

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEINGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE.
UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA- 1



Faculté des Sciences
Département de Chimie
Mémoire de Master

Préparé en vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Organique

Thème

Protection de la partie C-terminale d'acides aminés chiraux par des amines secondaires moyennant la méthode des anhydrides

Présenté par :

BOUTAHRAOUI Marwa

&

BOUABDALLAH Neyerra

Soutenu le 22/06/2025 devant le jury composé de :

A. OURADI	MCA	Président	Université Blida 1
N. BENSEMmane	MCB	Examinatrice	Université Blida 1
M.TALEB	MAA	Promotrice	Université Blida 1

Résumé :

Notre travail se concentre sur la protection de la partie (C-terminale) d'acide aminé chiraux à l'aide d'une amine secondaire par la méthode des anhydrides, moyennant le DCCI comme agent découplage. La partie (N-terminale) de l'acide aminé a été protégée par le groupe Boc.

Nous avons utilisé (Boc-Ala-OH) et (Boc-Leu-OH) comme réactifs principaux. Au départ, la partie (C-terminale) a été activée par le DCCI dans un solvant THF à une température de 0°C.

L'intermédiaire formé réagit avec la diéthylamine et la diméthylamine pour former une liaison amide par une réaction de condensation, aboutissant à un acide aminé prêt pour la formation de la séquence peptidique.

Les produits ont été purifiés par cristallisation. Leur pureté a été contrôlée par la mesure de la température de fusion et par l'obtention d'une seule tache en CCM. Leur structure a été confirmée par l'examen des spectres FTIR.

Abstract:

Our work focuses on the protection of the C-terminal portion of chiral amino acids using a secondary amine by the anhydride method, using DCCI as a decoupling agent. The N-terminal portion of the amino acid was protected by the Boc group.

We used (Boc-Ala-OH) and (Boc-Leu-OH) as the main reagents. Initially, the C-terminal portion was activated with DCCI in THF solvent at 0°C.

The resulting intermediate reacts with diethylamine and dimethylamine to form an amide bond through a condensation reaction, resulting in an amino acid ready for peptide sequence formation.

The products were purified by crystallization. Their purity was controlled by measuring the melting temperature and by obtaining a single spot in TLC. Their structure was confirmed by examining the FTIR spectra.

ملخص:

يركز عملنا على حماية الجزء الطرفي الكربوني من الأحماض الأمينية الكيرالية باستخدام أمين ثانوي بطريقة الأنهيدريد، باستخدام DCCI كعامل فصل. حُمي الجزء الطرفي الأميني من الحمض الأميني بواسطة مجموعة Boc.

استخدمنا (Boc-Ala-OH) و (Boc-Leu-OH) ككواشف رئيسية. في البداية، تم تنشيط الجزء الطرفي الكربوني باستخدام DCCI في مذيب THF عند درجة حرارة 0 درجة مئوية.

يتفاعل الوسيط الناتج مع ثنائي إيثيل أميد وثنائي ميثيل أمين لتكوين رابطة أمين من خلال تفاعل تكثيف، مما ينتج عنه حمض أميني جاهز لتكوين تسلسل ببتيد.

تم تنقية النواتج بالتبلور. تم التحكم في نقائها عن طريق قياس درجة حرارة الانصهار والحصول على نقطة واحدة في TLC. تم تأكيد بنيتها بفحص أطياف FTIR.



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 M. Taleb, notre directrice de mémoire pour tout le soutien, l'aide, l'orientation, la guidance qu'elle nous a apportés lors de la réalisation de notre PFE.

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

Nous voudrions remercier aussi notre chef d'option Mme SALHI.

Nous remercions également les ingénieurs de laboratoire au niveau de pavillon 5, Mme BOUDJAMA, Mme LOUZRI et Mme HADDAD.

Un grand merci tout particulier à Mme BENSEMmane NACHIDA pour son aide.

Nous remercions également, ACHOUR, MOUKREN, LABANI et les camarades de la promotion de master chimie organique pour tout ce qu'on a vécu ensemble ces dernières années



Dédicaces

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail a ceux qui donnent sans recevoir, se brulent pour que leur fils voie là lumière du savoir, à ceux qui ont été toujours la source d'inspiration et de courage, à ceux qui tous les mots du monde ne suffisent pas pour leur montrer ma mère, et mon père et ma petite sœur Safa.

A mes chères sœurs Chaïma et Yasmine .et ma cousine Aicha

A mes professeurs et encadrants, pour leur guidance précieuse, leur patience et leurs précieux conseils qui ont enrichi ce travail.

A mes amies, pour leur compréhension, leur aide et leurs encouragements durant les moments les plus difficiles.

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Je vous dédie ce travail avec toute ma reconnaissance et ma gratitude.

Marwa



Dédicace

Je dédie ce modeste travail avec toute ma reconnaissance, mon respect et mon affection.

À mes parents,

Pour leur amour inconditionnel, leur patience, leurs sacrifices et leur soutien sans limite.

Vous êtes la source de ma force et de ma persévérance.

À mes sœurs Amani et Sanaa et à mes frères Youcef et Mounir,

Pour votre tendresse, votre humour et vos encouragements constants.

À mon grand-père bien-aimé,

Pour sa sagesse, son affection et ses prières silencieuses, sans oublier ma chère grand-mère ton amour, ta douceur et tes prières m'ont toujours réconfortée. Merci d'avoir été là.

À tous les membres de ma famille, proches et lointains, pour leur présence, bienveillante et leurs mots réconfortants tout au long de ce parcours.

À mes professeurs,

Pour vos enseignements, votre accompagnement.

À mes amies Meriem et Maroua BOURAS,

Pour votre sincère amitié, votre soutien moral et vos encouragements qui m'ont beaucoup portée.

Neyerra

Table des matières

Résumé	
Remerciements	
Dédicaces	
Table des matières	
Liste des tableaux	
Liste des schémas	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	
Chapitre 1 Partie théorique	1
I.1 Les acides aminés :	1
I.1.1 Généralités :	1
I.1.2 Définition :	1
I.1.3 Classification des acides aminés :	2
I.1.4 Stéréochimie :	16
I.2 Couplage des acides aminés :	17
I.2.1 Protection de la fonction amine et la fonction acide carboxylique :	17
I.2.2 Méthodes et agents de couplage peptidique :	23
I.3 Les peptides :	29
I.3.1 Généralités :	29
I.3.2 Définition :	29
I.3.3 La liaison amide :	29
I.3.4 Propriétés physico-chimiques des peptides :	30
I.3.5 Avantages des peptides :	34
I.3.6 Limitations des peptides :	34
I.3.7 Application des peptides contenant alanine et leucine dans divers domaines :	34
I.4 Les protéines :	37
I.4.1 Généralités :	37
I.4.2 Définition :	37
I.4.3 Composition et Classification des Protéines :	37

I.4.4 Conformation des chaines polypeptidiques :	38
Chapitre 2 : Partie expérimentale	44
II.1 Introduction :	44
II.2 Produits chimiques utilisés :	44
II.3 Le choix du groupement protecteur :	45
II.4 Agent et méthode de couplage :	45
II.5 Les acides aminés N-protégés utilisés :	46
II.6 Réactions de synthèse des acides aminés C-protégés :	47
II.6.1 Synthèse générale :	47
II.7. Méthodes utilisées et techniques d'identification :	48
II.7.1 Chromatographie sur Couche Mince (CCM) :	48
II.7.2 Mesure du point de fusion :	48
II.7.3 La spectroscopie infrarouge par transformée de Fourier :	49
Chapitre 3 : Résultats et discussions	52
III.1. Réaction de synthèse Boc-Ala-N(Et) ₂ :	52
III.1.1 Caractérisation de Boc-Ala-OH par FTIR :	53
III.1.2 Caractérisation de Boc-Ala-N(Et) ₂ par FTIR :	54
III.2. Réaction de synthèse Boc-Ala-N(Me) ₂ :	56
III.2.1 Caractérisation de Boc-Ala-N(Me) ₂ par FTIR :	57
III.3. Réaction de synthèse Boc-Leu-N(Et) ₂ :	58
III. 3.1 Caractérisation de Boc-Leu-OH par FTIR :	60
III.3.2 Caractérisation de Boc-Leu-N(Et) ₂ par FTIR :	61
III.4. Réaction de synthèse Boc-Leu-N(Me) ₂ :	63
III.4.1 Caractérisation de Boc-Leu-N(Me) ₂ par FTIR :	64
III.5 Résultats des méthodes et techniques d'identification :	66
CONCLUSION GENERALE :	70
Références	

Liste des tableaux :

Tableau 1.1 : Propriétés physico-chimiques de l'histidine.	3
Tableau 1.2 : Propriétés physico-chimiques de l'isoleucine.	4
Tableau 1.3 : Propriétés physico-chimiques de la leucine.	4
Tableau 1.4: Propriétés physico-chimiques de la lysine.	5
Tableau 1.5 : Propriétés physico-chimiques de la méthionine.	5
Tableau 1.6 : Propriétés physico-chimiques de la phénylalanine.	6
Tableau 1.7 : Propriétés physico-chimiques de la thréonine.	7
Tableau 1.8 : Propriétés physico-chimiques de la valine.	7
Tableau 1.9 : Propriétés physico-chimiques de la tryptophane.	8
Tableau 1.10 : Propriétés physico-chimiques de la glutamine.	9
Tableau 1.11 : Propriétés physico-chimiques de l'arginine.	10
Tableau 1.12 : Propriétés physico-chimiques de l'alanine.	10
Tableau 1.13 : Propriétés physico-chimiques de l'asparagine.	11
Tableau 1.14 : Propriétés physico-chimiques de l'acide aspartique.	11
Tableau 1.15 : Propriétés physico-chimiques de la cystéine.	12
Tableau 1.16 : Propriétés physico-chimiques de l'acide glutamique.	13
Tableau 1.17 : Propriétés physico-chimiques de la proline.	13
Tableau 1.18 : Propriétés physico-chimiques de la sérine.	14
Tableau 1.19 : Propriétés physico-chimiques de la tyrosine.	15
Tableau 1.20 : Propriétés physico-chimiques de la glycine.	16
Tableau 2.1 : Produits chimiques utilisés.	44
Tableau 3.1 : Résultats des méthodes et techniques d'identification du Boc-Ala-OH et ses dérivés.	67
Tableau 3.2 : Résultats des rapports frontaux du Boc-Ala-OH et ses dérivés.	67
Tableau 3.3 : Résultats des méthodes et techniques d'identification du Boc-Leu-OH et ses dérivés.	68
Tableau 3.4 : Résultats des rapports frontaux du Boc-Leu-OH et ses dérivés.	69

Liste des schémas :

Schéma 1 : Résultat possible obtenus.....	2
Schéma 1.1 : Mécanisme de protection par le BOC.....	18
Schéma 1.2 : Autres groupements protecteurs.....	18
Schéma 1.3 : Clivage du Boc.....	19
Schéma 1.4 : Mécanisme de protection par le Fmoc.....	20
Schéma 1.5 : Mécanisme de déprotection du Fmoc.....	20
Schéma 1.6 : Mécanisme de la protection par Cbz.....	21
Schéma 1.7 : Les conditions de clivage du groupe Cbz.....	21
Schéma 1.8 : Activation de la fonction acide carboxylique.....	23
Schéma 1.9 : Mécanisme de formation de chlorure d'acyle à l'aide de chlorure de thionyle.....	24
.....	24
Schéma 1.10 : Formation du fluorure d'acyle.....	24
Schéma 1.11 : Préparation des acylazides.....	24
Schéma 1.12 : Méthode de couplage par BOP.....	25
Schéma 1.13 : Méthode de couplage par ICF.....	26
Schéma 1.14 : Couplage par DCC.....	27
Schéma 1.15 : Utilisation d'HOBt pour minimiser la formation de N-acylurée.....	28
Schéma 1.16 : Les acides aminés s'unissent par des liaisons peptidiques.....	29
Schéma 3.1 : Mécanisme proposé pour la synthèse du Boc-Ala-N(R) ₂	53
Schéma 3.2 : Mécanisme proposé pour la synthèse du Boc-Leu-N(R) ₂	60

Liste des figures :

Figure 1.1 : Représentation générale de la structure d'un acide aminé.	1
Figure 1.2 : Les énantiomères d'un acide aminé.	17
Figure 1.3 : Des groupements protecteurs de la fonction amine.	18
Figure 1.4 : Structures de chloroformâtes (1) et de l'azidocarbonate (2).	19
Figure 1.5 : Protection par l'ester méthylique.	22
Figure 1.6: Protection par tert-butyle.....	22
Figure 1.7 : Protection par la BZL.	22
Figure 1.8 : Protection par amidation.	23
Figure 1.9 : Structures de BOP, TBTU et de HAUT.....	25
Figure 1.10 : Structures de DCC et EDC.....	27
Figure 1.11 : Formes mésomères de la liaison amide.....	30
Figure 1.12 : Configuration cis et trans de la liaison amide.	30
Figure 1.13 : Ponts disulfures structuraux.	31
Figure 1.14 : Réduction de la ninhydrine	32
Figure 1.15 : Formation de la poudre de Ruhemann.	32
Figure 1.16 : Réaction de Biuret.....	32
Figure 1.17 : Base de Schiff.	33
Figure 1.18 : Structure primaire du ala-cys-gly-ser.....	38
Figure 1.19 : Structure secondaire de la protéine	39
Figure 1.20 : Structure de protéine L'hélice α	39
Figure 1.21 : Structure du feuillet beta.....	40
Figure 1.22 : Structure du feuillet bêta parallèle	40
Figure 1.23 : Structure du feuillet bêta antiparallèle	41
Figure 1.24 : Structure tertiaire de la protéine.....	41
Figure 1.25 : Structure quaternaire de la protéine.	42
Figure 2.1 : Représentation du groupement tertiobutyloxycarbonyl.	45
Figure 2.2 : Représentation de la structure du dicyclohexylcarbodiimide.	45
Figure 2.3 : Représentation de la structure de l'acide aminé Boc-Ala-OH.....	46
Figure 2.4 : Représentation de la structure de l'acide aminé Boc-Leu-OH :	46
Figure 2.5 : Représentation de la structure du Boc-AA-N(Et) ₂	47
Figure 2.6 : Représentation de la structure du Boc-AA-N(Me) ₂	47

Figure 2.7 : La chromatographie sur couche mince (CCM).....	48
Figure 2.8 : Fusiomètre.....	49
Figure 2.9 : Appareil de spectroscopie FTIR.....	50
Figure 3.1 : Réaction de synthèse du Boc-Ala-N(Et) ₂	52
Figure 3.2 : Spectre FTIR du Boc-Ala-OH.	54
Figure 3.3 : Spectre FTIR du Boc-Ala-N(Et) ₂	56
Figure 3.4: Spectre FTIR du Boc-Ala-OH et Boc-Ala-N(Et) ₂	56
Figure 3.5 : Spectre FTIR du Boc-Ala-N(Me) ₂	58
Figure 3.6: Spectre FTIR du Boc-Ala-OH et Boc-Ala-N(Me) ₂	58
Figure 3.7 : Spectre FTIR du Boc-Leu-OH.	61
Figure 3.8 : Spectre FTIR du Boc-Leu-N(Et) ₂	63
Figure 3.9 : Spectre FTIR du Boc-Leu-OH et Boc-Leu-N(Et) ₂	63
Figure 3.10 : Spectre FTIR du Boc-Leu-N(Me) ₂	65
Figure 3.11 : Spectre FTIR du Boc-Leu-OH et Boc-Leu-N(Me) ₂	65

Liste des abréviations :

AA : acide aminé

AcOEt : acétate d'éthyle.

AcOH : acide acétique

Ala : Alanine

Boc : Tertbutyloxycarbonyl.

BOP : Benztotriazol-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)-phosphonium.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

DCCI : Dicyclohexylcarbodiimide.

DCU : Dicyclohexylurée.

EDC : 1-éthyl-3-(3' diméthylaminopropyl) carbodiimide

Fmoc : Flurénylméthoxycarbonyl.

FTIR : Infrarouge à transformée de Fourier.

HOBt : N-hydroxy-benzotriazole.

Hx : Hexane.

Leu : Leucine

M : Masse Molaire.

R : Rendement.

R_f : Rapport frontal.

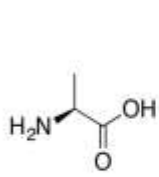
T_f : Température de fusion.

TFA : Acide trifluoroacétique

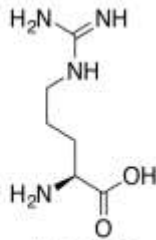
THF : Tétrahydrofurane.

Z (Cbz) : Benzyloxycarbonyl.

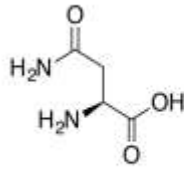
LISTE DES ACIDES AMINES NATURELS



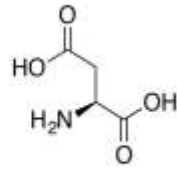
L-Alanine



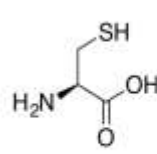
L-Arginine



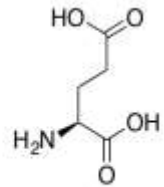
L-Asparagine



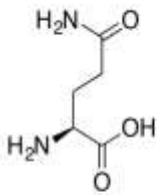
*Acide
L-Aspartique*



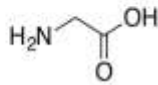
L-Cystéine



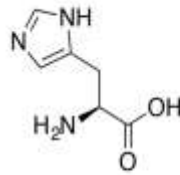
*Acide
L-Glutamique*



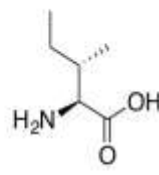
L-Glutamine



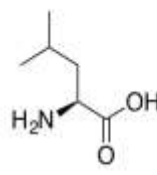
Glycine



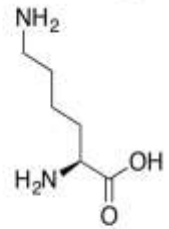
L-Histidine



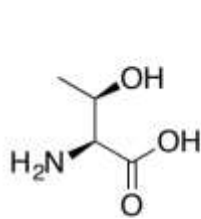
L-Isoleucine



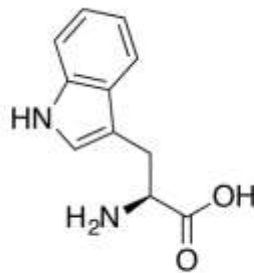
L-Leucine



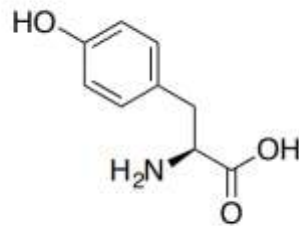
L-Lysine



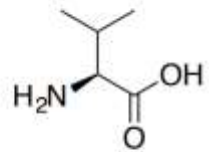
L-Thréonine



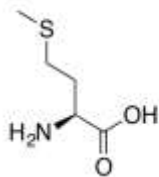
L-Tryptophane



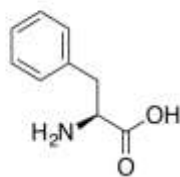
L-Tyrosine



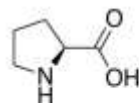
L-Valine



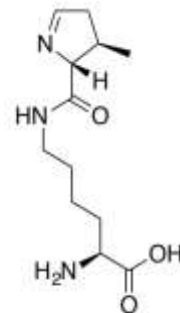
L-Méthionine



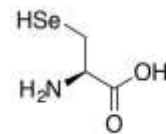
L-Phénylalanine



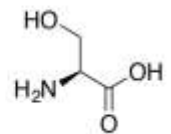
L-Proline



L-Pyrrolysine



L-Sélénocystéine



L-Sérine

INTRODUCTION GENERALE

L'un des polymères organiques les plus significatifs produits par l'organisme vivant est constitué de polymères aminoacides, appelés les protéines. Ces macromolécules représentent environ trois quarts de l'extrait sec des systèmes vivants, et en fait elles sont impliquées dans plusieurs fonctions biologiques, allant de la catalyse enzymatique à la structuration des cellules. Elles participent à des processus vitaux tels que la régulation hormonale, transport des nutriments et aussi la réponse immunitaire

L'hydrolyse des protéines est un processus fondamental en biochimie, permettant de décomposer ces macromolécules complexes à l'aide d'acides, de bases ou d'enzymes. Ce processus peut être partiel et conduit à des peptides ou bien totale ce qui permet d'obtenir les acides aminés.

En parallèle, la synthèse peptidique a longtemps été un domaine mystérieux de la chimie organique. La possibilité de reproduire en laboratoire suscite l'intérêt des chimistes organiciens. Cependant, la synthèse d'un polypeptide présente plusieurs défis en raison de la diversité des groupes fonctionnels présents dans ces acides aminés. Elle commence généralement par l'extrémité carboxyle et se dirige vers l'extrémité amine, ce qui est l'inverse de la structure naturelle des protéines.

Lors de la création d'un dipeptide, une réaction entre un groupe carboxyle et un groupe amine peut donner plusieurs résultats, surtout si deux types d'acides aminés sont présents. Il est également possible d'inverser l'ordre des acides aminés, et les molécules d'acides aminés peuvent interagir entre elles. Le schéma ci-dessous donne les dipeptides obtenus dans le mélange considéré :

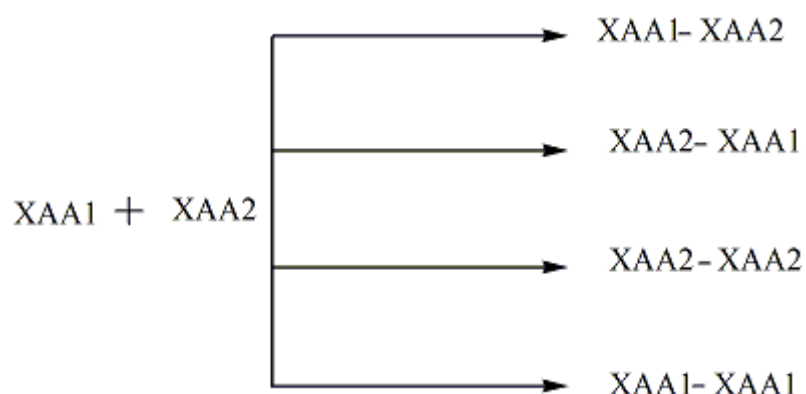


Schéma 1 : Résultat possible obtenus.

Pour pouvoir préparer sélectivement le dipeptide $\text{XAA}_1\text{-XAA}_2$, il faudra exercer un contrôle durant la synthèse. La stratégie consiste à utiliser des groupements protecteurs et des agents activant. En général on protège ou bloque la fonction amine d'un acide aminé XAA_1 tout en activant le groupe acide de la même molécule, on protège le groupe acide de l'acide aminé XAA_2 tout en laissant le groupe amine libre de réagir.

Notre travail se focalise sur la protection de l'extrémité C-terminale d'acides aminés par des amines.

La synthèse est réalisée à partir d'un acide aminé N-protégé par le groupement Boc, la C-protection a été réalisée par des amines secondaires pour former une liaison amide. La réaction de condensation est effectuée en utilisant la méthode des anhydrides moyennant le DCCI comme agent de couplage.

Notre choix s'est porté sur l'Alanine et la Leucine des acides aminés chiraux, ainsi que sur des amines secondaires (diéthylamine, diméthylamine) pour la C-protection. Ces amines vont permettre d'une part de protéger la partie C-terminale en formant une liaison amide, et d'autre part, elles vont miner la partie N-terminale de la proline. Le premier chapitre est axé sur la partie théorique qui inclue des généralités sur les acides aminés et leurs propriétés (physico-chimique) ainsi que sur la synthèse peptidique, le deuxième chapitre décrit la partie expérimentale, les méthodes utilisées et les techniques d'identification, Le dernier chapitre traite les résultats obtenus et leurs discussions, et nous terminons par une conclusion.



Chapitre 1

Partie théorique

I.1 Les acides aminés :

I.1.1 Généralités :

Les acides aminés sont des molécules organiques bifonctionnelles. Ils sont les constituants principaux des peptides et des protéines. Parmi les 300 acides aminés inventoriés, seulement 20 acides aminés entrent dans la constitution des protéines, et sont appelés protéinogènes. Dans près de 30% de ces astreintes, les animaux supérieurs sont incapables de biosynthétiser la totalité des acides aminés. Chez l'homme, 12 acides aminés sont synthétisés par l'organisme et 8 sont issus de l'alimentation à savoir : Valine, Leucine, Isoleucine, Thréonine, Méthionine, Phénylalanine, Tryptophane et Lysine et sont qualifiés d'indispensables ou essentiels¹.

I.1.2 Définition :

Les acides aminés sont des molécules comportant à la fois une fonction amine et une fonction acide carboxylique. Dans le cas des aminoacides impliqués dans les protéines, la fonction amine est celle qui est toujours située en position α de la fonction acide carboxylique.

Ce carbone en position α prend également un atome d'hydrogène. Il existe donc plus de cent formes pour le quatrième groupement lié à ce carbone appelée chaîne latérale. En effet, la majorité des amino-acides naturels présentent seulement des différences au niveau de la structure de cette chaîne.

Il est important de constater que tous les acides aminés d'origine humaine ont la configuration L en position α , tandis que dans les acides aminés provenant de sources microbiologiques, peuvent avoir la configuration D².

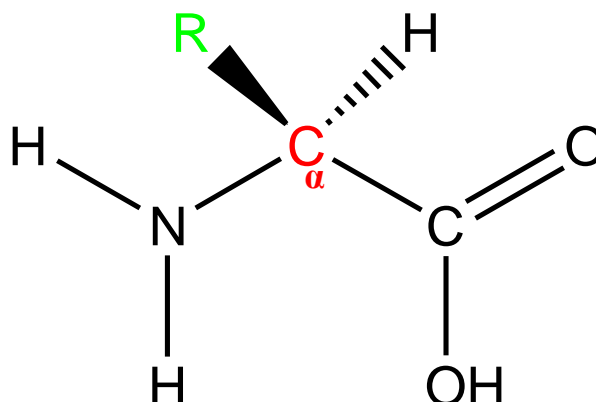


Figure 1.1 : Représentation générale de la structure d'un acide aminé.

I.1.3 Classification des acides aminés :

Les acides aminés peuvent être classés selon plusieurs critères :

I.1.3.1 Selon la structure de la chaîne latérale R :

a) Les acides aminés à chaîne aliphatique :

→ Hydrocarbonée : le radical est uniquement constitué d'atomes de carbone et d'hydrogène : Glycine, alanine, valine, leucine et isoleucine.

→ A fonction alcool : Serine et thréonine.

→ A fonction soufrée : Cystéine, Méthionine.

→ A fonction acide et amides correspondants : Acide aspartique et acide glutamique, Asparagine et glutamine.

→ A fonction basique : Lysine, Arginine et histidine.

b) Les acides aminés à chaîne cyclique

→ Aromatique : Phénylalanine, tyrosine, tryptophane.

→ Acide α -iminé : Proline.

I.1.3.2 Polarité de la chaîne latérale :

Les acides aminés peuvent être classés en fonction du comportement du radical. Cette classification est utile quant à la structure tridimensionnelle des protéines et quant au mode d'association des protéines avec d'autres molécules. On distingue deux groupes d'acides aminés :

a) Les acides aminés polaires :

→ non ionisables : sérine, thréonine, asparagine, glutamine, cystéine et tyrosine. Ils forment des liaisons hydrogènes.

→ionisables : acide aspartique, acide glutamique, lysine, arginine et histidine. Ils forment des liaisons ioniques.

b) Les acides aminés apolaires : alanine, valine, leucine, isoleucine, méthionine, phénylalanine, tryptophane et proline. Ils contractent des liaisons hydrophobes.

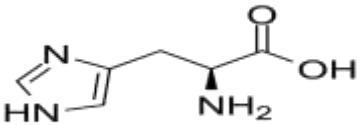
I.1.3.3 Selon l'essentialité des acides aminés :

a) Acides aminés essentiels : ne sont pas synthétisés par l'organisme, et sont de source alimentaire et au nombre de 9 chez l'homme : Leucine, isoleucine, méthionine, thréonine, lysine, valine, tryptophane, phénylalanine, histidine.

o Histidine :

Elle est indispensable pour les processus biologiques, y compris le fonctionnement des enzymes et la régulation du pH à l'intérieur des cellules (Tableau 1.1).

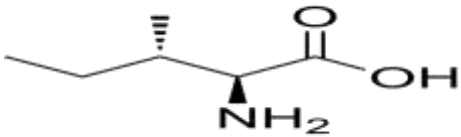
Tableau 1.1 : Propriétés physico-chimiques de l'histidine.

Nom IUPAC	Acide 2-amino-3-(1H-imidazol-4-yl) propénoïque
Synonymes	H, HIS
Structure	
Formule chimique	C₆H₉NO₂
Masse molaire	155,1536g/mol

o Isoleucine :

L'isoleucine est un acide aminé essentiel. Elle fait partie des trois acides aminés à chaîne ramifiée (Tableau 1.2).

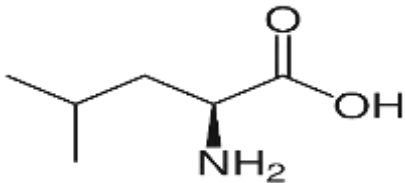
Tableau 1.2 : Propriétés physico-chimiques de l'isoleucine.

Nom IUPAC	Acide 2-amino-3-méthylpentanoïque
Synonymes	I, Ile
Structure	
Formule chimique	$C_6H_{13}NO_2$
Masse molaire	131,17 g/mol

o Leucine

La leucine, un acide aminé essentiel pour les organismes, se classe parmi les trois acides aminés ramifiés (Tableau 1.3).

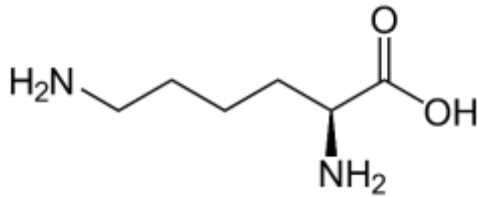
Tableau 1.3 : Propriétés physico-chimiques de la leucine.

Nom IUPAC	Acide 2-amino-4-méthylpentanoïque
Synonymes	Leu, L
Structure	
Formule chimique	$C_6H_{13}NO_2$
Masse molaire	131,17 g/mol

o **Lysine :**

Elle possède une structure chimique distincte, qui se compose d'une chaîne hydrophile et d'un groupe amine. C'est l'un des acides aminés qui portent une charge positive à un pH physiologique (Tableau 1.4).

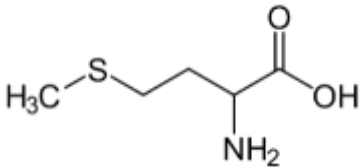
Tableau 1.4: Propriétés physico-chimiques de la lysine.

Nom IUPAC	Acide 2,6-diaminohexanoïque
Synonymes	K, LYS
Structure	
Formule chimique	$C_6H_{14}N_2O_2$
Masse molaire	146,19g /mol

o **Méthionine :**

La méthionine est un acide aminé essentiel nécessaire à la synthèse des protéines et à la méthylation de l'ADN (Tableau 1.5).

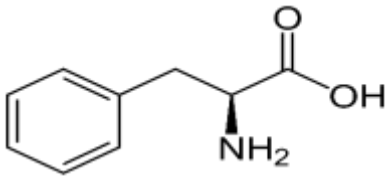
Tableau 1.5 : Propriétés physico-chimiques de la méthionine.

Nom IUPAC	Acide 2-amino-(méthylsulfanyl) butanoïque
Synonymes	M, MET
Structure	
Formule chimique	$C_5H_{11}NO_2S$
Masse molaire	149,21 g/mol

o Phénylalanine :

La phénylalanine, est un acide alpha-aminé indispensable. Sa chaîne latérale distincte, associée au carbone bêta, en fait une polyamine aromatique (Tableau 1.6).

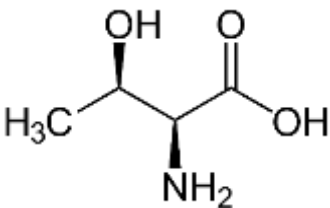
Tableau1.6 : Propriétés physico-chimiques de la phénylalanine.

Nom IUPAC	Acide2-amino-3- phénylpropanoïque
Synonymes	F, Phe
Structure	
Formule chimique	C₉H₁₁NO₂
Masse molaire	165,19g/mol

o Thréonine :

La thréonine est un acide alpha-aminé essentiel, avec masse molaire 119,119g/mol. Elle possède un hydroxyle sur sa chaîne latérale, qui constitue un centre chiral, ce qui lui confère une polarité et la capacité à établir des liaisons hydrogène (Tableau 1.7).

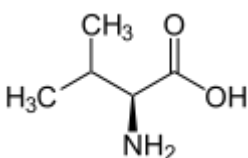
Tableau 1.7 : Propriétés physico-chimiques de la thréonine.

Nom IUPAC	Acide 2-amino-3- hydroxybutanoïque
Synonymes	T, Thr
Structure	
Formule chimique	C₄H₉NO₃
Masse molaire	119,1192 g /mol

o **Valine :**

La valine est un acide alpha-aminé essentiel. Elle appartient au groupe des acides aminés aliphatiques à chaîne ramifiée (Tableau 1.8).

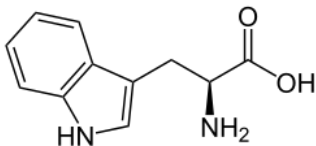
Tableau 1.8 : Propriétés physico-chimiques de la valine.

Nom IUPAC	Acide 2-amino-3- méthylbutanoïque
Synonymes	V, Val
Structure	
Formule chimique	C₅H₁₁NO₂
Masse molaire	117,151g/mol

o Tryptophane :

Le tryptophane est un acide alpha-aminé essentiel. Elle est un précurseur essentiel de molécules importantes comme la sérotonine, la mélatonine et la niacine (Tableau 1.9).

Tableau 1.9 : Propriétés physico-chimiques de la tryptophane.

Nom IUPAC	Acide 2-amino-3-(1H-indol-3-yl) propanoïque.
Synonymes	Trp, W
Structure	
Formule chimique	C₁₁H₁₂N₂O₂
Masse molaire	204,23g/mole

b) Acides aminés non essentiels : ils peuvent être synthétisés par l'organisme : glycine, alanine, cystéine, sérine, acide glutamique, acide aspartique, arginine, tyrosine, proline, asparagine, glutamine.

o Glutamine

La glutamine est un acide alpha-aminé non essentiel. Elle est la forme présente dans les protéines et c'est l'acide aminé le plus abondant dans le sang et les muscles, jouant un rôle clé dans le transport de l'azote, le métabolisme énergétique, l'immunité et la santé intestinale (Tableau 1.10).

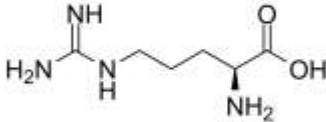
Tableau 1.10 : Propriétés physico-chimiques de la glutamine.

Nom IUPAC	Acide 2, 5-diamino-5- oxopentanoïque
Synonymes	Q, Gln
Structure	
Formule chimique	C₅H₁₀N₂O₃
Masse molaire	146,14 g/mol

o Arginine :

L'arginine est un acide alpha-aminé semi-essentiel. Elle est essentielle pour le cycle de l'urée (élimination de l'ammoniac), la production d'oxyde nitrique, la synthèse de créatine et de polyamines, et la fonction immunitaire (Tableau 1.11).

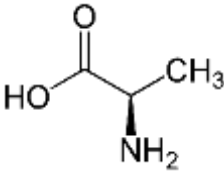
Tableau 1.11 : Propriétés physico-chimiques de l'arginine.

Nom IUPAC	Acide 2-amino-5- guanidopentanoïque
Synonymes	R, Arg
Structure	
Formule chimique	C₆H₁₄N₄O₂
Masse molaire	174,2g/mol

o Alanine :

L'alanine est un acide alpha-aminé non essentiel. La L-alanine est la forme que l'on retrouve dans les protéines, où elle participe au métabolisme du glucose et de l'azote (Tableau 1.12).

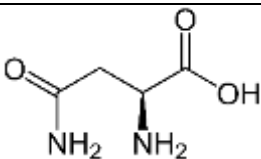
Tableau 1.12 : Propriétés physico-chimiques de l'alanine.

Nom IUPAC	Acide 2-aminopropanoïque
Synonymes	A, Ala
Structure	
Formule chimique	C₃H₇NO₂
Masse molaire	93,13g/mol

o Asparagine :

L'asparagine est un acide alpha-aminé non essentiel. L'organisme peut la synthétiser. La L-asparagine est la forme présente dans les protéines, où elle joue un rôle dans le métabolisme de l'azote et les réactions de glycosylation des protéines (tableau 1.13).

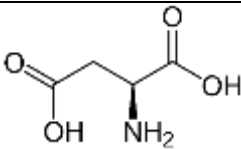
Tableau 1.13 : Propriétés physico-chimiques de l'asparagine.

Nom IUPAC	Acide 2-aminobutanedioïque
Synonymes	D, Asp
Structure	
Formule chimique	C₄H₈N₂O₃
Masse molaire	132,12 g/mol

o Acide aspartique :

L'acide aspartique, ou aspartate, est un acide alpha-aminé non essentiel. L'acide L-aspartique est la forme présente dans les protéines, où il participe à divers processus métaboliques comme le cycle de l'urée, la production de glucose et la neurotransmission (tableau 1.14).

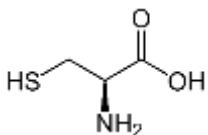
Tableau 1.14 : Propriétés physico-chimiques de l'acide aspartique.

Nom IUPAC	Acide 2-aminobutanedioïque
Synonymes	D, Asp
Structure	
Formule chimique	C₄H₇NO₄
Masse molaire	133,1g/mole

o **Cystéine :**

La cystéine est un acide alpha-aminé non essentiel (parfois semi-essentiel). La L-cystéine soit la forme biologiquement active. Elle est importante pour la structure des protéines, l'activité enzymatique et la protection antioxydante (Tableau 1.15).

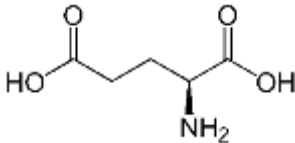
Tableau 1.15 : Propriétés physico-chimiques de la cystéine.

Nom IUPAC	Acide 2-amino-3-mercaptopropanoïque
Synonymes	C, Cys
Structure	
Formule chimique	$C_3H_7NO_2S$
Masse molaire	121,16g/mole

o **Acide glutamique :**

L'acide glutamique ou glutamate, est un acide alpha-aminé non essentiel. L'acide L-glutamique est la forme présente dans les protéines, où il joue un rôle clé dans le métabolisme de l'azote, la neurotransmission excitatrice et la formation de glutamine (Tableau 1.16).

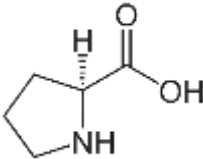
Tableau 1.16 : Propriétés physico-chimiques de l'acide glutamique.

Nom IUPAC	Acide 2-aminobutanedioïque
Synonymes	Glu ; E
Structure	
Formule chimique	$C_5H_9NO_4$
Masse molaire	147,13g/mole

○ **Proline :**

La proline est un acide alpha-iminé non essentiel possédant un groupe amine. La L-proline est la forme présente dans les protéines. Elle est essentielle pour la structure de protéines comme le collagène et pour les coudes dans les protéines globulaires (Tableau 1.17).

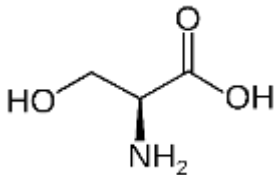
Tableau 1.17 : Propriétés physico-chimiques de la proline.

Nom IUPAC	Acide pyrrolidine-2-carboxylique
Synonymes	P, Pro
Structure	
Formule chimique	$C_5H_9NO_2$
Masse molaire	115,13g/mole

o Serine :

La sérine est un acide alpha-aminé non essentiel. Site de phosphorylation important dans les protéines. L'organisme peut la synthétiser à partir de la glycine. La L-sérine est la forme présente dans les protéines. Elle est essentielle pour l'activité de nombreuses enzymes, la signalisation cellulaire et le métabolisme, et sert de précurseur à d'autres molécules (Tableau 1.18).

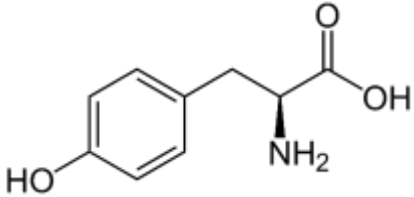
Tableau 1.18 : Propriétés physico-chimiques de la sérine.

Nom IUPAC	Acide 2-amino-3-hydroxy propanoïque
Synonymes	S, Ser
Structure	
Formule chimique	C ₃ H ₇ NO ₃
Masse molaire	105,09g/mole

o Tyrosine :

La tyrosine est un acide alpha-aminé non essentiel. Elle est un précurseur important de neurotransmetteurs (dopamine, noradrénaline, adrénaline), de la mélanine et des hormones thyroïdiennes. Son groupe hydroxyle peut également être phosphorylé dans la signalisation cellulaire. (Tableau 1.16).

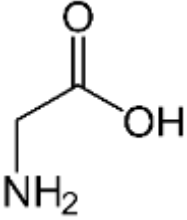
Tableau 1.19 : Propriétés physico-chimiques de la tyrosine.

Nom IUPAC	Acide 2-amino-3-(4-hydroxyphényl) propanoïque
Synonymes	Try, Y
Structure	
Formule chimique	$C_9H_{11}NO_3$
Masse molaire	181,19g/mole

o Glycine :

La glycine est l'acide alpha-aminé le plus simple. Cette chaîne latérale minimale et achirale lui confère une grande flexibilité dans les protéines et la rend non polaire. Contrairement à la plupart des acides aminés, la glycine est achirale. Elle est essentielle pour la synthèse des protéines, du collagène, la neurotransmission inhibitrice et la production d'autres molécules importantes³ (tableau 1.20).

Tableau 1.20 : Propriétés physico-chimiques de la glycine.

Nom IUPAC	Acide Aminoacétique
Synonymes	G, Gly, acide-2-aminoéthanoïque
Structure	
Formule chimique	$C_2H_5NO_2$
Masse molaire	75,07g/mole

c) Acides aminés semi-essentiels : dans certaines conditions les acides aminés non essentiels peuvent devenir indispensables, c'est le cas de l'histidine et de l'arginine chez l'enfant (croissance) et chez la femme gestante.

- L'arginine est essentielle chez le nourrisson⁴.

I.1.4 Stéréochimie :

Tous les acides aminés, à l'exception de Gly, possèdent un atome de carbone α asymétrique. Du fait de ce caractère asymétrique, les acides aminés manifestent une activité optique.

Dans la nature, toutes les protéines sont uniquement constituées d'acides aminés de type L. Habituellement, L- et D- sont symbolisés comme des énantiomères.

La configuration L et D correspond à la configuration absolue du dernier C* de la projection Fischer du composé, sans relation avec le signe du pouvoir rotatoire, mais en fonction de l'emplacement du groupement fonctionnel. Pour les acides aminés, on prend en compte la position du groupement amine (figure 1.2).

- La série L indique le groupe NH_2 à gauche de la chaîne carbonée.
- La série D indique le groupe NH_2 à droite de la chaîne carbonée.

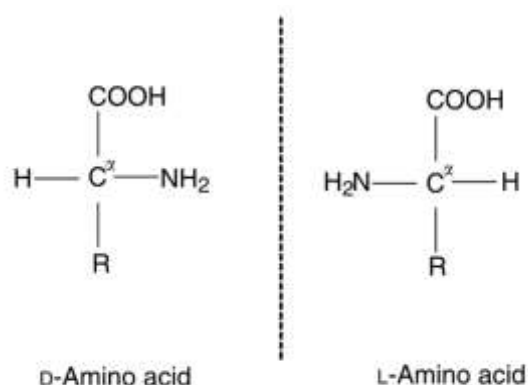


Figure 1.2 : Les énantiomères d'un acide aminé.

I.2 Couplage des acides aminés :

La formation du lien amide, qui découle de la condensation de deux acides aminés consécutifs, représente une phase cruciale dans la synthèse peptidique⁵. Toutefois, si nous souhaitons fusionner deux acides aminés AA et AA', il est possible d'obtenir AA-AA', AA-AA, AA'-AA et AA'-AA'.

Afin de synthétiser sélectivement le dipeptide AA-AA', l'emploi de groupes protecteurs et d'agents activateurs des fonctions amines ou acides des acides aminés est essentiel pour faciliter la formation de la liaison peptidique souhaitée. Dans certaines situations, il est aussi nécessaire de sécuriser les chaînes secondaires contre des résidus afin d'éviter les connexions latérales. Habituellement, on active le groupe carboxyle et on protège le groupe amine. Il est préférable que cette protection soit orthogonale afin de libérer spécifiquement la fonction amine⁶.

L'assemblage des peptides s'effectue dans l'ordre inverse de la synthèse biologique, c'est-à-dire que le groupement carboxyle activé d'un acide aminé se condense sur le groupement amine d'une chaîne polypeptidique en expansion.

I.2.1 Protection de la fonction amine et la fonction acide carboxylique :

I.2.1.1 Protection de la fonction amine :

On mentionne plusieurs groupements protecteurs de la fonction amine fréquemment employés en synthèse peptidique (figure 1.3) :

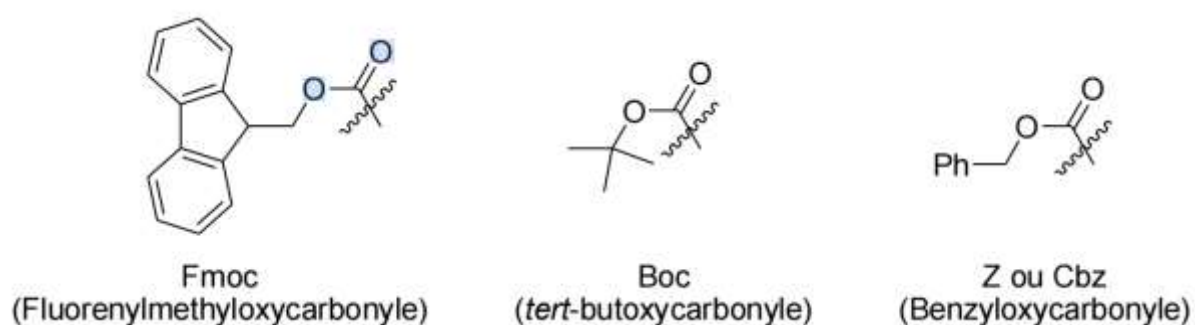


Figure 1.3 : Des groupements protecteurs de la fonction amine.

- **Le *t*-butoxycarbonyl (BOC) :**

L'idée d'employer le groupe tert-butoxycarbonyl pour la protection des amines a été proposée par Carpino en 1956⁷. Depuis, cette approche est devenue la plus couramment adoptée dans la synthèse peptidique. En 1957, Anderson et Mac Gregor font état de la synthèse de divers Boc-aminoacides⁸.

Le motif Boc peut être introduit en utilisant le carbonate mixte de tertibutanol et de para-nitrophénol (A), l'azidocarbonate de tertibutyle (B) ou le dicarbonate de di-tertibutyle (C)⁹. (Schéma 1.1 et 1.3)

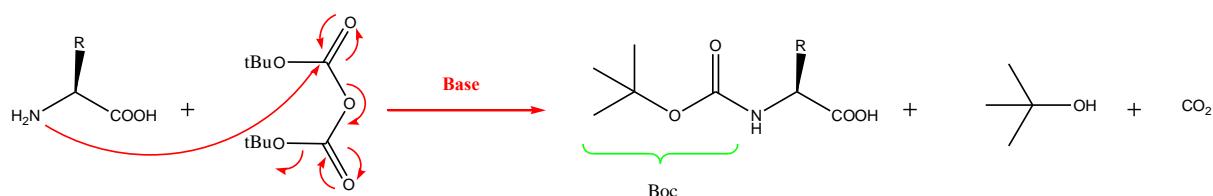


Schéma 1.1 : Mécanisme de protection par le BOC.

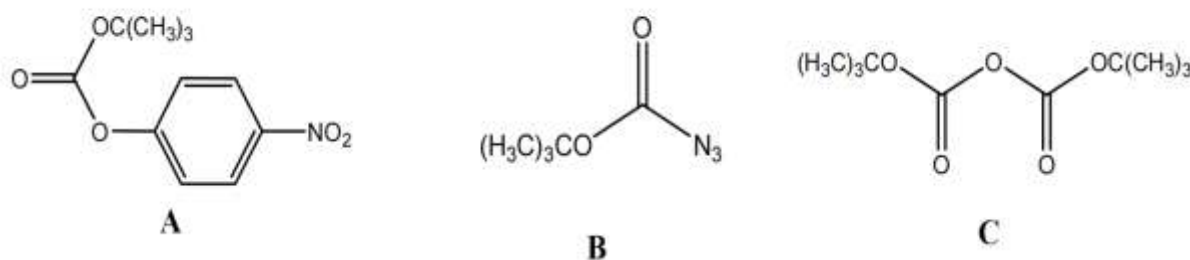


Schéma 1.2 : Autres groupements protecteurs.

Le groupement Boc conserve sa stabilité dans un environnement basique, réducteur et nucléophile. Il est aisément clivé en environnement acide par : HCl 1N/CH₃COOH, ou via HCl 4N/dioxanne, ou encore par du TFA pur ou dilué¹⁰. En outre, les sous-produits de la réaction sont des composés volatils qui facilitent la purification de l'amine dégagée (schéma 1.3).

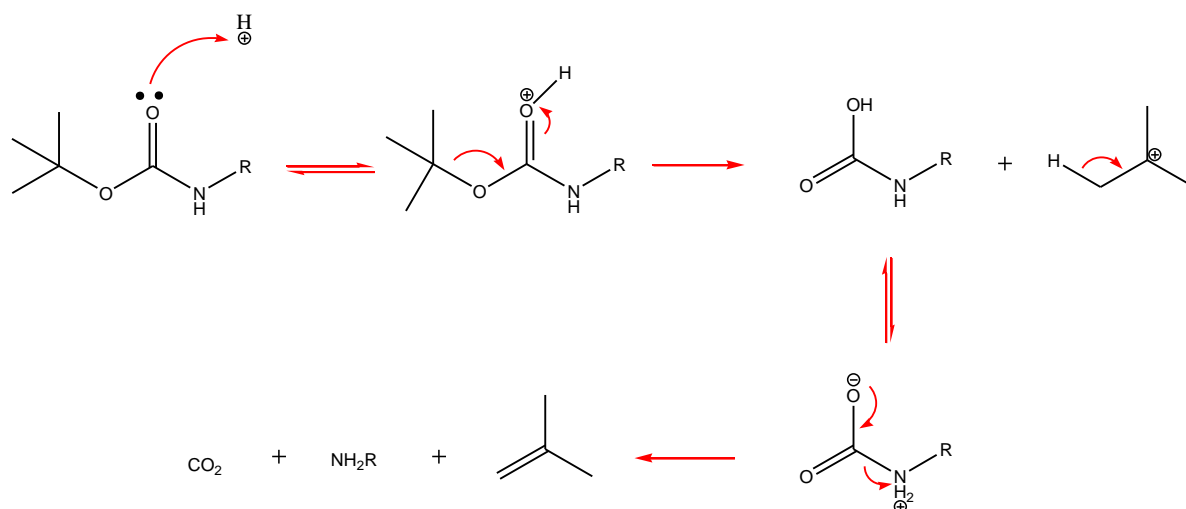


Schéma 1.3 : Clivage du Boc.

- Le 9- fluorenylméthoxycarbonyl (Fmoc) :

On le retrouve fréquemment dans la chimie des peptides, y compris en phase solide. Selon Carpino en 1970¹¹, il est introduit à partir du chloroformate (1) ou de l'azidocarbonate (2) correspondant¹² (figure 1.4).

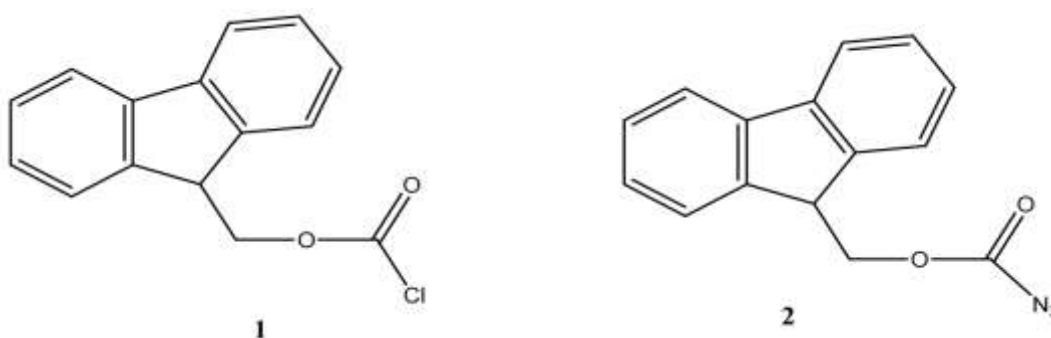


Figure 1.4 : Structures de chloroformates (1) et de l'azidocarbonate (2).

Il résiste aux milieux acides mais présente l'inconvénient que les Fmoc acides aminés sont peu solubles dans la majorité des solvants organiques (schéma 1.4).

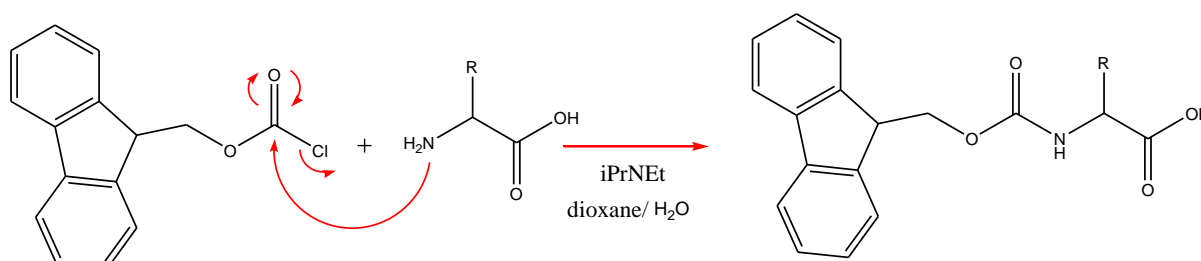


Schéma 1.4 : Mécanisme de protection par le Fmoc.

Sous des conditions acides, le groupe (Fmoc) reste stable et est résistant à l'hydrogénation catalytique. Cependant, son clivage se produit sous des conditions basiques douces avec l'aide d'une base telle que la pyridine, la morpholine, l'ammoniac, l'éthanol amine ou encore le 4-(aminométhyl)Pipéridine. On peut le réaliser en présence d'un ester benzylique¹³. Le schéma de déprotection du groupe Fmoc en utilisant une amine tertiaire est le suivant (schéma 1.5) :

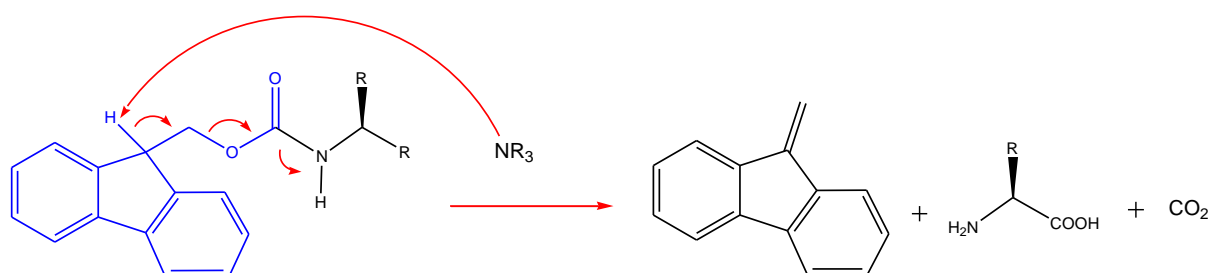


Schéma 1.5 : Mécanisme de déprotection du Fmoc.

- **Le Benzyloxycarbonyle (Cbz) ou Z :**

Le Z est parmi les premiers groupements de protection employés dans la synthèse peptidique. Suggéré par Zervas et Bergman en 1932¹⁴. L'introduction d'un acide aminé ou d'un peptide est effectué à partir du chloroformate de benzyle en utilisant les conditions de Schotten-Baumann.¹⁵ (Schéma 1.6)

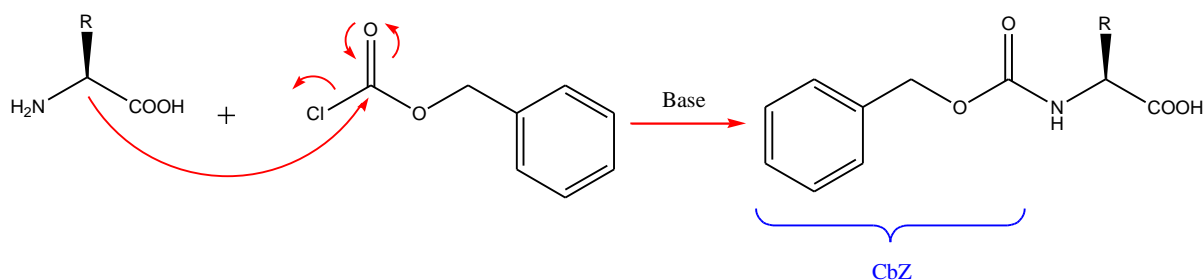


Schéma 1.6 : Mécanisme de la protection par CbZ.

Les Z-aminoacides conservent leur stabilité en milieu basique, se comportent comme des nucléophiles et présentent une acidité faible. Le Z est clivé par hydrogénolyse catalytique (méthode A), par l'utilisation de sodium dans l'ammoniac liquide (méthode B) ou par l'acide bromhydrique 6N dans l'acide acétique (méthode C) (schéma 1.7).

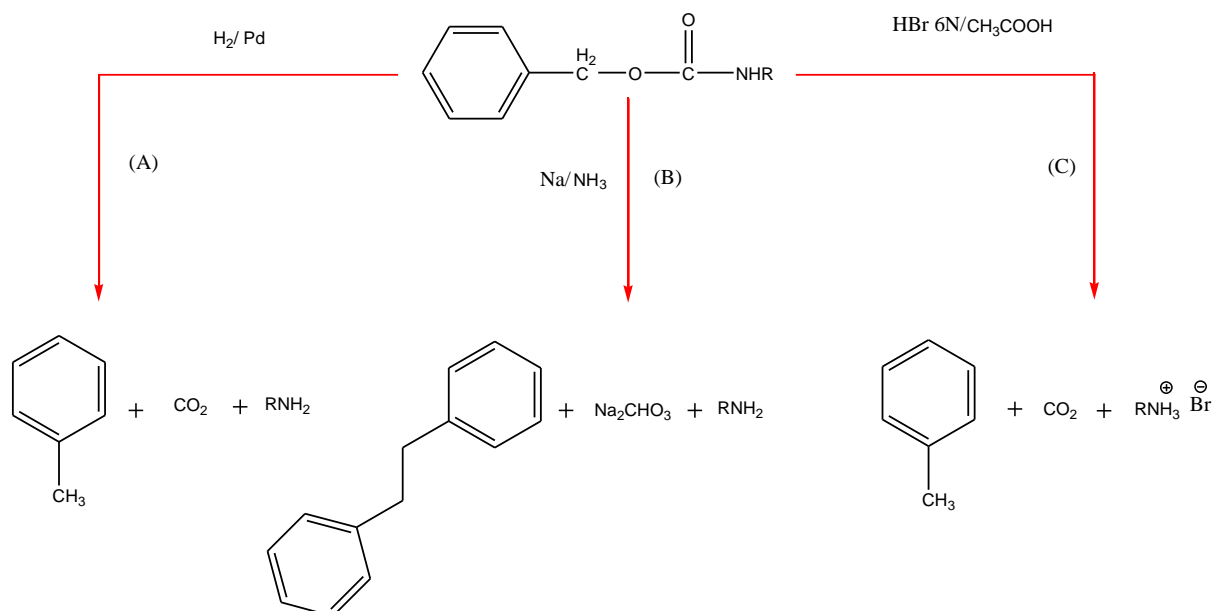


Schéma 1.7 : Les conditions de clivage du groupe Cbz.

I.2.1.2 Protection de la fonction acide carboxylique :

Il existe plusieurs techniques pour protéger la fonction acide carboxylique.^{16, 17}

a) Esters de méthyle et d'éthyle :

Ils sont couramment utilisés en synthèse peptidique et leur préparation s'effectue en présence de chlorure de thionyle dans du méthanol ou de l'éthanol à une température basse. Ils sont aussi préparés à chaud dans le MeOH ou l'EtOH en employant une catalyse acide. Ils présentent une stabilité en environnement acide et se saponifient aisément en milieu alcalin^{18, 19} (figure 1.5).

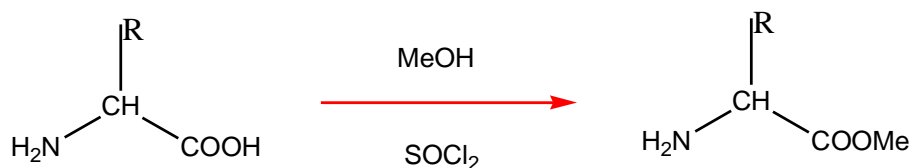


Figure 1.5 : Protection par l'ester méthylique.

b) Esters de tertio- butyle :

Les esters de t-butyle sont produits à partir de l'iso-butène sous pression et en milieu acide, et ils présentent une stabilité relative en milieu basique (figure 1.6).

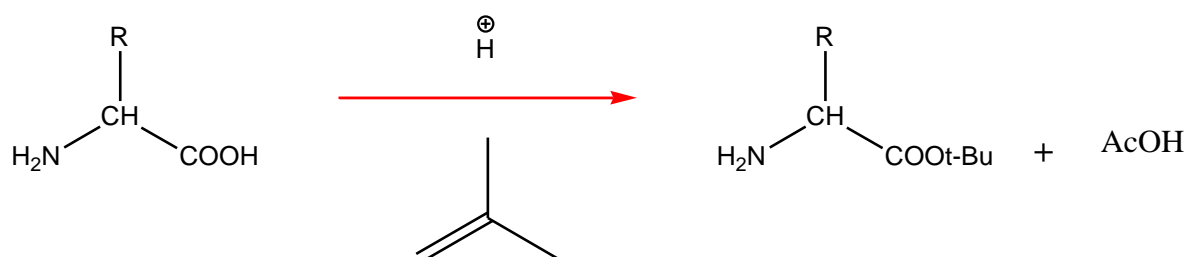


Figure 1.6: Protection par tert-butyle.

c) Esters de benzyle (Bzl) :

Ils sont aussi largement utilisés dans la synthèse peptidique. Ils sont élaborés directement à partir de l'alcool benzylique dans le benzène, en présence d'un catalyseur acide. Leur déprotection s'effectue par hydrogénation catalytique (figure 1.7).

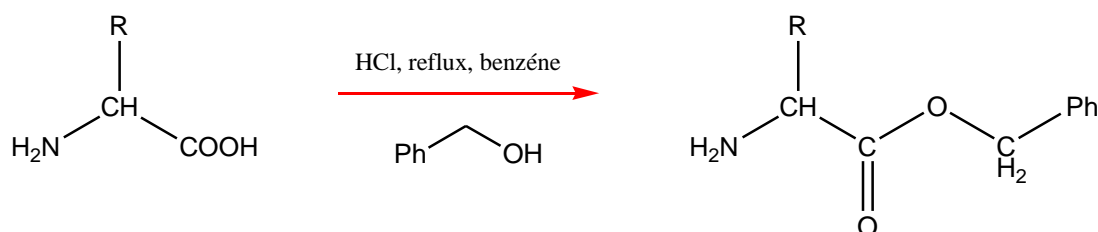


Figure 1.7 : Protection par la BZL.

d) Amidation :

L'amidation est une réaction chimique qui convertit le groupe carboxyle (-COOH) d'un acide aminé en un groupe amide (-CONH₂), permettant ainsi de protéger la fonction acide lors de diverses transformations chimiques²⁰. Ce mécanisme implique la réaction entre l'acide aminé et une amine, entraînant la déshydratation et l'élimination d'une molécule d'eau. Les amides résultants présentent une stabilité accrue et une réactivité réduite par rapport aux acides carboxyliques, offrant ainsi une sélectivité améliorée dans les réactions avec d'autres groupes

fonctionnels. De plus, ces amides peuvent être hydrolysés pour régénérer le groupe carboxyle²¹(figure 1.8).

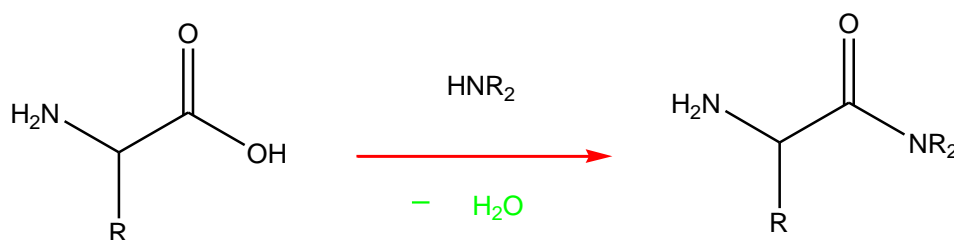


Figure 1.8 : Protection par amidation.

I.2.2 Méthodes et agents de couplage peptidique :

Méthodes et agent de couplage peptidique fait référence à la liaison d'acides aminés pour former une fonction amide. Pour réaliser le couplage, la fonction acide carboxylique de l'acide aminé N-protégé peut être activée de diverses manières en utilisant un agent de couplage²²(Schéma 1.8).

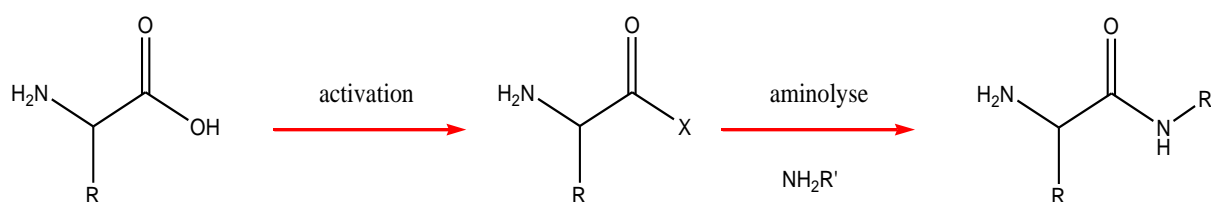


Schéma 1.8 : Activation de la fonction acide carboxylique.

Différentes procédures de couplage peptidique sont employées ; nous nous limitons aux méthodes les plus utilisées :

a) Méthodes des halogénures d'acyles :

➤ Chlorures d'acyles

Les chlorures d'acyles, souvent produits par la réaction du SOCl_2 ²³, du (COCl_2) ²⁴, du PCl_3 , du POCl_3 ou du PCl_5 ²⁵ constituent d'excellents agents de couplage. Toutefois, leur utilisation en synthèse peptidique sur phase solide est plutôt limitée en raison de leur instabilité à température ambiante. (Schéma 1.9).

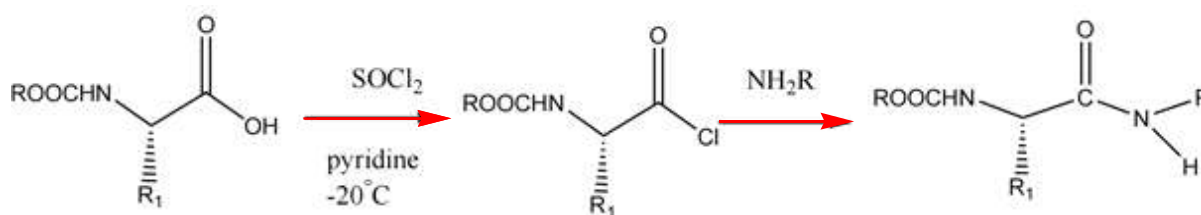


Schéma 1.9 : Mécanisme de formation de chlorure d'acyle à l'aide de chlorure de thionyle.

Un des principaux inconvénients de cette technique est la production de HCl qui facilite la déprotection de certains groupes protecteurs, comme c'est le cas pour les composés protégés par le Boc.

➤ *Autres halogénures d'acyle*

Les dérivés fluorés sont aussi employés pour activer la fonction acide ; ils se comportent de la même façon que les chlorures d'acyle lors des réactions. En revanche, ils réagissent vivement aux amines et sont des intermédiaires essentiels dans le domaine de la chimie des peptides^{26 27} (Schéma 1.10).

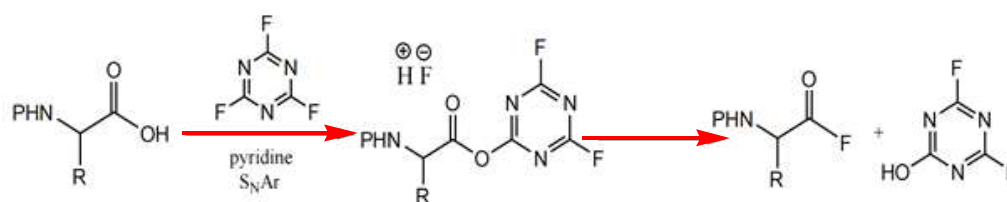


Schéma 1.10 : Formation du fluorure d'acyle.

b) Méthodes des acylazides :

➤ *Réaction de Curtius*

Curtius a développé la première réaction de couplage qui respecte la chiralité des acides aminés^{28 29}. Cependant, cette méthode n'a pas une grande importance en raison de sa lenteur et de la création d'un grand nombre de produits secondaires^{30 31} (Schéma 1.11).

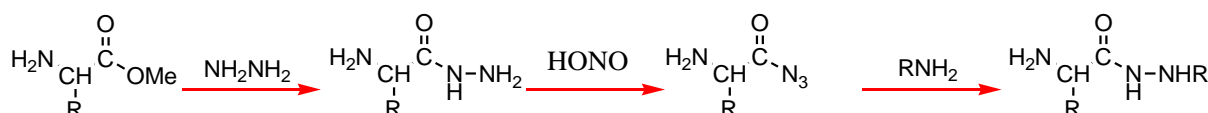


Schéma 1.11 : Préparation des acylazides.

c) Méthode des sels de phosphonium :

Le réactif le plus célèbre est l'hexafluorophosphate de benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)-phosphonium, ou BOP, développé par Castro et son équipe. Durant le

processus de couplage, une substance potentiellement cancérigène appelée (HMPT) est libérée. Ainsi, l'emploi du BOP est interdit pour tout produit destiné à un usage thérapeutique³² (Schéma 1.12).

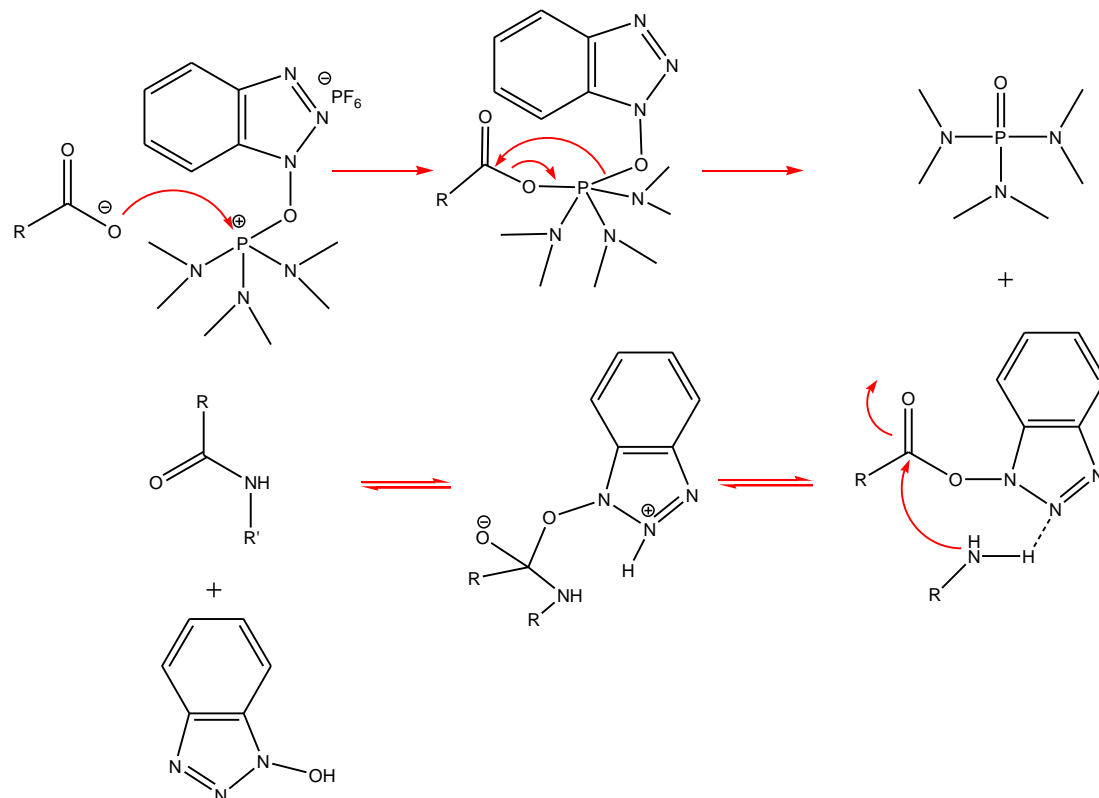


Schéma 1.12 : Méthode de couplage par BOP.

On peut le substituer par divers autres agents, tels que le tétrafluoroborate de 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium (TBTU), ou encore le 2-(1H-azabenzotriazol-1-yl).Tétraméthyluronium-1,1,3,3-HAUT³³ (Figure 1.9).

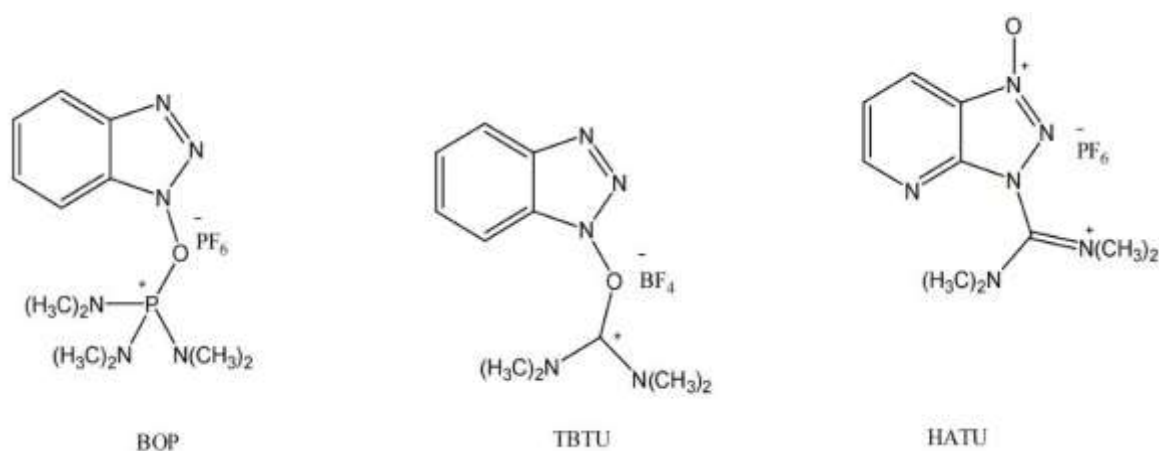


Figure 1.9 : Structures de BOP, TBTU et de HATU.

Les approches TBTU et HATU sont simples à appliquer, sans nécessiter de mesures particulières, et permettent d'obtenir des rendements satisfaisants avec des produits bruts plutôt purs³⁴.

d) Méthodes des anhydrides :

Cette technique emploie les anhydrides comme réactifs intermédiaires, c'est la méthode la plus performante et écologique pour effectuer des couplages peptidiques. Cette procédure utilise deux catégories d'agents : les anhydrides mixtes et les anhydrides symétriques.

- **Les anhydrides mixtes**

- **Les chloroformiates :**

Le chloroformiate d'isobutyle (ICF) est le plus fréquemment utilisé. En présence d'un acide carboxylique et d'une base telle que la N-méthyl morpholine (NMM), il se forme un anhydride mixte. Ce dernier n'a pas à isolés et interagit sur place avec la fonction amine³⁵(Schéma1.13).

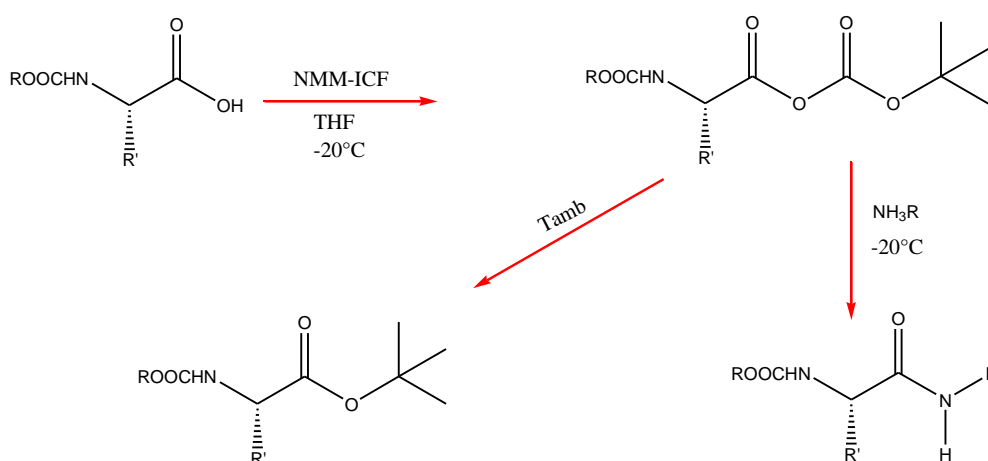


Schéma 1.13 : Méthode de couplage par ICF.

C'est une technique de couplage efficace et propre qui requiert une température basse (-20°C) pour la stabilité des anhydrides. Pour des températures plus élevées, on constate la création irréversible d'esters.

- **Les anhydrides symétriques :**

- **Les carbodiimides :**

Dans la synthèse peptidique, les carbodiimides jouent un rôle crucial en tant qu'agents de couplage.³⁶ Le dicyclohexylcarbodiimide (DCC), qui est le plus connu, crée une urée qui n'est pas soluble dans l'eau]. Cependant, on peut parfois substituer le DCC par le 1-éthyl-3-(3'-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDC)], dont l'urée formée est soluble dans l'eau et peut être éliminée par lavage^{37 38}(Figure 1.10).

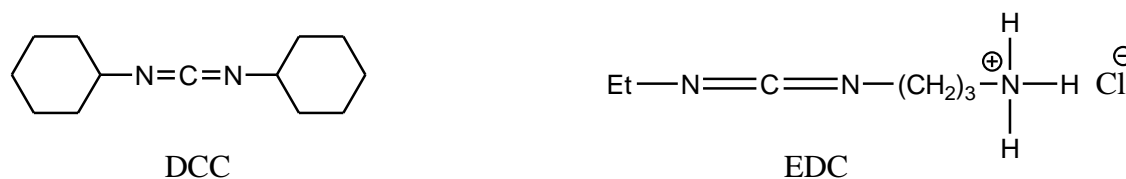


Figure 1.10 : Structures de DCC et EDC.

De nombreuses techniques de couplage impliquent l'utilisation de carbodiimides. La présence de deux équivalents d'acide aminé N-protégé avec le DCC mène à la formation d'anhydrides symétriques^{39, 40} Ces derniers agissent comme des intermédiaires hautement réactifs. Cette approche s'avère très efficace. Toutefois, Elle a le désavantage de requérir deux équivalents d'acide aminé^{41 42}(Schéma 1.14).

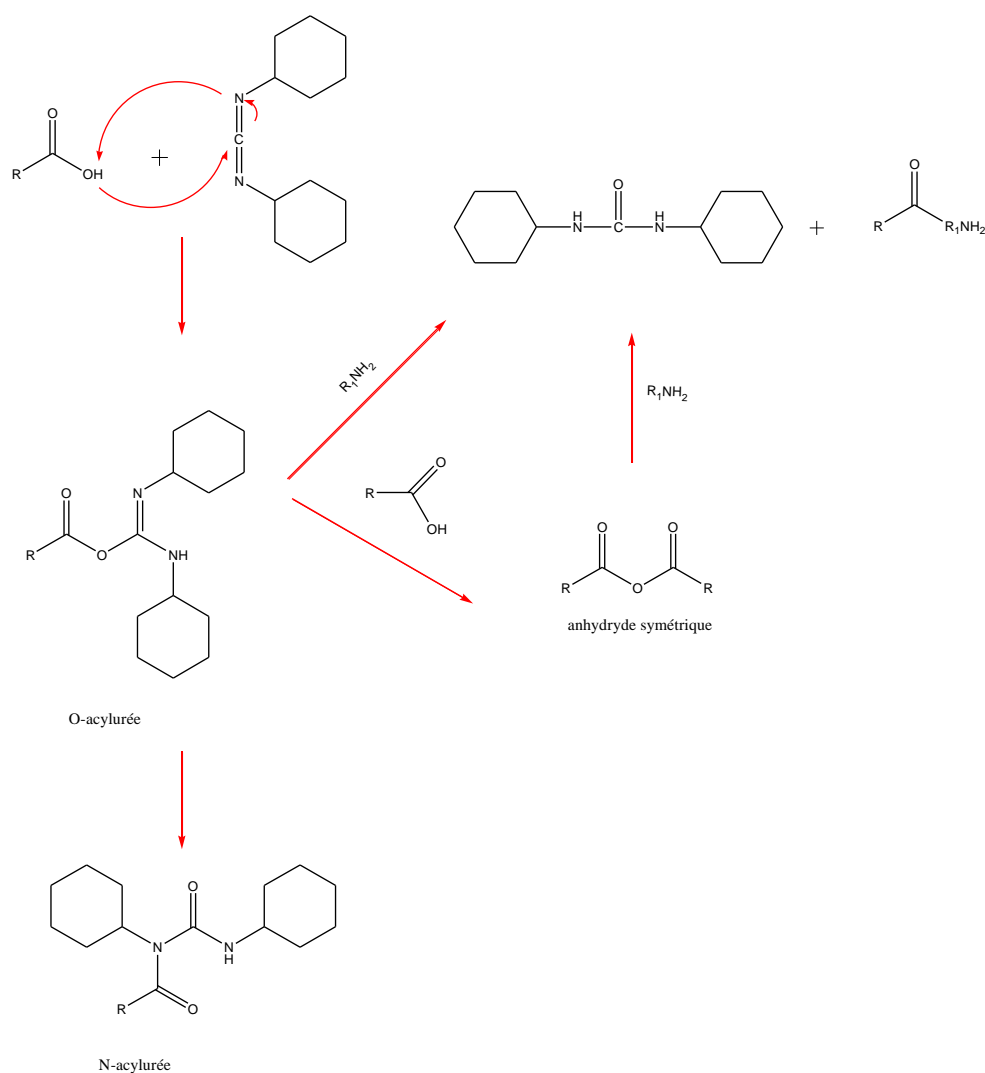


Schéma 1.14 : Couplage par DCC.

De plus, l'introduction de composés tels que le N-hydroxy-benzotriazole (HOBt) élimine la réaction secondaire, parce que le HOBt interagit avec l'O-acylurée dès sa création pour produire des intermédiaires moins réactifs (Schéma 1.15).

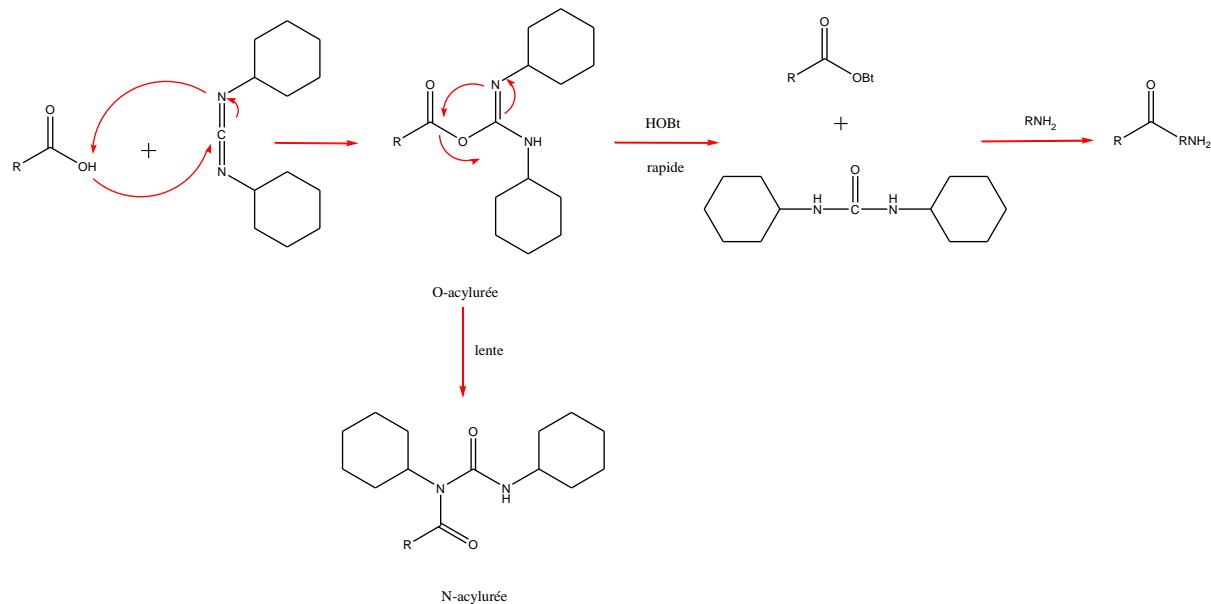


Schéma 1.15 : Utilisation d'HOBt pour minimiser la formation de N-acylurée.

I.3 Les peptides :

I.3.1 Généralités :

Les peptides, plus petits que les protéines (moins de 100 acides aminés), sont plus faciles à produire chimiquement. Partageant la même composition que les protéines, ils peuvent les remplacer dans certaines fonctions biologiques. Leur fort potentiel thérapeutique réside dans leur capacité à cibler précisément des molécules à de faibles concentrations. De plus, ils sont rapidement absorbés et dégradés en acides aminés, limitant les risques de toxicité. Cependant, cette dégradation rapide peut réduire leur durée d'action. D'autres obstacles à leur utilisation incluent leur coût de production élevé et leur instabilité dans l'organisme, imposant des modes d'administration complexes. Malgré ces défis, leurs avantages et leur caractère novateur en font des molécules d'intérêt majeur pour l'industrie pharmaceutique.

I.3.2 Définition :

Les peptides sont des assemblages d'au moins deux acides aminés, unis par des liaisons peptidiques (type amide) pour former des chaînes polypeptidiques. Ces chaînes, lorsqu'elles sont suffisamment longues et structurées, constituent les protéines, des acteurs moléculaires clés aux fonctions biologiques variées dans l'organisme. La diversité des 20 acides aminés permet une infinité de séquences peptidiques, engendrant une vaste gamme de peptides et de protéines aux rôles spécifiques.

I.3.3 La liaison amide :

La liaison peptidique est de type amide. Elle résulte de la réaction de condensation, entre le groupe amine d'un AA_1 et le groupe acide carboxylique d'un AA_2 en libérant une molécule d'eau²². (Figure 1.16).

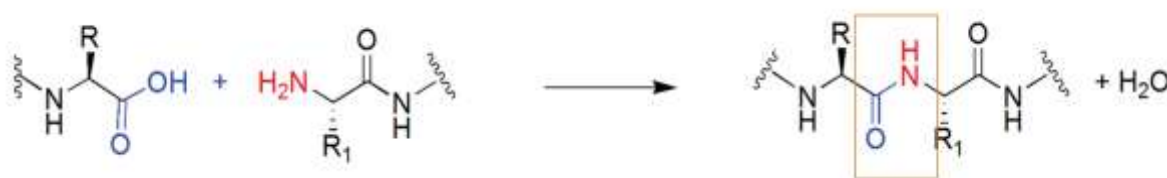


Schéma 1.16 : Les acides aminés s'unissent par des liaisons peptidiques.

La délocalisation du doublet électronique de l'azote vers le carbonyle est à l'origine de la structure singulière de la liaison peptidique. Cette résonance entre formes mésomères confère un caractère partiel de double liaison à la liaison C-N et conduit à une hybridation sp^2 de l'azote.

Il en résulte une disposition coplanaire des atomes C, O, N et H impliqués dans la liaison⁴³(Figure 1.11).



Figure 1.11 : Formes mésomères de la liaison amide.

La longueur intermédiaire de la liaison peptidique (1,33 Å), entre celle d'une liaison simple C-N (1,47 Å) et d'une double C=N (1,28 Å), est une conséquence directe de sa nature de la liaison partiellement double. Cette caractéristique structurale se traduit par une absence de libre rotation, favorisant la configuration *trans* (carbones $C\alpha$ opposés) pour minimiser l'encombrement stérique. La configuration *cis* est rare, sauf lorsqu'elle précède une proline, où elle représente environ 10% des cas⁴⁴(Figure 1.12).



Figure 1.12 : Configuration *cis* et *trans* de la liaison amide.

I.3.4 Propriétés physico-chimiques des peptides :

I.3.4.1 Propriétés physiques des peptides :

- **Solubilité des peptides :**

La solubilité des peptides dépend de leur composition en acides aminés et de l'environnement. Les peptides contenant des résidus polaires sont généralement solubles dans l'eau, tandis que ceux riches en acides aminés hydrophobes tendent à s'agréger. L'utilisation de solvants organiques, d'agents chaotropes et l'ajustement du pH peuvent améliorer la solubilité des peptides hydrophobes⁴⁵.

- **Point isoélectrique (pI) et comportement électrochimique :**

Le pH isoélectrique (pI) d'un peptide correspond au pH, où sa charge globale est nulle. Il est défini par les valeurs de pKa des groupes qui peuvent s'ioniser, notamment : le groupe α -amine (NH^+ , pKa approximativement 9), le groupe α -carboxyle (COOH , pKa approximativement 2), les chaînes latérales susceptibles de s'ioniser (par exemple, le pKa est environ 4 pour l'aspartate/glutamate et entre 10 et 12 pour la lysine/arginine)⁴⁶.

Le pH joue un rôle déterminant dans la migration des peptides lors de l'électrophorèse et leur élution lors de la chromatographie d'échange d'ions.⁴⁷.

I.3.4.2 Propriétés chimiques des peptides :

- **Ponts disulfures structuraux :**

La formation des ponts disulfures, catalysée par la protéine disulfure isomérase, stabilise la structure peptidique en réduisant l'entropie conformationnelle et augmentant l'énergie de dénaturation. La réaction présente une constante de vitesse de 10^3 - $10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ et un potentiel redox de -180 mV pour le couple cystine/cystéine (Figure 1.13).

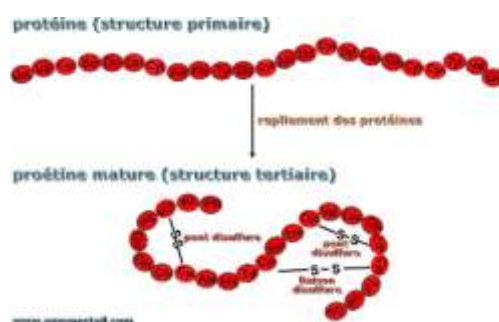


Figure 1.13 : Ponts disulfures structuraux.

1. Réactions d'identification liés à la présence simultanée des groupements COOH et NH_2 :

- **Réaction à la Ninhydrine :**

La ninhydrine, un oxydant puissant, réagit en excès et à chaud avec tous les acides aminés, pour donner une coloration bleu violacé ou jaune dans le cas des iminoacides. La réaction se fait en deux étapes :

- Etape 1 : Réduction de la ninhydrine qui s'accompagne d'une désamination, suivie d'une décarboxylation de l'acide aminé (figure 1.14).

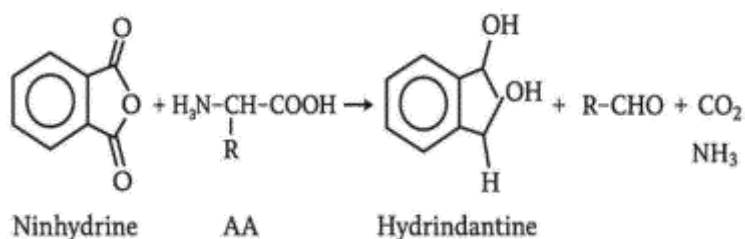


Figure 1.14 : Réduction de la ninhydrine

- Etape 2 : La molécule de NH₃ produite réagit à son tour avec le produit de réduction et une seconde molécule de ninhydrine pour donner le composé coloré appelé « pourpre de RUHEMANN » qui absorbe à 570 nm et 440 nm pour le composé formé avec les iminoacides (Figure 1.15).

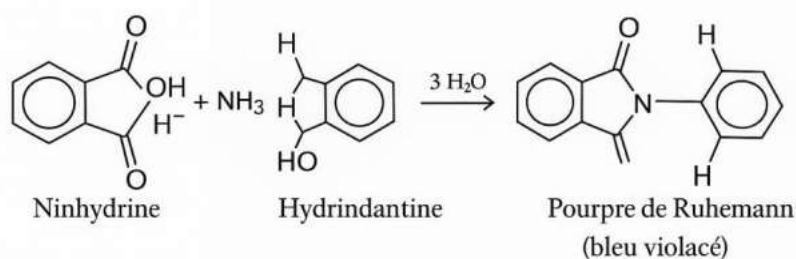


Figure 1.15 : Formation de la poudre de Ruhemann.

• Réaction de Biuret :

La liaison peptidique est une réaction en utilisant une solution alcaline de sulfate de cuivre à une solution de protéines, qui entraîne la formation d'un complexe entre l'ion cuivrique et les liaisons peptidiques, observée par une violette couleur à 540 nm. (Figure 1.16).

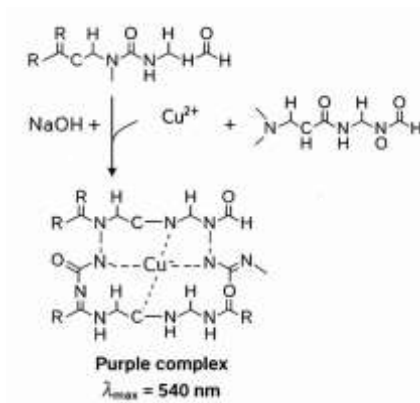


Figure 1.16 : Réaction de Biuret.

2. Réaction d'identification liée au groupement NH_2 :

Le groupement NH_2 possède un doublet libre et constitue, sous sa forme non protonée, un nucléophile puissant.

Exemple : En milieu acide et en présence d'un aldéhyde (R-CHO) : le tryptophane est oxydé pour donner une base de Schiff (figure 1.17).

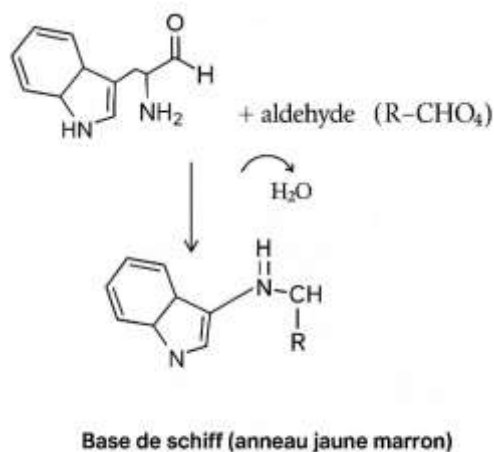


Figure 1.17 : Base de Schiff.

3. Réaction d'identification liée à la chaîne latérale « R » :

- **Réaction xanthoprotéine :**

Elle est caractéristique des noyaux aromatiques des aminoacides libres et des résidus amino-acyls aromatiques des peptides et protéines.

L'acide nitrique (HNO_3) réagit sur les cycles aromatiques formant des dérivés nitrés jaunes.⁴⁸

I.3.5 Avantages des peptides :

Les peptides présentent plusieurs bénéfices comparés aux petites molécules qui sont à la base des médicaments conventionnels :

1. Ils constituent souvent la plus petite unité fonctionnelle d'une protéine, offrant ainsi une efficacité, une sélectivité et une spécificité que les concepteurs de petites molécules éprouvent des difficultés à atteindre
2. les peptides se décomposent en acides aminés, réduisant considérablement le potentiel de toxicité et d'interactions médicamenteuses⁴⁹.
3. les peptides ont tendance à s'accumuler faiblement dans les tissus du fait de leur courte demi-vie, ce qui, bien qu'il soit un inconvénient en termes de longévité d'action, est également vrai ⁵⁰.

I.3.6 Limitations des peptides :

1. Les peptides, étant hydrophiles, ont un poids moléculaire important et une pénétration cutanée passive, mais leur faible capacité de pénétration n'a pas été détectée dans les modèles animaux au-delà de l'épiderme.
2. Les peptides, qui sont vite décomposés par les enzymes digestives et plasmatiques, voient leur efficacité diminuée lorsqu'ils sont pris par voie orale. Ils sont également promptement éliminés par le foie et les reins, ce qui nécessite généralement des injections répétées pour une administration parentérale.
3. Les peptides sont susceptibles à la dénaturation, l'aggrégation et l'adsorption, ce qui restreint leur concentration active et leur fonctionnalité dans le corps.
4. Il est possible que certains peptides déclenchent des réponses immunitaires, y compris des réactions allergiques, bien que les peptides de petite taille (<3,5 kDa) aient une faible propension à sensibiliser.
5. La fabrication chimique des peptides est onéreuse, généralement plus de dix fois plus que celle des petites molécules de poids équivalent.
6. L'importante flexibilité conformationnelle des peptides peut conduire à une absence de sélectivité envers leurs récepteurs cibles, ce qui peut engendrer des effets indésirables.⁵¹.

I.3.7 Application des peptides contenant alanine et leucine dans divers domaines :

- Synthèse peptidique et chimie organique :

La leucine et l'alanine, deux acides aminés chiraux couramment employés dans la synthèse peptidique, sont souvent utilisés pour élaborer des peptides et des protéines aux caractéristiques spécifiques. L'intégration de ces éléments permet de contrôler la structure, la conformation et la fonctionnalité des peptides synthétiques, en particulier grâce à l'utilisation de protections chimiques spécifiques au cours du processus de synthèse.

- **Applications thérapeutiques :**

Les composés thérapeutiques sont élaborés à partir de dérivés d'acides aminés tels que la leucine et l'alanine. Par exemple, on utilise certains peptides qui renferment ces acides aminés pour élaborer des traitements ciblant des voies biologiques précises, en raison de leur aptitude à interagir avec des enzymes ou des récepteurs.^{52 53}.

- **Nutrition et santé :**

L'acide aminé essentiel à chaîne ramifiée (BCAA), la leucine, est déterminant dans la synthèse des protéines musculaires, la gestion du métabolisme énergétique et la récupération musculaire. Ainsi, les peptides à base de leucine jouent un rôle primordial dans les suppléments nutritionnels pour sportifs et la micronutrition, en contribuant à la santé des muscles et du métabolisme. L'alanine participe aussi à la synthèse des protéines et au métabolisme énergétique⁵⁴.

- **Biotechnologie et Recherche Scientifique :**

Les peptides enrichis en alanine et en leucine sont largement utilisés comme modèles en biochimie structurale et en biophysique, en raison de leur capacité à former des structures secondaires stables comme les hélice α . Ces séquences permettent d'explorer le mécanisme de repliement protéique, les interactions hydrophobes et la stabilité conformationnelle des peptides⁵⁵.

En outre, ils servent de base à la conception de peptides bioactifs ou mimétiques de protéines naturelles, utilisés pour étudier la voie de signalisation cellulaire, la liaison aux récepteurs membranaires ou encore l'interférence avec des enzymes spécifiques.

- **Cosmétologie avancée :**

Même si les informations sont moins précises pour l'alanine et la leucine, on peut incorporer des peptides contenant ces acides aminés dans des préparations cosmétiques en raison de leurs

caractéristiques structurantes et régénératrices, favorisant ainsi la production de collagène et la réparation de la peau.

I.4 Les protéines :

I.4.1 Généralités :

Les macromolécules appelées protéines sont indispensables à la structuration et au fonctionnement des êtres vivants, qu'il s'agisse de cellules procaryotes ou eucaryotes. Les protéines constituent plus de la moitié du poids sec d'une cellule, elles sont donc le composant prédominant des organismes vivants. Elles jouent un rôle dans divers processus biologiques et disposent d'une gamme de fonctionnalités très diversifiée. Effectivement, les protéines sont essentielles pour le stockage, la catalyse, la structuration, le transport, la défense et le contrôle de l'expression des gènes. On compte 22 acides aminés protéinogènes, dont 20 sont utilisés de manière universelle. C'est l'arrangement des acides aminés qui détermine le repliement des protéines, offrant ainsi un large éventail de conformations spécifiques et compactes, stabilisées par des interactions au sein de la molécule. Les configurations tridimensionnelles des groupes fonctionnels, principalement influencées par les chaînes latérales, sont responsables de la création des sites actifs et déterminent donc les propriétés spécifiques de chaque protéine⁵⁶.

I.4.2 Définition :

Les protéines sont des macromolécules biologiques de masse moléculaire considérable, composées d'un ensemble limité de 20 types d'acides aminés distincts, libérés lors de leur hydrolyse. Ces biomolécules polyvalentes exercent une multitude de fonctions cruciales au sein des systèmes vivants, parmi lesquelles les enzymes constituent la classe la plus étendue et biologiquement significative.

I.4.3 Composition et Classification des Protéines :

1. Selon leurs compositions :

Selon leur composition chimique, les protéines sont classées en deux groupes principaux :

- **Les holoprotéines :** dont l'hydrolyse acide produit exclusivement des acides aminés simples.

Les hétéroprotéines : quant à elles, libèrent lors de leur hydrolyse, en plus des acides aminés, d'autres molécules organiques ou inorganiques.

2. Selon leurs formes :

Selon la forme tridimensionnelle. On distingue ainsi deux grandes catégories :

- **Les protéines fibreuses :**

Se caractérisent par un rapport axial élevé (longueur/largeur > 10). Elles présentent une structure allongée. La fonction principale de ces protéines est souvent structurale ou de protection. Parmi les protéines fibreuses, on retrouve principalement les **kératines** et les **collagènes**.

- **Les protéines globulaires :**

Présentent un rapport axial plus faible, généralement compris entre 3 et 4. Elles adoptent une conformation tridimensionnelle compacte, sphérique ou globulaire. Leur fonction est majoritairement dynamique, comme illustré par les enzymes, les protéines de transport et les anticorps.

I.4.4 Conformation des chaînes polypeptidiques :

La conformation des protéines se construit en quatre étapes hiérarchiques :

1) Structure primaire (La séquence linéaire) :

C'est l'ordre précis des acides aminés liés par des liaisons peptidiques (figure 1.18).

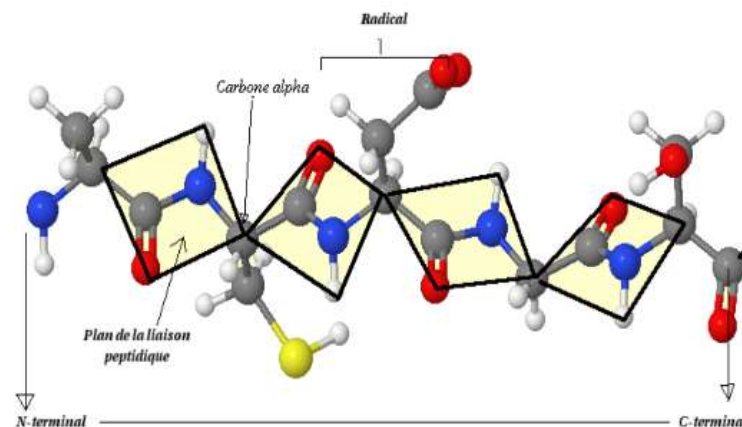


Figure 1.18 : Structure primaire du ala-cys-gly-ser

2) Structure secondaire (Les motifs locaux) :

C'est des formes régulières comme l'hélice alpha et le feuillet bêta, stabilisées par des liaisons hydrogène au sein du squelette peptidique⁵⁷(Figure 1.19).

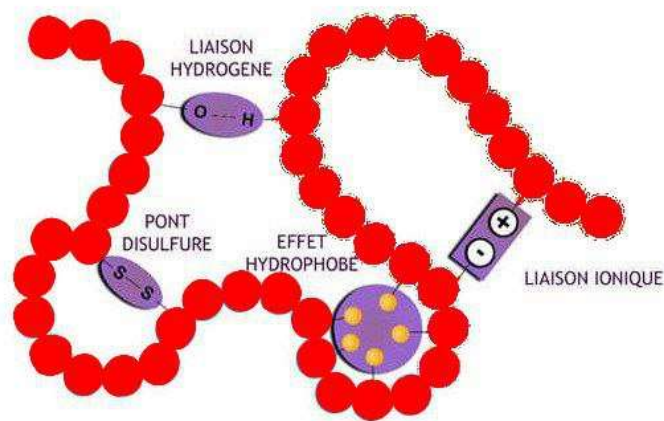


Figure 1.19 : Structure secondaire de la protéine

❖ Hélice α

Elle résulte de liaison hydrogène entre le groupe carbonyle ($-\text{CO}$) d'un acide aminé donné (position i) avec le groupe amide ($-\text{NH}$) d'un acide aminé situé quatre positions plus loin dans la chaîne ($i+4$)⁵⁸. Les chaînes latérales des acides aminés constitutifs sont orientées vers l'extérieur de l'hélice⁵⁹ (Figure 1.20).

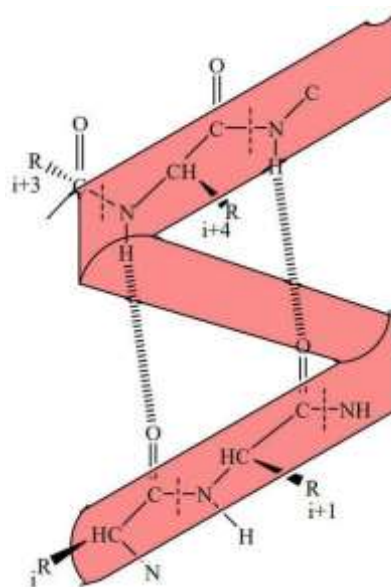


Figure 1.20 : Structure de protéine L'hélice α

❖ Le feuillet β

Représentent une forme d'organisation plissée où les liaisons hydrogène s'établissent transversalement entre des portions distinctes de la chaîne polypeptidique. Ces portions peuvent

être éloignées sur la même chaîne (liaisons intrachaînes) ou appartenir à des chaînes polypeptidiques différentes (liaisons interchaînes)⁶⁰.

On identifie deux types de feuillet bêta selon l'orientation relative des brins peptidiques qui les composent (Figure 1.21) :



Figure 1.21 : Structure du feuillet bêta

- **Feuillet bêta parallèle :**

les brins peptidiques voisins sont orientés dans la même direction (leurs extrémités N-terminales et C-terminales sont alignées)⁶¹(Figure 1.22).

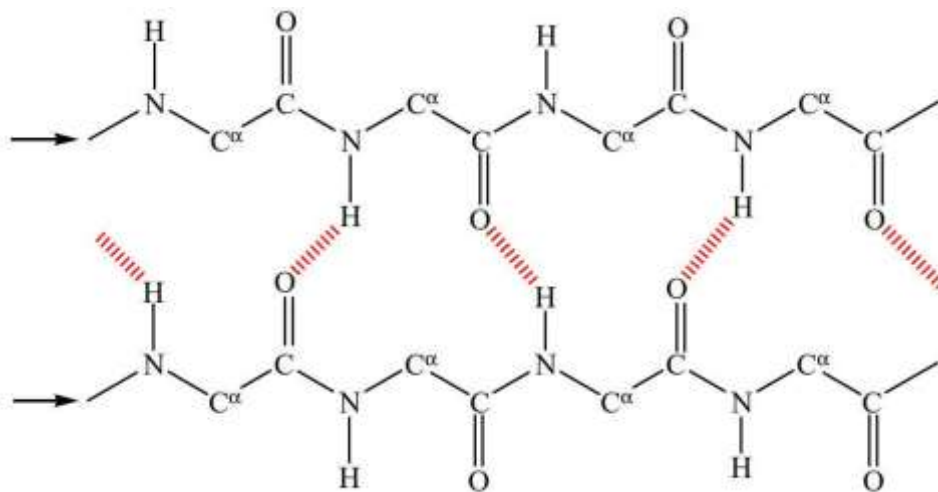


Figure 1.22 : Structure du feuillet bêta parallèle

- **Feuillet bêta antiparallèle :**

les brins peptidiques voisins sont orientés dans des directions opposées (l'extrémité N-terminale d'un brin est adjacente à l'extrémité C-terminale de l'autre)⁶²(Figure 1.23).

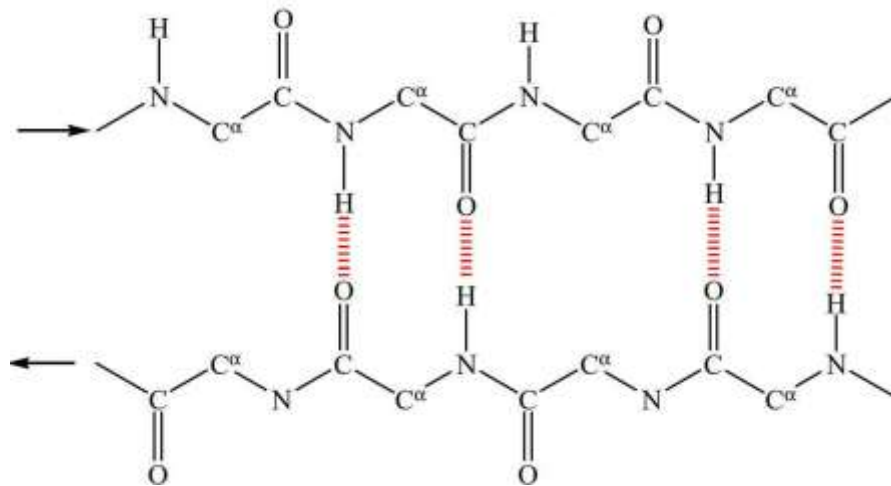


Figure 1.23 : Structure du feuillet bêta antiparallèle

3) Structure tertiaire (La forme 3D globale) :

Le repliement complet d'une seule chaîne polypeptidique dans l'espace, résultant des interactions entre les chaînes latérales des acides aminés (liaisons non covalentes et ponts disulfures). C'est la conformation fonctionnelle de nombreuses protéines (Figure 1.24).

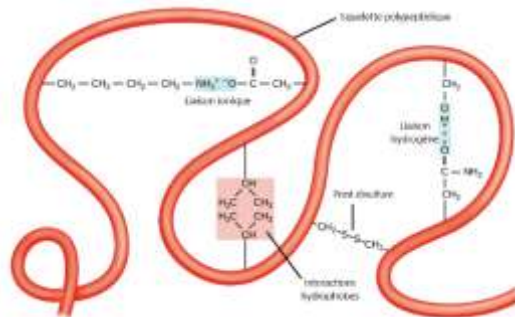


Figure 1.24 : Structure tertiaire de la protéine

4) Structure quaternaire (L'assemblage de sous-unités) :

L'association de plusieurs chaînes polypeptidiques (ayant chacune leur propre structure tertiaire) pour former une protéine fonctionnelle plus grande. Ces sous-unités sont maintenues ensemble par des liaisons non covalentes (Figure 1.25).

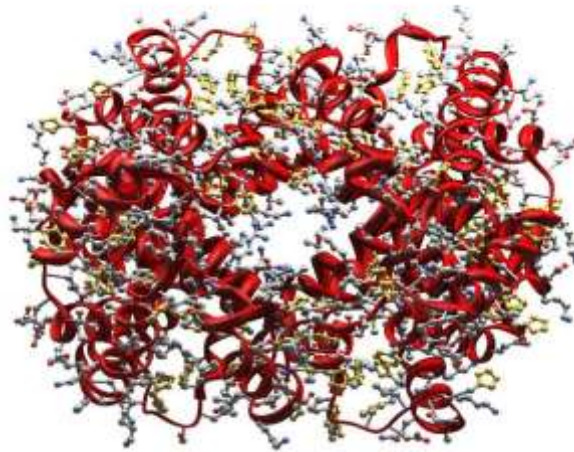
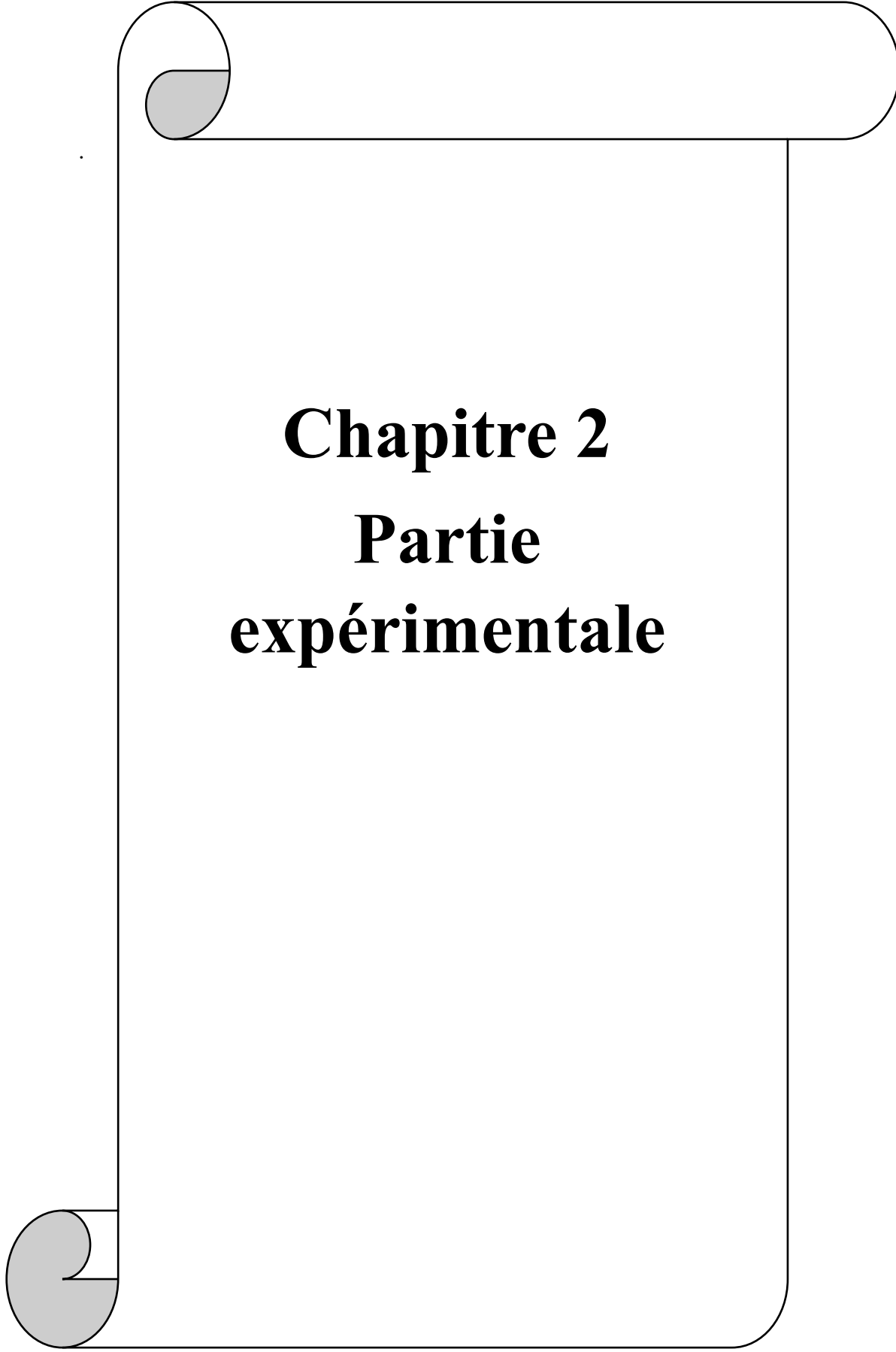


Figure 1.25 : Structure quaternaire de la protéine.

The background of the page is a stylized scroll. It features a horizontal bar at the top with rounded ends, and a vertical bar on the left side. The scroll is depicted with a light gray color and a black outline. The top-left corner of the scroll is rolled up, and the bottom-left corner is also rolled up, showing a darker gray interior. The text is centered within the main rectangular area of the scroll.

Chapitre 2

Partie expérimentale

Résumé

II.1 Introduction :

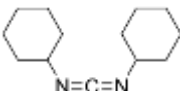
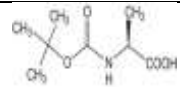
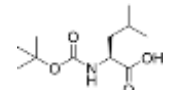

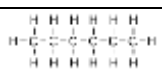
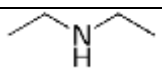
Dans cette partie, nous allons présenter les réactions de synthèse des acides aminés C-protégés par la méthode des anhydrides symétriques qui sera évaluée par deux critères : le rendement et la pureté des produits.

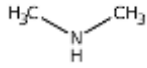
Cette méthode présente un intérêt écologique notable. En effet, elle limite l'utilisation de réactifs toxiques et la formation de sous-produits, ce qui fait d'elle une approche plus respectueuse de l'environnement.

II.2 Produits chimiques utilisés :

Ce tableau résume l'ensemble des produits chimiques utilisés au cours de notre travail expérimental (Tableau 2.1).

Tableau 2.1 : Produits chimiques utilisés.

Composé	Source	Structure	Formule brute	Masse molaire (g/mole)	T fusion (°C)	T ébullition (°C)
Dicyclohexylcarbodiimine (DCCl)	Sigma Aldrich		$C_{13}H_{22}N_2$	206,32	35 à 36	122 à 124
Boc-Ala-OH	Fulka		$C_8H_{15}NO_4$	189,21	79 à 83	—
Boc-Leu-OH	Fulka		$C_{11}H_{21}NO_4$	231,29	85 à 87	—
Tétrahydrofurane (THF)	Supelco		C_4H_8O	72,11	-108,5	66
Hexane	Supelco		C_6H_{14}	86,18	-95,3	68,73
Diéthyl amine	Sigma		$C_4H_{11}N$	73,14	19 à 21	534,2

Diméthyl amine	Prolabo		$(\text{CH}_3)_2\text{NH}$	45,08	-37 °C	54°C
----------------	---------	---	----------------------------	-------	--------	------

II.3 Le choix du groupement protecteur :

Le groupement protecteur BOC (tertiobutyloxycarbonyl) (figure 1) joue un rôle crucial dans la protection temporaire des groupes amines des acides aminés au cours de la synthèse peptidique.

Ce groupement, de nature uréthane, se caractérise par sa stabilité en milieu basique et sa solubilité dans la plupart des solvants organiques. L'introduction du BOC sur l'amine N-terminale de l'acide aminé permet de former une liaison stable, qui peut être clivée de manière sélective après la synthèse du peptide par acidolyse (figure 2.1).

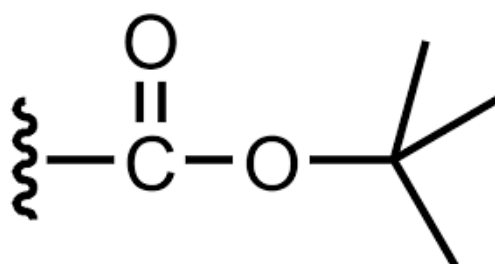


Figure 2.1 : Représentation du groupement tertibutyloxycarbonyl.

II.4 Agent et méthode de couplage :

Nous avons utilisé le N, N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCCI) (Figure 2) comme agent de couplage dans cette synthèse. Ce composé organique, de la famille des carbodiimides, facilite le couplage des acides aminés en activant leur fonction acide. En formant une O-acylurée comme intermédiaire stable à basse température. En présence d'excès d'acide aminé, la O-acylurée est transformée en anhydride symétrique stable aussi à basse température (figure 2.2)

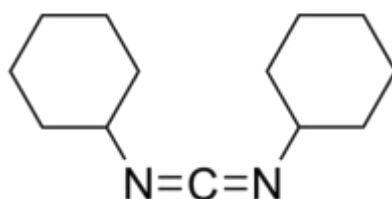


Figure 2.2 : Représentation de la structure du dicyclohexylcarbodiimide.

II.5 Les acides aminés N-protégés utilisés :

❖ Le Boc-Ala-OH :

L'acide aminé Boc-Ala-OH est un acide aminé non essentiel, comportant un carbone asymétrique. Il se distingue par une chaîne latérale R méthyle (CH_3).

La partie N-terminale est protégée par le groupement Boc. La partie C-terminale est libre (figure 2.3).

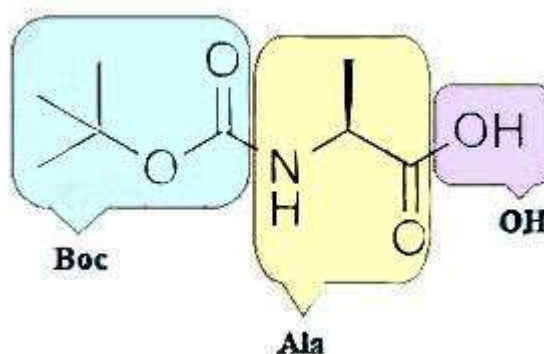


Figure 2.3 : Représentation de la structure de l'acide aminé Boc-Ala-OH.

❖ Le Boc-Leu-OH :

L'acide aminé Boc-Leu-OH est un acide aminé non essentiel, comportant un carbone asymétrique. Il se distingue par une chaîne latérale isobutyl ($(\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}_2$).

De même que pour l'alanine, la partie N-terminale est Boc -protégée. La partie C-terminale est libre (figure 2.4).

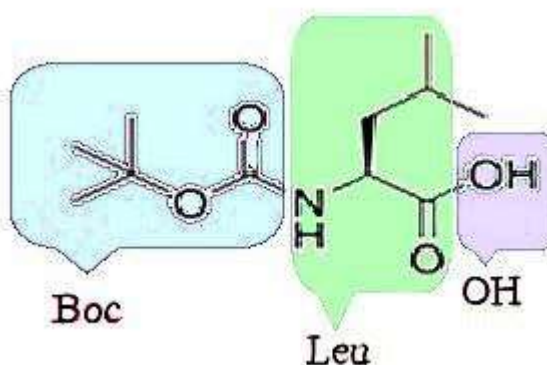


Figure 2.4 : Représentation de la structure de l'acide aminé Boc-Leu-OH :

II.6 Réactions de synthèse des acides aminés C-protégés :

II.6.1 Synthèse générale :

Dans un ballon de 100 ml, on introduit 2 éq de l'acide aminé noté Boc-AA-OH, qui est dissout dans du tétrahydrofurane (THF). Le mélange est agité à 0 °C jusqu'à dissolution complète. On ajoute alors le DCCI dans un rapport molaire (AA/DCCI) (2/1). Après 30 minutes d'agitation à 0 °C, l'amine secondaire (diéthylamine ou diméthylamine) est incorporée. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à 0 °C pendant 1h à 1h30, et à température ambiante pendant 72 heures.

Par la suite, le mélange est filtré pour éliminer la dicyclohexyl urée (DCU), un solide blanc insoluble dans le milieu réactionnel. Le solvant est ensuite évaporé du filtrat à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite. Le produit est récupéré sous forme d'huile, elle sera cristallisée dans le système THF/ Hexane. Les cristaux blancs du produit final sont séchés, pesés et analysés (figures 2.5 et 2.6).

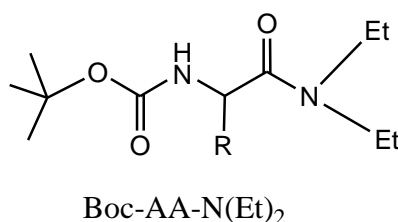


Figure 2.5 : Représentation de la structure du Boc-AA-N(Et)₂.

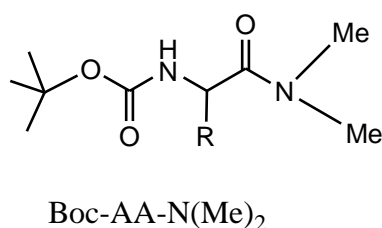
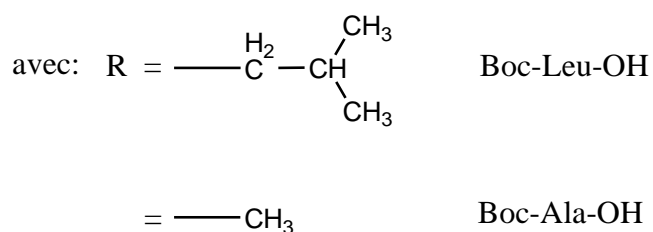


Figure 2.6 : Représentation de la structure du Boc-AA-N(Me)₂.



II.7. Méthodes utilisées et techniques d'identification :

II.7.1 Chromatographie sur Couche Mince (CCM) :

Principe : La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode d'identification, fondée sur leur distribution différentielle entre deux phases :

Phase stationnaire : C'est une couche mince d'un matériau adsorbant (la silice) fixée sur un support solide (plaque en aluminium).

Phase mobile (éluant) : Il s'agit de l'AcOEt pur et d'un mélange de (AcOEt : Hx / 50 :50) qui se déplace par capillarité à travers la phase stationnaire.

Le processus de séparation se déroule de la manière suivante :

- L'échantillon préalablement dissout dans le minimum de THF est déposé sur la phase stationnaire à l'aide d'un tube capillaire à un centimètre du bord inférieur de la plaque.
- La plaque est ensuite placée dans une cuve contenant la phase mobile.
- Les molécules qui ont une plus grande affinité pour la phase mobile se déplacent plus rapidement que celles qui préfèrent la phase stationnaire.

Cette différence de vitesse de migration permet d'identifier les composés en tâches distinctes sur la plaque. La position de chaque tâche est spécifique au composé dans les conditions expérimentales, facilitant son identification et son analyse (figure 2.9).

La révélation a été faite par l'iode et ceci consiste à exposer la plaque chromatographique à des cristaux d'iode, dont les vapeurs interagissent temporairement avec les composés organiques, formant des taches brunes visibles qui permettent leurs détections.

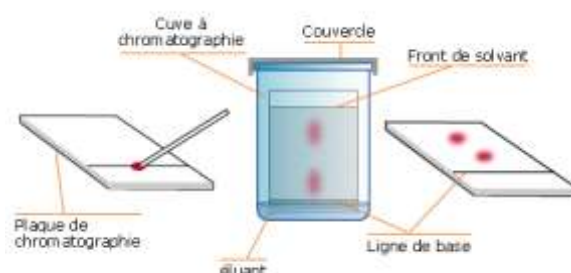


Figure 2.7 : La chromatographie sur couche mince (CCM).

II.7.2 Mesure du point de fusion :

Le point de fusion désigne la température à laquelle une substance se transforme de la phase solide à la phase liquide. Cette mesure est effectuée à une pression atmosphérique standard, car

à cette pression, les états solide et liquide peuvent coexister. La température de fusion représente une propriété essentielle de la matière.

Cela peut donc servir à identifier une substance ainsi qu'à évaluer sa pureté, car toute impureté influencera le point de fusion de la substance analysée. La température de fusion des substances cristallisées a été enregistrée à l'aide d'un fusiomètre appelé Scientific Melting Point Apparatus SMP3 (figure 2.10).



Figure 2.8 : Fusiomètre.

II.7.3 La spectroscopie infrarouge par transformée de Fourier :

La spectroscopie infrarouge est une méthode d'analyse rapide qui offre la possibilité d'identifier les groupes fonctionnels présents dans l'échantillon à analyser. Cette méthode repose sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge de 1 à 50 μm par l'échantillon. Cette gamme de fréquences est segmentée en infrarouge proche (1-2,5 μm) et infrarouge moyen (2,5-50 μm). L'infrarouge moyen sert à la reconnaissance des molécules organiques et a la capacité de conserver une sorte d'empreinte digitale.

On a caractérisé les produits obtenus en utilisant la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF), grâce à une appareil de marque SCHIMADZU (FTIR-8900).

Les échantillons ont été analysés sous forme de pastille, en broyant 3mg du produit à l'état de poudre mélangé avec 250 mg de bromure de potassium (KBr).

Le balayage a été réalisée entre 400 à 4500 cm^{-1} (figure 2.11).



Figure 2.9 : Appareil de spectroscopie FTIR.



Chapitre 3

Résultats et discussions

La synthèse d'un acide aminé N, C-protégés utilise les techniques classiques de synthèse peptidique, impliquant le choix des groupes protecteurs et des agents d'activation. Nous avons choisi de synthétiser des acides aminés de type Boc-AA-N(Et)₂ et Boc-AA-N(Me)₂. La-C protection a été effectuée à l'aide de la diéthylamine et de la diméthylamine, qui sont des amines secondaires. Ces amines protègent la partie acide en formant une liaison amide et miment également la partie N-terminale d'un acide aminé. Nous avons sélectionné la méthode des anhydrides, en utilisant le DCCI comme agent de couplage.

III.1. Réaction de synthèse Boc-Ala-N(Et)₂ :

Nous avons synthétisé des cristaux blancs de Boc-Ala-N(Et)₂ en procédant à la réaction de 2eq du Boc-Ala-OH avec NH(Et)₂ dans du THF à 0 °C, en utilisant le DCCI comme agent de couplage. Suite à la filtration du produit obtenu et à l'élimination du solvant, nous avons récupéré le Boc-Ala-N(Et)₂ sous forme d'huile qui est cristallisée dans le système (THF/Hx) par purification avec un rendement de 79,27 % (figure 3.1).

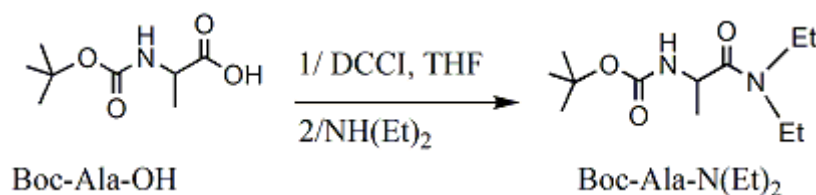


Figure 3.1 : Réaction de synthèse du Boc-Ala-N(Et)₂

❖ **Explication du Mécanisme :**

Tout d'abord, le doublet libre de l'oxygène de la fonction acide carboxylique de l'acide aminé Boc-Ala-OH se condense avec le carbone des carbodiimides, ce qui conduit à la formation d'un intermédiaire O-acyluré après un processus de prototropie. Par la suite, le doublet d'électrons de l'oxygène de la fonction acide carboxylique effectue une seconde attaque sur le carbone des carbodiimides, ce qui libère de la DCU et génère un autre intermédiaire. Ensuite, le doublet libre de la diéthylamine ($\text{NH}(\text{Et})_2$) se lie au carbone du carbonyle de l'anhydride. Le doublet de l'oxygène se replie sur la liaison, provoquant le départ du groupe partant. Suite à la déprotonation, le produit final, Boc-Ala-N(Et)₂, est obtenu, accompagné de la DCU comme produit secondaire (schéma 3.1).

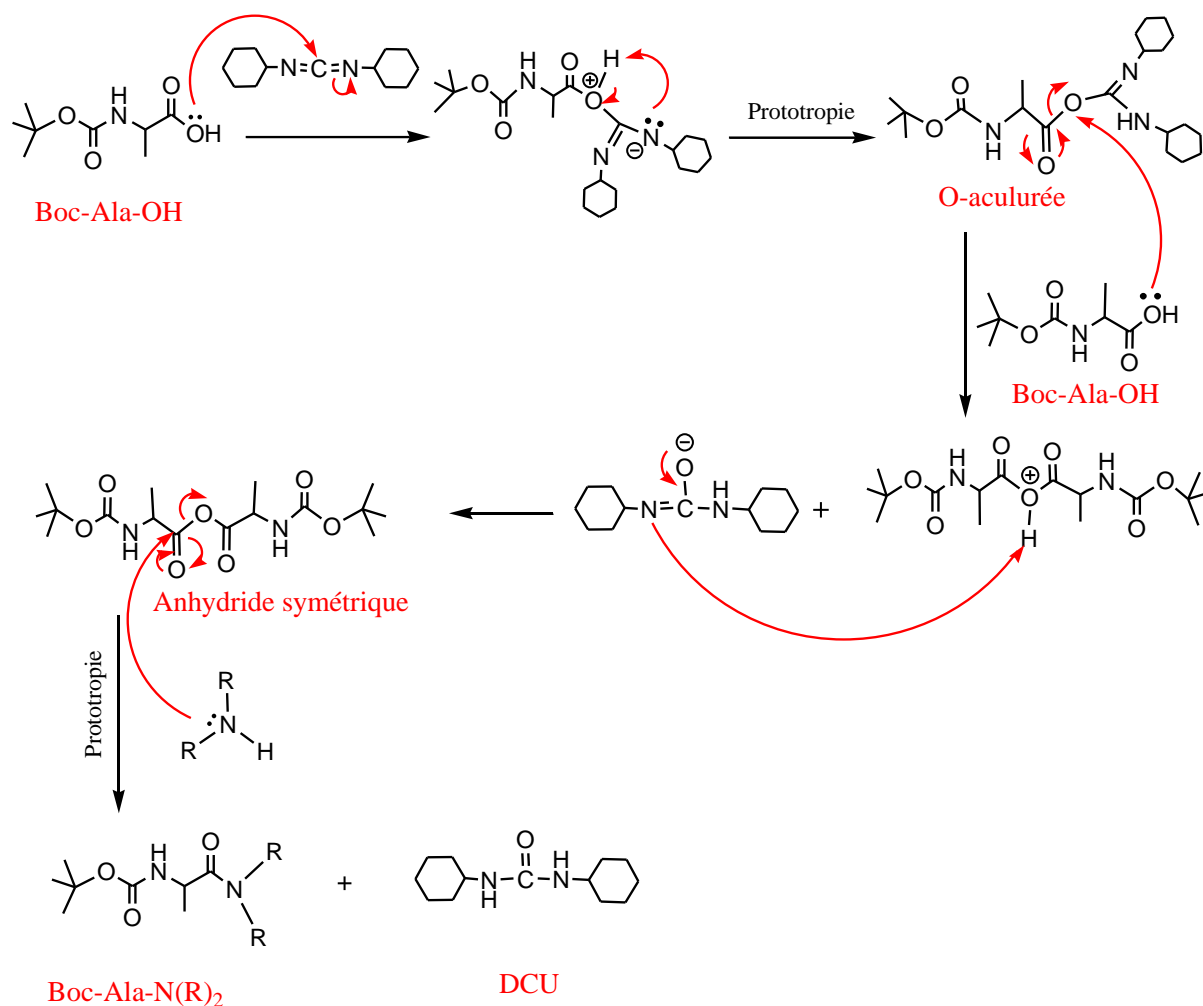


Schéma 3.1 : Mécanisme proposé pour la synthèse du Boc-Ala-N(R)₂.

avec: $R = \text{---}\overset{\text{H}_2}{\text{C}}\text{---CH}_3$ Boc-Ala-N(Et)₂

$= \text{---CH}_3$ Boc-Ala-N(Me)₂

III.1.1 Caractérisation de Boc-Ala-OH par FTIR :

Le spectre FTIR du Boc-Ala-OH (Figure 3.2) montre la présence de plusieurs bandes caractéristiques confirmant sa structure chimique.

Les bandes larges à 3401 et 3514 cm⁻¹ sont attribuées aux vibrations d'elongations des groupes OH acides et NH urétane. Toutefois, la présence de plusieurs interactions, notamment des liaisons hydrogène intra- ou intermoléculaires, rend difficile l'indexation unique de chaque bande.

Les pics à 2989cm^{-1} et 2888cm^{-1} confirment des vibrations d'élongation asymétriques et symétriques des groupes méthyle (CH_3).

La bande intense à 1738cm^{-1} est caractéristique du groupement C=O uréthane. Le C=O acide est bien visible à 1690cm^{-1} .

La bande à 1514cm^{-1} implique la déformation du C-N-H uréthane.

La bande observée à 1295cm^{-1} attribuée à la vibration d'élongation C-O , typique des groupes carboxyliques.

Enfin les bandes entre 1019 et 1240cm^{-1} sont associées aux vibrations d'élongation C-O et C-C , notamment celles provenant du groupe Boc.

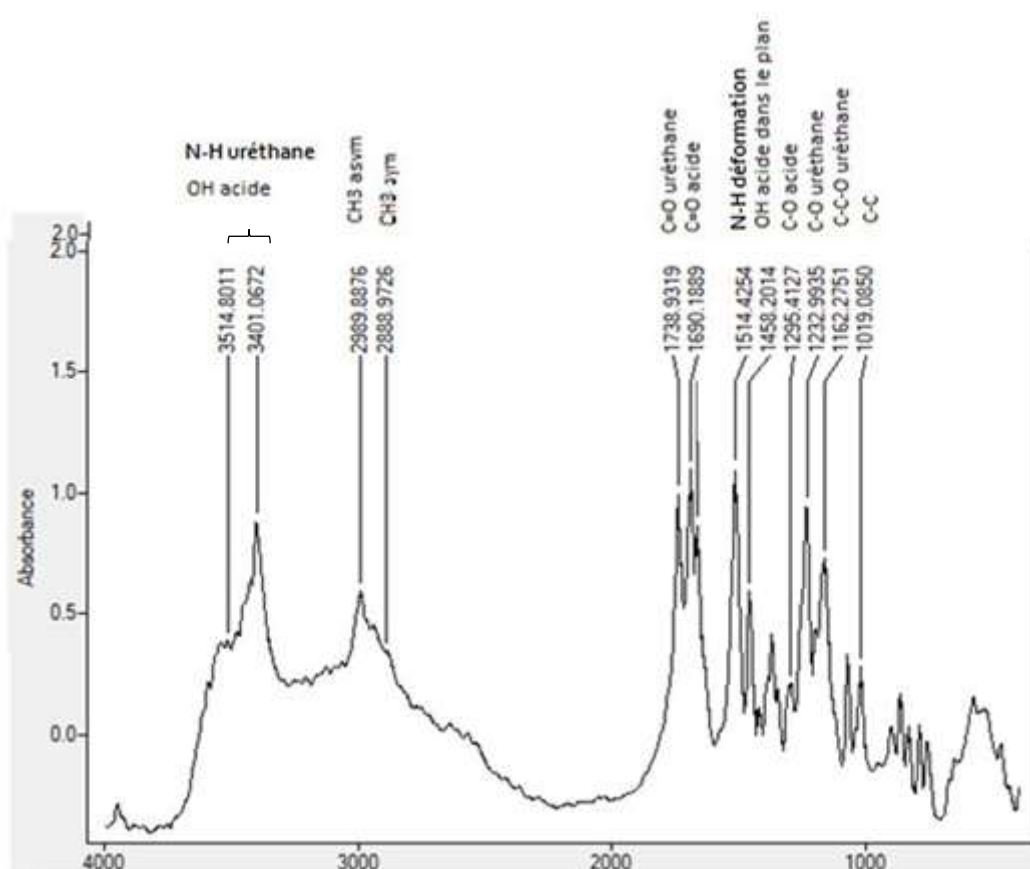


Figure 3.2 : Spectre FTIR du Boc-Ala-OH.

III.1.2 Caractérisation de Boc-Ala- $\text{N}(\text{Et})_2$ par FTIR :

Le spectre FTIR du Boc-Ala- $\text{N}(\text{Et})_2$ (Figure 3.3) montre la présence de plusieurs bandes caractéristiques confirmant sa structure chimique.

La bande intense à 1684cm^{-1} est caractéristique du groupement C=O uréthane. Le C=O amide tertiaire est bien visible à 1657cm^{-1} .

Une bande observée à 3305 cm^{-1} correspond aux vibrations d'élongation N-H uréthane. Cependant, son déplacement vers un nombre d'onde plus bas comparé au spectre FTIR du Boc-Ala-OH (figure 3.2), peut être expliqué par la présence de liaisons hydrogène.

Les pics à 2989 cm^{-1} et 2888 cm^{-1} confirment des vibrations d'élongation asymétrique et symétrique des groupes méthyle et méthylène.

Les bandes à 1528 cm^{-1} implique la déformation du N-H.

La vibration l'élongation C-N uréthane est bien visible à 1457 cm^{-1} , et celle à 1400 cm^{-1} indique une liaison C-N amide.

La bande observée à 1295 cm^{-1} est attribuée à la vibration d'élongation C-O uréthane .

Enfin les bandes entre 1019 et 1252 cm^{-1} sont associées aux vibrations d'élongation C-C-O et C-C, notamment celles provenant du groupe Boc.

En comparant le spectre FTIR du Boc-Ala-OH et celui du Boc-Ala-N(Et)₂ (figure 3.4) on remarque nettement la disparition de la bande 1690 cm^{-1} (C=O acide) et la bande large à 3401 cm^{-1} caractéristique du OH acide.

Ainsi que l'apparition de nouvelles bandes typiques de la liaison amide (1657 cm^{-1} C=O amide).

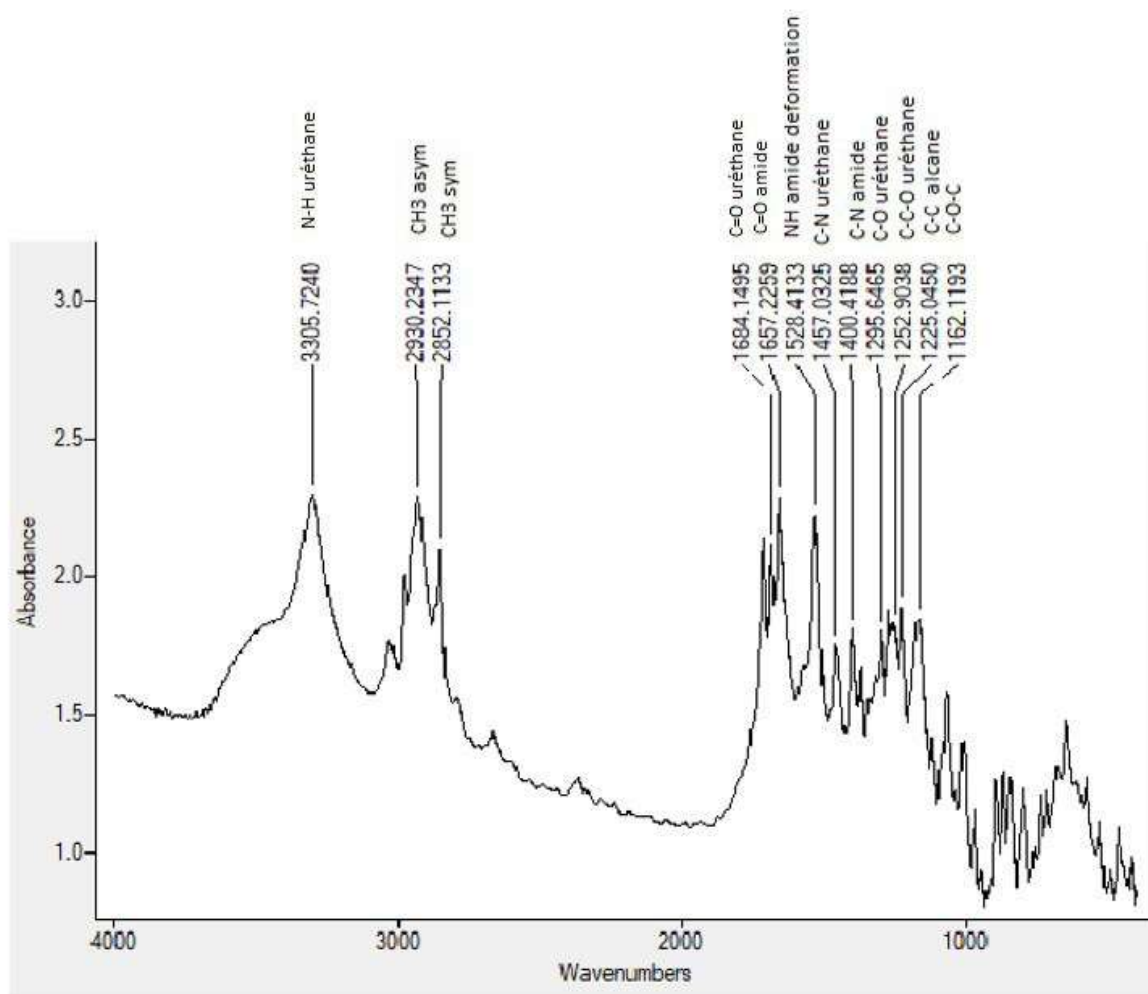


Figure 3.3 : Spectre FTIR du Boc-Ala-N(Et)₂.

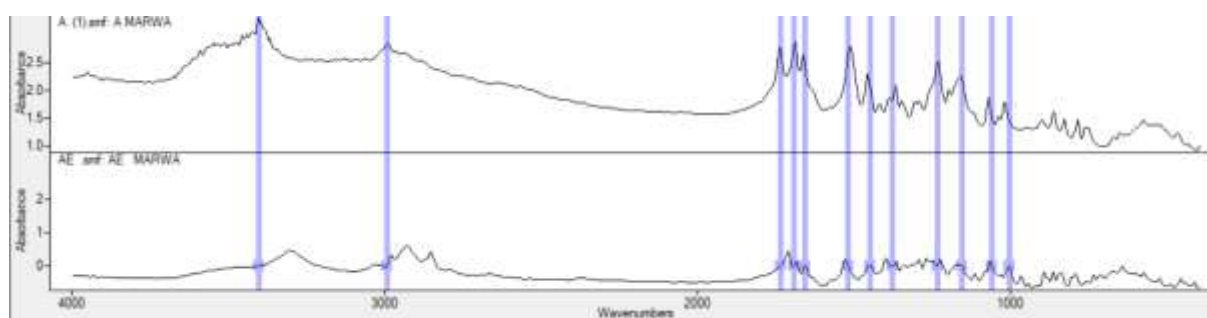


Figure 3.4: Spectre FTIR du Boc-Ala-OH et Boc-Ala-N(Et)₂.

III.2. Réaction de synthèse Boc-Ala-N(Me)₂ :

Nous avons synthétisé des cristaux blancs de Boc-Ala-N(Me)₂ en procédant à la réaction de 2eq du Boc-Ala-OH avec NH(Me)₂ dans du THF à 0 °C, en utilisant le DCCI comme agent de couplage. Suite à la filtration du produit obtenu et à l'élimination du solvant, nous avons

recupéré le Boc-Ala-N(Me)₂ sous forme d'huile qui est cristallisé dans le système (THF/Hx) pour purification avec un rendement de 26,14 %.

III.2.1 Caractérisation de Boc-Ala-N(Me)₂ par FTIR :

Le spectre FTIR du Boc-Ala-N(Me)₂ (Figure 3.5) montre la présence de plusieurs bandes caractéristiques confirmant sa structure chimique.

La bande intense à 1627 cm⁻¹ est caractéristique du groupement C=O amide. Le C=O uréthane est visible à 1685 cm⁻¹.

Une bande observée à 3325 cm⁻¹ correspondant aux vibrations d'élongation N-H uréthane.

Les pics à 2928 cm⁻¹ et 2850 cm⁻¹ confirment des vibrations d'élongation symétrique et asymétrique des groupes méthyle (CH₃).

Le pic à 1576 cm⁻¹ attribué à la déformation angulaires C-N-H uréthane.

La vibration d'élongation C-N uréthane est bien visible à 1437 cm⁻¹, et celle à 1311 cm⁻¹ indique une liaison C-N amide.

La bande observée à 1244 cm⁻¹ attribuée à la vibration d'élongation C-O uréthane .

Enfin les bandes entre 1087 et 1169 cm⁻¹ sont associées aux vibrations d'élongation C-C-O et C-C, notamment celles provenant du groupe Boc.

En comparant le spectre FTIR du Boc-Ala-OH et celui du Boc-Ala-N(Me)₂ (figure 3.6) on remarque nettement la disparition de la bande 1690 cm⁻¹ (C=O acide) et la bande large à 3401 cm⁻¹ caractéristique du OH acide.

Ainsi que l'apparition de nouvelles bandes typiques de la liaison amide essentiellement celle de 1627 cm⁻¹.

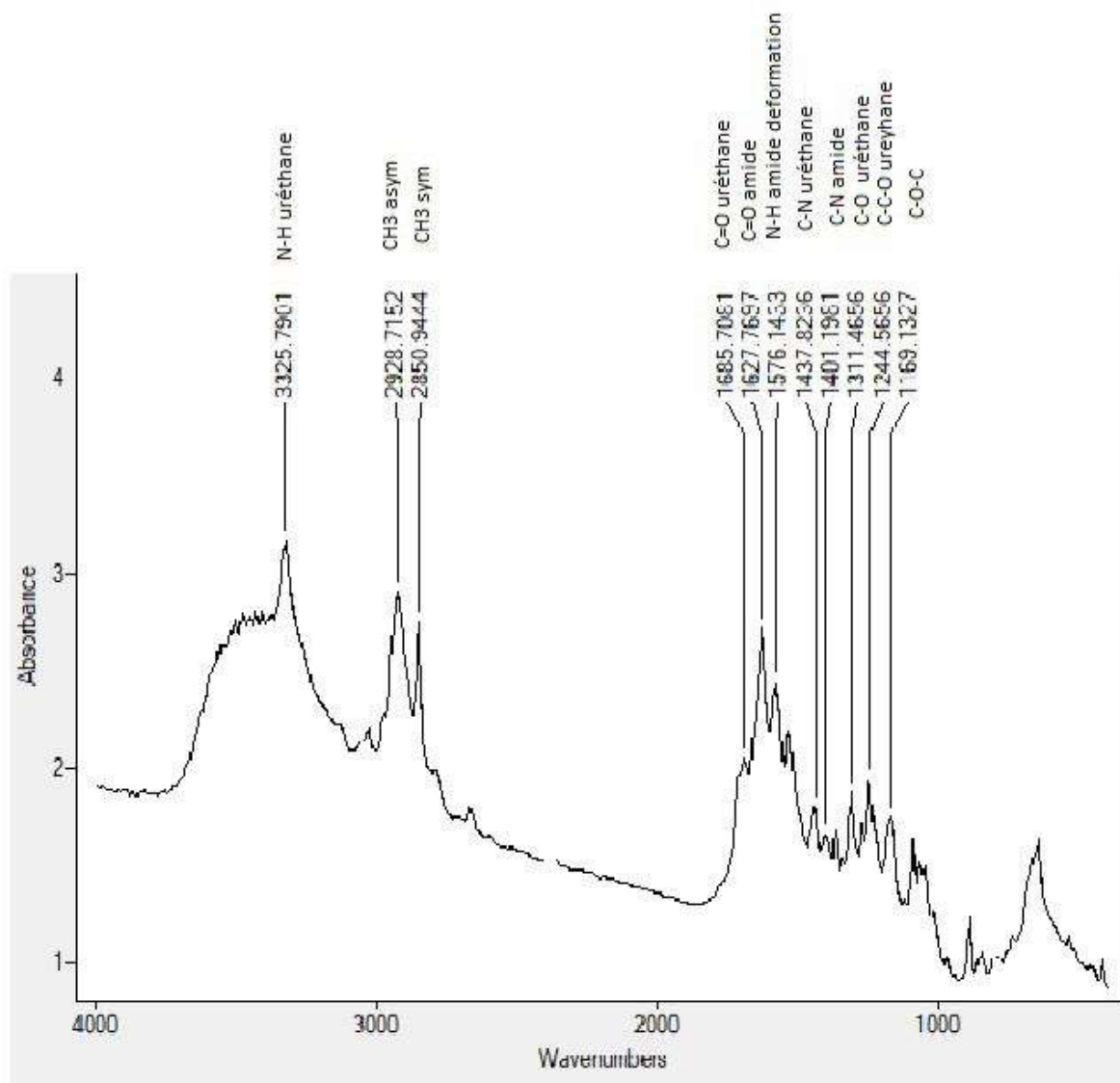


Figure 3.5 : Spectre FTIR du Boc-Ala-N(Me)₂.

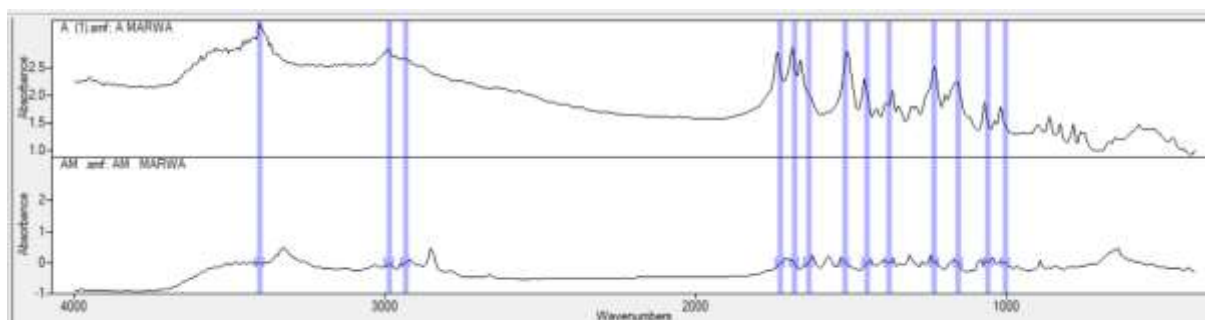


Figure 3.6: Spectre FTIR du Boc-Ala-OH et Boc-Ala-N(Me)₂.

III.3. Réaction de synthèse Boc-Leu-N(Et)₂ :

Nous avons synthétisé des cristaux blancs de Boc-Leu-N(Et)₂ en procédant à la réaction de 2eq du Boc-Leu-OH avec NH(Et)₂ dans du THF à 0 °C, en utilisant le DCCI comme agent de

couplage. Suite à la filtration du produit obtenu et à l'élimination du solvant, nous avons récupéré le Boc-Leu-N(Et)₂ sous forme d'huile qui est cristallisé dans le système (THF/Hx) pour purification avec un rendement de 72,99 %.

❖ **Explication du Mécanisme :**

Tout d'abord, le doublet libre de l'oxygène de la fonction acide carboxylique de l'acide aminé Boc-Leu-OH se condense avec le carbone des carbodiimides, ce qui conduit à la formation d'un intermédiaire O-acylurée après un processus de prototropie. Par la suite, le doublet d'électrons de l'oxygène de la fonction acide carboxylique effectue une seconde attaque sur le carbone des carbodiimides, ce qui libère de la DCU et génère un autre intermédiaire. Ensuite, le doublet libre de la diéthylamine (NH(Et)₂) se lie au carbone du carbonyle de l'anhydride. Le doublet de l'oxygène se replie sur la liaison, provoquant le départ du groupe partant. Suite à la déprotonation, le produit final, Boc-Leu-N(Et)₂, est obtenu, accompagné de la DCU comme produit secondaire (schéma 3.3).

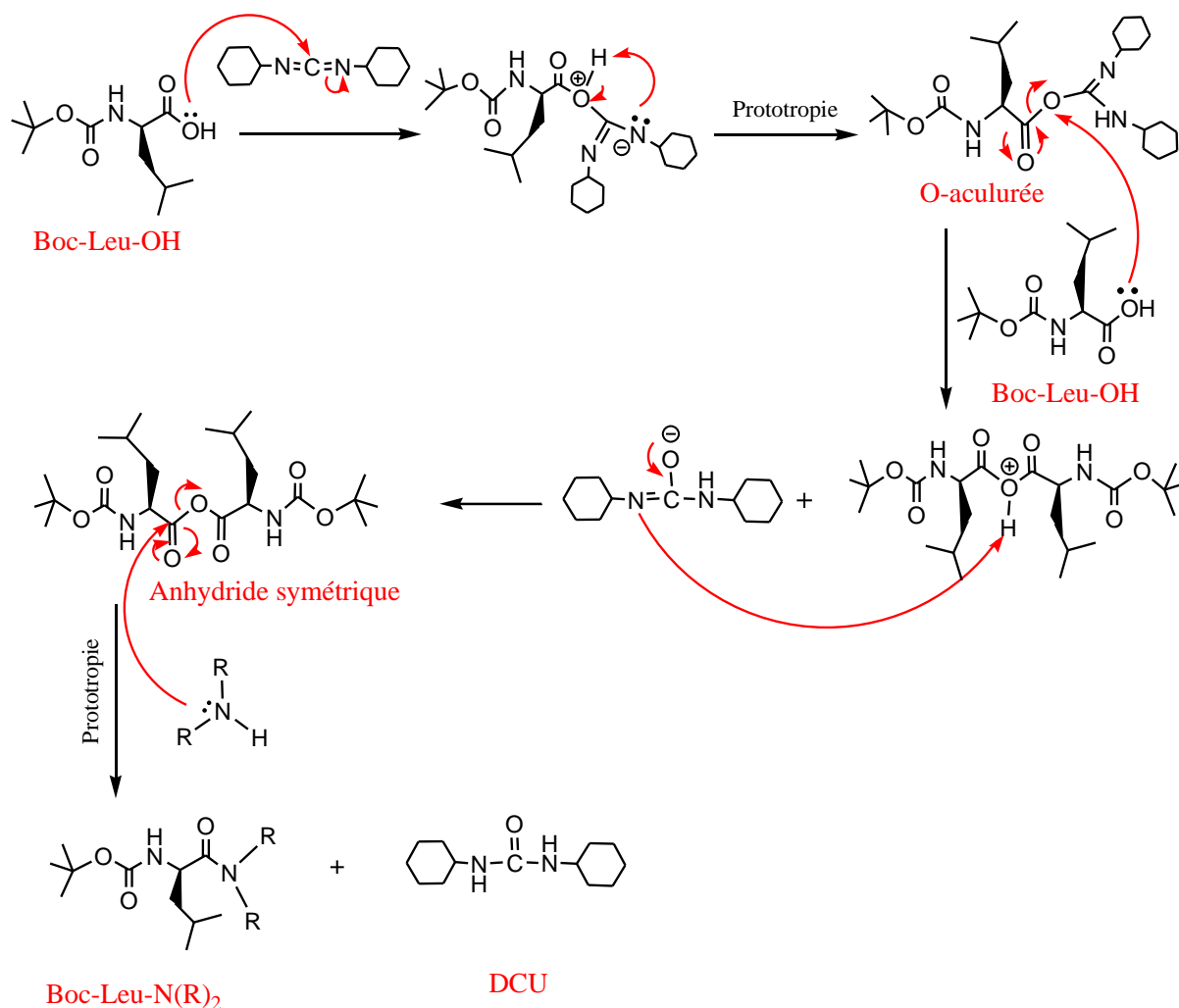


Schéma 3.2 : Mécanisme proposé pour la synthèse du Boc-Leu-N(R)₂.

avec: $R = \text{---}\overset{\text{H}_2}{\text{C}}\text{---CH}_3$ Boc-Leu-N(Et)₂

$= \text{---CH}_3$ Boc-Leu-N(Me)₂

III. 3.1 Caractérisation de Boc-Leu-OH par FTIR :

Le spectre FTIR du Boc-Leu-OH (Figure 3.7) montre la présence de plusieurs bandes caractéristiques confirmant sa structure chimique.

Les bandes larges à 3335 et 3471 cm⁻¹ sont attribuées aux vibrations d'elongations des groupes OH acides et NH urétane. Toutefois, la présence de plusieurs interactions, notamment des liaisons hydrogène intra- ou intermoléculaires, rend difficile l'indexation unique de chaque bande.

La bande intense à 1717 cm^{-1} est caractéristique du groupement C=O uréthane. Le C=O acide est présent à 1676 cm^{-1} .

Les pics entre 2906 cm^{-1} confirment des vibrations d'élongation symétrique et asymétrique des groupes méthyle et méthylène.

. La bande à 1542 cm^{-1} implique la vibration de déformation C-N-H uréthane.

La bande observée à 1365 cm^{-1} peut être attribuée à la vibration d'élongation C-O, typique des groupes carboxyliques.

Enfin les bandes entre 1179 et 1246 cm^{-1} sont associées aux vibrations d'élongation C-O et C-C, notamment celles provenant du groupe Boc.

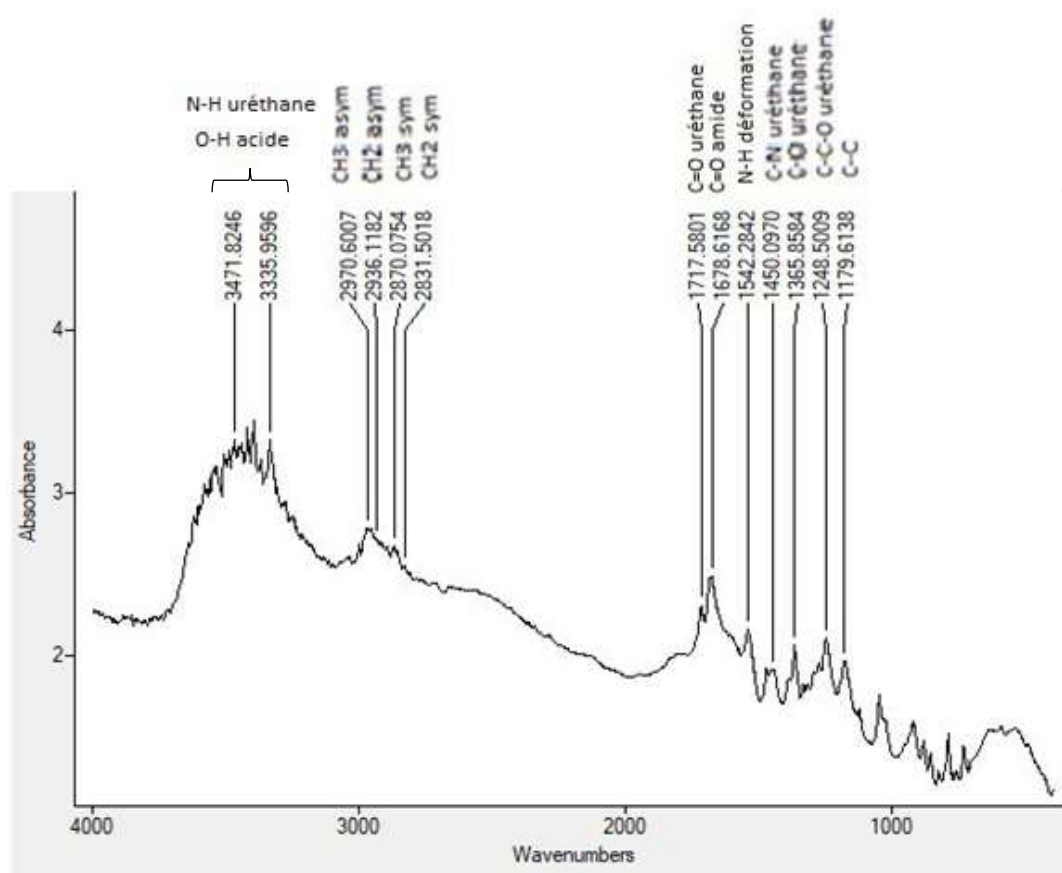


Figure 3.7 : Spectre FTIR du Boc-Leu-OH.

III.3.2 Caractérisation de Boc-Leu-N(Et)₂ par FTIR :

Le spectre FTIR du Boc-Leu-N(Et)₂ (Figure 3.8) montre la présence de plusieurs bandes caractéristiques confirmant sa structure chimique.

La bande intense à 1715 cm^{-1} est caractéristique du groupement C=O uréthane. Le C=O amide est bien visible à 1635 cm^{-1} .

Une bande observée à 3461 cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongation N-H uréthane.

Les pics à 2965 cm^{-1} et 2870 cm^{-1} confirment des vibrations d'élongation symétriques et asymétriques des groupes méthyle et méthylène.

Le pic à 1536 cm^{-1} est attribué aux vibrations de déformations dans le plan de C-N-H uréthane.

La vibration l'élongation C-N uréthane est bien visible à 1453 cm^{-1} .

La bande observée à 1366 cm^{-1} est attribuée à la vibration d'élongation C-O uréthane .

Enfin les bandes entre 1010 et 1248 cm^{-1} sont associées aux vibrations d'élongation C-C-O et C-C, notamment celles provenant du groupe Boc.

En comparant le spectre FTIR du Boc-Leu-OH et celui du Boc-Leu-N(Et)₂ (figure 3.9) on remarque netement la disparition de la bande 1676 cm^{-1} (C=O acide) et la bande large à 3459 cm^{-1} caractéristique du OH acide.

Ainsi que l'apparition de nouvelles bandes typiques de la liaison amide principalement la C=O amide à 1635 cm^{-1} .

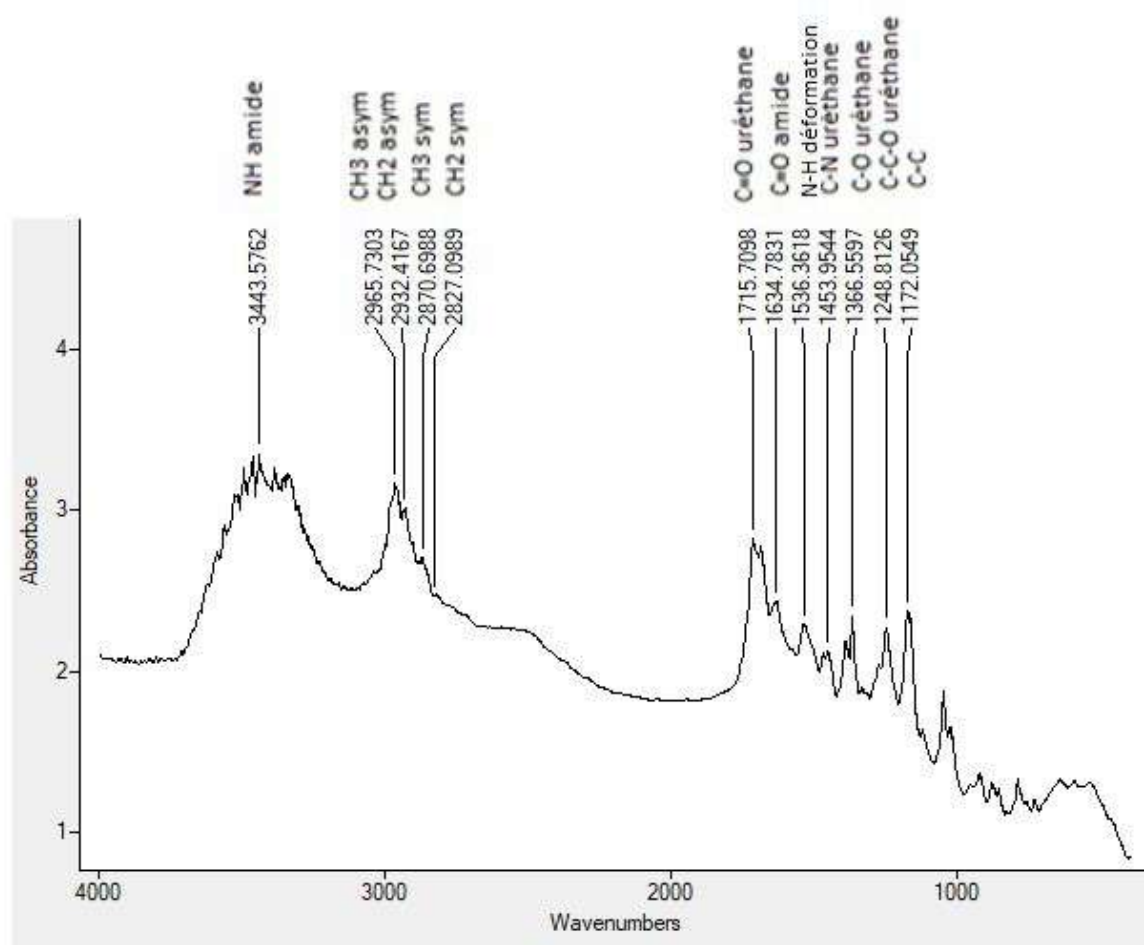


Figure 3.8 : Spectre FTIR du Boc-Leu-N(Et)₂.

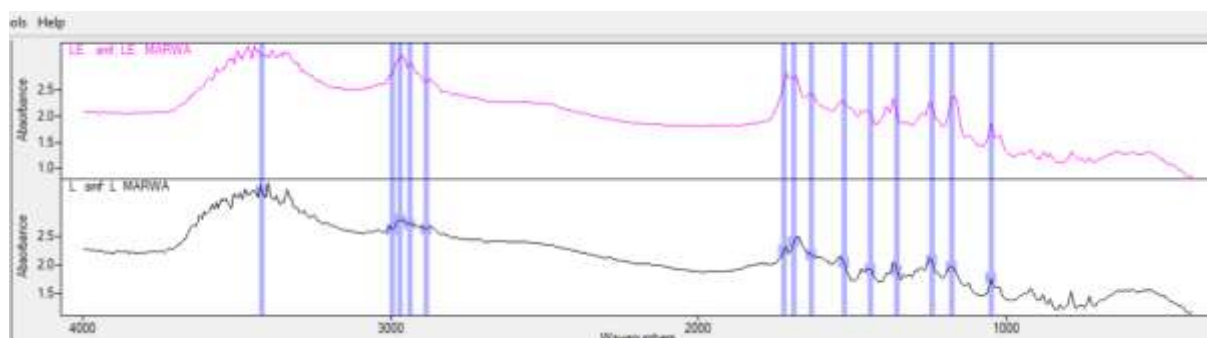


Figure 3.9 : Spectre FTIR du Boc-Leu-OH et Boc-Leu-N(Et)₂.

III.4. Réaction de synthèse Boc-Leu-N(Me)₂ :

Nous avons synthétisé des cristaux blancs de Boc-Leu-N(Me)₂ en procédant à la réaction de 2eq du Boc-Leu-OH avec NH(Me)₂ dans du THF à 0 °C, en utilisant le DCCI comme agent de couplage. Suite à la filtration du produit obtenu et à l'élimination du solvant, nous avons

recupéré le Boc-Leu-N(Me)₂ sous forme d'huile qui est cristallisé dans le système (THF/Hx) par purification avec un rendement de 24,57%.

III.4.1 Caractérisation de Boc-Leu-N(Me)₂ par FTIR :

Le spectre FTIR du Boc-Leu-N(Me)₂ (Figure 3.10) montre la présence de plusieurs bandes caractéristiques confirmant sa structure chimique.

Une bande observée à 3336 cm⁻¹ correspondant aux vibrations d'élongation N-H uréthane.

Les pics à 2966 cm⁻¹ et 2869 cm⁻¹ confirment des vibrations d'élongation asymétriques et symétriques des groupes méthyle et méthylène.

Le pic à 1600 cm⁻¹ peut être attribué aux vibration d'élongation C=O amide .

La vibration déformation C-N-H uréthane est bien visible à 1539 cm⁻¹, et celle à 1365 cm⁻¹ indique une liaison C-N amide.

La bande observée à 1247 cm⁻¹ attribuée à la vibration d'élongation C-O uréthane .

Enfin les bandes entre 1049 et 1178cm⁻¹ sont associées aux vibrations d'élongation C-C-O et C-C, notamment celles provenant du groupe Boc.

En comparant le spectre FTIR du Boc-Leu-OH et celui du Boc-Leu-N(Me)₂ (figure 3.11) on remarque l'apparition de nouvelles bandes typiques de la liaison amide, celle de 1600 cm⁻¹.

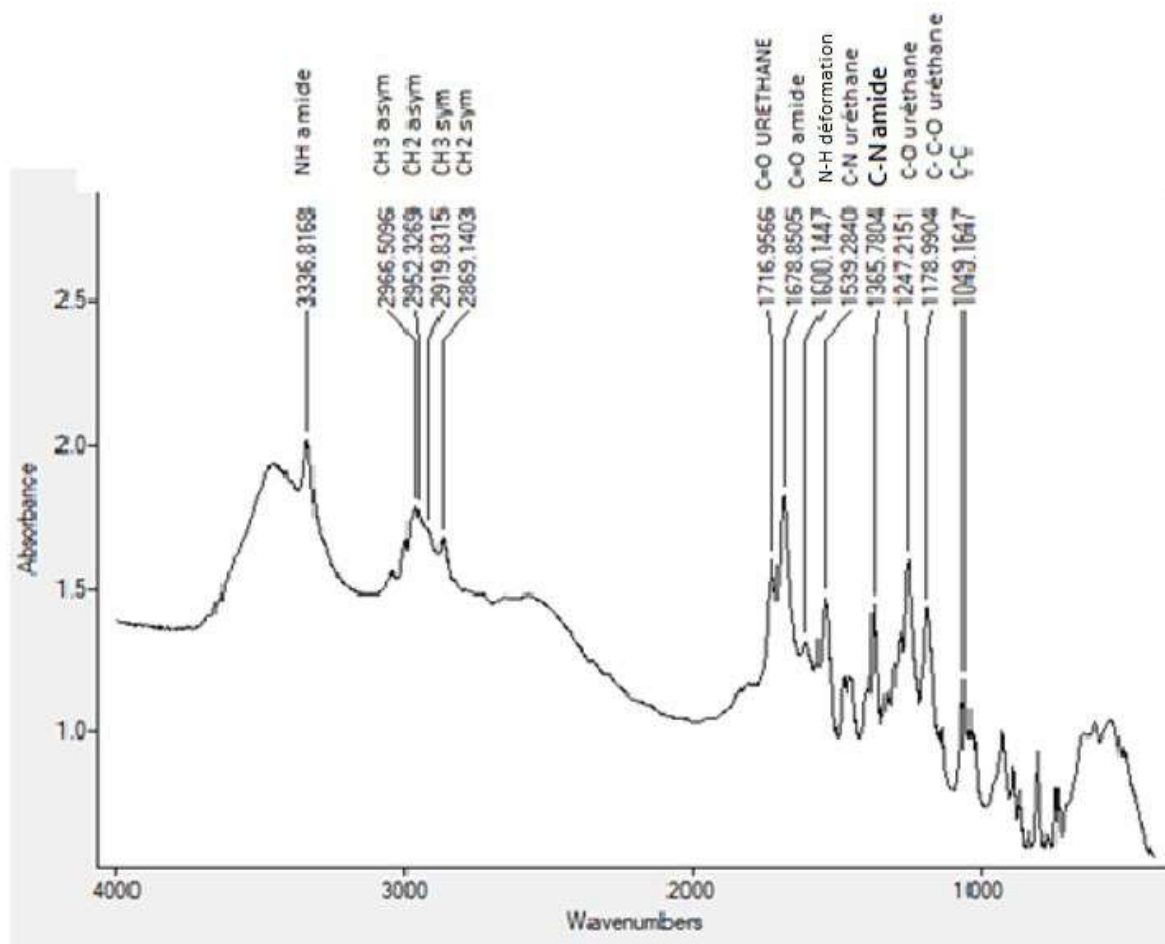


Figure 3.10 : Spectre FTIR du Boc-Leu-N(Me)₂.

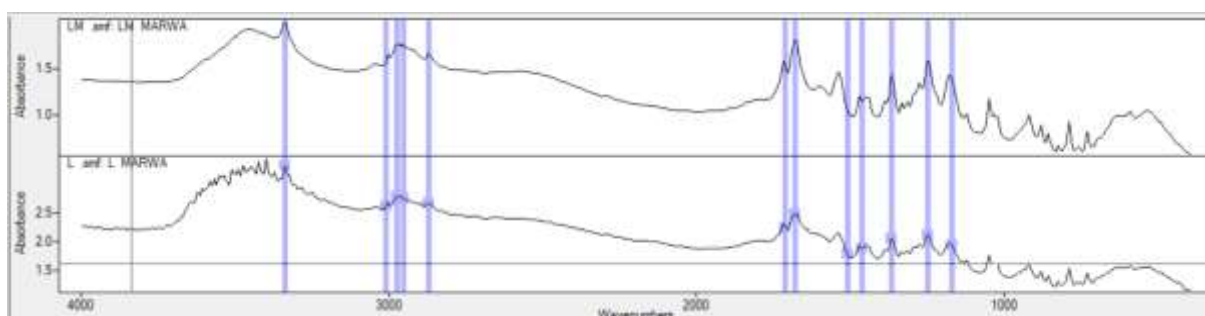


Figure 3.11 : Spectre FTIR du Boc-Leu-OH et Boc-Leu-N(Me)₂.

III.5 Résultats des méthodes et techniques d'identification :

❖ L'acide aminé Boc-Ala-OH et ses dérivés :

Les données regroupées dans les tableaux 3.1 et 3.2 permettent d'interpréter les effets structuraux sur les températures de fusion et les rendements de deux dérivés du Boc-Ala-OH.

Les températures de fusion augmentent de Boc-Ala-OH (68,5 °C) à Boc-Ala-N(Et)₂ (144,5 °C), et à Boc-Ala-N(Me)₂ (208,2 °C). Cela explique par des interactions intermoléculaires plus fortes, notamment grâce à la présence du groupe amide, qui favorise une organisation cristalline plus ordonnées.

Le rendement plus élevé du Boc-Ala-N(Et)₂ (63,8 %) s'explique par leur effet inductif donneur, qui augmente la nucléophilie de l'azote et favorise la formation de l'amide. En revanche, le Boc-Ala-N(Me)₂ (36,14 %) montre un rendement plus faible en raison de la faible purté (40 %) de la diméthylamine, et d'un effet donneur légèrement plus faible, ce qui diminue le rendement final.

La chromatographie sur couche mince (CCM), réalisée avec deux éluants différents (AcOEt et mélange **AcOEt : Hx / 50 :50**), a montré pour chaque composé une seule tâche nette et bien définie, ce qui indique une bonne pureté apparente des produits obtenus.

Les valeurs de R_f sont faibles pour le Boc-Ala-OH (0,60 et 0,65) et élevées pour Boc-Ala-N(Et)₂ (0,91 et 0,96) et Boc-Ala-N(Me)₂ (0,96 et 0,93), traduisant une diminution de la polarité lors du passage de l'acide vers ses dérivés amidiques.

Tableau 3.1 : Résultats des méthodes et techniques d'identification du Boc-Ala-OH et ses dérivés.

Produits	Masse molaire (M) (g/mol)	Rendement (R) (%)	Température de fusion (T _f) (°C)
Boc-Ala-OH	189,2	—	68,5
Boc-Ala-N(Et) ₂	244,34	63,8	144,5
Boc-Ala-N(Me) ₂	216,29	36,14	208,2

Tableau 3.2 : Résultats des rapports frontaux du Boc-Ala-OH et ses dérivés

Produits	R _f du mélange (AcOEt)	R _f du mélange (AcOEt : Hx / 50 :50)
Boc-Ala-OH	0,6	0,65
Boc-Ala-N(Et) ₂	0,91	0,96
Boc-Ala-N(Me) ₂	0,96	0,93

❖ **L'acide aminé Boc-Leu-OH et ses dérivés :**

Les données regroupées dans les tableaux 3.3 et 3.4 permettent d'interpréter les effets structuraux sur les températures de fusion et les rendements de deux dérivés du Boc-Leu-OH.

Le rendement du Boc-Leu-N(Et)₂ (72,99 %) est nettement plus élevé que celui du Boc-Leu-N(Me)₂ (24,57 %). Comme pour les dérivés de l'alanine, cela s'explique par la faible pureté de la diméthylamine et effet donneur d'électrons plus marqué de la diéthylamine

Contrairement au cas de l'alanine la température de fusion diminue du Boc-Leu-OH (98,6 °C) vers Boc-Leu-N(Et)₂ (71,3 °C), et augmente vers Boc-Leu-N(Me)₂ (133 °C). Cela peut être expliqué par la structure encombrée de la leucine, qui peut perturber l'organisation cristalline dans le cas de Boc-Leu-N(Et)₂. Tandis que Boc-Leu-N(Me)₂, bien que de rendement sont plus faible, forme un réseau cristallin plus compact et ordonné, menant à une température de fusion plus élevée.

La chromatographie sur couche mince (CCM), réalisée avec deux éluants différents (**AcOEt** et mélange **AcOEt : Hx / 50 :50**), a montré pour chaque composé une seule tâche nette et bien définie, ce qui indique une bonne pureté apparente des produits obtenus.

Les valeurs de R_f sont faibles pour le Boc-Leu-OH (0,67 et 0,50) et élevées pour Boc-Leu-N(Et)₂ (0,70 et 0,90) et Boc-Leu-N(Me)₂ (0,81 et 0,93), traduisant une diminution de la polarité lors du passage de l'acide vers ses dérivés amidiques.

Tableau 3.3 : Résultats des méthodes et techniques d'identification du Boc-Leu-OH et ses dérivés.

Produits	Masse molaire (M) (g/mol)	Rendement (R) (%)	Température de fusion (T _f) (°C)
Boc-Leu-OH	231,29	—	98,6
Boc-Leu-N(Et)₂	286,43	72,99	71,3
Boc-Leu-N(Me)₂	258,37	24,57	133

Tableau 3.4 : Résultats des rapports frontaux du Boc-Leu-OH et ses dérivés

Produits	R _f du mélange	R _f du mélange
	(AcOEt)	(AcOEt : Hx / 50 :50)
Boc-Leu-OH	0,67	0,50
Boc-Leu-N(Et)₂	0,70	0,90
Boc-Leu-N(Me)₂	0,81	0,93

CONCLUSION GENERALE :

Dans le cadre de nos travaux, la synthèse réalisée vise à protéger la partie C-terminale d'un acide aminé, qui est commercialement protégé à la partie N-terminale par un groupement Boc. L'activation de ces acides aminés a été effectuée à l'aide du DCCI, servant d'agent de couplage.

Dans un premier temps, nous avons activé l'acide aminé Boc-Ala-OH en utilisant le DCCI, en formant un anhydride. Par la suite, nous avons employé des amines secondaires (diméthyleamine et diéthyleamine) pour protéger la fonction acide de l'acide aminé. Les produits obtenus, sous forme d'huile, ont été cristallisés dans un système THF/Hx pour purification. Nous avons ainsi obtenu des cristaux solides de couleur blanche. Les structures de Boc-Ala-N(Me)₂ et Boc-Ala-N(Et)₂ ont été confirmées par analyse IR, avec des rendements respectifs de 36,14 % et 63,8 %.

Ensuite, en appliquant le même protocole, nous avons utilisé l'acide aminé Boc-Leu-OH, ce qui a permis d'obtenir des produits présentant un aspect cristallin blanc. Les structures de Boc-Leu-N(Me)₂ et Boc-Leu-N(Et)₂ ont également été validées par analyse IR, avec des rendements de 24,59 % et 72,99 % respectivement.

Les rendements les plus élevés ont été obtenus avec la diéthylamine.

La pureté des produits a été contrôlée par mesure de la température de fusion et par analyse CCM.

Enfin, dans une perspective future, nous prévoyons de coupler ces acides aminés pour former un dipeptide, en éliminant le groupement Boc d'un acide aminé et en le faisant réagir avec la partie C-terminale activée d'un autre acide aminé N-protégé.

Référence bibliographique

1. Touafri, L., Emploi d'acides aminés dans la lutte contre la corrosion d'un acier au carbone en milieux aqueux de Na Cl 3% et d'acide H₂ So₄ 1Mol. L-1, 2009, Université Mouloud MAMMERI Tizi-Ouzou.
2. Lapiere, H., R. Berthiaume, and P. Dubreuil. Équilibrer les rations pour les acides aminés: rêve ou réalité. in 26e Symposium sur les bovins laitiers (CRAAQ-Université de Sherbrooke). 2002.
3. BAHOU, S., N. NADJEMI, and Y. CHERGUI, SYNTHÈSE ORGANIQUE DE QUELQUE NUCLÉOSIDES À PARTIR D' UN ACIDE AMINE, 2022, UNIVERSITE AHMED DRAIA-ADRAR.
4. Ben Belkacem, N., Synthèse et caractérisation de complexes mixtes de cobalt (III) avec l'éthylènediamine, une série d'acides aminés et des bases azotées, 2012, UMMT.
5. Albericio, F., « Developments in peptide and amide synthesis », Current Opinion in Chemical Biology, 2004 , 211-221. , Albericio, F., « Developments in peptide and amide synthesis », Current Opinion in Chemical Biology, 8 , 2004 , 211-221. .
6. Albericio F., C. R., Dods Worth DJ., Najera C., « New trends in peptide; coupling reagents », O. P. P. I., 33, 2001, 203-303. , Albericio F., Chinchilla R., Dods Worth DJ., Najera C., « New trends in peptide coupling reagents », Org. Pep. Proced. Int., 33, 2001, 203-303. .
7. L.Carpino J. Ame. Chem. Soc, 79: 98, L.Carpino J. Ame. Chem. Soc, 1957, 79: 98.
8. G.W.Anderson, A. M. J. A. C. S., 1957, 79: 6180., G.W.Anderson, A. McGregor. J. Ame. Chem. Soc, 1957, 79: 6180.
9. R.Schwyzler, P. S., H.Kappeler, Helvetica Chimica Acta, 153, (1959), 2622.1651., R.Schwyzler, P.Sieber, H.Kappeler, Helvetica Chimica Acta, 153, (1959), 2622.1651.
10. R.B. MERRIFIELD. Adv. Enzy .mol, 32: 221., R.B. MERRIFIELD. Adv. Enzy .mol, 1969, 32: 221.
11. Chang CD, Meienhofer J. Solid-phase peptide synthesis using mild base cleavage of N alpha-fluorenylmethyloxycarbonylamino acids, exemplified by a synthesis of dihydrosomatostatin. Int J Pept Protein Res. 1978 Mar;11(3):246-9. doi: 10.1111/j.1399-3011.1978.tb02845.x. PMID: 649259.
12. L.A.Carpino, B. J. C., KE.Stephens.J.Org.Chem, 1986: 3734., L.A.Carpino, B.J.Cohen, KE.Stephens.J.Org .Chem, 1986: 3734.
13. L.A.Carpino, M. B., M.Bienert, H.Niedrich.J. Org.Chem, 1990, 55:721., L.A.Carpino, M.Beyerman, M.Bienert, H.Niedrich.J. Org.Chem, 1990, 55:721.
14. M.Bergman, L. Z., C. Berichte, 1932, 6 : 1192., M.Bergman, L.Zervas, C. Berichte, 1932, 6 : 1192.
15. Amin, M. M.; Rania, B., Protection de la partie C-terminale d'acides aminés par des amines primaires moyennant la méthode des carbodiimides. 2024.
16. Amin, M. M.; Rania, B., Protection de la partie C-terminale d'acides aminés par des amines primaires moyennant la méthode des carbodiimides. 202.
17. T.W.Greene, P. o., 152., T.W.Greene, Protective groups in organicsyntheses, 152.
18. Marder, O. S., Y.; Albericio, F. Chim. Oggi. 2002, 20, 37-41, Marder, O.; Shvo, Y.; Albericio, F. Chim. Oggi. 2002, 20, 37-41.
19. 7 Subiros-Funosas, R. P., R.; Barbas, R.; El-Faham, A.; Albericio, F. Chem. Eur. J. 2009, 15, 9394- 9403, 7 Subiros-Funosas,

- R.; Prohens, R.; Barbas, R.; El-Faham, A.; Albericio, F. *Chem. Eur. J.* 2009, 15, 9394-9403.
20. L. A. Carpino, E.-S. M. E. M., D.Sadat-Aalsee. *J. Org. Chem.*, 1991, 56:2611., L. A. Carpino, E.-S.M. E. Mansour, D.Sadat-Aalsee. *J. Org. Chem.*, 1991, 56:2611., L. A. Carpino, E.-S. M. E. M., D.Sadat-Aalsee. *J. Org. Chem.*, 1991, 56:2611., L. A. Carpino, E.-S.M. E. Mansour, D.Sadat-Aalsee. *J. Org. Chem.*, 1991, 56:2611.
21. L. A. Carpino, A. E.-F. J. A. C. S., 117: 5401., L. A. Carpino, A. El-Faham. *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117: 5401., L. A. Carpino, A. E.-F. J. A. C. S., 117: 5401., L. A. Carpino, A. El-Faham. *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117: 5401.
22. A. El-Faham. F. Albericio. *Chem. Rev.* 2011, 111, 6557-6602., A. El-Faham, F. Albericio, *Chem. Rev.* 2011, 111, 6557-6602.
23. W. Chu, Z. T., E. McElveen, J. Xu, M. Taylor, R.R. Luedtke, R. H. Mach. *Bioorg. Med. Chem.* ; 2005, W. Chu, Z. Tu, E. McElveen, J. Xu, M. Taylor, R.R. Luedtke, R. H. Mach. *Bioorg. Med. Chem.* 2005, 13:77.
24. I. Kuwajima, H. U. O., Wiley: New York. 1993 Collect. VIII, 486., I. Kuwajima, H. Urabe. *Organic Syntheses*, Wiley: New York. 1993 Collect. VIII, 486.
25. J. Klosa. *Prakt. Chem.*, 19: 45., J. Klosa. *Prakt. Chem.*, 1962, 19: 45.
26. L. A. Carpino, D. S.-A., H. G. Chao, R. H. DeSelms. *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, 112: ; 9651., L. A. Carpino, D. Sadar-Aalae, H. G. Chao, R. H. DeSelms. *J. Am. Chem. Soc.*, 1990, 112: 9651.
27. L. A. Carpino, A. E.-F. J. A. C. S., 117: 5401., L. A. Carpino, A. El-Faham. *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117: 5401.
28. T. Shioiri, K. N. A. C. S., 1972. 94: 6203, T. Shioiri, K. Ninomiya. *Am. Chem. Soc.*, 1972. 94: 6203.
29. Joullié, M. L., K. ARKIVOC, 2010, 189-250, Joullié, M.; Lassen, K. ARKIVOC, 2010, 189-250.
30. T. Curtius. *Chem. Ber.* 1902, T. Curtius. *Chem. Ber.* 1902, 35: 3226.
31. Prasad, K. V. S. R. G. B., K.; Haseena B. B. IJPSRR, Prasad, K.V.S.R.G.; Barathi, K.; Haseena B. B. IJPSRR, 2011.
32. B. Castro, J.-R. D., G. Evin, C. Selve. *Tetrahedron Lett.* 1975, 14: 1219, B. Castro, J.-R. Dormoy, G. Evin, C. Selve. *Tetrahedron Lett.* 1975, 14: 1219.
33. R. Knorr, A. T., W. Bannwarth, D. Gillessen. *Tetrahedron Lett.* 1989, 30: 1927., R. Knorr, A. Trzeciak, W. Bannwarth, D. Gillessen. *Tetrahedron Lett.* 1989, 30: 1927.
34. L. A. Carpino. *J. Am. Chem. Soc.* 1993, L. A. Carpino. *J. Am. Chem. Soc.* 1993, 115: 4397.
35. G. Stavropoulos, K. K., S. Anagnostides, I. Ministrouski, Z. Selinger, M. Chorev, *Int. J. ; Protein Res.* 1995, G. Stavropoulos, K. Karagiannis, S. Anagnostides, I. Ministrouski, Z. Selinger, M. Chorev, *Int. J. Protein Res.* 1995, 45: 508.
36. 8 El-Faham, A. A., F. Chem. Rev. 2011, 111, 6557-6602, 8 El-Faham, A.; Albericio, F. *Chem. Rev.* 2011, 111, 6557-6602., 8 El-Faham, A. A., F. Chem. Rev. 2011, 111, 6557-6602, 8 El-Faham, A.; Albericio, F. *Chem. Rev.* 2011, 111, 6557-6602.
37.] J. C. Sheehan, G. P. H., *J. Am. Chem. Soc.* 1955, 77: 1067] J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.* 1955, 77: 1067.
38. T. Kimura, M. T., Y. Masui, T. Morikawa, S. Sakakibara, *Biopolymers* 1981, 20:1823., T. Kimura, M. Takai, Y. Masui, T. Morikawa, S. Sakakibara, *Biopolymers* 1981, 20:1823.
39. Coste, J. L.-N., D.; Evin, G.; Castro, B. *Tetrahedron Lett.* 1990, 31, 205., Coste,

- J.; Le-Nguyen, D.; Evin, G.; Castro, B. *Tetrahedron Lett.* 1990, 31, 205.
40. 3 El-Faham, A. A., F. Eur. J. Org. Chem. 2009, 1499-1501., 3 El-Faham, A.; Albericio, F. Eur. J. Org. Chem. 2009, 1499-1501.
41. Simon, J. Methodological study of trifluoromethylated amino acids coupling and application to the synthesis of GPE analogs, a therapeutic peptide candidate Etude méthodologique du couplage d'acides aminés trifluorométhylés et application à la synthèse d'analogues du GPE, un tripeptide à visée thérapeutique %+ Synthèse Organique Sélective et Chimie Organométallique (SOSCO). Université de Cergy Pontoise, 2012.
42. Subiros-Funosas, R. P., R.; Barbas, R.; El-Faham, A.; Albericio, F. Chem. Eur., Subiros-Funosas, R.; Prohens, R.; Barbas, R.; El-Faham, A.; Albericio, F. Chem. Eur. J. 2009, 15, 9394-.
43. E.Fisher.Beritche.der.Deutschen.Chemischen.Gesellschaft.1901.34.2868.2877, E. Fisher, Beritche der Deutschen Chemischen Gesellschaft 1901, 34, 2868-2877.
44. E.Fisher.Beritche.der.Deutschen.Chemischen.Gesellschaft) E. Fisher, Beritche der Deutschen Chemischen Gesellschaft 1907, 40, 1754-1767. b) E. Fisher, Beritche der Deutschen Chemischen Gesellschaft 1907, 40, 2048-2061. c) E. Fisher, Beritche der Deutschen Chemischen Gesellschaft 1907, 40, 943-957.
45. dicula-Thomas, S., et al. (2005). "A computational method for predicting the solubility profile of peptides". *Journal of Chemical Information and Modeling*, 45(5), 1157-1167., dicula-Thomas, S., et al. (2005). "A computational method for predicting the solubility profile of peptides". *Journal of Chemical Information and Modeling*, 45(5), 1157-1167.
46. Kozlowski, L. P. I.-I. P. C. B., 32(4), 614-615., Kozlowski, L.P. (2016). "IPC - Isoelectric Point Calculator". *Bioinformatics*, 32(4), 614-615.
47. Bjellqvist, B., et al. (1993). "The focusing positions of polypeptides in immobilized pH gradients can be predicted from their amino acid sequences". *Electrophoresis*, 14(10), 1023-1031, Bjellqvist, B., et al. (1993). "The focusing positions of polypeptides in immobilized pH gradients can be predicted from their amino acid sequences". *Electrophoresis*, 14(10), 1023-1031.
48. Belitz, H.-D.; Grosch, W.; Schieberle, P.; Belitz, H.-D.; Grosch, W.; Schieberle, P., Amino acids, peptides, proteins. *Food chemistry* 2004, 8-91.
49. Reineke.U.Reimer.U.Mol.Biosyst, H. G., Hummel, G.; Reineke, U.; Reimer, U. Mol. Biosyst. 2006, 2, 499-508.
50. Loffet.A.J.Peptide.Sci., Loffet, A. J. Peptide Sci. 2002, 8, 1-7.
51. L., Q. B. A. B. N. J. V. S. S., Quattrin, T.; Bélanger, A.; Bohannon, N. J. V. Schwartz, S. L. Diabetes Care 2004, 27, 2622-2627.
52. Jung, H. J., et al. (2004), *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, consulté en avril 2025.
53. Velkov, T., et al. (2010), *Chemical Reviews*, 110(5), 2812-2834, consulté en avril 2025.
54. Harris, R. C., et al. (2006), *Amino Acids*, 30(3), 279-289, consulté en avril 2025.
55. (2010), Z. F., *Cosmetic Dermatology*, consulté en avril 2025.
56. Y. Cho, S. G., P. Jeffrey, and N. Pavletich, "Crystal structure of a p53 tumor suppressor-DNA complex: understanding tumorigenic mutations, S.-., vol.; 265, n., pp. 346-355, Jul. 1994., Y. Cho, S. Gorina, P., consulté en avril 2025. Jeffrey, and N. Pavletich, "Crystal structure of a p53 tumor suppressor-DNA complex: understanding tumorigenic mutations," *Science* (80-.), vol. 265, no. 5170, pp. 346-355, Jul. 1994.

57. Scott J, E. M. f. s. a. s. T. B. S., 1987,12:318-321, Scott J,E :Molecules for strength and shape Trends Biochem. Sci,1987,12:318-321.
58. pauling, l. e. a. t. s. o. p. t. h.-b. h. c. o. t. p. c. p. n. a. s. u., 37.205-211., pauling,l et al:the structure of proteines : two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptides chain. proc nati acad.sci.usa 1951,37.205-211.
59. K. H. Altmann, J. W., M. Vasquez, and H. A. Scheraga, "Helix-coil stability; parameters, c. f. t. n. o. a. a. i. w. X. P.; from random poly(hydroxybutylglutamine-CO-L-proline), B., vol. 30, no. 1–, K. H. Altmann, J. Wojcik, M. Vasquez, and H. A. Scheraga, "Helix-coil stability constants for the naturally occurring amino acids in water. XXIII. Proline parameters from random poly(hydroxybutylglutamine-CO-L-proline)," Biopolymers, vol. 30, no. 1–.
60. Gellman , S. H. M. m. s. f. b. s. s. i. p. C. O. c. B., 2:717-725., Gellman , S.H : Minimal model systems for beta sheet secondary structure in proteins.Curr.Opin.chem.Biol.1998,2:717-725.
61. Pauling, L. c., R.B.:Configurations of polypeptide chains with favored orientations around single bonds :two new pleated sheets.Proc.Natl Acad.Sci.USA 1951,37:729-740, Pauling,L.corey,R.B.:Configurations of polypeptide chains with favored orientations around single bonds :two new pleated sheets.Proc.Natl Acad.Sci.USA 1951,37:729-740.
62. Rihaardson , J. S. T. a. a. t. o. p. s. A. P. C., 34:167-339, Rihaardson ,J.S.: The anatomy and taxonomy of protein stucture.Adv.Prot.Chem.1981,34:167-339.