

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

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1



Faculté des Sciences

Département de Chimie  
Mémoire de Master

Préparé en vue d'obtention du diplôme  
de Master

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Organique

**Application de la méthode des carbodiimides dans la  
synthèse d'acides aminés C-protégés**

Présenté par :

**BELMOKHETAR Rayane**

**ZAMOUCI Khadidja**

Soutenu le 12/06/2023 devant le jury composé de :

A. OURADI	MCA	Président	Université Blida 1
A. BELAFRIEKH	MCB	Examineur	Université Blida 1
M.TALEB	MAA	Promotrice	Université Blida 1

Promotion 2022/2023



## Résumé :

Notre travail porte essentiellement sur la synthèse et la caractérisation d'acides aminés N, C-protégés. Les acides aminés en question ont été commercialisés par une N-protection de type BOC.

Nous avons procédé à une C-protection par formation d'une liaison amide moyennant des amines secondaires en utilisant le DCCI comme agent de couplage.

Nous avons utilisé deux acides aminés comme réactifs principaux qui sont le Boc-Ala-OH et le Boc-Leu-OH. Les réactions ont été réalisées dans le THF à une température variant de 0°C à T° ambiante.

La synthèse en question consistait d'abord à activer la partie C-terminale (fonction acide) de l'acide aminé par le DCCI. Puis l'intermédiaire formé qui est une O-acylurée réagira avec la diméthylamine ou la diéthylamine par une réaction de condensation formant ainsi une liaison amide.

On obtient à la fin un acide aminé prêt pour une suite de synthèse peptidique.

L'avancement de la réaction a été suivi par CCM, les produits ont été purifiés par cristallisation. Leur pureté a été contrôlée par l'obtention d'une seule tache en CCM et par la mesure de la température de fusion. L'examen des spectres FTIR a permis de confirmer la structure des produits obtenus.

## Abstract:

Our work focuses on the synthesis and characterization of N, C-protected amino acids. The amino acids in question were marketed by a BOC-type N-protection.

We performed C-protection by forming an amide bond with secondary amines using DCCI as a coupling agent.

We used two amino acids as main reagents which are Boc-Ala-OH and Boc-Leu-OH. The reactions were performed in the THF at a temperature ranging from 0°C to ambient T°.

The synthesis in question consisted first of activating the C-terminale (acid function) part of the amino acid by DCCI. Then the formed intermediate which is an O-acylurea will react with dimethylamine or diethylamine by a condensation reaction thus forming an amide bond.

In the end we obtain an amino acid ready for a peptide synthesis sequence.

The progress of the reaction was followed by CCM, the products were purified by crystallization. Their purity was checked by obtaining a single spot in CCM and by measuring the melting temperature. Examination of the FTIR spectra confirmed the structure of the products obtained.

## ملخص:

يركز عملنا على توليف وتوصيف الأحماض الأمينية المحمية من مادة N و C. تم تسويق الأحماض الأمينية المعنية بواسطة حماية N من نوع BOC.

قمنا بحماية C عن طريق تشكيل رابطة أميد مع أمينات ثانوية باستخدام DCCI كعامل اقتران.

استخدمنا حمضين امينين كمتفاعلين رئيسيين هما Boc-Ala-OH و Boc-Leu-OH. تم إجراء التفاعلات في THF عند درجة حرارة تتراوح من 0 درجة مئوية إلى الدرجة T المحيطة.

قمنا أولاً بتنشيط الجزء C-terminale (وظيفة الحمض) من الحمض الأميني بواسطة DCCI. ثم يتفاعل الوسيط المتكون وهو O-acylurea مع ثنائي ميثيل أمين أو ثنائي إيثيل أمين عن طريق تفاعل تكثيف وبالتالي تشكيل رابطة أميد. في النهاية نحصل على حمض أميني جاهز لتسلسل تشكيل الببتيد.

تبع تقدم التفاعل عن طريق CCM، وتم تنقية المنتجات عن طريق التبلور. تم التأكد من نقائهم من خلال الحصول على بقعة واحدة في CCM وقياس درجة حرارة الذوبان. أكد فحص أطياف FTIR هيكل المنتجات التي تم الحصول عليها.

## Remerciements

Merci à notre Dieu avant tout c'est grâce à lui que nous sommes arrivés ou nous en sommes.

Nous voudrions tout d'abord à remercier Mme TALEB, notre directrice de mémoire pour tout le soutien, l'aide et l'orientation qu'elle nous a apporté lors de la réalisation de notre PFE.

Nous adressons nos remerciements les plus sincères aux membres de jury : Mr OURADI et Mr BELAFRIEKH, pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous voudrions remercier aussi notre Cheffe d'option Mme SALHI. Nous remercions également les ingénieurs de laboratoire au niveau de pavillon 5 Mme Hadad Kahina, Mme Louazri Assma, Mme Boujamaa Amina, Mme LYLA.

Un merci tout particulier à Mme BENSEMMANE NACHIDA pour son aide. Nous ne voudrions pas oublier les camarades de la promotion de master chimie organique pour tout ce qu'on a vécu ensemble ces dernières années.

## Dédicace

À mes plus grands soutiens et sources d'inspiration, je dédie ce travail avec tout amour et ma reconnaissance infinie.

À ma mère qui a toujours été mon port d'attachement et ma boussole, merci pour ton amour inconditionnel, ton dévouement et ton soutien inébranlable. Tu as été la lumière qui a éclairé mon chemin dans les moments sombres et tu as toujours cru en moi, même lorsque je doutais.

À mon père qui m'a appris l'importance du travail acharné, de la persévérance et de l'honnêteté, je suis reconnaissante pour tes conseils avisés indéfectibles, et je suis fière de vous avoir dans ma vie.

Je souhaite adresser une dédicace spéciale à ma défunte grand-mère ZAHIA. Je suis profondément reconnaissante pour votre amour et j'espère que ce rapport puisse être le plus beau cadeau que je puisse vous offrir.

À mon frère ALI pour l'amour qu'il me réserve.

À ma grande sœur ZAHRA qui n'ont pas cessé de me conseiller et ma petite sœur MAYSSA.

À mon lien et ma force, celui qui a semé l'espoir dans mon cœur, mon fiancé ISLEM.

À mon binôme KHADIDJA pour son soutien moral sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

À tous mes collègues de promotion de Master 2 Chimie Organique.

À mes très chers amis Alaeddine, Imène, Ikram, Djouhar, Zaki, Houda qui ont été mes piliers dans les moments difficiles.

À tout ceux qui ont participé à ma réussite et à tous ceux qui m'aiment.

BELMOKHETAR Rayane.

# Dédicace

Je souhaite dédier ce travail aux personnes extraordinaires qui ont été des piliers essentiels tout au long de mon parcours académique.

À mon père, dont la sagesse, l'inspiration et les conseils avisés ont illuminé ma route. Ta présence bienveillante et ta confiance en moi m'ont poussée à donner le meilleur de moi-même.

À ma mère, dont la tendresse, la détermination et les encouragements constants ont été une source inépuisable de motivation. Merci d'avoir été présente à chaque étape de ma vie, et pour tout l'amour et le soutien que tu m'as offert.

À mon frère Belkacem, mon allié de toujours. Merci d'avoir été mon compagnon de route, de m'avoir encouragée et soutenue dans tous mes projets. Notre lien fraternel est une force qui m'a propulsée vers la réussite.

À mes cousines chéries, qui ont été des alliées fidèles dans ce parcours éducatif. Votre amitié, vos conseils et votre soutien ont été des atouts précieux.

Ihcene, Hadjer, Mériem, Kaouther, Chourouk, Fattouma, Douaa, Malika, Dina et alaa.

À mes sœurs bien-aimées, qui ont été mes confidentes, mes inspirations et mes amies. Votre présence précieuse dans ma vie a été un réconfort constant et un soutien inébranlable.

Kawthar, Roumaissa, Chahrazed, Charihene, Ferial et Hiba.

À mon binôme Rayane, qui a partagé avec moi tant de moment d'apprentissage, de collaboration et de réussite. Notre partenariat solide et notre travail d'équipe ont été les clés de notre succès. Merci pour ton soutien inconditionnel et ta contribution précieuse.

À tous mes collègues de promotion de Master 2 Chimie Organique.

À toutes ces personnes spéciales, je vous exprime ma gratitude et ma reconnaissance infinies. Votre soutien et votre influence positive ont contribué à façonner mon parcours académique.

ZAMOUCI Khadidja.

# Sommaire :

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des principales abréviations

Introduction générale..... 1

## CHAPITRE 1 : Partie Théorique

1.1 Généralités : ..... 3

1.2 Définition : ..... 3

1.3 Les acides aminés essentiels et non essentiels : ..... 3

1.3.1 Les acides aminés essentiels : ..... 3

1.3.2 Les acides aminés non essentiels : ..... 4

1.4 Les dérivés d'acides aminés : ..... 4

1.4.1 Acide Glutamique : ..... 4

1.4.2 Acide Aspartique : ..... 5

1.4.3 Alanine : ..... 5

1.4.4 Arginine : ..... 6

1.4.5 Asparagine : ..... 6

1.4.6 Cystéine : ..... 6

1.4.7 Acide glutamique : ..... 7

1.4.8 Glycine : ..... 7

1.4.9 Histidine : ..... 8

1.4.10 Isoleucine : ..... 8

1.4.11 Leucine : ..... 9

1.4.12 Lysine : ..... 9

1.4.13 Méthionine : ..... 9

1.4.14 Phénylalanine : ..... 10

1.4.15 Proline : ..... 10

1.4.16 Sérine : ..... 11

1.4.17 Thréonine : ..... 11

1.4.18 Tryptophane : ..... 11

1.4.19 Tyrosine : ..... 12

1.4.20 Valine : ..... 12

1.5 Les propriétés physico-chimiques des acides aminés :.....	13
1.5.1 Propriétés physiques : .....	13
1.5.1.1 Ionisation :.....	13
1.5.1.2 Absorption ultraviolette :.....	13
1.5.1.3 Stéréo-isomérie :.....	14
1.5.2 Propriétés chimiques :.....	15
1.5.2.1 Réaction du groupe carboxyle :.....	15
1.5.2.2 Réaction du groupe amine :.....	15
1.6 Stratégie de couplage :.....	15
1.6.1 La protection de la fonction amine et la fonction acide carboxylique :.....	17
1.6.1.1 La protection de la fonction amine :.....	17
1.6.1.2 Protection de la fonction acide carboxylique :.....	20
1.6.1.3 Protection des chaînes latérales :.....	21
1.7 Le couplage :.....	21
1.7.1 Activation de la fonction acide et les méthodes de couplage :.....	21
1.7.1.1 Méthode des Chlorures d'acyle :.....	21
1.7.1.2 Méthode des Anhydrides :.....	22
1.8 Liaison amide/ liaison peptidique :.....	24
1.8.1 Propriétés géométriques :.....	24
1.8.2 Angles et longueurs de liaison de la liaison amide :.....	25
1.8.3 Polarité de la liaison peptidique :.....	25
1.8.4 Configuration de la liaison peptidique : .....	26
1.9 Les peptides et les protéines :.....	26
1.9.1 Structure primaire : .....	27
1.9.3 Structure secondaire : .....	28
1.9.3.1 L'hélice $\alpha$ :.....	28
1.9.3.2 Configuration $\beta$ ou feuillets $\beta$ : .....	29
1.9.4 Structure tertiaire :.....	29
1.9.5 Structure quaternaire :.....	30
1.9.6 Synthèse chimiques des peptides :.....	30
1.9.6.1 Synthèse en phase liquide : .....	31
1.9.6.2 Synthèse en phase solide :.....	31

## CHAPITRE 2 : PARTIE EXPERIMENTALE

2.2 Choix de groupement protecteur : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.3 Méthode et Agent de couplage : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.4 Les acides aminés utilisés : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.5 Réactions de synthèse des acides aminés C-protégés : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.5.1 Synthèse de Boc-Ala-N(Me) <sub>2</sub> : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.5.2 Synthèse de Boc-Ala-N(Et) <sub>2</sub> : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.5.3 Synthèse de Boc-Leu-N(Me) <sub>2</sub> : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.5.4 Synthèse de Boc-Leu-N(Et) <sub>2</sub> : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.6 Méthodes utilisées et techniques d'identification : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.6.1 Chromatographie sur couche mince : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.6.2 Mesure du point de fusion : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
2.6.3 La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>

## CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

3.1 Réaction de synthèse du BOC-Ala-N(Me) <sub>2</sub> : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.1.1 Caractérisation du Boc-Ala-OH par FTIR : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.1.2 Caractérisation du Boc-Ala-N(Me) <sub>2</sub> par FTIR : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.2 Réaction de synthèse du BOC-Ala-N(Et) <sub>2</sub> : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.2.1 Caractérisation du Boc-Ala-N(Et) <sub>2</sub> par FTIR : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.3 Résultats des méthodes utilisées et techniques d'identification de Boc-Ala-OH et ses produits : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.4 Réaction de synthèse du BOC-Leu-N(Me) <sub>2</sub> : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.4.1 Caractérisation du Boc-Leu-OH par FTIR : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.4.2 Caractérisation du Boc-Leu-N(Me) <sub>2</sub> par FTIR : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.5 Réaction de synthèse du BOC-Leu-N(Et) <sub>2</sub> : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.5.1 Caractérisation du Boc-Leu-N(Et) <sub>2</sub> par FTIR : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
3.6 Résultats des méthodes utilisées et technique d'identification de Boc-Leu-OH et ses produits : .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Conclusion .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Références bibliographiques	
Appendice	

## Liste des figures :

Figure 1. 1: Représentation d'acide aminé.....	3
Figure 1. 2: Formule topologique d'acide glutamique. ....	5
Figure 1. 3: Formule topologique d'acide aspartique. ....	5
Figure 1. 4: Formule topologique d'alanine. ....	5
Figure 1. 5: Formule topologique d'arginine. ....	6
Figure 1. 6: Formule topologique d'asparagine. ....	6
Figure 1. 7: Formule topologique de Cystéine. ....	7
Figure 1. 8: Formule topologique d'acide glutamique. ....	7
Figure 1. 9: Formule topologique de Glycine. ....	8
Figure 1. 10: Formule topologique d'Histidine.....	8
Figure 1. 11: Formule topologique de l'isoleucine.....	8
Figure 1. 12: Formule topologique de Leucine.....	9
Figure 1. 13: Formule topologique de Lysine. ....	9
Figure 1. 14: Formule topologique de Méthionine. ....	10
Figure 1. 15: Formule topologique de Phénylalanine. ....	10
Figure 1. 16: Formule topologique de Proline.....	10
Figure 1. 17: Formule topologique de Sérine.....	11
Figure 1. 18: Formule topologique de Thréonine. ....	11
Figure 1. 19: Formule topologique de Tryptophane. ....	12
Figure 1. 20: Formule topologique de Tyrosine. ....	12
Figure 1. 21: Formule topologique de Valine. ....	13
Figure 1. 22: Les configurations D et L.....	14
Figure 1. 23: Projection de Fisher des configurations D et L de l'alanine. ....	14
Figure 1. 24: Les groupements protecteurs de la fonction amine. ....	18
Figure 1. 25: Structure d'ester de tertio-butyle.....	20
Figure 1. 26: Structure d'ester de benzyle (Bzl). ....	21
Figure 1. 27: Les agents de chloration de la fonction acide. ....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Figure 1. 28: Structure de DCC. ....	23
Figure 1. 29: Agents de couplage de type carboimides. ....	23
Figure 1. 30: Formes résonantes de la liaison peptidique. ....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>

Figure 1. 31: Angles et longueur de liaison de la liaison peptidique.....	25
Figure 1. 32: Polarité de liaison peptidique.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Figure 1. 33: Configuration Cis/Trans. ....	26
Figure 1. 34: Géométrie et angle de rotation d'une liaison peptidique.....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Figure 1. 35: Structure primaire. ....	27
Figure 1. 36: Structure de protéine L'hélice $\alpha$ . ....	29
Figure 1. 37: Structure secondaire feuillets $\beta$ . ....	29
Figure 1. 38: Structure tertiaire de protéine. ....	30
Figure 1. 39: Structure quaternaire. ....	30
Figure 2. 1: Formule topologique du BOC. ....	33
Figure 2. 2: Structure de DCCI. ....	34
Figure 2. 3: Formule développer du Boc-Ala-OH. ....	34
Figure 2. 4: Formule développer du Boc-Leu-OH.....	35
Figure 2. 5: Formule développer du Boc-Ala-N(Me) <sub>2</sub> .....	35
Figure 2. 6: Formule développer du Boc-Ala-N(Et) <sub>2</sub> . ....	36
Figure 2. 7: Formule développer du Boc-Leu-N(Me) <sub>2</sub> . ....	37
Figure 2. 8: Formule développer du Boc-Leu-N(Et) <sub>2</sub> . ....	38
Figure 2. 9: Chromatographie sur couche mince. ....	40
Figure 2. 10: Fusiomètre.....	40
Figure 2. 11: Appareil infra rouge.....	41
Figure 3. 1: Spectre FTIR du BOC-Ala-OH. ....	48
Figure 3. 2: Spectre FTIR du BOC-Ala-N(Me) <sub>2</sub> .....	49
Figure 3. 3: Spectre FTIR du BOC-Ala-N(Et) <sub>2</sub> .....	52
Figure 3. 4: Spectre FTIR du BOC-Leu-OH.....	57
Figure 3. 5: Spectre FTIR du BOC-Leu-N(Me) <sub>2</sub> . ....	58
Figure 3. 6: Spectre FTIR du Boc-Leu-N(Et) <sub>2</sub> . ....	61

## Liste des Schémas

Schéma 1.1: Formation d'un mélange de dipeptide.....	16
Schéma 1.2: Couplage d'Alanine avec Glycine.....	17
Schéma1.3 : Réaction de protection par groupement (Z).....	18
Schéma1.4 : Réaction de déprotection de la fonction amine.....	19
Schéma1.5 : Réaction de la protection/déprotection par le tert-butyloxycarbonyle.....	19
Shéma1.6 : Introduction du (Fmoc-Cl) sur un acide aminé.....	20
Schéma 1.7: Préparation d'un chlorure d'acyle.....	22
Schéma1.8 : Réaction de couplage avec DCC.....	23
Schéma1.9 : Réaction de formation de la liaison peptidique.....	24
Schéma 3. 1: Schéma général pour la synthèse des acides aminés.....	44
Schéma 3. 2: Réaction de synthèse de Boc-Ala-N (Me) <sub>2</sub> .....	45
Schéma 3. 3: Mécanisme proposé pour la synthèse du BOC-Ala-N(Me) <sub>2</sub> .....	46
Schéma3.5 : Mécanisme proposé pour la synthèse du BOC-Ala-N(Et) <sub>2</sub> .....	51
Schéma 3.8: Réaction de synthèse de Boc-Leu-N(Et) <sub>2</sub> .....	59
Schéma3.9 : Mécanisme proposé pour la synthèse du BOC-Leu-N(Et) <sub>2</sub> .....	60

## Liste des tableaux :

Tableau 1. 1: : Les acides aminés.....	4
Tableau 2. 1: Propriétés chimiques des produits utilisés. ....	32
Tableau 3. 1: Le rendement des synthèses et leurs masses molaires.....	53
Tableau 3. 2: Résultats de température de fusion ( $T_f$ ).....	53
Tableau 3. 3: Résultats de $R_f$ des produits. ....	53
Tableau 3. 4: Les rendements des synthèses et leurs masses molaires. ....	62
Tableau 3. 5: Résultats de température de fusion ( $T_f$ ). ....	62
Tableau 3. 6: Résultats de $R_f$ des produits. ....	62

## Liste des principales abréviations :

Boc : Tertiobutyloxycarbonyle .

CCM : Chromatographie sur couche mince.

DCC : Dicyclohexylcarbodiimide.

DCCI : Dicyclohexylcarboiimide.

DCU : Dicyclohexyl urée.

Fmoc : Fluorénylméthoxycarbonyl.

FTIR : Infra rouge.Y

Hx : Hexane

M : Masse molaire

R : Rendement.

R<sub>f</sub> : Rapport frontal.

T<sub>f</sub> : Température de fusion.

THF : Tetrahydrofurane.

Xaa: Acide aminé X.

Z : Benzyloxycarbonyl.

## Introduction générale

Les acides  $\alpha$ -aminés présentent un intérêt particulier, ils jouent un rôle fondamental dans la constitution des tissus et dans les processus chimiques du vivant. En effet, reliés les uns aux autres par réaction entre la fonction acide carboxylique d'un acide  $\alpha$ -aminé et la fonction amine d'un autre (par formation d'un lien amide), ils conduisent à des polymères naturels appelés selon leur masse molaire peptides ou protéine, leurs propriétés chimiques spécifiques et leur ordre d'assemblage leur donne une fonction bien précise.

Les acides aminés sont des molécules organiques bifonctionnelles à fonctions acide carboxylique et amine qui doivent d'abord subir des modifications structurales avant de pouvoir être utilisées dans la synthèse peptidique. La réaction chimique entre deux acides aminés notés : Xaa1 et Xaa2 permet d'obtenir les dipeptides : Xaa1-Xaa2, Xaa2-Xaa1, Xaa1-Xaa1, Xaa2- Xaa2. Pour pouvoir synthétiser sélectivement le dipeptide Xaa1-Xaa2, il faudra exercer un contrôle durant la réaction. La stratégie de synthèse consiste à protéger certaines fonctions par des groupements protecteurs adéquats et à activer d'autres fonctions par des agents activants pour permettre la formation de la liaison amide voulue.

Notre travail porte sur la synthèse et la caractérisation d'acides aminés N-protégés par le groupement Boc, la C-protection a été réalisée par des amines secondaires qui vont mimer dans une certaine mesure la partie N-terminale d'une chaîne peptidique. La réaction de condensation a été réalisée moyennant un carbodiimide comme agent de couplage.

Notre choix s'est porté sur deux acides aminés : Alanine et Leucine qui sont des acides aminés chiraux. Ainsi que sur deux amines secondaires (diméthylamine et diéthylamine) pour la C-protection qui va mimer dans une certaine mesure de prolongement de la chaîne peptidique.

Ce présent travail se scinde en trois chapitres : le premier chapitre est axé sur la partie théorique qui inclue des généralités sur les acides aminés et leur propriétés (physico-chimique) et aussi sur la synthèse peptidique, et le deuxième chapitre décrit la partie

expérimental, les méthodes utilisées et les techniques d'identification, Les résultats obtenus et leurs discussions sont traités au troisième et dernier chapitre.

En fin nous terminons par une conclusion et perspectives.

# **CHAPITRE 1 :**

## **Partie Théorique**

## 1.1 Généralités :

Les acides aminés sont des composés organiques absolument nécessaires au fonctionnement du corps humain. Ils sont des composés essentiels de la constitution des protéines et autres peptides dans notre corps et jouent divers rôles biologiques.

Les acides aminés sont les précurseurs d'enzymes, d'hormones et des neurotransmetteurs. Sans eux, nos processus métaboliques ne fonctionneraient pas. Il y en a vingt au total, dont 9 sont considérés comme essentiels.

## 1.2 Définition :

Les acides aminés sont des molécules qui entrent dans la composition des protéines grâce à leur assemblage par des liaisons amides qu'on appelle des liaisons peptidiques [1].

Leur nom provient du fait qu'ils possèdent une fonction amine ( $\text{NH}_2$ ) et une fonction acide carboxylique ( $\text{COOH}$ ) qui sont fixés sur un carbone tétravalent central ( $\alpha$ ). Ils se distinguent par leur chaîne latérale R (**Figure 1.1**), qui peut être un atome d'hydrogène (c'est la glycine), ou bien une chaîne linéaire ou cyclique bien plus complexe [2].

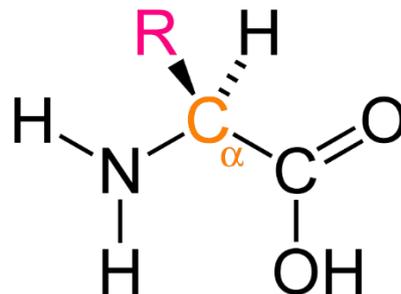


Figure 1. 1: Représentation d'acide aminé.

## 1.3 Les acides aminés essentiels et non essentiels :

On distingue deux groupes d'acides aminés :

### 1.3.1 Les acides aminés essentiels :

Les acides aminés dits essentiels sont ceux que l'organisme humain n'est pas capable de synthétiser et qu'ils sont donc trouvés dans l'alimentation. Chez l'être humain, on

compte neuf acides aminés essentiels : le tryptophane, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, la valine, la leucine, l'isoleucine et l'histidine [3].

### 1.3.2 Les acides aminés non essentiels :

Les acides aminés non essentiels sont des acides aminés qui peuvent être synthétisés par l'organisme lui-même qui sont : la glutamine, acide aspartique, acide glutamique, l'arginine, l'alanine, la proline, la cystéine, la sérine, la glycine et la tyrosine.

### 1.4 Les dérivés d'acides aminés :

Il existe des abréviations d'acides aminés pour faciliter leur rédaction dans les équations chimiques et biologiques (tableau 1.1).

**Tableau 1. 1: : Les acides aminés.**

<b>Acide amine</b>	<b>Abréviations</b>	<b>Acide amine</b>	<b>Abréviations</b>
Acide glutamique	Glu	Leucine	Leu
Acide aspartique	Asp	Lysine	Lys
Alanine	Ala	Méthionine	Met
Arginine	Arg	Phénylalanine	Phe
Asparagine	Asn	Proline	Pro
Cystéine	Cys	Sérine	Ser
Glutamine	Gln	Thréonine	Thr
Glycine	Gly	Tryptophane	Trp
Histidine	His	Tyrosine	Tyr
Isoleucine	Ile	Valine	Val

#### 1.4.1 Acide Glutamique :

Le corps humain étant capable de le synthétiser, cet acide aminé est qualifié de « non essentiel ». Comme tous les acides aminés, l'acide glutamique (figure1.2) entre dans la composition des protéines. Au sein du système nerveux central (SNC), il joue le rôle de neurotransmetteur excitateur. Par ailleurs, c'est également un précurseur du GABA (acide  $\gamma$ -aminobutyrique) qui, quant à lui, est le principal neurotransmetteur inhibiteur du SNC [4].

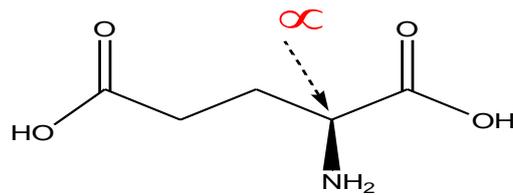


Figure 1. 2: Formule topologique d'acide glutamique.

#### 1.4.2 Acide Aspartique :

L'acide aspartique est un acide aminé non essentiel qui peut donc être synthétisé par l'organisme. L'acide aspartique (figure1.3) favorise la production de testostérone ainsi que de progestérone. Il se retrouve principalement dans les aliments d'origine animale tels que les viandes, poissons et mollusques mais également dans les légumes [5].

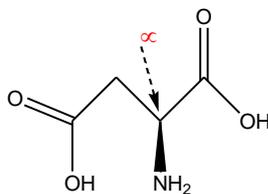


Figure 1. 3: Formule topologique d'acide aspartique.

#### 1.4.3 Alanine :

L'alanine est connue pour être l'un des acides aminés primaires découverts et synthétisés bien avant son isolement de sources naturelles [6]. En 1850, cet acide aminé a été synthétisé par Adolph Stricker à partir de l'acétaldéhyde grâce à sa condensation avec l'ammoniac et le cyanure d'hydrogène. Seulement dans un quart de siècle, l'alanine a été découvert dans les sources naturelles : les protéines (figure1.4).

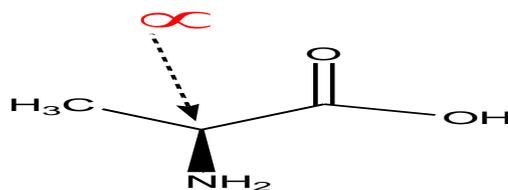


Figure 1. 4: Formule topologique d'alanine.

#### 1.4.4 Arginine :

L'arginine est un acide aminé qui aide le corps à construire des protéines. Elle est présente dans la plupart des aliments riches en protéines, notamment le poisson, la viande rouge, la volaille, le soja, les grains entiers, les haricots et les produits laitiers [7]. Comme supplément, l'arginine peut être utilisée par voie orale et topique. Elle peut également être administrée par voie intraveineuse (IV). L'arginine agit comme vasodilatateur, ouvrant (dilatant) les vaisseaux sanguins, c'est pourquoi beaucoup de gens prennent pour traiter les problèmes cardiaques et la dysfonction érectile (figure1.5).

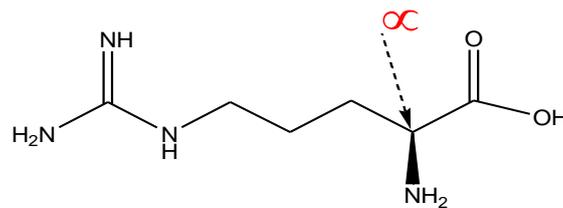


Figure 1. 5: Formule topologique d'arginine.

#### 1.4.5 Asparagine :

L'asparagine est le premier acide aminé découvert. C'est le constituant des protéines, il se trouve à l'état libre dans les plantes et chez les animaux. Il joue un rôle important dans la biosynthèse des glycoprotéines et d'autres protéines. C'est également un acide aminé glyco-gène produit par le foie [8] (figure1.6).

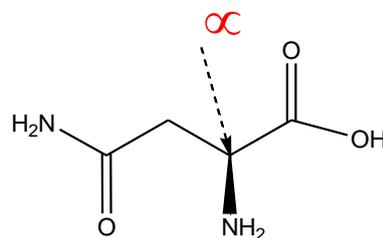
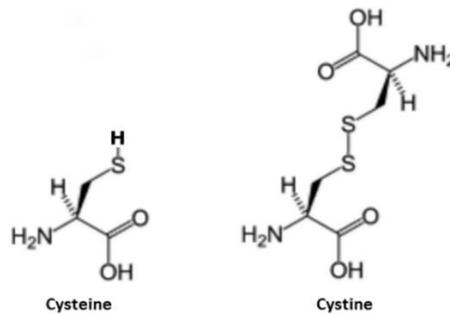


Figure 1. 6: Formule topologique d'asparagine.

#### 1.4.6 Cystéine :

La cystéine est un acide aminé cristallin non essentiel contenant du soufre et elle est abrégée en Cys. La cystine qu'est le dimère de la cystéine est l'un des cinq principaux acides aminés (arginine, cystéine, glutamine, tyrosine et histidine) nécessaires à la croissance humaine et à la survie. C'est la protéine principale de la peau, des ongles et des cheveux et se

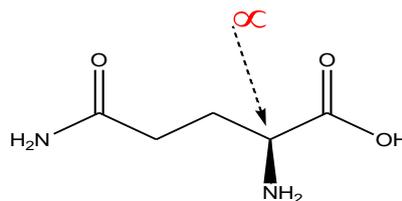
trouve dans la bêta-kératine. Elle peut être synthétisée dans le corps à partir d'autres acides aminés : méthionine et sérine (figure 1.7).



**Figure 1. 7: Formule topologique de Cystéine.**

#### 1.4.7 Acide glutamique :

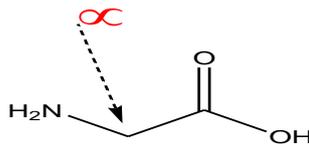
La glutamine ou L-glutamine est l'acide aminé le plus abondant dans le sang et dans les muscles. Elle joue un rôle dans la synthèse des protéines, la protection immunitaire, le maintien de l'intégrité de la paroi intestinale et l'équilibre acido-basique de l'organisme. Elle sert aussi à la fabrication de la glucosamine endogène qui, à son tour, participe à la réparation des cartilages et tendons (**Figure 1.8**).



**Figure 1. 8: Formule topologique d'acide glutamique.**

#### 1.4.8 Glycine :

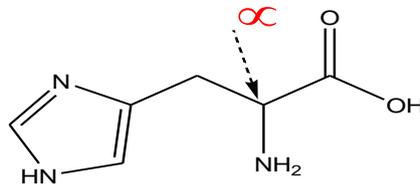
La glycine est l'acide aminé le plus simple (figure 1.9). Elle retarde la dégénération musculaire, améliore le stockage du glycogène en libérant ainsi le glucose pour des besoins d'énergétique. Elle sert aussi à réparer les tissus endommagés.



**Figure 1. 9: Formule topologique de Glycine.**

#### 1.4.9 Histidine :

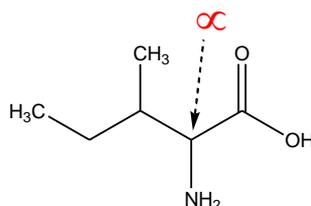
Cet acide aminé se trouve dans l'hémoglobine et on l'utilise pour traiter des arthrites rhumatoïdes, des allergies, des ulcères et des anémies. Elle est indispensable pour la croissance et la réparation des tissus et pour le maintien des gaines de myéline qui protègent les cellules nerveuses. L'histidine est aussi utile pour la production des globules rouges et blanches du sang, pour protéger l'organisme des radiations, réduire la pression des artères et aider l'élimination des métaux lourds du corps (**Figure 1.10**).



**Figure 1. 10: Formule topologique d'Histidine.**

#### 1.4.10 Isoleucine :

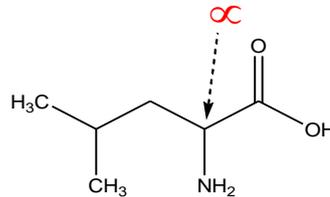
L'isoleucine est un acide aminé essentiel (**Figure 1.11**). Il est principalement concentré dans les tissus musculaires. La structure de l'isoleucine en fait un acide aminé à chaîne ramifiée, non polaire et hydrophobe. L'isoleucine étant un acide aminé essentiel, elle doit être apportée par l'alimentation (œufs, viande, poisson, fromage, etc.).



**Figure 1. 11: Formule topologique de l'isoleucine.**

#### 1.4.11 Leucine :

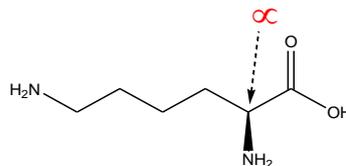
La leucine interagit avec l'isoleucine et la valine pour accélérer la cicatrisation du tissu musculaire, de la peau et des os. Elle est recommandée pour ceux qui ont été sujets d'une opération chirurgicale. Cet acide aminé réduit les taux de sucre dans le sang et aide à augmenter la production de l'hormone de croissance (**Figure1.12**).



**Figure 1. 12: Formule topologique de Leucine.**

#### 1.4.12 Lysine :

Cet acide aminé garantit l'absorption appropriée de calcium et maintient l'équilibre d'azote pour les adultes. En plus, la lysine est à l'origine de la formation du collagène qui constitue le cartilage et le tissu connectif, de la production des anticorps qui luttent contre l'herpès labial et de la réduction des taux élevés de triglycérides dans le sang (**Figure1.13**).



**Figure 1. 13: Formule topologique de Lysine.**

#### 1.4.13 Méthionine :

La méthionine est un antioxydant puissant et une bonne source de soufre (**Figure 1.14**). Elle joue un rôle important dans la décomposition des graisses en prévenant leur accumulation dans le foie et les artères au risque de bloquer le flux sanguin au cerveau, au cœur et aux reins. Cet acide aminé aide la désintoxication des agents nocifs comme le plomb et d'autres minéraux lourds, diminue la faiblesse musculaire et protège des radiations. Elle est super importante aux femmes qui prennent des contraceptifs oraux. La méthionine réduit le taux d'histamine dans le corps qui peut provoquer l'envoi de messages erronés par le cerveau.

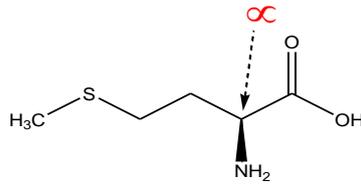


Figure 1. 14: Formule topologique de Méthionine.

#### 1.4.14 Phénylalanine :

C'est un acide aminé utilisé par le cerveau pour produire la noradrénaline, une substance chimique qui transmet des signaux entre les cellules nerveuses et le cerveau. La phénylalanine (**Figure1.15**) contribue à un bon état d'âme, diminue la douleur et aide la mémoire pendant l'apprentissage. On l'utilise pour traiter des maladies telles que les arthrites, la dépression, les crampes menstruelles, l'hémicrânie, l'obésité, le Parkinson et la Schizophrénie.

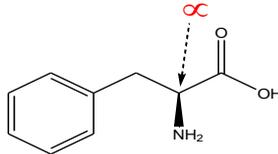


Figure 1. 15: Formule topologique de Phénylalanine.

#### 1.4.15 Proline :

La proline est un acide aminé non essentiel, synthétisé par l'organisme. Sa structure particulière insère un coude dans les chaînes protéiques et il permet de synthétiser le collagène (**Figure1.16**).

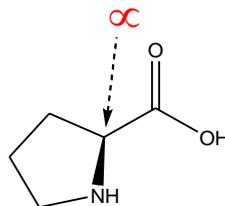


Figure 1. 16: Formule topologique de Proline.

#### 1.4.16 Sérine :

Elle est nécessaire pour le métabolisme des acides gras, pour la croissance des muscles et le maintien d'un système immunitaire sain. La sérine (**Figure1.17**) fait partie des gaines de myéline protectrices qui couvrent les fibres nerveuses. Elle est encore importante pour le fonctionnement de l'ARN et de l'ADN, la formation des cellules et la production d'immunoglobulines et anticorps.

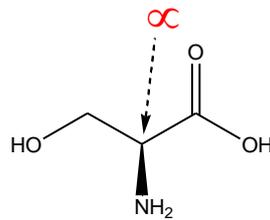


Figure 1. 17: Formule topologique de Sérine.

#### 1.4.17 Thréonine :

La thréonine a la fonction d'aider à maintenir la quantité appropriée de protéines dans le corps. Elle est aussi importante pour la formation de collagène, d'élastine et de l'émail dentaire. Cet acide aminé collabore encore dans la fonction Lip tropique du foie quand il se combine à l'acide aspartique et à la méthionine. La thréonine prévient l'accumulation de graisse dans le foie, son métabolisme et son assimilation (**Figure1.18**).

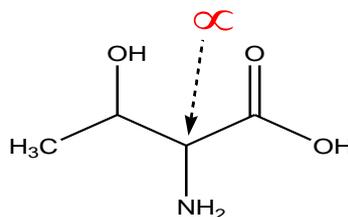
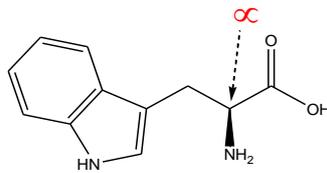


Figure 1. 18: Formule topologique de Thréonine.

#### 1.4.18 Tryptophane :

Cet acide aminé est un relaxant naturel qui aide à traiter l'insomnie. Le tryptophane (**Figure1.19**) réduit l'anxiété et la dépression, stabilise l'état d'âme et aide à traiter l'hémicrânie. Il aide le système immunitaire à fonctionner correctement. Il contrôle le poids en

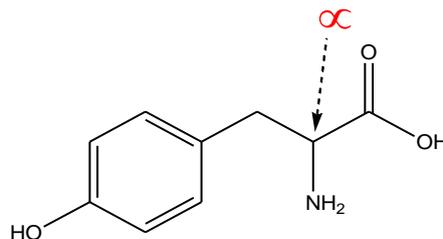
réduisant l'appétit, augmente la libération des hormones de croissance et contrôle l'hyperactivité des enfants.



**Figure 1. 19: Formule topologique de Tryptophane.**

#### **1.4.19 Tyrosine :**

La tyrosine est un acide aminé important pour le métabolisme général (**Figure1.20**). Elle est le précurseur de l'adrénaline et de la dopamine qui régulent l'état d'âme. Cet acide aminé stimule le métabolisme et le système nerveux, agit positivement sur l'état d'âme et aide à réduire le gras corporel. La tyrosine collabore dans la production de mélanine (pigment responsable de la couleur des cheveux et de la peau) et dans les fonctions des glandes surrénales, de la thyroïde et de la glande pituitaire. On l'utilise contre la fatigue chronique, la narcolepsie, l'anxiété, la dépression, les allergies et le mal de tête.



**Figure 1. 20: Formule topologique de Tyrosine.**

#### **1.4.20 Valine :**

La valine est indispensable pour le métabolisme musculaire, la coordination, la réparation des tissus et le maintien de l'équilibre d'azote dans le corps que le tissu musculaire emploie comme source d'énergie. Cet acide aminé est aussi utile pour traiter des maladies du foie et de la vésicule biliaire. En plus, elle promeut la vigueur mentale et les émotions tranquilles (**Figure1.21**).

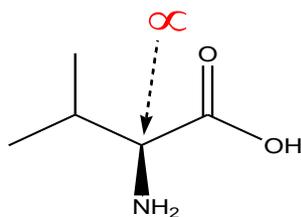


Figure 1. 21: Formule topologique de Valine.

## 1.5 Les propriétés physico-chimiques des acides aminés :

### 1.5.1 Propriétés physiques :

Les acides aminés se présentent sous forme de solides blancs, cristallisés, ils sont solubles dans les solvants organiques où ils donnent des solutions incolores [9]. Les moins solubles sont la cystéine, la tyrosine et la leucine. Certains d'entre eux sont aussi solubles dans l'eau.

#### 1.5.1.1 Ionisation :

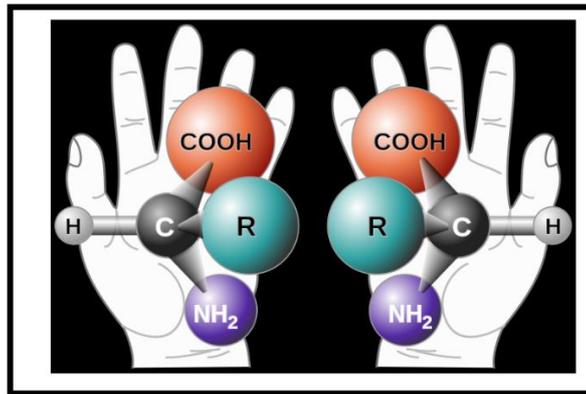
Les aminoacides possèdent au moins deux groupes ionisables : la fonction acide carboxylique ( $\text{COOH} \rightleftharpoons \text{COO}^- + \text{H}^+$ ) et la fonction amine basique ( $\text{NH}_2 + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{NH}_3^+$ ). Lorsque ces groupes fonctionnels sont simultanément dissociés, les aminoacides sont sous la forme d'ions dipolaires  $\text{R-CH-NH}_3^+$ ,  $\text{COO}^-$  (zwitterions) [10]. À milieu acide, l'acide est considéré comme un diacide qui perd un premier proton, en se transformant en ion mixte si le milieu est basique, un deuxième proton est ensuite libéré quand l'ion mixte se transforme en anion. Le pH auquel la molécule possède une charge nette nulle est appelé « isoélectrique » ; dans ce cas, l'acide ne migre pas dans un champ électrique et sa solubilité est minimale.

#### 1.5.1.2 Absorption ultraviolette :

Les aminoacides n'absorbent pas les rayonnements dans la partie visible du spectre, mais possèdent un pouvoir d'absorption considérable avant 230 nm. De plus, certains aminoacides absorbent entre 250 et 300 nm, grâce à la présence, dans leur radical R, de chromophores spéciaux : indole pour le tryptophane, benzène pour la phénylalanine et la tyrosine [9].

### 1.5.1.3 Stéréo-isomérie :

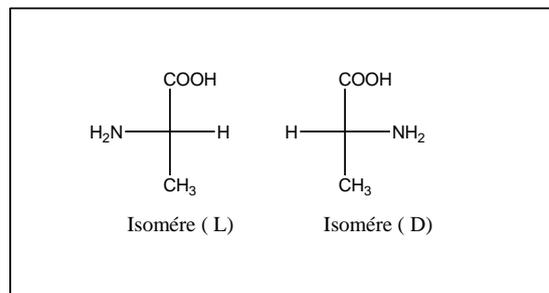
Tous les acides aminés naturels, sauf la glycine sont optiquement actifs. Ils possèdent un carbone asymétrique c'est le carbone  $\alpha$  ( $C\alpha$ ) qui porte la fonction amine [2], la fonction carboxylique, un atome d'hydrogène et le radical R. Par exemple l'alanine se présente ainsi sous deux formes, L ou D-alanine, qui sont deux isomères optiques ou énantiomères (**Figure 1.22**).



**Figure 1. 22: Les configurations D et L.**

Les aminoacides naturels sont tous de la série L ; toutefois, quelques aminoacides de la série D ont été retrouvés dans les micro-organismes. Ces deux isomères sont représentés selon la projection de Fisher (**Figure 1.23**).

Les lettres (D) et (L) font référence au D : dextrogyre, L : lévogyre. Si la fonction amine est à droite, la molécule est ( D ) et si elle est à gauche a molécule est ( L ) [2].



**Figure 1. 23: Projection de Fisher des configurations D et L de l'alanine.**

## 1.5.2 Propriétés chimiques :

Les propriétés chimiques des acides aminés sont dues à la présence du groupe carboxyle, du groupe amine et à la structure du radical R.

### 1.5.2.1 Réaction du groupe carboxyle :

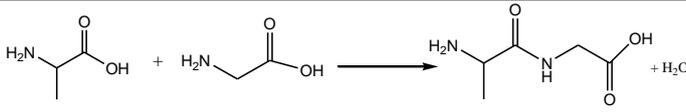
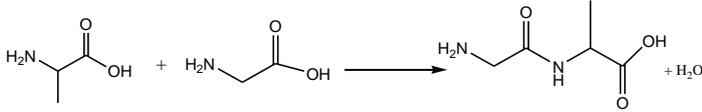
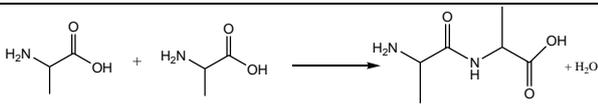
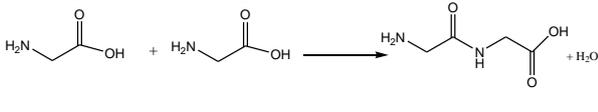
Les réactions les plus importantes de la fonction carboxyle sont : l'estérification, la décarboxylation et la formation de la liaison amide. L'estérification des aminoacides permet leur transformation en dérivés volatils au cours de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse, les esters n-butyliques étant les plus utilisés [11].

### 1.5.2.2 Réaction du groupe amine :

De très nombreuses réactions utilisent la réactivité de la fonction amine : elles sont particulièrement utilisées pour marquer les groupements  $\text{NH}_2$  terminaux des peptides ou protéines. C'est également sur des groupements  $\text{NH}_2$  que l'on peut greffer des marqueurs de nature diverse, fluorescents par exemple, très utilisés en biologie cellulaire. La détermination chimique de la séquence des acides aminés dans une protéine utilise une N-arylation ou l'action de l'isothiocyanate de phényle, sur l'acide aminé en position N-terminale [11].

## 1.6 Stratégie de couplage :

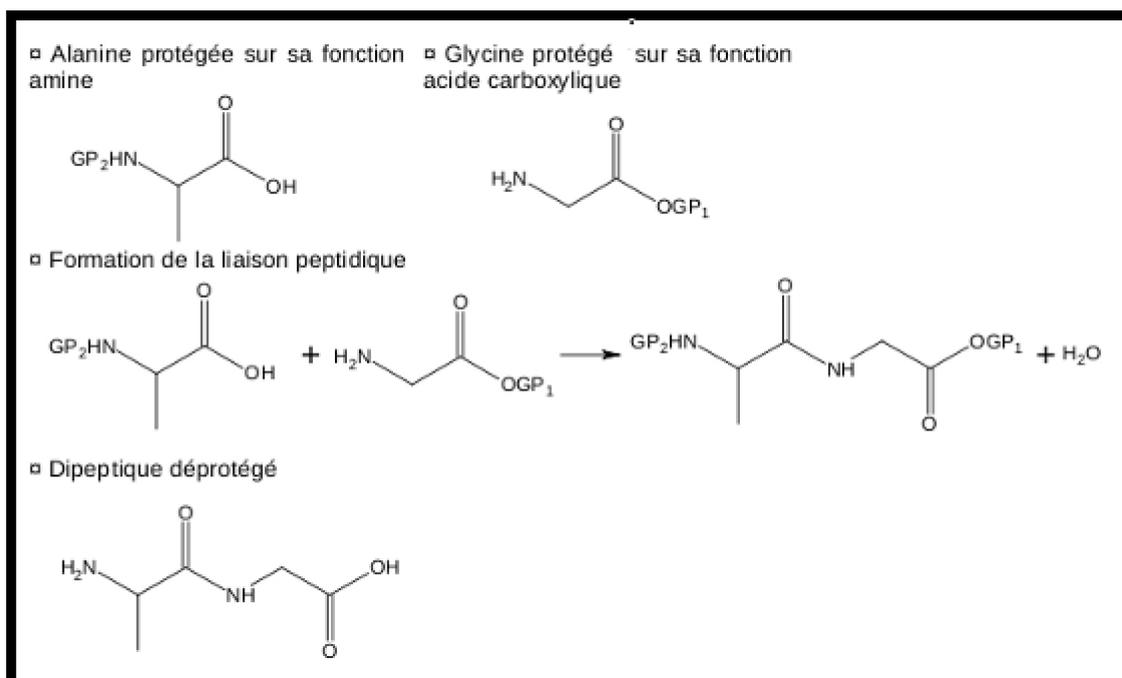
La protection est nécessaire pour la synthèse du dipeptide Ala-Gly implique la réaction du groupe  $-\text{COOH}$  de la molécule de glycine avec le groupe  $-\text{NH}_2$  de la molécule d'alanine. Cependant, lorsque deux acides  $\alpha$ -aminés sont introduits dans le milieu réactionnel, on n'obtient pas seulement le dipeptide recherché. En fait, la séquence entre les acides  $\alpha$ -aminés peut être inversée par la réaction entre le groupe  $-\text{NH}_2$  de la molécule de glycine et le groupe  $-\text{COOH}$  de la molécule d'alanine. Les molécules de glycine et d'alanine peuvent également réagir entre elles. Le tableau ci-dessous présente les dipeptides obtenus dans le mélange considéré (**Schéma1.1**) [11].

Dipeptide	Equation de réaction
Ala-Gly	
Gly-Ala	
Ala-Ala	
Gly-Gly	

**Schéma 1.1: Formation d'un mélange de dipeptide.**

De plus, les dipeptides ont également des groupes  $-COOH$  et  $-NH_2$  à leurs extrémités et peuvent encore réagir pour former des tripeptides ou des polypeptides en présence de quantités suffisantes de substances. Par conséquent, des mélanges de deux acides  $\alpha$ -aminés simples, tels que l'alanine et la glycine, peuvent conduire à une grande variété de produits si l'on n'y prend pas garde. Pour des raisons évidentes de purification et de rendement, cette situation est à éviter. Il est donc nécessaire de développer une stratégie synthétique.

La stratégie adoptée pour la synthèse peptidique utilise des groupements de protection et de dé-protection. Par conséquent, les groupes susceptibles de provoquer des réactions parasites doivent voir leurs propriétés chimiques modifiées pour bloquer les réactions indésirables lors des réactions dites de protection. Cette réaction de protection doit être réversible afin de libérer les groupements protecteurs en fin de réaction lors de l'étape dite de dé-protection.



**Schéma 1.2: Couplage d'Alanine avec Glycine.**

Les réactions de protection-déprotection introduisent deux nouvelles étapes dans la synthèse et doivent toutes deux être réalisables avec d'excellents rendements pour ne pas abaisser le rendement total de la formation de liaison peptidique (**Schéma 1.2**).

### 1.6.1 La protection de la fonction amine et la fonction acide carboxylique :

Depuis les années 1930, un véritable catalogue de réactions de protection/déprotection s'est développé qui doit répondre à des spécifications pratiques : réactions sélectives, un bon rendement, possibilité de mettre en œuvre des stratégies de protection orthogonales. La réaction de déprotection ne doit pas affecter la liaison peptidique formée [12].

#### 1.6.1.1 La protection de la fonction amine :

Pour bloquer le caractère nucléophile de la fonction amine, on utilise fréquemment les groupement protecteurs : t-butyloxy-carbonyl (Boc) ou 9-fluorenylméthoxy-carbonyl (Fmoc), et le groupe benzyloxy-carbonyl (Z) (**Figure 1.24**).

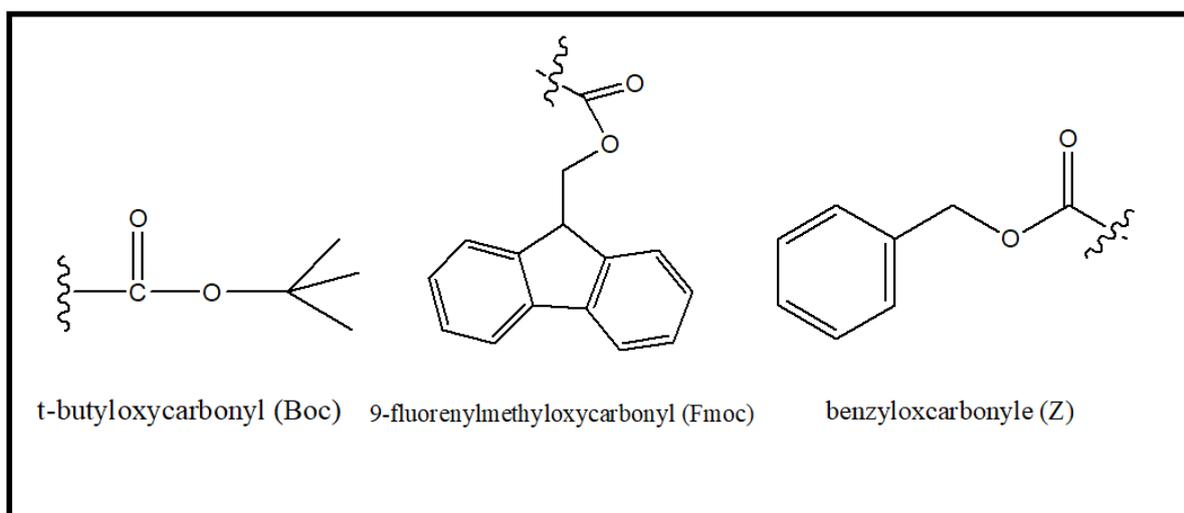


Figure 1. 24: Les groupements protecteurs de la fonction amine.

#### 1.6.1.1.a Le groupement benzyloxycarbonyl (Z) :

Le benzyloxycarbonyl noté Cbz ou Z est un protecteur des amines en synthèse organique. Il est couramment utilisé dans la synthèse peptidique. Il est introduit par l'action du chloroformiate de benzyle (Z-Cl) sur l'extrémité amine d'un acide aminé en présence de base. Cette méthode de protection a été développée par Max Bergmann en 1932 pour la synthèse de peptides [13] (**Schéma 1.3**).

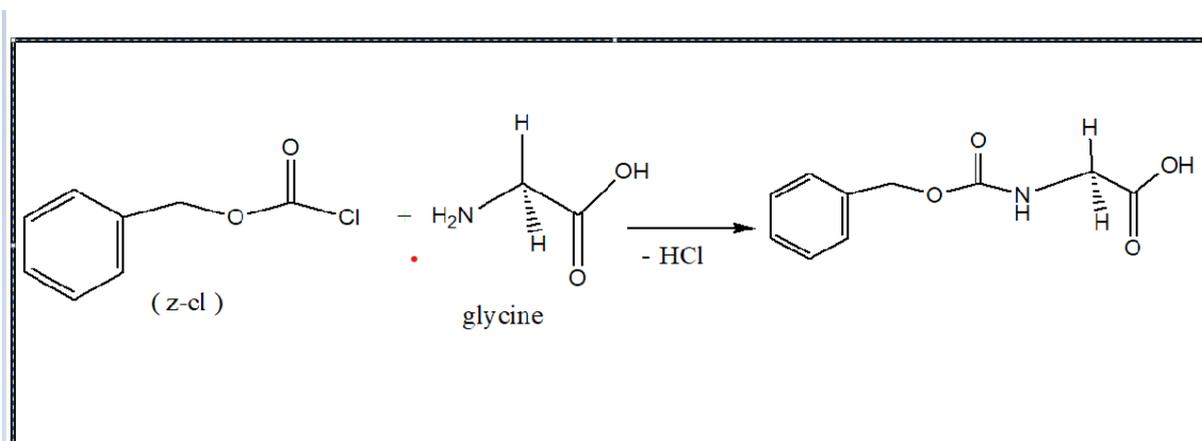
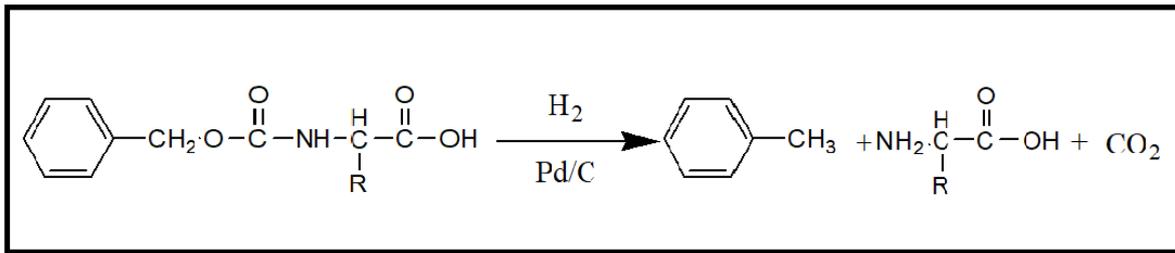


Schéma1.3 : Réaction de protection par groupement (Z).

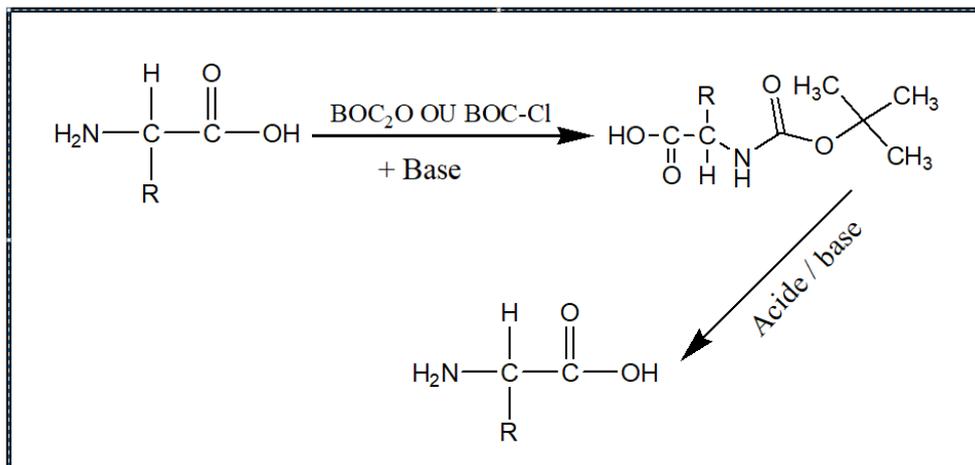
Les fonctions amines ainsi protégées peuvent être déprotégées par hydrogénation catalytique. En donnant le toluène et le dioxyde de carbone comme sous-produits (**Schéma 1.4**).



**Schéma1.4 : Réaction de déprotection de la fonction amine.**

#### 1.6.1.1.b Le groupement t-butyloxycarbonyle (Boc) :

Le tert-butoxycarbonyl, plus connu sous l'acronyme BOC ou Boc, est un groupement protecteur de la fonction amine. En particulier, la fonction amine des acides aminés dans la synthèse peptidique [14]. Il est introduit aux amines en utilisant du dicarbonate de di-tert-butyle ( $\text{BOC}_2\text{O}$ ) en présence d'une base telle que le bicarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ) ou par le chloroformiate de tert-butyle (Boc-Cl) (**Schéma1.5**).

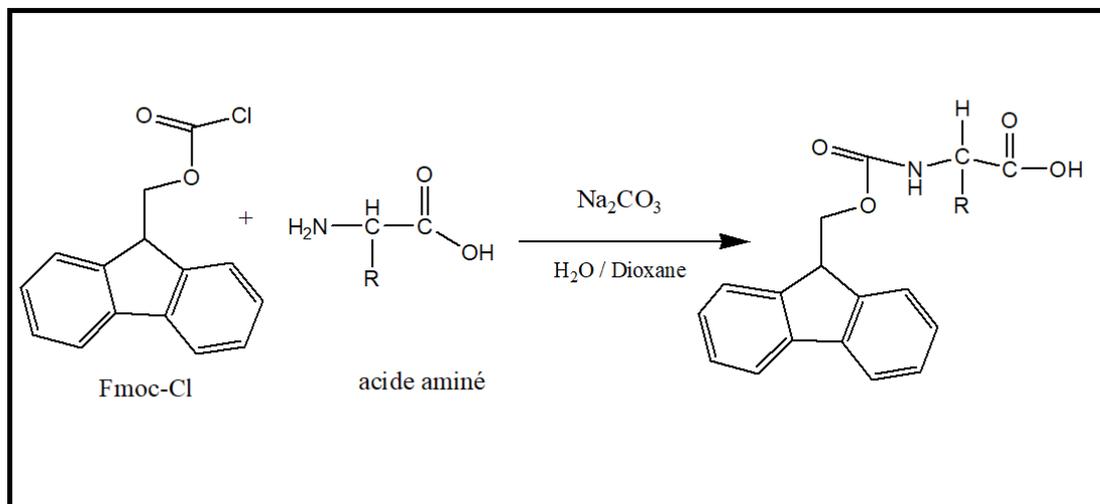


**Schéma1.5 : Réaction de la protection/déprotection par le tert-butyloxycarbonyl**

Le clivage du Boc des acides aminés peut être réalisée à l'aide d'acides forts tels que l'acide trifluoroacétique (TFA) pur ou le chlorure d'hydrogène (HCl) dans du dichlorométhane ou dans du méthanol, Il peut également être éliminé avec du  $\text{K}_2\text{CO}_3$  dans du méthanol à température ambiante.

### 1.6.1.1.c 9-fluorenylméthoxy-carbonyl (Fmoc) :

Le chlorure de fluorénylméthoxy-carbonyl (Fmoc-Cl) est un chloroformiate qui aide à introduire le groupement Fmoc à l'extrémité amine des acides aminés [15]. La réaction de protection est réalisée en milieu faiblement basique [16] (**Schéma1.6**).



**Shéma1.6 : Introduction du (Fmoc-Cl) sur un acide aminé.**

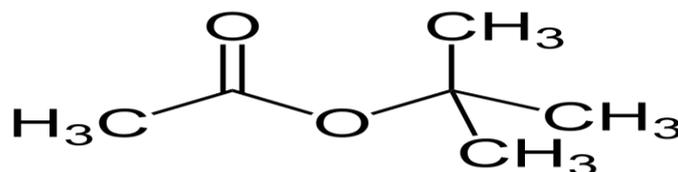
La réaction de déprotection ou de clivage est faisable par la pipéridine ou la merpholine.

### 1.6.1.2 Protection de la fonction acide carboxylique :

Les acides carboxyliques sont souvent protégés sous forme d'ester benzylique ou t-butyle.

#### 1.6.1.2.a Esters de tertio-butyle :

Ils sont obtenus à partir de l'isobutène sous pression en milieu acide. Relativement stable en milieu basique, ils sont clivés très facilement en milieu acide.



**Figure 1. 25: Structure d'ester de tertio-butyle.**

### 1.6.1.2.b Esters de benzyle (Bzl) :

Également très répandus en synthèse peptidique, ils sont préparés directement à partir d'alcool benzyliques dans le benzène en présence d'un catalyseur acide. Leur dé-protection est réalisé par hydrogénation catalytique.

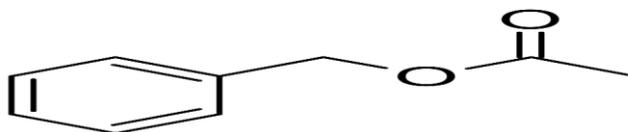


Figure 1.26: Structure d'ester de benzyle (Bzl).

### 1.6.1.3 Protection des chaînes latérales :

La stratégie la plus efficace consiste à déprotéger les chaînes latérales comme dernière étape. Par conséquent, le choix de la réaction de protection de la chaîne latérale dépend de la réaction effectuée pour protéger la chaîne principale.

## 1.7 Le couplage :

Le concept de couplage couvre deux types de réaction : la 1<sup>er</sup> réaction c'est le mélange des deux aminoacides convenablement bloqués ou protégés, l'un à la fonction amine, l'autre à la fonction acide, auquel on ajoute le réactif de couplage, et la 2<sup>ème</sup> réaction c'est l'activation de la fonction acide par la formation d'un intermédiaire réactif entre la fonction acide libre et l'agent de couplage puis l'addition du deuxième aminoacide à fonction amine libre [17].

### 1.7.1 Activation de la fonction acide et les méthodes de couplage :

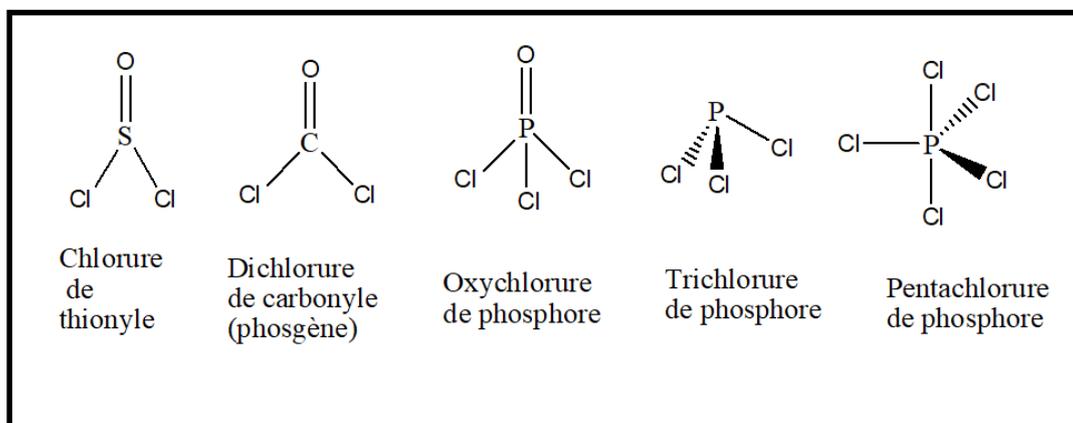
En synthèse peptidique Il est nécessaire d'activer la partie C-terminale de l'un des deux acides aminés permettant ainsi à l'extrémité N-terminale de l'autre acide aminé de faire une attaque nucléophile.

#### 1.7.1.1 Méthode des Chlorures d'acyle :

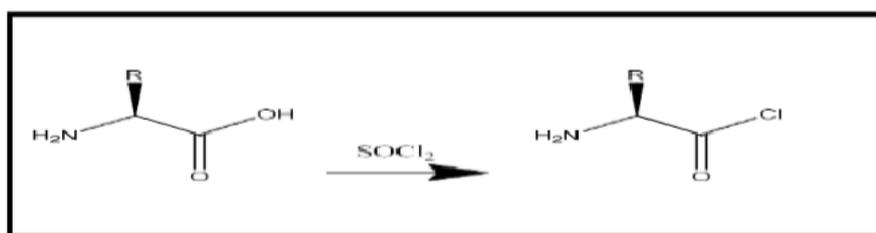
Une méthode simple et évidente d'activer un acide carboxylique est de le transformer en chlorure d'acide. Elle a été utilisée pour la 1<sup>ère</sup> pour la synthèse des peptides en 1903 par le groupe de Pr. Fisher [18].

La préparation du chlorure d'acyle peut être réalisée in situ en mélangeant l'acide carboxylique avec du chlorure de thionyle ou du chlorure d'oxalyle dans des solvants aprotiques, par

exemple du DCM, du THF ou de l'acétate d'éthyle [19]. On obtient normalement de bonnes conversions après quelques heures de reflux du mélange. Il faut isoler le chlorure d'acyle avant l'étape d'amidation avec l'amine (**figure1.27**).



**Figure1.27 : Les agents de chloration de la fonction acide.**

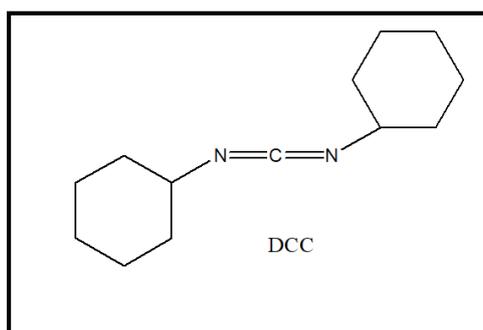


**Schéma 1.7: Préparation d'un chlorure d'acyle.**

L'acylation de l'amine par le chlorure d'acyle est souvent appelée "réaction de Schotten-Baumann", La réaction se produit généralement rapidement à température ambiante dans des solvants aprotiques en présence d'une base adaptée, une amine tertiaire ou de la pyridine.

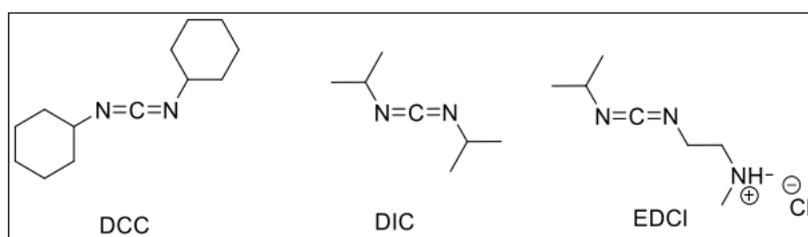
#### **1.7.1.2 Méthode des Anhydrides :**

C'est la méthode la plus efficace et la plus propre pour réaliser des couplages peptidiques. Les anhydrides d'acides carboxyliques sont des composés de formule générale  $(RCO)_2O$ . Parmi les anhydrides mixtes, les dérivés de carbodiimide ont été largement utilisés pour activer les acides carboxyliques [20]. Le carbodiimide le plus utilisé est le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (**Figure 1.28**). Le sous-produit formé : N,N'-dicyclohexylurée (DCU) formé lors de la réaction est peu soluble dans la plupart des solvants mais également difficile à éliminer du mélange réactionnel [21].



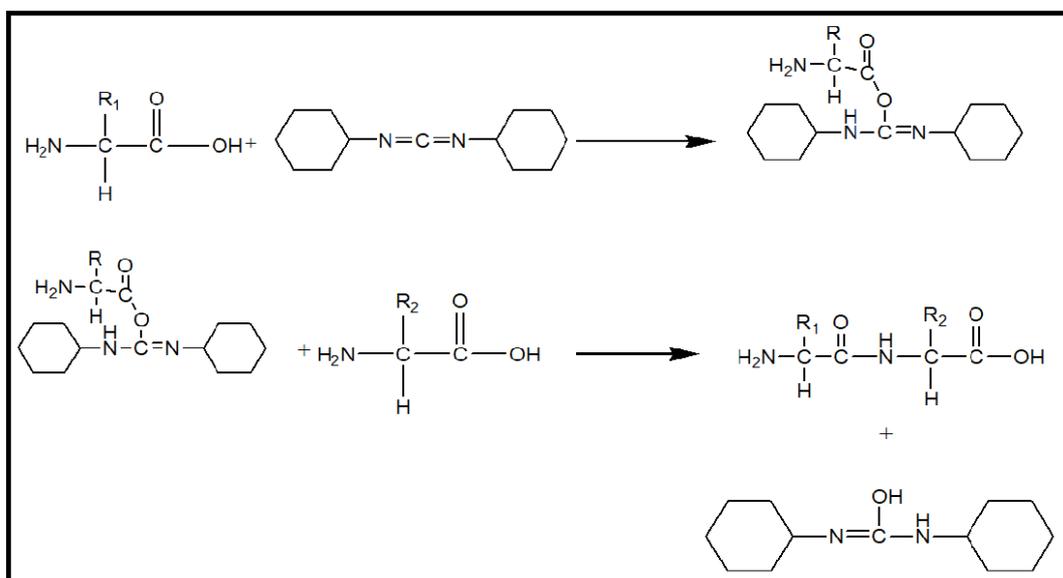
**Figure 1. 28: Structure de DCC.**

Il existe d'autres dérivés de carbodiimide tels que le N,N'-diisopropyldiimide (DIC) ou le chlorhydrate de N-éthyl-N'-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (**Figure1.29**), qui sont souvent employés mais des réactions secondaires peuvent interférer par une réaction d'homocouplage.



**Figure 1. 25: Agents de couplage de type carboiimides.**

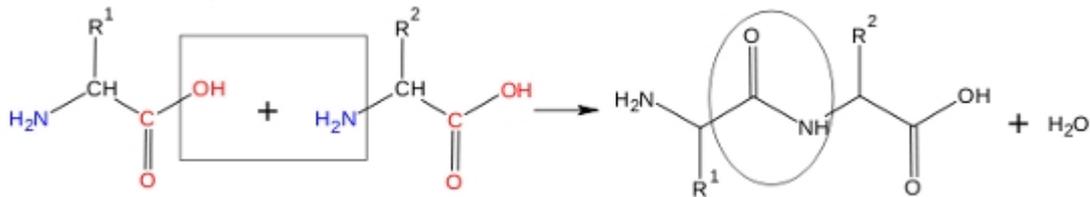
Le couplage au DCC a été décrite en 1955, le mécanisme est divisé en deux partie (**Schéma1.7**)



**Schéma1.8 : Réaction de couplage avec DCC.**

## 1.8 Liaison amide/ liaison peptidique :

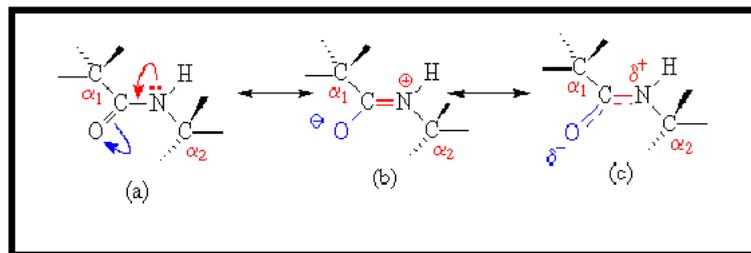
La liaison qui relie deux acides aminés est de type amide. On la nomme aussi liaison peptidique, Elle résulte de la condensation entre la fonction acide carboxylique d'un acide amine et la fonction amine d'un deuxième acide amine. Cette condensation s'accompagne de la libération d'une molécule d'eau (**Schéma1.8**).



**Schéma1.9 : Réaction de formation de la liaison peptidique.**

### 1.8.1 Propriétés géométriques :

Cette liaison est un hybride de résonance, du a une délocalisation d'électrons entre le doublet libre de l'azote et les  $\pi$  du groupement carbonyle, lui donnant un comportement de double liaison partielle. Ainsi la liaison peptidique est très stable, plane, les 6 atomes ( $C\alpha$ , C, O, N, H et  $C\beta$ ) sont coplanaires (**Schéma1.9**).



**Figure 1.30 : Formes résonantes de la liaison peptidique.**

Le caractère partiellement double de la liaison C-N, fait que la liaison peptidique est :

- Très Stable.
- Plane.
- Rigide : la rotation autour de C-N est impossible.

### 1.8.2 Angles et longueurs de liaison de la liaison amide :

La longueur d'une liaison peptidique est de 1,33 Å . Elle est donc plus courte qu'une liaison simple (C-N :1,47 Å) mais plus longue qu'une liaison double (C=N : 1 ;28 Å) (Figure 1.30) [2].

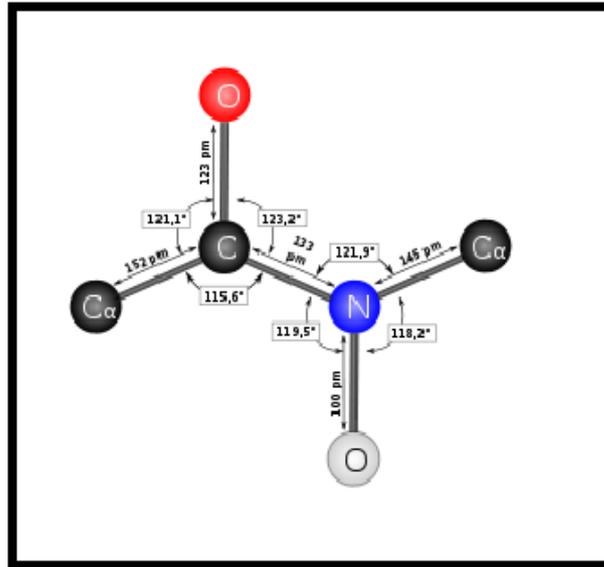


Figure 1.31: Angles et longueur de liaison de la liaison peptidique. [22]

### 1.8.3 Polarité de la liaison peptidique :

L'oxygène du carbonyle porte une fraction de charge négative et peut servir comme accepteur de proton dans une liaison hydrogène. L'azote amide a une fraction de charge positive et le groupe NH peut servir comme donneur de proton dans une liaison hydrogène (Schéma 1.10) [23].

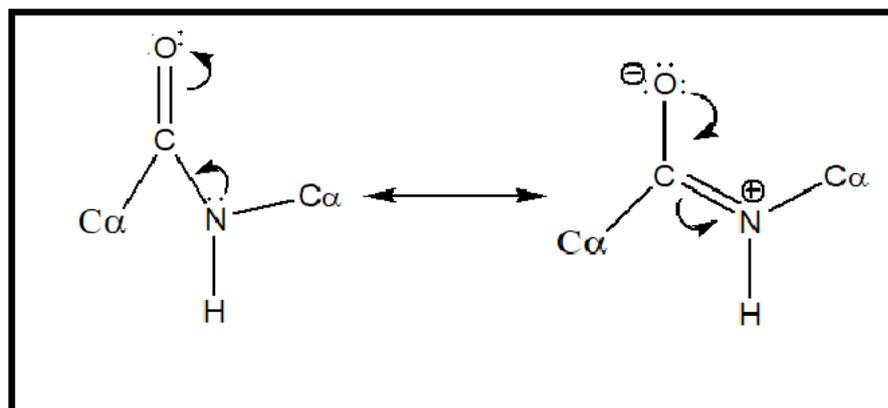


Figure 1.32 : Polarité de liaison peptidique

### 1.8.4 Configuration de la liaison peptidique :

La liaison peptidique peut adopter une Configuration Cis ou Trans dans la configuration Cis les  $C\alpha$  sont situés sur le même franc de la liaison peptidique. Dans la forme trans, les 2  $C\alpha$  de deux résidus d'AA voisins sont sur des côtés opposés, c'est la forme la plus stable (répulsion stérique minimale) [24]. La liaison peptidique sera donc presque toujours sous la forme trans.

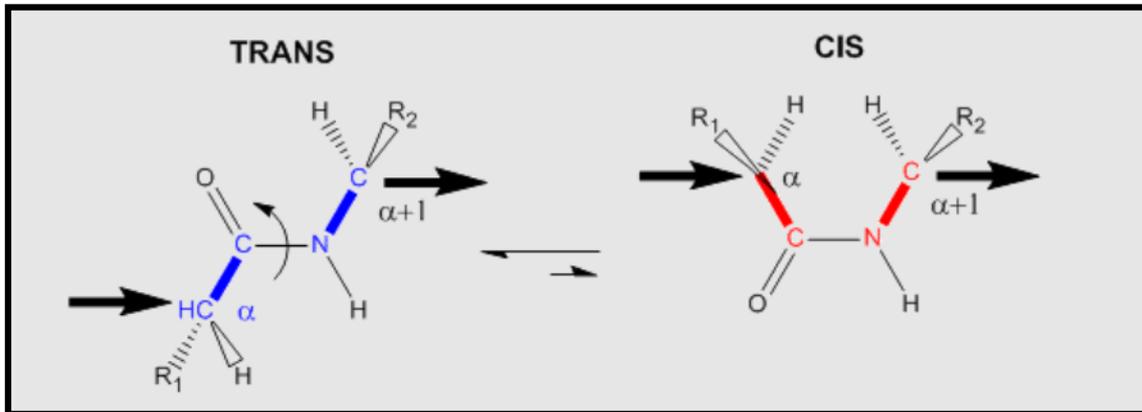


Figure 1.33 : Configuration Cis/Trans.

## 1.9 Les peptides et les protéines :

Les peptides et protéines sont les constituants de la matière vivante. Ils assurent la structure de la cellule et exercent diverses fonctions au sein de notre organisme.

Les peptides ou protéines résultent de la condensation des aminoacides reliés entre eux par une liaison peptidique. Ils diffèrent par le nombre, la nature et l'ordre des acides aminés. Tel que :

- Peptide : enchaînement d'un nombre d'acides aminés inférieur à cinquante (50), parmi ceux-ci on parle d'oligopeptide pour un nombre d'acides aminés inférieur à dix (10) et de polypeptide pour un nombre supérieur à dix (10).
- Protéine : enchaînement d'un nombre d'acides aminés au-delà de cinquante (50). Elles peuvent atteindre une masse supérieure à 10000 Da ( 1,66018. 10<sup>-20</sup> g) [24].

Dans une chaîne peptidique par convention, l'angle de rotation autour de la liaison  $C\alpha-N$  est désignée par la lettre  $\Phi$  (phi) et l'angle de rotation autour de la liaison  $C\alpha-C$  par la lettre ( $\psi$ )Psi. Le plan de référence est celui passant par N,  $C\alpha$ , et C de CO (**Schéma1.11**) la valeur absolue de

l'angle est comprise entre  $0^\circ$  et  $180^\circ$ , le signe est négatif si la rotation a lieu dans le sens des aiguilles d'une montre et positif dans le cas contraire.

La plupart des valeurs de  $\Phi$  et de  $\Psi$  ne sont pas permises, celles qui sont autorisées déterminent les structures secondaires des protéines [24].

Tel que :

$\Phi$  : angle de rotation autour d'une liaison  $C\alpha-N$ .

$\Psi$  : angle de rotation autour d'une liaison  $C\alpha-C$ .

$\omega$  : angle de rotation autour d'une liaison  $C-N$ .

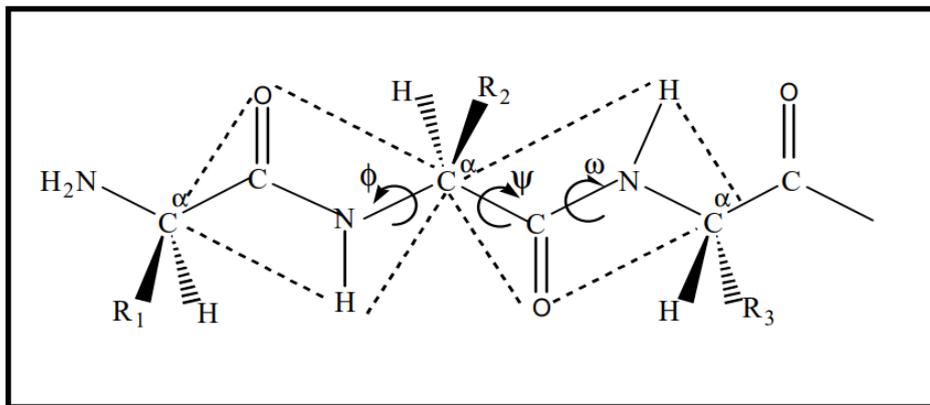


Figure 1.34 : Géométrie et angle de rotation d'une liaison peptidique.

### 1.9.1 Structure primaire :

C'est l'enchaînement des différents acides aminés composant le peptide ou la protéine qui détermine la structure primaire ou séquence [2] (Figure 1.32).

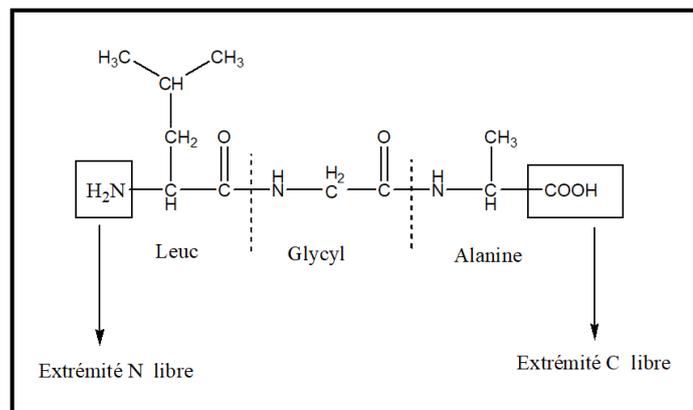


Figure 1. 35: Structure primaire.

### 1.9.3 Structure secondaire :

La structure secondaire des peptides résulte de la possibilité de formation de liaisons hydrogène entre l'oxygène du carbonyle et l'hydrogène de l'azote amidé de la liaison peptidique [24].

Cette structure secondaire est due à la rigidité de la liaison amide mais aussi à la présence de nombreuses interactions : liaisons hydrogène ( $\sim 20$  kJ/mol), liaison de Van der Waals ( $\sim 4$  kJ/mol), liaison covalente S-S ( $\sim 150$  kJ/mol).

Il existe deux arrangements importants : l'hélice  $\alpha$  et la structure en feuillet plissée (configuration  $\beta$ ) [25].

#### 1.9.3.1 L'hélice $\alpha$ :

C'est une structure régulière et relativement compacte (**Figure 1.33**) dont les caractéristiques :

- Conformation en hélice est maintenue par liaison hydrogène intramoléculaires entre tous les motifs CO et NH des acides aminés impliqués.
- Les radicaux (R) des résidus sont à l'extérieur de l'hélice, ce qui minimise les encombrements stériques.
- L'hélice ne peut s'établir qu'avec des résidus de la même série (L ou D).
- Les plans des liaisons peptidiques sont parallèles à l'axe de l'hélice et forment les squelettes de l'hélice [2].

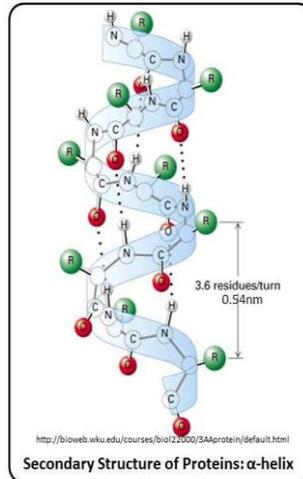


Figure 1. 36 : Structure de protéine L'hélice  $\alpha$  [26].

### 1.9.3.2 Configuration $\beta$ ou feuillets $\beta$ :

Dans cette structure, appelée également structure en feuille plissée, les liaisons hydrogène sont réalisées entre deux brins de polypeptide. Dans cette configuration, les atomes C,O et N impliqués dans les liaisons hydrogène, forment entre eux un angle bien précis qui confère ainsi à l'ensemble cette structure en feuille plissée [27].

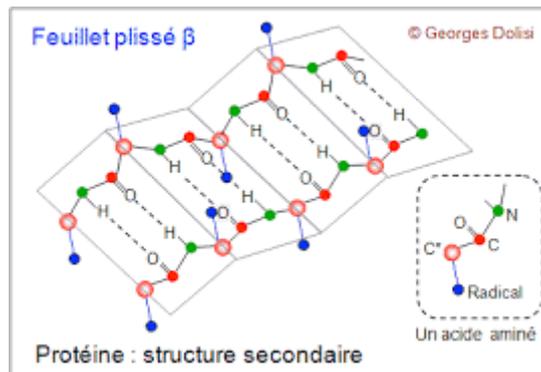


Figure 1. 37 : Structure secondaire feuillets  $\beta$  [28].

### 1.9.4 Structure tertiaire :

Ce terme désigne la façon dont les motifs secondaires sont disposés entre eux et correspond en réalité à la façon dont une chaîne polypeptidique unique va se replier dans l'espace [28].

Diverses forces provenant toutes des chaînes latérales R, entrent en jeu pour stabiliser cette grosse molécule : liaisons hydrogène, ponts disulfures, attractions et répulsions électrostatiques, effets hydrophobes.

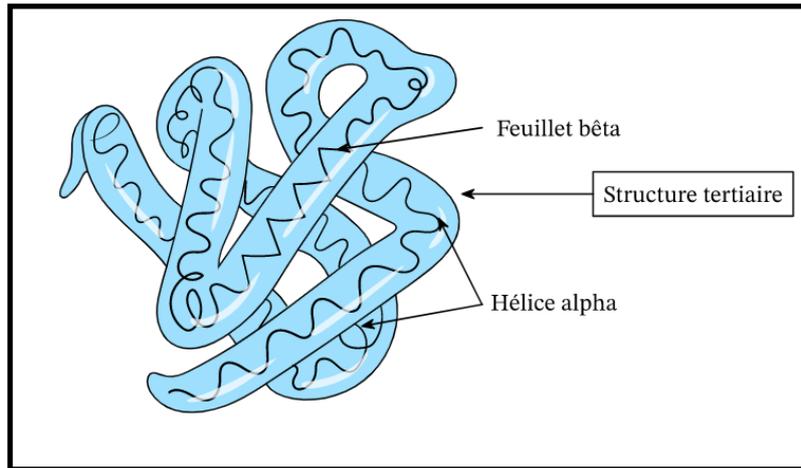


Figure 1. 38 : Structure tertiaire de protéine [30].

### 1.9.5 Structure quaternaire :

Certaines protéines, comme l'hémoglobine, adoptent un autre niveau de structure appelée structure quaternaire, dans laquelle deux chaînes ou plus, ayant chacune leur propre structure tertiaire, se combinent entre elles pour former un assemblage plus volumineux leur permettant d'assurer la fonction pour laquelle elles sont dédiées [25].

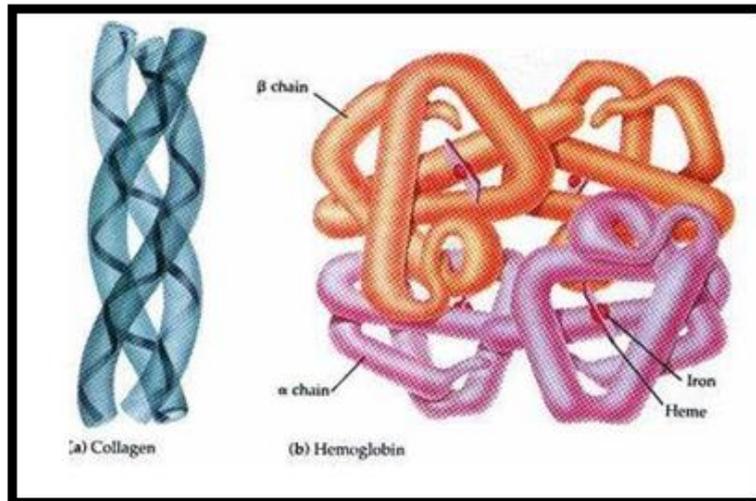


Figure 1. 39 : Structure quaternaire [30].

### 1.9.6 Synthèse chimiques des peptides :

La synthèse chimique des peptides se fait en solution ou sur une phase solide.

#### **1.9.6.1 Synthèse en phase liquide :**

La synthèse peptidique en phase liquide, utilisant habituellement une protection Boc ou Z pour la fonction amino, a été remplacée par la synthèse peptidique en phase solide, hormis pour les procédés existants de synthèse à grande échelle de peptides à des fins industrielles [29].

#### **1.9.6.2 Synthèse en phase solide :**

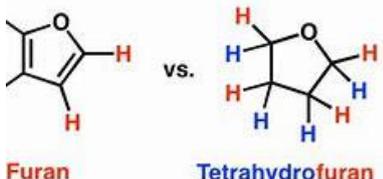
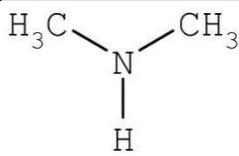
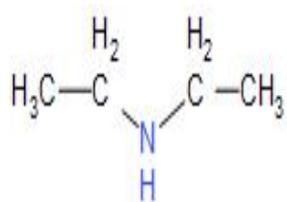
La synthèse peptidique en phase solide (SPPS) est la méthode la plus fréquemment employée pour synthétiser des peptides, du fait de son efficacité, de sa simplicité, de sa rapidité et de sa facilité de parallélisation. La SPPS consiste à ajouter successivement, à un acide aminé ou un peptide fixé sur un support polymère insoluble, des résidus d'acides aminés à chaînes latérales et fonctions amino protégées.

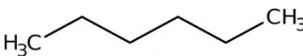
# **CHAPITRE 2 :**

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

## 2.1 Produits utilisés :

Tableau 2. 1: Propriétés chimiques des produits utilisés.

Produit	Structure	Propriétés	source
Tétrahydrofurane (THF)	 <p>Furan vs. Tetrahydrofuran</p>	Formule chimique $C_4H_8O$ Masse molaire 72,107 g /mol T° d'ébullition 66 °C Solubilité : dans l'eau	FLUKA
Dicyclohexylcarbodiimide ( DCCI )	Voir la Figure 2.2	Formule : $C_{13}H_{22}N_2$ Masse molaire :206,32g/mol T° fusion : 34 à 35 °C T° ébullition :122 à 124 °C Solubilité :pratiquement insoluble dans l'eau	SIGMA-ALDRISH
Diméthylamine		Formule chimique : $(CH_3)_2NH$ Masse molaire :45,085g /mol T° d'ébullition 7 à 9 °C	PROLABO
<u>Diéthylamine</u>		Formule chimique : $C_4H_{11}N$ Masse molaire : 73,13 g /mol T° d'ébullition :55,5°C	SIGMA-ALDRISH

Acide aminé : Boc-Ala-OH	Voir la Figure 2.3	Formule chimique : $C_8H_{15}NO_4$ Masse molaire : 189.21 g/mol T° de fusion : 92,3°C	FLUKA
Acide aminé: Boc-Leu-OH	Voir la Figure 2.4	Formule chimique : $C_6H_{12}NO_2$ Masse molaire : 231.29g/mol T° de fusion : 96,4°C	FLUKA
Hexane		Formule chimique : $C_6H_{14}$ Masse molaire : 86,17g/mol T° ébullition : 68,73 °C Solubilité : 9,5 mg·l <sup>-1</sup> (eau, 25 °C)	SUPELCO

## 2.2 Choix du groupement protecteur :

Le partie N-terminale des acides aminés utilisés est protégée par le groupement tertibutyloxycarbonyle (Boc) (**Figure 2.1**).

Il est de type uréthane stable en milieu basique et soluble dans la majorité des solvants organiques.

La partie C-terminale est protégée par la formation de la liaison amide.

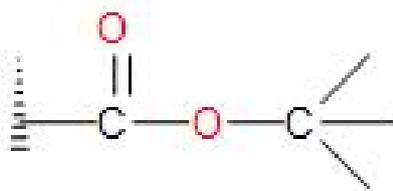


Figure 2. 1: Formule topologique du BOC.

## 2.3 Méthode et Agent de couplage :

Dans ce travail, nous avons utilisé la méthode des carbodiimides moyennant le DCCI comme agent de couplage. Le N, N'-dicyclohexylcarbodiimide ou DCCI est un composé organique de la famille des carbodiimide, il servira à activer la fonction acide d'un acide aminé par formation d'une O-acyl urée, ce qui facilitera la réaction de condensation avec une amine (Figure 2.2).

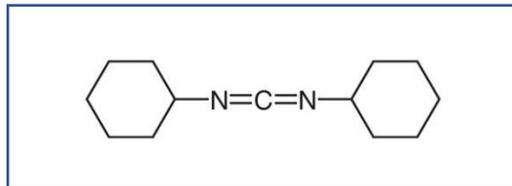


Figure 2. 2: Structure de DCCI.

## 2.4 Les acides aminés utilisés :

- **Acide aminé Boc-Ala-OH :**

Boc-Ala-OH est un acide aminé non essentiel de carbone asymétrique et R (CH<sub>3</sub>) protégé par le groupement protecteur Boc (figure2.3).

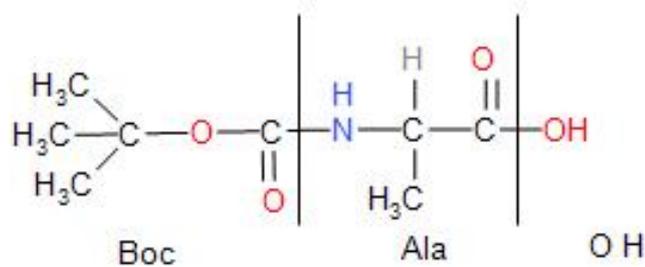


Figure 2. 3: Formule développer du Boc-Ala-OH.

- **Acide aminé Boc-Leu-OH :**

Boc-Leu-OH est un acide aminé essentiel de carbone asymétrique et la chaîne latérale R ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-CH-CH<sub>2</sub>-) protégé par le groupement protecteur Boc (figure2.4).

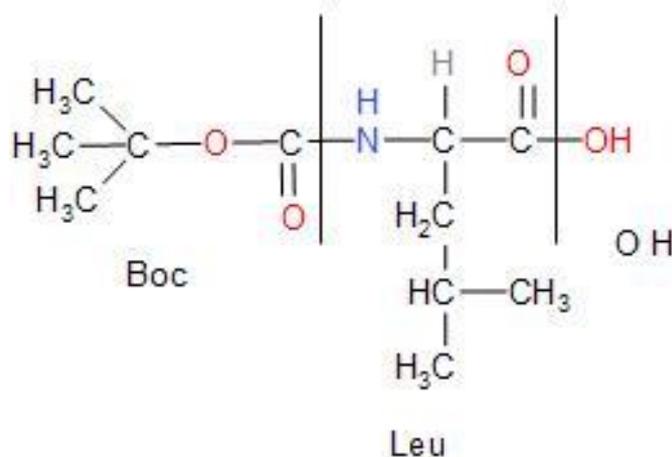


Figure 2. 4: Formule développer du Boc-Leu-OH.

## 2.5 Réactions de synthèse des acides aminés C-protégés :

### 2.5.1 Synthèse de Boc-Ala-N(Me)<sub>2</sub> :

Dans un ballon de 100ml on introduit 1mol de Boc-Ala-OH qu'on fait dissoudre dans le THF, on maintient le mélange sous agitation à 0°C jusqu'à la dissolution totale. On ajoute 1mol de DCCI.

Après 30min d'agitation à 0°C on introduit la diméthylamine. On laisse le mélange réactionnel sous agitation à 0°C pour 1h00 à 1h30min et entre 48h à 72h à température ambiante.

On filtre le mélange réactionnel pour se débarrasser de la dicyclohexyl urée (DCU) formée (produit intermédiaire) qu'est sous forme un solide blanc insoluble dans le milieu réactionnel.

On élimine le solvant du filtra par un évaporateur rotatif sous pression réduite.

On récupère le produit sous forme d'huile, elle sera cristallisée dans le système THF/Hexane.

Les cristaux blancs du Boc-Ala-N(Me)<sub>2</sub> sont séchés, pesés puis analysés (**Figure 2.5**).

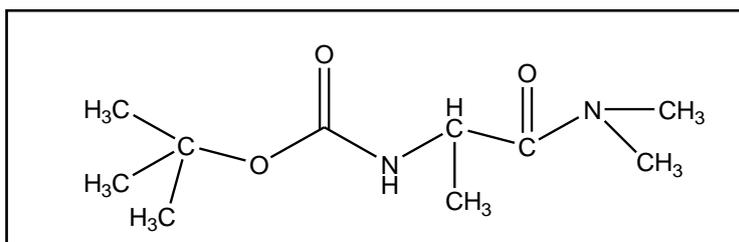


Figure 2. 5: Formule développer du Boc-Ala-N(Me)<sub>2</sub>.



### 2.5.3 Synthèse de Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub> :

Dans un ballon de 100ml on introduit 1mol de Boc-Leu-OH qu'on fait dissoudre dans le THF, on maintient le mélange sous agitation à 0°C jusqu'à la dissolution totale. On ajoute 1mol de DCCI.

Après 30min d'agitation à 0°C on introduit la diméthylamine. On laisse le mélange réactionnel sous agitation à 0°C pour 1h00 à 1h30min et entre 48h à 72h à température ambiante.

On filtre le mélange réactionnel pour se débarrasser de la dicyclohexyl urée (DCU) formée (produit intermédiaire) qu'est sous forme un solide blanc insoluble dans le milieu réactionnel.

On élimine le solvant du filtra par un évaporateur rotatif sous pression réduite.

On récupère le produit sous forme d'huile, elle sera cristallisée dans le système THF/Hexane.

Les cristaux blancs du Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub> sont séchés, pesés puis analysés (Figure 2.7).

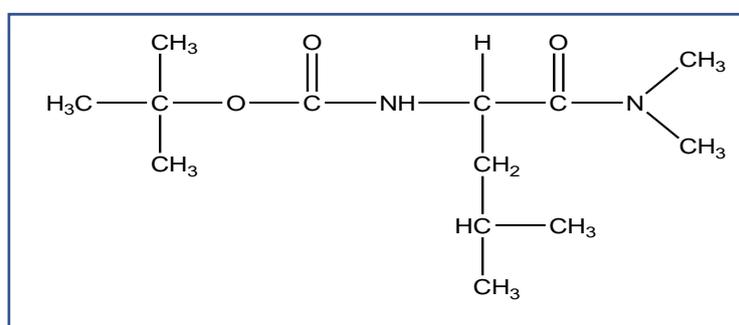


Figure 2. 7: Formule développer du Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub>.

### 2.5.4 Synthèse de Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub>

Dans un ballon de 100ml on introduit 1mol de Boc-leu-OH qu'on fait dissoudre dans le THF, on maintient le mélange sous agitation à 0°C jusqu'à la dissolution totale. On ajoute 1mol de DCCI.

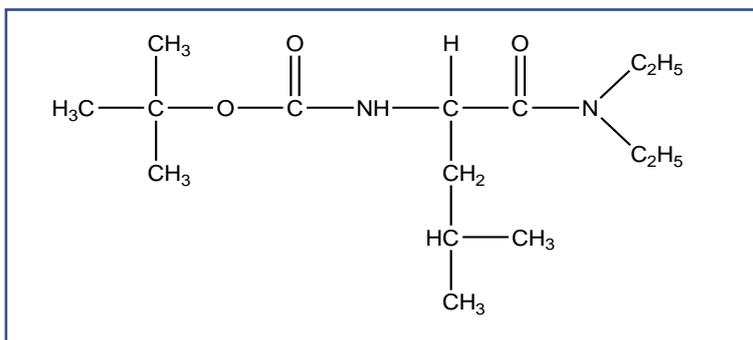
Après 30min d'agitation à 0°C on introduit la diéthylamine. On laisse le mélange réactionnel sous agitation à 0°C pour 1h00 à 1h30min et entre 48h à 72h à température ambiante.

On filtre le mélange réactionnel pour se débarrasser de la dicyclohexyl urée (DCU) formée (produit intermédiaire) qu'est sous forme un solide blanc insoluble dans le milieu réactionnel.

On élimine le solvant du filtra par un évaporateur rotatif sous pression réduite.

On récupère le produit sous forme d'huile, elle sera cristallisée dans le système THF/Hexane.

Les cristaux blancs du Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub> sont séchés, pesés puis analysés (**Figure 2.8**).



**Figure 2. 8: Formule développer du Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub>.**

Caractérisation :

- Boc-leu-OH : MM= 231,29 g/mol<sup>-1</sup>

$$T_f = 96,4 \text{ } ^\circ\text{C}$$

- Boc-leu-N(Me)<sub>2</sub>: MM=258,29 g/mol<sup>-1</sup>

$$T_f = 181 \text{ } ^\circ\text{C}$$

- Boc-leu-N(Et)<sub>2</sub> : MM=286,42g/mol<sup>-1</sup>

$$T_f = 186,6 \text{ } ^\circ\text{C}$$

## 2.6 Méthodes utilisées et techniques d'identification :

### 2.6.1 Chromatographie sur couche mince :

La chromatographie d'adsorption est une technique de séparation de composés basée sur la différence d'affinité existant entre ces composés, la phase mobile, qui entraîne les composés, et la phase stationnaire. En effet, selon la plus ou moins grande affinité entre les solutés et la phase stationnaire ou mobile, les constituants du mélange migrent à des vitesses différentes et sont ainsi séparés.

La chromatographie sur couche mince (CCM) (**Figure 2.9**) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui

progresses le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium.

a) La phase stationnaire :

La phase stationnaire est une fine couche de gel de silice, poudre blanche déposée sur un support plastique (PETE), métallique (Al) ou encore en verre.

b) La phase mobile :

Il s'agit d'un solvant qui migre sur la plaque de silice. Un solvant qui se déplace est appelé en chromatographie un éluant.

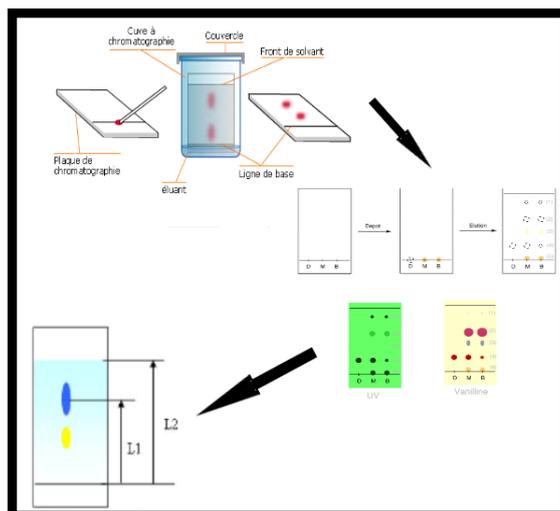
Des nombreux éluants peuvent être utilisés, selon la polarité souhaitée :

- Solvants apolaires : hexane, éther de pétrole...
- Solvants polaires : éther, éthanol...

Le choix de l'éluant est le point crucial pour réussir une bonne séparation en CCM. Il dépend de la polarité des constituants que l'on a à séparer. Lors de la mise au point, on essaie couramment divers éluants, purs ou en mélange.

**Principe :**

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption. Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires.



**Figure 2. 9: Chromatographie sur couche mince.**

### 2.6.2 Mesure du point de fusion :

Le point de fusion est la température à laquelle un élément passe de l'état solide à l'état liquide. Le point de fusion est mesuré sous pression atmosphérique normale car il y a une coexistence entre état solide et liquide. La température de fusion est une caractéristique de la matière.

Elle peut ainsi aider à identifier une substance et à contrôler sa pureté de vérifier la pureté d'une substance : toute impureté fera varier le point de fusion de la substance testée. La température de fusion des produits cristallisés a été mesurée par un appareil Scientific Melting Point Apparatus SMP3 (**Figure 2.10**).



**Figure 2. 10: Fusiomètre.**

### 2.6.3 La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier :

La spectroscopie infrarouge est une technique d'analyse rapide qui permet d'identifier rapidement les caractéristiques chimiques des molécules présentes dans la substance analysée (solide, liquide ou, moins fréquemment, gaz). Cette technique est basée sur l'absorption d'un rayonnement électromagnétique infrarouge de 1 à 50  $\mu\text{m}$  (micromètre) par l'échantillon (**figure 2.11**). Cette bande spectrale est divisée en proche infrarouge (1-2,5  $\mu\text{m}$ ) et moyen infrarouge (2,5-50  $\mu\text{m}$ ). L'infrarouge moyen est utilisé pour identifier les molécules organiques et peut stocker une sorte d'empreinte digitale.

Au laboratoire, nous utilisons un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) permettant de réaliser des examens en quelques secondes en utilisant le mode classique en absorbance ou transmittance.

Les produits obtenus ont été caractérisés par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) à l'aide d'un appareil de marque SCHEMADZU (FTIR-8900).

Les échantillons ont été introduits sous forme de pastille en broyant 3mg de produit dans 20 mg de bromure de potassium (KBr).

L'analyse a été effectuée par balayage dans le domaine 400-4500  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figure 2. 11: Appareil infra rouge.**

# **CHAPITRE 3 :**

## **RESULTATS ET DISCUSSIONS.**

La synthèse d'un acide aminé N-C protégé fait appel aux méthodes classiques de synthèse peptidique, en l'occurrence le choix des groupements protecteurs et des agents activant.

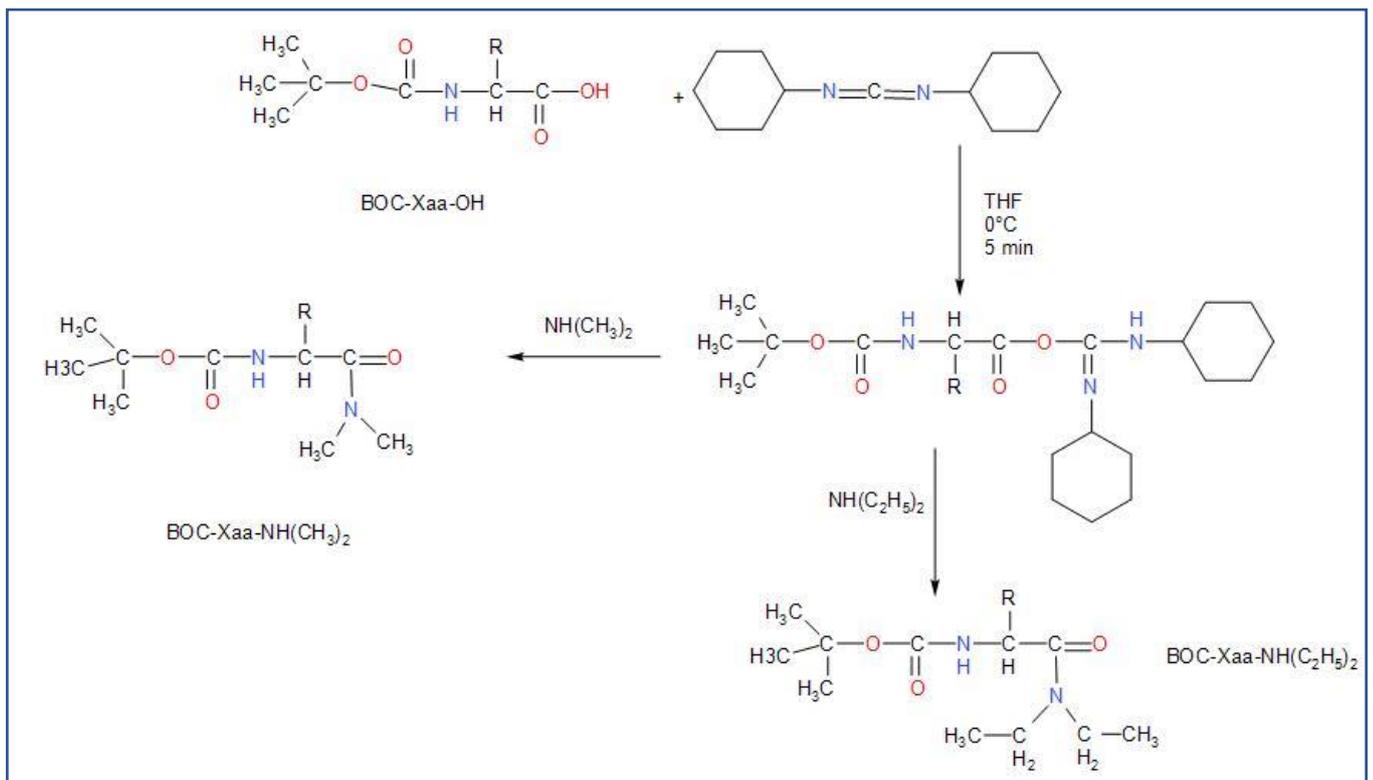
Notre choix s'est porté sur la synthèse d'acides aminés de type Boc-Xaa-N(Me)<sub>2</sub> et Boc-Xaa-N(Et)<sub>2</sub> pour qu'ils soient prêts pour une synthèse des peptides.

Les acides aminés choisis sont :

- L'alanine sa chaîne latérale est un méthyle. Elle contribue à la formation des globules blancs, elle est donc indispensable au maintien d'une bonne santé.
- La leucine sa chaîne latérale est un isobutyle. Elle est utilisée par le corps pour la construction musculaire et la production d'énergie.

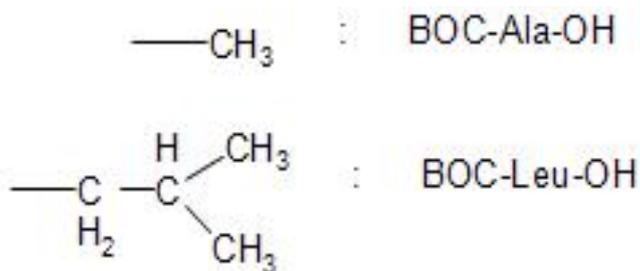
Nous avons opté pour la méthode des carbodiimides en utilisant le DCCI comme agent de couplage.

Le projet initialement conçu est représenté dans la (**Schéma 3.1**).



**Schéma 3. 4: Schéma général pour la synthèse des acides aminés.**

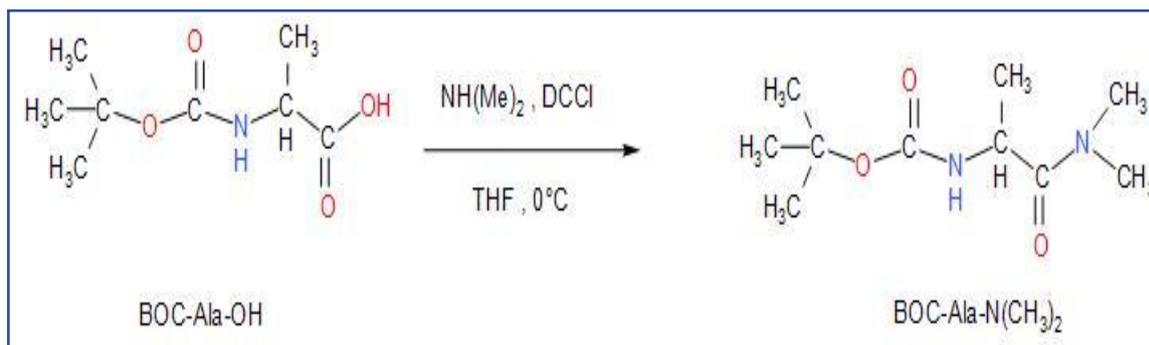
R :



### 3.1 Réaction de synthèse du BOC-Ala-N(Me)<sub>2</sub> :

Nous avons premièrement procédé à la synthèse du Boc-Ala-N(Me)<sub>2</sub> sous forme de cristaux blancs en faisant réagir le Boc-Ala-OH produit commercial, avec diméthylamine (NH(Me)<sub>2</sub>) dans le THF à 0°C en présence de la DCCI, comme agent de couplage. Après filtration du sel formé et élimination du solvant, le Boc-Ala-N(Me)<sub>2</sub> obtenu sous forme d'huile est cristallisé dans le système THF/Hx pour purification avec un rendement de 44,86% en produit pur et d'un point de fusion de 162,4°C.

Le schéma 3.2 schématise la réaction de synthèse du Boc-Ala-N (Me)<sub>2</sub>.



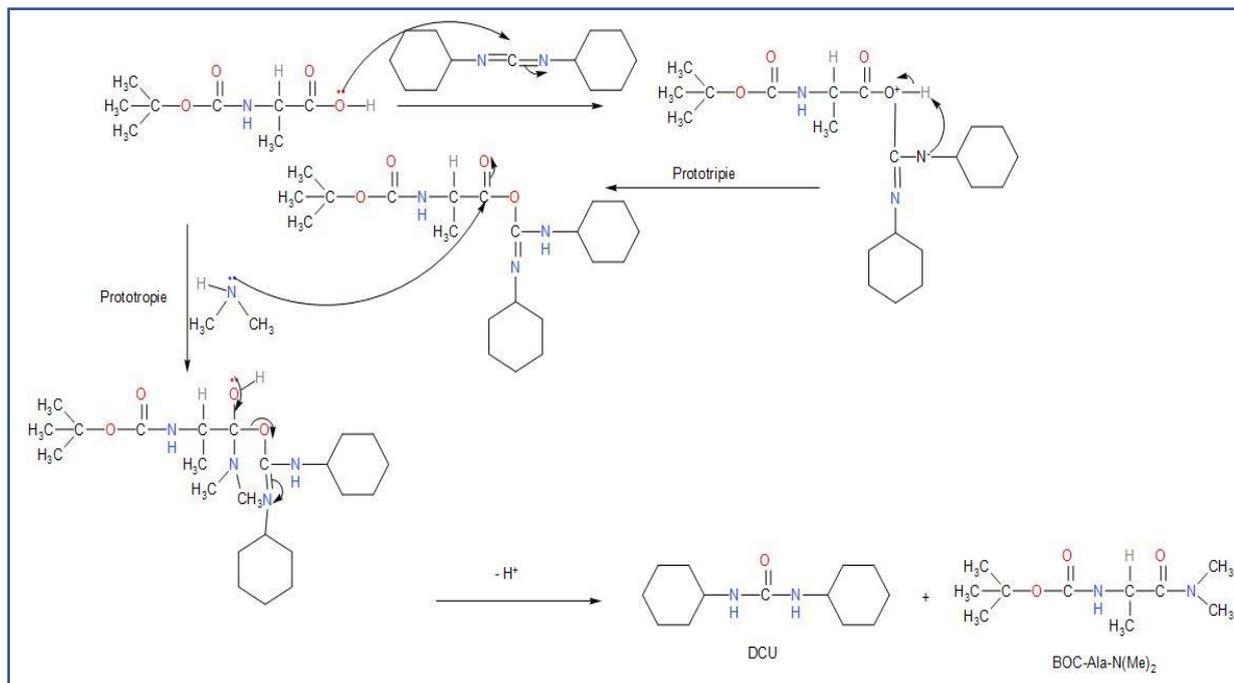
**Schéma 3. 5: Réaction de synthèse de Boc-Ala-N (Me)<sub>2</sub>.**

Le mécanisme proposé pour la synthèse du Boc-Ala-N(Me)<sub>2</sub> est représenté dans le schéma 3.3.

- Explication du mécanisme :

Premièrement le doublet d'oxygène de OH d'acide carboxylique de l'acide aminé (Boc-Ala-OH) se condense avec le carbone du carbodiimide. Après la prototropie, on forme l'intermédiaire O-acyluréé. Ensuite le doublet libre de l'amine secondaire (HN(Me)<sub>2</sub>) se

condensé sur le C de l'O-acylurée. Après la prototropie, le doublet de OH se rabat sur la liaison, en déplaçant le groupe partant. Après déprotonation, on forme le produit Boc-Ala-N(Me)<sub>2</sub> et le produit secondaire DCU.



**Schéma 3. 6: Mécanisme proposé pour la synthèse du Boc-Ala-N(Me)<sub>2</sub>.**

### 3.1.1 Caractérisation du Boc-Ala-OH par FTIR :

Le spectre FTIR du Boc-Ala-OH est préparé sous forme de pastille en KBr (**figure 3 .1**), présente une bande à 1689 cm<sup>-1</sup> caractéristique des vibrations d'élongation C=O fonction acide.

La bande à 1739,67 cm<sup>-1</sup> représente les vibrations d'élongation de C=O uréthane.

La bande à 2989,46 cm<sup>-1</sup> est relative aux vibrations d'élongation des CH des méthyles méthylène.

La bande à 3382,91 cm<sup>-1</sup> est relative aux vibrations d'élongation NH.

La bande large de 2900-3300 cm<sup>-1</sup> est relative aux vibrations d'élongation OH acide.

### 3.1.2 Caractérisation du Boc-Ala-N(Me)<sub>2</sub> par FTIR :

En comparant le spectre FTIR du Boc-Ala-OH (**Figure 3.1**) et le spectre FTIR du Boc-Ala-N(Me)<sub>2</sub> (**Figure 3.2**) on remarque nettement la disparition de la bande large entre 2900-3300 cm<sup>-1</sup> relative aux vibrations d'élongation du groupement hydroxyle (OH) de la fonction acide.

Le spectre FTIR du Boc-Ala-N(Me)<sub>2</sub> est préparé sous forme pastille avec KBr (**figure 3.2**), présente une bande à 1627,81 cm<sup>-1</sup> caractéristiques des vibrations d'élongation C=O de type amide.

La bande à 3321,19 cm<sup>-1</sup> est relative aux vibrations d'élongation NH uréthane et N amide, celle de 1577,66 cm<sup>-1</sup> est attribuée aux vibrations de déformations angulaires CNH uréthanes.

Les bandes enregistrées à 1245 cm<sup>-1</sup>, 1307 cm<sup>-1</sup> sont relatives aux vibrations d'élongation C-N et C-O uréthane.

La bande intense à 1712 cm<sup>-1</sup> correspondent aux vibrations d'élongation de C=O uréthane.

La bande enregistrée à 2923 cm<sup>-1</sup> relative aux vibrations d'élongation des CH des méthyles du groupement Boc des groupes méthyles.

Les bandes à 1064 cm<sup>-1</sup> et 891 cm<sup>-1</sup> peuvent être attribuées aux vibrations d'élongation C-O et C-C.

La bande intense à 644 cm<sup>-1</sup> correspondent aux vibrations déformation C-H.

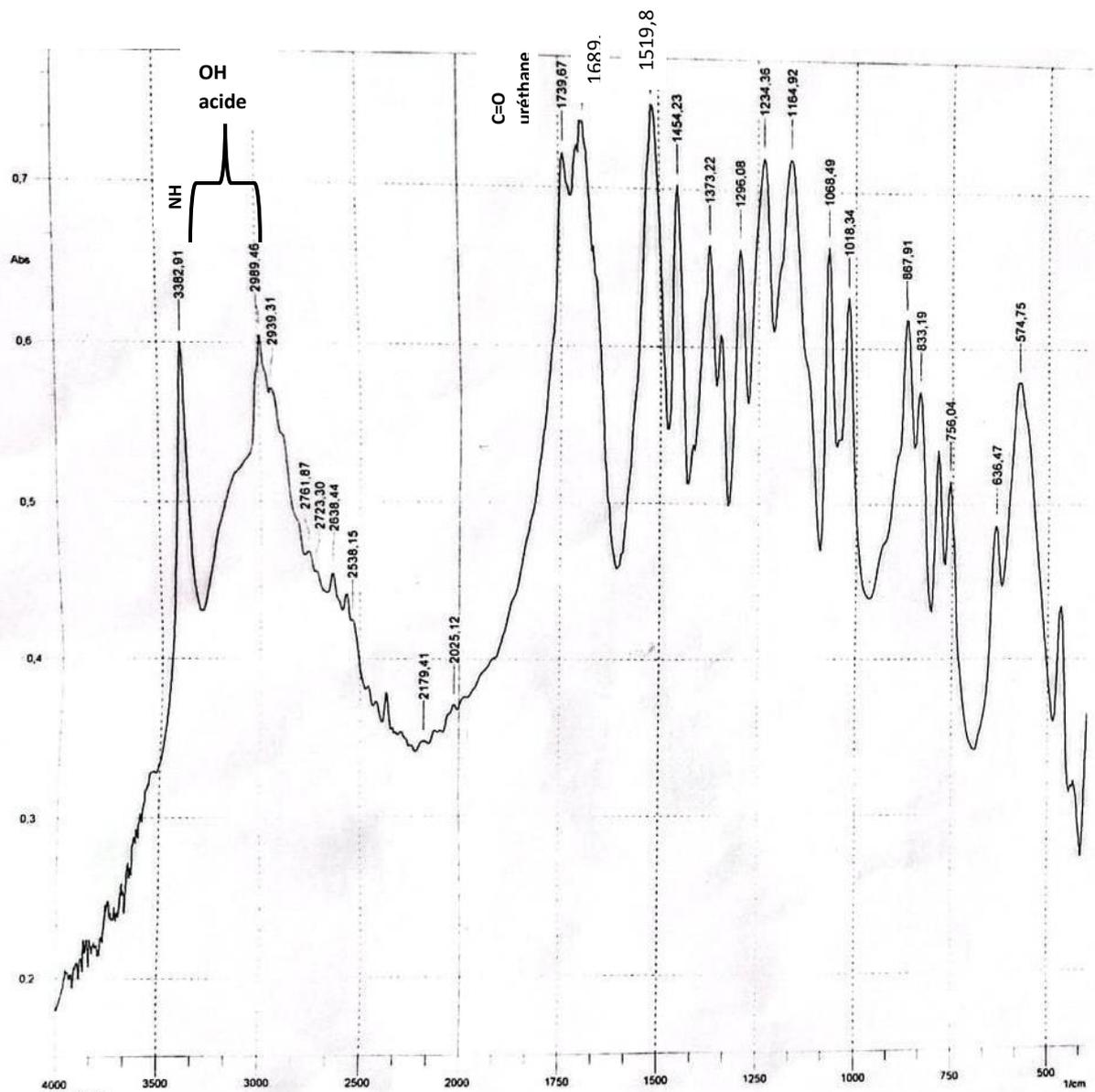


Figure 3. 1: Spectre FTIR du BOC-Ala-OH.

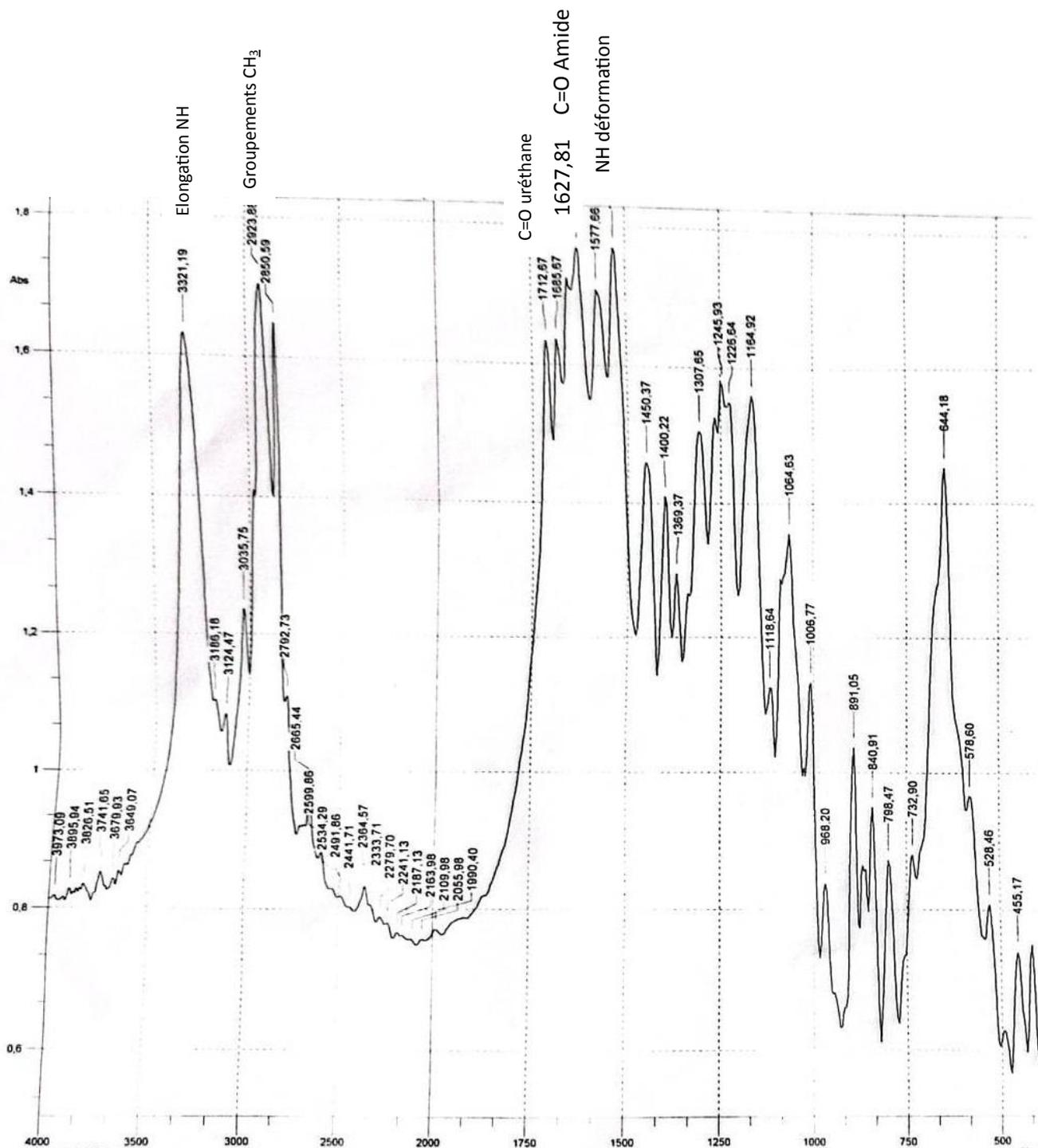
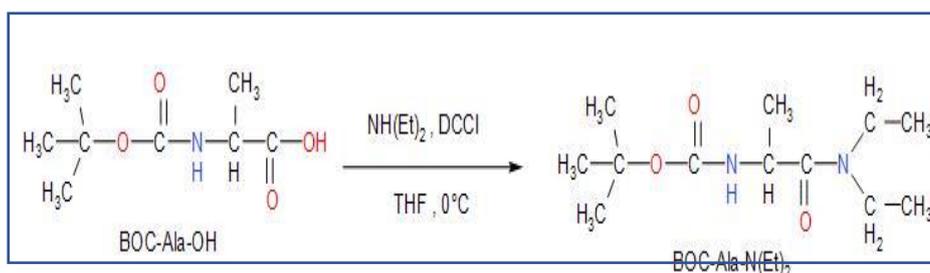


Figure 3. 2 : Spectre FTIR du BOC-Ala-N(Me)<sub>2</sub>.

### 3.2 Réaction de synthèse du Boc-Ala-N(Et)<sub>2</sub> :

Nous avons premièrement procédé à la synthèse du Boc-Ala-N(Et)<sub>2</sub> (**Schéma3.4**) sous forme de cristaux blancs en faisant réagir le Boc-Ala-OH produit commercial, avec diéthylamine (NH(Et)<sub>2</sub>) dans le THF à 0°C en présence de la DCCI, comme agent de couplage. Après filtration du sel formé et élimination du solvant, le Boc-Ala-N(Et)<sub>2</sub> obtenu sous forme d'huile est cristallisé dans le système THF/Hx pour purification avec un rendement de 23,84% en produit pur et d'un point de fusion de 198°C.

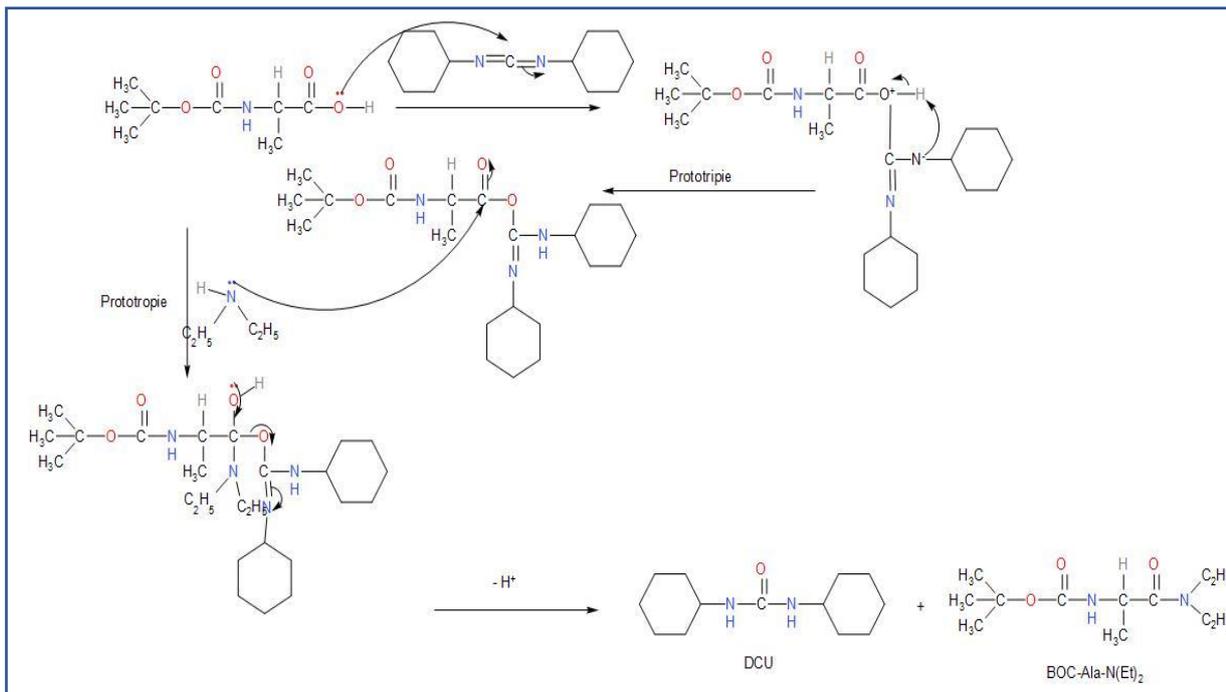


**Schéma 3. 4 : Réaction de synthèse de Boc-Ala-N(Et)<sub>2</sub>.**

Le mécanisme proposé pour la synthèse du Boc-Ala-N(Et)<sub>2</sub> est représenté dans le schéma 3.5.

- Explication du mécanisme :

Premièrement le doublet d'oxygène de OH d'acide carboxylique de l'acide aminé (Boc-Ala-OH) se condense avec le carbone du carbodiimide. Après la prototropie, on forme l'intermédiaire O-acyluréé. Ensuite le doublet libre de l'amine secondaire (HN(Et)<sub>2</sub>) se condense sur le C de l'O-acyluréé. Après la prototropie, le doublet de OH se rabat sur la liaison, en déplaçant le groupe partant. Après déprotonation, on forme le produit Boc-Ala-N(Et)<sub>2</sub> et le produit secondaire DCU.



**Schéma 3.5 : Mécanisme proposé pour la synthèse du BOC-Ala-N(Et)<sub>2</sub>.**

### 3.2.1 Caractérisation du Boc-Ala-N(Et)<sub>2</sub> par FTIR :

En comparant le spectre FTIR du Boc-Ala-OH (**Figure 3.1**) et le spectre FTIR du Boc-Ala-N(Et)<sub>2</sub> (**Figure 3.3**) on remarque aussi la disparition de la bande large entre 2900-3300 cm<sup>-1</sup> relative aux vibrations d'élongation du groupement hydroxyle (OH) de la fonction acide.

Le spectre FTIR du Boc-Ala-N(Et)<sub>2</sub> est préparé sous forme de pastille en KBr (**figure 3.3**), présente une bande à 1627,81 cm<sup>-1</sup> caractéristiques des vibrations d'élongation C=O de type amide.

La bande à 3328,91 cm<sup>-1</sup> est relative aux vibrations d'élongation NH amide, celle de 1573,81 cm<sup>-1</sup> est attribuée aux vibrations de déformations angulaires CNH uréthanes.

Les épaulements entre 1699-1712 correspond au C=O uréthane.

Les bandes enregistrées à 1242,02 cm<sup>-1</sup>, 1311,5 cm<sup>-1</sup> sont relatives aux vibrations d'élongation C-N et C-O uréthanes.

La bande enregistrée à 2927,74 cm<sup>-1</sup> relative aux vibrations d'élongation des CH des méthyles du groupement Boc et les groupes méthyles.

Les bandes à 1087,78 cm<sup>-1</sup> et 891 cm<sup>-1</sup> peuvent être attribuées aux vibrations d'élongation C-O et C-C.

La bande intense à 644,18 cm<sup>-1</sup> correspondent aux vibrations déformation C-H.

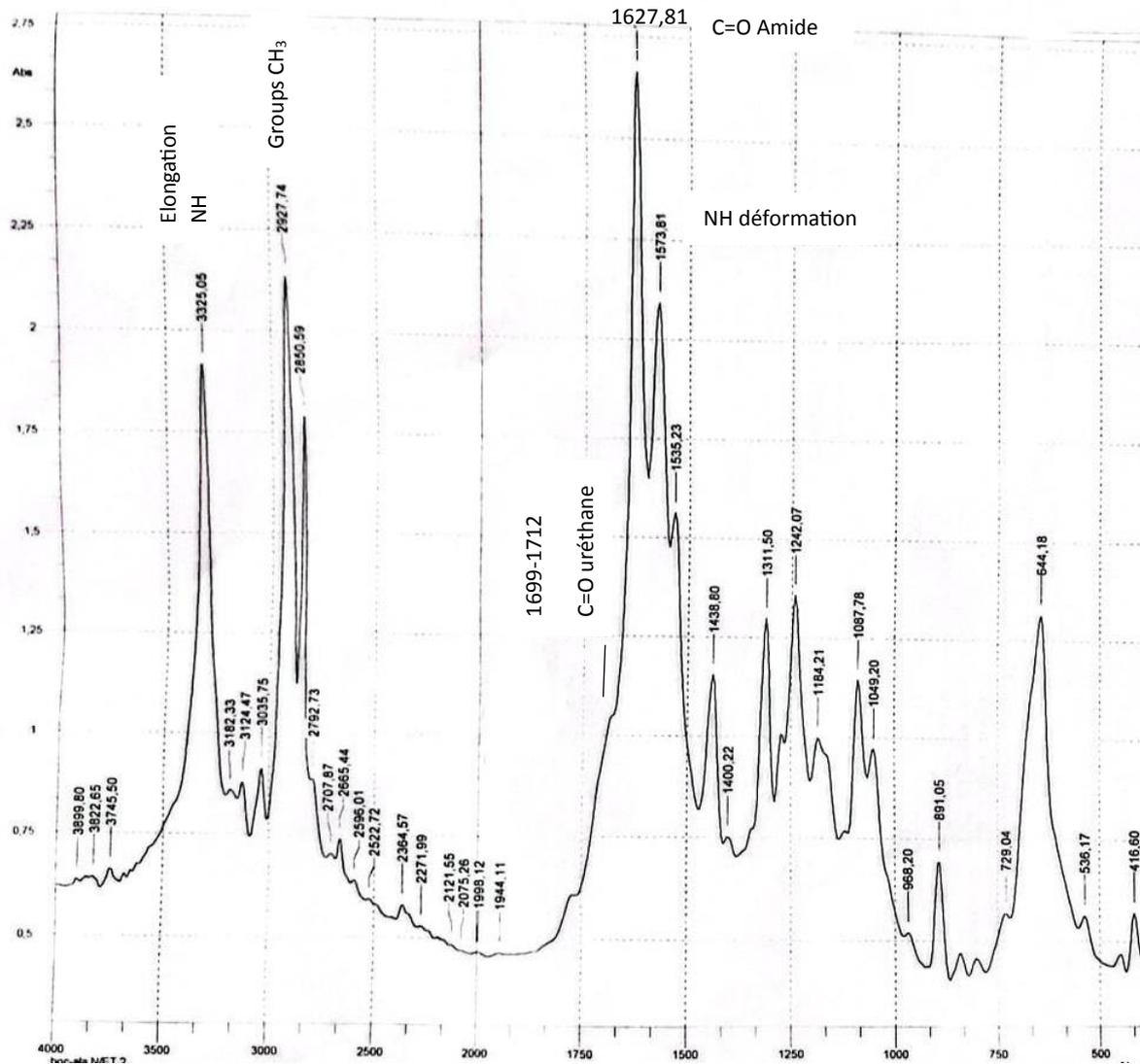


Figure 3. 3: Spectre FTIR du BOC-Ala-N(Et)<sub>2</sub>.

### 3.3 Résultats des méthodes utilisées et techniques d'identification de Boc-Ala-OH et ses produits :

Tableau 3. 1: Le rendement des synthèses et les masses molaires des produits.

Produit	Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)
Boc-Ala-OH	189,21	/
Boc-Ala-N(Me) <sub>2</sub>	216,21	44,86
Boc-Ala-N(Et) <sub>2</sub>	244,34	23,84

Tableau 3. 2: Résultats de la température de fusion (T<sub>f</sub>).

Produit	T <sub>f</sub> °C
Boc-Ala-OH	92,3
Boc-Ala-N(Me) <sub>2</sub>	162,4
Boc-Ala-N(Et) <sub>2</sub>	198

Tableau 3. 3: Résultats du Rapport frontal (R<sub>f</sub>) des produits.

Produit	R <sub>f</sub> dans le mélange (AcoEt / Hexane 50%/50%)	R <sub>f</sub> dans le mélange (iPrOH/ Hexane 70%/30% )
Boc-Ala-OH	0,75	0,76
Boc-Ala-N(Me) <sub>2</sub>	/	/
Boc-Ala-N(Et) <sub>2</sub>	/	0,77

### 3.4 Réaction de synthèse du Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub> :

Nous avons premièrement procédé à la synthèse du Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub> sous forme de cristaux blancs en faisant réagir le Boc-Leu-OH produit commercial, avec diméthylamine (NH(Me)<sub>2</sub>) dans le THF à 0°C en présence de la DCCI, comme agent de couplage. Après filtration du sel formé et élimination du solvant, le Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub> obtenu sous forme d'huile est cristallisé dans le système THF/Hx avec un rendement de 55,44% en produit pur et d'un point de fusion de 181°C.

Le schéma 3.6, ci-dessous, schématise la réaction de synthèse du Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub>.

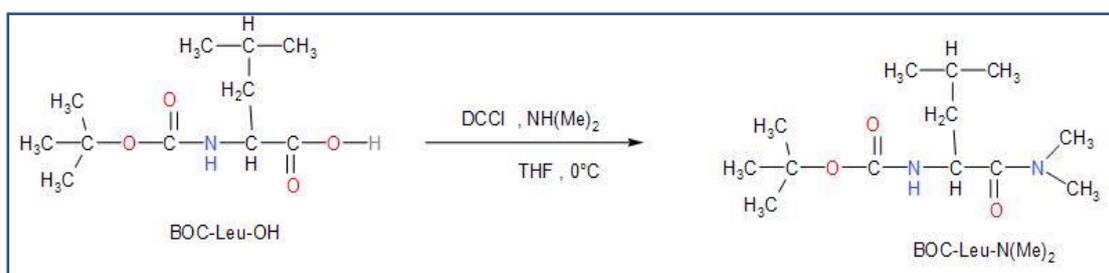
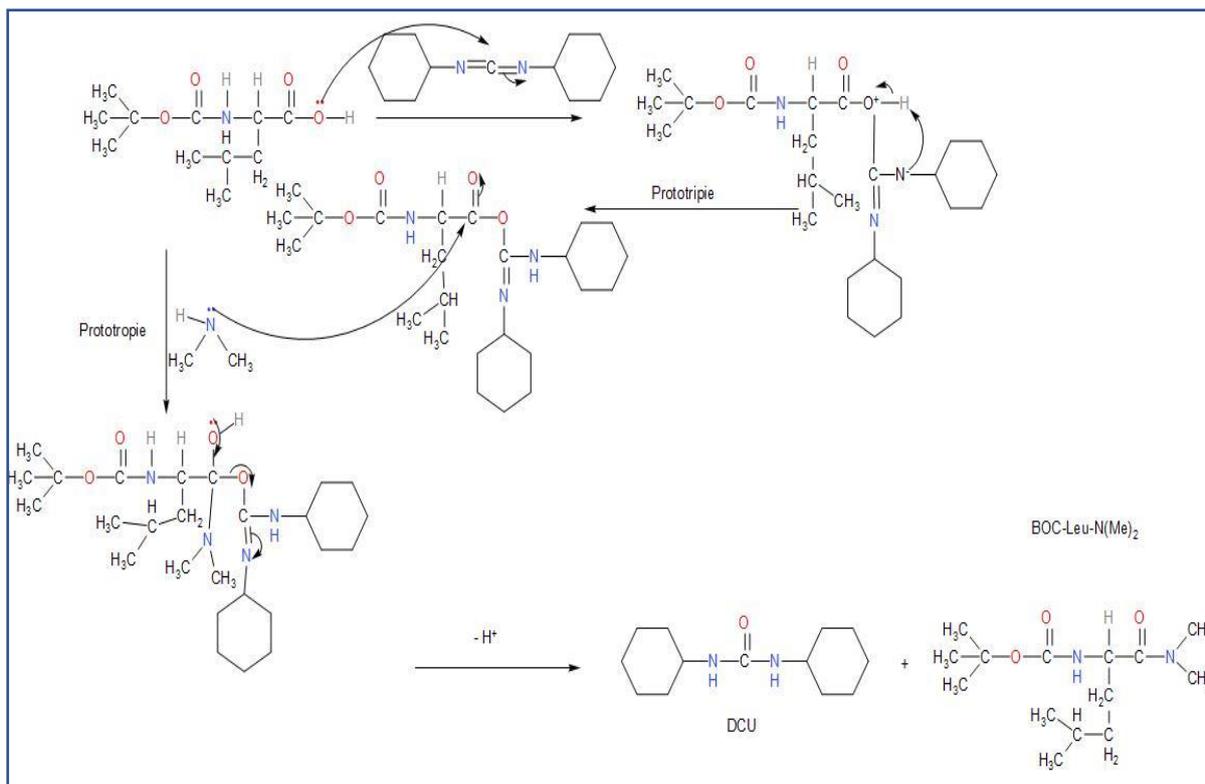


Schéma3.6 : Réaction de synthèse de Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub>.

Le mécanisme proposé pour la synthèse du Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub> est représenté dans le schéma 3.7.

- Explication du mécanisme :

Premièrement le doublet d'oxygène de OH d'acide carboxylique de l'acide aminé (Boc-Leu-OH) se condense avec le carbone du carbodiimide. Après la prototropie, on forme l'intermédiaire O-acyluréé. Ensuite le doublet libre de l'amine secondaire (HN(Me)<sub>2</sub>) se condense sur le C de l'O-acyluréé. Après la prototropie, le doublet de OH se rabat sur la liaison, en déplaçant le groupe partant. Après déprotonation, on forme le produit Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub> et le produit secondaire DCU.



**Schéma 3.7: Mécanisme proposé pour la synthèse du BOC-Leu-N(Me)<sub>2</sub>.**

### 3.4.1 Caractérisation du Boc-Leu-OH par FTIR :

Le spectre FTIR du Boc-Leu-OH est préparé sous forme de pastille en KBr (**Figure 3.4**) présente une bande à  $1674\text{ cm}^{-1}$  caractéristique des vibrations d'élongation C=O fonction acide.

La bande à  $1716,53\text{ cm}^{-1}$  représente les vibrations d'élongation de C=O uréthane.

La bande à  $2966,31\text{ cm}^{-1}$  est relative aux vibrations d'élongation des CH des méthyles méthylène.

La bande à  $3336,62\text{ cm}^{-1}$  est relative aux vibrations d'élongation NH.

La bande large de  $2900\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$  relative aux vibrations d'élongation de OH acide.

### 3.4.2 Caractérisation du Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub> par FTIR :

En comparant le spectre FTIR du Boc-Leu-OH (**Figure 3.4**) et le spectre FTIR du Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub> (**Figure 3.5**) on remarque nettement la disparition de la bande large entre 2900-3100 cm<sup>-1</sup> relative aux vibrations d'élongation du groupement hydroxyle (OH) de la fonction acide.

Le spectre FTIR du BOC-Leu-N(Me)<sub>2</sub> est préparé sous forme pastille avec KBr (**Figure 3.5**), présente une bande intense à 1627,81cm<sup>-1</sup> relative aux vibrations d'élongation C=O amide.

Les bandes intenses à 3178,47 cm<sup>-1</sup> et 3328,91 cm<sup>-1</sup> correspondent aux vibrations d'élongation de CNH.

Les bandes à 1242 cm<sup>-1</sup> et 1272 cm<sup>-1</sup> sont attribuées aux vibrations d'élongation C-N et C-O uréthane.

La bande intense à 1770 cm<sup>-1</sup> correspondent aux vibrations d'élongation C=O uréthane.

La bande à 2939 cm<sup>-1</sup> et 3035 correspondent aux vibrations d'élongation asymétriques de C-H des groupes méthyles du groupement Boc et les groupes méthyles du R d'acide aminé Leucine.

La bande intense à 2923 cm<sup>-1</sup> attribuée aux vibrations d'élongation C-H de (CH<sub>2</sub> alcane). La bande intense à 644,18 cm<sup>-1</sup> correspondent aux vibrations déformation C-H.

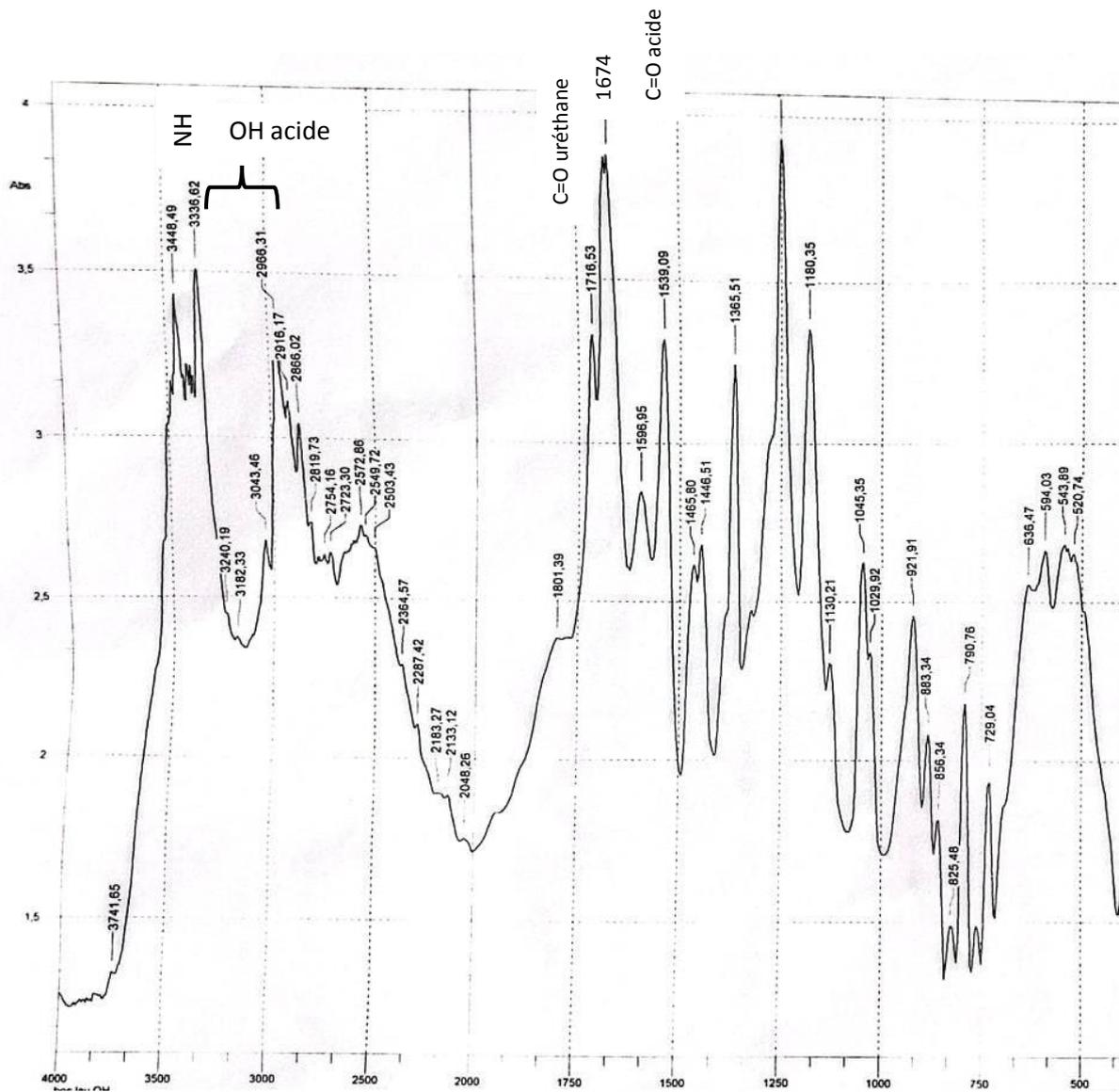


Figure 3. 4: Spectre FTIR du BOC-Leu-OH.

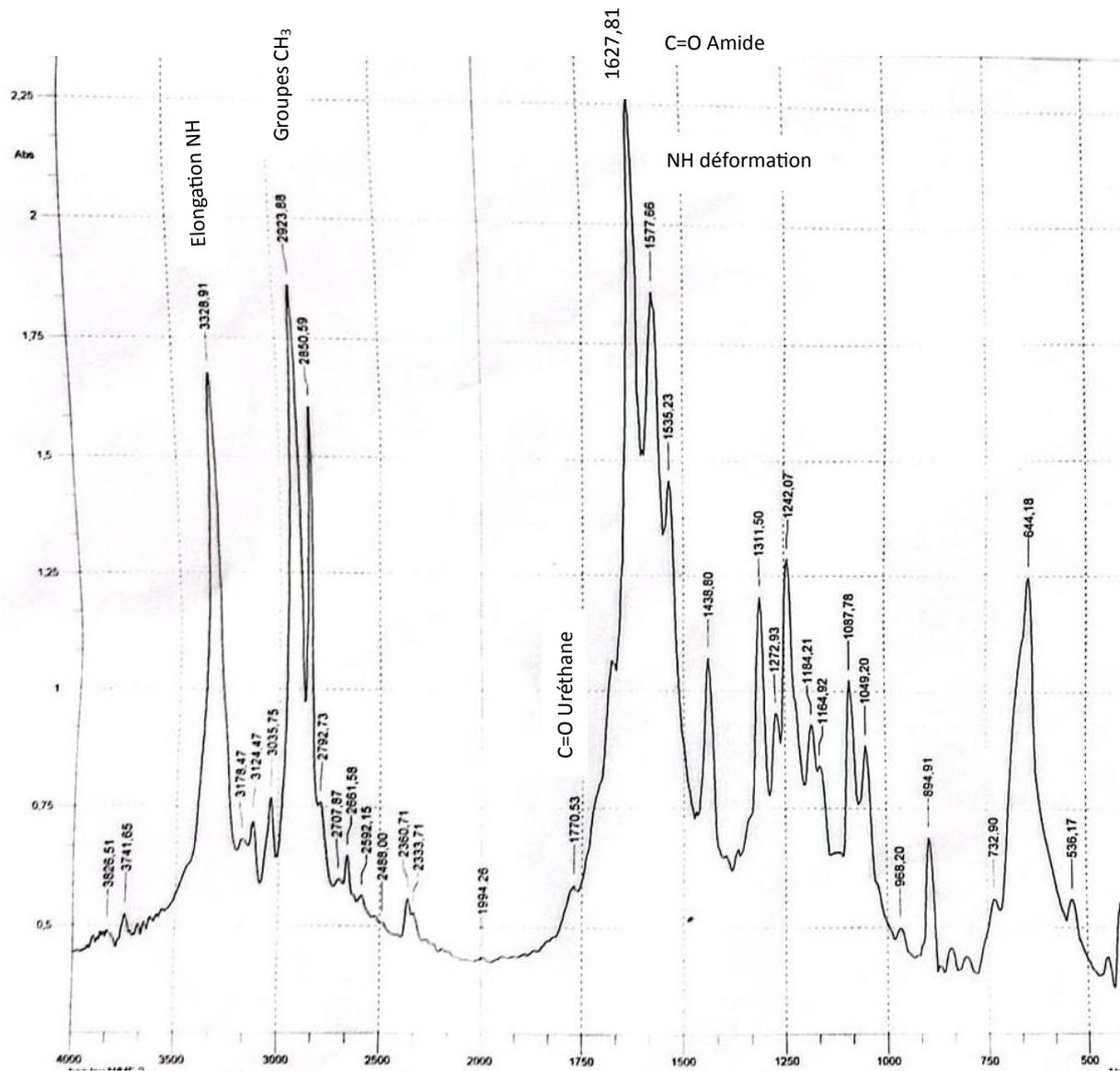


Figure 3. 5 : Spectre FTIR du BOC-Leu-N(Me)<sub>2</sub>.

### 3.5 Réaction de synthèse du Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub> :

Nous avons premièrement procédé à la synthèse du Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub> sous forme de cristaux blancs en faisant réagir le Boc-Leu-OH produit commercial, avec diéthylamine (NH(Et)<sub>2</sub>) dans le THF à 0°C en présence de la DCCI, comme agent de couplage. Après filtration du sel formé et élimination du solvant, le Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub> obtenu sous forme d'huile est cristallisé dans le système THF/Hx avec un rendement de 25,81% en produit pur et d'un point de fusion de 186,6°C.

Le schéma 3.8, ci-dessous, schématise la réaction de synthèse du Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub>.

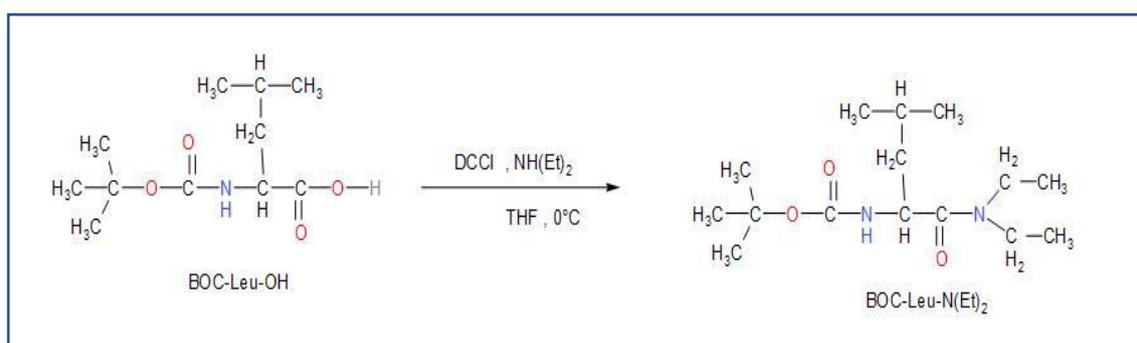


Schéma 3.8: Réaction de synthèse de Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub>.

Le mécanisme proposé pour la synthèse du Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub> est représenté dans le schéma 3.9.

- Explication du mécanisme :

Premièrement le doublet d'oxygène de OH d'acide carboxylique de l'acide aminé (Boc-Leu-OH) se condense avec le carbone du carbodiimide. Après la prototropie, on forme l'intermédiaire O-acyluréé. Ensuite le doublet libre de l'amine secondaire (HN(Et)<sub>2</sub>) se condense sur le C de l'O-acyluréé. Après la prototropie, le doublet de OH se rabat sur la liaison, en déplaçant le groupe partant. Après déprotonation, on forme le produit Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub> et le produit secondaire DCU.

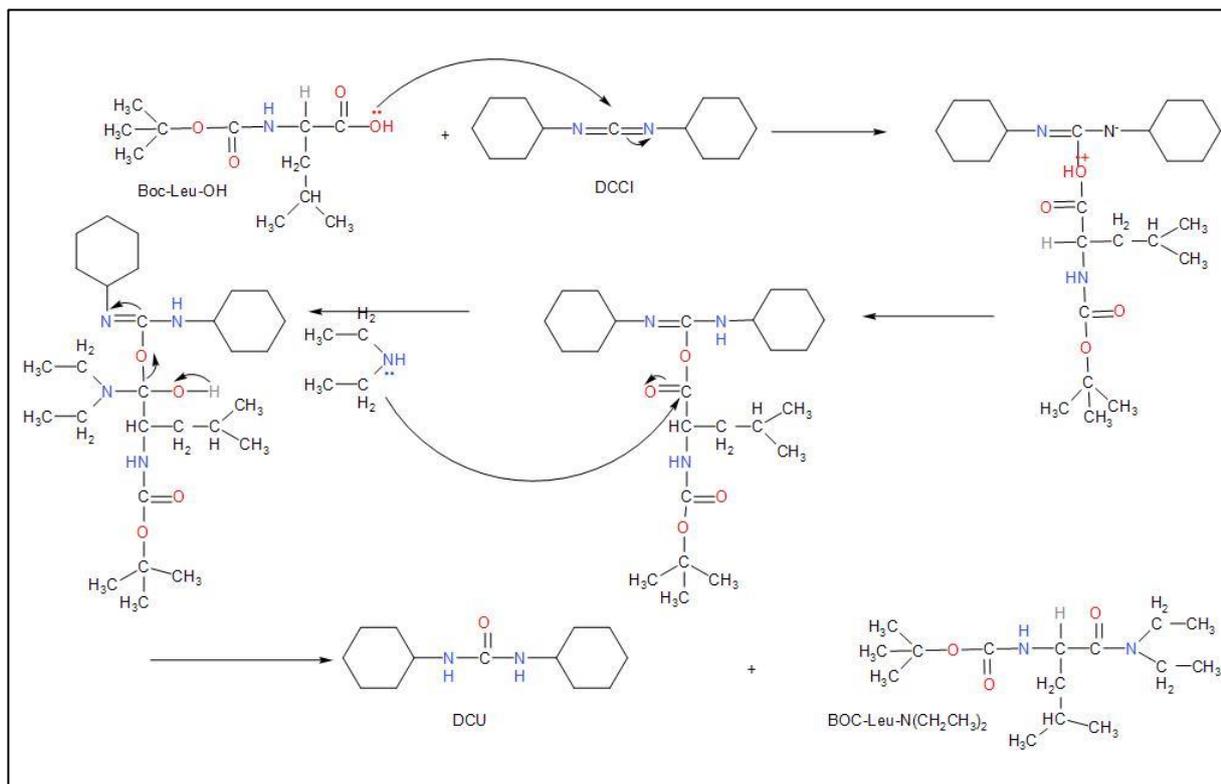


Schéma 3.9 : Mécanisme proposé pour la synthèse du BOC-Leu-N(Et)<sub>2</sub>.

### 3.5.1 Caractérisation du Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub> par FTIR :

En comparant le spectre FTIR du Boc-Leu-OH (**Figure 3.4**) et le spectre FTIR du Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub> (**Figure 3.6**) on remarque aussi la disparition de la bande large entre 2900-3100 cm<sup>-1</sup> relative aux vibrations d'élongation de OH acide.

Le spectre FTIR du BOC-Leu-N(Me)<sub>2</sub> est préparé sous forme pastille avec KBr (**figure 3.6**) présente une bande intense à 1627cm<sup>-1</sup> relative aux vibrations d'élongation C=O amide.

Le bande intense 3326 cm<sup>-1</sup> correspondent aux vibrations d'élongation de CNH.

Les bandes à 1577,66 et 1245 cm<sup>-1</sup> sont attribuées aux vibrations d'élongation C-N.

La bande intense à 1677 cm<sup>-1</sup> correspondent aux vibrations d'élongation C=O uréthane.

La bande à 2927cm<sup>-1</sup> et 3035 cm<sup>-1</sup> correspondent aux vibrations d'élongation asymétriques de C-H des groupes méthyles du groupement Boc et les groupes méthyles du R d'acide aminé Leucine.

La bande intense à 2923 cm<sup>-1</sup> attribuée aux vibrations d'élongation C-H de (CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> alcane).  
 La bande intense à 648 cm<sup>-1</sup> correspondent aux vibrations déformation C-H.

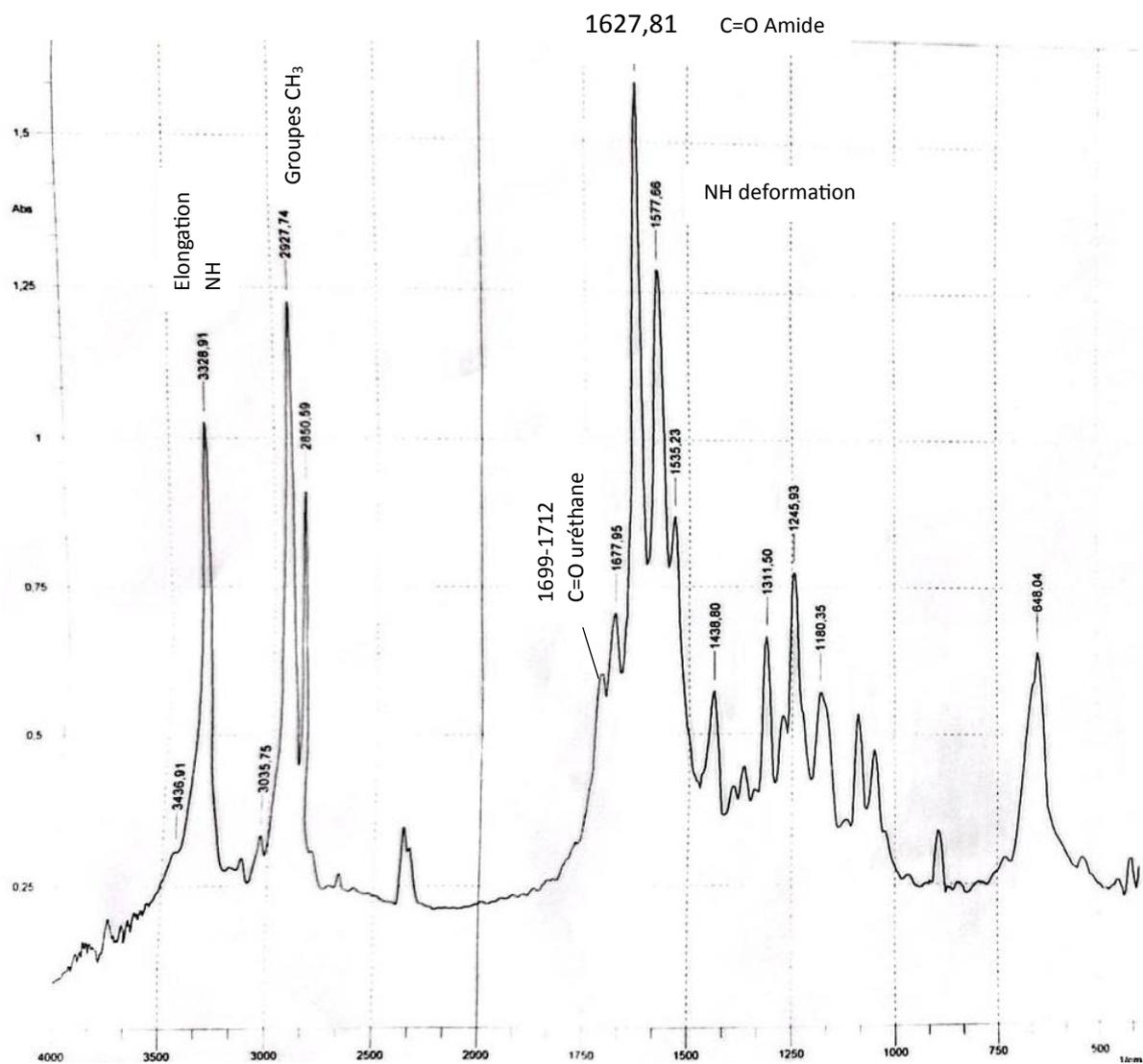


Figure 3. 6 : Spectre FTIR du Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub>.

### 3.6 Résultats des méthodes utilisées et technique d'identification de Boc-Leu-OH et ses produits :

Tableau 3. 4: Les rendements des synthèses et les masses molaires des produits.

Produits	Masse molaire (g/mol)	Rendement (%)
Boc-Leu-OH	231,29	/
Boc-Leu-N(Me) <sub>2</sub>	258,29	55,44
Boc-leu-N(Et) <sub>2</sub>	286,42	25,81

Tableau 3. 5: Résultats de la température de fusion (T<sub>f</sub>).

Produits	Température de fusion (T <sub>f</sub> °C)
Boc-Leu-OH	96,4
Boc-Leu-N(Me) <sub>2</sub>	181
Boc-Leu-N(Et)	186,6

Tableau 3. 6: Résultats du Rapport frontal ( R<sub>f</sub> ) des produits.

Produits	R <sub>f</sub> dans le mélange (AcoEt /Hexane 50% /50%)	R <sub>f</sub> dans le mélange (iPrOH/Hexane 70%/30%)
Boc-Leu-OH	0,81	0,80
Boc-Leu-N(Me) <sub>2</sub>	/	0,88
Boc-Leu-N(Et) <sub>2</sub>	/	0,74

## Conclusion

A l'issue de ce travail, nous avons réalisé la synthèse dans le but de protéger la fonction acide de l'acide aminé (Alanine ou Leucine) qui sont deux acides aminés chiraux et commercialement protégés par le groupement Boc (groupement protecteur de la fonction amine) et l'activation de l'acide aminé sera par un agent de couplage.

En premier lieu nous avons réalisé l'activation de l'acide aminé « Boc-Ala-OH » activé par un agent de couplage qui est le DCCI juste après nous avons protégé la fonction acide pour qu'il ne réagisse pas de tel sorte que nous avons utilisé le groupement protecteur  $\text{NH}(\text{Me})_2$ . Les produits obtenus sous forme d'huile ont été cristallisés dans THF/HEX en fin les cristaux obtenus ont un aspect solide blanc bien cristallisé avec un rendement de 44,86% et la structure finale de Boc-Ala-N(Me)<sub>2</sub>, nous l'avons confirmée par l'analyse FTIR.

En deuxième lieu, nous avons suivi le protocole précédent nous avons juste changé le dérivé aminé par  $\text{NH}(\text{Et})_2$  en suivant les mêmes étapes de travail jusqu'à l'obtention du produit finale qui est Boc-Ala-N(Et)<sub>2</sub> sous forme des cristaux blancs avec un rendement de 23,84% le spectre de FTIR ont révélé une parfaite cohérence avec sa structure.

En troisième lieu, nous avons suivi le même protocole que la première expérience on a changé juste l'acide aminé par le Boc-Leu-OH afin de bien atteindre le produit final avec un aspect physique solide blanc cristallisé Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub> avec un rendement de 55,44%, la structure de notre produit a été confirmée par l'examen de spectre FTIR.

En quatrième lieu, nous avons suivi le même protocole que la deuxième expérience on a changé juste l'acide aminé par le Boc-Leu-OH afin de bien atteindre le produit final avec un aspect physique solide blanc cristallisé Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub> avec un rendement de 25,81%, la structure de notre produit a été confirmée par l'examen de spectre FTIR.

Enfin, en perspectives nous projetons de coupler ces acides aminés afin de former un peptide en éliminant le groupement protecteur Boc de réagir avec la partie C-terminale activée d'un autre acide aminé de partie N-terminale protégée.

## Références bibliographiques

- [1] C. J. e. L. G. F. R. William C., «"THE AMINO ACID REQUIREMENTS OF MAN: VI, THE ROLE OF THE COLORIC INTAKE."»,  
*journal of biological chemistry*,, p. P.4, 1954.
- [2] A. F. KHEMIRI LOUBNA, «Synthèse et caractérisation d'acide aminé N,C- protégés»,  
UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA-1-, 2022.
- [3] R. W. H. W. W. DT., «THE AMINO ACID REQUIREMENTS OF MAN . III. THE ROLE OF ISOLEUCINE  
: ADDITINONAL EVIDENCE CONCERNIG HISTIDINE.,» *Biological Chemisrty 1951*, P-12.
- [4] M. ABDENACER, «Production d'acide glutamique par *Corynebacterium glutamicum* 2262 sur jus de datte,»  
UNIVERSITE DE FARHAT ABBAS , SETIF.
- [5] M. IZRD, «Acide aspartique : qu'est-ce que c'est ?», 2022. [En ligne]. Available  
: <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-acide-aspartique-8483/>. [Accès le 25 03 2023].
- [6] C. Lefebvre, «Passeport santé nutrition,» 10 2017. [En ligne]. Available:  
[https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/PalmesNutriments/Fiche.aspx?doc=alanine\\_nu#:~:text=Description%20de%20l'alanine,plus%20fr%C3%A9quents%20dans%20l'organisme..](https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/PalmesNutriments/Fiche.aspx?doc=alanine_nu#:~:text=Description%20de%20l'alanine,plus%20fr%C3%A9quents%20dans%20l'organisme..) [Accès le 24 03 2023].
- [7] C. A. .: ARGININE, «ViDAL,» 18 08 2014. [En ligne]. Available:  
<https://www.vidal.fr/parapharmacie/complements-alimentaires/l-arginine.html>. [Accès le 25 03 2023].
- [8] J. ETIENNE, «Asparagine : qu'est-ce que c'est ?», 2019. [En ligne]. Available: <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-asparagine-8481/>. [Accès le 26 03 2023].
- [9] KAMOUN.PIERRE, «UN.UNIVERSALIS.FR,» 2018. [En ligne]. Available:  
<https://www.universalis.fr/encyclopedie/amino-acides-acides-amines/>. [Accès le 01 02 2023].
- [10] T. GUILLOU.Y.L, *Quelques méthode de lasynthèse peptodique*, 2016.
- [11] A. Venancio-Marques, «Les acides aminés et la synthèse peptidique,» *CULTURE SCIENCES CHIMIE*, 15 05 2013.

- [12] J. A. . L. A. CARPINO, *CHEM. SOC.*, 1957.
- [13] Mme.BENLAMOUDI-HARKAI.Dalal, *synthèse réactivitéet etude*, Annaba: Universite Badji Mokhtar-, 2009-2010.
- [14] BERRABAH.Hanane, *Déprotection des groupemt trityle.*, M'SILA: Université Mohamed BOUDIAF., 2019.
- [15] J. A. R. B. MERRIFIELD, *CHEM. SOC.*, 1963.
- [16] D. K. H. M. K. LADISLAV, «Determination of 9-fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) resin loading in solid-phase synthesis by RP-HPLC internal standard method,» p. 152, 2021.
- [17] T. GUILLOU.Y.L, *Quelques méthodes de la synthèse peptidique*, BULLETIN DE L'UNION DES PHYSICIENS, 2016.
- [18] J. R.C.SHEPPARD, «SCI,» p. 545, 9 2003.
- [19] N. J. W. H. TOM, «TETRAHEDRON LETT,» 2004.
- [20] M. W. M. A. J. M. E. O. L. J. D. H. I. J. C.-D. CHANG, *PROTEIN RES.*, 1980.
- [21] C. J. L. R. C. S. J. C. S. E. ATHERTON, *PERKIN TRANS.*, 1981.
- [22] Gbdivers., *Longueur et angles des liaisons peptidiques*, EDevost1/ wikipedia., 2009.
- [23] D. E. Feraga, *Module de Biochimie (cours)*, Universités 3 de Constantine Faculté de médecine, 2020.
- [24] M.TALEB, «SYNTHESE DE PSEUDOPEPTIDES : CAS DE L'AZAPEPTIDE BOC-GLY-AZAPRO-OBZL ET ANALYSES SPECTROSCOPIQUES .,» BLIDA, 2008.
- [25] A. BELAFRIEKH, *Cours BIOCHIMIE (Master de chimie organique)*, 2022/2023.
- [26] Ma Biologie, «Les structures des protéines en détaille,» MAI 2013. [En ligne]. Available: <http://www.mabiologie.com/2015/12/les-structures-des-proteines-en-detaille.html>. [Accès le 17 06 2023].
- [27] Z. E. J. M. R. B. W.CHU, «CHEM,» 2005.
- [28] M. P. SANTE, *Protéines: Structure et fonctions.*, MARSEILLE, 2018, p. 4.
- [29] *Nouvelles méthodologies pour la synthèse totale de protéines*, Archive HAL.
- [30] R. W. H. W. WAE.
- [31] J. ETIENNE, «Cystéine : qu'est-ce que c'est ?,» 2019. [En ligne]. Available: <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-cysteine-8485/>. [Accès le 25 03 2023].

## Appendices :

### Bandes d'absorption des différents produits en FTIR :

- Boc-Ala-OH :

	Peak	Intensity	Corr. Inte	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Are
1	574,75	0,578756	0,158156	617,18	486,03	64,16809	11,27010
2	636,47	0,486706	0,064501	686,61	621,04	27,15652	1,278323
3	756,04	0,514879	0,071714	767,62	690,47	31,57102	1,38487
4	833,19	0,572729	0,065297	844,76	806,19	19,78331	1,240586
5	867,91	0,618774	0,09914	960,48	848,62	57,85677	3,085681
6	1018,34	0,632938	0,117988	1037,63	964,34	37,72553	2,325329
7	1068,49	0,664652	0,152684	1091,63	1053,06	22,58236	2,967984
8	1164,92	0,720475	0,159051	1207,36	1095,49	70,10155	9,451079
9	1234,36	0,720807	0,12574	1272,93	1211,21	41,07442	4,579101
10	1296,08	0,662683	0,124951	1323,08	1276,79	27,68672	2,917994
11	1373,22	0,664626	0,101112	1411,8	1357,79	32,90298	2,86837
12	1454,23	0,702884	0,172307	1477,37	1431,08	28,63664	4,144657
13	1519,8	0,753105	0,233113	1604,66	1481,23	75,17436	12,87453
14	1689,53	0,741914	0,053224	1701,1	1608,52	55,61920	2,025317
15	1739,67	0,721824	0,046094	1978,83	1724,24	125,1191	0,802816
16	2025,12	0,370874	0,006485	2079,12	2009,69	25,35064	0,301248
17	2179,41	0,347546	0,003815	2217,99	2152,41	22,67504	0,154078
18	2538,15	0,424872	0,003047	2542	2476,43	26,43365	0,168271
19	2638,44	0,454624	0,015966	2661,58	2588,29	32,46290	0,489626
20	2723,3	0,455964	0,0012	2727,16	2665,44	27,63193	0,029025
21	2761,87	0,468564	0,006501	2781,16	2731,02	23,28345	0,193088
22	2939,31	0,571802	0,006513	2947,03	2785,02	84,18907	0,659389
23	2989,46	0,604748	0,051945	3294,19	2950,89	177,0480	5,399535
24	3382,91	0,60021	0,210117	3514,06	3298,05	96,79510	14,71608

- Boc-Ala-N(Me)<sub>2</sub>:

	Peak	Intensity	Corr. Inte	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Are
1	455,17	0,7394	0,1584	474,46	432,03	28,4626	3,6935
2	528,46	0,8077	0,1	540,03	505,31	25,1229	1,7679
3	578,6	0,966	0,0544	586,32	543,89	36,5177	1,0783
4	644,18	1,4528	0,5492	721,33	590,18	148,793	31,2498
5	732,9	0,8793	0,0671	771,47	725,18	36,4718	1,7082
6	798,47	0,8713	0,2237	817,76	775,33	32,4191	4,9629
7	840,91	0,9491	0,222	852,48	821,62	25,0458	3,6798
8	891,05	1,0371	0,2949	925,77	879,48	37,8918	5,0015
9	968,2	0,8382	0,1176	979,77	952,77	21,093	1,8914
10	1006,77	1,1325	0,2443	1022,2	983,63	37,3645	4,6422
11	1064,63	1,3553	0,1549	1080,06	1029,92	60,6777	3,9355
12	1118,64	1,1254	0,0487	1126,35	1107,06	21,2539	0,6481
13	1164,92	1,56	0,38	1199,64	1130,21	96,4407	14,8726
14	1226,64	1,55	0,0469	1230,5	1203,5	38,2177	0,9673
15	1245,93	1,5777	0,0494	1257,5	1238,21	30,0764	0,6009
16	1307,65	1,5068	0,1889	1330,79	1288,36	60,9137	4,9963
17	1369,37	1,2954	0,0956	1377,08	1353,94	28,6528	1,1954
18	1400,22	1,4099	0,2245	1415,65	1380,94	45,4227	4,1679
19	1450,37	1,4599	0,2755	1473,51	1419,51	72,355	8,8125
20	1531,37	1,7693	0,2855	1550,66	1477,37	109,7912	8,6855
21	1577,66	1,7083	0,1424	1596,95	1554,52	69,9936	3,4293
22	1627,81	1,7683	0,1192	1643,24	1600,81	71,2877	2,5321
23	1685,67	1,6363	0,1038	1697,24	1674,1	36,972	1,3417
24	1712,67	1,6341	0,1771	1859,25	1701,1	174,1476	2,9949
25	1990,4	0,7702	0,0096	2032,83	1974,97	44,1377	0,2196
26	2055,98	0,7566	0,0046	2082,98	2036,69	34,9048	0,1097
27	2109,98	0,7566	0,0021	2117,69	2086,84	23,2317	0,0283
28	2163,98	0,7617	0,0009	2167,84	2133,12	26,3614	0,0257
29	2187,13	0,7663	0,0063	2206,41	2171,7	26,5051	0,1213
30	2241,13	0,7803	0,0079	2252,7	2210,27	32,7275	0,1822
31	2279,7	0,7886	0,0086	2298,99	2256,56	33,2825	0,2015
32	2333,71	0,8068	0,004	2337,56	2302,85	27,618	0,1143
33	2364,57	0,8328	0,0299	2414,71	2341,42	59,6034	0,8714
34	2441,71	0,8028	0,0014	2445,57	2418,57	21,6031	0,0294
35	2491,86	0,8187	0,0051	2503,43	2449,43	43,8204	0,1417
36	2534,29	0,8291	0,0041	2545,86	2507,29	31,7976	0,0904
37	2599,86	0,8814	0,019	2615,29	2549,72	56,0957	0,4644
38	2665,44	0,9749	0,0658	2680,87	2619,15	56,7365	1,4419
39	2792,73	1,1096	0,0408	2804,31	2734,87	69,7465	0,9212
40	2850,59	1,6487	0,3529	2873,74	2808,16	89,398	8,1395
41	2923,88	1,7035	0,2962	2966,31	2877,6	140,9474	16,0884

- Boc-Ala-N(Et)<sub>2</sub>:

	Peak	Intensity	Corr. Inte	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Are
1	416,6	0,5703	0,1317	435,88	397,31	19,386	2,416
2	536,17	0,5628	0,0488	551,6	474,46	37,5304	0,819
3	644,18	1,3132	0,7671	717,47	555,46	138,3809	50,1306
4	729,04	0,5675	0,0278	779,19	721,33	29,4528	0,8609
5	891,05	0,6929	0,2698	918,05	871,76	25,5404	5,9127
6	968,2	0,5197	0,02	975,91	929,63	22,0718	0,3287
7	1049,2	0,9728	0,1433	1064,63	979,77	60,4246	2,711
8	1087,78	1,1451	0,3016	1110,92	1068,49	41,9618	6,1739
9	1184,21	0,9985	0,1376	1199,64	1137,92	56,5968	6,0045
10	1242,07	1,3585	0,401	1261,36	1203,5	64,8305	10,5991
11	1311,5	1,2995	0,4745	1377,08	1292,22	76,7707	10,3702
12	1400,22	0,7516	0,0221	1407,94	1380,94	19,7773	0,3648
13	1438,8	1,1544	0,3807	1469,66	1411,8	54,8244	10,0572
14	1535,23	1,5637	0,191	1546,8	1473,51	84,4146	3,7317
15	1573,81	2,0932	0,5279	1600,81	1550,66	92,2497	13,7568
16	1627,81	2,6637	1,1429	1758,96	1604,66	200,4552	28,8332
17	1944,11	0,4654	0,0049	1971,11	1928,68	19,6273	0,1099
18	1998,12	0,4675	0,0075	2025,12	1974,97	23,2605	0,1931
19	2075,26	0,4709	0,0007	2079,12	2028,97	23,4105	0,0176
20	2121,55	0,4843	0,0025	2129,27	2082,98	22,1098	0,049
21	2271,99	0,5291	0,0086	2287,42	2210,27	39,983	0,4917
22	2364,57	0,58	0,0405	2391,57	2291,28	55,54	1,9119
23	2522,72	0,5937	0,0091	2538,15	2426,28	63,9974	0,4387
24	2596,01	0,6388	0,0163	2611,44	2542	42,7146	0,4168
25	2665,44	0,7402	0,0663	2684,73	2615,29	47,33	1,542
26	2707,87	0,7034	0,0109	2727,16	2688,58	26,9622	0,2554
27	2792,73	0,8883	0,0234	2800,45	2731,02	54,0617	0,5222
28	2850,59	1,7919	0,7196	2869,88	2804,31	81,9624	16,119
29	2927,74	2,1373	1,1484	3008,75	2873,74	190,0461	60,4974
30	3035,75	0,9137	0,138	3089,75	3012,6	64,1131	4,8922
31	3124,47	0,8796	0,0819	3147,61	3093,61	44,704	2,1627
32	3182,33	0,8597	0,0166	3201,61	3151,47	42,7103	0,4835
33	3325,05	1,9157	1,1201	3606,64	3205,47	403,5501	98,0161
34	3745,5	0,6619	0,0399	3784,08	3699,21	54,3514	1,4905
35	3822,65	0,6433	0,0072	3830,36	3787,93	26,8108	0,2052
36	3899,8	0,6368	0,0117	3938,37	3880,51	36,3095	0,2301

- Boc-Leu-OH :

	Peak	Intensity	Corr. Inte	Base (H)	Base (L)	Area	Corq. Are
1	520,74	2,6532	0,0949	528,46	408,88	256,6653	10,4801
2	543,89	2,6826	0,0838	570,89	532,32	101,5033	2,1808
3	594,03	2,6638	0,1551	617,18	574,75	109,572	3,1245
4	636,47	2,5575	0,1892	713,61	621,04	200,2241	10,7513
5	729,04	1,9328	0,4642	748,33	717,47	53,162	8,1471
6	790,76	2,1801	0,8121	810,05	775,33	62,8776	15,3864
7	825,48	1,4897	0,1048	837,05	813,9	33,6594	1,529
8	856,34	1,816	0,2728	867,91	840,91	44,5708	4,3816
9	883,34	2,0822	0,2631	894,91	871,76	45,572	3,7041
10	921,91	2,4573	0,6413	991,34	898,77	189,7479	24,733
11	1029,92	2,3404	0,0832	1033,77	995,2	75,8789	1,199
12	1045,35	2,6246	0,4411	1080,06	1033,77	103,7058	8,7432
13	1130,21	2,3053	0,1481	1137,92	1083,92	108,1968	2,8068
14	1180,35	3,3575	0,9432	1207,36	1141,78	186,4987	30,2003
15	1249,79	3,9316	1,4155	1315,36	1211,21	315,8479	54,7804
16	1365,51	3,2474	0,8546	1380,94	1350,08	89,0181	15,5093
17	1446,51	2,6806	0,1967	1454,23	1411,8	98,418	2,9006
18	1465,8	2,6173	0,1913	1492,8	1458,08	84,1415	4,7187
19	1539,09	3,3221	0,9447	1566,09	1496,66	186,7442	28,2888
20	1596,95	2,8486	0,2339	1623,95	1569,95	147,8664	6,6005
21	1674,1	3,8768	0,9539	1704,96	1627,81	255,1071	34,7432
22	1716,53	3,3326	0,3041	1762,82	1708,81	153,9959	5,0749
23	1801,39	2,3827	0,0465	1936,4	1789,82	308,319	2,2847
24	2048,26	1,7508	0,0158	2063,69	2005,83	100,6431	0,7381
25	2133,12	1,885	0,0291	2144,7	2067,55	139,9896	0,8657
26	2183,27	1,8923	0,0057	2194,84	2148,55	87,3898	0,2474
27	2287,42	2,1068	0,0357	2298,99	2198,7	199,2773	0,5617
28	2364,57	2,294	0,028	2372,28	2302,85	152,5321	0,7762
29	2503,43	2,6596	0,0123	2507,29	2376,14	325,118	1,3587
30	2549,72	2,6999	0,0073	2553,58	2507,29	123,8707	0,1175
31	2572,86	2,73	0,0439	2596,01	2557,43	104,3858	0,8149
32	2723,3	2,6434	0,0547	2734,87	2692,44	110,3915	1,2979
33	2754,16	2,6362	0,0239	2773,45	2738,73	90,9731	0,2851
34	2819,73	2,7369	0,0619	2835,16	2796,59	103,4146	0,9773
35	2866,02	3,0465	0,2177	2885,31	2839,02	134,9889	4,9935
36	2916,17	3,1133	0,1045	2927,74	2889,17	116,6745	2,2137
37	2966,31	3,3591	0,4813	3016,46	2931,6	263,773	22,4327
38	3043,46	2,6795	0,145	3101,32	3020,32	206,0133	4,0769
39	3182,33	2,3743	0,0174	3193,9	3147,61	109,1176	0,3735
40	3240,19	2,4495	0,0098	3244,05	3197,76	111,0241	0,1245
41	3336,62	3,5065	0,5099	3359,77	3247,9	328,279	17,4106

- Boc-Leu-N(Me)<sub>2</sub> :

	Peak	Intensity	Corr. Inte	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Are
1	536,17	0,5586	0,0675	551,6	474,46	36,4412	1,4379
2	644,18	1,2479	0,715	713,61	555,46	129,1935	45,1164
3	732,9	0,5592	0,0591	775,33	717,47	29,129	1,6987
4	894,91	0,6882	0,2649	918,05	875,62	23,4717	5,513
5	968,2	0,498	0,0316	979,77	933,48	21,6709	0,6183
6	1049,2	0,8843	0,1757	1064,63	983,63	51,4964	2,9932
7	1087,78	1,024	0,3206	1107,06	1068,49	33,4413	6,0922
8	1164,92	0,8401	0,0371	1168,78	1141,78	20,7021	1,0474
9	1184,21	0,9278	0,1075	1199,64	1172,64	23,8826	1,733
10	1242,07	1,2876	0,4062	1257,5	1203,5	56,1083	10,0502
11	1272,93	0,951	0,1114	1288,36	1261,36	24,2925	1,6212
12	1311,5	1,2039	0,4548	1357,79	1292,22	57,816	10,233
13	1438,8	1,071	0,366	1461,94	1404,08	48,303	8,2748
14	1535,23	1,4563	0,2066	1546,8	1477,37	73,4631	3,5624
15	1577,66	1,8593	0,4206	1596,95	1550,66	76,487	10,8892
16	1627,81	2,2718	0,937	1666,38	1604,66	104,4355	24,7449
17	1770,53	0,5879	0,0248	1812,96	1762,82	27,4082	0,6602
18	1994,26	0,4371	0,0086	2028,97	1978,83	21,6964	0,2041
19	2333,71	0,5286	0,0076	2337,56	2287,42	24,8625	0,1346
20	2360,71	0,5567	0,0504	2391,57	2341,42	26,3706	1,1647
21	2488	0,5076	0,0041	2495,72	2426,28	34,2215	0,0774
22	2592,15	0,5636	0,0207	2611,44	2538,15	39,675	0,5447
23	2661,58	0,6471	0,0697	2680,87	2642,3	23,6172	1,382
24	2707,87	0,5971	0,0121	2731,02	2684,73	27,4048	0,3147
25	2792,73	0,7604	0,0265	2800,45	2734,87	43,5763	0,6419
26	2850,59	1,606	0,6936	2869,88	2804,31	70,9994	14,8577
27	2923,88	1,8612	1,0118	3008,75	2873,74	164,6905	55,1498
28	3035,75	0,769	0,1432	3089,75	3012,6	52,4503	4,9161
29	3124,47	0,7175	0,0804	3143,75	3093,61	33,3575	2,0163
30	3178,47	0,6801	0,0202	3201,61	3147,61	36,3107	0,6181
31	3328,91	1,6766	1,0662	3537,2	3205,47	286,2289	88,6628
32	3741,65	0,5242	0,046	3764,79	3718,5	23,3358	1,1742
33	3826,51	0,4908	0,0111	3834,22	3787,93	22,1594	0,3824

- Boc-Leu-N(Et)<sub>2</sub>:

	<b>Peak</b>	<b>Intensity</b>	<b>Corr. Inte</b>	<b>Base (H)</b>	<b>Base (L)</b>	<b>Area</b>	<b>Corr. Are</b>
1	648,04	0,6403	0,3564	713,61	555,46	64,7681	20,0277
2	1180,35	0,5705	0,1692	1199,64	1137,92	29,8759	6,2348
3	1245,93	0,7747	0,2942	1261,36	1203,5	33,9451	7,3505
4	1311,5	0,6659	0,2557	1330,79	1292,22	20,871	5,0214
5	1438,8	0,5727	0,1906	1473,51	1419,51	25,9003	5,0275
6	1535,23	0,8701	0,143	1546,8	1481,23	40,2811	2,2095
7	1577,66	1,2874	0,5003	1600,81	1550,66	51,9196	12,4871
8	1627,81	1,5978	0,8845	1662,52	1604,66	61,4461	20,8773
9	1677,95	0,7052	0,1157	1701,1	1666,38	22,5915	2,2824
10	2850,59	0,9105	0,4954	2869,88	2804,31	34,399	9,8876
11	2927,74	1,2276	0,8348	3012,6	2873,74	94,4353	41,8707
12	3035,75	0,3341	0,0454	3093,61	3016,46	22,9462	1,4729
13	3328,91	1,0268	0,7347	3429,2	3205,47	108,7615	43,8184
14	3436,91	0,3061	0,0036	3548,78	3433,06	30,8616	0,3356