

I Nécessité de protéger et d'activer

Extraits de J. Clayden et al., Chimie organique, De Boeck, Bruxelles, 2003, p.651 à 654, et 195.

Dans cette partie du chapitre, nous parlerons en détail de la synthèse d'une catégorie de molécules biologiquement importantes, les peptides. Ce faisant, nous vous présenterons les groupes protecteurs de deux autres groupements fonctionnels importants, les amines et les acides carboxyliques. L'aptitude à contrôler la réactivité de ces groupements est essentielle pour la synthèse contrôlée des peptides. Ce domaine s'est considérablement élargi depuis l'introduction du groupe protecteur Z ou Cbz (que vous rencontrerez bientôt) en 1932, et on peut aujourd'hui programmer des machines pour synthétiser automatiquement les peptides.

Commençons par réfléchir à la façon de faire réagir ensemble deux aminoacides pour faire un dipeptide - la leucine et la glycine, par exemple. Si nous voulons que le groupement NH_2 de la leucine réagisse avec le groupement CO_2H de la glycine, nous activerons d'abord l'acide carboxylique vis-à-vis de la substitution nucléophile - en faisant par exemple le chlorure d'acyle ou un ester particulièrement réactif.

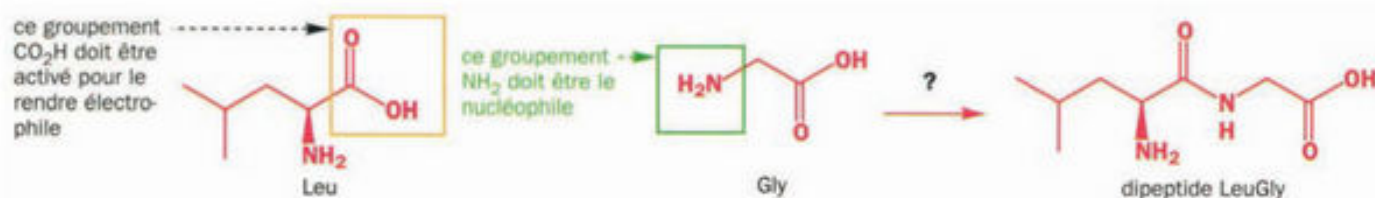


Figure 18.1

Mais le problème principal vient du fait qu'il y a un autre CO_2H libre qui pourrait réagir avec le groupement COX pour former un anhydride et deux amines libres différentes qui peuvent toutes deux réagir en donnant à la fois Leuleu (dont nous ne voulons pas) et LeuGly (que nous faisons).

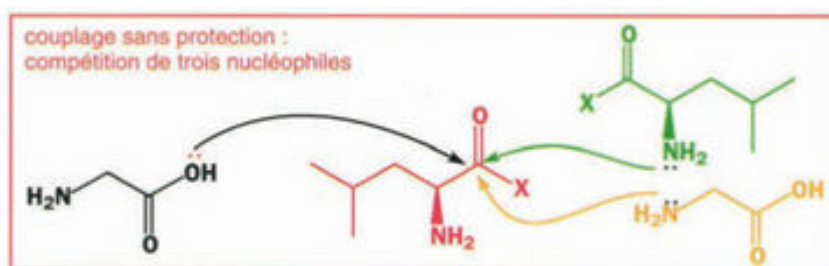


Figure 18.2

Pour cette raison, nous devons protéger à la fois le groupement NH_2 de la leucine et le groupement CO_2H de la glycine. Quel type de groupe protecteur doit-on utiliser ? Nous devons pouvoir les enlever après qu'ils ont rempli leur office et il n'est donc pas question d'utiliser, par exemple, un amide pour protéger l'amine parce que nous aurions une grande difficulté à hydrolyser l'amide en présence de la liaison amide que nous essayons de construire. Idéalement, nous ne voulons pas seulement pouvoir enlever les groupes protecteurs dans des conditions douces qui ne détruisent pas le reste de la molécule, mais nous voulons deux groupes (un pour NH_2 et un pour CO_2H) qu'on puisse enlever dans des conditions *différentes*. Nous aurions alors la possibilité de modifier à volonté l'une ou l'autre extrémité du dipeptide.

Un bon couple de conditions pourrait être le couple acide/base - nous pourrions protéger le groupement NH_2 par un groupe protecteur qu'on peut enlever seulement en milieu acide, et le groupement CO_2H par une protection qu'on peut enlever seulement en milieu basique.

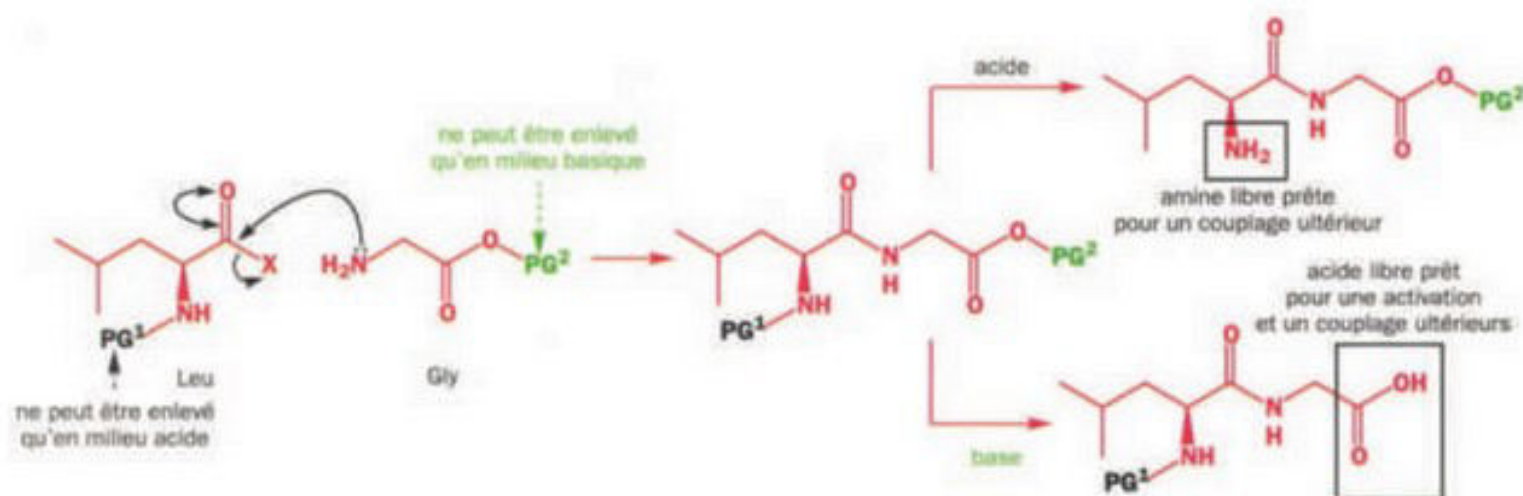


Figure 18.3

Nous avons présenté comme exemple le dipeptide LeuGly parce qu'il constitue l'extrémité C d'une hormone peptidique, l'oxytocine.



Figure 18.4

La première étape de la synthèse de l'oxytocine est effectivement le couplage de la glycine (par son groupement amine) avec la leucine. Voici comment cela a été fait par du Vigneaud et Bodanszky. D'abord, l'acide carboxylique de la glycine a été protégé sous forme d'ester éthylique. La transformation en ester est un moyen évident d'empêcher le groupement CO_2H d'intervenir en tant qu'acide ou nucléophile. Toutefois, les esters simples de méthyle ou d'éthyle peuvent poser un problème - ils peuvent encore réagir avec des nucléophiles comme les amines. L'ester éthylique de la glycine doit être conservé sous la forme de son chlorhydrate : en effet, le groupement $-\text{NH}_2$ est « protégé » sous forme de $-\text{NH}_3^+$.

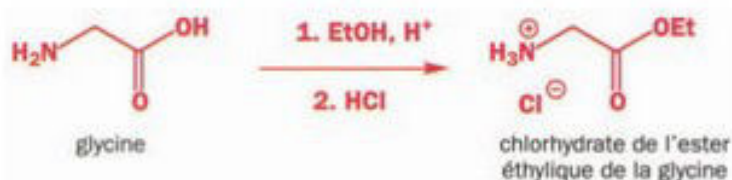


Figure 18.5

Dans ce cas, les chimistes avaient besoin d'un groupement qu'ils puissent faire réagir ensuite avec l'ammoniac pour faire l'amide présent dans l'oxytocine. Ils voulaient également un groupement stable en milieu faiblement acide - et ils choisirent l'ester éthylique. Comme pour le résidu leucine, son groupement NH_2 devait être protégé par un groupe stable en milieu basique, puisque qu'il fallait utiliser une base pour libérer le groupement NH_2 du chlorhydrate de la glycine. Le groupe protecteur utilisé est l'un des plus importants des groupements protecteurs de l'azote et est appelé, de façon plutôt obscure, groupe Z (ou encore CBz, ou carboxybenzyle). On introduit

les groupes Cbz (Z) par traitement avec le chloroformate de benzyle (BnOCOCI) et une base faible.

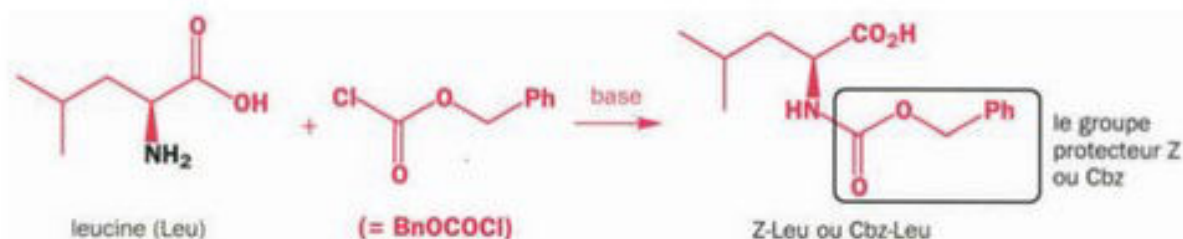


Figure 18.6

Les amines protégées par Cbz se comportent comme des amides - ils ne sont plus nucléophiles parce que le doublet libre de l'azote est bloqué par sa conjugaison avec le groupement carbonyle. Ils résistent aux solutions aqueuses d'acide et de base mais ils possèdent, pour continuer l'analogie du chapitre précédent, un talon d'Achille ou un cran de sûreté - l'ester benzylique. Les conditions qui ont permis d'éliminer les éthers benzyliques élimineront également Cbz : HBr ou l'hydrogénolyse.

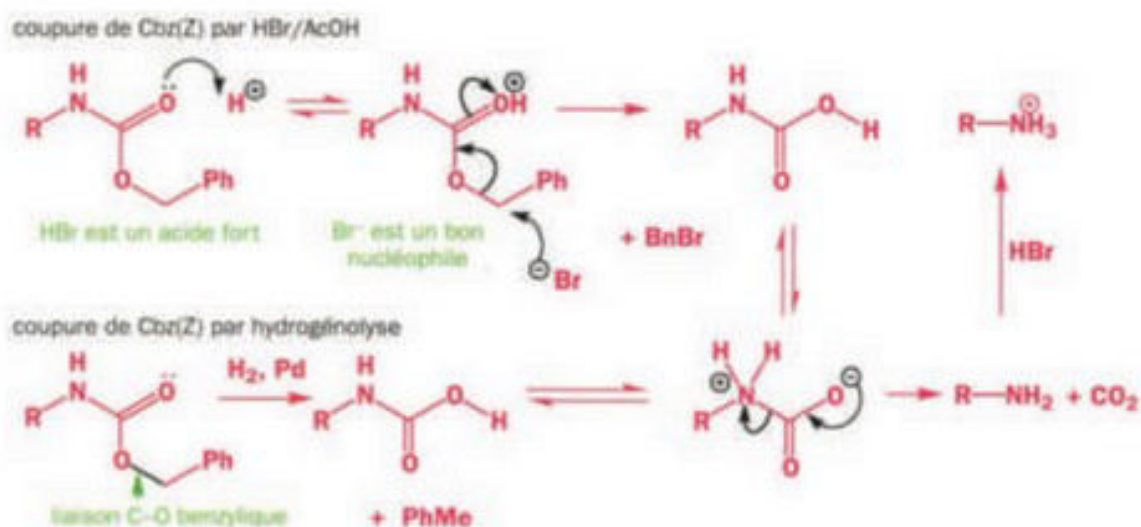


Figure 18.7

La leucine protégée par Cbz devait ensuite être activée pour réagir avec la glycine. Le chlorure d'acyle ne convient pas parce qu'il est instable, et une alternative courante en chimie peptidique consiste à faire un ester de *p*-nitrophényle ou de 2,4,6-trichlorophényle. Le phénolate, surtout lorsqu'il est substitué par des groupements électro-attracteurs, est un bon groupe partant et l'ester de *p*-nitrophényle de la Cbz-leucine réagit avec le chlorhydrate de l'ester éthylique de la glycine en présence d'une base faible (la triéthylamine, pour libérer le groupement NH_2 de la glycine). Notez la chimiosélectivité de cette étape - le groupement NH_2 de la glycine doit choisir entre trois groupements carbonyle, mais il ne réagit qu'avec le plus électrophile - celui qui porte le meilleur groupe partant.

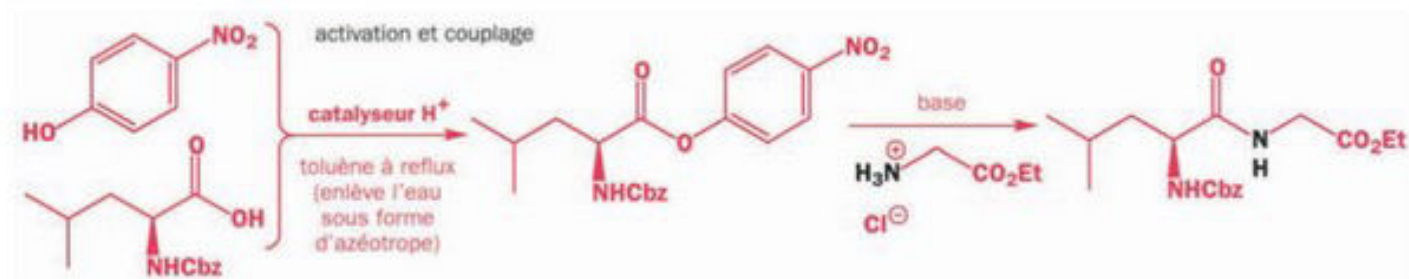


Figure 18.8

Le dipeptide est maintenant obtenu - mais il est toujours protégé. La déprotection (HBr/AcOH) donne le bromhydrate de l'ester éthylique de LeuGly, prêt pour des réactions ultérieures. Le reste du peptide est construit de la même façon - chaque acide aminé est introduit sous la forme de son ester de *p*-nitrophényle protégé par Cbz avant d'être déprotégé pour le couplage suivant, jusqu'à ce que les neuf acides aminés de l'oxytocine aient été tous introduits.

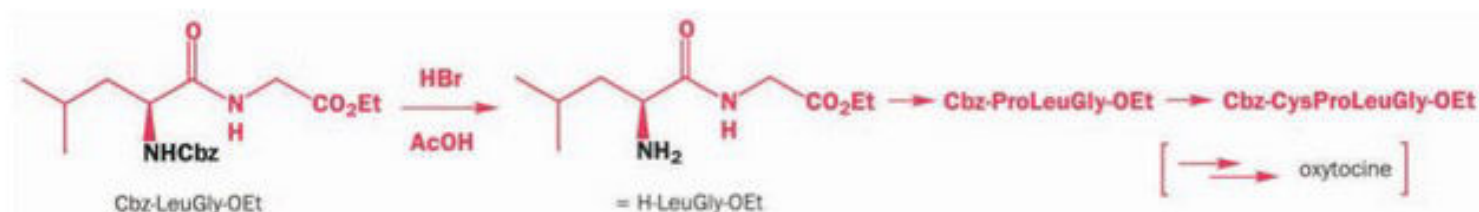


Figure 18.9

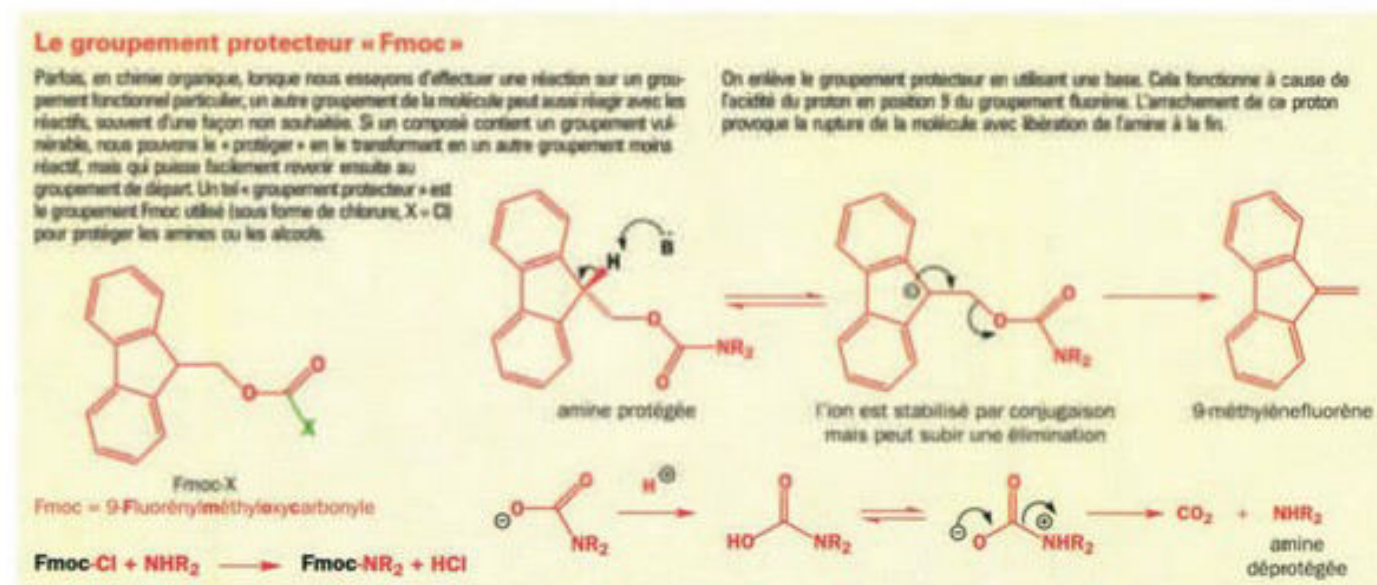


Figure 18.10

Pistes d'analyse

Quelles problématiques sont soulevées par la synthèse peptidique ? Comment le chimiste y répond-il ?

Synthèse

Les protéines sont des biopolymères formés à partir d'acides α -aminés, dont la structure est indiquée figure 18.17.

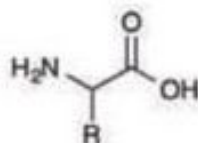


Figure 18.17 : Acide α -aminé

La difficulté lors de la synthèse des protéines vient du fait que deux acides aminés différents peuvent conduire à quatre amides différents, comme indiqué figure 18.18.

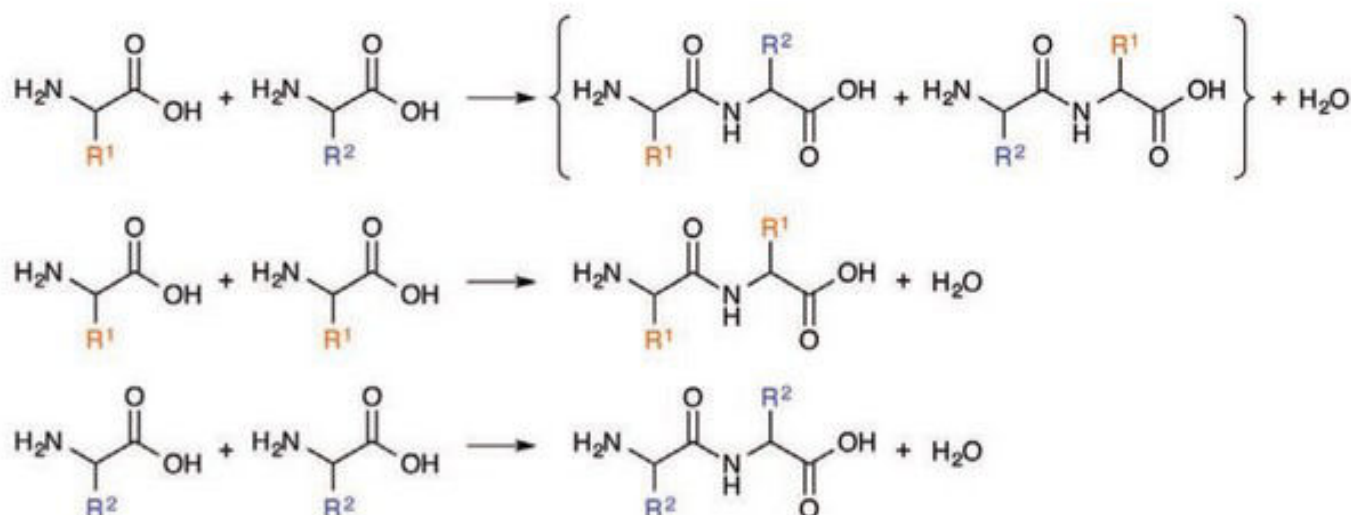


Figure 18.18 : Produits possibles à partir de deux acides α -aminés

Le chimiste doit donc mettre en œuvre une stratégie de synthèse pour ne produire qu'un seul produit parmi les quatre possibles. Pour cela, l'idée est de masquer la réactivité de certains groupes fonctionnels, en les transformant en d'autres groupes fonctionnels. La réaction doit pouvoir être effectuée aisément dans le sens inverse pour retrouver le groupe fonctionnel d'origine. Nous parlons alors de protection de fonction.

Le groupe carboxyle CO_2H à protéger est transformé en ester. Le groupe amino NH_2 de l'autre acide aminé est protégé sous la forme d'un groupe Cbz, représenté figure 18.19. D'autres groupes protecteurs sont également possible pour NH_2 , comme le groupe Fmoc.

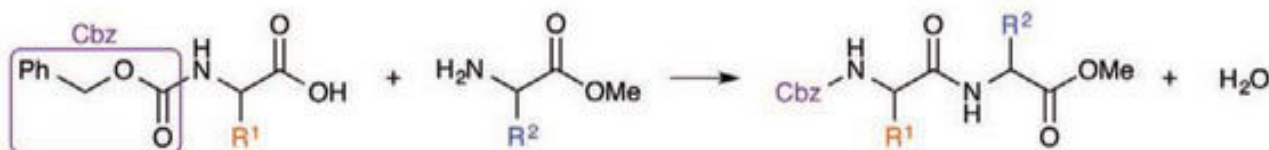


Figure 18.19 : Groupes protecteurs d'acides α -aminés

Cette méthode peut être automatisée en greffant l'acide aminé de départ sur une résine polymère. Cette fixation présente l'avantage de pouvoir effectuer facilement les déprotections et lavages, puisque la chaîne peptidique reste fixée sur le polymère alors que les sous-produits sont entraînés par le solvant. Des améliorations envisagées portent sur la vitesse d'injection des acides aminés, ou sur le contrôle électrochimique de la réactivité de certains acides aminés (procédé SEA). L'objectif étant de pouvoir de longues chaînes dans un court délai (de l'ordre de l'heure), pour répondre aux besoins industriels.

Pour former les protéines, l'organisme n'utilise pas de groupements protecteurs. L'enchaînement précis des acides aminés est assuré par des contraintes géométriques due aux liaisons hydrogène. L'information sur la structure de la chaîne protéique est encodée par l'enchaînement de bases azotées dans l'ADN. Par complémentarité des bases azotées assurée par liaisons hydrogène, comme indiqué figure 18.20, un brin d'ARN messenger est formé.

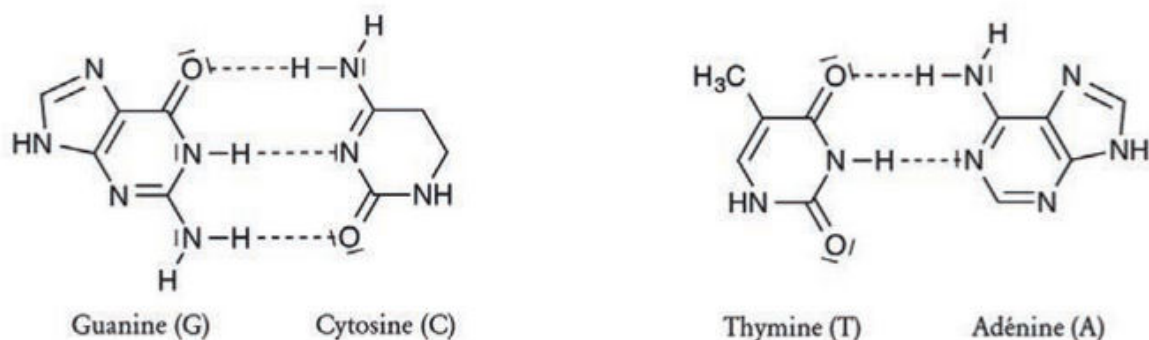


Figure 18.20 : Complémentarité des bases azotées

Ce brin se lie ensuite par d'autres liaisons hydrogène à des brins d'ARN de transfert. Pour ce dernier, chaque brin est complémentaire d'un ensemble de trois bases azotées de l'ARN messager. C'est la séquence formée par trois bases azotées successives, appelée codon, qui permet le respect de l'ordre des acides aminés dans la protéine. En effet chaque brin ARN de transfert apporte sélectivement un acide aminé qui s'ajoute à la chaîne. Il est ainsi possible de former une chaîne précise sans protection de fonctions.