

Rapport sur le mémoire présenté par Nikola Dimitrov Pavlov en vue d'obtenir le titre de Docteur de l'Université de Montpellier II

Titre du mémoire:

“Synthèse asymétrique d’analogues de β^2 -tryptophane et application en synthèse peptidique”

Le manuscrit présenté par Nikola Dimitrov Pavlov (105 pages), rédigé en français, comprend un chapitre bibliographique (27 pages), un chapitre de résultats (27 pages) et enfin une partie expérimentale (26 pages). En annexe est donnée une liste de publications du candidat ainsi que la reproduction des spectres RMN des principaux composés décrits dans la partie expérimentale.

Ce travail de thèse réalisé en co-tutelle s’inscrit dans le cadre d’une collaboration entre les équipes du Dr. M. Calmès (IBMM, Université de Montpellier II) et du Prof. Ass. E. Naydenova (Université de Sofia, Bulgarie). L’objectif de la thèse est d’accéder à de nouveaux analogues β^2 du tryptophane en développant une version asymétrique de l’alkylation de Friedel-Craft d’indoles à l’aide de β -nitroacrylates chiraux, en vue d’incorporer ces β^2 -amino acides originaux dans des (hexa)peptides à des fins d’évaluation de propriétés analgésiques.

Dans le chapitre bibliographique, après avoir rappelé l’importance biologique des dérivés indoliques, Nikola Dimitrov Pavlov décrit les voies de synthèse décrites menant aux différents nor- et homologues du tryptophane. Concernant les dérivés de la 2-indolyl- β -alanine (“ β^2 -tryptophane”) qui sont les cibles du présent travail, la littérature rapportée ne compte que deux voies de synthèse asymétrique, utilisant l’une l’ouverture d’une aziridine chirale énantio pure par l’indole, l’autre une réaction de type Mannich impliquant une imide chirale dérivée de l’acide 3-indolyl acétique. Dans cette partie introductive, sont ensuite rappelés de façon claire et actualisée les principes de la synthèse peptidique sur support solide et la stratégie “Fmoc”, techniques qui seront utilisées dans la seconde partie du présent travail.

Partant de ces données, Nikola Dimitrov Pavlov débute son projet par la synthèse d’un β -nitroacrylate chiral équipé d’un auxiliaire pantolactamique, auxiliaire chiral d’une efficacité ayant été déjà éprouvée pour d’autres types de réactions dans des travaux antérieurs de l’équipe. A partir du pantolactame préformé et préalablement dédoublé sous une forme énantio pure, l’unité β -nitroacrylate est construite par réaction d’Henry à l’aide du nitrométhane sur le glyoxylate correspondant puis élimination. Après mise au point de cette dernière étape qui s’avère très délicate, le β -nitroacrylate de configuration (*R*) est obtenu en un total de 8 étapes à partir de la pantolactone racémique. L’étude de l’alkylation-clé de Friedel-Craft asymétrique est alors abordée en prenant le *N*-méthylindole comme substrat modèle. Des conditions reprises de la littérature et utilisant une quantité catalytique de triflate de Cuivre II dans le dichlorométhane permettent d’accéder au composé d’alkylation de façon quantitative et avec une diastéréosélectivité dépassant 9 / 1. Une variation sur le solvant et la nature de l’acide de Lewis ne permet pas d’améliorer cette sélectivité. Fait notable, ces essais d’optimisation mettent à jour que l’alkylation peut fonctionner sans acide de Lewis, même à basse température, la diastéréosélectivité étant toutefois légèrement réduite dans ce cas. Cette

réaction est étendue à 5 autres dérivés indoliques avec une diastéréosélectivité comparable, toujours en faveur de la forme (3'R, 2S), et avec des rendements en produit diastéréomériquement pur après séparation chromatographique compris entre 30 et 36%. Cette configuration majoritaire (3'R, 2S) est établie dans un cas par cristallographie de rayons X et attribuée dans les cinq autres cas par comparaison des données RMN. Un modèle est proposé pour discuter l'orientation faciale de la réaction. La transformation de ces nitroesters en dérivés de β^2 -tryptophane est ensuite réalisée en deux étapes : réduction de la fonction azotée, puis relargage de l'auxiliaire chiral. Pour parvenir à la chimiosélectivité recherchée dans l'étape de réduction, N. Pavlov parvient à mettre au point des conditions appropriées, y compris pour le substrat bromé. La saponification finale de l'ester pantolactamique s'avère très délicate, l'utilisation de la lithine conduisant à une épimérisation/racémisation partielle : cette perte de la pureté énantiomérique est toutefois évitée par l'emploi d'hydroxyde de triméthylétain.

Dans une dernière partie de son travail, N. Pavlov met en oeuvre la synthèse sur support solide et automatisée de quatre hexapeptides, analogues "raccourcis" de la nociceptine incorporant dans deux séquences différentes deux dérivés synthétiques distincts du β^2 -tryptophane en lieu et place du tryptophane. Cette synthèse peptidique, réalisée sur une résine Rink amide MBHA selon une stratégie Fmoc, est rapportée de façon assez succincte dans le manuscrit, et aboutit sans obstacle aux composés cibles, destinés à une évaluation future de leur activités analgésiques. La partie théorique du mémoire s'achève une conclusion purement descriptive.

La partie expérimentale contient des protocoles clairs et les différents composés sont bien caractérisés dans leur ensemble du point de vue physico-chimique et spectroscopique (RMN ^1H , ^{13}C , SM, SM à haute résolution). Les copies des spectres RMN jointes en annexe II attestent de la pureté des composés principalement décrits (nitroesters, β^2 -tryptophanes). La détermination des puretés diastéréomériques ou/et énantiomériques de ces composés fait l'objet d'analyses HPLC qui sont précisément décrites sur l'ensemble du manuscrit.

En conclusion, dans un mémoire bien construit (même s'il reste encore perfectible dans sa forme française), Nikola Dimitrov Pavlov présente un travail expérimental très appréciable et achevé, qui a abouti à la synthèse de dérivés nouveaux du (S)- β^2 -tryptophane, résultats publiés en 2011 dans le *Journal of Organic Chemistry*, ainsi qu'à la préparation de différents hexapeptides dérivés originaux, candidats pour de futures évaluations biologiques. Ce travail en collaboration a certainement pu faire fructifier la complémentarité des savoir-faire des équipes concernées. On peut simplement regretter que les tests biologiques sur les hexapeptides synthétiques n'aient pu être réalisés dans un temps permettant leur exploitation par le candidat pour le dépôt de son manuscrit.

Je donne donc un avis entièrement favorable à la présentation des travaux de recherche de Nikola Dimitrov Pavlov devant le jury de thèse désigné en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'Université de Montpellier II et de l'Université TCM de Sofia.



Le Mans, le 23 novembre 2011

Gilles Dujardin

