

### 3 – Contrôle de la cinétique de conversion des purines nucléosides

Les purines nucléosides phosphorylases (PNP) sont des enzymes capables de convertir des purines nucléosides, comme l'inosine, en purine correspondante ainsi qu'en ribose-1-phosphate (figure 9). Comme l'activité de ces enzymes intervient dans des cycles cellulaires, ce sont des cibles importantes pour le développement de traitements en chimiothérapie ciblées, ainsi que pour la synthèse de molécules d'intérêt biologique.

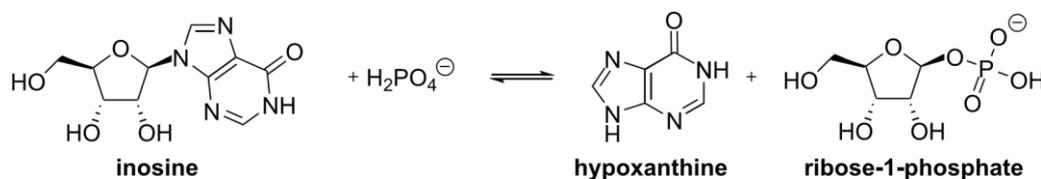


FIGURE 9 – Exemple de réaction catalysée par les PNP sur l'inosine.

#### A – Structure de l'enzyme et interactions avec le substrat

Pour contrôler l'activité d'une enzyme, il est nécessaire de connaître la structure du complexe résultant de son association avec la molécule à transformer (complexe enzyme-substrat). Cette structure est présentée figure 10 a). Son analyse permet de concevoir des molécules ayant une structure adaptée au site enzymatique afin d'inhiber l'activité de l'enzyme en occupant durablement le site actif à la place du substrat.

30. Nommer les acides aminés indiqués 86, 200 et 201 représentés sur la figure 10 b).
31. Décrire l'état de protonation majoritaire à pH = 7 des chaînes latérales des acides aminés 86, 200 et 201.
32. Pour les acides aminés 86, 200 et 201, indiquer les types d'interaction intermoléculaire qu'ils sont capables d'établir avec le substrat inosine.

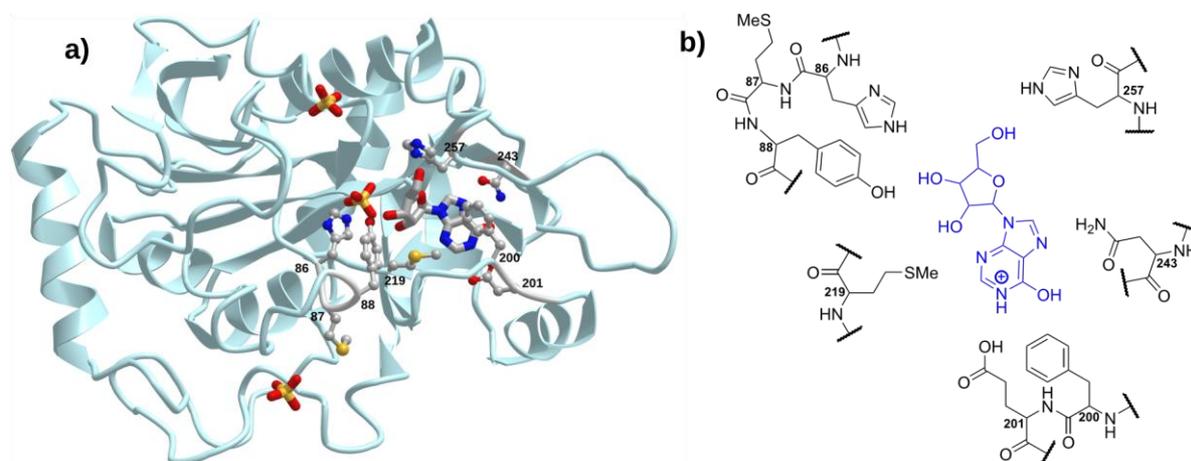


FIGURE 10 – a) Structure tridimensionnelle du complexe inosine-enzyme. Seules les chaînes latérales des acides aminés au contact de l'inosine sont représentées. Les atomes d'hydrogène sont omis.

b) Structure schématique correspondante. L'état de protonation n'est pas représentatif de la structure à pH = 7. Les numéros sur la partie enzymatique indiquent la position de l'acide aminé le long de la structure primaire de la protéine. L'inosine est représentée en bleu.

## B – Synthèse d'un inhibiteur des enzymes de type PNP

À partir de l'étude de la structure du complexe enzyme-substrat, l'**immuciline H** a été identifiée comme inhibiteur potentiel des enzymes de type PNP (figure 11). Sa structure étant proche de celle du substrat dans l'état de transition, elle forme un complexe stable avec la protéine et régule l'action de l'enzyme ce qui permet des améliorations sur le plan physiologique.

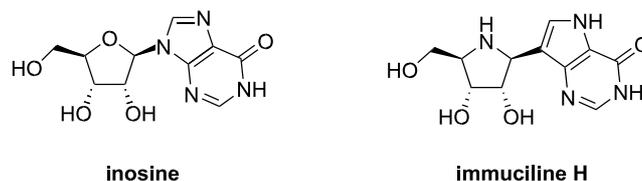


FIGURE 11 – Structure de l'inosine, substrat des enzymes de type PNP, et de l'**immuciline H**, qui les inhibe.

Cette partie s'intéresse à la synthèse de l'**immuciline H**. La première partie correspond à la synthèse d'un dérivé de l'imino-ribose **1** à partir de la gulono-1,4-lactone **8** (figure 12).

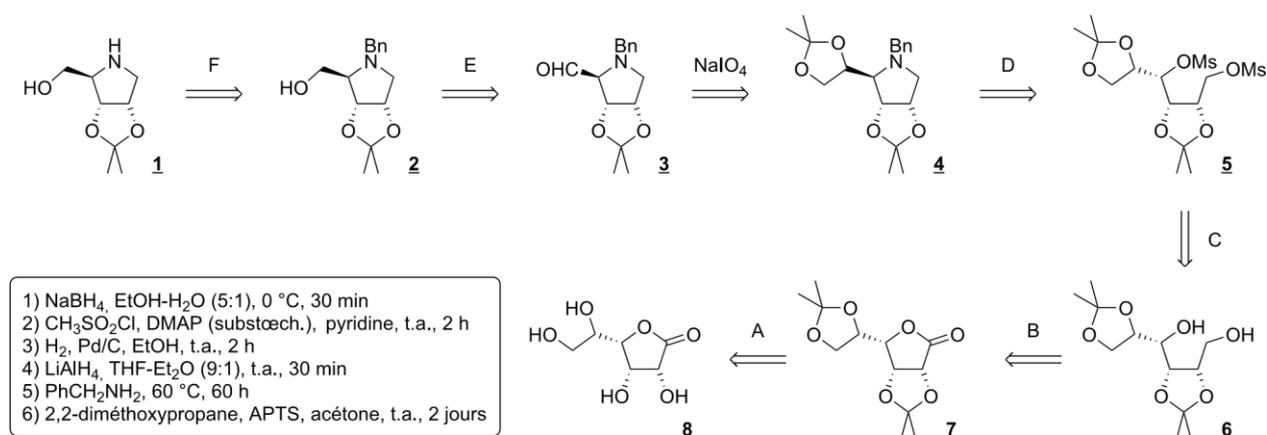


FIGURE 12 – Schéma rétrosynthétique **1** ⇒ **8**.

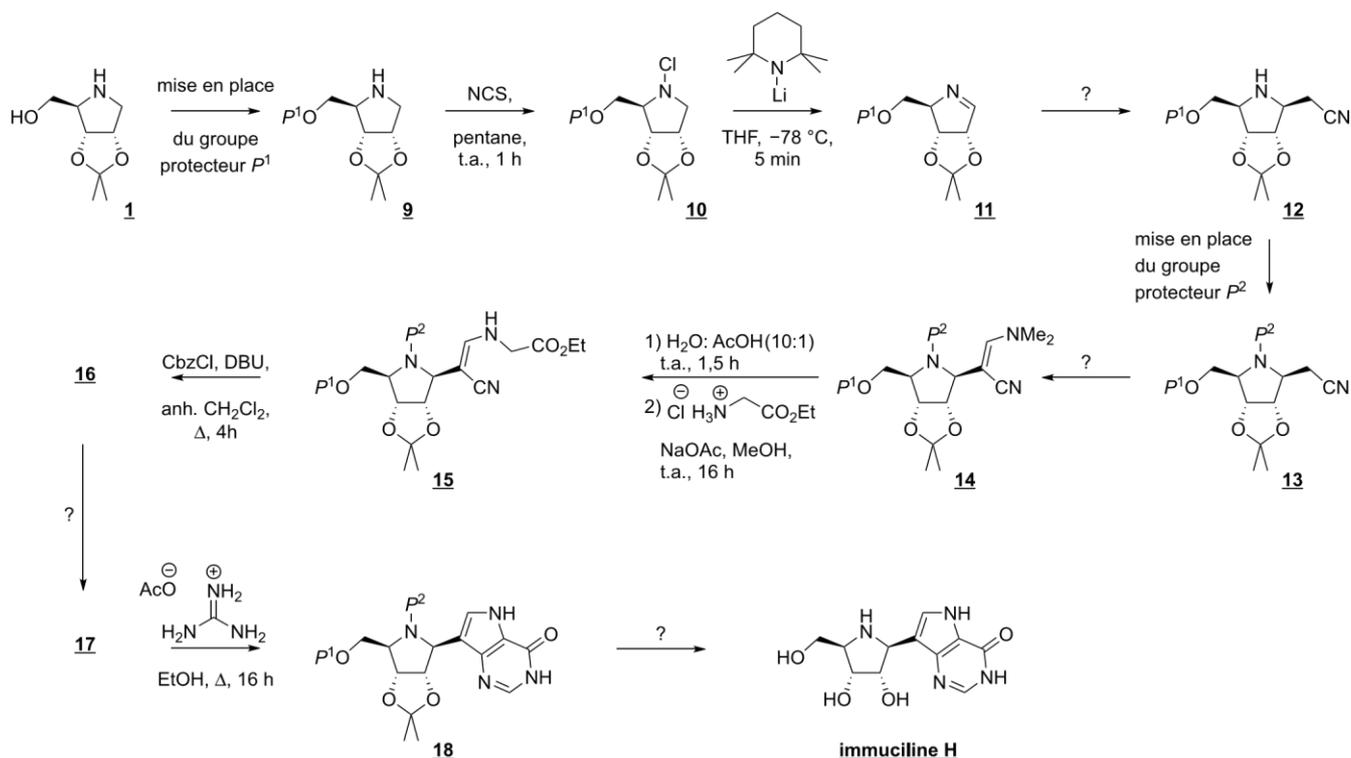
Le symbole ⇒ indique que la molécule **en amont** de la flèche a été synthétisée à partir de la molécule **en aval** de la flèche. Tous les sigles sont explicités en annexe.

33. Faire correspondre les étapes (A–F) du schéma rétrosynthétique aux conditions opératoires 1) à 6) qui y sont détaillées. Aucune justification n'est attendue pour l'attribution. Indiquer la nature de chaque transformation.
34. Montrer qu'en milieu acide, le 2,2-diméthoxypropane présente une réactivité analogue à la propanone.
35. Représenter le mécanisme de la transformation **7** → **6**. Le réactif pourra être modélisé par un ion hydrure.
36. Justifier l'intérêt de la transformation **6** → **5** dans la stratégie de transformation de l'espèce **6** en espèce **4**. En particulier, justifier l'impossibilité d'opérer en milieu acide pour transformer l'espèce **6** en espèce **4**.
37. Représenter un mécanisme réactionnel probable de la transformation **5** → **4** au vu des structures des réactifs et du produit.

La synthèse de l'**immuciline H** peut ensuite se faire à partir de l'espèce chimique **1** en 11 étapes (figure 13). Les étapes associées à un point d'interrogation « ? » font l'objet de questions sur les conditions opératoires à privilégier.

Cette voie de synthèse met en œuvre deux familles fonctionnelles azotées qui ne figurent pas au programme de la filière PC : les imines R<sup>1</sup>R<sup>2</sup>C=N–R' et les nitriles R–CN. La réactivité des imines peut être rapprochée de celle des aldéhydes et cétones. D'autre part, les nitriles présentent un atome d'hydrogène labile.

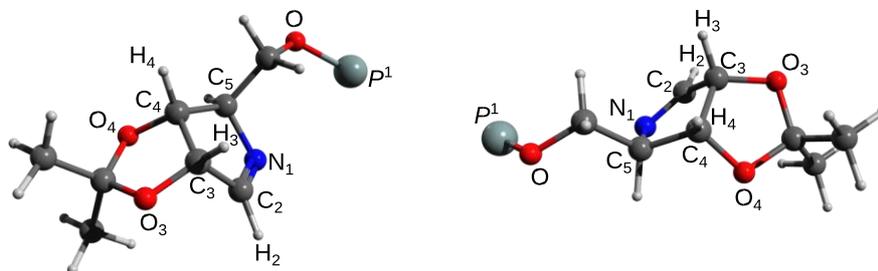
38. La transformation **9** → **10** est une réaction d'oxydoréduction. Ajuster la demi-équation électronique associée au couple formé par les espèces **9** et **10**. Identifier l'oxydant et le réducteur de ce couple.
39. Proposer un mécanisme réactionnel pour la formation en milieu basique de l'espèce **12** à partir de l'imine **11** et de l'acétonitrile H<sub>3</sub>C-CN, en ne se souciant pas des considérations stéréochimiques.



**FIGURE 13** – Schéma de synthèse **1** → **immuciline H**.  
Les groupes P<sup>1</sup> et P<sup>2</sup> sont des groupements protecteurs.  
Tous les sigles sont explicités en annexe.

La structure tridimensionnelle de l'imine **11** est reproduite à la figure 14.

40. Donner une représentation de Newman de l'imine **11** autour de l'axe de liaison C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> en plaçant l'atome C<sub>3</sub> au premier plan.
41. Justifier la stéréochimie du centre stéréogène généré lors de la formation de l'espèce **12**, et fournir son stéréodescripteur.



**FIGURE 14** – Vues tridimensionnelles de la molécule **11**.

Pour transformer l'espèce **13** en espèce **14**, les chercheurs ont utilisé le réactif **19** dans le N,N-diméthylformamide (noté DMF, solvant de constante diélectrique  $\epsilon_r \sim 40$ ). La molécule **19** en solution est en équilibre avec une paire d'ions, ces structures sont représentées en figure 15. C'est cette paire d'ions qui est l'espèce réactive vis-à-vis de l'espèce **13**.

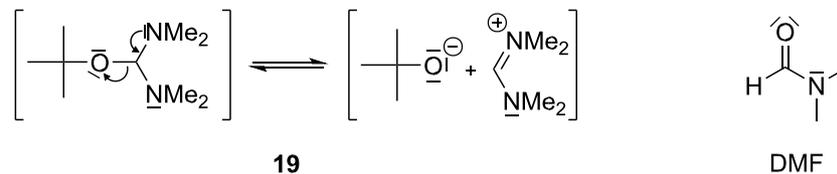


FIGURE 15 – Réactif **19** utilisé pour passer de **13** à **14** et représentation du *N,N*-diméthylformamide (DMF).

42. Proposer un mécanisme réactionnel pour la transformation **13** → **14** avec le réactif de la figure 15. Justifier le choix du solvant DMF.

Le chloroformiate de benzyle Cbz-Cl a une réactivité analogue à celle d'un chlorure d'acyle (figure 16). Le DBU est une base non nucléophile de  $pK_a$  voisin de 10.

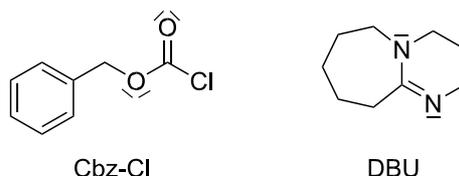


FIGURE 16 – Structure du chloroformiate de benzyle Cbz-Cl et de la base DBU.

43. Identifier le site le plus basique de la DBU.
44. Représenter le mécanisme réactionnel correspondant à l'action de CbzCl sur l'espèce **15** et représenter le produit ainsi protégé.

En réalité, la transformation précédente ne s'arrête pas à la seule protection considérée à la question précédente, mais continue par une étape d'isomérisation pour conduire à l'espèce chimique **16** (figure 17).

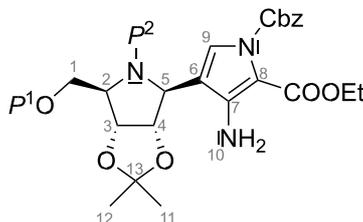


FIGURE 17 – Structure de l'espèce **16**

45. Montrer que les signatures spectroscopiques de l'espèce chimique **16** fournies dans les tableaux 3 et 4 sont compatibles avec la structure proposée figure 17. En RMN, se limiter aux 5 signaux – A, B, E, H et I – qui ne sont pas des multiplets. Lorsque nécessaire, utiliser la numérotation des atomes donnée figure 17 pour indiquer les liaisons concernées (IR) ou les protons liés à l'atome numéroté (RMN).

X	A	B	C	D	E	F	G	H	I
$\delta$ (ppm)	7,00	5,54	4,85	4,26	4,19	3,40	3,04	1,42	1,22
Intégration	1 H	2 H	2 H	2 H	2 H	1 H	1 H	6 H	3 H
Multiplicité	s	s large	m	m	q	m	m	s	t
Constante de couplage	–	–	–	–	7,1 Hz	–	–	–	7,1 Hz

TABLEAU 3 – Spectre RMN du proton simplifié du composé **16** (les signaux correspondant aux groupes  $P^1$ ,  $P^2$  et Cbz ont été retirés) Abréviations : s singulet, t triplet, q quadruplet, m multiplet.

$\sigma$ (cm <sup>-1</sup> )	3422	3374	3086–2867	1722	1478	1190	1022
Intensité	moyenne	moyenne	moyenne	forte	moyenne	faible	faible

TABLEAU 4 – Spectre infrarouge simplifié de l'espèce **16** (les signaux correspondant aux groupes  $P^1$ ,  $P^2$  et Cbz ont été retirés).

La transformation **16** → **17** correspond à une déprotection par retrait du groupement Cbz. Elle se produit par hydrogénolyse en catalyse hétérogène par action du dihydrogène. Du toluène et du dioxyde de carbone sont co-produits lors de cette étape.

46. Justifier l'intérêt des groupes protecteurs  $P^1$  et  $P^2$  utilisés lors de la synthèse de l'**immuciline H**.
47. À l'aide du tableau 9 fourni dans les données, proposer deux groupes protecteurs  $P^1$  et  $P^2$  compatibles avec la synthèse effectuée.
48. Proposer des conditions opératoires successives qui permettent d'obtenir l'**immuciline H** à partir de **18**. Les réponses devront être justifiées.

Une voie alternative de synthèse de l'**immuciline H** est donnée figure 18. L'étape **20** → **21** y est cruciale car sa stéréosélectivité impacte fortement le rendement final. La transformation de l'espèce **20** en espèce **21** fournit deux stéréoisomères notés **21 $\alpha$**  et **21 $\beta$** .

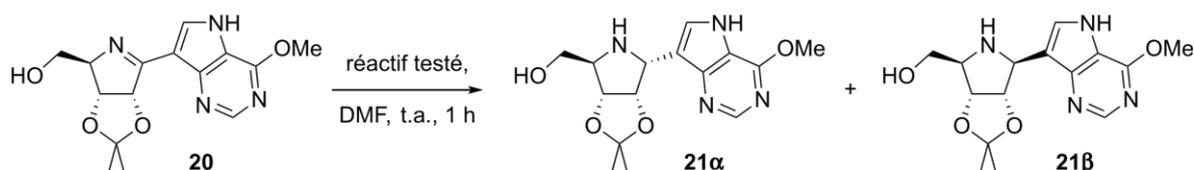


FIGURE 18 – Transformation de l'espèce **20** en espèce **21** sous forme de deux stéréoisomères **21 $\alpha$**  et **21 $\beta$**

Le stéréoisomère **21 $\beta$**  est l'espèce souhaitée. Pour l'obtenir de façon préférentielle, les chercheurs ont privilégié l'utilisation du diméthylsulfureborane  $H_3BSMe_2$  comme réactif. Dans le solvant organique utilisé, cette espèce  $H_3BSMe_2$  est en équilibre avec le borane  $BH_3$ .

49. Donner la structure de Lewis du borane  $BH_3$  et celle de l'espèce  $H_3BSMe_2$ . Indiquer la géométrie locale autour des atomes de bore et de soufre dans le diméthylsulfureborane.
50. Identifier la nature de la transformation **20** → **21**.
51. Qualifier la relation de stéréoisomérisation entre **21 $\alpha$**  et **21 $\beta$** .

Dans le but d'optimiser la proportion du stéréoisomère **21 $\beta$** , les chercheurs ont testé un ensemble de borohydrures dont la réactivité est similaire à celle du tétrahydroborate de sodium  $NaBH_4$ . Les résultats de leurs essais sont consignés dans le tableau 5.

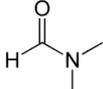
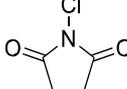
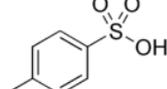
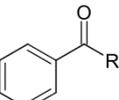
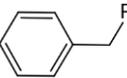
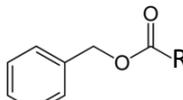
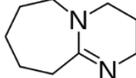
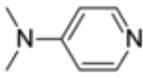
réactif testé	$NaBH_4$	$NaBH_3CN$	L-Sélectride	STAB	MeCBS	$H_3BSMe_2$
rapport <b>21<math>\alpha</math>:21<math>\beta</math></b>	1:1	1:1	4:1	4:1	4:1	1:2

TABLEAU 5 – Stéréosélectivité de la transformation **20** → **21** en fonction du réactif utilisé.

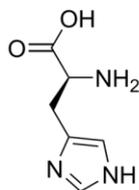
52. Proposer une justification à la stéréosélectivité de la transformation lorsque le réactif utilisé est L-sélectride, STAB ou MeCBS.
53. Proposer une justification au fait que l'hydruration soit effectuée par la face la plus encombrée dans le cas de l'utilisation de  $H_3BSMe_2$  en identifiant une interaction particulière entre le borane et la molécule **20**.

## Données problème 3

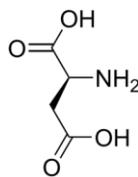
### Abréviations

<b>Δ</b>	chauffage à reflux	<b>aq.</b>	aqueux	<b>anh.</b>	anhydre
<b>substœch</b>	Substœchiométrique	<b>t.a.</b>	température ambiante	<b>THF</b>	tétrahydrofurane
<b>Ph-</b>	Phényl, H <sub>5</sub> C <sub>6</sub> -	<b>Ac-</b>	acétyle CH <sub>3</sub> CO-	<b>iPr</b>	isopropyle -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
<b>Ac-</b>	acétyle CH <sub>3</sub> CO-	<b>Ms-</b>	mésyl CH <sub>3</sub> -SO <sub>2</sub> -		
<b>DMF</b>	<i>N,N</i> -diméthylformamide 	<b>NCS</b>	<i>N</i> -chlorosuccinimide 	<b>APTS</b>	acide paratoluènesulfonique 
<b>Bz-</b>	benzoyle, Ph-CO-R 	<b>Bn-</b>	benzyle, Ph-CH <sub>2</sub> -R 	<b>Cbz-</b>	carboxybenzyl-R 
<b>DBU</b>	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène 		<b>DMAP</b>	4-diméthylaminopyridine 	

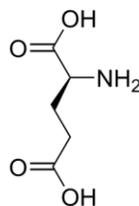
### Structure, nom et valeurs des pKa (entre parenthèses) de dix acides α-aminés



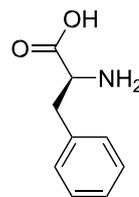
histidine  
(1,70 ; 6,04 ; 9,09)



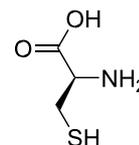
acide aspartique  
(1,95 ; 3,71 ; 9,66)



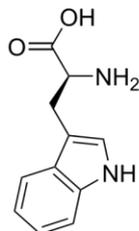
acide glutamique  
(2,16 ; 4,15 ; 9,58)



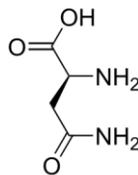
phénylalanine  
(2,18 ; 9,09)



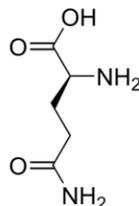
cystéine  
(1,91 ; 8,14 ; 10,28)



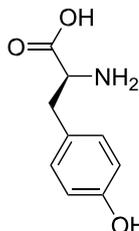
tryptophane  
(2,38 ; 9,34)



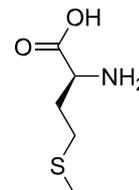
asparagine  
(2,16 ; 8,76)



glutamine  
(2,18 ; 9,00)



tyrosine  
(2,24 ; 9,04 ; 10,10)

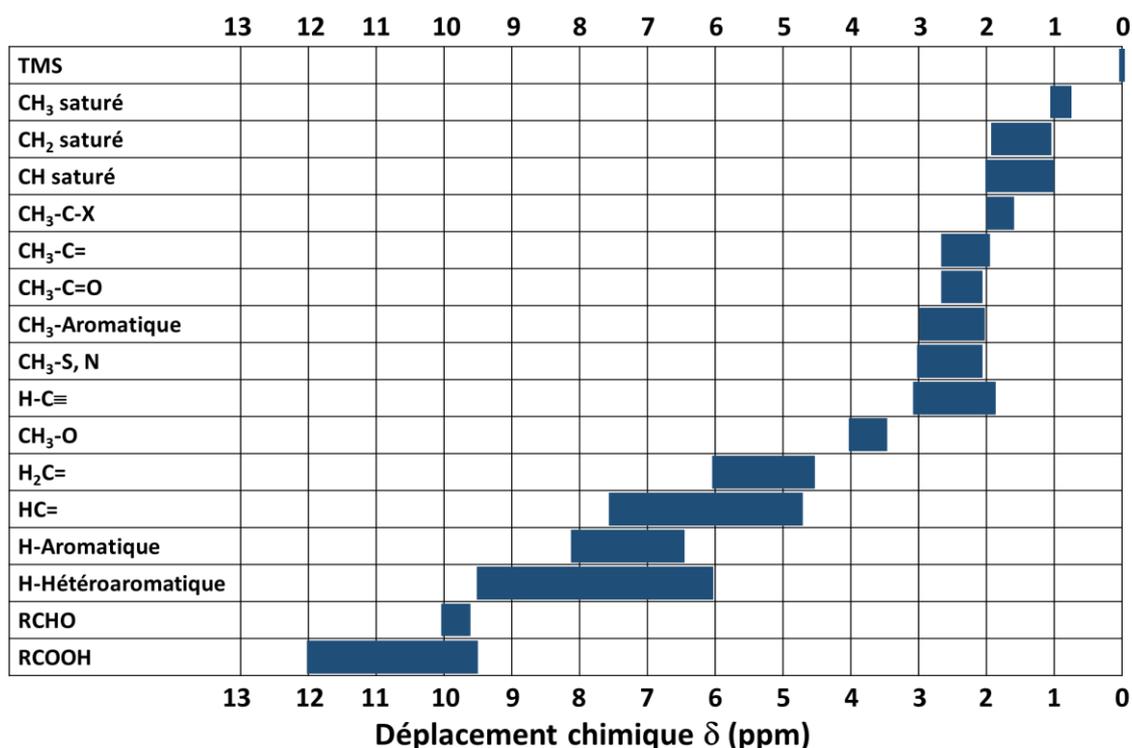


méthionine  
(2,16 ; 9,08)

## Bandes caractéristiques en spectroscopie infrarouge.

Liaison	Groupe d'atomes caractéristique	Fonction ou famille	Nombre d'onde $\sigma$ (cm <sup>-1</sup> )	Intensité
O-H (libre)	C-OH	Alcool	3580-3670	Forte
O-H (lié par liaison H)	C-OH	Alcool	3200-3400	Forte
O-H	COOH	Acide carboxylique	3200-3400	Forte
N-H	C-NH-	Amine, Amide	3100-3500	Moyenne
C-N	C≡N	Nitrile	2220-2260	Moyenne
C-H	Cycle benzénique -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Composés aromatiques	3030-3080	Moyenne
		Alcane	2810-3000	Forte
		Alcène	3000-3100	Moyenne
C=O	Carbonyle	Aldéhyde, Cétone	1650-1730	Forte
		Acide	1680-1710	Forte
		Ester	1700-1740	Forte
		Amide	1650-1730	Forte
C=C		Alcène	1625-1680	Moyenne
C-O		Alcool, acide, ester	1050-1450	Forte
C-C		Alcane	1000-1250	Forte

## Déplacements chimiques typiques en spectroscopie de RMN du proton.



## Banque de réactions

Banque relative à la mise en place de groupes protecteurs et à leur déprotection.

Les abréviations utiles sont présentes dans le tableau précédent.

✓ : déprotection sous ces conditions, c'est-à-dire fournissant l'amine ou l'alcool initial.

Basique et acide font référence à des milieux aqueux très basiques ou très acides.

R : groupe protecteur réactif sous ces conditions, c'est-à-dire formant une espèce n'appartenant pas à la famille fonctionnelle amine ou alcool initiale. Sans indication, le groupe protecteur est inerte sous ces conditions. Pour les conditions acides, les groupes protecteurs sont déprotégés en dessous du pH indiqué, et inertes sinon.

Fonction protégée	Groupement protecteur	Conditions possibles pour la déprotection						Conditions usuelles de mise en place du groupement protecteur	
		RLi RMgX	KH	LDA	Acide	Basique pH>12	TBAF		
Fonction alcool	-CHO	✓	✓	✓	≤1	✓		✓	85% HCO <sub>2</sub> H aq., 60 °C, 1 h
	-Ac	✓	R	✓	≤1	✓			Ac <sub>2</sub> O, pyr, 20 °C, 12 h
	-BOM	R		R	≤6			R	BOMCl, (i-Pr) <sub>2</sub> NEt, 20 °C, 12 h
	-Bn				≤1			✓	BnBr, NaH, THF, 25 °C, 3 h
	-TMS	✓	✓		≤6	✓	✓	✓	TMSCl, Et <sub>3</sub> N, THF, 25 °C, 8 h
	-TBS				≤2	✓	✓		TBSCl, imidazole, DMF, 25 °C, 10 h
Fonction amine	-Boc	✓			≤2				Boc <sub>2</sub> O, THF, 40 °C, 24 h
	-Fmoc	✓							FmocCl, NaHCO <sub>3</sub> , dioxane aq., 12 h
	-Alloc	✓			≤2			✓	AllocCl, pyr, 20 °C, 1 h
	-Ac	✓		R					Ac <sub>2</sub> O, pyr, 20 °C, 8 h
	-Bz	✓			≤1	✓			BzCl, pyr, 0 °C, 8 h
	-Bn							✓	BnCl, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> aq., 100 °C, 30 min