éviter toute contamination par des résidus de cyanure dans le produit souhaité, nous avons utilisé un borohydrure modifiés qui est le triacétoxyborohydrure de sodium  $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ , il présente l'avantage de pouvoir être employé dans des conditions de réaction très douces grâce aux trois groupements attracteurs qui permettent d'activer la liaison bore-hydrogène.

Des borohydrures de zinc ont également été étudiés dans la réaction d'amination réductrice. En effet, ces composés sont stables, peu couteux et non toxiques. Le  $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2\text{-ZnCl}_2$ , le  $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2\text{-N}$ -méthylpipéridine, le mélange gel de silice- $\text{ZnBH}_4$ , sont utilisés dans la réaction d'amination réductrice avec des conditions de réaction très douces et permettent l'obtention d'amines primaires, secondaires, cycliques ou acycliques. Le borohydrure de nickel, préparé en in situ à partir de  $\text{NiCl}_2\text{-NaBH}_4$ , utilisé dans la réaction d'amination réductrice entre le benzaldéhyde et l'aniline, conduit à un rendement de 75%.

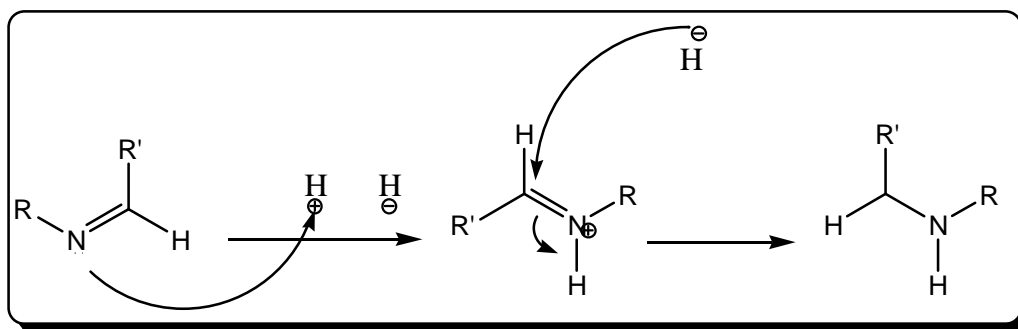
Le système  $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_4\text{-NaBH}_4$  est appliqué dans la réaction de monoalkylation de l'ammoniac par une cétone. Le décaborane ( $\text{B}_{10}\text{H}_{14}$ ) est très réactif dans cette transformation et permet d'effectuer la réaction avec une quantité stoechiométrique d'aldéhyde par rapport à l'amine.

Il faut également noter que le complexe  $\text{BH}_3\text{-pyridine}$  appliqué dans cette réaction, permet d'obtenir une amine avec un bon rendement par simple distillation.

### ♣ Mécanisme de réduction d'une fonction imine :

Dans un premier temps, l'amine réagit avec le carbonyle, pour former une imine. Cette première étape est une condensation, dans le sens qu'elle libère une molécule d'eau. Ensuite l'iminium est réduit par le donneur d'hydrogène en amine.

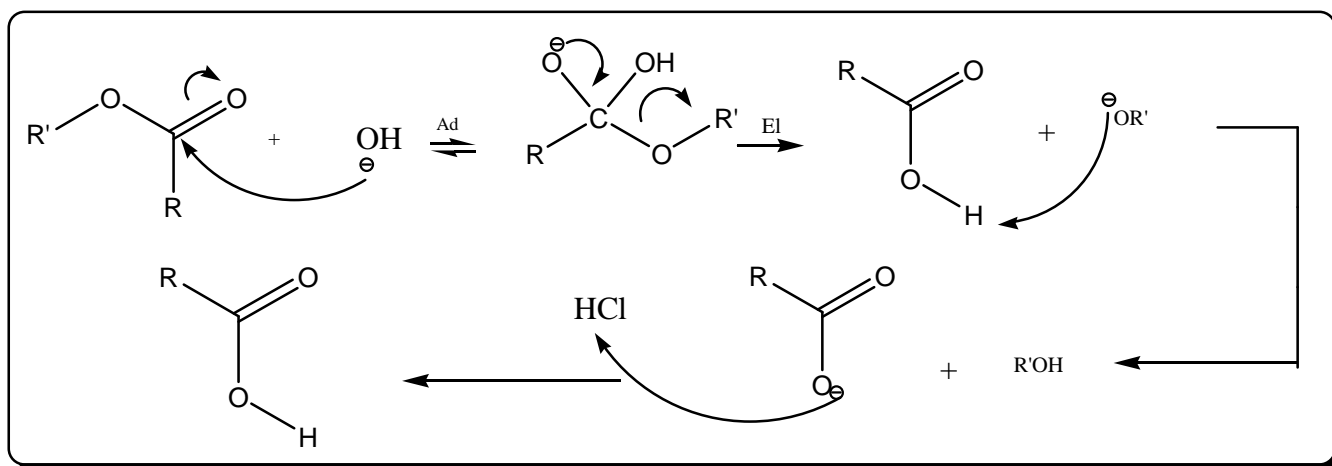
## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion



### 6. Déprotection de la fonction ester :

On fait l'hydrolyse de la fonction ester en acide, il faut dissoudre le produit dans un mélange THF/ $H_2O$ , puis on ajoute l'hydroxyde de lithium sous une agitation pendant une nuit <sup>[42]</sup>. Cette étape n'a pas été réalisée dans notre cas, car la quantité du produit est très faible

#### ♣ Mécanisme d'hydrolyse



## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

---

### II. Conclusion

Le **glutathion (GSH)** est un tripeptide, formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine c'est un antioxydant et intervient dans un certain nombre de réaction de détoxification et d'élimination d'espèces réactives de l'oxygène. Par conséquent, il joue le rôle dans la maintenance d'une bonne santé et à la prévention des maladies.

Aussi le **glutathion** joue un rôle essentiel dans le mécanisme de protection contre la mort cellulaire. Ainsi un taux élevé en GSH est associé à la résistance anti-apoptotique des cellules cancéreuse, ce tripeptide est une cible thérapeutique d'intérêt pour améliorer l'efficacité des traitements anticancéreux.

Le but de ce travail est de synthétiser un analogue du fragment glutamique du glutathion, l'**acide glutamique (Glu)**, acide aminé naturel constituant de toutes protéines, joue un rôle clé dans le métabolisme de tout être vivant sur Terre. Le **Glu** possède un rôle fondamental dans la communication cellulaire au sein du système nerveux central (SNC) des vertébrés. Il est aujourd'hui reconnu comme le principal neurotransmetteur exciteur. De plus, son implication dans la communication cellulaire au niveau du système immunitaire apparaît de plus en plus évidente.

Cette synthèse a été effectuée à partir de deux réactifs commerciaux disponibles au laboratoire, à savoir l'acide glutamique et la vanilline (contient un motif phénolique, connu pour ses propriétés antioxydante). Cette voie nous a donné un résultat satisfaisant. Il est possible de disposer de cet analogue de très bonne qualité, si on optimise sa synthèse avec application des techniques de purification adéquates, et par conséquent, avoir une cible thérapeutique intéressante dans l'optique d'améliorer l'efficacité de traitements anticancéreux.

# Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

## I. Généralités

### 1. Purification des solvants

La plupart des réactions sont réalisées avec des réactifs et des solvants commerciaux. Ces derniers ont été utilisés anhydres et dégazés à l'azote alors que les autres solvants ont été distillés ou séchés avant usage. Ainsi le méthanol (MeOH) est distillé avec un traitement de magnésium (Mg) et d'iode (I<sub>2</sub>) et conservé sur un tamis moléculaire (4Å) tandis que le THF est conservé sur sodium effilé.

### 2. Spectroscopie infrarouge

Les spectres dans l'infra-rouge ont été obtenus au Centre de mesures du laboratoire COSNA sur un appareil Mattson Genesis II FTIR. Les échantillons étaient traités soit en solution dans le dichlorométhane (DCM) ou sous forme pastilles de KBr. Les principales fréquences d'absorption sont données en nombre d'onde (cm<sup>-1</sup>).

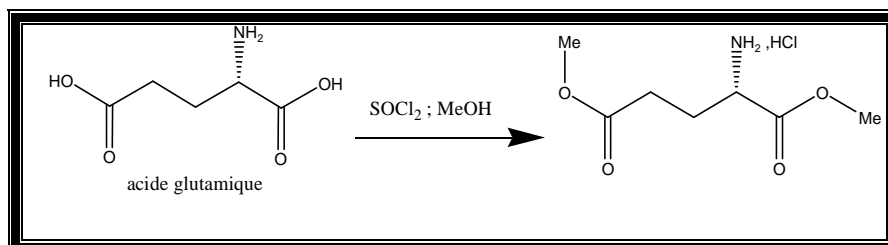
### 3. Chromatographie

La chromatographie sur couche mince (CCM) ont été réalisées sur des plaques de gel de silice sur support d'aluminium. Elles sont observées en lumière ultraviolette à 254 nm ou trempées dans un révélateur constitué d'une solution de ninhydrine dans l'acétone.

## II. Synthèses

### 1. Esterification de l'acide glutamique

- *Schéma réactionnel :*



## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

- **Mode opératoire :**

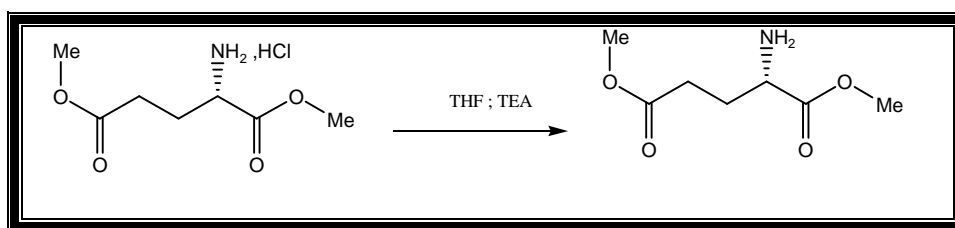
On place l'acide glutamique (5 g, 34 mmol) dans un bicol, équipé d'un agitateur et d'un réfrigérant muni d'une garde à chlorure de calcium anhydre ( $\text{CaCl}_2$ ) et le tout est gardé 30 mn sous courant d'azote. On ajoute du MeOH sec (50 ml) puis du  $\text{SOCl}_2$  (2 eq, 4,89 ml), additionné goutte à goutte tout en maintenant le mélange à une température proche de  $0^\circ\text{C}$ . Ensuite, on porte le tout à reflux pendant 2h. (Remarque : la réaction est faite sous la hotte). Après, on évapore l'excès de MeOH pour récupérer le chlorhydrate de l'acide.

- **Résultats**

produit	Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	aspect
Chlorhydrate de l'ester diméthylique de glutamate	211.5	quantitatif	Gel jaune pâle

### 2. Neutralisation du chlorhydrate

- **Schéma réactionnel :**



- **Mode opératoire :**

Sous la hotte, le chlorhydrate (8,61g ; 40.7 mmol) est dissous dans le tétrahydrofurane (THF) (100 ml), et on ajoute la triéthylamine (TEA) jusqu'à l'obtention d'un pH entre 8 et 9. On laisse le mélange sous agitation toute une nuit. On filtre le sel, et on sèche sur calcium de sulfate anhydre ( $\text{CaSO}_4$ ), après on filtre et on chasse le solvant.



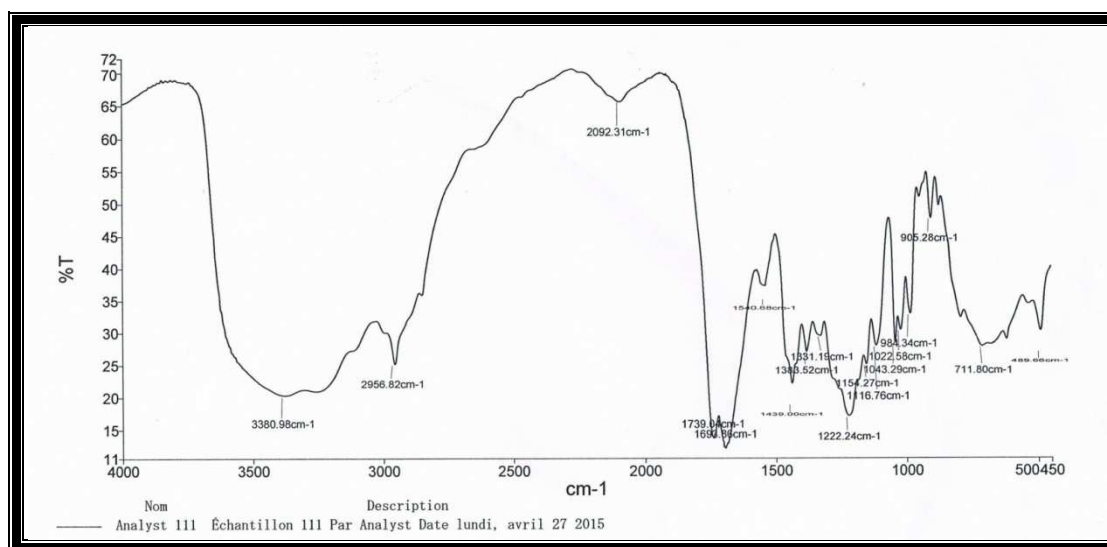
## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

- **Résultats**

produit	Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	aspect
L'ester de diméthyle de glutamate	175.1	44.9	liquide jaune citron

- **Analyses**

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 1739.04 (C=O) ; 3380.98 (O-H) ; 1154.27 et 1116.76 (C-O).



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

{ l'acide glutamique :  $R_f = 0.9$   
{ Lester de diméthyle de glutamate :  $R_f = 0.6$

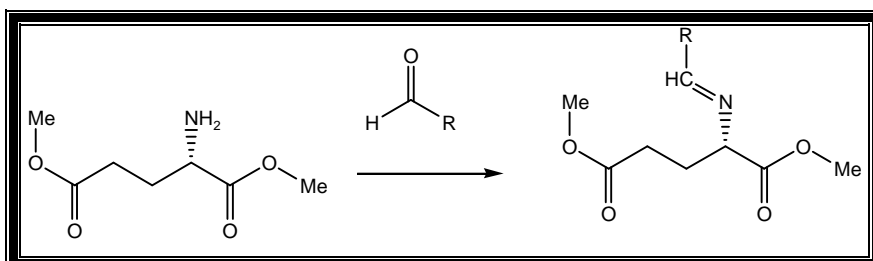
- **Conclusion:**

La réaction d'estérification a réussi, l'apparition d'une large bande vers  $3380 \text{ cm}^{-1}$  s'explique par la présence d'une liaison O-H de l'eau, car le produit est encore humide après l'évaporation du solvant.

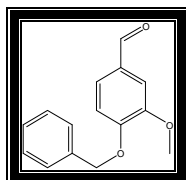
## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

### 3. Amination

- *Schéma réactionnel :*



RCHO = vanilline protégée de structure :



4-Benzyloxy-3-méthoxybenzaldéhyde

- *Mode opératoire :*

On introduit l'ester (0.5g, 2.85 mmol) dans un bicol muni d'un barreau magnétique, on ajoute du THF (40 ml), et on laisse sous courant d'azote. Ensuite on ajoute la vanilline protégée (1 eq, 0.91g). On ajoute le desséchant et on laisse le mélange réactionnel sous agitation pendant 24 h.

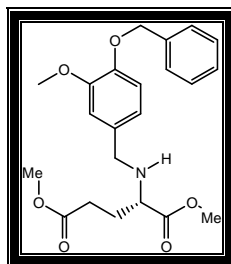
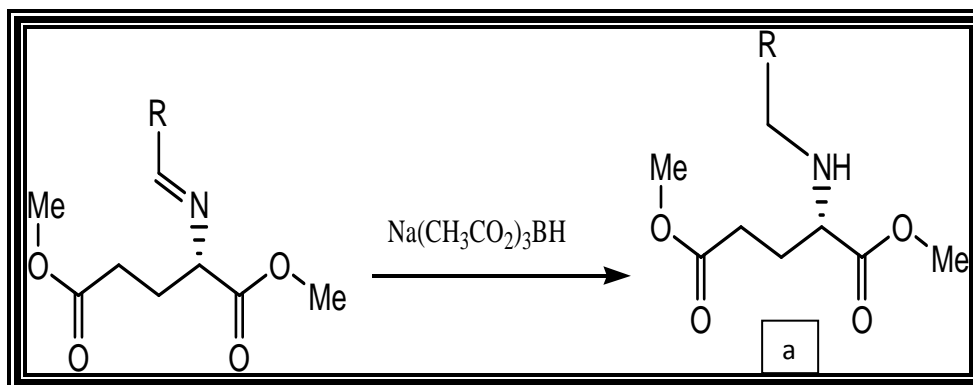
- *Résultat*

produit	Masse molaire (g/mol)
<i>Diméthyl-2-(4-benzyloxy-3-méthoxy benzaldéhyde)iminoglutamate</i>	399.17

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

### 4. Réduction

- *Schéma réactionnel :*



- *Mode opératoire :*

Ajouter à l'imine formée le triacétoxyborohydrure de sodium (Na(CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>)<sub>3</sub>BH) (3 eq., 1.81g) tout en maintenant le mélange à température proche de 0°C. Ajouter ensuite l'acide acétique (2 eq, 0,32 ml), et laisser sous agitation pendant 48 h.

Après filtration, on refroidit le mélange et on ajoute 50 ml de solution de NaOH (1N). Dans une ampoule à décanter, on fait l'extraction 3 fois avec l'acétate d'éthyle. On réunit les phases organiques et on les traite avec 50 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, on sépare la phase organique et on la sèche sur calcium de sulfate. Ensuite, on filtre puis on chasse le solvant à l'évaporateur rotatif.

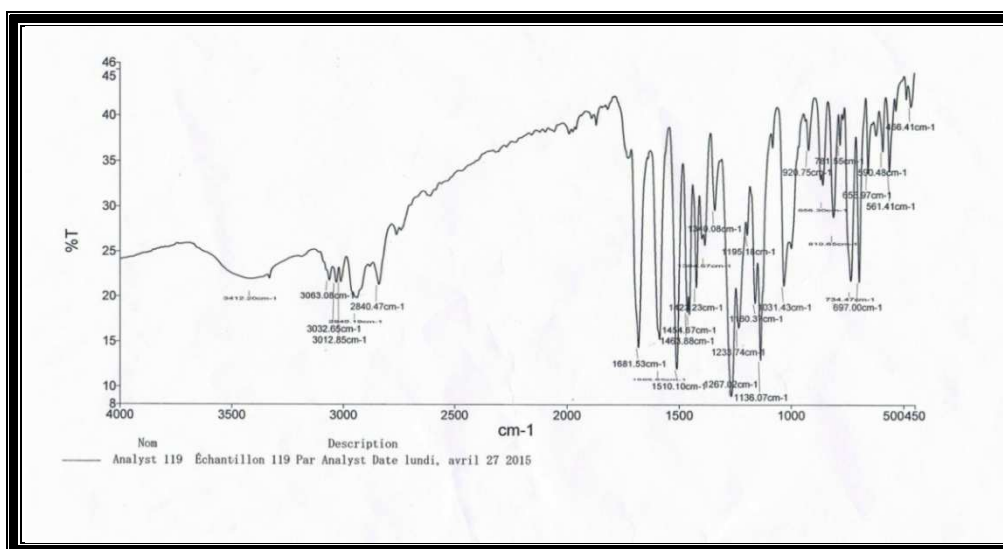
## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

- **Résultat**

produit	Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)	aspect
Diméthyl-2-(4-benzoxy-3-méthoxy benzaldéhyde)aminoglutamate	401.18	69	liquide vert huileux

- **Analyses**

IR ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1681.53 (C=O); 3412.20 (N-H); 1267.02 et 1233.74 (C-O); 3063.08 et 3032.65 et 3012.85 (C-H  $A_r$ ).



CCM/éther-éther de pétrole (9 : 1).  $R_f=0.3$

- **Conclusion:**

Notre produit souhaité, peut être obtenu d'après la présence des fonctions caractéristiques (ester, amine secondaire, noyau aromatique), mais sans RMN, on ne peut pas le confirmer de manière absolue.

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

---

### Résumé

Le **glutathion (GSH)** est un tripeptide, formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine, connu pour ses propriétés thérapeutiques intéressantes :

- ✓ Anti-vieillessement.
- ✓ Prévention et lutte contre le cancer.
- ✓ Prévention et réduction des symptômes des maladies dégénératives.
- ✓ Prévention et contrôle de l'artériosclérose.
- ✓ Diminution des effets dégénératifs du diabète.

Mais puisqu'il est impossible d'avoir le glutathion, car il est instable en dehors de l'organisme humain, des analogues de glutathion sont synthétisés.

Alors notre travail consiste à synthétiser un dérivé du fragment glutamique de glutathion, nous avons obtenu des résultats satisfaisants, en suivant quatre étapes, en partant de l'acide glutamique et de vanilline, en espérant d'avoir une cible thérapeutique intéressante dans l'optique d'améliorer l'efficacité de traitements anticancéreux.

### Abstract

**Glutathione (GSH)** is a tripeptide formed by the condensation of glutamic acid, cysteine and glycine, known for its valuable therapeutic properties:

- ✓ Anti-aging.
- ✓ Prevention and fight against cancer.
- ✓ Preventing and reducing the symptoms of degenerative diseases.
- ✓ Prevention and Control of arteriosclerosis.
- ✓ Decrease degenerative effects of diabetes.

But since it is impossible to have glutathione, because it is unstable outside the human body, glutathione analogs are synthesized.

So our job is to synthesize a derivative of glutamic glutathione fragment, we have achieved satisfactory results by following four steps, starting from glutamic acid and vanillin, hoping to have an interesting therapeutic target in order to improve the effectiveness of cancer treatment.

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

### ملخص

الجلوتاثيون هو ثلاثي الببتيد يتكون من التكتيف من حمض الجلوتاميك، الجلايسين و السيستين، والمعروف عن خصائصه العلاجية القيمة

- مكافحة الشيخوخة

- الوقاية ومكافحة السرطان

- منع والحد من اعراض الامراض التنكسية

- منع ومكافحة تصلب الشرايين

- تقليل الآثار التنكسية من مرض السكري

لذلك مهمتنا هي صنع مشتق من الجزء الجلوتاميك للجلوتاثيون ، وحققتنا نتائج مرضية باتباع أربع خطوات، بدءا من حمض الجلوتاميك وفانيليا، على أمل أن يكون هدفا علاجيا مثيرا للاهتمام من أجل تحسين فعالية علاج السرطان

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

---

### Références

- [1] M. E. Anderson. *Chemico-Biol. Inter.*, *111*,112, 1, **1998**.
- [2] F. Binkley ; K. J. Nakamura. *Biol. Chem.*, *173*, 411, **1948**.
- [3] M .H. Hanigan; H. C. Pitot. «Carcinogenesis», *6*, 165, 1985.
- [4] Meister; A.J. *Biol. Chem.*, *263*,17205, 1988.
- [5] C.L. Hammond; T. K. Lee; N. I. Ballatori. «Hepatology», *34*, 946, **2001**.
- [6] H. Sies. «Oxidative stress: from basic research to clinical application», *Am J Med.* *91*; 31-38, **1991**.
- [7] B. Baudin. «Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires», *MT Cardio.* *2(1)*; 43-52, **2006**.
- [8] E. V. Cowdry; H. T. Blumenthal. «*Cowdry's Arteriosclerosis: A Survey of the Problem*», 2nd ed.Springfield, Thomas; IL, **1967**.
- [9] F. Marchand.« Über arteriosklerose»,*Verhandlung des Congresses fur innere Medizin.* *21*; 23–59, **1904**.
- [10] P. Ambrosi; P. Rolland; D. Garçon. «Homocysteine, a risk factor of atherosclerosis», *Arch Mal Coeur Vaiss.* *89(12)*;1667-71, **1996**.
- [11] G. Assmann; P. Cullen; H. Schulte . «Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Munster (PROCAM) study»,*Circulation.**105(3)*;310-5, **2002**.
- [12] M. E. Obrenovich; N. G. Nair Beyaz A; G. Aliev; V. P. Reddy. «The Role of Polyphenolic Antioxidants in Health, Disease, and Aging», *Rejuvenation research.**13 (6)*; 631-643, **2010**.
- [13] S. Quideau; D. Deffieux; C. Douat-Casassus ; L.Pouységu.« Plant Polyphenols: Definitions, Physico Chemical Properties, Biological Activities and Synthesis», *Angew. Chem. Int. Ed.* *50*; 586-621, **2011**.
- [14] M. Leopoldini; N. Russo; M. Toscano. «The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants», *Food Chemistry.* *125*; 288–306, **2011**.

## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

---

- [15] H. H. Hussain; G. Babic; T. Durst; J. S. Wright; M. Flueraru ; A. Chichirau; L. L. Chepelev. «Development of Novel Antioxidants: Design, Synthesis, and Reactivity», *J. Org. Chem.* 68;7023-7032, **2003**.
- [16] F. Natella; M. Nardini, M. Di Felice; C. Scaccini. «Benzoic and Cinnamic Acid Derivatives as Antioxidants Structure-Activity Relation», *J. Agric. Food Chem.* 47(4); 1453-1459, **1999**.
- [17] J. C. Scaiano; A. Martin; G. P. A. Yap; K. U. A. Ingold. «Carbon-Centered Radical Unreactive Toward Oxygen: Unusual Radical Stabilization by a Lactone Ring», *Org. Lett.* 2; 899-901, **2000**.
- [18] J. S. Wright; E. R. Johnson; G. A. DiLabio. «Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants : Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects, and Application to Major Families of Antioxidants», *J. Am. Chem. Soc.* 123; 173-1183, **2001**.
- [19] M. Lucarini; G. F. Pedulli; L. Valgimigli ; R. Amorati. «Thermochemical and Kinetic Studies of a bisphenol antioxidant», *J. Org. Chem.* 66;5456-5462,**2001**.
- [20] C. A. Lipinski; F. Lombardo; B. W. Dominy; P. J. Feeney. «Experimental and computational approaches to ,**1997**.
- [21] D.Burg; L.Hameetntan; D. V.Filippov; G. A.Van der Marel; G. J. NIulder, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 12; 1579, **2002**.
- [22] D. Burg; D. V. Filippov; R. Hermanns; G. A.Van der Marel; J. H.Van Boom; G.I. Mulder, *Bioorg. Med. Chem.*, 10;195,**2002**.
- [23] D. Burg; P. Wielinga; N. Zelcer ; T.Saeki; G. J. Mulder; P. Borst, *Mol. Pharmacol.*, 62; 1160. **2002**.
- [24] G. Lucente; G. Luisi; F. Pinnen, *Il Farmaco*, 53; 72. **1998**.
- [25] J. Karwatsky; R.Daoud; J. Cai; P.Gros; E. Georges. *Biochemistry*, 42; 3286. **2003**.
- [26] M.M. Paz; F.J. Sardina; *J. Org. Chem.*, 58; 6 **1993**.
- [27]J. E. Baldwin; M. North; A. Flinn; M. G. Moloney. *Tetrahedron*, , 45; 1453,**1989**.
- [28] V. P. Krasnov; I. M. Bukrina; E. A. Zhdanova; M. I. Kodess; M. A. Korolyova. *Synthesis*, 961, **1994**.
- [29] S. Hanessian; B. Vanasse; *Can. J. Chem.*, , 71; 1401. **1993**
- [30] V. Baversias et al. *J. Med. Chem*, 40; 1495. **1997**



## Synthèse d'un dérivé du fragment glutamique de glutathion

---

- [31] I.Saxena; R. Borah; J. C. Sarma. *J. Chem. Soc., Perkin Trans, 1*, 503, **2000**.
- [32] S. Bhattacharyya; K. A.Neidigh; M. A.Avery; J. S. Williamson. *Synlett.*, 1781, **1999**.
- [33] J. W. Bae; S. H. Lee; Y. J. Cho; C. M. Yoon, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*; 145, **2000**.
- [34] (a) A. Pelter; R. M. Rosser; S. Mills. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*; 717, **1984**.  
(b) M. D. Bomann; I. C. Guch; M. DiMare. *J. Org. Chem.* 60, 5995, **1995**.
- [35] J. Domagala; J. Wemple, *Tetrahedron Lett.* 14;1179, **1973**.
- [36]R. Milcent. «Chimie organique:Stéréochimie, entités réactives et réactions». ; EDP Science Editions 328, **2007** .
- [37] W. H. Hartung; Simonoff. *Org.React*,7; 263, **1953**.
- [38]- A.L. McCloskey; G.S.Fonken; R.W. Kluiber; W.S. Johnson. *Org.Synth. 1*; 261,**1963**.
- [39] D.B. Bryan; R.F. Hall, K.G.Holden, W.F. Huff man. *Chem.Soc.99*; 2353, **1977**.
- [40] 165Brown, H. C.; Heydkamp,W. R.; Breuer, E.; Murphy, W. S. *J. Am. Chem. Soc.* 86, 3565, **1964**.
- [41](a) E. A. B Kantchev; C. J. O'Brien; M. G. Organ. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2007**. 46; 2768.  
(b) N.Marion; O. Navarro; J. Mei; E. D.Stevens; N. M.Scott; S. P. Nolan, *J. Am. Chem. Soc.* 128, 4101, **2006**.
- [42] E. J. Corey; I . Szekely; C. S. Shiner. *Tetrahedron Lett.* **1977**, 3529.