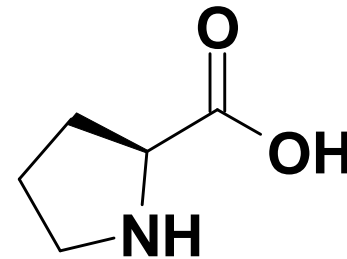
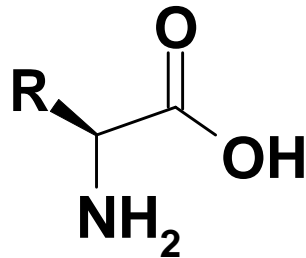


Chimie du peptide

Peptides et Protéines : constituants principaux de la matière vivante,

polymères naturels formés par l'assemblage d'acides aminés



Rôle fondamental dans :

- la charpente de l'édifice cellulaire et des tissus (collagène)
- La régulation : hormones, facteurs de croissance etc...
- Les processus biochimiques : enzymes
- La défense contre les agressions : anticorps, peptides antimicrobiens...
- etc...

Peptides as drugs

C.M.B. Edwards, M.A. Cohen and S.R. Bloom

ICSM Endocrine Unit Hammersmith Hospital London

We are on the brink of a therapeutic revolution. There has been a rapid expansion in the use of peptides as drugs over the last decade, and this is likely to continue. Peptides regulate most physiological processes, acting at some sites as endocrine or paracrine signals and at others as neurotransmitters or growth factors. They are already being used therapeutically in such diverse areas as neurology, endocrinology and haematology.

Enfuvirtide

36 amino acids, 4492.1 g/mol

Ac-Tyr-Thr-Ser-Leu-Ile-His-Ser-Leu- Ile-Glu-Glu-Ser-Gln-Asn-Gln-Gln-Glu- Lys-Asn-Glu-Gln-Glu-Leu-Leu-Glu- Leu-Asp-Lys-Trp-Ala-Ser-Leu-Trp-Asn- Trp-Phe-NH₂

History

Enfuvirtide originated at [Duke University](#), where researchers formed a pharmaceutical company known as [Trimeris](#). Trimeris began development on enfuvirtide in [1996](#) and initially designated it **T-20**. In 1999, Trimeris entered into partnership with [Hoffmann-La Roche](#) to complete the development of the drug. It was approved by the U.S. [Food and Drug Administration](#) (FDA) on [March 13, 2003](#) as the first HIV [fusion inhibitor](#), a new class of antiretroviral drugs. It was approved on the basis of two studies (TORO 1 and TORO 2) which compared the effect of optimized regimens of antiretroviral medication with and without the addition of enfuvirtide on serum [viral load](#).

Enfuvirtide

36 amino acids, 4492.1 g/mol

Ac-Tyr-Thr-Ser-Leu-Ile-His-Ser-Leu- Ile-Glu-Glu-Ser-Gln-Asn-Gln-Gln-Glu- Lys-Asn-Glu-Gln-Glu-Leu-Leu-Glu- Leu-Asp-Lys-Trp-Ala-Ser-Leu-Trp-Asn- Trp-Phe-NH₂

Mechanism of action

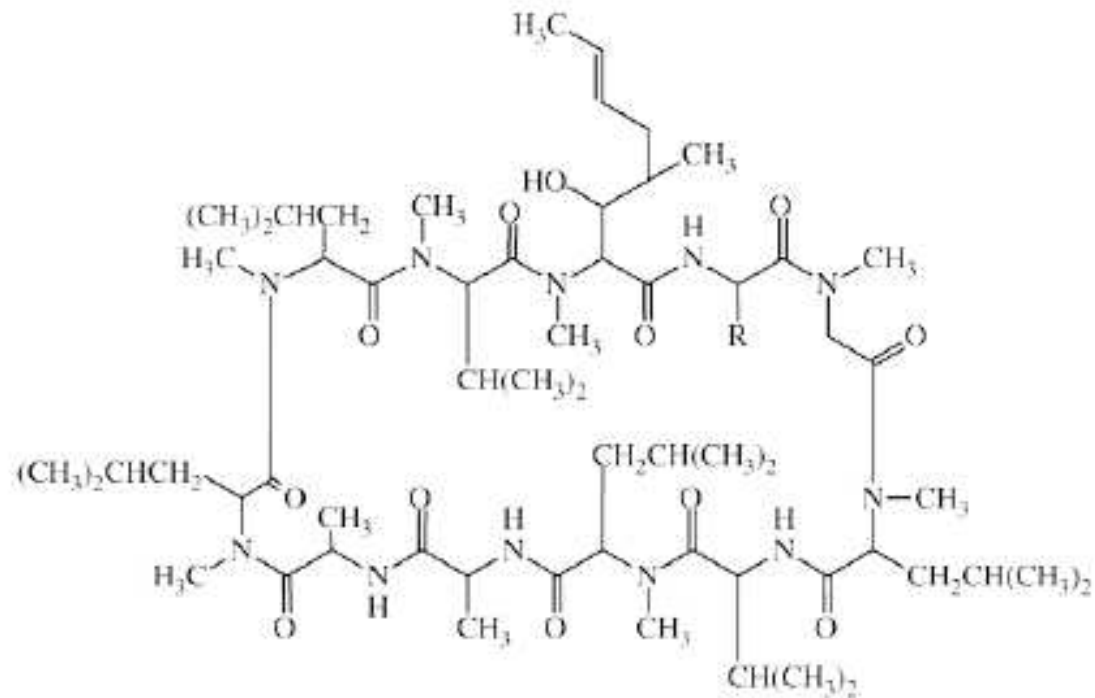
Enfuvirtide works by disrupting the [HIV-1](#) molecular machinery at the final stage of [fusion](#) with the target [cell](#), preventing uninfected cells from becoming infected. A [biomimetic peptide](#), enfuvirtide was rationally designed to mimic components of the [HIV-1](#) fusion machinery and displace them, preventing normal fusion. Drugs that disrupt fusion of [virus](#) and target [cell](#) are termed [entry inhibitors](#) or [Fusion inhibitors](#). HIV binds to host cell receptor CD4+ by the protein GP120; upon binding, GP120 deforms allowing the viral protein GP41 to embed itself into the host cell's plasma membrane, entry inhibitors bind to GP41 preventing the creation of an entry pore for the capsid of the virus keeping it out of the cell.

Cyclosporin A

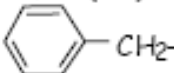
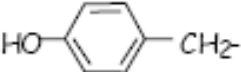
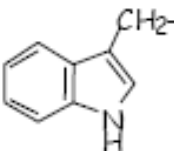
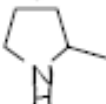
Cyclosporin A is the active ingredient in the Sandoz medication Sandimmun. The Pharmaceuticals company Sandoz is now owned by Novartis

<http://www.pharma.novartis.com/> and they now market the product Sandimmun.

Sandimmun acts in a very specific way to suppress rejection of transplanted organs by the body's immune system.

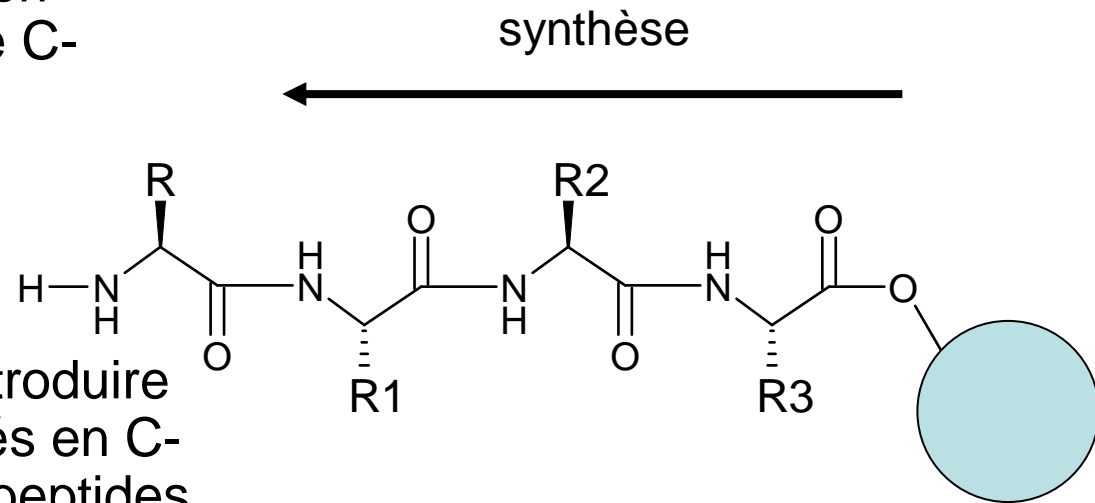


LISTE DES AMINOACIDES PROTÉOGÉNIQUES

Amino acide	Code trois lettres	Code une lettre	Chaîne latérale
Glycine	Gly	G	H-
Alanine	Ala	A	CH ₃ -
Valine	Val	V	(CH ₃) ₂ CH-
Leucine	Leu	L	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ -
Isoleucine (S, S)	Ile	I	CH ₃ CH ₂ (CH ₃)CH-
Acide aspartique	Asp	D	HOOC-CH ₂ -
Asparagine	Asn	N	H ₂ NOC-CH ₂ -
Acide glutamique	Glu	E	HOOC-CH ₂ CH ₂ -
Glutamine	Gln	Q	H ₂ NOC-CH ₂ CH ₂ -
Lysine	Lys	K	H ₂ N-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -
Arginine	Arg	R	$\begin{array}{c} \text{HN} \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{NH-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-} \end{array}$
Histidine	His	H	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \\ \\ \text{HN} \quad \text{N} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{CH}_2 \end{array}$
Sérine	Ser	S	HO-CH ₂ -
Thréonine (S, R)	Thr	T	CH ₃ -CH(OH)-
Phénylalanine	Phe	F	
Tyrosine	Tyr	Y	
Tryptophane	Trp	W	
Cystéine	Cys	C	HS-CH ₂ -
Méthionine	Met	M	CH ₃ -S-CH ₂ CH ₂ -
Proline	Pro	P	

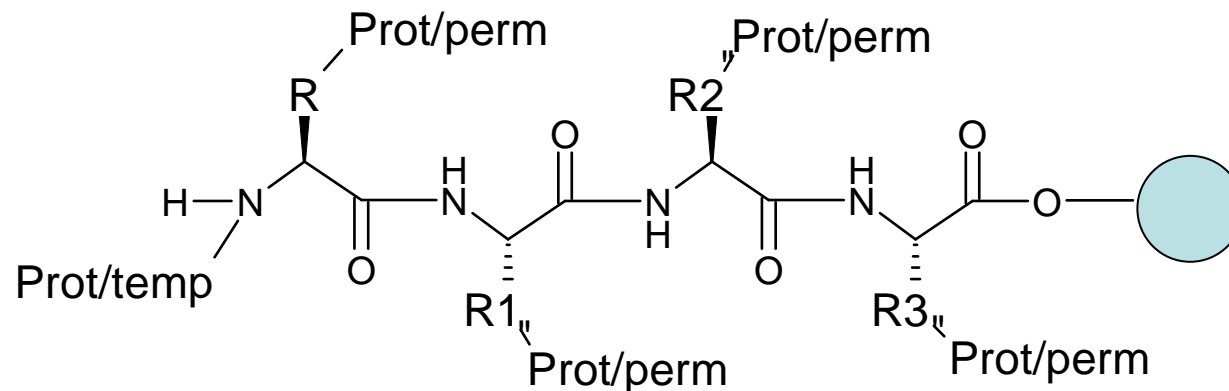
Synthèse des peptides en phase solide

- Phase solide : protection insoluble de l'extrémité C-terminale du peptide



- Mais aussi moyen d'introduire certaines fonctionnalités en C-terminal (synthèse de peptides amide, thioester etc...)
- Simplifie les purifications (lavages intermédiaires) et l'automatisation

Protections



Deux grandes stratégies :

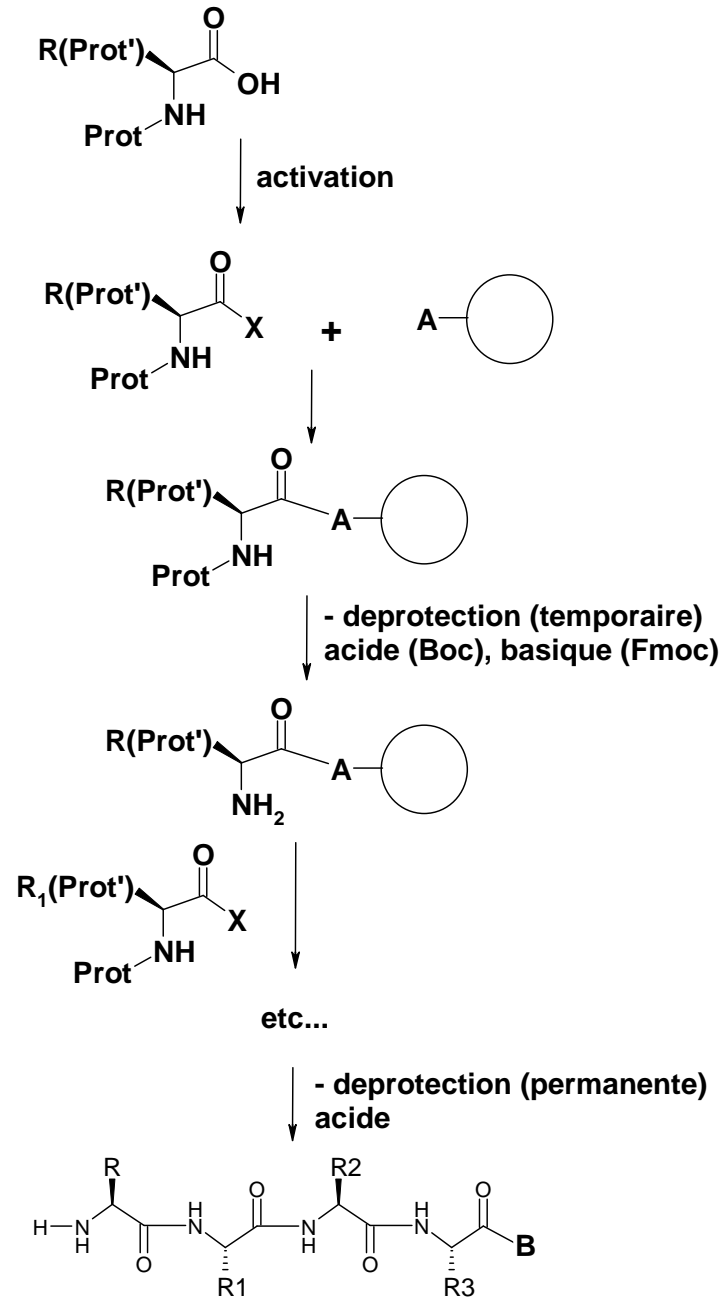
Amine alpha / chaînes latérales

Gp protecteur temporaire / gp protecteur permanent

Enlevé à chaque couplage / enlevé à la fin

Fmoc / *tert*-butyle

Boc / benzyle



Principe de l'élongation en phase solide

Rdt final : (rdt moyen par cycle)^{nb de cycles}

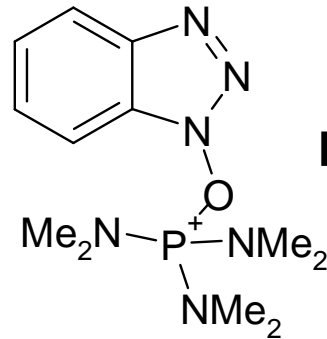
Pour 100 acides aminés
Rdt moyen 98%
 $(0,98)^{100} = 13\%!!$

En réalité, rdt après purification inférieur car problèmes de séparation!

Capping (anhydride acétique)

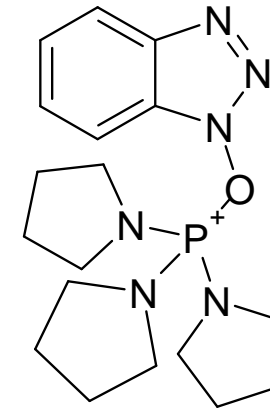
Agents d'activation de la fonction acide carboxylique

Famille des phosphoniums

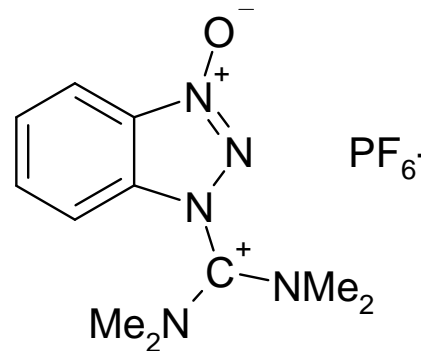


BOP

PyBOP



HBTU
Famille des uroniums



PF_6^-

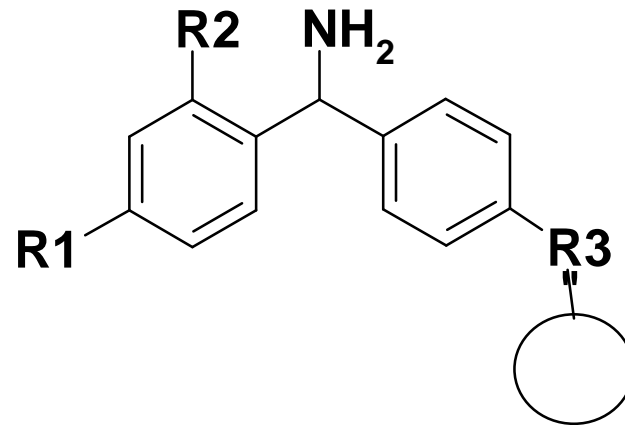
DIC (DCC) avec ou sans auxiliaire (HO-Su, HO-Bt, HO-At, HO-Ar)

Fluorures d'acide

Anhydrides mixtes (IBCF)

Les linkers : lien entre peptide et support solide

Peptides amide



Influence des substituants sur la stabilité des carbocations...

Fmoc / *tert*-butyle

R1 = R2 = OMe

R3 = O

Linker Rink

Coupure TFA

Stable pipéridine

Boc / benzyle

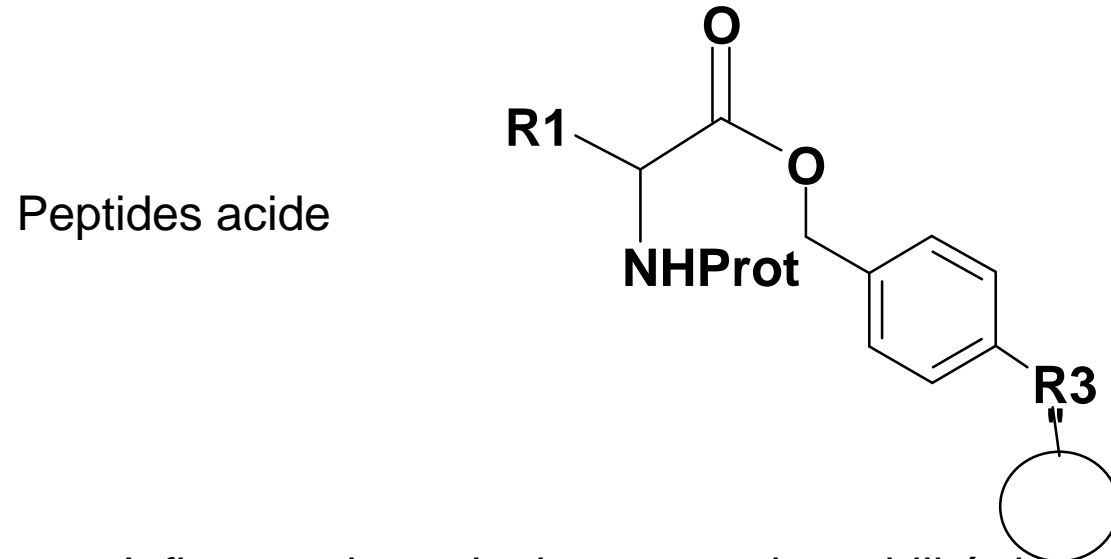
R1 = Me, R2 = H

R3 = CH₂

Coupure HF liquide

Stable TFA

Les linkers : lien entre peptide et support solide



Influence des substituants sur la stabilité des carbocations...

Fmoc / *tert*-butyle

R3 = O

Linker Wang

Coupure TFA

Stable pipéridine

Boc / benzyle

R3 = CH₂

Résine de Merrifield

Coupure HF liquide

Stable TFA

Méthodes convergentes

Pour 100 acides aminés

Rdt moyen 98%

$$(0,98)^{100} = 13\%!!$$

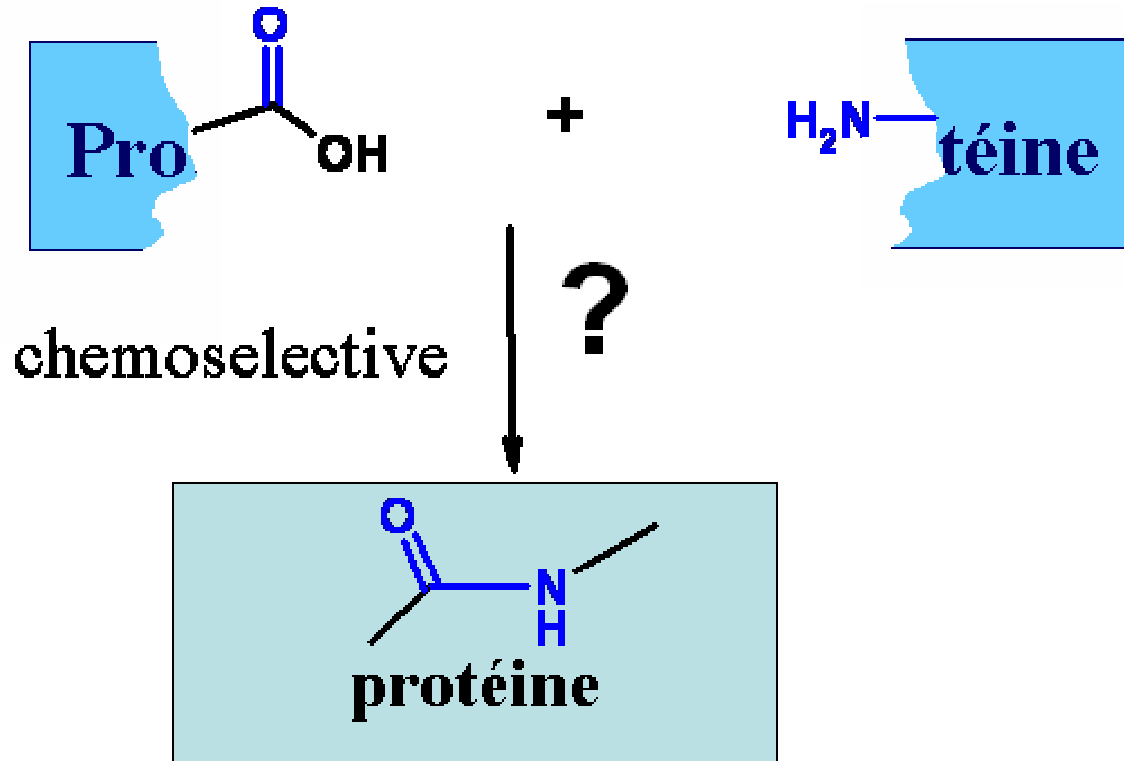
$$(0,98)^{50} = 36\%$$

Coupler deux fragments de 50 aa, plus avantageux!

Travailler avec des fragments peptidiques déprotégés
(solubilité)

Chimiosélectivité!

Chimiosélectivité

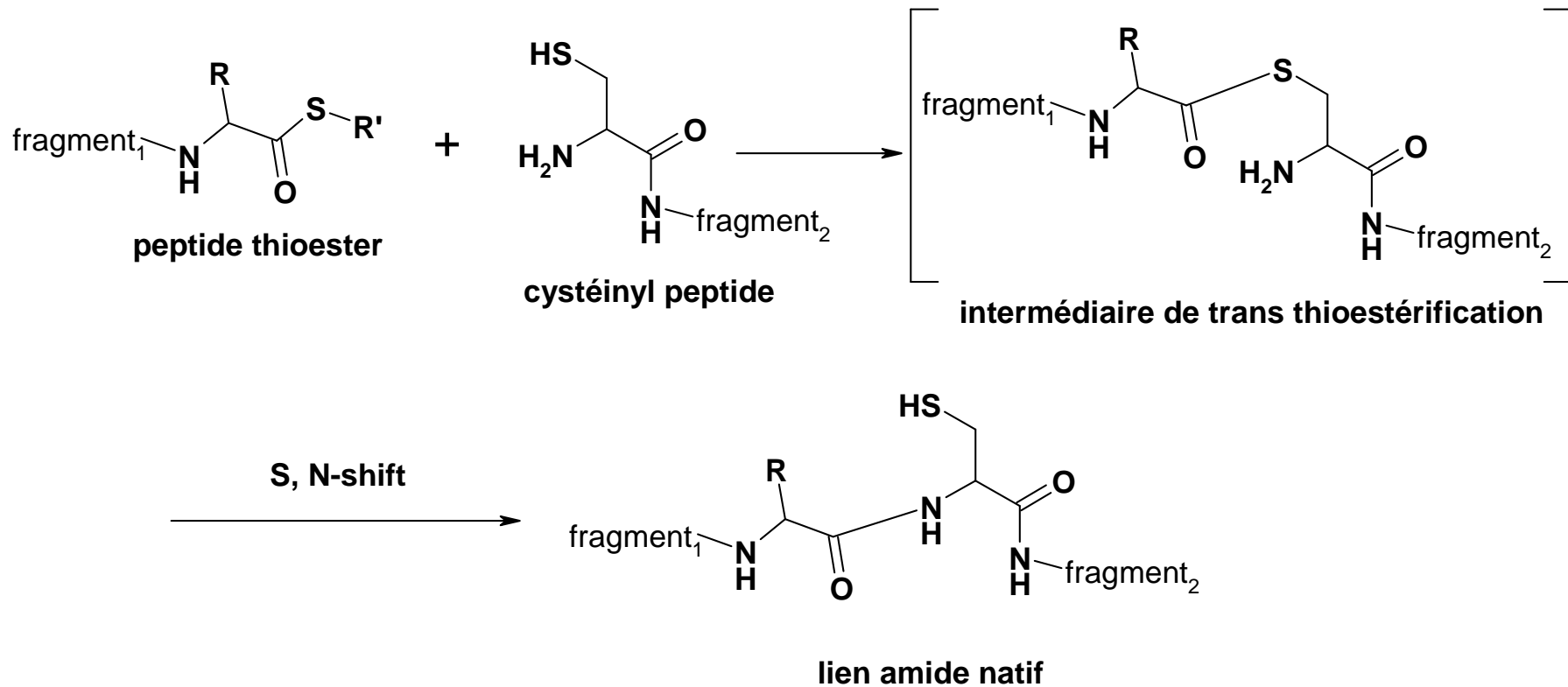


En milieu aqueux?

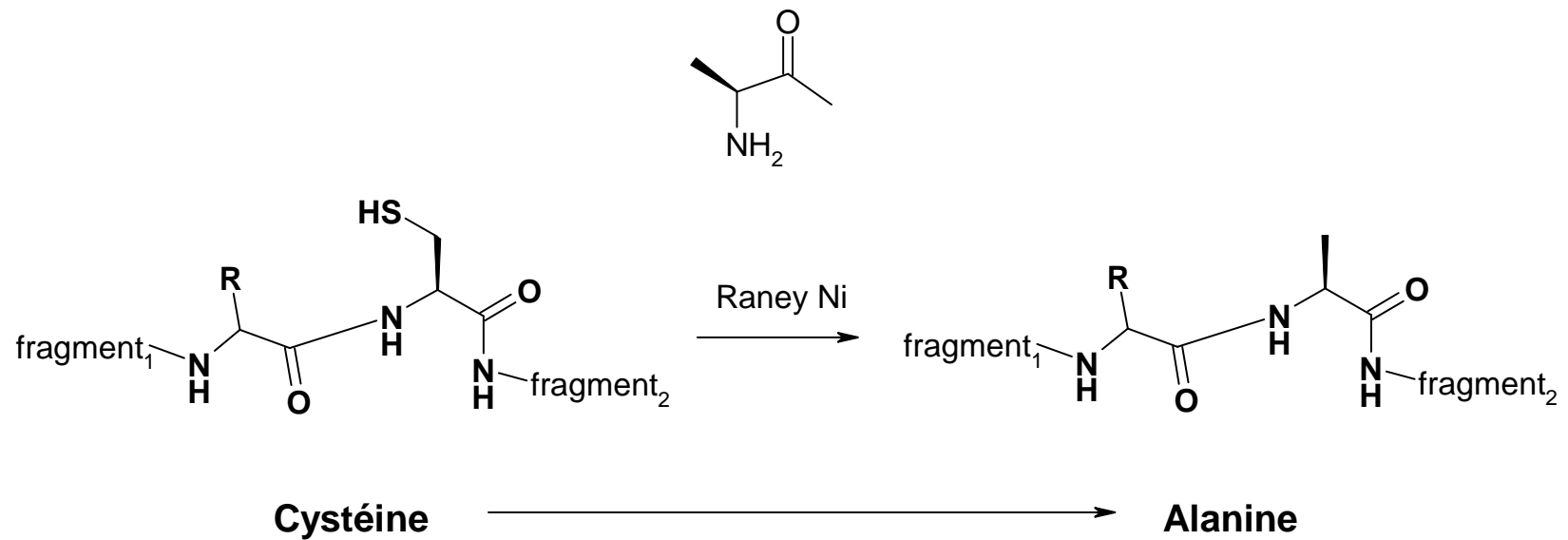
Ligation native

Native chemical ligation

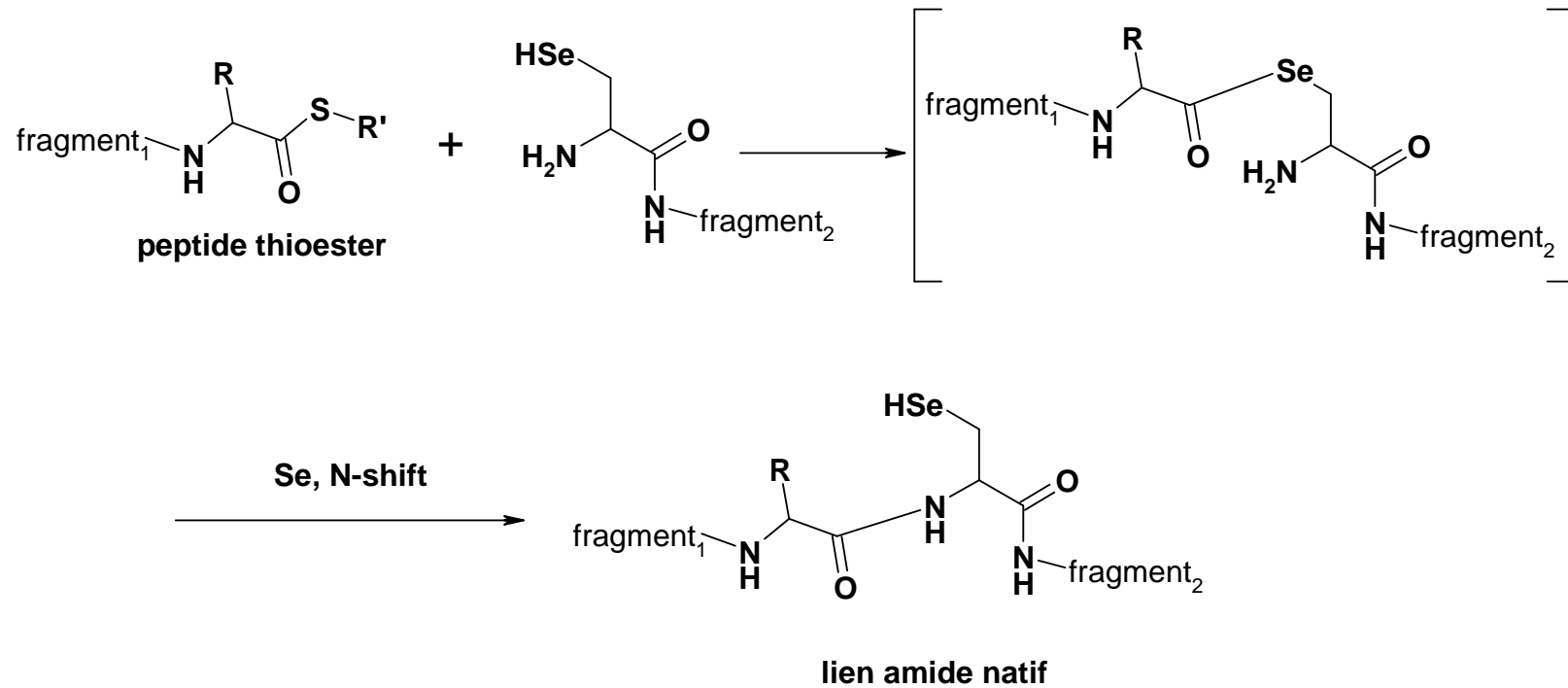
X-Cys (cystéine)



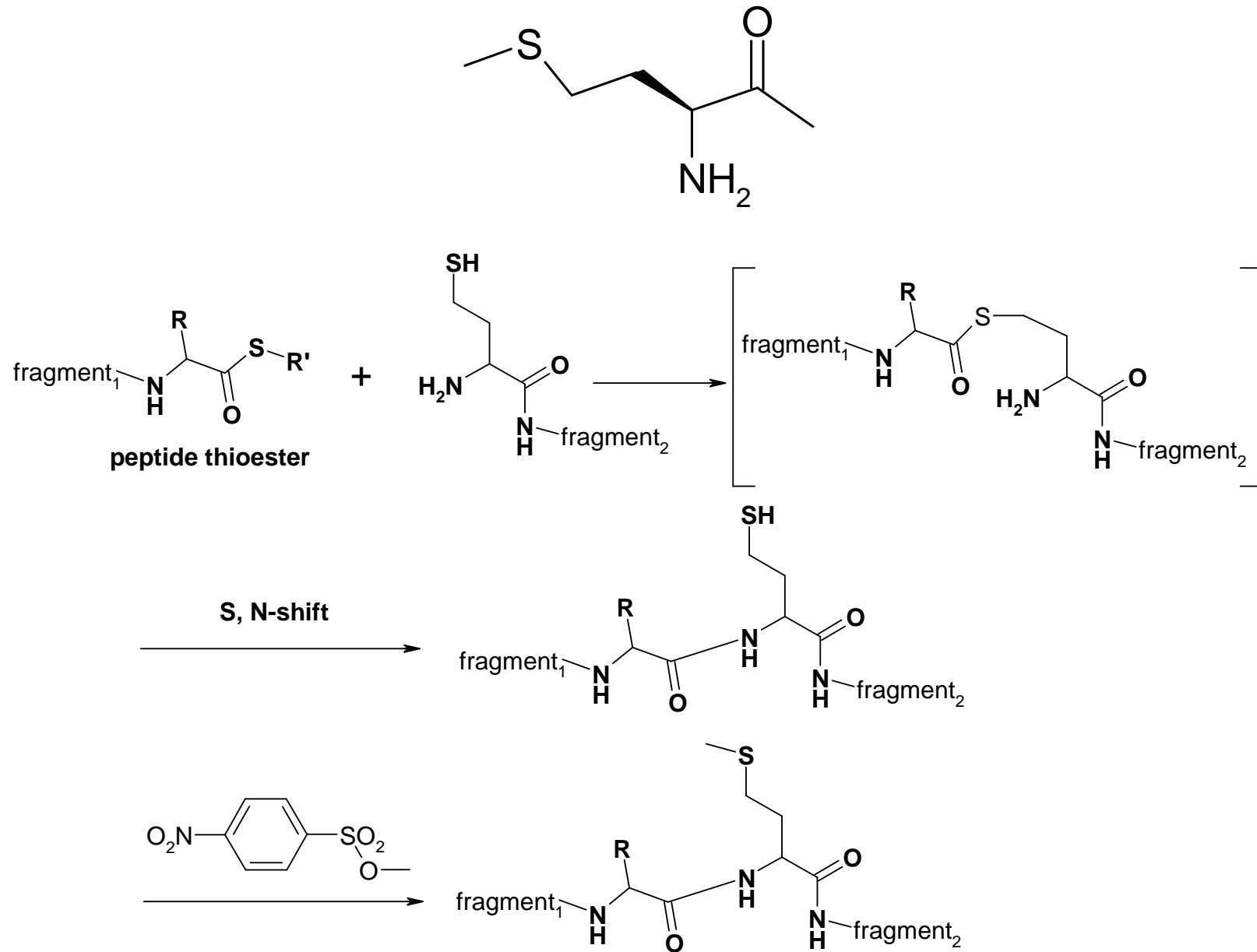
Native chemical ligation + desulfurization X-Ala (alanine)



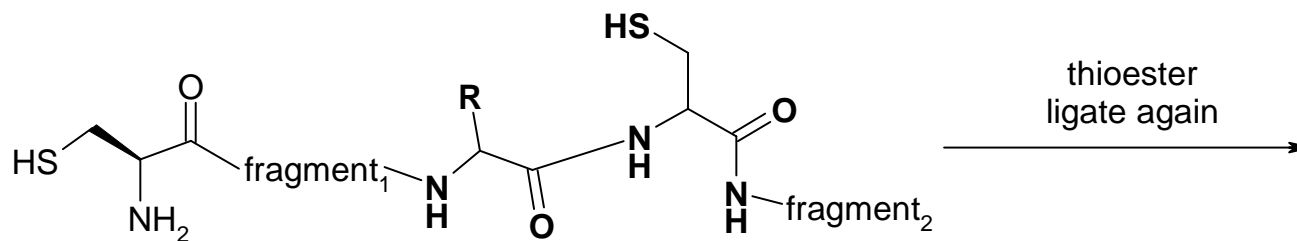
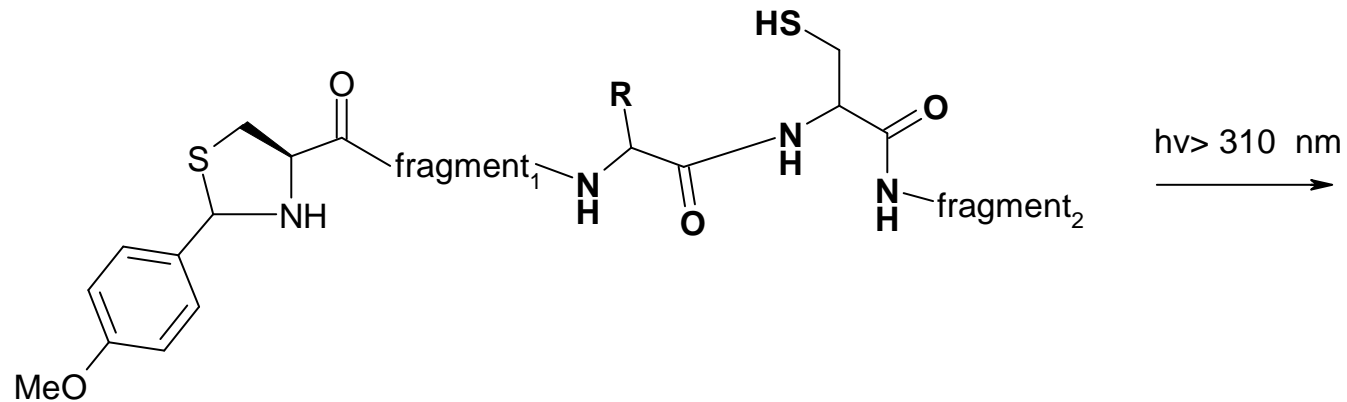
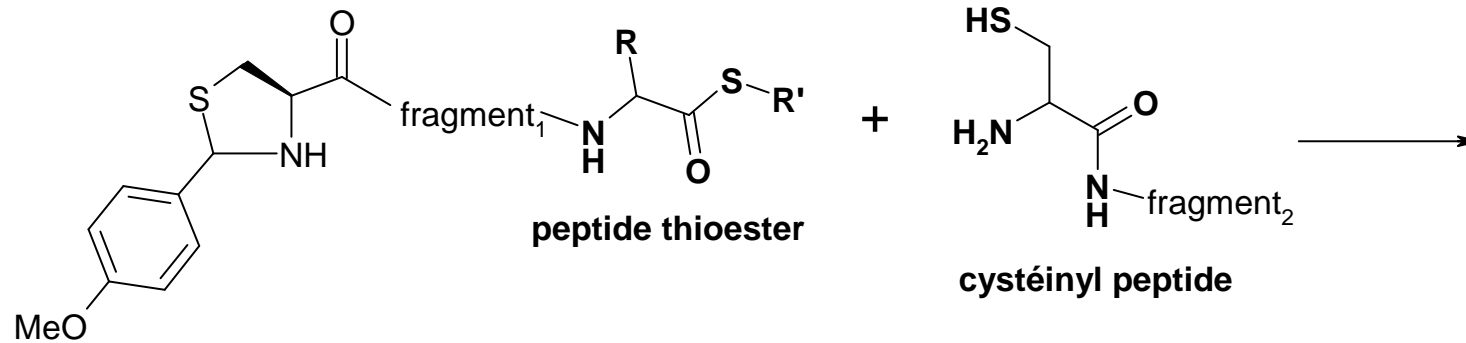
Application à X-Se (selenocystéine)



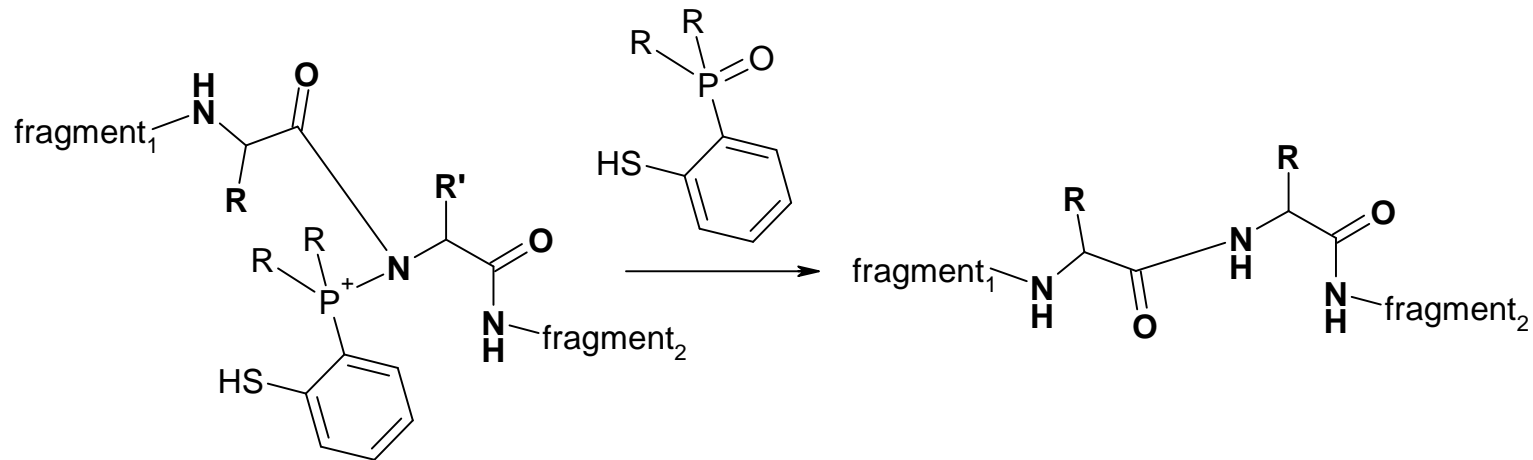
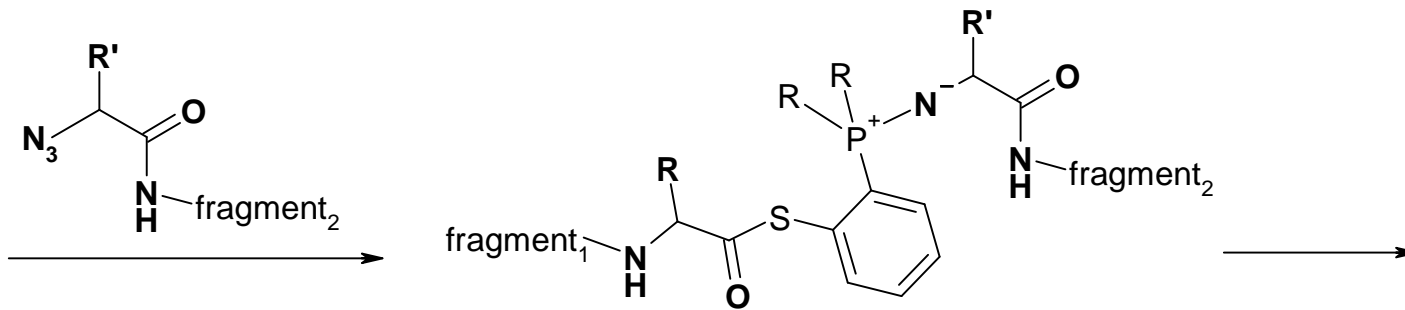
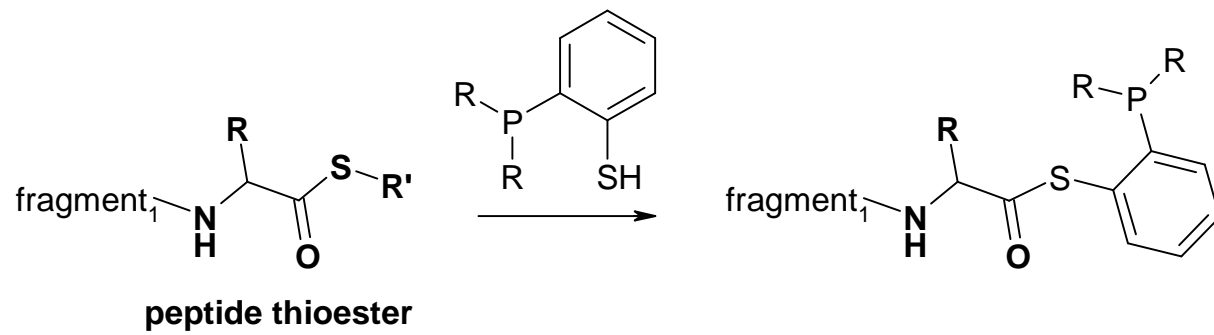
Application à X-Met (méthionine)



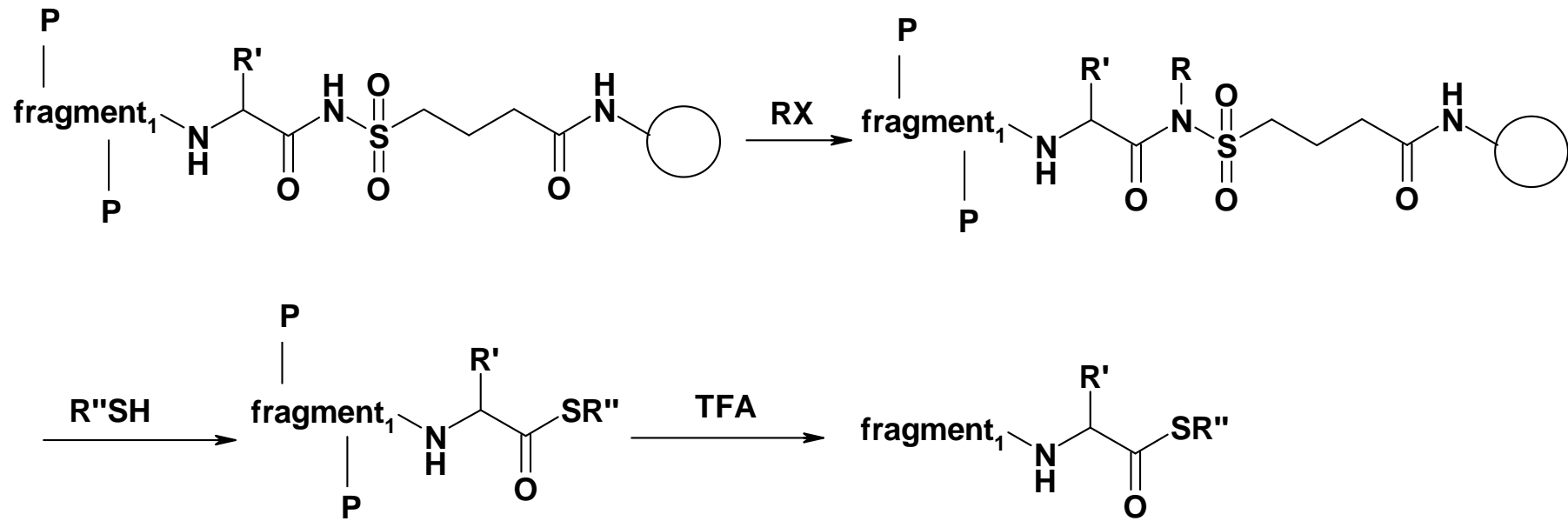
Sequential Native chemical ligations



Staudinger ligation



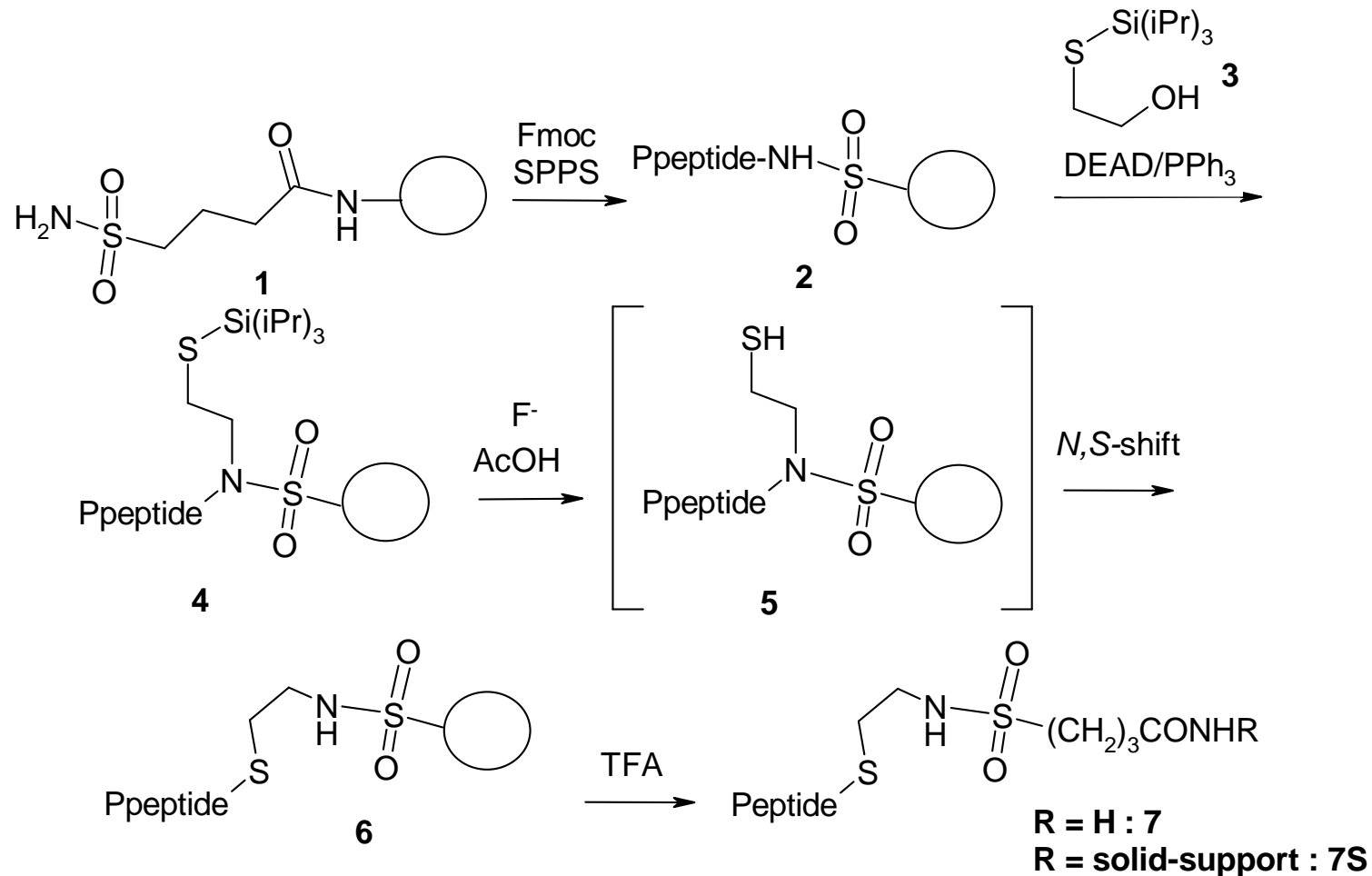
Peptides thioester Stratégie Fmoc/*tert*-butyle



P = groupement protecteur

Peptides thioester

Stratégie Fmoc/*tert*-butyle

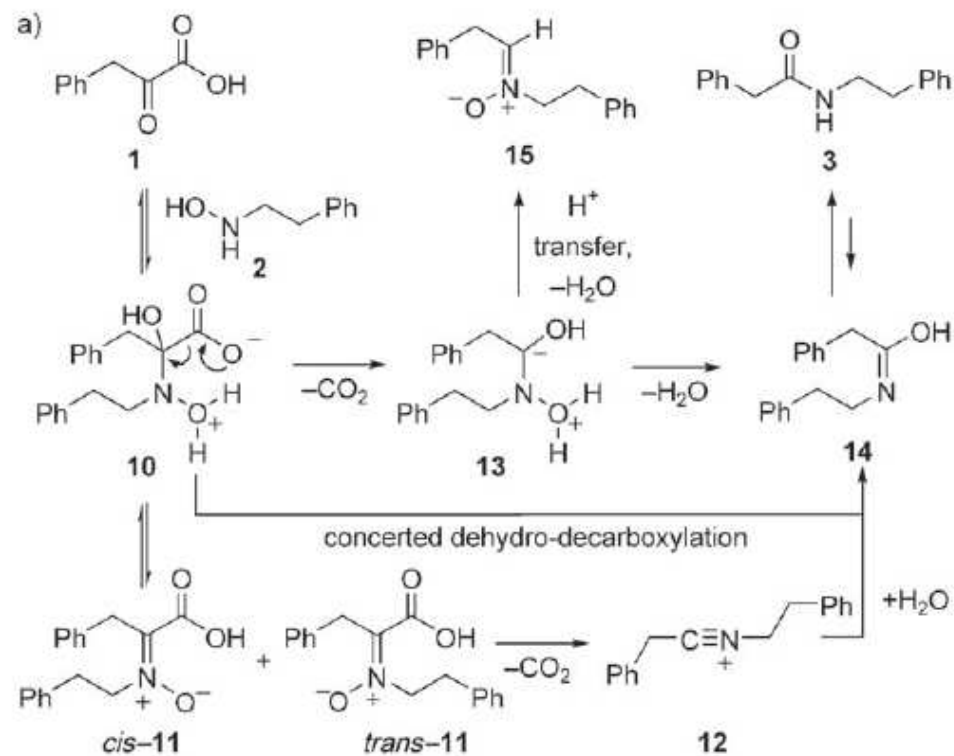
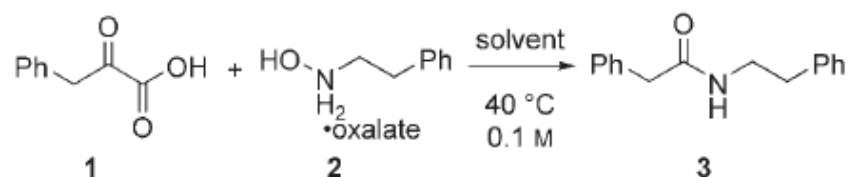


Ppeptide : protected peptide

a : peptide = Fmoc-FA-; b : peptide = Ac-ILKEPVHGA-; c : peptide = Ac-ILKEPVHGV-

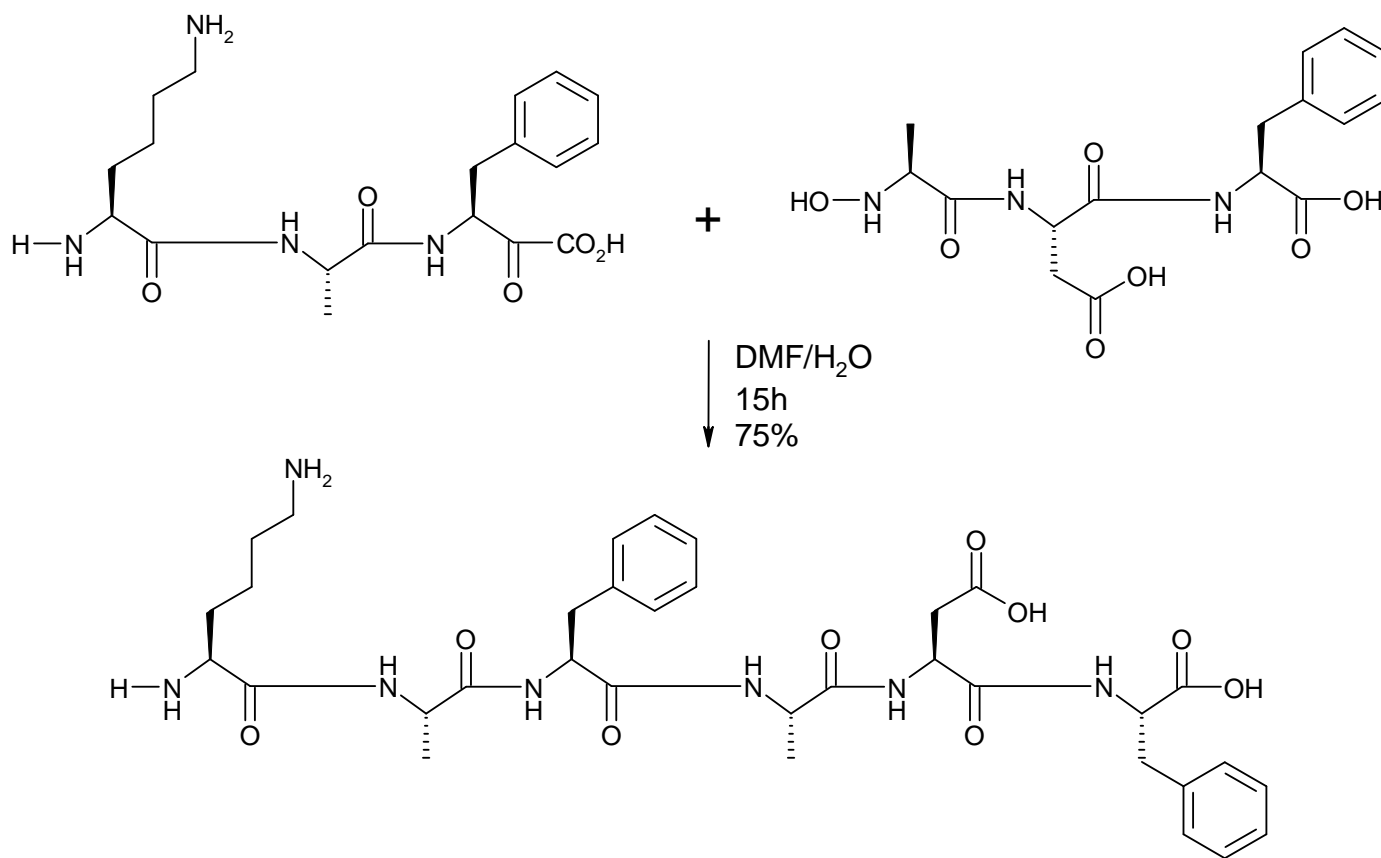
Chemoselective Amide Ligations by Decarboxylative Condensations of *N*-Alkylhydroxylamines and α -Ketoacids

Jeffrey W. Bode *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 1248–1252



Chemoselective Amide Ligations by Decarboxylative Condensations of *N*-Alkylhydroxylamines and α -Ketoacids

Jeffrey W. Bode *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 1248–1252



2007

- 4) a) Décrire de façon générale le principe de la synthèse peptidique en phase solide
- b) Définir ce qu'est un groupement protecteur temporaire et permanent
- c) Donner les avantages liés à la synthèse en phase solide
- d) Quelle est la limitation principale de la synthèse peptidique effectuée par couplage successif d'acides aminés ?
- e) Donner un réactif d'activation de la fonction acide carboxylique des acides aminés basé sur i) les uroniums, ii) les phosphoniums
- e) On envisage la synthèse du peptide suivant (A : alanine, C : cystéine):



La synthèse en phase solide de ce peptide s'avère difficile et conduit à des rendements très faibles. La synthèse de ce peptide peut également être envisagée en solution aqueuse en utilisant la ligation native (réaction d'un peptide thioester avec un cystéinyl peptide).

- i) Ecrire le mécanisme de la ligation native
- ii) Quelles sont les différentes possibilités d'assemblage du peptide si l'on envisage une synthèse convergente mettant en jeu deux fragments peptidiques ?
- iii) Quelles sont les avantages de la synthèse convergente ?
- iv) Quelle précaution dois-je prendre si au lieu du peptide ci-dessus je dois préparer le peptide H-CAAAAACAAAAACAAAAA-OH ?