

PARTIE EXPERIMENTALE

Chimie de synthèse

Appareillages et analyses

Les spectres RMN du ^1H et du ^{13}C ont été enregistrés sur un spectromètre Varian Gemini 200 (à 200 MHz pour le ^1H et à 50 MHz pour le ^{13}C), sur un spectromètre Varian Gemini 300 (à 300 MHz pour le ^1H et à 75 MHz pour le ^{13}C) ou sur un spectromètre Bruker 500 (à 500 MHz pour le ^1H et à 125 MHz pour le ^{13}C). La référence interne utilisée dans le cas du chloroforme deutéré est le tétraméthylsilane. Dans les autres cas, la référence est positionnée sur la fréquence du solvant (7,26 ppm (^1H) et 77,0 ppm (^{13}C) pour le CDCl_3 ; 4,8 ppm (^1H) pour le D_2O ; 2,05 ppm (^1H) et 29,9 ppm (^{13}C) pour l'acétone- d_6). Les déplacements chimiques δ sont donnés en part par million (ppm) par rapport à la référence interne. La multiplicité est transcrite comme suit : singulet (s), singulet large (br s), doublet (d), doublet de doublet (dd), triplet (t), multiplet (m). Les constantes de couplage (valeurs absolues) sont données en Hertz (Hz). Les spectres 500 MHz ont été relevés au laboratoire de Chimie Physique et Cristallographie de l'Université catholique de Louvain par le Dr. R. Touillaux. Les attributions en proton et carbone sont faites sur base d'irradiations sélectives, d'expériences à deux dimensions (COSY, HSQC, HMBC) et/ou par comparaison avec des composés de la même famille.

Les spectres de masse ont été obtenus sur un appareil Finnigan MAT TSQ-70 à 70 eV pour l'impact électronique (IE), à 100 eV pour l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI), au moyen d'un canon à Xenon ION TECH 8 KV pour le bombardement à atome rapide (FAB). Les spectres obtenus par ionisation chimique (CI) ont été réalisés au moyen d'un mélange de CH_4 et de N_2O . Ces spectres ont été enregistrés au Laboratoire de Spectrométrie de Masse de l'Université catholique de Louvain.

Les masses exactes ont été réalisées au Laboratoire de Spectrométrie de Masse de Mons-Hainaut dans le laboratoire du Pr. Flammang.

Les spectres infra-rouges ont été enregistrés sur un appareil Bio-RAD FTS-135. Les absorptions sont données en nombre d'onde (cm^{-1}).

Les analyses élémentaires ont été réalisées par le Dr. Alan Stones à l'Imperial College London, Chemistry Department, Christopher Ingold Laboratories.

Les points de fusion sont déterminés à l'aide d'un fusionomètre Electrothermal calibré par rapport à l'acide benzoïque et n'ont pas été corrigés.

Solvants et réactifs

Les réactifs et solvants sont fournis par les firmes Aldrich, Fluka, Lancaster, Novabiochem, Bachem...

Les solvants sont de qualité P.A. (pour analyse).

Les réactions sont menées dans de la verrerie séchée sous vide à la flamme et refroidie sous atmosphère inerte d'argon sauf pour les réactions s'effectuant en présence d'eau.

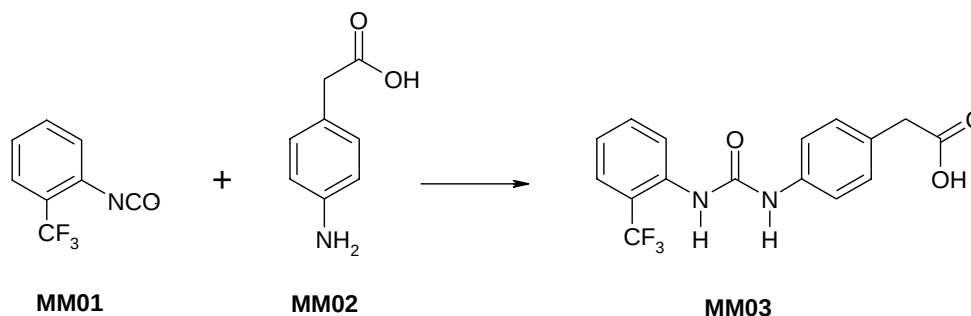
Les solvants, quand la réaction se fait en conditions inertes, sont distillés avant usage. Le dichlorométhane a été distillé sur P_2O_5 , le tétrahydrofurane sur sodium et benzophénone. L'acétonitrile et le DMF sont séchés sur tamis moléculaire (4 Å) ou achetés de qualité anhydre. Les autres solvants sont utilisés tels quels.

Chromatographies

Les chromatographies analytiques sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur plaques de silice commerciales (plaques d'aluminium recouvertes de silice de type Merck 5179, 250 mesh, avec indicateur fluorescent 60F₂₅₄, 0.25 mm d'épaisseur) et révélées à l'UV à 254 nm. Les produits sont révélés à l'acide phosphomolybdique en solution dans l'éthanol (10% P/V), à la ninhydrine en solution dans l'éthanol (10% P/V) ou avec du permanganate de potassium (3 g pour 20 g de K_2CO_3 , 5 ml de AcOH à 5 % et 300 ml d'eau). Les chromatographies préparatives sur couches minces ont été effectuées sur plaques de silice commerciales (grandes plaques de verre recouvertes de silice, de type Merck, avec indicateur fluorescent 60F₂₅₄) et révélées à l'UV à 254 nm.

Les chromatographies sur colonne à pression atmosphérique sont effectuées sur gel de silice Merck 60 (70-230 mesh ASTM). Les chromatographies-éclair sont réalisées sur gel de silice MERCK ou Rocc 60 (230-400 mesh ASTM).

Synthèse du motif diaryluréé ou acide (4-(3-(2-trifluorométhyl-phenyl)-ureido)-phenyl)-acétique



Mode opératoire :

303 mg d'acide para-aminophénylacétique sont dilués dans 5 ml de THF fraîchement distillé dans un bicol de 25 ml. On porte la solution à reflux avant d'y additionner goutte à goutte les 374 mg d' α, α, α -trifluoro-o-tolyl-isocyanate solubilisés dans 4 ml de THF. 21 mg de triéthylèneamine sont également dissous dans un minimum de THF et ajoutés goutte à goutte au milieu réactionnel. Après 2 heures d'agitation sous reflux, le solvant est évaporé sous pression réduite.

Le produit de la réaction est purifié par chromatographie sur silice flash (éluant : CH₂Cl₂, MeOH (95:5)), où il cristallise dans les tubes par évaporation lente du solvant. On récupère ainsi 610 mg de MM03 sous la forme d'un solide blanc.

Rendement : 90%

Caractérisation de MM03 :

Formule brute : C₁₆H₁₃O₃N₂F₃

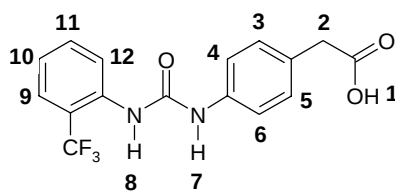
Poids moléculaire : 338.29 g/mol

Aspect : solide blanc

Point de fusion : 192.7-198°C

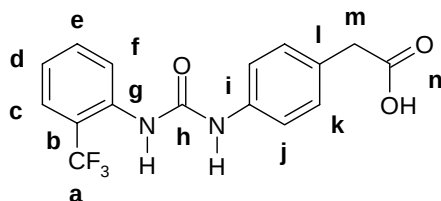
CCM : CH₂Cl₂/MeOH, 9 :1 ; R_f = 0.2

RMN ¹H (DMSO, 500 MHz):



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
12.25	br s	1	1.
9.36	s	1	8.
8.06	s	1	7.
7.93	d, $^3J_{12-11} = 8.2$ Hz	1	12.
7.66	d, $J = 7.9$ Hz	1	9.
7.62	t (dd), $^3J_{11-10}$ et $^3J_{11-12} = 8$ Hz et 7.6 Hz	1	11.
7.38	d, $^3J_{4-3}$ et $^3J_{6-5} = 8.5$ Hz	2	4., 6.
7.26	t (dd), $^3J_{10-11}$ et $^3J_{10-9} = 7.6$ Hz et 7.7 Hz	1	10.
7.16	d, $^3J_{3-4}$ et $^3J_{5-6} = 8.5$ Hz	2	3., 5.
3.48	s	2	2.

RMN ^{13}C (DMSO, 125 MHz):



172.90 (n); 152.43 (h); 137.98 (i); 136.38 (g); 132.87 (e); 129.76 (k); 128.73 (l); 125.87 (c); 125.60 (f); 124.00 (a, $^1J_{\text{CF}} = 274.5$ Hz); 123.60 (d); 119.76 (b); 118.14 (j); 40.07 (m).

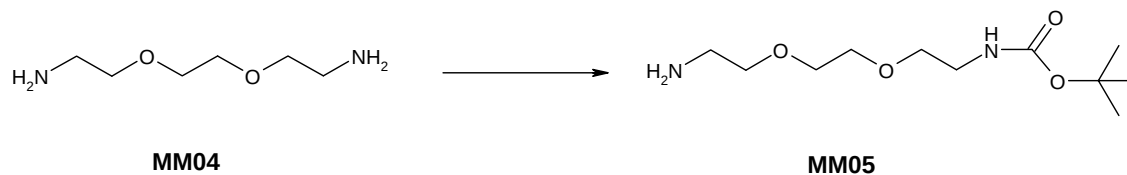
Masse (APCI): $m/z = 319.2$ ($[\text{M}]^+ - \text{F}^-$; 8); 339.1 ($[\text{M} + \text{H}]^+$; 100)

IR (NaCl, cm^{-1}): 3540 (acide carboxylique); 1652 ($\text{C}=\text{O}$ urée); 1580 (acide carboxylique); 1320 (CF_3 attaché à un cycle benzénique); 753 (benzène); 712 (NH urée)

Analyse élémentaire:

calculée pour $\text{C}_{16} \text{H}_{13} \text{O}_3 \text{N}_2 \text{F}_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$: C, 51.3% ; H, 4.57% ; N, 7.48%
trouvée : C, 50.40% ; H, 4.54% ; N, 7.03%

Synthèse du bras d'espaceur



Mode opératoire :

544 mg de MM04 sont dissous dans 7 ml de dichlorométhane. On amène le mélange à 3°C avant d'y ajouter sous agitation constante et par un goutte à goutte très lent 4 ml de dichlorométhane dans lesquels on a préalablement dissous les 122 mg de BOC₂O (l'addition se fait en 5 heures). On laisse la réaction évoluer sous agitation pendant 19 heures avant d'évaporer le solvant. L'huile recueillie est reprise par 5 ml de dichlorométhane que l'on extrait une première fois à l'eau (afin de récupérer le large excès de MM04), puis à 4 reprises par 5 ml d'une solution de NaCl saturée avant d'être séchée sur MgSO₄. On obtient ainsi 96 mg d'une huile jaune.

Rendement : 70% (calculé par rapport à BOC₂O)

Caractérisations de MM05 :

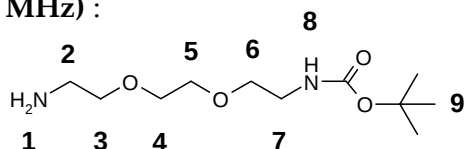
Formule brute : C₁₁H₂₄O₄N₂

Poids moléculaire : 248.32 g/mol

Aspect : huile jaune

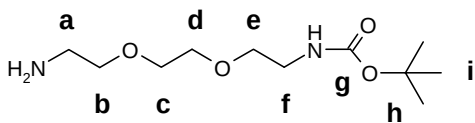
CCM : DCM/EtOH, 9 :1, R_f = 0.2

RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
5.18	br s	1	8
3.59	s	4	4., 5.
3.52	m	4	3., 6.
3.29	m	2	7..
2.88	br s	2	2.
1.76	br s	2	1.
1.44	s	9	9.

RMN ¹³C (CDCl₃, 50MHz):



156.12 (g); 79.24 (h); 73.53 (b); 70.36 (c, d); 70.17 (e); 40.66 (a); 40.48 (f); 28.54 (i).

Masse (CI) : m/z= 249 ([M+H]⁺; 20) ; 192.9 (97) ; 148.9 (100)

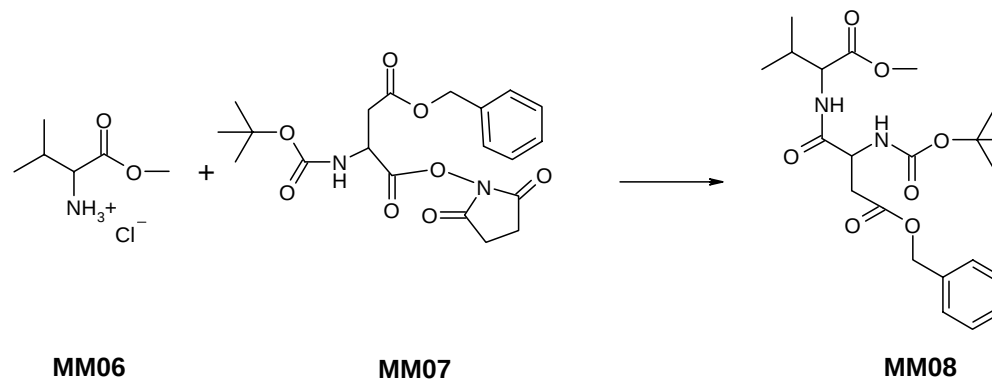
IR (cm⁻¹) : 3449 (NH₂); 2975 (t-butyl) ; 1657 (amide); 1352 (t-butyl) ; 1254 (éther); 1129 (éther).

Analyse élémentaire:

calculée pour C₁₁H₂₄O₄N₂: C, 53.21% ;H, 9.74% ;N, 11.28%

trouvée : C, 53.12% ; H, 9.64% ;N, 11.40%

Synthèse du BOC-DV-OMe ou MM08



Mode Opératoire

2 g de MM 06 et 5.47 g de MM 07 sont dissous dans 100 ml de CH₂Cl₂ et 5.5 ml de NEt₃. La réaction évolue pendant 4h sous agitation vigoureuse. Le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite. Le produit brut ainsi obtenu est repris dans un minimum de CH₂Cl₂, extrait successivement (3 fois) par une solution d'acide citrique 10 %, par de l'eau, par une solution saturée en NaHCO₃ et enfin par une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO₄ avant d'être évaporée sous pression réduite.

Rendement : 87%

Caractérisation de MM 08

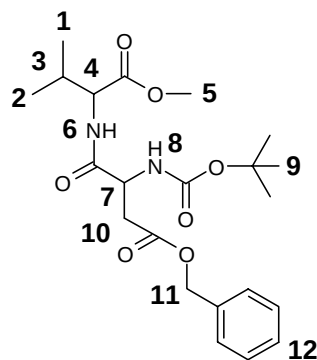
Formule brute : C₂₂H₃₂O₇N₂

Masse moléculaire : 436.51 g/mol

Aspect : huile incolore

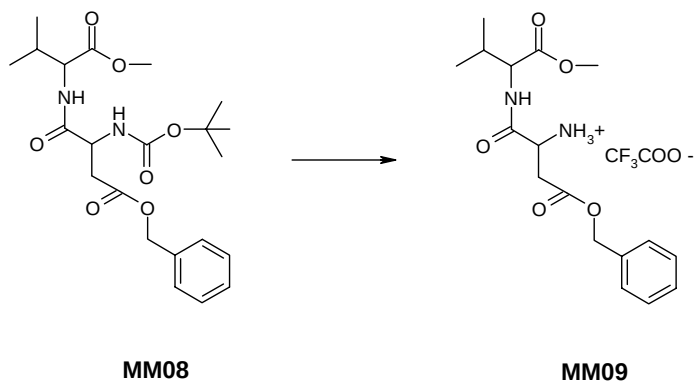
CCM : (AcOEt/MeOH, 7 :3), R_f=0.63

RMN ¹H : CDCl₃, 200 MHz



Déplacements	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.34	s large	5	12.
7.03	d, $J=8.9$ Hz	1	6.
5.75	d, $J=8.1$ Hz	1	8.
5.14	fin ABq	2	11.
4.56	d, $J_{7\ 10'}=6.3$ Hz	1	7.
4.48	d, $J_{34}=4.9$ Hz	1	4.
3.71	s	3	5.
3.04	dd, $J_{10\ 10'}=16.9$ Hz	1	10.
2.74	dd, $J_{7\ 10}=4.5$ Hz	1	10'.
2.17	m	1	3.
1.45	s	9	9.
0.91	q, $J_{13}=6.7$ Hz	6	1. et 2.

Déprotection BOC de MM08



Mode opératoire

5.17 g de MM 08 sont dissous dans un 25 mL d'un mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CF}_3\text{COOH}$ (1 :1). La réaction évolue pendant 4h. Le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite.

Rendement : quantitatif

Caractérisation de MM 09

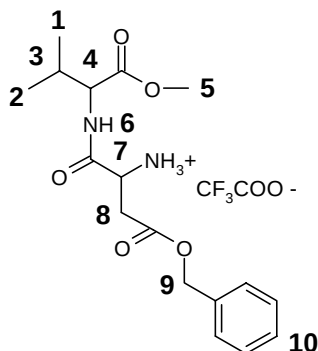
Formule brute : $C_{19}H_{25}O_7N_2F_3$ (sel), $C_{17}H_{25}O_5N_2$ (amine libre)

Masse moléculaire : 450.41 g/mol (sel), 337.39 g/mol (amine libre)

Aspect : huile incolore

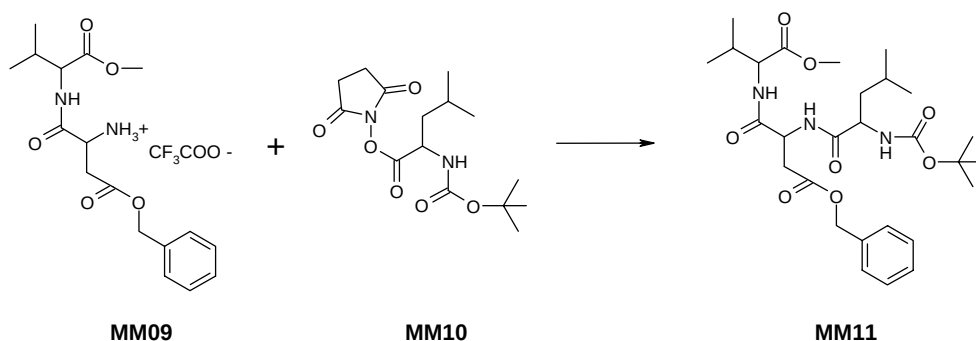
CCM : (CH_2Cl_2 /AcOEt, 1 : 1) $R_f=0.7$

RMN 1H : $CDCl_3$, 200 MHz



Déplacements	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.60	d, J=8.1 Hz	1	6.
7.34	s	5	10.
5.16	fin ABq	2	9.
4.49	m	1	4.
4.28	m	1	7.
3.54	s	3	5.
3.06	d, J=6.5 Hz	2	8.
2.07	m	1	3.
0.84	2d	6	1. et 2.

Synthèse du tripeptide LDV MM11



Mode opératoire

4.86 g de MM09 et 3.54 g de MM10 sont dissous dans 100 ml de CH_2Cl_2 et 4.5 ml de NEt_3 . La réaction évolue 4h sous agitation. Le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite. Le solide ainsi obtenu est repris dans un minimum de CH_2Cl_2 ,

extrait successivement (3 fois) par une solution d'acide citrique 10 %, par de l'eau, par une solution saturée en NaHCO₃ et enfin par une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO₄ avant d'être évaporée sous pression réduite.

Rendement : 80%

Caractérisation de MM11

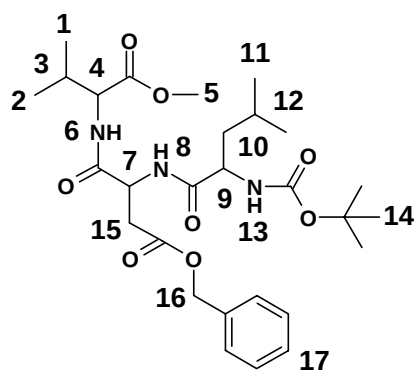
Formule brute : C₂₈H₄₃O₈N₃

Masse moléculaire : 549.67 g/mol

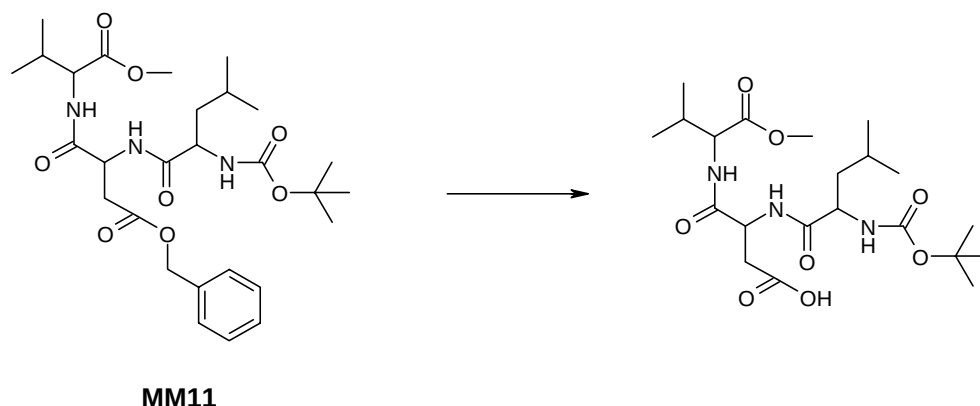
Aspect : huile incolore

CCM : (i-propanol) R=0.2

RMN ¹H : CDCl₃, 200 MHz



Déplacements	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.46	d, J=8.0 Hz	1	NH
7.35	s	5	17.
7.10	d, J=8.7 Hz	1	NH
5.14	m	2	16.
5.02	m	1	7.
4.87	m	1	NH
4.44	dd, J=5 Hz et 3.7 Hz	1	9.
3.70	s	3	5.
3.00	dd, J=4.1 Hz et 17.1 Hz	1	15.
2.73	dd, J=6.9 Hz et 17.1 Hz	1	15.
2.16	m	1	3.
1.63	m	2	10
1.43	s	9	14
0.91	m	12	1., 2., et 12.

Hydrogénation catalytique de MM11**Mode opératoire**

100 mg de MM11 sont placés dans un bicol en présence du Pd/C (10%), d'une puce magnétique et d'un septum. Le tout est séché sous pression réduite. Entre temps, deux ballons à double épaisseur sont remplis avec de l'hydrogène gazeux. Une fois MM11 sec et sous H₂, un minimum de DMF est ajouté. La réaction évolue durant 12h. Le contenu du bicol est ensuite filtré sur celite. Les rinçages et lavages se font à l'acétone. Les fractions ainsi obtenues sont évaporées sous pression réduite. Le précipité obtenu est filtré, lavé à l'eau.

Caractérisation du LDV déprotégé de son Bz

Formule brute : C₃₂H₂₀O₈N₅F₃

Masse moléculaire : 679.76 g/mol

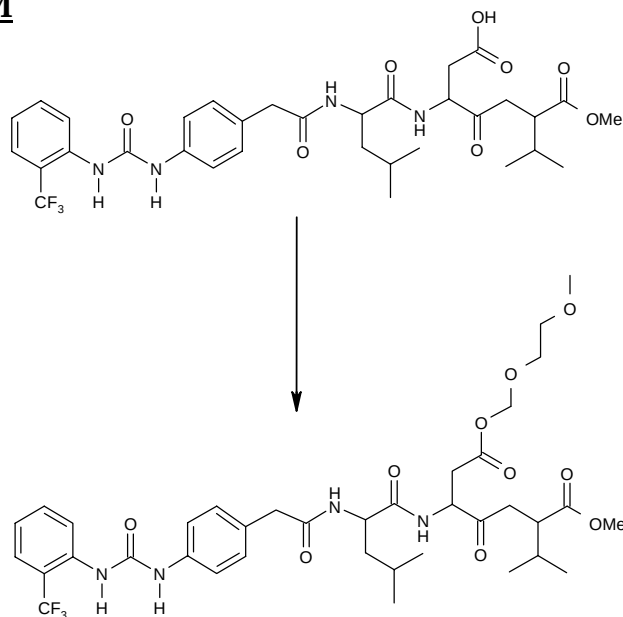
Aspect : solide blanc

CCM : (CH₂Cl₂/MeOH, 9 :1) R_f=0.2

RMN ¹H : DMSO, 200 MHz

Le spectre obtenu est identique à celui de MM11, sauf pour les protons d'attribution correspondant au CH₂-Bz., il n'y a plus de pics observés à 5.12 ppm et à 7.37 ppm.

Protection MEM



Mode opératoire

1.71 g du dérivé LDV déprotégé de son Bz sont dissous dans un minimum de DMF puis dans 10 mL d'AcOEt. 375 mg du chlorure de MEM et 1.45 g de NEt_3 sont ensuite ajoutés. La réaction évolue pendant 15 h sous agitation. Le solvant est évaporé sous pression réduite. La DMF restante est reprise avec de l'AcOEt, extrait avec une solution de NaCl saturée puis avec de l'eau. La phase organique est séchée sur MgSO_4 avant d'être évaporée sous pression réduite.

Rendement : 64 %

Caractérisation du dérivé protégé en MEM

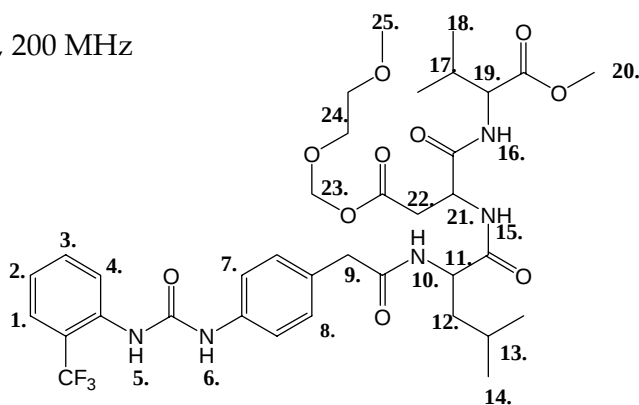
Formule brute : $\text{C}_{36}\text{H}_{28}\text{O}_{10}\text{N}_5\text{F}_3$

Masse moléculaire : 767.82 g/mol

Aspect : solide blanc

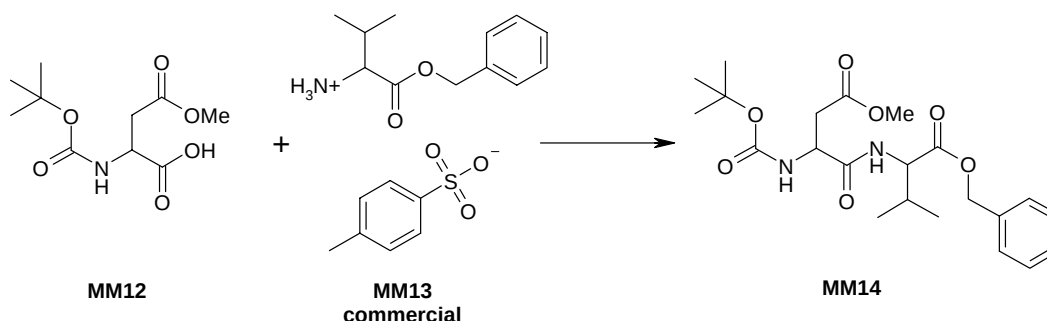
CCM : ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9 :1) $R_f=0.32$

RMN ^1H : acétone, 200 MHz



Déplacements	Multiplicité	Intégration	Attribution
8.78	bs	1	NH
8.16	d, $J_{4-3} = 8.3$ Hz	1	4.
7.87	d, $J = 8.8$ Hz	1	NH
7.66	d, $J_{1-2} = 7.9$ Hz	1	1.
7.62	m	2	NH et 3.
7.46	d, $J_{7-8} = 7.9$ Hz	2	7.
7.41	m	1	NH et 10.
7.35	m	1	NH et 16.
7.25	m	3	2. et 8.
5.29	s	2	23.
4.88	m	1	21.
4.41	d, $J = 7.5$ Hz	1	11.
4.32	d, $J = 8.6$ Hz	1	19.
3.83	s	2	24
3.67	s	3	20.
3.53	m	4	9. et 24.
3.33	s	3	25.
2.96	m	2	22.
2.07	m	1	17.
1.56	m	3	12. et 13.
0.87	m	12	14. et 18.

Synthèse du dipeptide DV : BOC-(D(OMe)-V)-OBz



Mode opératoire :

Dans un bicol flambé sous argon, 200 mg de MM12 est dissous dans 40 ml de CH_2Cl_2 distillé, auxquels sont ajoutés 1.3 ml de Et_3N . Le mélange est additionné goutte à goutte à une solution de 300 mg de MM13 et de 167 mg de DCC préalablement dissous dans 100 ml de CH_2Cl_2 . Le milieu réactionnel est agité pendant une nuit avant d'être évaporé sous pression réduite. L'huile obtenue est

reprise au CH_2Cl_2 . Un solide blanc précipite (dicyclohexylurée) et est filtré. Cette même opération est répétée jusqu'à la fin de l'observation de la précipitation. Le filtrat est ensuite extrait par une solution d'acide citrique 10% à deux reprises, ainsi qu'au NaCl saturé à deux reprises avant de sécher la phase organique au MgSO_4 . On évapore sous pression réduite avant d'obtenir 346 mg d'une huile incolore.

Rendement : 98%

Caractérisation de MM14 :

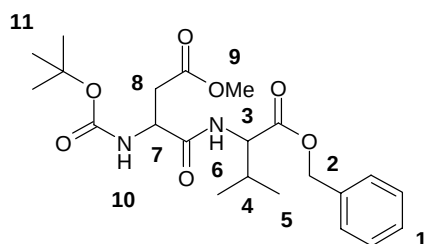
Formule brute : $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_7\text{N}_2$

Poids moléculaire : 436.51 g/mol

Aspect : huile incolore

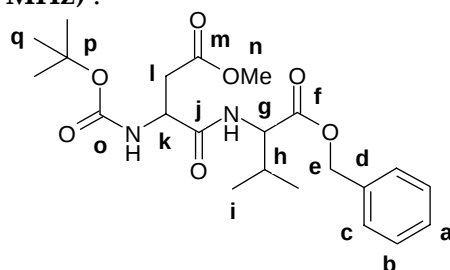
CCM : DCM/iPrOH, 9:1, $R_f = 0.8$

RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.34	s large	5	1
7.08	d, $J_{6-3} = 7.92$ Hz	1	6
5.77	d, $J_{10-7} = 7.93$ Hz	1	10
5.13	Abq $J_{2-2'} = 12.4$ et 13.21	2	2
4.50	m, $^3J_{3-4} = 4.8$ Hz	2	3, 7
3.65	s	3	9
2.93	dd, $^3J_{7-8} = 4.5$ Hz, $J_{8-8'} = 1.72$ Hz	1	8
2.65	m, $J_{7-8'} = 5.8$ Hz	1	8'
2.16	m, $J_{4-5} = 6.6$ Hz	1	4
1.43	s	9	11
0.86	m, $J_{5-4} = 6.7$ Hz	6	5

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) :



172.25 (m); 171.05(f); 170.53(j); 155.35(o); 135.14 (d); 128.35 (c); 128.18 (a); 128.09 (b); 80.23(p); 66.74(e); 57.10(g); 51.81 (n); 50.30 (k); 35.5(l); 30.9(h); 28.05 (q); 18.71-17.18 (i).

Masse (APCI) : $m/z = 437,0$ ($[M+H]^+$; 10); 381.0 (28); 338.2 (35) ; 337.2 (100).

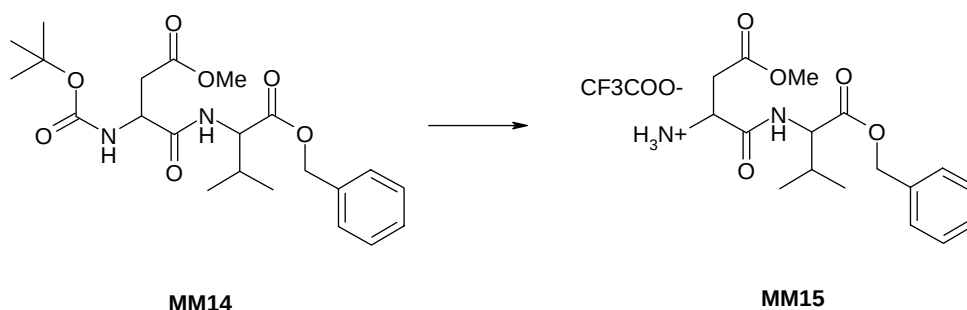
IR (NaCl, cm^{-1}) : 3056 (CH benzylique); 2926 (méthyle); 1742 (ester); 1658 (NH); 1542 (NH); 1394 (t-butyle); 1214 (ester); 706 (benzyle).

Analyse élémentaire :

calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_7\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 58.13% ; H, 7.53% ; N, 6.16%

trouvée : C, 58.85% ; H, 7.12 % ; N, 6.71%

Déprotection du DV ou synthèse du sel de NH_2 -(D(OMe)-V)-OBz



Mode opératoire :

102 mg du composé MM06 sont dissous dans 5 mL d'une solution de CH_2Cl_2 / CF_3COOH (1 :1). On laisse la réaction évoluer pendant 1 heures sous agitation. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On récupère ainsi 105 mg d'une huile incolore.

Rendement : quantitatif

Caractérisation de MM15 :

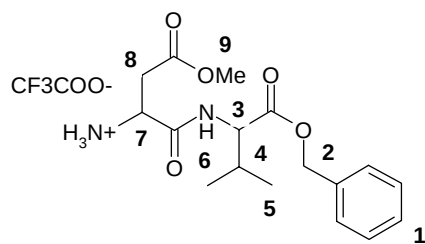
Formule brute : $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{O}_7\text{N}_2\text{F}_3$ (sel) ; $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{O}_5\text{N}_2$ (amine libre)

Poids moléculaire : 450.41 g/mol (sel) ; 337.39 (amine libre)

Aspect : huile incolore

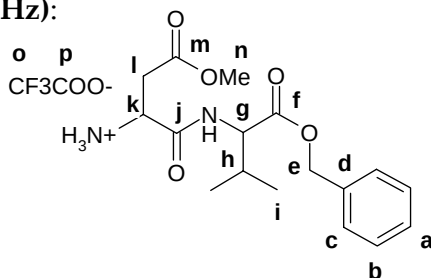
CCM : $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$, 1 :1, $R_f = 0.7$

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.6	d, J = 8.1	1	6
7.34	s	5	1
5.16	fin ABq	2	2
4.49	m	2	3, 7
3.54	s	3	9
3.06	d, J = 6.5 Hz	2	8
2.07	m	1	4
0.84	m	6	5

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50MHz):

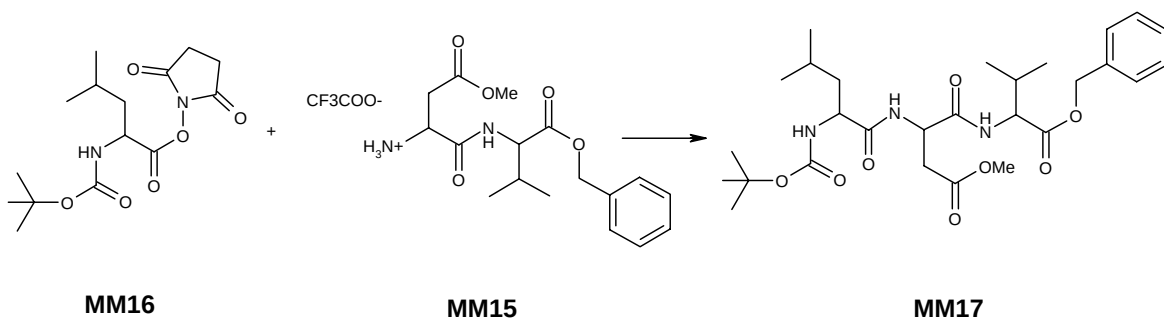


171.71 (m); 171.11 (f); 170.53(j); 161.23 (p); 134.61 (d); 128.85 (c); 128.18 (a); 128.09 (b); 115.14 (o); 68.36 (e); 58.84 (g); 52.57 (n); 50.16 (k); 35.05 (l); 30.52 (h); 18.72-17.56 (i).

Masse (APCI) : $m/z = 337.5$ ($[\text{M}]^+$ amine, 100)

IR (NaCl , cm^{-1}) : 3054 (CH benzylique); 2922 (méthyle); 1739 (ester); 1667 (NH); 1539 (NH); 1221 (ester); 712 (benzyle).

Synthèse du tripeptide Boc-(L-D(OMe)-V)-OBz



Mode opératoire :

946 mg du dérivé MM15 et 690 mg du dérivé BOC-Leu-OSu (MM16) sont dissous dans 5 ml de CH_2Cl_2 . On rajoute 4 mL de triéthylèneamine et on laisse la réaction évoluer pendant 24 heures sous agitation. Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit est ensuite repris dans 5 ml de CH_2Cl_2 et extrait par une solution d'acide citrique 10%, par de l'eau, par une solution saturée en NaHCO_3 et enfin, par une solution saturée en NaCl (3 fois à chaque étape). La phase organique est enfin séchée au MgSO_4 avant d'être évaporée et séchée sous vide. On récupère ainsi 843 mg d'une huile incolore.

Rendement : 73%

Caractérisations de MM17:

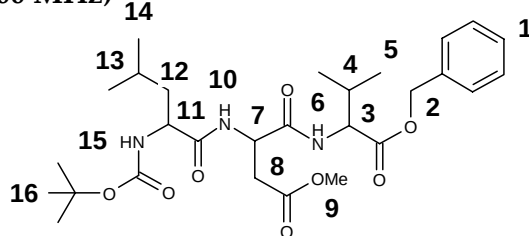
Formule brute : $\text{C}_{28}\text{H}_{43}\text{O}_8\text{N}_3$

Poids moléculaire : 549.67 g/mol

Aspect : huile incolore

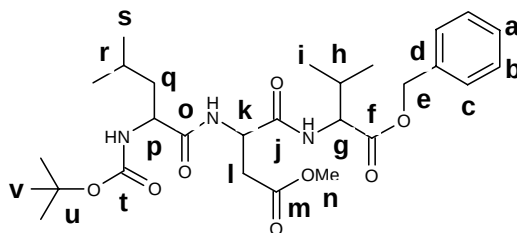
CCM : i-PrOH, $R_f = 0.2$

RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.35	s	5	1
7.10	d, $J = 8.1 \text{ Hz}$	1	6
5.65	d, $J = 7.9 \text{ Hz}$	1	15
5.10	Abq, $J_{\text{HH}} = 12.5 \text{ Hz}$	2	2
4.87	d, $J = 8.0 \text{ Hz}$	1	10
4.50	m	1	7
4.32	m	1	11
4.17	m	1	3
3.67	s	3	9
2.64	m	2	8
2.02	m	1	4
1.52	m	3	12 et 13
1.43	s	9	16
0.86	m	12	5 et 14

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) :



172.26 (m); 171.07 (f) ; 170.53 (j); 169.64 (o); 157.26 (t); 135.12 (d); 128.36 (c) ; 128.17 (a) ; 128.10 (b) ; 80.17 (u); 66.73 (e); 57.08 (g); 51.83 (n); 50.78 (p); 50.31 (k); 40.87 (q) ; 35.60 (l); 29.74 (h); 27.96 (v); 20.19 (s); 18.05 (r); 17.95 (i).

Masse (APCI) : $m/z = 549.7$ ($[\text{M}]^+$ amine, 100)

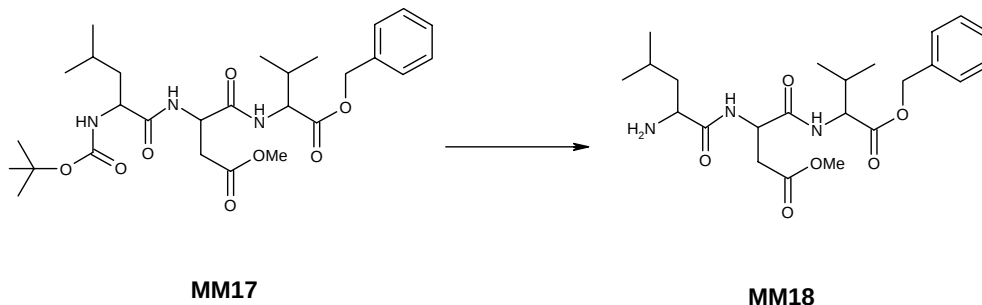
IR (cm^{-1}) : 2932 (CH_3); 1756 (ester); 1667 ($\text{C}=\text{O}$ amide) ; 1542 (NH) ; 1294 (ester).

Analyse élémentaire:

calculée pour $\text{C}_{28}\text{H}_{43}\text{O}_8\text{N}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$: C, 59.24% ;H, 7.63% ;N, 7.40%

trouvée : C, 59.12% ;H, 7.62% ;N, 7.65%

Déprotection BOC du LDV



Mode opératoire :

102 mg du composé MM17 sont dissous dans 5 mL d'une solution de CH_2Cl_2 / CF_3COOH (1 :1). On laisse la réaction évoluer pendant 1 heures sous agitation. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On reprend l'huile obtenue par 10 ml de DCM, lavé au NaOH 1M. On récupère ainsi après évaporation 83 mg d'une huile incolore.

Rendement : quantitatif

Caractérisations de MM18 :

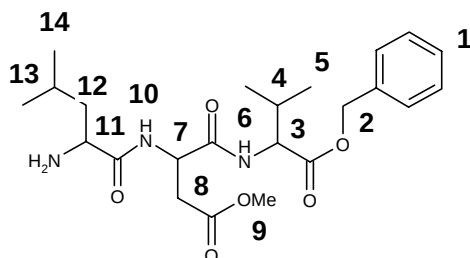
Formule brute : $C_{25}H_{36}O_8N_3F_3$ (sel) ; $C_{23}H_{35}O_6N_3$ (amine libre)

Poids moléculaire : 449.55 g/mol

Aspect : huile incolore

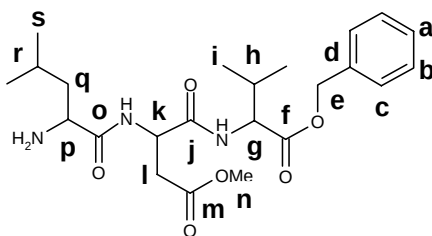
CCM : i-PrOH, $R_f = 0.2$

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.36	s	5	1
7.11	d, $J = 8.1$ Hz	1	6
5.09	Abq	2	2
4.87	d, $J = 8.0$ Hz	1	10
4.62	m	1	7
4.36	m	1	11
4.17	m	1	3
3.66	s	3	9
2.64	m	2	8
2.01	m	1	4
1.50	m	3	12 et 13
0.89	m	12	5 et 14

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 125 MHz) :

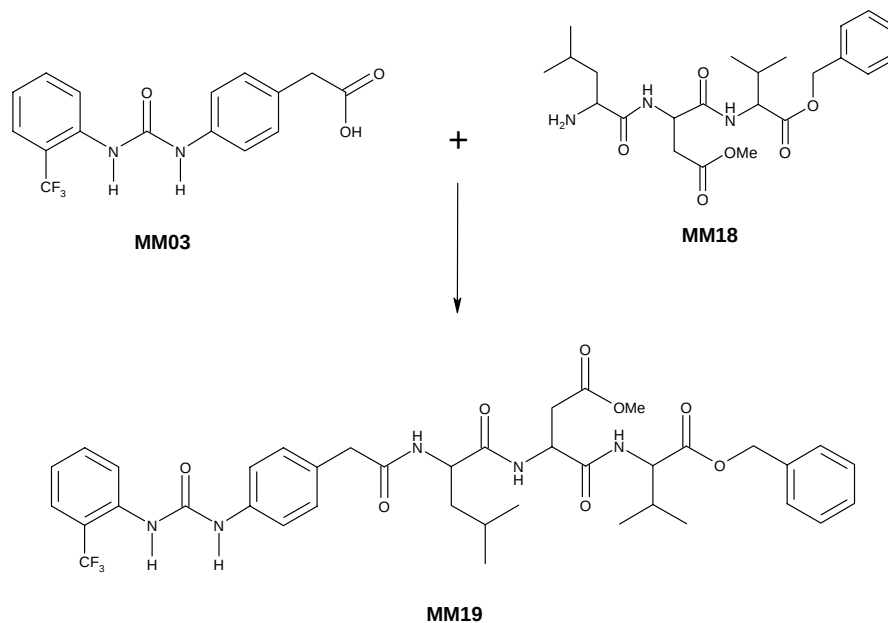


172.19 (m); 171.03 (f) ; 170.48 (j); 169.74 (o); 135.11 (d); 128.36 (c) ; 128.17 (a) ; 128.10 (b) ; 66.73 (e); 57.10 (g); 51.83 (n); 50.80 (p); 50.31 (k); 40.87 (q) ; 35.60 (l); 29.74 (h); 20.21 (s); 18.05 (r); 17.94 (i).

Masse (APCI) : $m/z = 449.8$ ($[M]^+$ amine, 100) ; 91.1 (CH_2 -Ph ; 20).

IR (cm^{-1}) : 2887(CH_3); 1758 (ester); 1672 ($C=O$ amide) ; 1615 (NH_2) ; 1542 (NH) ; 1294 (ester).

Couplage du pharmacophore au tripeptide



Mode opératoire :

On dissout successivement les 240 mg de MM03, 55 mg de WSC (*water soluble carbodiimide*) et 1 équivalent d'HOBt dans un minimum de DMF. 300 mg de MM18, dissout dans un minimum de THF est ajouté en dernier. Les 110 mg de WSC restant sont additionnés en 2 parties sur 4 heures de temps. Un reflux sous agitation vigoureuse est maintenu pendant 10 heures. La fin de la réaction est vérifiée par CCM. Le solvant est alors évaporé sous pression réduite et la DMF restante est alors reprise par une solution d'HCl 1M qui fait précipiter un solide blanc. Le précipité est filtré et lavé à l'eau et au DCM. La phase aqueuse est écartée alors que la phase organique est concentrée et laissée au repos pendant plusieurs jours, ce qui permet l'apparition d'un solide blanc. Cette opération est répétée jusqu'à la fin de l'observation de la précipitation du solide blanc. Toutes les fractions solides lavées sont réunies et séchées sous vide pour obtenir 260 mg de MM19.

Rendement : 97%

Caractérisations de MM19 :

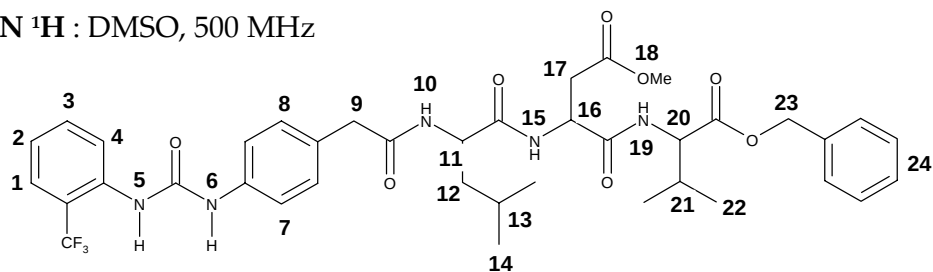
Formule brute : $C_{39}H_{46}O_8N_5F_3$

Poids moléculaire : 769.82 g/mol

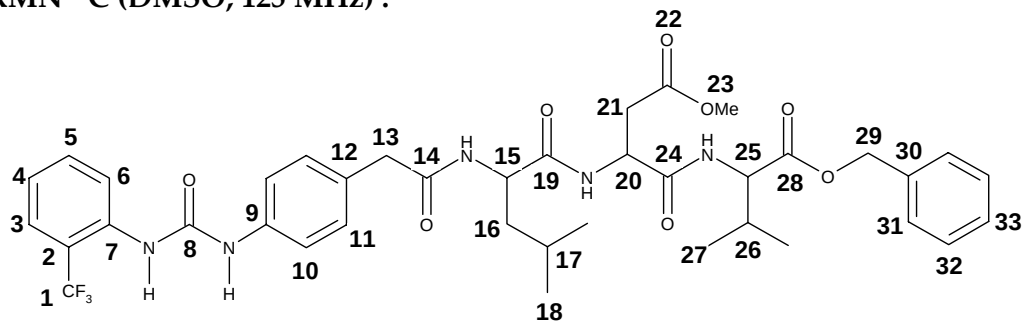
Aspect : solide blanc

Point de fusion : 189.9-191.6°C

CCM : DCM/MeOH, 95/5 ; $R_f = 0.8$

RMN ^1H : DMSO, 500 MHz

Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
8.78	s	1	5
8.16	d, $^3J_{4-3} = 8.3$ Hz	1	4
7.87	s	1	6
7.65	d, $^3J_{1-2} = 7.9$ Hz	1	1
7.62	m	2	3 et 15
7.41	m	1	10
7.36	m	8	7, 19 et 24
7.26	t (dd), $^3J_{2-1}=7.6\text{Hz}$ et $^3J_{2-3}=7.6$ Hz	1	2
7.17	m	1	8
5.12	s	2	23
4.50	m	1	16
4.31	m	1	11
4.16	m	1	20
3.67	s	3	18
3.52	s	2	9
2.64	m	2	17
2.07	m	1	21
1.56	m	1	13
1.45	m	2	12
0.86	m	12	14 et 22

RMN ^{13}C (DMSO, 125 MHz) :

172.38 (14) ; 171.94 (22) ; 171.62 (28) ; 169.73 (19) ; 169.18 (24) ; 153.75 (8) ; 139.84 (7) ; 137.84 (30) ; 138.54 (9) ; 134.2 (5) ; 131.55 (12) ; 131.16 (11) ; 129.92 (31) ; 129.53 (33) ; 129.47 (32) ; 127.34 (3) ; 126.60 (6) ; 125.57 (1) ; 124.81 (4) ; 121.24 (2) ; 120.16 (10) ;

67.53 (29) ; 59.11 (25) ; 53.56 (15) ; 52.76 (23) ; 51.26 (20) ; 43.49 (13) ; 42.33 (16) ; 37.36 (21) ; 31.80 (26) ; 26.06 (17) ; 23.98-19.01 (18 et 27).

S.M. (APCI) : 770.1 ($[M+H]^+$; 52) ; 639.0 (75) ; 450.2 (100) ; 337.2 (85).

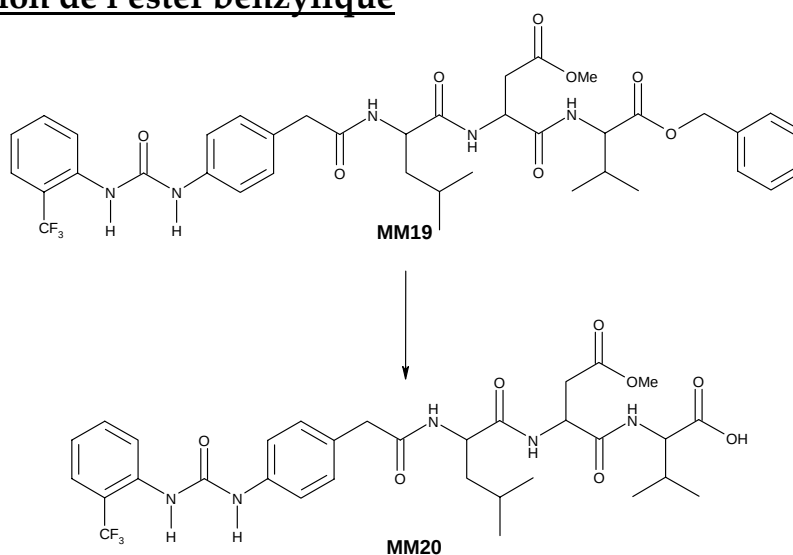
IR (cm^{-1}) : 1603 (Ph); 1540 (amides); 1509 (Ph); 1387 (CH_3); 1322 (CF_3); 1225 (ester C-O-C); 633 (CF_3); 579 (amides).

Analyse élémentaire:

calculée pour $\text{C}_{39}\text{H}_{46}\text{O}_8\text{N}_5\text{F}_3$: C, 60.85% ; H, 6.02% ; N, 9.10%

trouvée : C, 60.28% ; H, 6.48% ; N, 8.95%

Déprotection de l'ester benzylique



Mode opératoire :

On dissout 200 mg de MM19 dans un minimum de DMF. On y ajoute le catalyseur Pd/C (10%) avant de purger le système trois fois à l'argon et deux fois à l'hydrogène. Le milieu réactionnel est agité vigoureusement pendant 24 heures sous atmosphère d'hydrogène. Le lendemain, le brut est filtré sur celite, et rincé à l'acétone. On évapore le tout avant de procéder aux lavages à l'eau. Le précipité formé est ensuite mis à sécher sous vide afin d'obtenir 163 mg de MM20 sous forme d'un solide blanc.

Rendement : 92%

Caractérisations de MM20 :

Formule brute : $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{O}_8\text{N}_5\text{F}_3$

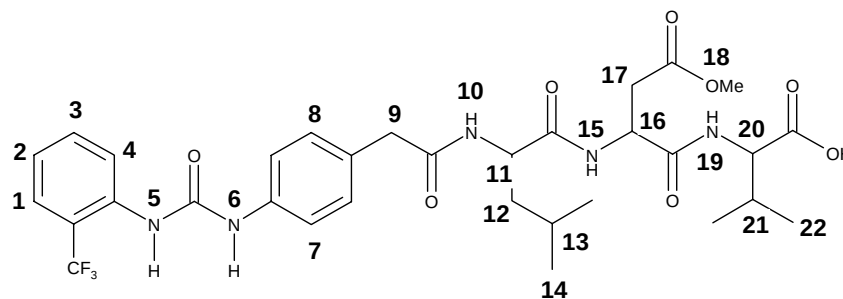
Poids moléculaire : 679.69g/mol

Aspect : solide blanc

Tf : 196-198°C

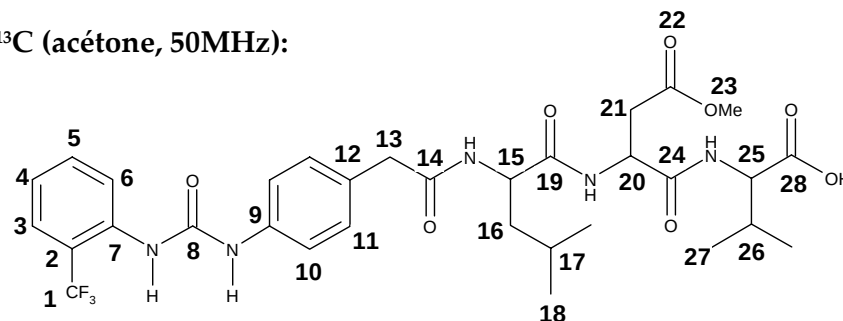
CCM : DCM/MeOH, 95/5 ; Rf = 0.3

RMN ^1H (acétone, 300 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
8.65	s	1	5
8.16	d, $^3J_{4-3} = 8.3$ Hz	1	4
7.66	m	4	1, 3, 6 et 15
7.38	m	4	7, 10 et 19
7.26	m	1	2
7.17	m	1	8
4.50	m	1	16
4.31	m	1	11
4.16	m	1	20
3.60	m	5	9 et 18
2.65	m	2	17
2.06	m	1	21
1.57	m	1	13
1.47	m	2	12
0.90	m	12	14 et 22

RMN ^{13}C (acétone, 50MHz):

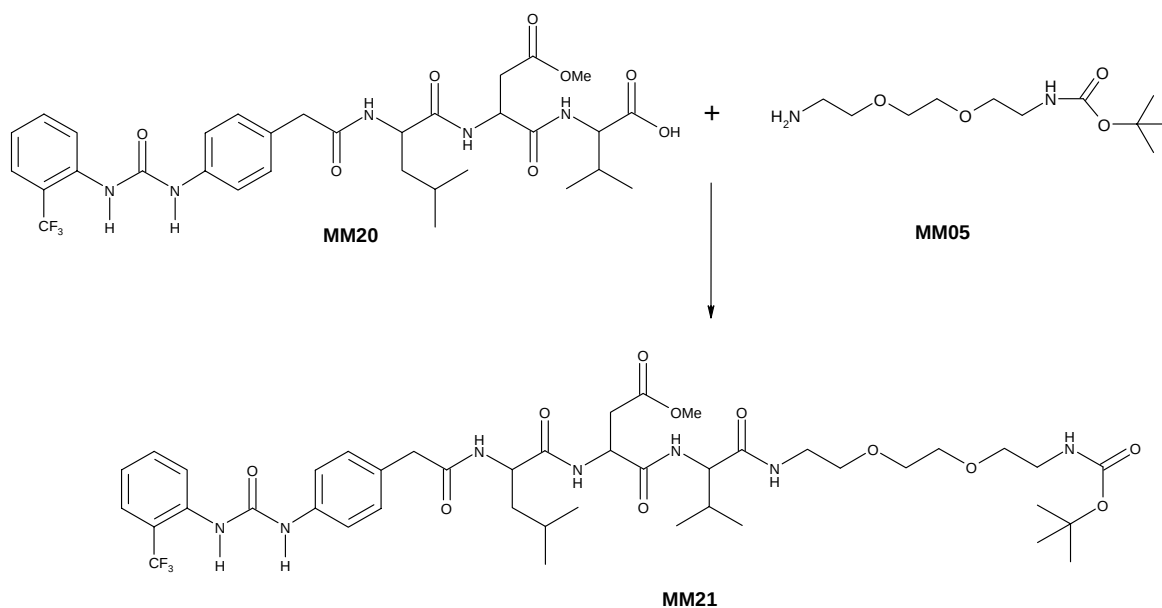


172.73 (14) ; 171.89 (22) ; 171.37 (28) ; 169.67 (19) ; 169.25 (24) ; 153.78 (8) ; 139.86 (7) ; 138.52 (9) ; 134.12 (5) ; 131.65 (12) ; 131.13 (11) ; 127.34 (3) ; 126.62 (6) ; 125.55 (1) ;

124.82 (4) ; 121.23 (2) ; 120.17 (10) ; 59.11 (25) ; 53.58 (15) ; 52.62 (23) ; 51.22 (20) ; 43.49 (13) ; 42.34 (16) ; 37.42 (21) ; 31.80 (26) ; 26.10 (17) ; 23.83-19.15 (18 et 27).

S.M. (APCI) : 680.3 ([M+H]⁺; 43) ; 450.3 (100) ; 337.1 (65).

Couplage final au bras d'espacement



Mode opératoire :

On dissout successivement les 200 mg de MM20 et 56 mg de WSC (*water soluble carbodiimide*) dans un minimum de DMF. Les 73 mg de MM05, dissous dans un minimum de THF sont ajoutés en dernier. Les 112 mg de WSC restants sont additionnés sur 3 heures de temps. Le milieu réactionnel est porté à 50°C et maintenu sous agitation vigoureuse pendant 10 heures. Le solvant est alors évaporé sous pression réduite et la DMF restante est lavée par trois extraction successives AcOEt/eau, NaHCO₃ et NaCl saturé. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et évaporée sous vide pour obtenir 260 mg de MM21.

Rendement : 55%

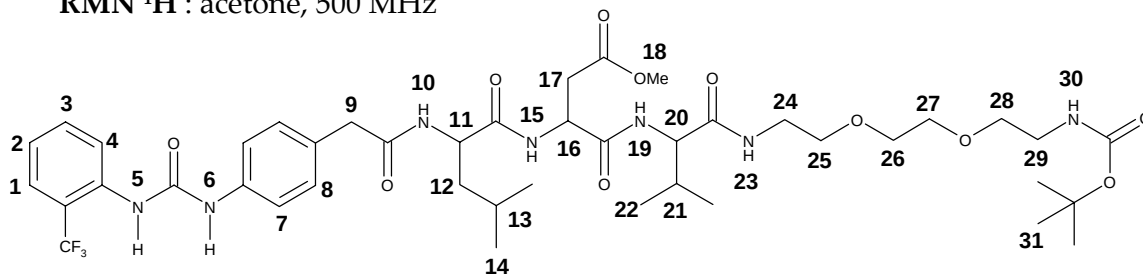
Caractérisation de MM21 :

Formule brute : C₄₃H₆₂O₁₁N₇F₃

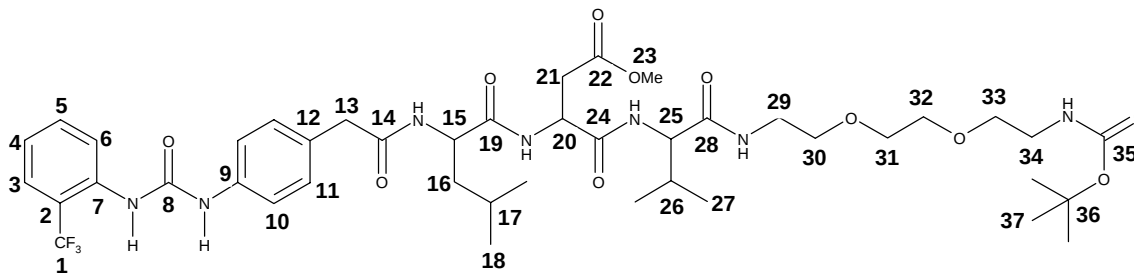
Poids moléculaire : 910.00 g/mol

Aspect : huile jaune

CCM : DCM/MeOH, 95 :5, R_f = 0.2

RMN ^1H : acétone, 500 MHz

Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
8.75	s	1	5
8.11	d, $^3J_{4-3} = 8.3$ Hz	1	4
7.66	m	4	1, 3, 6 et 15
7.38	m	4	7, 10 et 19
7.25	m	1	2
7.14	m	1	8
6.72	bs	1	23
4.50	m	1	16
4.31	m	1	11
4.16	m	1	20
3.60	m	9	9, 18, 26 et 27
3.49	m	4	25 et 28
3.43	m	3	24 et 30
2.85	m	2	29
2.65	m	2	17
2.06	m	1	21
1.57	m	1	13
1.47	m	11	12 et 31
0.90	m	12	14 et 22

RMN ^{13}C : acétone, 125 MHz

172.73 (14); 172.19 (28); 171.89 (22); 169.77 (19); 169.25 (24); 155.98 (35);
 153.78 (8); 139.86 (7); 138.52 (9); 134.12 (5); 131.65 (12); 131.13 (11); 127.34 (3);
 126.62 (6); 125.55 (1); 124.82 (4); 121.23 (2); 120.17 (10); 80.36 (36); 73.12 (30);
 70.36 (31); 70.06 (32); 69.50 (33); 59.11 (25); 53.58 (15); 52.76 (23); 51.22 (20);

43.49 (13) ; 42.34 (16) ; 41.62 (34) ; 39.45 (29) ; 37.42 (21) ; 31.80 (26) ; 28.03 (37) ; 26.10 (17) ; 26.06 (27) ; 23.83-19.15 (18).

S.M. (APCI): 911.2 ($[M+H]^+$; 37)

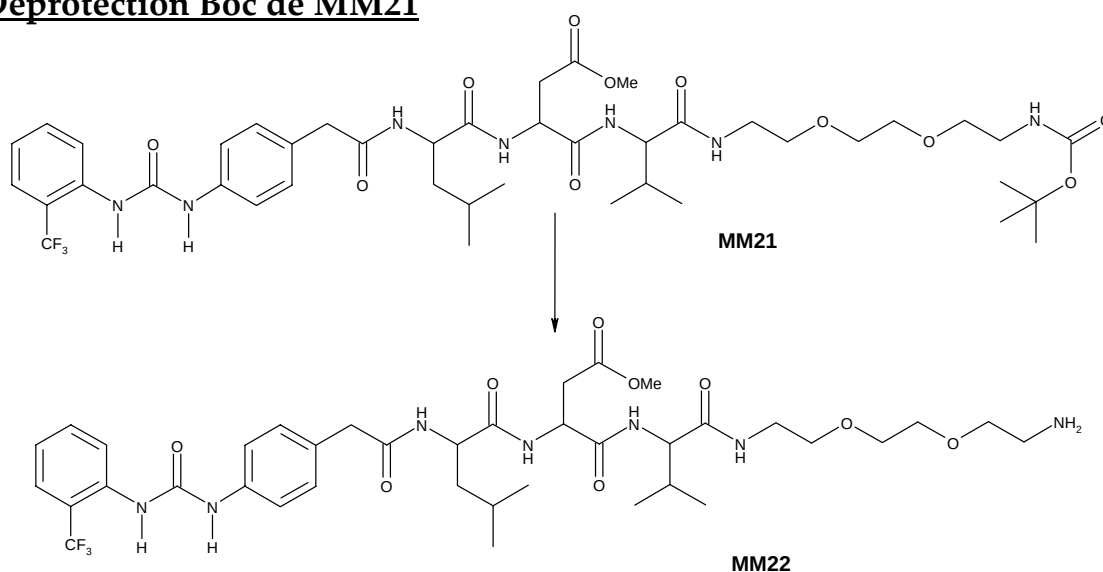
IR (cm⁻¹) : 2954 (CH₃); 1760 (C=O ester) ; 1652 (amides); 1492 (Ph); 1324 (CF₃).

Analyse élémentaire:

calculée pour C₄₃H₆₂O₁₁N₇F₃: C, 56.76% ;H, 6.87% ;N, 10.77%

trouvée : C, 56.45% ;H, 6.49% ;N, 10.39%

Déprotection Boc de MM21



Mode opératoire :

On dissout 100 mg de MM21 dans un minimum d'une solution de DCM/TFA, 1 :1. On laisse la réaction évoluer à température ambiante pendant 30 minutes avant d'évaporer le milieu réactionnel. Le milieu est repris dans un minimum de NaOH 0.1M et d'AcOEt. On extrait la phase organique à 2 reprises avant de la laver à l'eau et de l'évaporer sous pression réduite. Le produit obtenu est séché sous vide pour nous donner 88 mg d'une huile jaune.

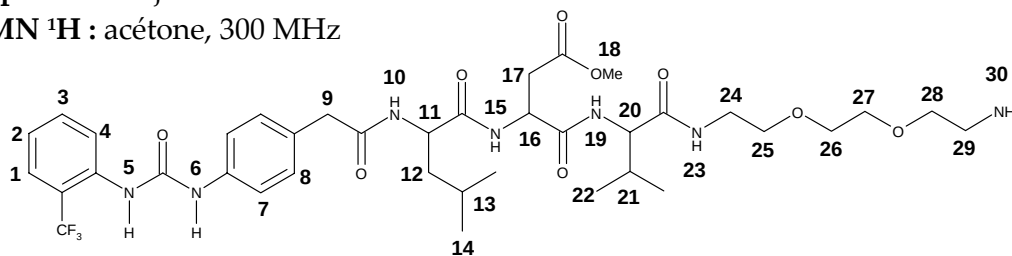
Rendement : quantitatif

Caractérisations de MM22 :

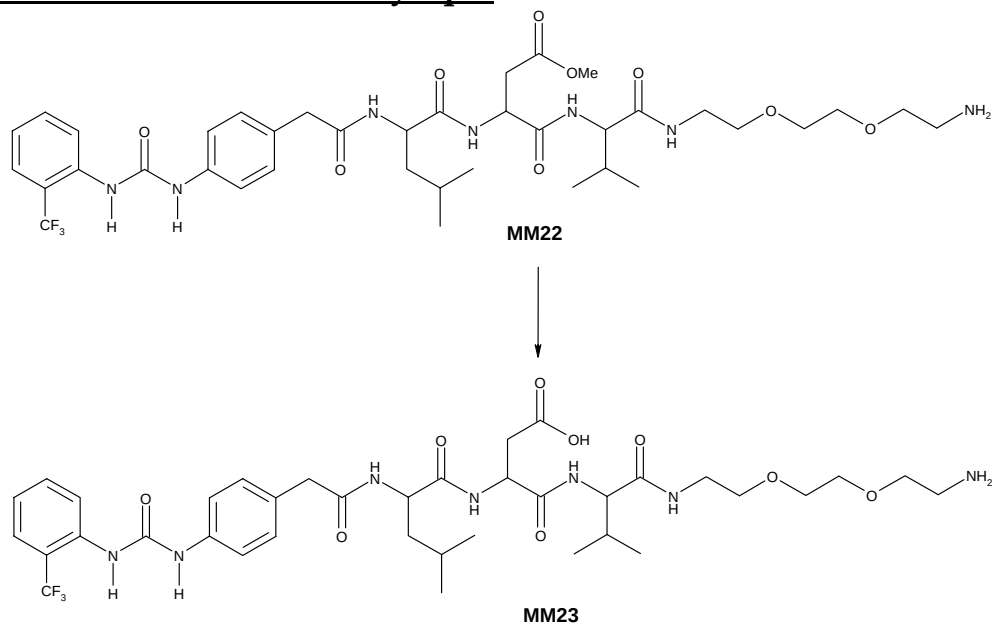
Formule brute : C₃₈H₅₄O₉N₇F₃

Poids moléculaire : 809.88 g/mol

Aspect : huile jaune

RMN ^1H : acétone, 300 MHz

Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
8.69	s	1	5
7.94	d, $^3J_{4-3} = 8.2$ Hz	1	4
7.65	m	4	1, 3, 6 et 15
7.38	m	4	7, 10 et 19
7.20	m	2	2 et 8
6.72	bs	1	23
4.50	m	1	16
4.31	m	1	11
4.16	m	1	20
3.60	m	9	9, 18, 26 et 27
3.47	m	6	24, 25 et 28
2.86	m	2	29
2.65	m	2	17
2.07	m	1	21
1.57	m	1	13
1.48	m	2	12
0.88	m	12	14 et 22

S.M. (APCI): 810.5 ($[\text{M}+\text{H}]^+$; 49)**Déprotection de l'ester méthylique**

Mode opératoire :

60 mg de MM22 sont dissous dans 3 mL d'acétone. 1mL d'une solution de LiOH 1M est additionné au milieu réactionnel. La réaction est maintenue sous agitation vigoureuse pendant 30 minutes avant d'évaporer le tout. L'huile obtenue est lavée à l'HCl 0.1M sous agitation, puis à l'eau. Le produit obtenu est séché sous vide pour nous donner 47 mg d'une huile brune.

Rendement : 80%

Caractérisations de MM23 :

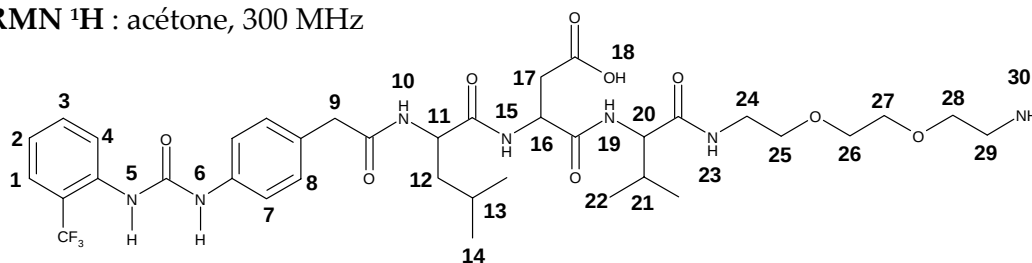
Formule brute : $C_{37}H_{52}O_9N_7F_3$

Poids moléculaire : 795.86 g/mol

Aspect : huile brune

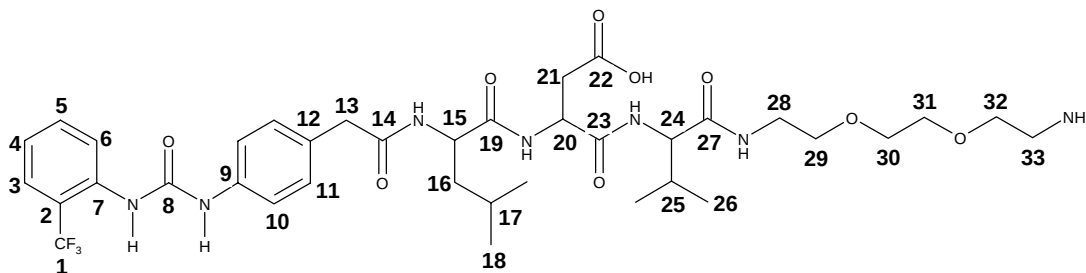
CCM : DCM/MeOH, 9 :1, $R_f = 0.2$

RMN 1H : acétone, 300 MHz



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
8.69	s	1	5
7.94	d, $^3J_{4-3} = 8.3$ Hz	1	4
7.65	m	4	1, 3, 6 et 15
7.38	m	4	7, 10 et 19
7.20	m	2	2 et 8
6.72	bs	1	23
4.50	m	1	16
4.31	m	1	11
4.16	m	1	20
3.60	m	9	9, 18, 26 et 27
3.47	m	6	24, 25 et 28
2.86	m	2	29
2.65	m	2	17
2.07	m	1	21
1.57	m	1	13
1.48	m	2	12
0.88	m	12	14 et 22

RMN ^{13}C : acétone, 50MHz



172.73 (14) ; 172.19 (27) ; 171.89 (22) ; 169.77 (19) ; 169.25 (23) ; 155.98 (35) ;
 153.78 (8) ; 139.86 (7) ; 138.52 (9) ; 134.12 (5) ; 131.65 (12) ; 131.13 (11) ; 127.34 (3) ;
 126.62 (6) ; 124.82 (4) ; 121.23 (2) ; 120.17 (10) ; 73.12 (29) ; 70.36 (30) ; 70.06 (31) ;
 69.50 (32) ; 59.11 (24) ; 53.58 (15) ; 51.22 (20) ; 43.49 (13) ; 42.34 (16) ; 41.62 (33) ;
 39.45 (28) ; 37.42 (21) ; 31.80 (25) ; 26.08 (17 et 26) ; 23.83-19.15 (18).

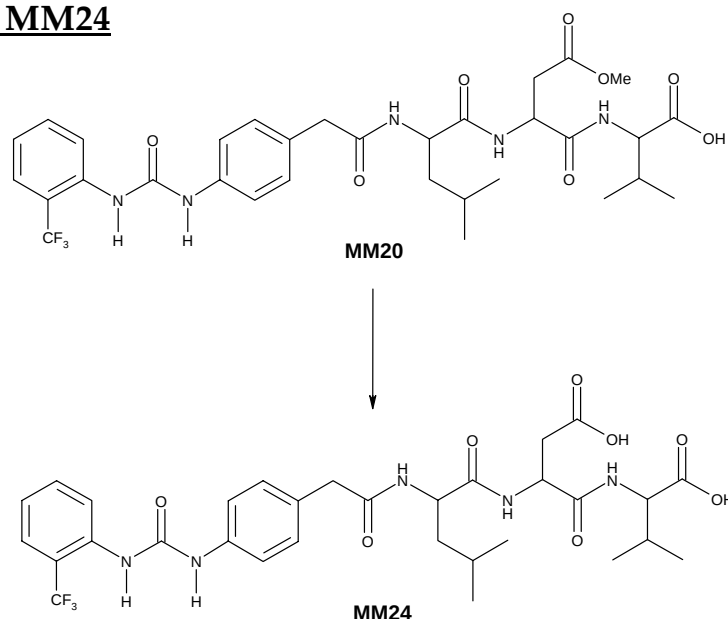
S.M. (APCI): 796.8 ($[\text{M}+\text{H}]^+$; 22)

Analyse élémentaire:

calculée pour $\text{C}_{37}\text{H}_{52}\text{O}_9\text{N}_7\text{F}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$: C, 52.29% ;H, 6.88% ;N, 11.54%

trouvée : C, 52.08% ;H, 6.99% ;N, 11.37%

Synthèse de MM24



Mode opératoire :

100 mg de MM20 sont dissous dans un minimum de DMF, dilué avec 2 mL d'acétonitrile. 3 mL de LiOH 1 M sont ajoutés avant de porter le milieu

réactionnel à reflux à 40°C sous agitation. La réaction évolue pendant 24 heures avant d'évaporer le solvant sous pression réduite. La DMF restante est reprise par une solution d'HCl 1M et extraite à l'AcOEt. La phase organique est extraite par une solution saturée en NaCl, de l'eau avant d'être séchée sur MgSO₄ et évaporée sous pression réduite. On obtient ainsi 46 mg d'un solide blanc.

Rendement : 55%

Caractérisations de MM24 :

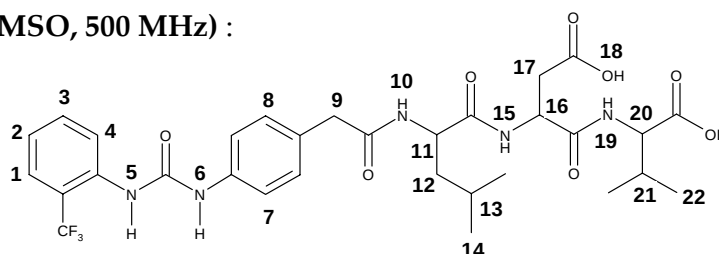
Formule brute : C₃₁H₃₈O₈N₅F₃

Poids moléculaire : 568.59 g/mol

Aspect : solide blanc

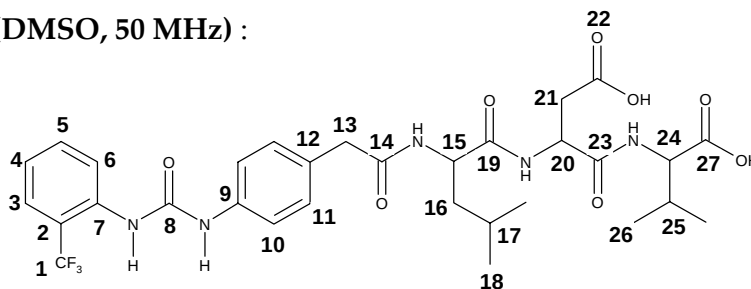
CCM : DCM/MeOH, 95:5 R_f = 0.2

RMN ¹H (DMSO, 500 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
8.78	s	1	5
8.16	d, ³ J ₄₋₃ = 8.3 Hz	1	4
7.66	m	4	1, 3, 6 et 15
7.38	m	4	7, 10 et 19
7.25	m	2	2 et 8
4.50	m	1	16
4.32	m	2	11 et 20
3.52	m	5	9
2.65	m	2	17
2.07	m	1	21
1.57	m	1	13
1.47	m	2	12
0.88	m	12	14 et 22

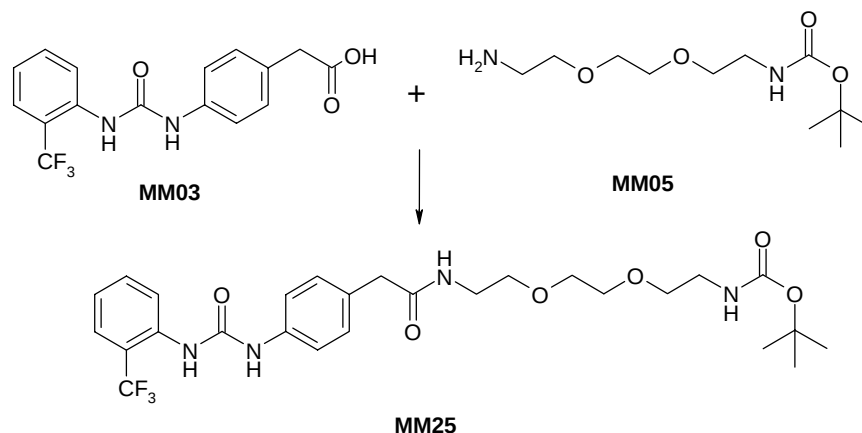
RMN ¹³C (DMSO, 50 MHz) :



172.24 (14) ; 171.75 (22) ; 171.36 (27) ; 169.78 (19) ; 169.25 (23) ; 153.78 (8) ; 139.86 (7) ; 138.52 (9) ; 134.15 (5) ; 131.64 (12) ; 131.13 (11) ; 127.34 (3) ; 126.62 (6) ; 124.82 (4) ; 120.17 (10) ; 59.11 (24) ; 53.62 (15) ; 52.76 (23) ; 51.22 (20) ; 43.55 (13) ; 42.43 (16) ; 37.42 (21) ; 31.81 (25) ; 26.10 (17) ; 23.93-19.14 (18).

S.M. (APCI) : 569.4 ($[M+H]^+$; 22) ; 451.2 (100) ; 337.2 (52).

Couplage du diarylurée au bras



Mode opératoire :

367 mg de MM03 sont dissous dans 10 mL de THF, on y ajoute 193 mg de carbodiimide et enfin les 268 mg de bras et 2 mL de DCM. Le milieu réactionnel est agité vigoureusement pendant 3h30, avant de porter le milieu à 50°C pendant 30 minutes. Le milieu réactionnel est évaporé sous pression réduite. Le brut obtenu est chromatographié sur silice flash en utilisant l'AcOEt comme éluant. Les fractions sont rassemblées, évaporées et mises à sécher sous vide pour obtenir 336 mg d'un solide jaune.

Rendement : 55%

Caractérisations de MM24 :

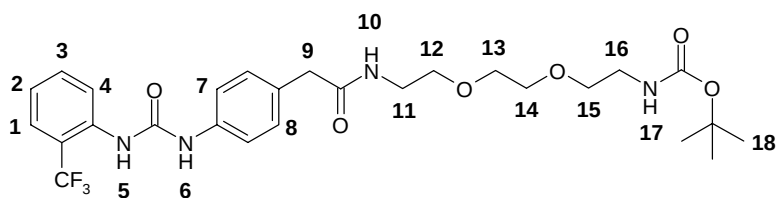
Formule brute : $C_{27}H_{35}O_6N_4F_3$

Poids moléculaire : 568.59 g/mol

Aspect : poudre jaune

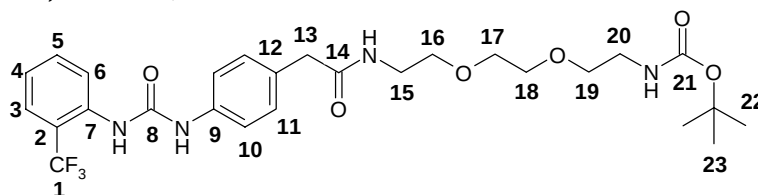
CCM : AcOEt/MeOH, 7 :3, R_f = 0.23

RMN 1H ($CDCl_3$, 300 MHz) :



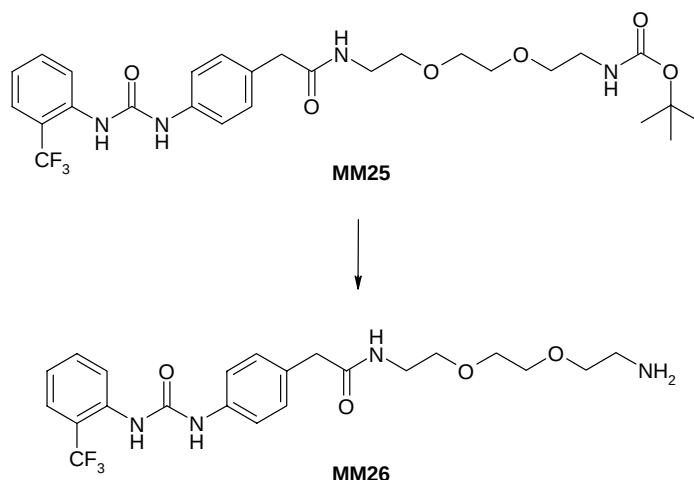
Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
8.68	s	1	5
8.12	d, $^3J_{4-3} = 8.3$ Hz	1	4
7.82	s	1	6
7.52	m	1	1
7.49	m	1	3
7.16	m	1	7
7.11	m	1	2
7.06	m	1	8
6.42	t, $^3J_{10-11} = 5.38$ Hz	1	10
3.56	m	4	13 et 14
3.49	m	6	9, 12 et 15
3.42	m	3	11 et 17
2.85	t, $^3J_{16-15} = 5.13$ Hz	2	16
1.43	s	9	18

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) :



172.19 (13) ; 156.16 (21); 153.02 (8) ; 137.82 (9) ; 136.52 (7) ; 132.47 (5) ; 129.46 (11) ; 129.19 (12) ; 125.76 (3) ; 124.65 (6) ; 123.04 (1) ; 122.94 (4) ; 120.44 (10) ; 119.80 (2) ; 80.42 (22); 72.87 (16) ; 70.21 (17) ; 69.93 (18) ; 69.52 (19) ; 42.79 (13) ; 41.40 (20) ; 39.30 (15); 27.95 (23).

S.M. (APCI): 569 ($[\text{M}+\text{H}]^+$; 38)

Déprotection Boc de MM25**Mode opératoire :**

50 mg du composé MM25 sont dissous dans 3 mL d'une solution de CH_2Cl_2 / CF_3COOH (1 :1). On laisse la réaction évoluer pendant 30 minutes sous agitation. Le solvant est évaporé sous pression réduite. On reprend l'huile obtenue par 5 mL de DCM, lavé au NaOH 1M. On récupère ainsi après évaporation 43 mg d'une huile incolore.

Rendement : 98%

Caractérisations de MM26 :

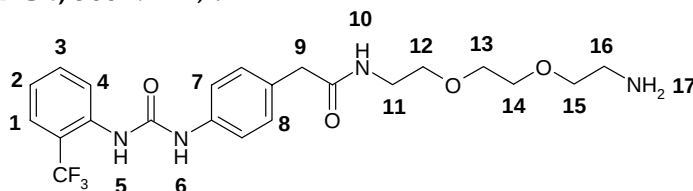
Formule brute : $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{O}_4\text{N}_4\text{F}_3$

Poids moléculaire : 468.48g/mol

Aspect : huile incolore

CCM : DCM/MeOH, 1 :1, $R_f = 0.2$

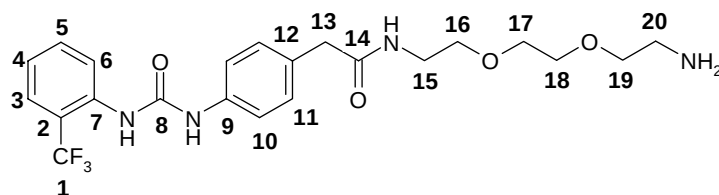
RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
8.80	s	1	5
8.09	d, $^3J_{4-3} = 8.3 \text{ Hz}$	1	4
7.57	s	1	6

7.54	m	1	1
7.48	m	1	3
7.14	m	1	7
7.11	m	1	2
7.04	m	1	8
6.69	t, $^3J_{10-11} = 5.36$ Hz	1	10
3.55	m	4	13 et 14
3.50	m	4	12 et 15
3.49	m	2	9
3.43	m	2	11
3.42	m	2	17
2.86	t, $^3J_{16-15} = 5.15$ Hz	2	16

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) :



172.19 (14) ; 153.02 (8) ; 137.82 (9) ; 136.52 (7) ; 132.47 (5) ; 129.46 (11) ; 129.19 (12) ; 125.76 (3) ; 124.65 (6) ; 123.04 (1) ; 122.94 (4) ; 120.44 (10) ; 119.80 (2) ; 72.87 (16) ; 70.21 (17) ; 69.93 (18) ; 69.52 (19) ; 42.79 (13) ; 41.40 (20) ; 39.30 (15).

S.M.(APCI) : $m/z = 469$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$; 29)

IR (cm^{-1}) : 1648 (urée) ; 1590 (Ph) ; 1315 (Ar- CF_3) ; 1123 (C-O-C).

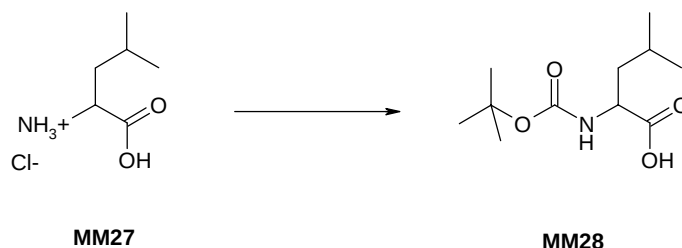
Analyse élémentaire:

calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{O}_4\text{N}_4\text{F}_3$: C, 56.40% ;H, 5.81% ;N, 11.96%

trouvée : C, 56.69% ;H, 5.98% ;N, 11.55%

Synthèse des tripeptides LLG et CBz-LLG munis de leur bras d'ancrage

Protection BOC de la leucine



Mode opératoire :

1.02 g de leucine MM27 (commerciale) sont dissous dans 10 mL d'une solution de dioxane/eau, 1 :2 préalablement refroidie à 0°C. On y ajoute 15 mL d'une solution de NaOH 1M avant d'y introduire 2.65 g de (BOC)₂O. On laisse le milieu réactionnel revenir à température ambiante et sous agitation vigoureuse pendant 15h. Le lendemain, le milieu réactionnel est acidifié jusqu'à pH 1 à l'aide d'une solution d'HCl 1M. La phase aqueuse est alors extraite à trois reprises par 50 mL d'AcOEt. Les phases organiques sont regroupées, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées sous pression réduite. On obtient ainsi 1.71 g d'une huile incolore après séchage sous vide.

Rendement : 95%

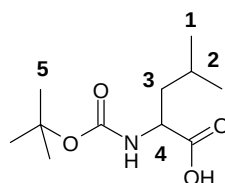
Caractérisation de MM28:

Formule brute : C₁₁H₂₁O₄N

Poids moléculaire : 231.29 g/mol

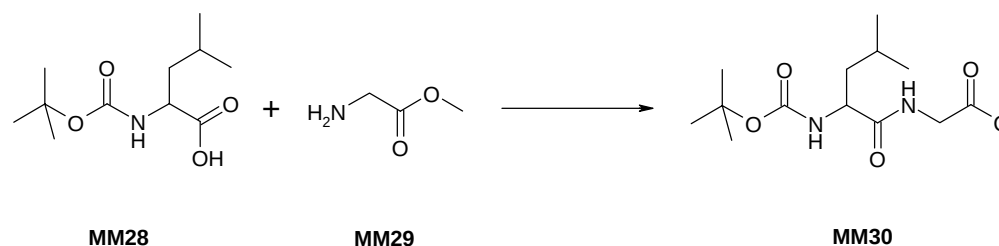
Aspect : huile incolore

RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
4.20	m	1	4
1.70	m	3	2 et 3
1.44	s	9	5
0.96	d, ³ J ₁₋₂ = 6 Hz	6	1

Synthèse du dipeptide BOC-(Leu-Gly)-OCH₃



Mode opératoire :

2 g de leucine protégée en BOC MM28 sont dissous dans du DCM préalablement refroidi à 0°C. On y ajoute sous agitation une quantité catalytique de DMAP (4, 4-diméthylaminopyridine) et 770 mg de l'ester méthylique de la glycine MM29 (commercial). Dans une ampoule à brome, on laisse couler par un goutte à goutte lent une solution de triéthylamine diluée dans du DCM, avant d'y additionner les 1.75g de DCC (dicyclohexylcarbodiimide). Une fois l'addition terminée, on laisse le milieu réactionnel revenir à température ambiante et sous agitation vigoureuse pendant 2 h. Le lendemain, le milieu réactionnel est filtré de sa DCU (dicyclohexylurée). Le filtrat est lavé par une 50 mL d'une solution d'acide citrique à 10% à trois reprises, et par une solution de NaCl saturé (3 fois 50 mL). La phase organique est séchée, filtrée et maintenue au réfrigérateur pour la nuit. Le lendemain, le solide cristallin blanc est éliminé par filtration. Cette opération est renouvelée jusqu'à la disparition totale de précipitation. Le filtrat résiduel est alors chromatographié sur gel de silice en utilisant le mélange DCM/MeOH, 95 :5 comme éluant. Les fractions contenant le composé à R_f=0.31 sont rassemblées et évaporées sous vide pour donner 1.163 g d'un solide blanc hygroscopique.

Rendement : 44%

Caractérisation de MM30:

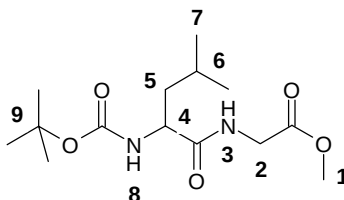
Formule brute : C₁₄H₂₆O₅N₂

Poids moléculaire : 302.37 g/mol

Aspect : solide blanc

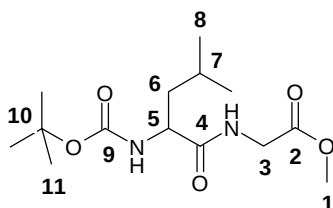
CCM : R_f=0.31 (DCM/MeOH, 95 :5)

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) :



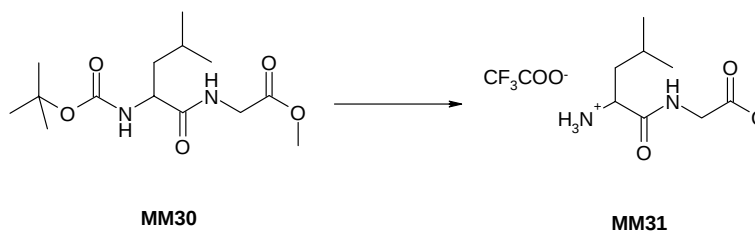
Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
6.72	bs	1	3
4.94	d, $^3J_{8-4} = 7.9$ Hz	1	8
4.17	bs	1	4
4.03	d, $^3J_{2-3} = 5.4$ Hz	2	2
3.74	s	3	1
1.58	m	3	6 et 5
1.44	s	9	9
0.92	m, $^3J_{6-7, 7'} = 6.1$ Hz	3	7
0.94	m	3	7'

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) :



172.75 (4) ; 170.01 (2) ; 155.62 (9) ; 80.05 (10) ; 52.81 (5) ; 52.20 (1) ; 41.11 (6) ; 41.01 (3) ; 28.17 (11) ; 24.59 (7) ; 22.83 (8) ; 21.77 (8').

Déprotection BOC du dipeptide BOC-(Leu-Gly)-OCH₃



Mode opératoire :

204 mg de MM30 sont dissous dans 10 mL de CH_2Cl_2 sous agitation avant d'y additionner 10 mL d'acide trifluoroacétique (TFA). Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 15 minutes avant d'être évaporé sous pression réduite. On obtient ainsi 213 mg d'une huile incolore.

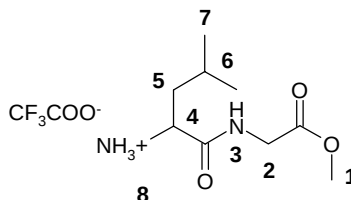
Rendement : quantitatif

Caractérisations de MM31:

Formule brute : $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{O}_5\text{N}_2\text{F}_3$

Poids moléculaire : 316.28 g/mol

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.79	m	1	3
7.56	bs	3	8
4.33	bs	1	4
4.10	m	2	2
3.80	s	3	1
1.74	m	3	6 et 5
0.96	m	6	7

[O-]C(=O)C(F)(F)F

9

CF₃COO⁻

10

8

7

6

5

4

3

2

1

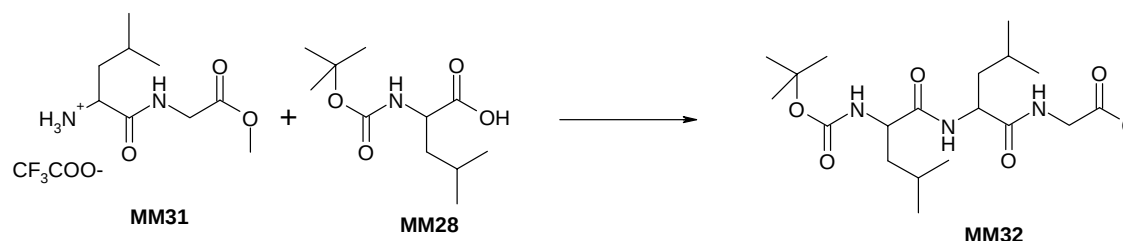
H₃N⁺

O

O

172.75 (4); 170.01 (2); 161.40 (10); 155.62 (9); 116.28 (9); 80.05 (10); 52.81 (5); 52.20 (1); 41.11 (6); 41.01 (3); 28.17 (11); 24.59 (7); 22.83 (8); 21.77 (8').

Synthèse du tripeptide Boc-(L-L-G)-OCH₃



Mode opératoire :

650 mg de MM28 sont dissous dans 10 mL de CH_2Cl_2 refroidi à 0°C. On introduit les 481 mg de MM31 dissous dans un minimum de DCM avec une quantité catalytique de DMAP. On ajoute par un goutte à goutte lent d'autre part quelques gouttes de triéthylamine diluées dans 5 mL de DCM. Une fois l'addition achevée, on additionne très lentement au milieu réactionnel un équivalent de DCC dissous dans 10 mL de DCM. On laisse la réaction évoluer sous agitation et à température ambiante pendant 24 h. Le lendemain, le précipité formé est filtré et la phase organique est lavée à l'eau (trois fois 25 mL) d'une part, et par une solution saturée en NaCl

d'autre part (deux fois 25 mL). La phase organique est évaporée sous pression réduite et le produit ainsi obtenu est chromatographié sur silice flash en utilisant comme éluant le mélange AcOEt/hexane, 3 :7. On obtient ainsi 190 mg d'une huile incolore.

Rendement : 23%

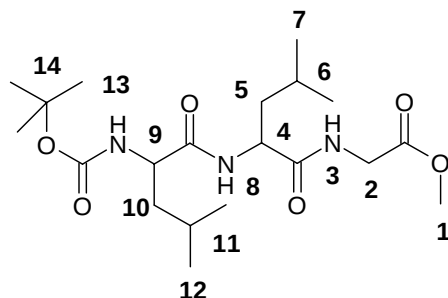
Caractérisations de MM32:

Formule brute : $C_{11}H_{19}O_5N_2F_3$

Poids moléculaire : 316.28 g/mol

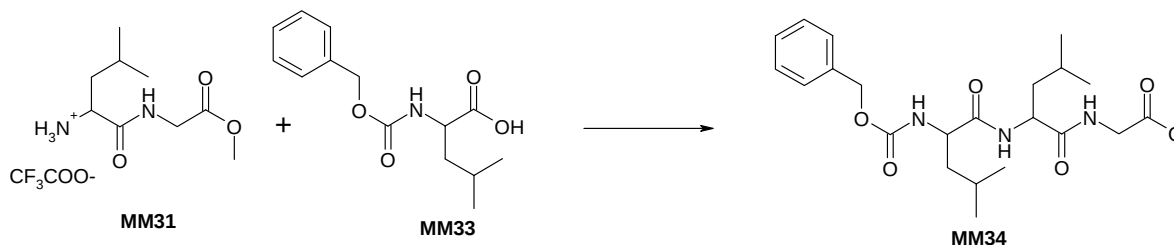
Aspect : huile incolore

RMN 1H ($CDCl_3$, 200 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.38	m	1	3
7.10	m	1	8
5.37	m	1	13
4.51	m	1	4
4.15	m	1	9
3.98	m	2	2
3.74	s	3	1
1.66	m	6	5, 6, 10 et 11
1.44	s	9	14
0.93	m	12	7 et 12

Synthèse du tripeptide Cbz-(L-L-G)-OCH₃



Mode opératoire :

Dans un ballon, on introduit 213 mg de MM31 et 178 mg de Cbz-Leucine (commercial) ainsi qu'une quantité catalytique de DMAP et 10 mL de DCM. On ajoute par un goutte à goutte lent d'autre part 150 mg de DCC préalablement dissous dans 10 mL de DCM. On laisse la réaction évoluer sous agitation et à température ambiante pendant 12 h. Le lendemain, le précipité formé est filtré et la phase organique est lavée à l'HCl 0.01M (trois fois 5 mL) d'une part, et par une solution saturée en NaCl d'autre part (deux fois 5 mL). La phase organique est évaporée sous pression réduite et le produit ainsi obtenu est chromatographié sur silice en utilisant comme éluant le mélange DCM/MeOH, 98 : 2. Les fractions à $R_f = 0.16$ (DCM/MeOH, 98 : 2) sont rassemblées et évaporées sous vide. On obtient ainsi 178 mg d'un solide blanc très hygroscopique.

Rendement : 64%

Caractérisations de MM34:

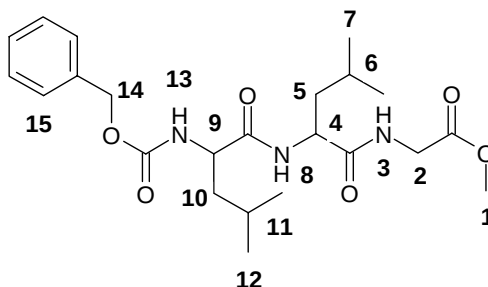
Formule brute : $C_{23}H_{35}O_6N_3$

Poids moléculaire : 449.55 g/mol

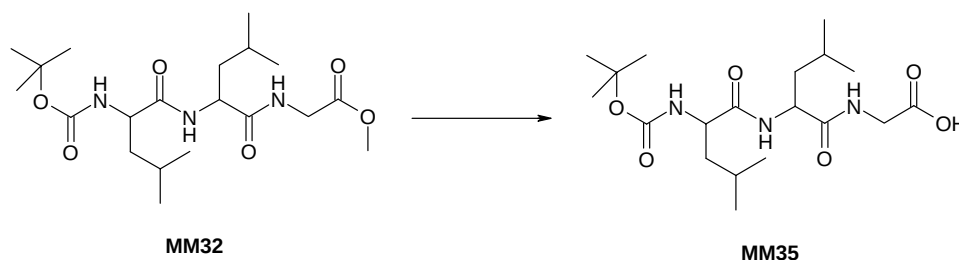
Aspect : huile incolore

CCM : $R_f = 0.16$ (DCM/MeOH, 98 : 2)

RMN 1H ($CDCl_3$, 500 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.33	m	5	15
6.93	m ($^3J_{3-2} = 7.3$ Hz)	1	3
6.63	d ($^3J_{8-4} = 7.3$ Hz)	1	8
5.35	d ($^3J_{13-9} = 7.3$ Hz)	1	13
5.09	s	2	14
4.52	dd ($^3J_{4-5} = 5$ Hz et $^3J_{4-5'} = 7.6$ Hz)	1	4
4.20	m ($^3J_{9-10} = 7.3$ Hz)	1	9
4.00	m	2	2
3.72	s	3	1
1.58	m	6	5, 6, 10 et 11
0.90	m	12	7 et 12

Synthèse du tripeptide Boc-(L-L-G)-OH**Mode opératoire :**

Dans un ballon, on introduit 154 mg de MM32, 10 mL de LiOH 1N ainsi que quelques gouttes d'acétonitrile jusqu'à dissolution complète du produit. On laisse la réaction évoluer sous agitation vigoureuse et à température ambiante pendant 5 minutes. Le pH de la solution est ramené à 4 à l'aide d'une solution d'HCl 1M. Le milieu réactionnel est extrait au DCM (trois fois 5 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ et évaporées sous pression réduite. Le produit est ensuite séché sous vide. On obtient ainsi 148 mg d'une huile incolore.

Rendement : quantitatif

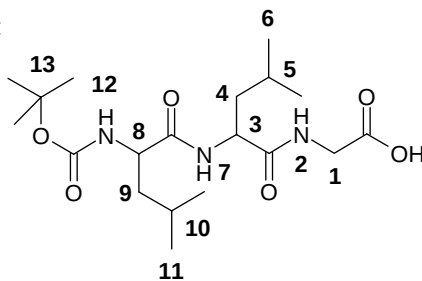
Caractérisations de MM35:

Formule brute : C₁₉H₃₅O₆N₃

Poids moléculaire : 401.52 g/mol

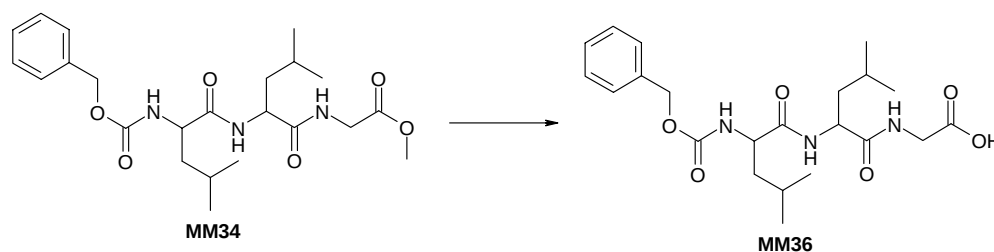
Aspect : huile incolore

RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.24	m	2	2 et 7
5.19	d	1	12
4.74	m	1	3
4.18	m	1	8
4.06	dd	2	1
1.60	m	6	4, 5, 9 et 10
1.44	s	9	13
0.93	m	12	6 et 11

Synthèse du tripeptide Cbz-(L-L-G)-OH



Mode opératoire :

Dans un ballon, on introduit 167 mg de MM34, 10 mL de LiOH 1N ainsi que quelques gouttes d'acétonitrile jusqu'à dissolution complète du produit. On laisse la réaction évoluer sous agitation vigoureuse et à température ambiante pendant 5 minutes. Le pH de la solution est ramené à 4 à l'aide d'une solution d'HCl 1M. Le milieu réactionnel est extrait au DCM (trois fois 5 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄ et évaporées sous pression réduite. Le produit est ensuite séché sous vide. On obtient ainsi 139 mg d'une huile incolore.

Rendement : quantitatif

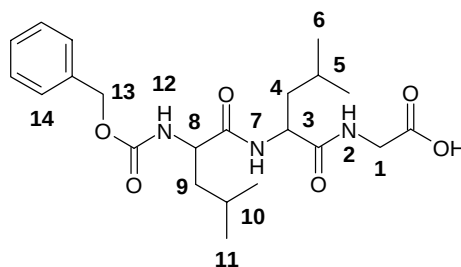
Caractérisations de MM36:

Formule brute : C₁₉H₃₅O₆N₃

Poids moléculaire : 401.52 g/mol

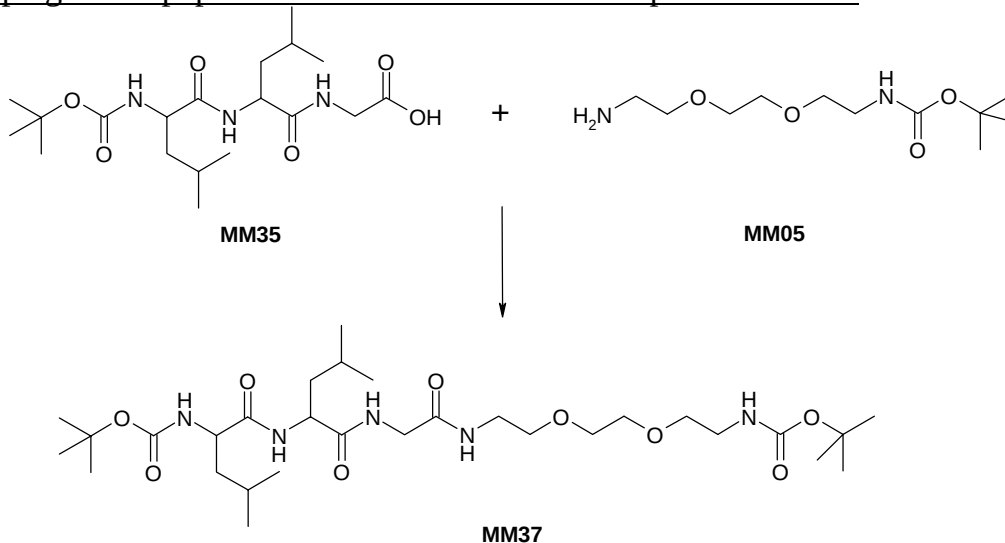
Aspect : huile incolore

RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.33	m	5	14
6.93	m (³ J ₃₋₂ = 7.3 Hz)	1	2
6.63	d (³ J ₈₋₄ = 7.3 Hz)	1	7
5.35	d (³ J ₁₃₋₉ = 7.3 Hz)	1	12
5.09	s	2	13
4.52	dd (³ J ₄₋₅ = 5 Hz et ³ J _{4-5'} = 7.6 Hz)	1	3
4.20	m (³ J ₉₋₁₀ = 7.3 Hz)	1	8
4.00	m	2	1
1.58	m	6	4, 5, 9 et 10
0.90	m	12	6 et 11

Couplage du tripeptide Boc-LLG-OH au bras d'espacement PEG



Mode opératoire :

Dans un ballon, on introduit 185 mg de MM35, 10 mL de DCM ainsi que 115 mg de MM05 et une quantité catalytique de DMAP. La DCC préalablement dissoute dans 10 mL de DCM est additionnée via une ampoule à Brome par un goutte à goutte lent. On laisse la réaction évoluer sous agitation vigoureuse et à température ambiante pendant 20 heures. Le précipité formé (DCU) est filtré, et le filtrat évaporé sous pression réduite. Le brut ainsi obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant l'AcOEt comme solvant d'élution. Les fractions à $R_f = 0.15$ (AcOEt) sont regroupées, évaporées sous vide pour donner 185 mg d'une mousse blanche.

Rendement : 64%

Caractérisations de MM37:

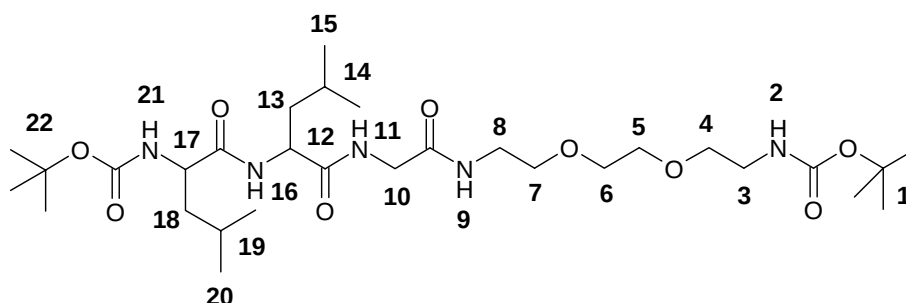
Formule brute : C₃₀H₅₇O₉N₅

Poids moléculaire : 631.81g/mol

Aspect : mousse blanche

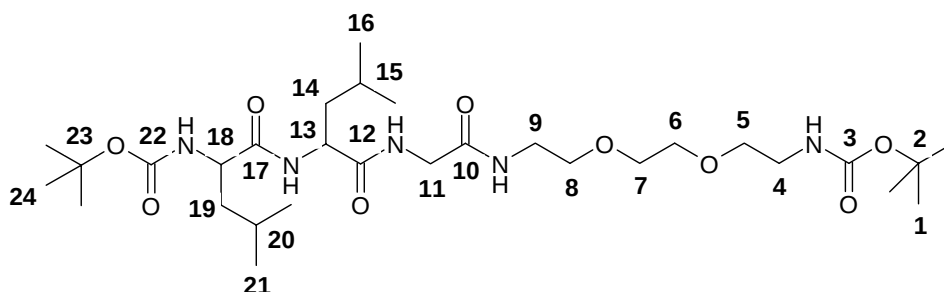
CCM : R_f = 0.15 (AcOEt)

RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) :

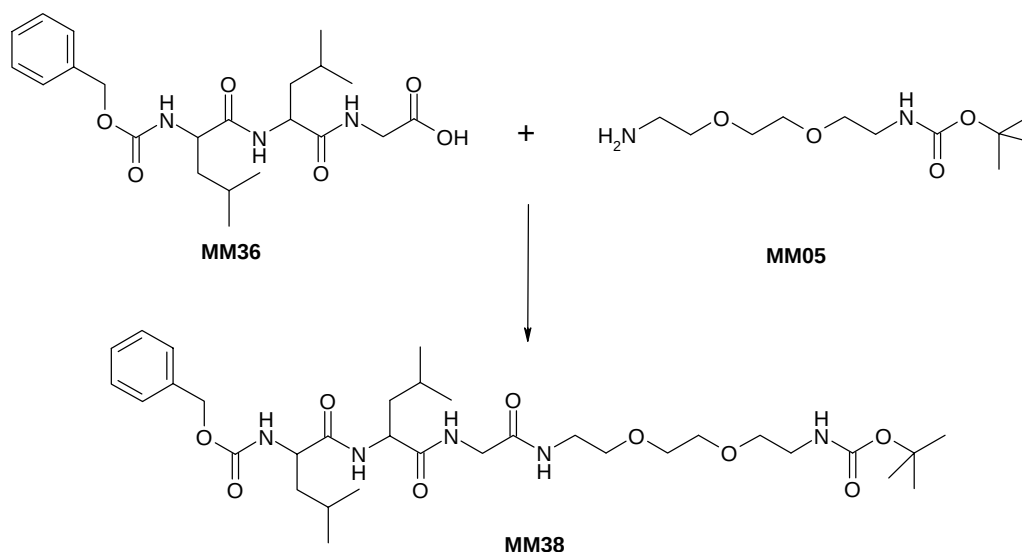


Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
6.99	bs	1	11
6.65	bs	2	9 et 16
5.03	bs	2	2 et 21
4.38	m	1	12
4.05	m	1	17
3.89	bs	2	10
3.60	m	4	5 et 6
3.54	m	4	4 et 7
3.44	m	2	8
3.29	bs	2	3
1.66	m	2	14 et 19
1.61	m	2	13
1.57	m	2	18
1.44	s	18	1 et 22
0.91	m	12	15 et 20

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) :



173.01 (17) ; 172.21 (12) ; 168.83 (10) ; 156.04 (3 et 22) ; 70.27 (8) ; 70.12 (7) ; 70.07 (6) ; 69.56 (5) ; 53.70 (18) ; 52.23 (13) ; 43.12 (11) ; 40.67 (4, 14 et 19) ; 39.30 (9) ; 28.36 (1 et 24) ; 28.22 (2 et 23) ; 24.75 (15 et 20) ; 22.33 (16 et 21).

Couplage du tripeptide Cbz-LLG-OH au bras d'espacement PEGMode opératoire :

Dans un ballon, on introduit 139 mg de MM36, 10 mL de DCM ainsi que 88 mg de MM05 et une quantité catalytique de DMAP. La DCC (1 équivalent) préalablement dissoute dans 5 mL de DCM est additionnée via une ampoule à Brome par un goutte à goutte lent. On laisse la réaction évoluer sous agitation vigoureuse et à température ambiante pendant 12 heures. Le précipité formé (DCU) est filtré, et le filtrat évaporé sous pression réduite. Le brut ainsi obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice en utilisant l'AcOEt comme solvant d'élution. Les fractions à $R_f = 1$ (AcOEt) sont regroupées, évaporées sous vide pour donner 128 mg d'une mousse blanche.

Rendement : 55%

Caractérisations de MM38:

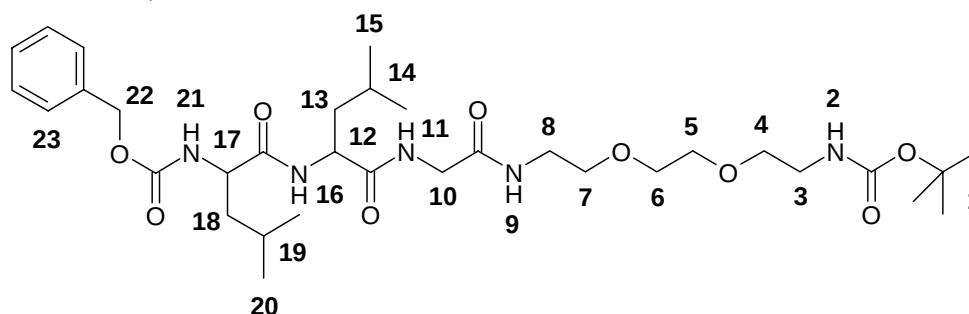
Formule brute : $C_{33}H_{55}O_9N_5$

Poids moléculaire : 665.83 g/mol

Aspect : mousse blanche

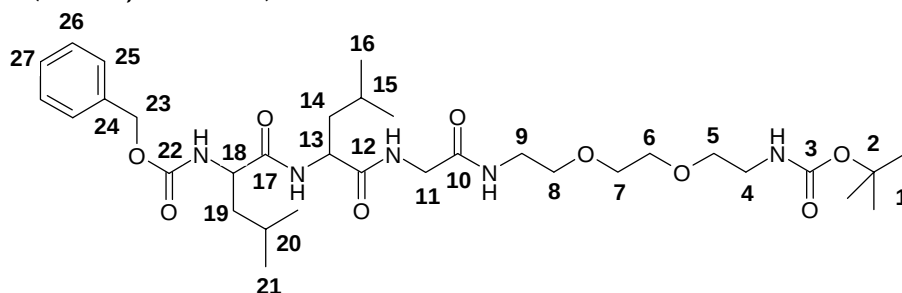
CCM : $R_f = 1$ (AcOEt)

RMN 1H ($CDCl_3$, 500 MHz) :



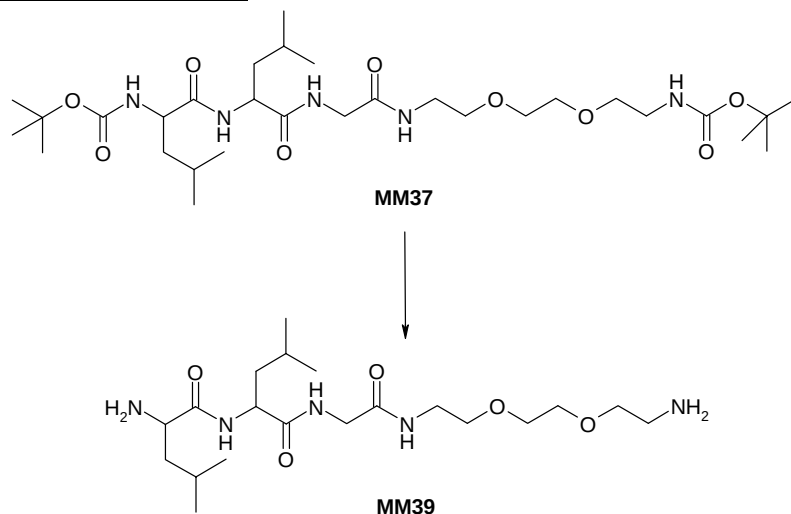
Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.32	m	5	23
6.99	bs	1	11
6.67	bs	2	9 et 16
5.53	m	2	4
5.43	bs	1	21
5.09	s	2	22
5.03	bs	1	2
4.41	m	1	12
4.17	m	1	17
3.88	d	2	10
3.58	m	4	5 et 6
3.53	m	2	7
3.43	m	2	8
3.28	bs	2	3
1.66	m	2	14 et 19
1.60	m	4	13 et 18
1.44	s	9	1
0.91	m	12	15 et 20

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) :



172.66 (17) ; 172.18 (12) ; 168.76 (10) ; 156.36 (22) ; 156.16 (3) ; 136.12 (24) ; 128.46 (25) ; 128.12 (27) ; 127.91 (26) ; 79.82 (2) ; 70.26 (8) ; 70.19 (7) ; 70.05 (6) ; 69.59 (5) ; 67.12 (23) ; 53.93 (18) ; 52.26 (13) ; 43.12 (11) ; 41.15 (19) ; 40.70 (4) ; 40.67 (14) ; 39.34 (9) ; 28.36 (1) ; 24.78 (20) ; 24.68 (15) ; 22.36 (21) ; 22.28 (16).

Déprotection Boc de MM 37



Mode opératoire :

Dans un ballon, on introduit 50 mg de MM37, ainsi que 2 mL d'une solution de DCM / acide trifluoroacétique, 1 :1. On laisse la réaction évoluer sous agitation vigoureuse et à température ambiante pendant 10 minutes. Le milieu réactionnel est alors évaporé sous pression réduite, repris dans de l'AcOEt et lavé à trois reprises au NaOH 1M. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée, évaporée et séchée sous vide pour nous donner 49 mg d'une huile incolore.

Rendement : 98%

Caractérisations de MM39:

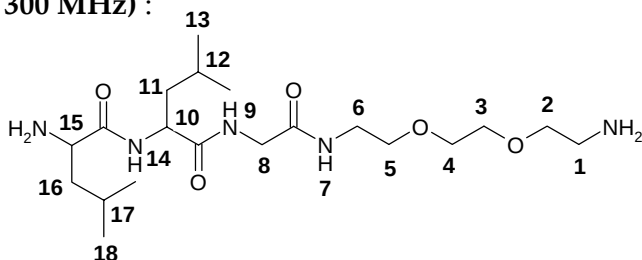
Formule brute : C₃₀H₅₇O₉N₅

Poids moléculaire : 631.81g/mol

Aspect : huile incolore

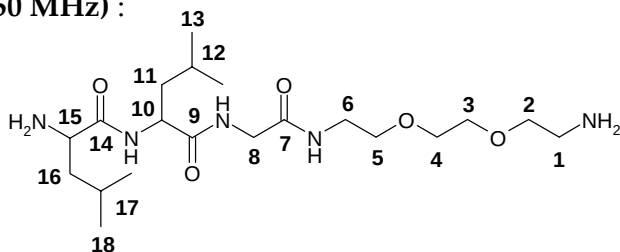
CCM : R_f = 0.15 (AcOEt)

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) :



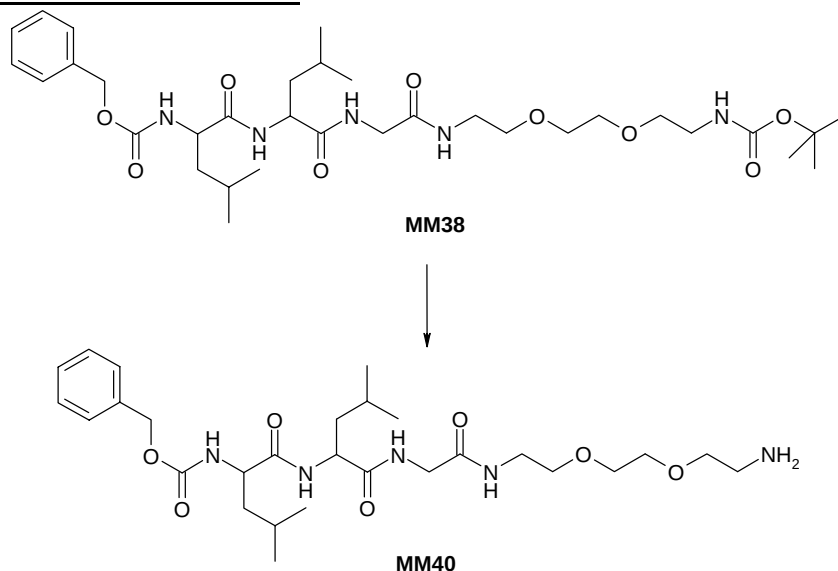
Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
6.98	bs	1	9
6.66	bs	2	7 et 14
4.38	m	1	10
4.05	m	1	15
3.89	bs	2	8
3.61	m	4	3 et 4
3.54	m	4	2 et 5
3.44	m	2	6
3.29	bs	2	1
1.66	m	2	12 et 17
1.60	m	4	11 et 16
0.90	m	12	13 et 18

RMN ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) :



173.03 (14) ; 172.20 (9) ; 168.83 (7) ; 70.27 (5) ; 70.12 (4) ; 70.07 (3) ; 69.56 (2) ; 53.71 (15) ; 52.23 (10) ; 43.12 (8) ; 40.66 (1, 11 et 16) ; 39.30 (6) ; 24.75 (12 et 17) ; 22.32 (13 et 18).

Déprotection Boc de MM38



Mode opératoire :

Dans un ballon, on introduit 50 mg de MM38, ainsi que 2 mL d'une solution de DCM / acide trifluoroacétique, 1 :1. On laisse la réaction évoluer sous agitation vigoureuse et à température ambiante pendant 10 minutes. Le milieu réactionnel est alors évaporé sous pression réduite, repris dans de l'AcOEt et lavé à trois reprises au NaOH 1M. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée, évaporée et séchée sous vide pour nous donner 48 mg d'une huile jaune.

Rendement : 97%

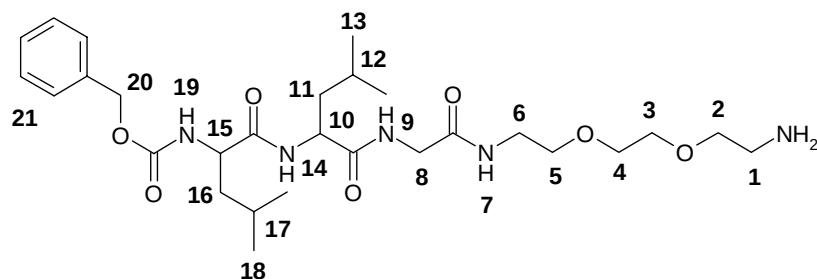
Caractérisations de MM40:

Formule brute : C₃₃H₅₅O₉N₅

Poids moléculaire : 665.83 g/mol

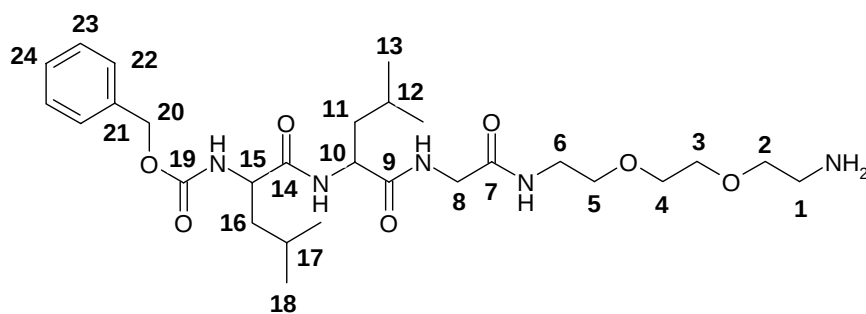
Aspect : huile jaune

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz) :



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.33	m	5	21
6.99	bs	1	9
6.67	bs	2	7 et 14
5.53	m	2	2
5.43	bs	1	19
5.08	s	2	20
4.41	m	1	10
4.17	m	1	15
3.89	d	2	8
3.55	m	6	3, 4 et 5
3.43	m	2	6
3.28	bs	2	1
1.63	m	6	11, 12, 16 et 17
0.90	m	12	13 et 18

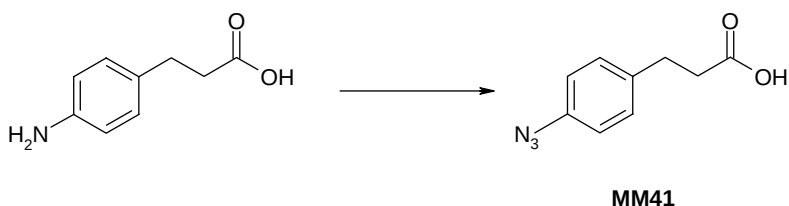
RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) :



172.66 (14) ; 172.18 (9) ; 168.76 (7) ; 156.36 (19) ; 136.12 (21) ; 128.46 (22) ; 128.12 (24) ; 127.91 (23) ; 70.26 (5) ; 70.19 (4) ; 70.05 (3) ; 69.59 (2) ; 67.12 (20) ; 53.93 (15) ; 52.26 (10) ; 43.12 (8) ; 41.15 (16) ; 40.70 (1) ; 40.67 (11) ; 39.34 (6) ; 24.78 (17) ; 24.68 (12) ; 22.36 (18) ; 22.28 (13).

Synthèse du peptidomimétique

Synthèse de l'acide 3-(4-azidophenyl)propionique MM41



Mode opératoire

On introduit dans un tricol 1.2 g de l'acide 3-(4-amino-3-phenyl)propionique, 4 mL d'HCl concentré (37%) et 4 mL d'eau. La température du milieu réactionnel est amenée à 0°C avant d'y ajouter goutte à goutte 8.4 mL d'une solution 1M en NaNO₂, suivi de 8.3 mL d'une solution 1M de NaN₃. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation durant 1 heure à 0°C. La phase aqueuse est ensuite extraite à trois reprises à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄ avant d'être filtrée et concentrée sous vide. Le solide jaune obtenu est purifié par recristallisation fractionnée dans un mélange (1 :1) d'hexane/acétate d'éthyle. Le solide est dissout à 45°C et la solution est mise au réfrigérateur jusqu'au lendemain matin. Les cristaux jaunes obtenus sont rincés à l'hexane et séchés sous vide. On obtient ainsi 1.4 g de l'acide 3-(4-azidophenyl)propionique.

Rendement : 82%.

Caractérisation de MM41

Formule brute : C₉H₉O₂N₃

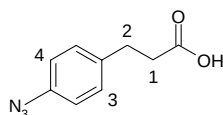
Aspect : cristaux jaunes

P.M. = 191.2 g/mol

T°f: 105°C

CCM : CH₃CN, R_f = 0.7

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz):

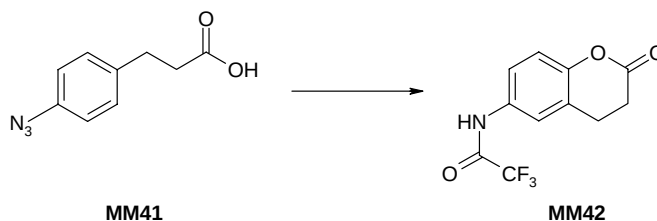


7.2 (4, 2H, d, J₄₋₃ = 8.7 Hz) ; 6.96 (3, 2H, d, J₃₋₄ = 8.7 Hz); 2.93 (1, 2H, t, J₁₋₂ = 7.5 Hz); 2.66 (2, 2H, t, J₂₋₁ = 7.5 Hz)

Masse (Cl, CH₄-N₂O) : m/z = 192.0 ([M+H]⁺ ; 1); 164.2 ([M-N₂+H]⁺ ; 10) ; 163 (18) ; 153.9 (100) ; 117.9 (30)

IR (cm⁻¹, NaCl) : 2120 (azoture) ; 1713 (C=O) ; 1506 (Ph) ; 686 (O-C=O) ;

Synthèse du 2,2,2-Trifluoro-N-(2-oxo-chroman-6-yl)-acetamide ou 6-trifluoroacétamido-3,4-dihydrocoumarine MM42



Mode opératoire

Dans un tricol séché, 13.5 mL d'acide trifluoroacétique sont introduits et refroidis à 0°C avant d'y additionner 275 mg de l'acide 3-(4-azidophenyl)propionique par petites portions en 5 heures. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 2 heures supplémentaires à 0°C avant d'y ajouter 3.8 mL d'anhydride trifluoroacétique. Après 16 heures de réaction à température ambiante, on évapore le milieu réactionnel. Le résidu est redissous dans un minimum d'acétate d'éthyle et lavé avec une solution 1M de Na₂CO₃, à l'eau et au NaCl saturé, à trois reprises chaque fois. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et concentrée sous vide. L'huile brune ainsi obtenue cristallise sous vide pour nous donner un solide blanc. Le produit est ensuite purifié sur colonne chromatographique de silice en utilisant le dichlorométhane comme éluant. Le dichlorométhane est évaporé sous vide pour nous donner 389 mg d'un solide blanc.

Rendement : 59%

Caractérisation de MM42

Formule brute : C₁₁H₈O₃NF₃

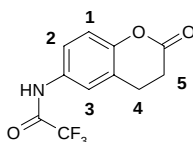
Aspect : solide blanc

P.M. = 259.2 g/mol

T[°]f : 130°C

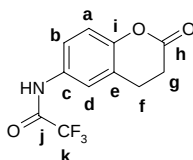
CCM = 0.4 CH₂Cl₂/CH₃CN (19 :1)

RMN ¹H ((CD₃)₂CO, 500 MHz) :



7.69 (3, 1H, s); 7.58 (2, 1H, dd, J₂₋₁ = 8.2 Hz et J₂₋₃ = 2.6 Hz) ; 7.05 (1, 1H, d, J₁₋₂ = 8.4 Hz) ; 3.08 (4, 2H, t, J₄₋₅ = 7.3 Hz) ; 2.82 (5, 2H, t, J₅₋₄ = 7.3 Hz)

RMN ¹³C ((CD₃)₂CO, 125 MHz) :



167.16 (h) ; 154.46 (j) ; 149.44 (i) ; 132.11 (c); 123.98 (e); 120.54 (d); 120.44 (b); 116.63 (a); 115.78 (k); 28.2 (g); 23.23 (f).

Masse (APCI) : m/z = 260.19 (100) ; 218.18 (20) ; 149.09 (28).

IR (cm⁻¹, NaCl) : 1755 (lactone) ; 1716 (trifluoroacétamide); 820 (Ph)

Synthèse du 3-(5-Amino-2-hydroxyphényl)-propionate de méthyle



Mode opératoire

Dans un tricol, on dissout 780 mg du 2,2,2-Trifluoro-N-(2-oxo-chroman-6-yl)-acetamide dans 20 mL d'HCl 6M et 30 mL de MeOH. On porte le milieu à reflux pendant 20 heures. Le lendemain, le milieu réactionnel est évaporé et repris dans 20 mL de MeOH. Trois gouttes d'acide phosphorique concentré (85%) sont ajoutés au milieu qui est reporté à reflux pendant 12h. Le milieu réactionnel est ensuite évaporé et repris à l'AcOEt. La phase organique est lavée avec une phase aqueuse dont le pH est ajusté à 1. Les deux phases sont séparées avant de porter le pH de la solution aqueuse à 8 à l'aide d'une solution saturée en Na₂CO₃ et de réextraire cette dernière à trois reprises à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄, filtrées et concentrées sous vide. Le solide beige obtenu est purifié par précipitation dans le dichlorométhane. Le précipité blanc obtenu est filtré et lavé à l'éther. Le filtrat

est évaporé une nouvelle fois. Cette opération est répétée jusqu'à la fin de la précipitation. Le solide blanc ainsi obtenu est séché sous vide.

Rendement : 44%

Caractérisation de MM43

Formule brute : $C_{10}H_{13}O_3N$

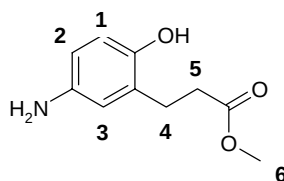
Aspect : solide blanc

P.M. = 195.2 g/mol

T°f = 131-133°C

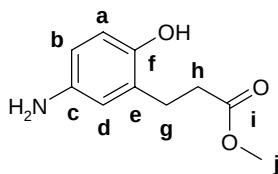
CCM: AcOEt, Rf = 0.6

RMN 1H ($CDCl_3$, 500 MHz):



6.7 (1, 1H, d, $J_{1-2} = 8.2$ Hz); 6.48 (2, 1H, dd, $J_{2-3} = 2.9$ Hz et $J_{2-1} = 8.2$ Hz); 6.46 (3, 1H, d, $J_{3-2} = 2.9$ Hz); 3.67 (6, 3H, s); 2.82 (4, 2H, t, $J_{4-5} = 6.7$ Hz), 2.69 (5, 2H, t, $J_{5-4} = 6.7$ Hz).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 125 MHz) :

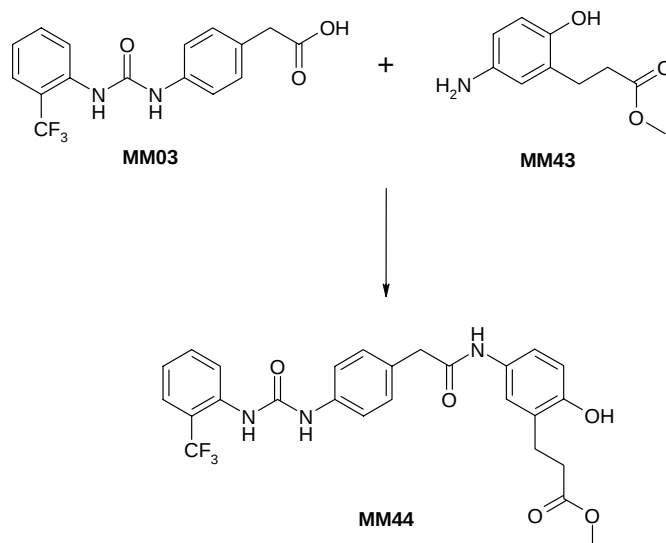


175.66 (i); 146.87 (f); 139.68 (c); 128.10 (e); 118 (a); 117.2 (b); 115.08 (d); 52.04 (j); 34.87 (h); 24.54 (g).

Masse (CI, CH_4-N_2O) : $m/z = 196.9$ ($[M+H]^+$; 8); 137 ($[M - COOCH_3+H]^+$; 86); 109.1 (NH_2PhOH ; 88); 91.1 (C_6H_5N ; 98); 79.1 (100)

IR (cm^{-1} , NaCl) : 3358 (OH); 1724 (C=O ester); 1167 (C-OH)

Synthèse du 3-[2-Hydroxy-5-(2-{4-[3-(2-trifluorométhyl-phenyl)-ureido]-phenyl}-acétylamino)-phenyl]-propionate de méthyle



Mode opératoire

Dans un bicol séché, on introduit 1.1 g de l'acide {4-[3-(2-trifluorométhyl-phenyl)-ureido]-phenyl}-acétique, 40 mL de DMF anhydre, 1.7g de PyBOP ainsi que 330 mg de triéthylamine. On agite le milieu réactionnel pendant 10 minutes avant d'y additionner goutte à goutte les 615 mg de l'acide 3-(5-Amino-2-hydroxy-phenyl)-propionique dissous dans un minimum de DMF anhydre. Le milieu réactionnel est laissé sous atmosphère inerte et sous agitation pendant 2 heures avant de vérifier par CCM la disparition des réactifs.

Le milieu réactionnel est dilué dans de l'AcOEt. La phase organique est lavée à deux reprises au NH_4Cl saturé ainsi qu'à l'HCl 1M, et à trois reprises au NaCl saturé. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et concentrée sous vide. L'huile brune obtenue est purifiée sur colonne chromatographique en condition flash en utilisant comme éluant l'AcOEt. Le produit obtenu est lavé à l'éther pour finalement récupérer 1.4 g du produit de couplage sous forme d'un solide blanc.

Rendement : 87%

Caractérisation de MM44

Formule brute: $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{O}_5\text{N}_3\text{F}_3$

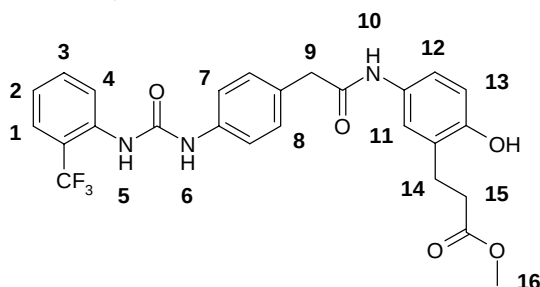
Aspect : solide blanc

P.M. = 515.48 g/mol

T[°]f = 208°C

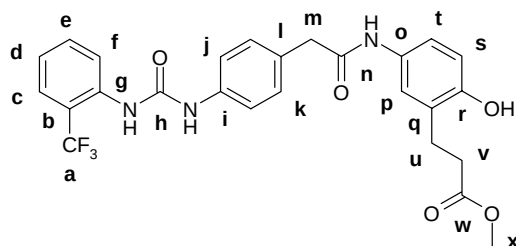
CCM : AcOEt/hexane, 9 :1, R_f = 0.7

RMN ¹H ((CD₃)₂CO, 500 MHz):



8.96 (5, 1H, s); 8.76 (6, 1H, s); 8.17 (4, 1H, J₄₋₃=8.2 Hz); 7.65 (1, 1H, d, J₁₋₂= 7.9 Hz), 7.62 (3, 1H, m); 7.6 (10, 1H, s); 7.47 (7, 2H, d, J₇₋₈ = 8.8 Hz); 7.35 (12, 1 H, d, J₁₂₋₁₃= 8.5 Hz); 7.33 (11, 1H, s); 7.29 (8, 2H, d, J₈₋₇ = 8.8 Hz); 7.24 (2, 1H, m); 6.73 (13, 1H, d); 3.60 (16, 3H, s); 2.83 (9 et 14, 4H, m); 2.58 (15, 2H, m).

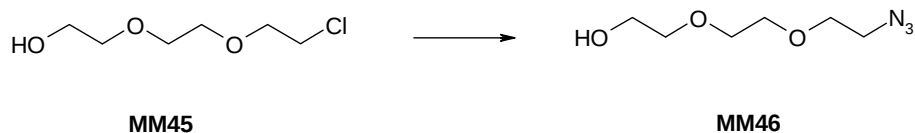
RMN ¹³C ((CD₃)₂CO, 125 MHz):



172.70 (n); 168.23 (w); 151.94 (r); 151.87 (h); 150.85 (i); 138.01 (o); 136.76 (g); 132.46 (e); 131.52 (b); 130.06 (l); 129.27 (k); 126.76 (s); 125.54 (c); 124.75 (f); 123 (d); 118.42 (j); 118.42 (p); 118.32 (t); 114.62 (q); 50.45 (x); 42.92 (m); 33.22 (v); 25.54 (u).

Masse (ESI) : m/z = 515.39 (65); 483.99 (100); 354.99 (85); 323.12 (30)

Synthèse du 2-(2-(2-azido-ethoxy)-ethoxy)-éthanol



Mode opératoire :

Dans un bicol de 50 mL muni d'un réfrigérant, 5 g (29.7 mmoles, 1 éq.) de 2-(2-(2-chloro-ethoxy)-ethoxy)-éthanol sont dissous dans 30 mL d'eau. Dans un deuxième temps, 0.9 g (3 mmoles, 0.2 éq.) de NaI et 20 g (0.31 moles, 10.4 éq.) de NaN₃ sont ajoutés avant de porter le milieu réactionnel à 50°C pendant 48 heures. Une fois la milieu réactionnel refroidi, il est extrait à 3 reprises par de l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et concentrée pour obtenir une huile jaune. Le brut est purifié sur colonne chromatographique normale pour donner 4.45 g d'une huile incolore.

Rendement : 86%

Caractérisation de MM46

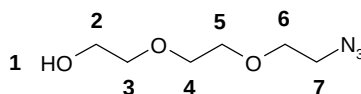
Formule brute: C₆H₁₃O₃N₃

Aspect : huile incolore

P.M. = 175.2 g/mol

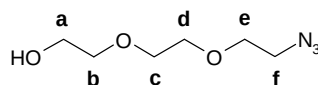
CCM : AcOEt, révélé au KMnO₄, R_f = 0.5

RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) :



3.72 (2, 2H, m) ; 3.64 (3, 4 et 5, 6H, m) ; 3.59 (6, 2H, m) ; 3.36 (7, 2H, t, J₇₋₆ = 5.1 Hz) ; 2.6 (1, 1H, bs)

RMN ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) :

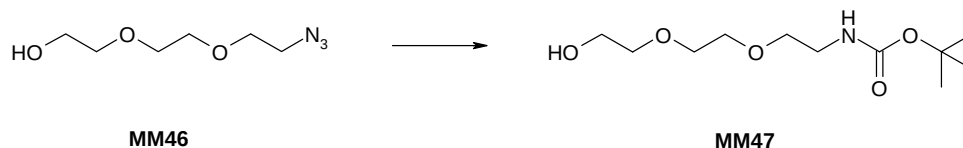


73.1 (b) ; 71.9 (e) ; 70.9 (c) ; 70.6 (d) ; 62.3 (a) ; 51.0 (f)

Masse (EI, 70 eV): m/z = 175 (M⁺; 21) ; 137 (12) ; 119 (20) ; 89 (M-OCH₂CH₂N₃; 100).

IR (NaCl, cm⁻¹): 3415 (OH); 2873 (-CH₂-); 2119 (azoture); 1458(-CH₂-); 1060 (C-OH).

Synthèse du 2-(2-(2-tert-butoxycarbonylamino-ethoxy)-ethoxy)-ethanol



Mode opératoire :

Dans un bicol de 250 mL, 3.8 g (21.7 mmol, 1 éq.) du 2-(2-(2-azido-ethoxy)-ethoxy)-éthanol sont dissous dans 90 mL de THF. Dans un deuxième temps, 6.38 g (24.3 mmol, 1.12 éq.) de triphénylphosphine sont ajoutées. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation vigoureuse pendant 1 heure à température ambiante avant d'y ajouter 90 mL d'eau en une fois. L'agitation est maintenue encore une nuit avant d'évaporer le THF pour obtenir un résidu blanc qui est redissous dans 150 mL d'acétonitrile et 18 mL d'une solution d'hydroxyde de sodium 1M. On y ajoute les 5.5 g (25.3 mmol, 1.1 éq.) de BOC₂O en une fois et on laisse la réaction évoluer pendant encore 6 heures. Le milieu réactionnel est concentré et le brut repris dans un minimum de dichlorométhane, séché sur MgSO₄, filtré et évaporé sous vide pour nous donner 3.35 g d'une huile incolore.

Rendement : 62%

Caractérisation de MM47

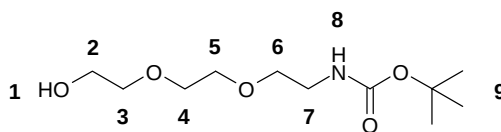
Formule brute: C₁₁H₂₃O₅N

Aspect : huile incolore

P.M. = 249.3 g/mol

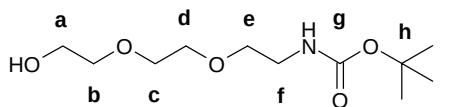
CCM : AcOEt, révélé à la ninhydrine, R_f = 0.2

RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) :



5.2 (8, 1H, bs) ; 3.72 (2, 2H, m) ; 3.64 (3, 4 et 5, 6H, m) ; 3.59 (6, 2H, m) ; 3.31 (7, 2H, m) ; 2.90 (1, 1H, bs); 1.44 (9, 9H, s).

RMN ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) :

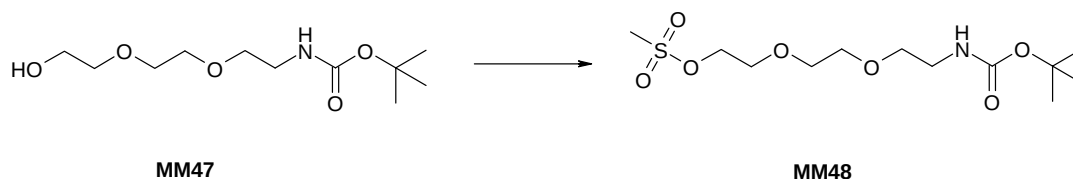


156.0 (g) ; 80 (h) ; 73.1 (b) ; 71.9 (e); 70.9 (c); 70.8 (d) ; 62.2 (a) ; 41.0 (f); 29.0 (i).

Masse (EI, 70 eV): m/z= 250 (M⁺ ; 4); 219 (12); 176 (M⁺ - O-tbutyl ; 28) ; 150 (24); 143 (40); 107 (60); 89 (100)

IR (NaCl, cm^{-1}): 3449 (NH); 3415 (OH); 2985 ($-\text{CH}_2-$); 2874 ($-\text{CH}_2-$); 1693 ($\text{C}=\text{O}$); 1456 ($-\text{CH}_2-$ et CH_3); 1392 (COO); 1060 ($\text{C}-\text{OH}$).

Synthèse du mésylate du 2-(2-(2-tert-butoxycarbonylamino-ethoxy)-ethoxy)-ethanol



Mode opératoire

Dans un bicol, on dissout 1 g de l'alcool dans 3 mL d'acétone, et on y ajoute lentement 530 mg de triéthylèneamine, suivi de 500 mg de chlorure de mésyle. Le milieu réactionnel est agité vigoureusement pendant 4 heures. La disparition du produit de départ est vérifié en CCM avant d'évaporer le solvant résiduel. Le résidu obtenu est repris dans un minimum de dichlorométhane. La phase organique est lavée à deux reprises et successivement par une solution d'HCl 1M, une solution saturée en NaHCO_3 et finalement par du NaCl saturé. Après séchage sur MgSO_4 , filtration et évaporation, on obtient 1.31 g d'une huile jaune.

Rendement : 93%

Caractérisation de MM48

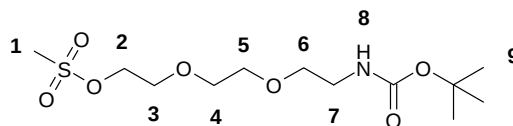
Formule brute: $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NO}_7\text{S}$

Aspect : huile jaune

P.M. = 327.4 g/mol

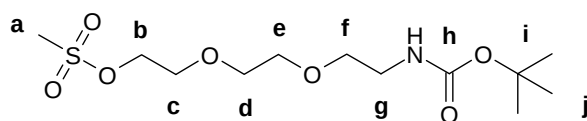
CCM: DCM : iPrOH, 9 :1, R_f = 0.2

RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz):



5.00 (8, 1H, bs) ; 4.41 (2, 2H, m); 3.72 (3, 2H, m) ; 3.65 (4 et 5, 4H, m) ; 3.55 (6, 2H, t, $J_{6-7} = 5.2$ Hz); 3.2 (7, 2H, m); 3.09 (1, 3H, s); 1.44 (9, 9H, s).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) :

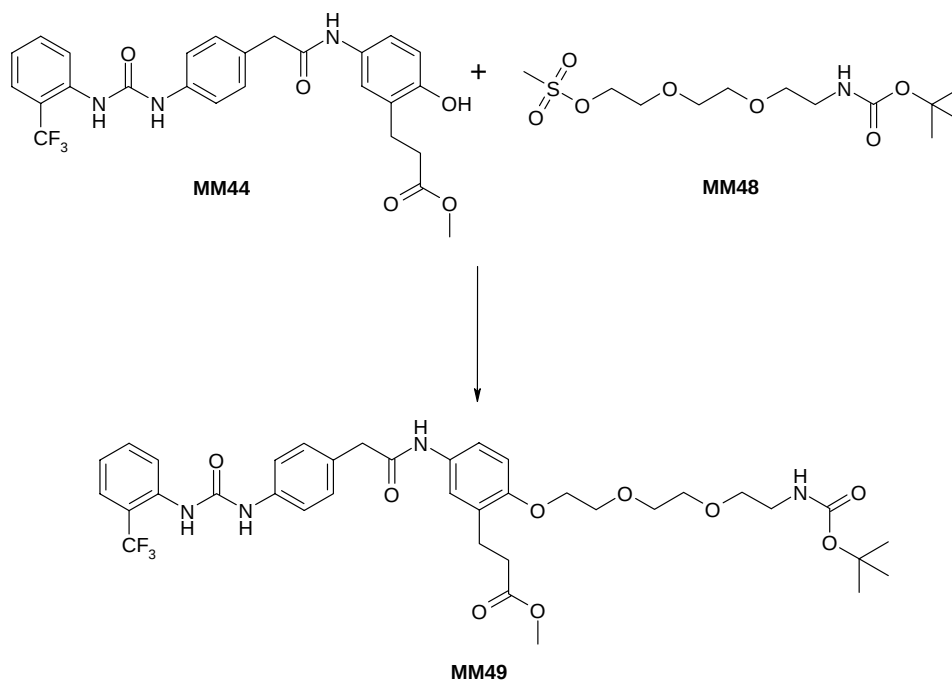


158.1 (a) ; 80.3 (i) ; 73.0 (c) ; 71.9 (f); 71.0 (b); 70.8 (d) ; 70.7 (e); 41.0 (g); 38.2 (h); 29.0 (j).

Masse (FAB): $m/z = 328.0$ ($[M+H]^+$; 24) ; 272 (40) ; 228 (100) ; 123 (87) ; 88 (12).

IR (NaCl, cm^{-1}): 3389 (NH); 2971 ($-\text{CH}_2-$); 2863 (CH_3); 1699 ($\text{C}=\text{O}$); 1356 (SO_2); 1254 (t-butyl); 1167 (SO_2).

Synthèse de MM49



Mode opératoire

Dans un bicol sec, on introduit 187 mg de MM44 que l'on dissout dans 3 mL de DMF anhydre. On y ajoute lentement 20 mg de NaH (60% dans la paraffine). On laisse le milieu réactionnel sous atmosphère inerte et sous agitation vigoureuse pendant 30 minutes à 25°C. 122 mg du bras d'espacement activé MM48 est ensuite additionné, dissout dans 1 mL de DMF. La température du milieu réactionnel est alors portée à 65°C pendant la nuit. Le lendemain, le milieu est lentement ramené à température ambiante avant de le verser dans un bain d'eau à 0°C. Un précipité se forme. La phase aqueuse est extraite à trois reprises à l'AcOEt. Les phases organiques sont

rassemblées et lavées à deux reprises au NaCl saturé. On sèche sur MgSO₄, filtre et évapore la phase sous vide.

Rendement : 12%

Caractérisation de MM49

Formule brute: C₃₇H₄₅O₉N₄F₃

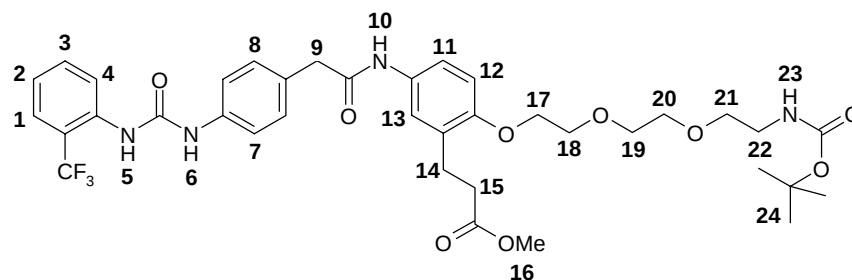
P.M. = 746.7 g/mol

Aspect : solide blanc

T°f : 110-111°C

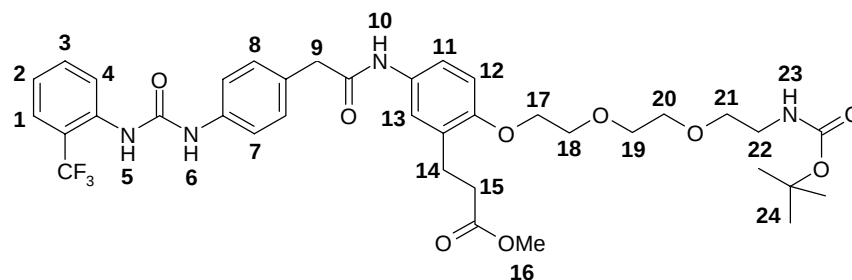
CCM : AcOEt/Hex, 8 :2, R_f = 0.6

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz):



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	Attribution
9.19	bs	1	5
8.81	bs	1	6
8.16	m	1	4
7.63	m	3	1, 3 et 10
7.52	m	1	11
7.48	m	2	7
7.37	m	1	13
7.27	m	3	2 et 8
6.85	m	1	12
5.89	m	1	23
4.11	m	2	17
3.81	m	2	18
3.64	m	5	16 et 19
3.58	m	4	9 et 20
3.48	m	2	21
3.20	m	2	22
2.84	m	2	14
2.57	m	2	15
1.38	S	9	24

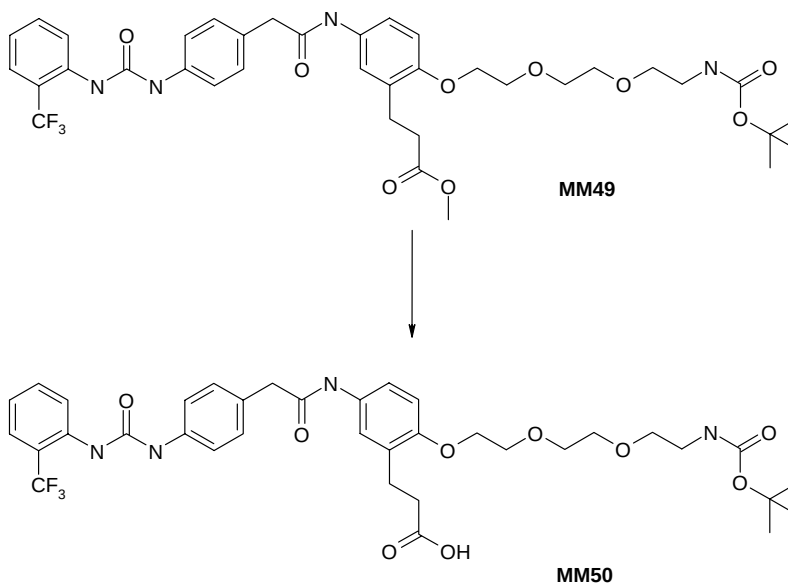
RMN ^{13}C CDCl_3



173.02 (13) ; 168.35 (22) ; 155.59 (29) ; 152.56 (17) ; 151.84 (7) ; 137.90 (8) ; 136.51 (6) ; 132.25 (3) ; 132.17 (11) ; 129.77 (14) ; 129.14 (18) ; 129.10 (10) ; 125.35 (1) ; 124.64 (4) ; 122.84 (2) ; 121.08 (19) ; 118.26 (9) ; 118.15 (15) ; 111.36 (16) ; 77.36 (30) ; 70.02 (25) ; 69.66 (26) ; 69.33 (27) ; 69.07 (24) ; 67.58 (23) ; 42.73 (12) ; 39.72 (28) ; 32.98 (21) ; 27.29 (31) ; 25.65 (20).

Masse (APCI): m/z = 745.08 (25) ; 584.06 (100) ; 510.13 (42) ; 484.21 (31).

Synthèse de MM50



Mode opératoire

50 mg de MM49 sont dissous dans un minimum d'acétonitrile. On y additionne 5 mL d'une solution d'hydroxyde de lithium 1M. Le milieu réactionnel est maintenu sous forte agitation pendant 1 heure avant d'évaporer sous pression réduite. Le résidu

obtenu est repris à l'acétate d'éthyle, que l'on lave à l'HCl 1M à 2 reprises. Les phases sont séparées et la phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et concentrée sous vide. On obtient ainsi 45 mg d'un solide jaune.

Rendement : 92 %

Caractérisation de MM50

Formule brute: $\text{C}_{36}\text{H}_{43}\text{O}_9\text{N}_4\text{F}_3$

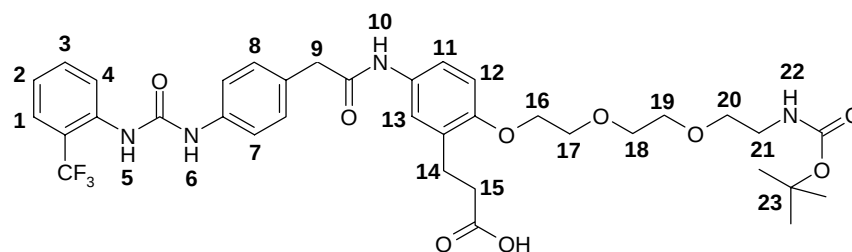
Aspect: solide jaune

Tf : 126-128°C

P.M. = 732.7 g/mol

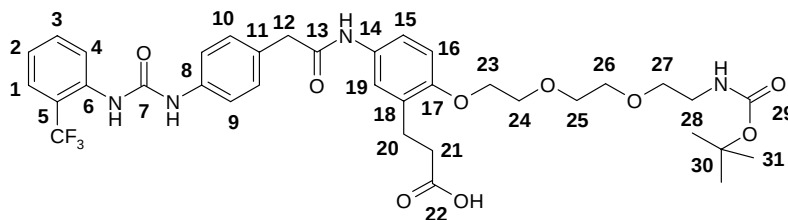
CCM : MeOH, R_f = 0.56

RMN ^1H ((CD_3) $_2\text{CO}$ 500 MHz):



Déplacements (ppm)	Multiplicité	Intégration	attribution
9.14	bs	1	5
8.83	bs	1	6
8.15	m	1	4
7.65	s	1	10
7.64	m	1	1
7.61	m	1	3
7.52	m	1	11
7.48	m	2	7
7.37	m	1	13
7.29	m	2	8
7.25	m	1	2
6.85	m	1	12
5.89	m	1	22
4.11	m	2	16
3.81	m	2	17
3.64	m	2	18
3.59	m	4	9
3.58	m	2	19
3.48	m	2	20
3.20	m	2	21
2.84	m	2	14
2.57	m	2	15
1.37	s	9	23

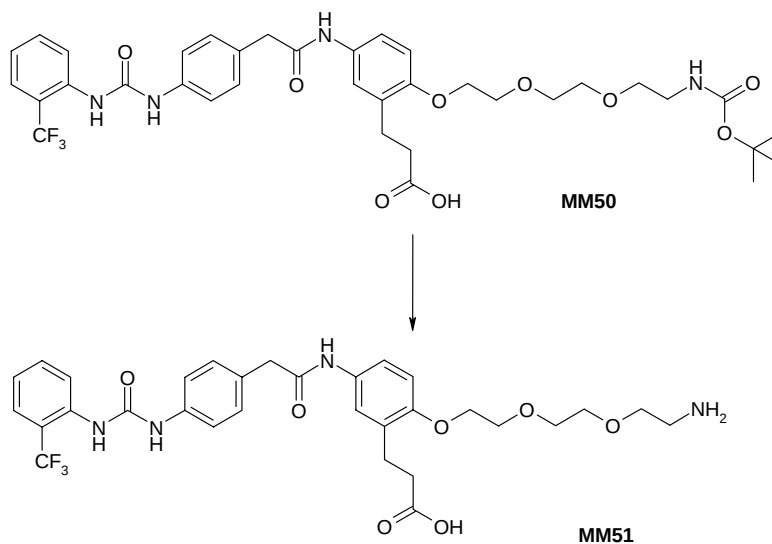
RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz)



173.02 (13) ; 168.35 (22) ; 155.59 (29) ; 152.56 (17) ; 151.84 (7) ; 137.90 (8) ; 136.51 (6) ; 132.25 (3) ; 132.17 (11) ; 129.77 (14) ; 129.14 (18) ; 129.10 (10) ; 125.35 (1) ; 124.64 (4) ; 122.84 (2) ; 121.08 (19) ; 118.26 (9) ; 118.15 (15) ; 111.36 (16) ; 77.36 (30) ; 70.02 (25) ; 69.66 (26) ; 69.33 (27) ; 69.07 (24) ; 67.58 (23) ; 42.73 (12) ; 39.72 (28) ; 32.98 (21) ; 27.29 (31) ; 25.65 (20).

Masse (APCI): m/z = 732.08 (35); 570.21 (100); 496.33 (95); 470.28 (75).

Synthèse de MM51



Mode opératoire

100 mg de MM50 sont dissous dans un mélange DCM/ CF_3COOH (2 :1). Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 1 heure avant évaporation sous pression réduite.

Rendement : quantitatif

Caractérisation de MM 51 :

Formule brute: C₃₁H₃₅O₇N₄F₃

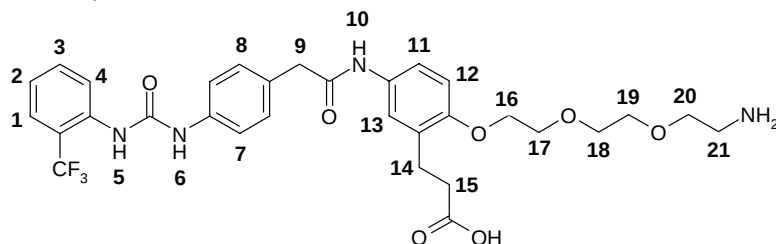
Aspect: solide brun

Tf > 300°C

P.M. = 632.6 g/mol

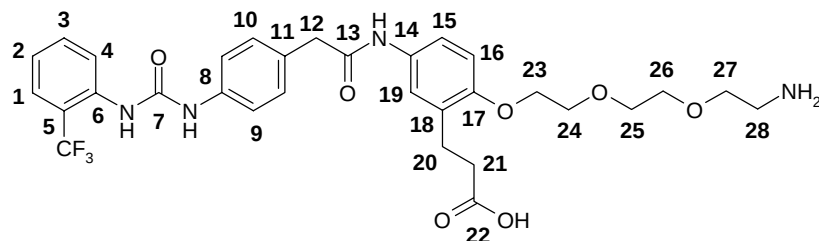
CCM : sur phase inverse, MeOH/H₂O, R_f = 0.6

RMN ¹H ((CD₃)₂CO, 300 MHz)



Déplacement (ppm)	Multiplicité	Intégration	attribution
9.14	bs	1	5
8.83	bs	1	6
8.15	m	1	4
7.64	m	3	1, 3 et 10
7.52	m	1	11
7.48	m	2	7
7.37	m	1	13
7.27	m	3	2 et 8
6.85	m	1	12
4.11	m	2	16
3.81	m	2	17
3.64	m	2	18
3.58	m	4	9 et 19
3.48	m	2	20
3.20	m	2	21
2.84	m	2	14
2.57	m	2	15

RMN ¹³C ((CD₃)₂CO, 50 MHz)



173.12 (13) ; 168.42 (22) ; 152.58 (17) ; 151.89 (7) ; 137.92 (8) ; 136.49 (6) ; 132.22 (3) ;
132.18 (11) ; 129.76 (14) ; 129.15 (18) ; 129.10 (10) ; 125.36 (1) ; 124.65 (4) ; 122.84 (2) ;

121.08 (19) ; 118.29 (9) ; 118.14 (15) ; 111.36 (16) ; 70.00 (25) ; 69.67 (26) ; 69.35 (27) ; 69.07 (24) ; 67.59 (23) ; 42.75 (12) ; 39.74 (28) ; 32.99 (21) ; 25.63 (20).

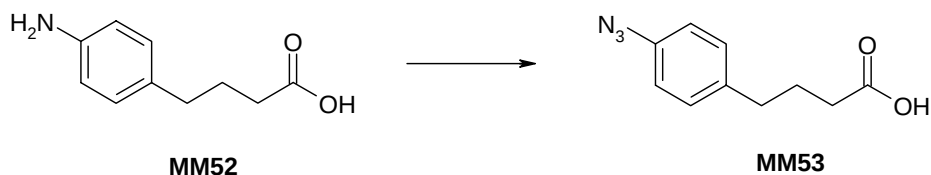
S.M. (ESI) : $m/z = 633.26$ ($[M+H]^+$; 100) ;

HRMS (masse exacte, TOF ES) : 633.2516 $[M+H]^+$
(Calculé pour $C_{31}H_{35}O_7N_4F_3$: 632.637)

Chimie de surface

Synthèse du bras azoture

Synthèse de l'acide 4-(p-azidophenyl)butyrique



Mode opératoire

0.5 g de l'acide 4-(p-aminophenyl)butyrique (commercial) sont pesés dans un ballon à l'abri de la lumière (recouvert de papier aluminium). Le ballon est ensuite introduit dans un bain de glace avant d'y introduire goutte à goutte 0.6 mL d'une solution de NaNO_2 1M ainsi que 4 mL d'une solution d'HCL 2M. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation pendant 25 minutes avant d'y additionner par un goutte à goutte très lent 0.6 mL d'une solution de NaNO_2 1M. Après deux heures de réaction, le précipité formé est filtré et lavé sur fritté à l'eau distillée à plusieurs reprises. Le filtrat obtenu est alors extrait à 3 reprises par 50 mL d'AcOEt. La phase organique est séchée sur MgSO_4 et évaporée sous pression réduite. Le précipité précédemment formé est rassemblé à ce dernier et le tout est mis à sécher sous vide.

Rendement : 89%

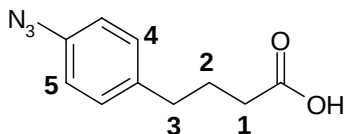
Caractérisation de MM53 :

Formule brute : $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}_3$

P.M. : 205.12 g/mol

Aspect : solide jaune

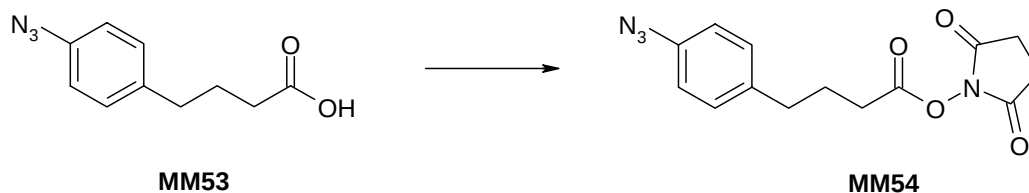
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3):



Déplacement	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.17	d, $^3J_{5-4} = 8.5$ Hz	2	5
6.95	d, $^3J_{4-5} = 8.5$ Hz	2	4
2.65	t, $^3J_{3-2} = 7.4$ Hz	2	3
2.35	t, $^3J_{1-2} = 7.4$ Hz	2	1
1.9	m	2	2

IR (KBr, cm⁻¹) : 2107 (azoture), 1707 (acide carboxylique)

Synthèse du 4-(p-azidophenyl)butanoate de N-succinimidyle



Mode opératoire

A l'abri de la lumière et dans un ballon flambé et mis sous argon, on introduit 0.350 g d'acide 4-(p-azidophenyl)butyrique, 0.137 g de NHS (N-hydroxysuccinimide) ainsi qu'une quantité catalytique de DMAP. On dissout le tout dans 1.5 mL de DCM sec avant de baisser la température du milieu réactionnel à l'aide d'un bain de glace. 190 μ L de diisopropylcarbodiimide est ensuite additionnée par un goutte à goutte lent. On rajoute 10 mL de DCM sec et on laisse la réaction tourner pendant une heure sous agitation vigoureuse à 0°C, puis pendant 19 heures à température ambiante. L'urée formée est filtrée et rincée deux fois au DCM. Le filtrat est ensuite lavé à 4 reprises par 25 mL d'une solution HCl 0.05 M, puis encore 4 fois au NaCl saturé. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée. On laisse l'urée restante cristalliser pendant 16 heures à -20°C dans 30 mL d'AcOEt. Le précipité formé est éliminé et le filtrat condensé sous vide, chromatographié à l'AcOEt pour nous donner 349 mg d'un solide blanc.

Rendement : 70%

Caractérisation de MM54

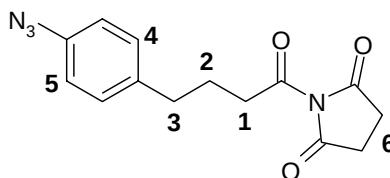
Formule brute : C₁₄H₁₄O₄N₄

P.M. : 302.29 g/mol

Aspect : solide blanc

CCM : AcOEt, R_f = 0.9

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃):



Déplacement	Multiplicité	Intégration	Attribution
7.20	d, $^3J_{5-4} = 8.5$ Hz	2	5
6.90	d, $^3J_{4-5} = 8.5$ Hz	2	4
2.85	s	4	6
2.72	t, $^3J_{3-2} = 7.4$ Hz	2	3
2.60	t, $^3J_{1-2} = 7.4$ Hz	2	1
2.05	m	2	2

IR (KBr, cm-1) : 2107 (azoture), 1739 (ester)

Greffages aux membranes

Techniques d'analyse de surface :

XPS

La composition chimique de surface est déterminée par XPS avec un spectromètre SSX100 (modèle 206 de Surface Sciences Instruments, USA) équipé d'une anode d'aluminium (10 kV, 20mA) et d'un monochromateur en quartz. La direction de collecte des photoélectrons se fait selon des angles de 55° et de 71° par rapport respectivement à la normale de l'échantillon et au faisceau de rayon-X incident. L'accumulation de charge provoquée par la photoéjection est compensée par un flux d'électrons ajusté à 6 eV et en plaçant une grille de nickel à 2-3 mm au-dessus de l'échantillon. Le vide dans la chambre d'analyse se trouve entre $2.5 \cdot 10^{-6}$ Pa et $2.4 \cdot 10^{-7}$ Pa. La valeur de référence pour la détermination des énergies de liaison est la composante C1s due au carbone lié uniquement à des hydrogènes et des carbones, fixée à 284.8 eV. L'aire des pics est déterminée par soustraction d'une ligne de base et est normalisée en fonction des paramètres d'acquisition. Les rapports d'aire sont convertis en fractions atomiques par le logiciel Casa XPS qui utilise les facteurs de sensibilité donnés par le constructeur. La décomposition des pics a lieu en deux étapes. Un premier ajustement de courbes a lieu après avoir placé, à leurs énergies de liaison et sans contraintes, les différentes composantes.

SEM

La morphologie des membranes a été étudiée sur un microscope à balayage électronique Philips XL20 (18 kV et 12.3 mm) chez Baxter R&D à Nivelles. Les membranes furent montées sur supports métalliques à l'aide de ruban adhésif double face de carbone. Une fine couche (environ 12 nm) d'un alliage de Pd/Au fut électro-déposé sur les membranes avant leur analyse.

LSC

Le comptage après radiomarquage à la lysine a été opéré grâce à un analyseur TRI-CARB 1600 TR (Packard Instruments, San Diego, CA, USA). Les échantillons ont été introduits dans des fioles de 20 mL en PE (MilliQ20, Packard, San Diego, CA, USA) avec 5 mL de la solution scintillante AQUALUMA (Lumac, Basel, Suisse). Chaque échantillon a ensuite été compté pendant 5 minutes. Une première référence d'aqualuma seul fut utilisée lors de chaque comptage, alors que deux autres fioles contenant respectivement 20 et 40 μ L de la solution de lysine tritiée servirent de référence pour la détermination du facteur de conversion dpm/quantité de lysine fixée. Sachant que $2 \cdot 10^{-8}$ M de lysine sont contenues dans 20 μ L de la solution de

lysine à 10^{-3}M , nous avons pu convertir les résultats des dpm/échantillon en pmol/cm² de surface apparente pour le PBT (redivisé par 258 cm²/échantillon pour le PVDF).

Les résultats présentés correspondent à une moyenne opérée sur 3 échantillons.

Test d'intégrité

Les tests de porosité ont été opérée sur un Coulter Porometer II (Coulter Electronics Ltd., UK) chez Whatman à Louvain-la-Neuve. La pression exercée pour atteindre un flux d'air de 0.05 et 0.100 L/minute a été mesurée sur membranes natives et après traitements afin de s'assurer du maintien de leur intégrité. Les membranes furent immergées dans de l'eau MilliQ pendant les 15 minutes qui ont précédé leur analyse. Les membranes analysées ont un diamètre de 25 mm. Les quantités utilisées pour les traitements ont donc été multipliée par 3.8.

Membranes polymères

Support PBT

Les pastilles de PBT DW 406/410 *melt blown* sont découpées à partir de feuilles commercialisées par Johns Manville (diamètre de 13 mm, mean flow pore 5 μm , 1.31 g/cm³, diamètre de pores de 0.49 μm , avec une densité de $1.45 \cdot 10^6$ pores/cm²). Certaines mises au point ont été effectuées sur les membranes séparées en 3 couches.

Support PVDF

Les pastilles de PVDF DVPP de 13 mm de diamètre sont commercialisées par Millipore par lots de 100 unités.

Solutions utilisées

Solutions acides :

- HCl ($5 \cdot 10^{-3}\text{M}$) : 0.8 ml d'HCl (6M) porté à 1 litre avec de l'eau désionisée.
- HCl 1 M : 63 mL d'HCl 37% dans 1L d'eau désionisée.

Solution tampon :

- Tampon phosphate (PBS, pH=8) : 16.86g de Na₂HPO₄·2H₂O et 0.826g de NaH₂PO₄·H₂O dans 1 litre d'eau milliQ.

Solutions d'activation :

- Solution d'HOBt : 0.035g d'HOBt dans 10 mL de PBS/CH₃CN.

- Solution de TsCl : 0.5g de TsCl et 0.2mL de pyridine dans 10mL d'AcOEt.
- Solution de $C_3N_3F_3$: 0.135g dans 10 mL d'AcOEt.
- Solution de $C_3N_3Cl_3$: 0.478g dans 10 mL d'AcOEt.
- Solution de WSC : 0.43 g de WSC dans 10 mL de PBS/ CH_3CN .

Solution de l'amine à greffer ($10^{-3}M$) :

Les solutions utilisées sont de l'ordre de $10^{-3}M$ en amine dans un mélange acétonitrile/tampon phosphate (pH= 8, filtré)(1 : 1) pour le PBT ou acétone/eau (1 : 9) pour le PVDF.

La solution de lysine tritiée utilisée est préparée à base de 187.5 μL de lysine radioactive (82 Ci/mmol) et 250 μL de lysine froide à 0.1 M dans 25 mL d'eau désionisée pour le PVDF ou de PBS/acétonitrile pour le PBT.

Greffages

Protocoles utilisés dans le cadre des mises au point des méthodes de greffage

Hydrolyse basique

Les membranes de PVDF ont été immergées individuellement dans 5 mL d'une solution LiOH 1M dans l'eau et laissée sous agitation de 1 à 24 heures à température ambiante ou à 60°C. Les échantillons ont ensuite été lavés à l'eau à 3 reprises et séchés avant d'être analysés en XPS.

Hydrolyse acide

Les membranes de PVDF ont été immergées individuellement dans 5 mL d'une solution HCl 1M dans l'eau et laissée sous agitation de 1 à 48 heures à température ambiante. Les échantillons ont ensuite été lavés à l'eau à 3 reprises et séchés avant d'être analysés en XPS.

Activation à la WSC

Les membranes ont (éventuellement) été immergées individuellement dans 2 mL de DMSO et laissées sous agitation pendant 5 minutes. Le solvant a ensuite été retiré par succion (dispositif relié à une trompe à eau), avant l'addition de 2 mL d'une solution de WSC (0.43 g dans 10 mL d'eau). La réaction a duré de 30 minutes à 4 h à 20 ou 60°C. La solution d'activation a été retirée par succion. Les membranes ont ensuite été lavées avec 1 mL d'eau avant d'être mises en réaction avec la lysine. D'autres expériences furent aussi opérées en additionnant pendant ou après l'activation à la WSC 1 mL d'une solution d'HOBt.

Activation au TsCl

Les membranes de PVDF ont été immergées individuellement dans 2 mL de DMSO et laissées sous agitation pendant 5 minutes. Le solvant a ensuite été retiré par succion, avant l'addition de 2 mL d'une solution de TsCl (0.5g de TsCl et 0.2mL de pyridine dans 10mL d'AcOEt.). La réaction a duré 1 ou 2 h à 20 ou 60°C. La solution d'activation a été retirée par succion. Les membranes ont ensuite été lavées avec 2 mL d'AcOEt à 2 reprises avant d'être mises en réaction avec la lysine.

Dix membranes de PBT ont été agitées à t.a pendant 1h dans une solution de 2.5g de TsCl, 50 mL d'acétone et 1.06 mL de pyridine. Les membranes ont ensuite été lavées à l'acétone (50 mL, 5 minutes) et à l'eau (50 mL, 5 minutes). Les blancs ont subi le même traitement sans addition de TsCl.

Activation au C₃N₃Cl₃

Les membranes ont été immergées individuellement dans 2 mL de DMSO et laissées sous agitation pendant 5 minutes. Le solvant a ensuite été retiré par succion, avant l'addition de 2 mL d'une solution de C₃N₃Cl₃ (0.478g dans 10 mL d'AcOEt). La réaction a été effectuée dans diverses conditions de température et de temps. La solution d'activation a été retirée par succion. Les membranes ont ensuite été lavées avec 2 mL d'AcOEt à 2 reprises avant d'être mises en réaction avec la lysine.

Activation au C₃N₃F₃

Les membranes ont été immergées individuellement dans 2 mL de DMSO et laissées sous agitation pendant 5 minutes. Le solvant a ensuite été retiré par succion, avant l'addition de 2 mL d'une solution de C₃N₃F₃ (0.135g dans 10 mL d'AcOEt). La réaction a été effectuée dans diverses conditions de température et de temps. La solution d'activation a été retirée par succion. Les membranes ont ensuite été lavées avec 2 mL d'AcOEt à 2 reprises avant d'être mises en réaction avec la lysine.

Activation photochimique

Les pastilles sont soit immergées pendant 10 secondes dans une solution du bras azoture dans de l'acétonitrile (25 mg dans 10 mL) soit mouillées goutte à goutte par la solution de bras azoture et séchées à l'air dans l'obscurité (1 goutte par face). Les pastilles sont ensuite déposées sur une feuille de papier filtre et laissées séchées à l'air libre et dans l'obscurité pendant 30 minutes. Chaque face est ensuite irradiée de 1 minute à 24 h sous UV (254 nm, 3 lampes de 8W placées à 7 cm de distance). Les pastilles sont ensuite lavées par 2 mL d'acétonitrile pendant 10 minutes à 3 reprises et déposées dans un multi-puits maintenu sous agitation (plateau). Les pastilles sont ensuite séchées à l'air avant d'être incubées à température ambiante pendant des temps variés. Trois types de blancs furent testés : blanc sans irradiation ou blanc irradié ou blanc activé (bras) et irradié. Les irradiations sous atmosphère inerte ont été opérées dans un dispositif en quartz mis sous vide avant irradiation. Les pastilles sont ensuite déposées une à une dans un multi-puits et lavées successivement par 1

mL de PBS/CH₃CN, 1 :1 (3 fois 5 minutes), 1 mL d'eau (3 fois 5 minutes), 1 mL d'HCl 0,005 M (2 fois 5 minutes), 1 mL d'eau (2 fois 5 minutes) avant d'être déposées sur papier filtre et séchées à l'air.

Couplage à la lysine*

Une fois les membranes activées (ou non dans le cas des blancs), les échantillons sont engagés dans la réaction de couplage à la lysine tritiée (solution préparée à l'aide de 187.5 µL de lysine radioactive (82 Ci/mmol) et 250 µL de lysine froide à 0.1 M dans 25 mL d'eau pour le PVDF ou de PBS/acétonitrile pour le PBT) dans des multi-puits en PS. La réaction évolue pendant le temps souhaité (le plus souvent 20 minutes) avant de retirer la solution de lysine* par succion et de la remplacer par un solvant de rinçage.

Pour le PVDF c'est le protocole de rinçage suivant qui été mis au point : 2 mL d'acétone/eau (1 : 9), 5 minutes ; 2 mL d'eau, 5 minutes ; 2 mL d'HCl 5.10⁻³M, 5 minutes ; 2 mL d'acétone/eau (1 : 9), nuit ; 2 mL d'HCl 5.10⁻³M, 5 minutes. En dernier lieu, les membranes sont lavées sous vide sur un fritté par filtration à l'aide de 2 mL d'acétone/eau (1 : 9).

Pour le PBT, les étapes de rinçage consistent en : 1 mL de PBS/acétonitrile (1 :1), 2 fois 5 minutes ; 1 mL d'eau, 2 fois 5 minutes ; 1 mL d'HCl 0.01 M, 2 fois 5 minutes et eau, 2 fois 5 minutes ; suivi de 4 filtrations d'1 mL de respectivement PBS/acétonitrile, eau, HCl, et eau.

Protocoles utilisés dans le cadre du greffage aux membranes

Activation au C₃N₃F₃

Les pastilles de PVDF DVPP sont prémouillées au DMSO pendant 5 minutes sous agitation (plateau). Le DMSO est ensuite retiré par succion (dispositif relié à une trompe à eau). Chaque pastille est introduite dans un petit récipient individuel en verre et on y ajoute 2 mL d'une solution de C₃N₃F₃ dans l'AcOEt fraîchement préparée. On couvre les récipients, que l'on installe sur un plateau agitateur sous hotte. La réaction évolue ainsi pendant 1 heure à température ambiante. Les pastilles sont retirées de la solution de C₃N₃F₃ et rincées à deux reprises à l'AcOEt, avant d'être incubées dans les solutions d'amines à greffer pendant 4 heures à 37°C. Pour se faire, les pastilles sont introduites par 3 dans 10 mL de ligand à 10⁻³M dans une solution de PBS/acétone, 9 :1, fraîchement préparée (pour MM23 : 8 mg ; MM50 : 6 mg ; MM24 : 5 mg ; MM37 : 6 mg ; MM38 : 7 mg ; GRGDS : 5 mg et GGGGG : 3 mg dans 10 mL).

Après 4 heures, les pastilles sont retirées et respectivement lavées par 2 mL d'une solution d'eau/acétone, 9 :1 (5 minutes), de l'eau (5 minutes), une solution d'HCl 10⁻³M (5 minutes), une solution d'eau/acétone, 9 :1 (nuit), une solution d'HCl 10⁻³M (5

minutes). En dernier lieu, les membranes sont lavées sous vide sur un fritté par filtration à l'aide de 2 mL d'acétone/eau (1 : 9).

Les pastilles sont ensuite séchées et entreposées avant les analyses XPS ou les tests de filtration.

Activation photochimique

Les pastilles de PBT sont immergées pendant 10 secondes dans une solution du bras azoture dans de l'acétonitrile (25 mg dans 10 mL). Les pastilles sont ensuite déposées sur une feuille de papier filtre et laissées séchées à l'air libre et dans l'obscurité pendant 30 minutes. Chaque face est ensuite irradiée pendant 10 minutes sous UV (254 nm, 3 lampes de 8W placées à 7 cm de distance). Les pastilles sont ensuite lavées par 1 mL d'acétonitrile pendant 10 minutes à 3 reprises et déposées dans un multi-puits maintenu sous agitation (plateau). Les pastilles sont ensuite séchées à l'air avant d'être incubées à température ambiante pendant 16 heures. Les ligands à greffer sont dissous dans une solution de PBS/acétonitrile, 1 :1 (pour MM23 : 8 mg; MM50 : 6 mg ; MM24 : 5 mg ; MM37 : 6 mg ; MM38 : 7 mg ; GRGDS : 5 mg et GGGGG : 3 mg dans 10 mL de solution filtrée). Les pastilles sont ensuite déposées une à une dans un multi-puits et lavées successivement par 1 mL de PBS/CH₃CN, 1 :1 (3 fois 5 minutes), 1 mL d'eau (3 fois 5 minutes), 1 mL d'HCl 0,005 M (2 fois 5 minutes), 1 mL d'eau (2 fois 5 minutes) avant d'être déposées sur papier filtre et séchées à l'air.

Evaluation biologique

Les tests de filtration ont été opérés sur les membranes récemment greffées et sur des échantillons sanguins de "buffy coat" prélevés la veille de donneurs et centrifugés au Centre de Transfusion de la Croix Rouge à Namur.

Le "buffy coat" a été homogénéisé dans sa poche avant ouverture. Les premiers mL recueillis ont été écartés (début de coagulation) avant de prélever la quantité nécessaire aux filtrations. Le "buffy coat" a été dilué dans du PBS avant la filtration, à raison de 2 mL pour 60 mL de PBS fraîchement préparé.

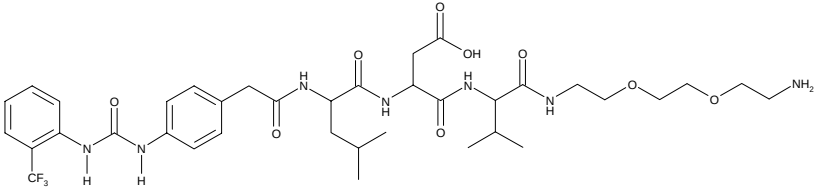
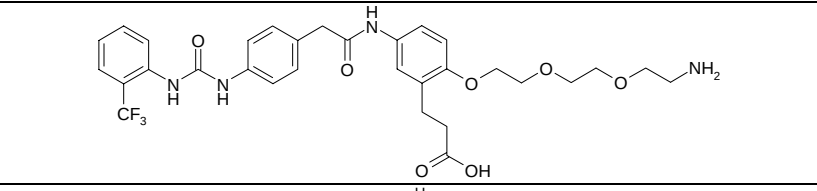
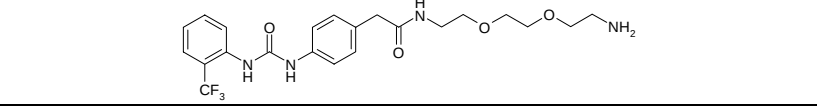
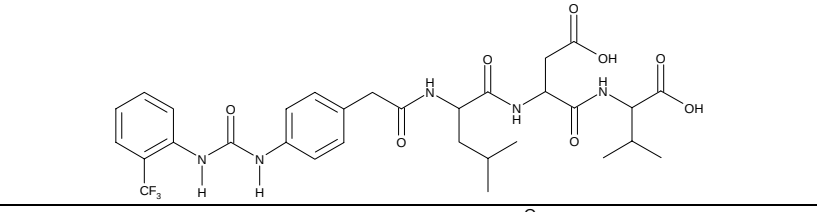
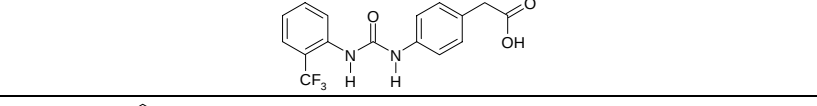
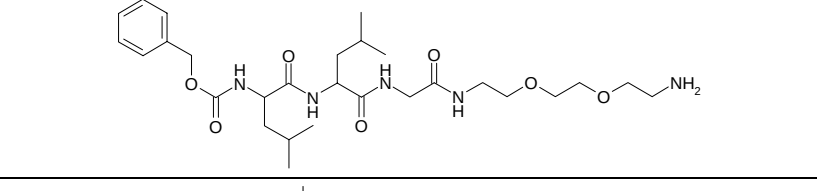
Swinnex et joints ont été rincés à l'eau et trempés dans du PBS avant chaque filtration.

En ce qui concerne les tests d'incubation, les solutions donneuses ont été mises en présence des ligands pendant 15 minutes à température ambiante avant filtration.

Les supports *Swinnex* munis des filtres greffés ou non ont ensuite été utilisés pour la filtration de 1 mL de la solution donneuse de PBS et de "buffy coat". Les filtrats ont été recueillis dans des tubes et les cellules fixées au formaldéhyde à 4% (100 μ L de formaldéhyde à 40% par mL). Les tubes ont été agités, scellés et conservés à 4°C en attendant leur analyse au FACS (Fluorescence Activated Cell Sorter).

Les analyses FACS ont été effectuées par Melle des Rieux au *Ludwig Institute* (Bruxelles) sur un appareil de type FACScan, commercialisé par B.D.. Un temps d'analyse de 1 minute par échantillon a été fixé, ce qui correspond à 60 μ L d'échantillon analysés.

Tubes	
1-3	SD = Solution donneuse
4-10	PVDF
11-17	PBT
18-24	PVDF et BC incubé
25-31	PBT et BC incubé

Test d'incubations	Structure des ligands
2 mL SD + 8 mg MM23	
2 mL SD + 6 mg MM51	
2 mL SD + 5 mg MM26	
2 mL SD + 7 mg MM24	
2 mL SD + 4 mg MM03	
2 mL SD + 6 mg MM39	
2 mL SD + 7 mg MM40	