

I. INTRODUCTION GENERALE	1
II. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	3
<u>1 LA VIRGINIAMYCINE</u>	<u>3</u>
1.1 INTRODUCTION	3
1.2 LA FAMILLE DES STREPTOGRAMINES	3
1.3 LA NOMENCLATURE DE LA VIRGINIAMYCINE	6
1.4 PRODUCTION ET APPLICATIONS DE LA VIRGINIAMYCINE	9
1.5 MÉTHODES D'ANALYSE DE LA VIRGINIAMYCINE	10
1.6 MODIFICATIONS CHIMIQUES DE LA VIRGINIAMYCINE	11
1.6.1 MODIFICATIONS CHIMIQUES DU FACTEUR M ₁ DE LA VIRGINIAMYCINE	11
1.6.1.1 Modifications chimiques au niveau de la fonction hydroxyle sur le carbone numéro 14	12
1.6.1.2 Modifications chimiques au niveau de la fonction cétone du carbone numéro 16	14
1.6.1.3 Modifications chimiques au niveau du carbone 17	15
1.6.1.4 Modifications chimiques au niveau de la double liaison conjuguée à la fonction lactone (carbone numéro 26 et 27)	17
1.7 CONCLUSION	19
<u>2 SYNTHÈSE CHIMIOSÉLECTIVE DE PROTÉINES ET DE PEPTIDES</u>	<u>20</u>
2.1 INTRODUCTION	20
2.2 CONCEPT DE SYNTHÈSE CHIMIOSÉLECTIVE PROPREMENT DITE	21
2.3 CONCEPT DE SYNTHÈSE CHIMIOSÉLECTIVE NATIVE	23
2.4 LA CHIMIE DU CARBONYLE EMPLOYÉE DANS LE DOMAINE DE LA SYNTHÈSE CHIMIOSÉLECTIVE PROPREMENT DITE	25
2.4.1 RÉACTIONS DE CONDENSATION DES ALDÉHYDES ET DES CÉTONES AVEC LES COMPOSÉS COMPORTANT UNE AMINE PRIMAIRE	25
2.4.1.1 Formation d'oximes	26
2.4.1.2 Formation d'hydrazones	26
2.4.1.3 Formation de thiazolidines ou d'oxazolidines	26
2.4.2 MÉTHODES D'INCORPORATION D'UNE FONCTION ALDÉHYDE DANS UN PEPTIDE	27
2.4.2.1 Introduction d'un aldéhyde à l'extrémité N-terminale	27
2.4.2.2 Introduction d'un aldéhyde à l'extrémité C-terminale	28

2.5	SYNTHÈSE CHIMIOSÉLECTIVE DE PROTÉINES	30
2.6	SYNTHÈSE CHIMIOSÉLECTIVE DE PEPTIDES CYCLIQUES	31
2.7	SYNTHÈSE CHIMIOSÉLECTIVE DE GLYCOPROTÉINES ET DE GLYCOPEPTIDES	33
2.8	SYNTHÈSE CHIMIOSÉLECTIVE DE LIPOPEPTIDES	36
2.9	MODIFICATION CHIMIQUE DE SURFACE CELLULAIRE PAR SYNTHÈSE CHIMIOSÉLECTIVE	37
2.10	CONCLUSION	38
 3 TENSIOACTIFS À BASE D'ACIDES AMINÉS ET DE PEPTIDES		39
<hr/>		
3.1	INTRODUCTION	39
3.2	STRUCTURE DES TENSIOACTIFS À BASE D'ACIDES AMINÉS OU DE PEPTIDES	40
3.2.1	CLASSIFICATIONS STRUCTURALES GÉNÉRALES	40
3.2.2	QUELQUES STRUCTURES PARTICULIÈRES	43
3.2.2.1	Structure de dérivés de type N ^α -acyle à longue chaîne d'acides aminés dibasiques	43
3.2.2.2	Structure de tensioactifs à base d'arginine	44
3.2.2.3	Structure de tensioactifs mimant la lécithine naturelle	45
3.3	SYNTHÈSE DE TENSIOACTIFS À BASE D'ACIDES AMINÉS OU DE PEPTIDES	46
3.3.1	MATIÈRES PREMIÈRES POUR LA SYNTHÈSE DE TENSIOACTIF À BASE D'ACIDES AMINÉS OU DE PEPTIDES	46
3.3.2	STRATÉGIE DE SYNTHÈSE DE DÉRIVÉS TENSIOACTIFS D'ACIDES AMINÉS OU DE PEPTIDES DE TYPE N ^α -ACYLE	46
3.4	PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DES TENSIOACTIFS À BASE D'ACIDES AMINÉS OU DE PEPTIDES	47
3.5	ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES TENSIOACTIFS À BASE D'ACIDES AMINÉS OU DE PEPTIDES	51
3.5.1	BIOCOMPATIBILITÉ	51
3.5.2	ACTIVITÉS ANTIMICROBIENNES	53
3.5.3	ACTIVITÉS ANTIVIRALES	55
3.5.4	BIODÉGRADABILITÉ	56
3.6	CONCLUSION	56

III. OBJECTIFS ET STRATEGIE	59
IV. MATERIEL ET METHODES	63
<u>1 ECHANTILLONS DE VIRGINIAMYCINE FOURNIS PAR PHIBRO ANIMAL HEALTH S.A. (BELGIQUE)</u>	<u>63</u>
<u>2 LISTE ET RÉFÉRENCES DES RÉACTIFS UTILISÉS</u>	<u>63</u>
<u>3 MÉTHODES</u>	<u>65</u>
3.1 ANALYSES PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE	65
3.1.1 MÉTHODE D'ANALYSE GÉNÉRALE (GRADIENT)	65
3.1.2 MÉTHODE D'ANALYSE RAPIDE DU FACTEUR M ₁ DE LA VIRGINIAMYCINE (ISOCRATIE)	65
3.1.3 MÉTHODE GÉNÉRALE D'ANALYSE D'ÉCHANTILLONS DISSOUS DANS UN TAMPON AQUEUX (GRADIENT)	65
3.2 PURIFICATION DU FACTEUR M₁ DE LA VIRGINIAMYCINE	66
3.2.1 PRÉPURIFICATION PAR FILTRATION SUR GÂTEAU DE SILICE	66
3.2.2 PURIFICATION PAR CHROMATOGRAPHIE FLASH	66
3.2.3 RECONSTITUTION D'UN CHROMATOGRAMME DE PURIFICATION PAR CHROMATOGRAPHIE FLASH	67
3.3 ÉTUDE DE LA STABILITÉ DU FACTEUR M₁ DE LA VIRGINIAMYCINE EN FONCTION DU PH DU MILIEU	68
3.4 OBTENTION D'ESTERS DU FACTEUR M₁ DE VIRGINIAMYCINE (MONO-DÉRIVÉS AVEC DES ACIDES GRAS)	69
3.4.1 SYNTHÈSE DES ESTERS	69
3.4.2 PURIFICATION DES ESTERS	71
3.4.2.1 Prépuration des esters par chromatographie flash	71
3.4.2.2 Purification des esters par HPLC préparative	72
3.5 OBTENTION D'OXIMES DU FACTEUR M₁ DE VIRGINIAMYCINE (MONO-DÉRIVÉS AVEC DES ACIDES AMINÉS)	74
3.5.1 INTRODUCTION D'UNE FONCTION AMINOXY SUR LES ACIDES AMINÉS À COUPLER À M ₁	74
3.5.2 SYNTHÈSE DES OXIMES DE M ₁	75

3.5.3	PURIFICATION DES OXIMES DE M ₁	76
3.5.3.1	Etude de la stabilité des isomères des oximes de M ₁	76
3.5.3.2	Purification des oximes de M ₁ par HPLC préparative	77
3.6	OBTENTION DE DI-DÉRIVÉS DU FACTEURS M₁ DE LA VIRGINIAMYCINE	79
3.6.1	SYNTHÈSE DES DI-DÉRIVÉS DE M ₁	79
3.6.2	PURIFICATION DES DI-DÉRIVÉS DE M ₁ PAR HPLC PRÉPARATIVE	79
3.7	OBTENTION DE MOLÉCULES TÉMOINS DE TYPE CXAA	
	(X=8, 12 OU 14 ET AA = LYS OU ASP)	81
3.7.1	SYNTHÈSE DES AMIDES CXAA	81
3.7.2	PURIFICATION DES AMIDES CXAA PAR HPLC PRÉPARATIVE	82
3.8	ANALYSES SPECTRALES	83
3.8.1	ANALYSES PAR SPECTROMÉTRIE INFRAROUGE	83
3.8.2	ANALYSES PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE	83
3.8.3	ANALYSES PAR RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE	83
3.9	ETUDE DES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES	85
3.9.1	ETUDE AU TENSIOMÈTRE À VOLUME DE GOUTTE	85
3.9.1.1	Principe de la mesure de la tension de surface au tensiomètre à volume de goutte	85
3.9.1.2	Conditions des analyses réalisées au tensiomètre à volume de goutte	86
3.9.2	ETUDE À LA BALANCE À FILM	86
3.9.2.1	Etude des isothermes de compression	87
3.9.2.2	Etude de la pénétration au travers d'une monocouche de dipalmytoylphosphatidylcholine	88
3.9.2.3	Etude de l'adsorption à l'interface air / tampon acétate	88
3.10	CRIBLAGE DES ACTIVITÉS ANTIMICROBIENNES	89
3.10.1	MATÉRIEL	89
3.10.2	LISTE ET RÉFÉRENCE DES PRODUITS	89
3.10.2.1	Produits pour les milieux de culture	89
3.10.2.2	Produits de référence	89
3.10.3	LISTE ET RÉFÉRENCE DES MICRO-ORGANISMES UTILISÉS	90
3.10.4	MÉTHODES	91
3.10.4.1	Préparation des milieux de culture	91
3.10.4.2	Préparation des disques	93
3.10.4.3	Tests d'activités antibactériennes	93
3.10.4.4	Tests d'activités antifongiques	94

V. RESULTATS ET DISCUSSION	95
<u>1 ANALYSE HPLC-UV DES ÉCHANTILLONS DE VIRGINIAMYCINE FOURNIS PAR PHIBRO ANIMAL HEALTH S.A. (BELGIQUE)</u>	<u>95</u>
<u>2 PURIFICATION DU FACTEUR M₁ DE LA VIRGINIAMYCINE</u>	<u>97</u>
2.1 PURIFICATION PAR CHROMATOGRAPHE DE TYPE ÉCLAIR OU FLASH	97
2.2 CONFIRMATION DE L'IDENTITÉ DU FACTEUR M ₁	98
2.2.1 SPECTROMÉTRIE INFRAROUGE	99
2.2.2 SPECTROMÉTRIE DE MASSE	101
2.2.3 SPECTROMÉTRIE RMN	101
2.3 CONCLUSION	109
<u>3 ETUDE DE LA STABILITÉ DU FACTEUR M₁ DE LA VIRGINIAMYCINE EN FONCTION DU PH DU MILIEU</u>	<u>111</u>
3.1 ETUDE QUALITATIVE DE LA STABILITÉ	111
3.2 ETUDE QUANTITATIVE DE LA DÉGRADATION DE M ₁	114
3.3 CONCLUSION	117
<u>4 SYNTHÈSE DES DÉRIVÉS DU FACTEUR M₁ DE LA VIRGINIAMYCINE</u>	<u>118</u>
4.1 SYNTHÈSE D'ESTERS DU FACTEUR M ₁ DE LA VIRGINIAMYCINE	118
4.1.1 CHOIX DES CONDITIONS DE SYNTHÈSE	119
4.1.2 SYNTHÈSE DES ESTERS DE M ₁ AVEC DES ACIDES GRAS DE LONGUEUR DE CHAÎNE CROISSANTE (DE 4 À 14 ATOMES DE CARBONE)	124
4.1.3 DISCUSSION SUR LA SYNTHÈSE DES ESTERS DU FACTEUR M ₁	124
4.1.3.1 Influence de la nature de la forme activée et du catalyseur sur le rendement en ester	124
4.1.3.2 Formation d'un co-produit lors de la synthèse de l'ester avec l'anhydride, la pyridine et la 4-DMAP	126
4.1.4 PURIFICATION DES ESTERS DU FACTEUR M ₁ DE LA VIRGINIAMYCINE	126
4.1.4.1 Pré-purification par extraction sur phase solide	126
4.1.4.2 Purification par HPLC préparative des esters de M ₁	127

4.1.5	CONFIRMATION DE L'IDENTITÉ DES ESTERS	132
4.1.5.1	Spectrométrie infrarouge	132
4.1.5.2	Spectrométrie de masse	134
4.1.5.3	Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire	134
4.1.6	CONCLUSION	140
4.2	SYNTHÈSE D'OXIMES DU FACTEUR M₁ DE LA VIRGINIAMYCINE	141
4.2.1	CHOIX DE LA STRATÉGIE DE SYNTHÈSE	142
4.2.2	GREFFAGE D'ACIDES AMINÉS SUR M ₁ PAR SYNTHÈSE CHIMIOSÉLECTIVE PAR FORMATION D'UNE LIAISON OXIME	146
4.2.2.1	Couplage de M ₁ à l'acide amino-oxy acétique par synthèse chimiosélective	146
4.2.2.2	Greffage sur M ₁ de différents acides aminés par synthèse chimiosélective	150
4.2.3	PURIFICATION DES OXIMES DE M ₁	153
4.2.3.1	Etude de la stabilité des isomères des oximes de M ₁	153
4.2.3.2	Purification par HPLC préparative	157
4.2.4	CONFIRMATION DE L'IDENTITÉ DES OXIMES	161
4.2.4.1	Spectrométrie infra rouge	161
4.2.4.2	Spectrométrie de masse	165
4.2.4.3	Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire	165
4.2.5	CONCLUSION	183
4.3	SYNTHÈSE DE DI-DÉRIVÉS DU FACTEUR M₁ DE LA VIRGINIAMYCINE	185
4.3.1	SYNTHÈSE EN DEUX ÉTAPES DES DI-DÉRIVÉS DE M ₁	186
4.3.1.1	Estérification de la fonction hydroxyle secondaire de M ₁	186
4.3.1.2	Formation d'oxime des esters de M ₁	186
4.3.2	PURIFICATION DES DI-DÉRIVÉS DE M ₁ PAR HPLC PRÉPARATIVE	187
4.3.3	CONFIRMATION DE L'IDENTITÉ DES DI-DÉRIVÉS DE M ₁	191
4.3.3.1	Spectrométrie infra rouge	191
4.3.3.2	Spectrométrie de masse	193
4.3.3.3	Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire	193
4.3.4	CONCLUSION SUR LA SYNTHÈSE DE DI-DÉRIVÉS DE M ₁	205

5 SYNTHÈSE DE MOLÉCULES TÉMOINS **206**

5.1.1	SYNTHÈSE DES TÉMOINS DE TYPE CXAA	206
5.1.2	PURIFICATION DES TÉMOINS DE TYPE CXAA	208
5.1.3	CONFIRMATION DE L'IDENTITÉ DES TÉMOINS DE TYPE CXAA	208
5.1.3.1	Spectrométrie infrarouge	208
5.1.3.2	Spectrométrie de masse	209
5.1.4	CONCLUSION	210

6 TABLEAU RÉCAPITULATIF DES MOLÉCULES SYNTHÉTISÉES **210**

7 ETUDE DES PROPRIÉTÉS DE SURFACE DU FACTEUR M_1 DE LA VIRGINIAMYCINE ET DES DÉRIVÉS SYNTHÉTISÉS **215**

7.1	ETUDE PRÉLIMINAIRE : M_1 ET SES MONO-DÉRIVÉS	215
7.1.1	EVALUATION DU CARACTÈRE TENSIOACTIF DU FACTEUR M_1 DE DÉPART	215
7.1.2	EVALUATION DU CARACTÈRE TENSIOACTIF DES MONO-DÉRIVÉS DE M_1	218
7.1.3	CONCLUSION DE L'ÉTUDE PRÉLIMINAIRE	222
7.2	ETUDE DES DI-DÉRIVÉS DE M_1	223
7.2.1	ETUDE DE LA CINÉTIQUE D'ADSORPTION DES DI-DÉRIVÉS	223
7.2.1.1	Introduction	223
7.2.1.2	Etude qualitative de la cinétique d'adsorption des di-dérivés	224
7.2.1.3	Analyse quantitative de la cinétique d'adsorption des di-dérivés	228
7.2.1.4	Conclusions de l'étude de la cinétique d'adsorption des di-dérivés	234
7.2.2	ETUDE DE LA FORMATION DE MICELLES DES DI-DÉRIVÉS	235
7.2.2.1	Introduction	235
7.2.2.2	Détermination de la CMC, de la γ_{CMC} et du rapport CMC/C20	235
7.2.2.3	Détermination de l'aire moléculaire à la CMC (A_{min}) des di-dérivés et comparaison à celles des témoins	249
7.2.2.4	Conclusions de l'étude de la formation de micelles des di-dérivés	254
7.2.3	ETUDE DES PROPRIÉTÉS DES MONOCOUCHEs DES DI-DÉRIVÉS	257
7.2.3.1	Introduction	257
7.2.3.2	Etude des isothermes de compression	259

7.2.3.3	Conclusion de l'étude des propriétés des monocouches des di-dérivés	268
7.2.4	ETUDE DE LA CAPACITÉ DE M ₁ , DES DI-DÉRIVÉS ET DES TÉMOINS À PÉNÉTRER UN MODÈLE MEMBRANAIRE : UNE MONOCOUCHE DE DPPC	269
7.2.4.1	Introduction	269
7.2.4.2	Analyse des résultats	272
7.2.4.3	Conclusion de l'étude la capacité de M ₁ , des di-dérivés et des témoins à pénétrer une monocouche de DPPC	275

8 CRIBLAGE DE L'ACTIVITÉ ANTIMICROBIENNE DE M₁ ET DE SES DÉRIVÉS

SYNTHÉTISÉS **279**

8.1	INTRODUCTION	279
8.2	RÉSULTATS	279
8.3	CONCLUSION	285
VI.	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	287
VII.	PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES ISSUES DE CE DOCTORAT	295
VIII.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	297