



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Self adjuvanting immunopeptides : design and synthesis

Gential, G.P.P.

Citation

Gential, G. P. P. (2018, December 17). *Self adjuvanting immunopeptides : design and synthesis*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/67530>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/67530>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/67530> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Gential, G.P.P.

Title: Self adjuvanting immunopeptides : design and synthesis

Issue Date: 2018-12-17

Dans cette thèse est décrit le design et la synthèse de plusieurs bio-conjugués aux origines et applications diverses. Tous les composés ont en commun une chaîne peptidique modifiée au moyen d'acides nucléiques, lipides ou autre fragment hétérocycliques. Décrites dans les chapitres 3 et 4, les modifications ont pu être induites par le choix des building block utilisé lors de la synthèse sur support solide. L'utilisation de méthodes plus sophistiquées telle que la chimie « click » sans catalyse au cuivre purent aussi être mises à profit comme illustré dans le chapitre 2. Une approche combinant synthèse sur support solide et block coupling permet la synthèse et l'isolation de lipopeptides fluorescent (chapitre 2) et de conjugués ARN-peptides impliqués dans la réplication de certains virus (chapitre 6). Les conjugués décrits dans cette thèse pourraient être utilisés comme modèles, références ou outils dans l'études de mécanismes intra cellulaire. En effet, les conjugués immunogéniques présentés dans les chapitres 2, 3 et 4 pourraient contribuer à l'élucidation des mécanismes liés au métabolisme des antigènes à l'intérieur des cellules dendritique ; les peptides modifiés par un azoture (chapitre 5), la compréhension du mécanisme de présentation sur la surface cellulaire.

Le **chapitre 1** recense et présente la synthèse de quelques exemples de conjugués immunogéniques ciblant les récepteurs Toll-like, reconnu comme de potentiels futur vaccins.

Le **chapitre 2** décrit la synthèse de conjugués fluorescent utilisant l'agoniste au TLR-2 Pam3Cys et un fragment antigénique. Substituant la Fmoc-Lysine(Boc) par de la Fmoc-Azidonorleucine durant la synthèse sur support solide, des précurseurs non fluorescents ont pu être isolés. Tirant profit de la méthode de couplage « Click » non catalysé au cuivre, ceux-ci purent être marqués avec plusieurs composés fluorescents. Bien que remplissant leur fonction lors des test biologiques, ces conjugués possèdent une faible solubilité en milieu aqueux. Cette propriété pourrait être altérée par l'introduction d'un fragment d'éthylène glycol dans la chaîne peptidique afin d'augmenter la solubilité du conjugué.

Le **chapitre 3** décrit le design et la synthèse d'une version simplifiée des conjugués décrits dans le **chapitre 2**. Comparativement, deux chaînes palmitiques purent être enlevé, tout en gardant les propriétés agonistiques du Pam3Cys. Des versions fluorescentes puent être isolées usant de méthodes similaires a celles décrites dans le **chapitre 2**. Cette simplification eut pour effet d'augmenter drastiquement la solubilité en milieu aqueux. Cependant, ces conjugués simplifiés ne possèdent plus d'activités sur les TLR-2 autre qu'humain, et de fait, peuvent compliquer les tests biologiques.

Le **chapitre 4** décrit la synthèse d'un agoniste des TLR-7. Afin de préserver l'activité, la structure n'a pas été modifiée mais un nouveau point d'ancrage a été introduit hors de la partie purine du composé. Une synthèse en 6 étapes est nécessaire à l'obtention d'un fragment utilisable lors de synthèse sur support solide. Néanmoins, du fait d'une solubilité médiocre dans la plupart des solvants, il apparaît nécessaire d'effectuer un travail d'optimisation de la synthèse afin d'avoir accès à de plus larges quantités de cet agoniste.

Le **chapitre 5** décrit la synthèse d'un peptide portant un azoture et l'influence du choix de phosphine et de pH lors de la réduction. Grâce à un choix précis des conditions de réaction, il apparaît possible de contrôler le ratio des produits obtenus. Lorsque effectuée en milieu basique, l'amine résultant de la réduction de Staudinger sera majoritairement obtenue. Cependant, si effectuée en milieu acide, l'hydrolyse de l'intermédiaire sera majoritaire et donnera lieu à un alcool en place de l'amine. Ces conclusions purent être confirmées par 2D HSQC RMN.

Le **Chapitre 6** décrit la synthèse automatique d'un nucleopeptide naturel présent dans le génome des virus Coxsackie. Les building block nécessaires ont pu être synthétisés via une synthèse similaire, en 7 étapes. Bien que non optimisée, une quantité suffisante de chaque building block put être préparée afin de poursuivre le développement. Bien que le premier couplage du premier building block sur le fragment peptidique nécessite des conditions particulières, plusieurs conjugués purent être synthétisés. Afin d'éviter une migration du groupe TBDMS durant la déprotection du groupement Lev, plusieurs conditions furent testées et il apparaît qu'un large excès d'hydrazine, ainsi qu'un court temps de réaction permet la déprotection complète sans qu'aucune migration ne soit observée. Deux nucleopeptides portant un ou deux building block purent être conjugués à un peptide afin de générer un fragment du VPg.